

ÚLOHA MITOCHONDRIÍ V MECHANISMECH SYNAPTICKÉ PLASTICITY, BUNĚČNÉHO POŠKOZENÍ A PORUCH NÁLADY

souborný článek

Zdeněk Fišar
Jana Hroudová
Jiří Raboch

Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN,
Praha

Kontaktní adresa:

doc. RNDr. Zdeněk Fišar, CSc.
Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN
Ke Karlovu 11
128 01 Praha 2
e-mail: zfishar@lf1.cuni.cz

Práce byla podpořena výzkumným
záměrem MŠMT MSM0021620849
a grantem GA UK č. 41310.

SOUHRN

Fišar Z, Hroudová J, Raboch J. Úloha mitochondrií v mechanismech synaptické plasticity, buněčného poškození a poruch nálady

Ačkoli dysfunkce monoaminergních neurotransmiterových systémů mají významnou úlohu v patofyziologii poruch nálady, jedná se zřejmě o následky jiných, primárnějších abnormalit v transdukcii signálu. Nové teorie o patofyziologii deprese a mechanismech účinků antidepresiv předpokládají, že určující úlohu ve vyšších mozkových funkcích narušených při poruchách nálady mají změny v nitrobuněčných signálních cestách projevující se narušením neuroplasticity. Primárním regulátorem těchto procesů mohou být mitochondrie. Předpokládá se proto, že mitochondriální dysfunkce jsou zahrnuty v patofyziologii poruch nálady. U řady neuropsychiatrických onemocnění, včetně poruch nálady, bylo pozorováno narušení aktivity mitochondriálních enzymů, účinků nitrobuněčného kalcia a energetického metabolismu neuronů, poškození mitochondriální DNA a ovlivnění mitochondriálních funkcí psychofarmaky. Mitochondriální hypotéza bipolární afektivní poruchy koresponduje s hypotézou neurotrofní a hypotézou neuroplasticity, a to především vzhledem k významné úloze mitochondrií v buněčné energetice, regulaci kalciových signálních cest, pro-

SUMMARY

Fišar Z, Hroudová J, Raboch J. Role of mitochondria in mechanisms of synaptic plasticity, cell damage and mood disorders

While dysfunctions within monoaminergic neurotransmitter systems are likely to play an important role in pathophysiology of mood disorders, it probably represents the downstream effects of more primary abnormalities in signal transduction. New theories about the pathophysiology of depression and mechanisms of action of antidepressants proposes that regulation of intracellular signalling pathways manifested by disturbed neuroplasticity plays a critical role in higher-order brain functions. Mitochondria may be primary regulators of these processes. It is supposed that mitochondrial dysfunctions are included in pathophysiology of mood disorders. Disturbances in activity of mitochondrial enzymes, effects of intracellular calcium and energy metabolism, damage of mitochondrial DNA, and action of psychotropics on mitochondria were observed in many neuropsychiatric illnesses, mood disorders included. Mitochondrial hypothesis of bipolar affective disorder corresponds to neurotrophic and neuroplasticity hypotheses because of an important role of mitochondria in cell energetic, regulation of calcium signalling pathway, production of reactive oxygen species and apopto-

dukci kyslíkových radikálů a apoptóze, tedy v procesech určujících synaptickou plasticitu, poškození, obnovu, přežití či smrt neuronů.

Klíčová slova: depresivní porucha, neuroplasticita, excitotoxicita, oxidační stres, mitochondrie.

sis, i.e. in processes determining synaptic plasticity, damage, repairing, survival or death of neurons.

Key words: depressive disorder, neuronal plasticity, excitotoxicity, oxidative stress, mitochondria.

ÚVOD

Předpokládá se, že symptomy psychiatrických onemocnění jsou spojeny s narušením přenosu, ukládání a zpracování informací v centrálním nervovém systému (CNS). Na narušení těchto základních funkcí mozku se podílejí abnormality jak neurovývojové, tak neurochemické. Vzhledem k časovému průběhu normálních i patologických změn nálady lze předpokládat, že náchylnost ke vzniku poruch nálady je podmíněna vývojovými odchylkami vedoucími k odlišným vlastnostem neuronových sítí v mozku, zatímco jednotlivé symptomy jsou určeny neurochemicky, tj. změnami v transmissi a transdukcii nervových signálů v určitých oblastech mozku. Jedná se o procesy, které jsou velmi proměnlivé, vzájemně související a ovlivňující se.

Dynamické vlastnosti CNS umožňující reakci a adaptaci na vnější i vnitřní podněty jsou označovány jako neuroplasticita. Na základě pozorování překryvu mezi buněčnými procesy provázejícími depresivní poruchy, neuroplasticitu, chronický stres a dlouhodobé podávání antidepresiv a stabilizátorů nálady vznikly neurotrofní hypotézy deprese. Vzhledem ke složitosti a dynamice mezibuněčných a nitroibuněčných procesů nejsou molekulární mechanismy podmiňující změny neuroplasticity a přežívání neuronů za normálních ani za patologických podmínek dostatečně známy. Významnou úlohu v těchto procesech mají nepochybně mitochondrie, jakožto zdroje adenosin-5'-trifosfátu (ATP), producenti reaktivních forem kyslíku (ROS, „reactive oxygen species“, též označované jako volné kyslíkové radikály), regulátory cytosolového kalcia a iniciátory vnitřní cesty aktivace programované buněčné smrti (apoptózy). V této práci jsou shrnuty poznatky o společných molekulárních mechanismech provázejících poruchy nálady, neuroplasticitu, poškození neuronů a funkce mitochondrií, tedy poznatky vedoucí k mitochondriálním hypotézám poruch nálady.

PORUCHY NÁLADY

Neurotrofní hypotézy

Nové hypotézy poruch nálady a mechanismů účinků antidepresiv předpokládají, že poruchy nálady jsou způsobeny strukturálními a funkčními změnami neuronů a určitých molekul v mezibuněčných i nitroibuněčných signálních

cestách,¹ přičemž antidepresiva působí proti těmto změnám. Strukturální a funkční abnormality v mozcích osob trpících depresivní poruchou mohou být spojeny s nízkými koncentracemi růstových faktorů, jako je mozkový neurotrofní faktor (BDNF, „brain-derived neurotrophic factor“), se zvýšenou aktivitou osy hypotalamus – hypofýza – kůra nadledvin (HPA, „hypothalamic-pituitary-adrenal“) a s glutamátergí neurotoxicitou.^{2,3}

Neurotrofní hypotéza deprese⁴ a její novější varianty, jako je **hypotéza neuroplasticity**,⁵ předpokládají, že určujícím patofyziologickým rysem deprese jsou narušené mechanismy neuroplasticity v určitých oblastech mozku, přičemž chronický stres a jiné podněty vyvolávající buněčný stres jsou významnými kauzálními faktory ve vývoji tohoto poškození. Dlouhodobé podávání antidepresiv a stabilizátorů nálady vede k opravě narušených mechanismů neuroplasticity; na molekulární úrovni dochází ke zvýšení aktivity transkripčního faktoru aktivovaného v odezvě na zvýšení koncentrace cyklického adenosinmonofosfátu (CREB protein, „cAMP response element binding protein“), větší expresi neurotrofního faktoru BDNF a jeho receptoru trkB („tropomyosin-related kinase B“) a následně ke zvýšení neuroplasticity a obnově buněčných funkcí.

S touto hypotézou koresponduje i **zánětlivá a neurodegenerativní hypotéza**,⁶ podle níž je zvýšená neurodegenerace a narušená neurogeneze při depresi způsobena zánětlivými procesy vztahenými k oxidačnímu a nitrozačnickému stresu, katabolitům tryptofanu v indolamin-2,3-dioxygenázové cestě, prozánětlivým cytokinům a sníženým ω -3 polynenasyceným kyselinám. Protizánětlivé účinky antidepresiv vedou k obnově neurogeneze, která může být snížena zánětlivými procesy.

Síťová hypotéza⁷ předpokládá, že poruchy nálady odrážejí problémy se zpracováním informací určitými neuronovými sítěmi v mozku; podávání antidepresiv nebo jiná léčba zmírňující depresivní symptomy účinkují přes postupné zlepšování zpracování informací v těchto sítích. Podle této hypotézy nejsou depresivní symptomy nebo antidepresivní účinky přímo vyvolány změnami koncentrací neurotrofinů a jiných signálních molekul v mozku, ale neurotrofiny mohou působit jako rozhodující prostředek v procesu adaptace neuronových sítí na podněty z vnějšího prostředí.⁸ Síťová hypotéza tedy vychází z neurotrofní hypotézy, ale zvýrazňuje význam zpracování vnějších informací v procesu obnovy mozkových funkcí v průběhu léčby poruch nálady.

Tab. 1. Příčiny poškození neuronů, které mohou způsobit náchylnost ke vzniku deprese

podněty	mechanismy
Chronický stres	Narušený energetický metabolismus
Hypoglykémie	Nedostatek růstových faktorů
Ischémie	Excitotoxicita
Neurotoxiny	Oxidační stres
Virové infekce	Nekrotické a apoptotické procesy
γ-záření, UV	Zánětlivé procesy

Výchozím předpokladem neurotrofní hypotézy a hypotéz na ni navazujících je tedy předpoklad, že narušení transdukce signálu v mozku vede k takovým změnám ve zpracování a uchování informací, které se projeví symptomy onemocnění. Příčiny poškození neuronů, které mohou způsobit náchylnost ke vzniku deprese, jsou shrnuty v tab. 1. Na řadě těchto mechanismů, jako je narušený energetický metabolismus, excitotoxicita, oxidační stres, nekróza a apoptóza, se významně podílejí mitochondrie.⁹

Poznatky podporující neurotrofní hypotézy pocházejí jednak z měření změn aktivity transkripčního faktoru CREB, neurotrofinu BDNF a dalších růstových faktorů při depresivní epizodě, jednak z pozorování mechanismů účinků dlouhodobého podávání antidepresiv a stabilizátorů nálady na aktivitu nitrobuněčných signálních cest vedoucí ke zvýšené produkci a aktivitě CREB a BDNF.¹⁰

Antidepresiva ovlivňují učení a paměť a zvyšují neuroplasticitu a hipokampální neurogenezi.^{11,12} Regulují aktivitu signálních cest vztažených k neuroplasticitě přes zvýšení aktivity kaskády cyklický adenosinmonofosfát/proteinkináza A/CREB (cAMP/PKA/CREB), regulací aktivity proteinkináz závislých na kalcium a kalmodulinu typu II (PKCaMII) a upregulací kaskády proteinkináz aktivovaných mitogenem (MAPK).¹³ Hypotéza, že dlouhodobé podávání antidepresiv zvyšuje neuroplasticitu, je založena na upregulaci exprese růstových faktorů, především BDNF, v hipokampu a prefrontální kůře.¹⁰ Dosud ale chybějí velké longitudinální studie prokazující schopnost antidepresiv zvrátit atrofii mozkových struktur při depresi a bránit jí.

Pro **stabilizátory nálady** byla nalezena řada molekulárních cílů, především enzymy přímo či nepřímo inhibované lithiem (např. inozitolmonofosfatáza, glykogensyntázakináza-3 [GSK-3]) nebo valproátem (např. sukcinátsemialdehyddehydrogenáza, sukcinátsemialdehyd-reduktáza, histondeacyláza), cíle karbamazepinu (např. sodíkové kanály, adenosinové receptory, adenylátcykláza) a složky signálních cest regulované vícero léčivy.¹⁴ Neuroprotektivní účinky lithia a valproátu jsou založeny na ochraně proti glutamatergní neurotoxicitě, aktivaci cest podporujících přežití neuronů (např. cesty fosfoinozitol-3-kináza/proteinkináza B, PI3K/Akt) a indukci neurotrofních a neuroprotektivních proteinů (např. BDNF, Bcl-2, proteiny tepelného šoku).¹⁵

Polymorfismus genu pro BDNF byl asociován s depresi a bipolární afektivní poruchou. Byly pozorovány snížené koncentrace BDNF *post mortem* v mozcích depresivních osob. Rovněž koncentrace BDNF v krvi depresivních pacientů jsou zřejmě sníženy a po antidepresivní léčbě zvýšeny.^{8,16} Chronický stres, jakožto faktor podílející se

často na vzniku depresivní poruchy, způsobuje přetrvávající supresi transkripce BDNF metylací histonů, zatímco antidepresiva obnovují syntézu BDNF acetylací histonů.¹⁷ Ve zvířecích modelech deprese bylo zjištěno, že lokální infúze BDNF do specifických oblastí mozku napodobuje antidepresivní účinky. Při depresi dochází k regulaci i jiných růstových faktorů.¹⁰

Avšak BDNF nevykazuje stejné účinky v celém mozku. Lokální infúze BDNF do určitých oblastí mozku vykazovala účinky podobné antidepresivním, ale infúzi do jiných oblastí (např. do *ventral tegmental area*, VTA) lze vztáhnout k indukci deprese. Úloha BDNF v cestě VTA – *nucleus accumbens* (NAc) je tedy zřejmě opačná než v hipokampu.^{18,19} Navíc snížená aktivita BDNF v obsáhlých oblastech předního mozku neindukovala sama o sobě chování podobné depresivnímu.¹⁰

Transkripční faktor CREB má v mozku účinky žádoucí i nežádoucí, v závislosti na oblasti mozku, kde působí. Aktivita CREB je zahrnuta v mechanismech učení a paměti a bylo potvrzeno, že její zvýšení v hipokampu koreluje se zvýšením exprese růstových faktorů, jako je BDNF, a způsobuje podobné účinky jako dlouhodobé podávání antidepresiv. Oproti tomu zvýšená aktivita CREB v NAc produkuje symptomy podobné depresivním. CREB a BDNF tedy obecně regulují plasticitu, proces, který není nezbytně dobrý či špatný, což je vidět v případě deprese.²⁰ Strategie celkového farmakoterapeutického zvýšení aktivity CREB a BDNF v mozku se tedy nejeví jako optimální v léčbě neuropsychiatrických onemocnění.

Poškození mozkových struktur při depresi

Hlavní mozkové struktury spojované s neurobiologií deprese jsou součástí prefrontální kůry a limbického systému: kůra orbitofrontální, dorsolaterální a předního cingula, amygdala a hipokampus. V posledních desetiletích byly pomocí metod založených na magnetické rezonanci získány nové důkazy o poškození mozkových struktur při různých psychiatrických onemocněních; tato poškození zřejmě souvisejí s narušením procesů neuronální plasticity.

Kognitivní poškození při těžké depresi zahrnuje jednak narušenou koncentraci a pozornost, jednak deficit v explicitní paměti (tj. ve vědomém a záměrném vybavování si dřívějších zkušeností a informací). Tyto poruchy lze dát do souvislosti s abnormalitami funkce dorsolaterální prefrontální kůry, hipokampu a mediálního temporálního laloku. Atrie hipokampu byla pozorována při rekurentní a těžké depresi²¹ i při posttraumatické stresové poruše.²² Měřením *post mortem* bylo zjištěno, že se nemění celkový počet neuronů a glií v hipokampu, ale je redukována velikost neuronů a objem neuropilu.²³ Meta-analýzou dat o objemu hipokampu u pacientů s těžkou depresivní poruchou získaných zobrazením pomocí magnetické rezonance (MRI) bylo zjištěno, že ke změnám v objemu hipokampu dochází jen u osob s opakovanými epizodami deprese, kdy onemocnění trvá déle než dva roky, přičemž se tento efekt projevil u osob v dětském, středním a starším věku, ale nikoli u mladých dospělých osob.²⁴ Znamená to, že atrofie hipokampu není znak náchylnosti k onemocnění („trait marker“). Pro potvrzení tohoto závěru ale zatím chybí longitudinální studie.

Při bipolární afektivní poruše byla pomocí MRI a voxel-based morfometrie zjištěna redukce šedé hmoty v kůře předního cingula a bilaterální insuly.²⁵ Jedná se o změny v paralimbických oblastech zahrnutých v regulaci emocí.

Na modulaci uvolňování monoaminů a kortikosteroidů v odezvě na různé podněty se podílí amygdala. Metaanalýza výsledků měření změn objemu amygdaly při poruchách nálady ukázala, že objemy amygdaly u osob s bipolární či unipolární afektivní poruchou a u kontrolních osob nejsou výrazně odlišné.²⁶ Objemy amygdaly tedy zřejmě nejsou spojeny s poruchami nálady.

Vzhledem k výskytu anhedonie, snížené motivace a snížené energetické hladiny při depresi se v její patofyziologii a symptomatologii předpokládá účast mesolimbického dopaminového systému. Dalšími mozkovými strukturami, jejichž funkce, struktura a plasticita může být narušena, jsou proto NAc a jeho dopaminergní vstup z VTA.¹⁹

Celkově lze říci, že neuropatologické a neurodegenerativní změny v mozku depresivních osob nejsou výrazné. Opakovaně byl zjištěn snížený počet gliových buněk ve frontálních korových oblastech osob s těžkou depresí nebo bipolární afektivní poruchou, což může být výsledkem narušené gliogeneze. Byla navržena hypotéza, podle níž při progresi rekurentní depresivní poruchy vede kombinace genetických a vnějších faktorů nejprve k časně patologii gliových buněk (způsobené nadbytkem glukokortikoidů nebo nedostatkem neurotrofních a angiogenních faktorů) a poté k patologii neuronů (způsobené narušenou myelinizací a nadbytkem mimobuněčného glutamátu v důsledku jeho sníženého vychytávání gliemi).²⁷ Snížená hustota neuronů je při depresi méně zřejmá než patologie gliových buněk, navíc je specifická pro určité frontální oblasti a je možné, že souvisí s odlišnou etiologií a patologií depresivních poruch u starších a mladších pacientů.^{28,29}

NEUROPLASTICITA

Neuroplasticita popisuje funkční a strukturální změny neuronů a gliových buněk, které nastávají ve vyvíjejícím se i v dospělém mozku za účelem přizpůsobení se organismu vnějším i vnitřním podnětům.^{30,31} Jedná se o základní mechanismus adaptace neuronů. Neuroplasticita v dospělém mozku zahrnuje změny dendritických funkcí, reorganizaci synapsí, dlouhodobou potenciaci, dlouhodobou depresi, růst, větvení a rašení dendritů a axonu, synaptogenezi a neurogenezi.³² K neurogenezi dochází v dospělém mozku především v hipokampu, ale byla zjištěna i v dalších oblastech mozku, jako *bulbus olfactorius* a mozeček.³³ Významnou úlohu v synaptické plasticitě a síle synapsí má hustota, velikost a tvar dendritických trnů.³⁴ Synaptické funkce zahrnují také obousměrnou komunikaci mezi neurony a astrocyty.²⁷

Synaptickou plasticitou se rozumí především vývoj nových synapsí, změny v síle již existujících synapsí a eliminace synapsí. Synaptická plasticita je zřejmě buněčným základem učení a paměti.³⁵ K dlouhodobé potenciaci (LTP) a dlouhodobé depresi (LTD) byly popsány další formy plasticity: vnitřní plasticita (určená např. fosforylací a distribucí iontových kanálů), inhibiční plasticita (daná

funkcí inhibičních GABAergních neuronů) a homeostatická plasticita (zvyšující nebo snižující sílu všech synapsí na neuronu jako funkci aktivity).³⁶ Další formou synaptické plasticity je metaplasticita (plasticita synaptické plasticity), která je indukována buněčnou aktivitou, ale projevuje se jako změna schopnosti indukovat následnou synaptickou plasticitu, jako je LTP nebo LTD; nemusí se tedy nutně projevovat změnou v účinnosti normální synaptické transmise.³⁷

Existuje jak postsynaptická, tak presynaptická plasticita. Výsledkem **presynaptické plasticity** je změna v uvolňování neurotransmiterů;³⁸ na jednom typu presynaptické plasticity se podílí i endokannabinoidní systém.³⁹ Hlavní mechanismy **postsynaptické plasticity** typu LTP jsou spojeny s aktivací ionotropních glutamátových receptorů pro kyselinu (\pm) α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-izoxazol propionovou (AMPA) a N-metyl-D-aspartát (NMDA). AMPA receptory jsou odpovědné za depolarizaci membrány, která postačuje pro aktivaci NMDA receptorů, jejichž Ca^{2+} -kanály jsou napětově blokovány hořčíkem; poté dochází ke vtoku kalcia do buňky.⁴⁰ Kalcium spouští procesy vedoucí k synaptické plasticitě v dendritických trnech: 1. regulaci iontových kanálů, cytoskeletálních proteinů a syntézy nových proteinů; 2. změny vlastností synaptických AMPA receptorů; 3. reorganizaci aktinu a modulaci morfologie synaptických trnů; 4. iniciaci lokální syntézy proteinů v trnech a dendritech. Za vznik synaptické plasticity jsou tedy odpovědné glutamátové AMPA receptory, za její kontrolu NMDA receptory. Z hlediska doby trvání rozlišujeme krátkodobou a dlouhodobou synaptickou plasticitu. **Krátkodobou synaptickou plasticitou** se rozumí změny v synaptické odezvě trvající desítky sekund až minuty. Klíčovým procesem LTP je vstup Ca^{2+} do buňky přes glutamátové ionotropní NMDA receptory (viz výše), aktivace proteinkináz PKCaMII, fosforylace AMPA receptorů v postsynaptické membráně, zabudování nitrobuněčně lokalizovaných AMPA receptorů do synaptické membrány a jejich laterální difúze do postsynaptické denzity (tj. aktivace spících synapsí, „unsilencing“).^{13,40} V odezvě na podnět vyvolávající LTD jsou AMPA i NMDA receptory odstraňovány ze synaptické membrány.

Dlouhodobá synaptická plasticita trvá hodiny až týdny, i déle. Vyžaduje indukci genové exprese a produkci a správné umístění nových molekul. Významnou úlohu zde má aktivace kaskády kináz regulovaných mimobuněčným signálem (ERK) a kaskády cAMP/PKA/CREB/BDNF.^{13,20} Když jsou syntetizovány nové receptory, iontové kanály a jiné membránové molekuly, musí existovat mechanismus, jak je přemístit do specifického místa synaptické membrány – existuje tzv. synaptické značení („tagging“).⁴¹ Pro synaptické značení je určující aktivita cesty cAMP/PKA.

POŠKOZENÍ NEUROPLASTICITY

Oxidační stres

Volné radikály a jiné reaktivní látky mohou poškozovat membránu přes peroxidaci zbytků nenasycených mastných kyselin ve fosfolipidech tvořících lipidovou dvojnou vrstvu buněčné membrány. Dále mohou poškozovat další

základní buněčné složky, což může vést k buněčné smrti nekrotickými či apoptotickými mechanismy.^{42,43} Oxidační poškození se podílí na společných komplexních interakcích mezi excitotoxicitou, apoptózou a zánětlivými procesy (obr. 1). Za oxidační stres jsou odpovědné hlavně reaktivní formy kyslíku a dusíku (RONS), jako je superoxid ($O_2^{\cdot-}$), peroxid vodíku (H_2O_2), hydroxyl (OH^{\cdot}), oxid dusnatý (NO^{\cdot}), peroxyinitrit ($ONOO^-$) a další.⁴⁴ RONS jsou v nízkých koncentracích produkovány i za normálních fyziologických podmínek a aktivují různé buněčné signální cesty, které se účastní regulace přežití a smrti buňky.⁴³ Cíli redoxní signalizace jsou transkripční faktory, protein-kinázy a proteázy. RONS mohou aktivovat transkripční faktory přímo (např. NF- κ B, HSF1, p53), nebo přes fosforylací regulací cesty PI3K/Akt a MAPK.^{45,46}

Mozek je extrémně citlivý na oxidační poškození; jedním z důvodů je jeho vysoká spotřeba O_2 (kolem 20 % celkové spotřeby). Kromě tvorby RONS a jiných reaktivních látek, jako je tomu ve všech buňkách, mohou v mozku vzniknout problémy s oxidačním stresem z těchto důvodů:⁴⁴ 1. zvýšené uvolňování excitačních aminokyselin v důsledku oxidačního stresu může spustit cyklus dalšího zvyšování produkce RONS; 2. zvýšená produkce superoxidu mitochondriemi v důsledku mutací a delecí mitochondriální DNA (mtDNA); 3. autooxidace některých neurotransmiterů; 4. uvolnění iontů železa a mědi při poškození mozku; 5. peroxidace neuronálních membránových lipidů (bohatých na zbytky polynenasycených mastných kyselin); 6. produkce H_2O_2 monoaminoxidázami (MAO); 7. nepřilíš velká antioxidační ochrana (nízké koncentrace katalázy); 8. produkce superoxidu, H_2O_2 a cytokinů aktivovanými mikroglie; 9. zvýšení propustnosti hematoencefalické bariéry pro neurotoxiny reaktivními látkami; 10. neurotoxita hemoglobinu atd.

Oxidační poškození DNA v neuronech je nejčastěji na úrovni bází a hlavní cestou pro opravu tohoto oxidačního poškození je vyštěpovací oprava báze (BER, „base excision repair“). Snížená funkce BER v mozkových buňkách by mohla být jednou z hlavních příčin normálního stárnutí, ale i řady neurologických abnormalit vedoucích např. k Alzheimerově nebo Parkinsonově nemoci.⁴⁷

Ochranu mozku před účinky RONS zajišťují endogenní antioxidační systémy, které zahrnují superoxidodismutázy (SOD, katalyzují redukci jednoho superoxidu na H_2O_2 a oxidaci druhého na O_2), peroxiredoxiny a glutathionperoxidázy (nejvýznamnější odstraňovače H_2O_2), katalázy (v mozku nevýznamné odstraňovače H_2O_2) a vychytávače reaktivních látek, jako je α -tokoferol a kyselina askorbová.⁴⁴

Excitotoxicita

Vyčerpání energetických zásob (např. při ischemii, glutamatergní excitotoxicitě nebo chronickém stresu) vede ke snížené produkci ATP mitochondriemi, poškození procesů závislých na ATP a tím ke změnám buněčným funkcím (obr. 1). Nedostatečná funkce Na^+K^+ -ATPáz vede k narušení iontových transmembránových gradientů, výtoku K^+ a vtoku Na^+ , Cl^- a Ca^{2+} . Zvýšení mimobuněčných koncentrací K^+ spouští depolarizaci membrán a obrácení funkce přenašečů pro aminokyseliny. Jsou akti-

vovány jak napětově řízené (VOC), tak receptorem řízené (ROC) Ca^{2+} -kanály a zvyšuje se koncentrace cytosolového Ca^{2+} . Nitrobuněčné Ca^{2+} podporuje zvýšení mimobuněčných koncentrací excitačních aminokyselin, zvláště glutamátu, díky obrácení směru jeho přenosu membránovými přenašeči excitačních aminokyselin (EAAT, dříve známé jako glutamátové přenašeče); dochází tak k šíření neurotoxicity. Na zvýšení synaptických koncentrací glutamátu se může podílet i jeho uvolňování z astrocytů díky Ca^{2+} -závislé exocytóze⁴⁸ nebo inhibici EAAT (např. působením ROS) v gliových buňkách. Následně vazba glutamátu k NMDA a AMPA receptorům způsobuje nadměrný vtok Ca^{2+} do buňky, kalcium aktivuje fosfolipázy, proteázy a endonukleázy, které degradují membrány, proteiny a nukleové kyseliny nezbytné pro buněčnou integritu. Např. aktivace fosfolipázy A_2 (PLA_2) kalcium uvolňuje z membrán kyselinu arachidonovou (obr. 1), která potom přes cyklooxygenázovou a lipoxygenázovou cestu indukuje produkci superoxidu.⁴⁹ Navíc vysoké nitrobuněčné koncentrace Ca^{2+} způsobují přetížení mitochondriálního Ca^{2+} , zvýšenou produkci ROS a inhibici produkce ATP.^{5,42} Je možné, že určující úlohu v poškození mitochondrií, a tedy i celých buněk, v důsledku nadměrné akumulace kalcia mitochondriemi (např. při glutamatergní excitotoxicitě) má nedostatečná produkce ATP. Se vstupem iontů Na^+ a Ca^{2+} přes chronicky aktivované NMDA a AMPA receptory je spojena aktivace Na^+K^+ -ATPáz a Ca^{2+} -ATPáz (obr. 1) a tyto procesy mohou využít celou energetickou kapacitu mitochondrií a tím zesílit excitotoxicitu.⁵

Excitotoxická nekróza zahrnuje nekontrolovaný vtok Na^+ mající za následek rychlé nabobtnání a lýzu buňky. V poslední době bylo prokázáno, že glutamátem indukovaná smrt neuronů je spojena také s apoptózou, tj. charakteristickou fragmentací DNA, morfologickými změnami, aktivací kalpainu a kaspáz a upregulací nebo translokací apoptózu indukujícího faktoru (AIF) z mitochondrií do jádra. Glutamát ve vysokých koncentracích tedy může indukovat apoptózu jak mechanismy závislými na kaspázách, tak mechanismy nezávislými na těchto proteázách^{50,51} (obr. 1). Aktivované kaspázy-3 inaktivují také Ca^{2+} -pumpu v plazmatické membráně, což vede k dalšímu přetížení nitrobuněčného Ca^{2+} .⁵²

Ochranu proti neurotoxicitě zajišťují neuronům sodíkové a kalciové pumpy (závislé na ATP), exprese proteinů vázajících Ca^{2+} a různé neurotrofní faktory (určující změny exprese NMDA receptorů, antioxidačních enzymů a antiapoptotických proteinů).⁵⁰

Apoptóza

Programovaná buněčná smrt (PCD) má určující úlohu během vývoje i v normální buněčné homeostazi. Apoptóza je forma PCD popisovaná morfologickými změnami jako smrštění buňky, degradace cytoskeletu a následná tvorba váčkovitých výrůstků z cytoplazmatické membrány („blebbing“), kondenzace chromatinu a fragmentace jádra a nakonec rozpad buňky na apoptotická tělíska. Při apoptóze také dochází k přesunu fosfatidylserinu z vnitřního na vnější povrch membrány, k poruchám propustnosti mitochondriální membrány a k uvolňování cytochromu *c* (cyt *c*).⁵³ Dysregulace těchto procesů je zahrnuta

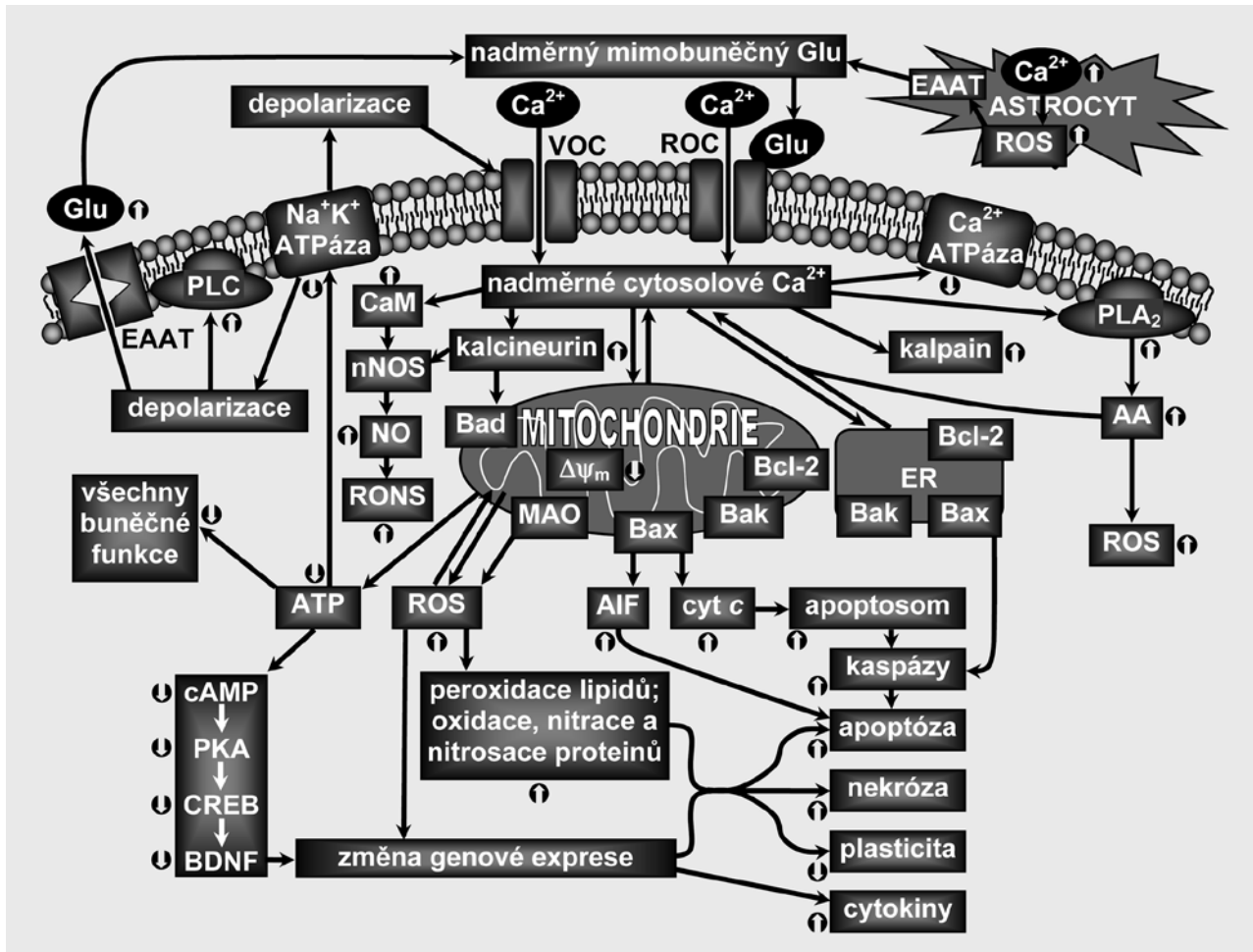
v řadě onemocnění, včetně onemocnění neurodegenerativních. PCD je často užívána jako ekvivalent apoptózy, ale existují i neapoptotické formy PCD.⁵⁴ PCD obecně označuje buněčnou smrt, která je zprostředkována nitrobuňčným programem, zatímco apoptóza (též označována jako PCD typu I nebo jako jaderná PCD) vykazuje navíc výše uvedené typické změny vzhledu buňky.

Za apoptózu jsou u savců odpovědné především kaspázy (cysteinové proteázy), které lze rozdělit na dva typy: iniciační (např. kaspázy-8, -9 a -10) a výkonné (např. kaspázy-3, -6 a -7).⁵⁵ Hlavní kaspázy zahrnuté v apoptóze vedoucí ke smrti neuronů jsou kaspáza-9 a -3. Některé kaspázy mají zřejmě za fyziologických podmínek úlohu v neuronální plasticitě, jiné jsou aktivovány jen za patologických podmínek.

Klíčovou úlohu v regulaci nitrobuňčného apoptotického signálu mají proteiny z rodiny Bcl-2 („B-cell lymphoma/leukemia-2 gene“), které zahrnují členy antiapoptotické (např. Bcl-2, Bcl-xL) i proapoptotické (např. Bax, Bak, Bad). Hlavní antiapoptotické faktory Bcl-2 a Bcl-xL jsou lokalizovány na vnější mitochondriální membrá-

ně, endoplazmatickém retikulu (ER) a perinukleární membráně. V CNS je Bcl-2 exprimován ve vysokých koncentracích během vývoje a je downregulován po narození. Oproti tomu Bcl-xL je také exprimován ve vyvíjejícím se mozku, ale jeho exprese se zvyšuje do dospělosti.⁵⁶ Pro udržení přežívání neuronů jsou zřejmě určující Bcl-2, Bcl-xL a Bcl-w. Bcl-2 a Bcl-xL působí inhibicí proapoptotických členů Bcl-2 rodiny. Pro neuronální smrt je zřejmě určující aktivace Bax. Po indukci vnitřní cesty apoptózy je faktor Bax translokován do vnější mitochondriální membrány. Oligomerizací Bax a Bak (a možná dalších faktorů) jsou tvořeny mitochondriální apoptózu indukující kanály, které umožňují uvolňování cyt c a dalších proapoptotických faktorů (jako Smac/Diablo a AIF) s následnou aktivací kaspázy a buněčnou smrtí.^{57,58}

Hlavní cesty zahrnuté do apoptózy lze rozdělit na vnější a vnitřní.⁴² Vnější cesta začíná aktivací receptoru smrti (např. Fas) a vede k aktivaci kaspázy-8, která buď přímo aktivuje výkonné kaspázy (jako je kaspáza-3 a -7), nebo štěpí proapoptotický faktor Bid na tBid, který se přenáší do mitochondrií a indukuje vnitřní cestu apoptózy



Obr. 1. Mitochondrie v mechanismech poškození a smrti neuronů

Hlavními mechanismy vedoucími k poškození nebo smrti neuronů vztahujícími k poruchám nálady a regulovanými mitochondriemi jsou snížená produkce adenozintrifosfátu (ATP), zvýšená produkce reaktivních forem kyslíku a dusíku (RONS), spuštění apoptotických procesů a narušená kalciová homeostáze. Pro podrobný popis viz text.

$\Delta\psi_m$ = membránový potenciál na vnitřní mitochondriální membráně; AA = kyselina arachidonová; AIF = apoptózu indukující faktor; Bax, Bad, Bak = proapoptoticky působící členy rodiny proteinů Bcl-2; Bcl-2 = antiapoptoticky působící člen rodiny proteinů Bcl-2; BDNF = mozkový neurotrofní faktor; CaM = kalcmodulin; cAMP = cyklický adenosinmonofosfát; CREB = transkripční faktor aktivovaný v odezvě na zvýšení hladiny cAMP; cyt c = cytochrom c; EAAT = membránový přenašeč excitálních aminokyselin; ER = endoplazmatické retikulum; Glu = glutamát; MAO = monoaminoxidáza; nNOS = neuronová syntáza oxidu dusnatého; NO = oxid dusnatý; PKA = proteinkináza typu A; PLA₂ = fosfolipáza typu A; PLC = fosfolipáza typu C; ROC = receptorem řízený kanál; ROS = reaktivní formy kyslíku; RONS = reaktivní formy kyslíku a dusíku; VOC = napětově řízený kanál.

(aktivací Bax a Bak). Ve vnitřní cestě (obr. 1) způsobuje nadměrný vtok Ca^{2+} do nitrobuňčného prostoru změnou funkci organel, jako jsou mitochondrie a ER. Aktivace Ca^{2+} -závislých proteinfosfatáz (např. kalcineurinu) způsobuje translokaci proapoptotického faktoru Bad do mitochondrií a spuštění apoptózy sekvencí antiapoptotických faktorů Bcl-2 a Bcl-xL. Uvolnění cyt c a dalších proapoptotických faktorů z mezimembránového prostoru mitochondrií vede k vytvoření apoptosomu vazbou cyt c k cytosolovému apoptotickému proteázu aktivujícím proteinu (Apaf-1). Apoptosom štěpí prokaspázu-9 a kaspáza-9 potom aktivuje výkonné kaspázy.^{54,55} Kaspázy štěpí klíčové složky cytoskeletu a jádra, což vede k apoptotické smrti buňky. Za internukleosomální štěpení DNA je odpovědná kaspázou aktivovaná deoxyribonukleáza. Dále se z mitochondrií uvolňuje AIF a přenáší se do jádra a vede k apoptóze nezávislé na kaspázách.⁵⁹

Významným zdrojem apoptotického signálu spojeného s aktivací kaspáz je ER.^{42,54} ER je organela mající významnou úlohu v udržování nitrobuňčného Ca^{2+} -homeostaze a ve správném skládání nově syntetizovaných proteinů. Signální mechanismy odpovídající za zapojení ER do apoptózy však nejsou dostatečně známy. Uvolňování Ca^{2+} z ER může také sekundárně aktivovat mitochondriální apoptózu.

Dalšími regulátory apoptózy jsou kalpainy (proteázy aktivované Ca^{2+}), faktor p53, MAPK, rodina proteinů inhibujících apoptózu a proteiny tepelného šoku.⁴² Tumor supresorový a transkripční faktor p53 je hlavní modulator odezvy na buněčný stress a jeho aktivace v odezvě na poškození DNA, oxidační stress, metabolické ohrožení nebo excitotoxicitu spouští apoptózu v mnoha typech buněk, včetně neuronů. Faktor p53 stimuluje expresi různých proapoptotických faktorů z rodiny Bcl-2, které po translokaci do mitochondrií způsobují uvolňování dalších proapoptotických faktorů s následnou aktivací kaspáz. Navíc může p53 podporovat buněčnou smrt přes transaktivaci receptoru smrti Fas nebo upregulaci Apaf-1. Kromě toho se může p53 přímo vázat na antiapoptotické faktory a inhibovat jejich funkci – tento proces se zřejmě uplatňuje při synaptické apoptóze.⁶⁰

Chronický stress

Klinicky pozorovaný vztah mezi chronickým stresem a těžkou depresí lze vysvětlit jednak zvýšeným genetickým rizikem náchylných osob,⁶¹ jednak účinky stresu na neuroplasticitu a s ní související změny funkcí různých mozkových struktur. Nejdůležitější je prozkoumán vliv stresu na synaptickou a morfologickou plasticitu hipokampu, neboť se jedná o strukturu mající významnou úlohu při učení a paměti a současně citlivou na stress díky vysoké koncentraci glukokortikoidních receptorů. Akutní a chronický stress mají zcela odlišné účinky na neuroplasticitu. Mírný stress po krátkou dobu zvyšuje poznávací schopnosti podporou synaptické plasticity v hipokampu, tj. LTP je optimální při mírně zvýšených koncentracích glukokortikoidů.⁶² Oproti tomu jsou při těžkém a dlouhotrvajícím stresu spuštěny procesy pro neuron škodlivé buď přímo, nebo přes zvýšenou neurotoxicitu jiných podnětů a poškození.^{63–66}

Bylo potvrzeno, že chronický stress nebo dlouhodobé vystavení zvýšeným koncentracím glukokortikoidů poškozuje paměť závislou na hipokampu jak u experimentálních zvířat, tak u lidí.^{62,67} Dochází také k poškození hipokampu na úrovni morfologické neuroplasticity.⁶⁸ Na škodlivých účincích glukokortikoidů se podílí inhibice uptake glukózy do neuronů, glutamatergí neurotoxicita a zvýšení koncentrací cytosolového kalcia a tvorby RONS. U hlodavců byla po vystavení stresu nebo glukokortikoidům pozorována i snížená hipokampální neurogenese, která může mít úlohu v odezvě na podávání antidepresiv.⁶⁹

Podobné účinky jako na hipokampus může mít chronický stress i na neuroplasticitu prefrontální kůry,⁷⁰ zatímco účinky na amygdalu jsou spíše opačné.¹³ Chronický stress může způsobit v cestě VTA – NAc adaptivní změny, které mohou přispět k její dysregulaci při depresi.¹⁹ Obecně mohou být účinky stresu na různé oblasti mozku velmi rozdílné.

Molekulární mechanismy indukované stresem a ovlivňující neuroplasticitu zahrnují především glutamatergí neurotoxicitu, změny v různých nitrobuňčných signálních cestách a sníženou expresi růstových faktorů. Při stresu dochází ke zvýšenému uvolňování glutamátu v hipokampu a prefrontální kůře,^{71,72} což vede k nadměrnému zvýšení cytosolového kalcia, nadměrné aktivitě enzymů závislých na Ca^{2+} , degradaci cytoskeletu a buněčných proteinů a zvýšené tvorbě kyslíkových radikálů. Tyto procesy mohou způsobit atrofii nebo smrt neuronů.^{49,73} Stejnou cestu aktivuje také hypoxie-ischémie, epileptický záchvat či hypoglykémie. Neurony současně mobilizují řadu obranných mechanismů proti tomuto poškození.⁶³

Akutní stress je spojen se zvýšenou mitochondriální biogenezí a enzymovou aktivitou při oxidační fosforylaci (OXPHOS). Oproti tomu při chronickém stresu dochází k poruchám v biogenezi, dysfunkci dýchacího řetězce, snížené produkci ATP, zvýšené produkci RONS, peroxidaci lipidů, poškození mitochondriální i jaderné DNA a zvýšené apoptóze či nekroze.⁷⁴

V regulaci různých stresových systémů, jako je osa HPA, sympatický nervový systém, renin-angiotensinový systém a osa neuroendokrino-imunitní, může být zahrnut translokační protein (dříve označován jako periferní benzodiazepinový receptor), který je lokalizován ve vnější mitochondriální membráně, zvláště v kontaktních místech vnější a vnitřní mitochondriální membrány. V CNS je lokalizován hlavně v gliových buňkách a podílí se na regulaci biosyntézy steroidů a buněčných metabolických procesech. Tento translokační protein zřejmě participuje na některých neurodegenerativních onemocněních a na psychiatrických poruchách vztažených ke stressu, jako jsou úzkostné poruchy nebo posttraumatická stresová porucha.⁷⁵

MITOCHONDRIE

Struktura a funkce mitochondrií

Mitochondrie jsou organely obsahující enzymy podílející se na oxidačním metabolismu eukaryontních buněk, tj. pyruvátdehydrogenázu, enzymy citrátového cyklu,

enzymy katalyzující oxidaci mastných kyselin a enzymy a redoxní proteiny elektronového transportního řetězce a OXPHOS.

Mitochondrie jsou tvořeny vnější membránou, vnitřní membránou vytvářející krusty, mezimembránovým prostorem a matrix.⁷⁶ Vnější mitochondriální membrána obsahuje poriny, proteiny vytvářející nescifické póry, kterými volně difundují molekuly o hmotnosti do 5 kDa. Vnitřní mitochondriální membrána je propustná pouze pro kyslík, CO₂ a vodu a umožňuje vytvoření iontových gradientů. V matrix se nacházejí enzymy oxidačního metabolismu, substráty, nukleotidové kofaktory, anorganické ionty, mitochondriální DNA (mtDNA) a RNA (mtRNA) a ribosomy.

Hlavní funkcí mitochondrií je produkce ATP pomocí enzymů citrátového cyklu a OXPHOS. Mitochondriální OXPHOS spotřebovává více než 80 % O₂ a dodává kolem 92 % celkové buněčné energie. Dalšími důležitými funkcemi mitochondrií jsou produkce ROS, regulace nitro-buněčného kalcia, spuštění apoptózy, vývojová a synaptická plasticita a termogeneze.^{9,77}

Oproti jiným typům buněk nevyužívají neurony glykolyzu k tvorbě ATP, pokud je mitochondriální bioenergetika nefunkční. Při inhibici mitochondriálního dýchání proto neurony rychle umírají, na rozdíl od astrocytů, které využívají i glykolyticky produkovaný ATP. Glukózový metabolismus v neuronech je směřován hlavně k pentosofosfátovému cyklu, v němž vzniká redukovaný nikotinamidadeninukleotidfosfát (NADPH).⁷⁸ NADPH je nezbytný k regeneraci glutationu a dalších složek obranného systému, který chrání buňku před oxidačním stresem přímou neutralizací ROS,⁷⁹ nebo přes udržování exogenních antioxidantů, jako jsou vitaminy C a E, v aktivní formě. Antioxidanty mohou působit neuroprotektivně působením na komplexy I a III elektronového transportního řetězce, majícím za následek zvýšenou produkci ATP.

Mitochondrie a synaptická plasticita

Neurotransmise a synaptická plasticita jsou procesy energeticky velmi náročné, proto mají mitochondrie v jejich procesech podstatnou úlohu. Mitochondrie jsou velmi dynamické orgány, tj. jsou schopny přizpůsobovat svou odezvu podnětům z vnějšího či vnitřního prostředí a komunikovat mezi sebou a s jinými organelami. Mitochondrie jsou jednak aktivně transportovány do energeticky náročných částí neuronů, jako jsou synapse,⁸⁰ jednak dochází k jejich rozdělování („fission“) a spojování („fusion“).^{81,82} Nerovnováha v dělení a fúzi mitochondrií může ovlivnit synaptickou transmisí a plasticitu a mít vliv na přežití neuronu.^{83,84} Určující úlohu v dělení mitochondrií a neurodegeneraci mohou mít RONS, které inhibují mitochondriální dýchání.

Mitochondrie a oxidační stres

Mitochondrie jsou hlavním zdrojem buněčných ROS. Bylo identifikováno alespoň 10 míst schopných generovat superoxid; mezi nejvýznamnější patří komplexy I a III elektronového transportního řetězce.^{79,85} Rychlost tvorby ROS silně závisí na membránovém potenciálu a je inhibována při kyselém pH.⁸⁶ V izolovaných mitochondriích

bylo zjištěno, že ke zvýšené tvorbě superoxidu v matrixu dochází, když mitochondrie nevytvářejí ATP a mají zvýšenou protonmotivní sílu (sestavující z membránového potenciálu a pH gradientu) a zvýšený poměr redukovaného a neredukovaného nikotinamidadeninukleotidu (NADH/NAD⁺) nebo koenzymu Q (CoQH₂/CoQ).⁸⁷ Biochemický mechanismus způsobující zvýšenou produkci ROS v odezvě na hypoxii není vnitřní vlastností mitochondrií, neboť v *in vitro* experimentech bylo pozorováno snížení generace ROS při velmi nízkých koncentracích O₂.⁸⁸ V podmínkách *in vitro* 0,12–2 % kyslíku spotřebovaného mitochondriemi dávají vznik superoxidu. Produkce superoxidu mitochondriemi *in vivo* je však mnohem menší. Vzhledem k nedostatku poznatků o základních mitochondriálních funkcích *in vivo* nelze zatím určit ani množství, ani rychlost produkce superoxidu.⁸⁷

Většina superoxidu je konvertována na H₂O₂ mangánovou SOD nacházející se v mitochondriálním matrixu.⁷⁹ H₂O₂ vzniká také při metabolismu monoaminů mitochondriální MAO. Mitochondriální H₂O₂ difunduje do cytosolu a jádra a může být konvertován glutationperoxidázou a katalázou na vodu. Reakcí superoxidu s oxidem dusnatým vzniká peroxynitrit. Fentonovou reakcí (Fe²⁺ + H₂O₂ → Fe³⁺ + OH[•] + OH⁻) a rozkladem peroxynitritu vzniká vysoce reaktivní hydroxylový radikál (OH[•]), který může způsobit poškození neuronů a z toho plynoucí případné zdravotní problémy.^{57,89,90} Mitochondrie obsahují i anti-oxidanty, jako koenzym Q₁₀, kreatin a nikotinamid.

Poškození mitochondrií při narušeném energetickém metabolismu nebo při neurotoxické indukované glutamátém je způsobeno ROS, které produkují mitochondrie samotné (obr. 1). Lze rozlišovat ROS vyprodukované, uvolněné a vychytané obranným mitochondriálním systémem.⁷⁹ Dochází k oxidačnímu poškození mitochondriálních proteinů, membrán a mtDNA, snížení syntézy ATP a tím k narušení řady metabolických funkcí. K významnému zvýšení ROS dochází jak při apoptóze, tak při nekroze.

Předpokládá se, že uvolnění cyt *c* z mezimembránového prostoru mitochondrií indukované proapoptotickým faktorem Bak vede k tvorbě ROS, které poté zvyšují propustnost vnější mitochondriální membrány (MOMP, „mitochondrial outer membrane permeabilization“) a uvolňování cyt *c*, čímž se dále zvyšuje produkce ROS.⁹¹

ROS také indukují mitochondriální přechodné propustné póry (PTP, „mitochondrial permeability transition pores“) měnící propustnost vnitřní mitochondriální membrány pro malé molekuly (do 1,5 kDa). Dochází ke ztrátě membránového potenciálu na vnitřní mitochondriální membráně ($\Delta\psi_m$) vedoucí k MOMP a uvolňování proapoptotických faktorů. ROS mohou zvýšit propustnost vnější mitochondriální membrány také modifikací porinů typu aniontového kanálu závislého na napětí.

Mitochondrie v mozku jsou také důležitým cílem fyziologického a patofyziologického působení oxidu dusnatého (obr. 1); za jeho toxické působení je přitom odpovědný především peroxynitrit.⁹²

Mitochondrie a kalcium

Cytoplazmatické kalcium je vychytáváno mitochondriemi a endoplazmatickým retikulem (ER) (obr. 1). Vnější

mitochondriální membrána je propustná pro Ca^{2+} , vnitřní membrána obsahuje přenašeče Ca^{2+} : uniportér pro přenos Ca^{2+} do matrixu, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ a $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiportéry pro transport Ca^{2+} v opačném směru.^{5,77} Velký přísun Ca^{2+} do mitochondrií vede k depolarizaci jejich membrán, zastavení syntézy ATP, změně propustnosti mitochondriální membrány a uvolňování řady molekul včetně látek aktivujících apoptózu.⁹³ Nabobtnání mitochondrií a ztráta elektrochemického potenciálu po vystavení oxidačnímu stresu nebo vysokým koncentracím Ca^{2+} je důsledkem otevření megakanálů PTP ve vnitřní membráně.

Mitochondrie a buněčná smrt

Mitochondrie mají klíčovou úlohu v apoptotických procesech a tím i v patogenezi mnoha onemocnění, včetně neoplastických, neurodegenerativních a kardiovaskulárních. Vnitřní signální cesta apoptózy je spouštěna právě v mitochondriích (obr. 1). Změny při apoptóze zahrnují jednak zvýšení propustnosti vnější mitochondriální membrány pro cyt c, AIF a další faktory podílející se na indukci apoptózy, jednak ztrátu membránového potenciálu $\Delta\psi_m$. Proteiny z rodiny Bcl-2 mají klíčovou úlohu v transdukcii nitrobuněčného apoptotického signálu tím, že regulují permeabilitu vnější mitochondriální membrány. Mitochondriální apoptotické kaskády mohou být aktivovány lokálně v synapsích a dendritech, jedná se potom o tzv. **synaptickou apoptózu**.⁶⁰

MITOCHONDRIÁLNÍ DYSFUNKCE A NEUROPSYCHIATRICKÁ ONEMOCNĚNÍ

Mitochondriální dysfunkce jsou způsobeny řadou komplexních mechanismů, zahrnujících jak genetické faktory z jaderného i mitochondriálního genomu, tak vliv vnějšího prostředí (západní styl života, stárnutí, léčiva a toxické látky).⁹⁴ Výskyt mitochondriálních onemocnění v populaci není přesně znám, ale minimální prevalence se odhaduje na 1 : 5000, s tím, že může být mnohem vyšší.⁹⁵ Specifické pro mitochondrie je, že při jejich dělení se kopie mtDNA rozdělí náhodně mezi dvě nové mitochondrie. Pokud je poškozených kopií mtDNA málo (heteroplazmická mutace), může se stát, že tyto kopie zůstanou jen v jedné z nových mitochondrií. K funkčním projevům mutace v mtDNA dojde proto pouze tehdy, když podíl poškozených molekul mtDNA dosáhne určité prahové hodnoty.⁹⁶

Na základě studií zaměřených na komorbiditu poruch nálady a somatických symptomů byly nalezeny asociace s bipolární afektivní poruchou např. pro mutace mtDNA 3644T→C ovlivňující komplex I dýchacího řetězce,⁹⁷ 3243A→G ovlivňující mitochondriální tRNA⁹⁸ nebo mutace jaderného genu pro mtDNA polymerázu.⁹⁹ Pozornost byla věnována možnosti, že mitochondriální dysfunkce mohou ovlivnit kalciové signální cesty způsobem vedoucím k poruchám nálady.^{99,100}

Syndrom mitochondriální encefalomyopatie, laktátová acidóza a iktu podobné příhody (MELAS, „mitochond-

rial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes“), který je nejčastěji způsoben mutací 3243A→G mitochondriálního genomu, zahrnuje záchvaty, encefalopatii a mrtvici podobné epizody, ale také sekundární neuropsychiatrické projevy, jako kognitivní poškození, bolesti hlavy, deprese a další.¹⁰¹

Dosavadní zprávy o komorbiditě psychiatrických onemocnění a mitochondriálních poruch se týkají popisu relativně malých souborů osob, nebo dokonce jen jednotlivých případů. Většinou se jedná o demence, psychotická onemocnění nebo poruchy nálady, jejichž projevy obvykle předcházejí diagnózu mitochondriálního onemocnění.^{102,103} Např. ve skupině 35 dětí s biochemicky a geneticky potvrzenou mitochondriální poruchou se v 5 případech vyskytla těžká deprese předcházející diagnózu mitochondriální poruchy.¹⁰⁴ Ve skupině 205 diabetiků jich bylo nalezeno 9, kteří měli mutaci 3243A→G. Z nich 4 měli i diagnózu duševní poruchy (těžká deprese, fobické úzkostné poruchy). U části pacientů se syndromem MELAS byl popsán výskyt depresivní poruchy nebo fobických úzkostných poruch¹⁰⁵ nebo obsedantně-kompulzivní poruchy.¹⁰⁶ Analýza *post mortem* vzorků mozku rovněž naznačila, že akumulace mutací mtDNA 3243A→G by mohla mít úlohu v patofyziologii bipolární afektivní poruchy a schizofrenie.⁹⁸ Předpokládá se, že mitochondriální dysfunkce jsou hlavním společným faktorem podmiňujícím asociaci migrény s těžkou depresivní poruchou, bipolární afektivní poruchou, panickou poruchou a sociální fobií,¹⁰⁷ které se vyskytují s migrénou více než dvakrát častěji než bez ní.¹⁰⁸ Pozornost je věnována také skutečnosti, že mitochondriální dysfunkce jsou kauzálně vztaženy k inzulinové rezistenci a metabolickému syndromu,⁹⁴ a metabolický syndrom a jeho složky jsou asociovány s depresivní symptomatikou.¹⁰⁹

Mitochondriální dysfunkce vedou k oxidačnímu stresu, poškození a delecím mtDNA, narušení kalciové homeostaze, změněné morfologii mitochondrií, změnám v dělení a spojování mitochondrií a případně až ke smrti neuronu. Mitochondrie tak mohou přispět k řadě neurodegenerativních a psychiatrických onemocnění. Podíl mitochondriálních dysfunkcí byl popsán v patogenezi Alzheimerovy, Parkinsonovy a Huntingtonovy nemoci, mrtvice, amyotropní laterální sklerózy, a také u schizofrenie, depresivní poruchy a bipolární afektivní poruchy.^{9,44,50,57,77,103,110–113}

Látky, které by mohly bránit poškození a dysfunkcím mitochondrií, a které jsou proto zahrnuty v terapeutických strategiích farmakologické léčby různých neurodegenerativních onemocnění, lze rozdělit na vitaminy a antioxidanty (thiamin, riboflavin, niacin, kyselina pantothenová, pyridoxin, biotin, folát, kyselina askorbová, tokoferoly, karotenoidy, CoQ₁₀, kyselina lipoová, acetylcystein) a bioenergetické látky (karnitiny, kreatin, pyruvát, sirtuiny, nikotinamid a další). Pro vyšší účinnost v mitochondriích byly některé antioxidanty konjugovány s trifenyfosfoniem (především deriváty CoQ₁₀).^{57,114,115} Stopové prvky, jako železo, měď, zinek, mangan nebo selen, jsou nezbytné pro některé mitochondriální funkce a jejich nedostatek či nadbytek může být spojen s dysfunkcemi.^{116,117} Mnohé antioxidanty účinkují na zvířecích modelech, ale nikoli u lidí. Obecně nemusejí být vysoké koncentrace antioxi-

dantů dobré a mohou způsobit i buněčné poškození.¹¹⁸ Např. podávání β -karotenu, vitamínu A, vitamínu C, vitamínu E a selenu bylo bez významných účinků na výskyt gastrointestinálních nádorů; naopak bylo pozorováno zvýšení celkové mortality.¹¹⁹ Existuje však i řada důkazů o tom, že dysfunkce mitochondriálních enzymů mohou být zlepšeny odpovídajícím příjmem substrátů a prekurzorů koenzymů, a tyto látky tedy mohou být užitečné v prevenci poškození mitochondrií při Alzheimerově či Parkinsonově nemoci.^{116,120}

Předpoklad, že mitochondriální dysfunkce by mohly mít úlohu v patofyziologii bipolární afektivní poruchy, vychází z konceptu, že se jedná o geneticky ovlivněnou poruchu funkcí synapsí a neuronálních sítí, spíše než o pouhý nedostatek či nadbytek určitých neurotransmiterů.^{103,121} Naprostá většina bipolárních pacientů nevykazuje symptomy klasických mitochondriálních nemocí, tj. poruch způsobených poškozením v mitochondriálním dýchacím řetězci.^{96,122} Předpokládá se, že malé poruchy mitochondriálních funkcí mohou způsobovat změny synaptické plasticity a narušenou buněčnou odolnost vedoucí ke vzniku symptomů bipolární afektivní poruchy.⁹

Důkazy pro účast mitochondriálních dysfunkcí v patofyziologii psychiatrických poruch byly v poslední době shrnuty v několika přehledech.^{123–125} Pro bipolární afektivní poruchu tyto důkazy zahrnují:

1. narušení aktivity mitochondriálních enzymů,^{126,127}
2. poškození kalciových signálních cest,^{9,99,100}
3. poškození energetického metabolismu,¹²⁸
4. zvýšení delecí, mutací nebo polymorfismů mtDNA v mozku,^{97,98,121}
5. abnormální exprese klíčových mitochondriálních proteinů kódovaných jadernou DNA,¹²⁹
6. účinky psychotropních látek na mitochondrie,^{9,111}
7. komorbiditu poruch nálady u určitých mitochondriálních poruch.^{102,103,130}

Vliv antidepresiv a stabilizátorů nálady na mitochondriální funkce

Nejlépe prostudovaným účinkem různých antidepresiv na aktivitu mitochondriálních enzymů je inhibice MAO.¹³¹ Přímé či nepřímé účinky antidepresiv na další mitochondriální enzymy jsou známy poměrně málo. Vzhledem k tomu, že mitochondrie jsou známým cílem působení oxidu dusnatého, mohou tricyklická antidepresiva vykazovat své protizánětlivé a neurotrofní účinky přes sníženou produkci NO a prozánětlivých cytokinů.¹³² Byly pozorovány značně rozdílné účinky nefazodonu, trazodonu a buspironu na indukci mitochondriálních dysfunkcí a cytotoxicity.¹³³ Studium přímého vlivu řady farmakologicky odlišných antidepresiv (desipraminu, amitriptylinu, imipraminu, citalopramu, venlafaxinu, mirtazapinu, tianeptinu a moklobemidu) a stabilizátorů nálady (lithia, valproátu a olanzapinu) na aktivitu mitochondriálních enzymů *in vitro* ukázalo jejich výrazné inhibiční účinky na komplex I a komplex IV elektronového transportního řetězce.¹³⁴

Augmentace vedoucí ke zvýšení folátu nebo snížení homocysteinu by mohla být užitečná při farmakoterapii antidepresiv, neboť nízký folát a zvýšený homocystein

zvyšují produkci ROS a přispívají tak k mitochondriálním dysfunkcím.¹³⁵

Hlavní účinky stabilizátorů nálady na regulaci mitochondriálních funkcí *in vivo* se předpokládají nepřímé. Např. dlouhodobé podávání lithia zvyšuje koncentrace antiapoptotického proteinu Bcl-2, snižuje koncentrace proapoptotického proteinu p53 a inhibuje GSK-3.¹³⁶ Inhibice GSK-3 potom může přes deinhibici komplexu mitochondriální pyruvátdehydrogenázy¹³⁷ zvyšovat maximální metabolickou rychlost v mozku. Lithium zřejmě mění aktivitu komplexů dýchacího řetězce *in vivo* i přímým působením.^{138,139} Předpokládá se proto, že neurotrofní a neuroprotektivní účinky lithia jsou uskutečňovány přes jeho účinky na mitochondriální funkce.^{9,140}

Mitochondriální hypotézy poruch nálady

Na základě řady měření mozkových procesů souvisejících s mitochondriálními funkcemi a dysfunkcemi při poruchách nálady (tab. 2) byla navržena hypotéza, podle níž jsou jemné mitochondriální dysfunkce důležitou součástí bipolární afektivní poruchy a obnova či zvýšení těchto funkcí mohou být klíčové v léčbě onemocnění.⁹ Jinak řečeno, plasticita a energetika synapsí je při poruchách nálady pozmeněna a modulátorem odpovědným za účinnost či neúčinnost různých antidepresiv jsou mitochondrie. Podklady pro formulaci této hypotézy pocházejí především ze studia účinků antidepresiv a stabilizátorů nálady na mitochondriální funkce a z *in vivo* měření změn buněčné energetiky v mozcích depresivních osob (pomocí magnetické rezonance molekul obsahujících fosfor).

Tab. 2. **Hlavní procesy související s mitochondriální dysfunkcí a bipolární afektivní poruchou**

narušená oxidační fosforylace
snížená produkce ATP
dysregulace kalcia
posuv ke glykolytické produkci energie
změněné koncentrace fosfomonoesterů
změněný metabolismus fosfolipidů

Při bipolární afektivní poruše byly v mozku nalezeny změny v koncentracích *N*-acetylaspartátu, glutamátu a glutaminu, složek obsahujících cholin, *myo*-inozitolu, laktátu, fosfokreatinu, fosfomonoesterů a nitrobuněčného pH.¹⁴¹ Především na základě těchto *in vivo* měření byla formulována **bioenergetická hypotéza mitochondriální dysfunkce** při bipolární afektivní poruše¹¹³ předpokládající při tomto onemocnění narušení oxidační fosforylace, posuv ke glykolytické produkci energie, sníženou produkci ATP, změněné koncentrace fosfomonoesterů a změněný metabolismus fosfolipidů (tab. 2).

Kalciová hypotéza mitochondriální dysfunkce při bipolární afektivní poruše je založena jednak na narušené kalciové homeostazi při neurodegenerativních onemocněních a poruchách nálady,^{142,143} jednak na pozorování mutací mtDNA v mozku, asociace polymorfismů mtDNA a bipolární poruchy a změn v expresi genů vztažených k mitochondriím v mozku.¹⁴⁴ Podle této hypotézy polymorfismy nebo mutace mtDNA a delecce mtRNA způso-

bené mutacemi jaderných genů mohou způsobit dysregulaci kalcia mitochondriemi, což může vést k symptomům onemocnění.^{103,128,144}

ZÁVĚR

Důkazy o tom, že mitochondriální dysfunkce jsou zahrnuty v patofyziologii psychiatrických poruch, zahrnují narušenou aktivitu mitochondriálních enzymů, kalciových signálních cest a energetického metabolismu, zvýšené delece, mutace a polymorfismy mtDNA a účinky psychotropních látek na mitochondrie. Zdá se, že nedostatečné mitochondriální funkce jsou schopny spustit různá psychiatrická onemocnění, není však dosud jasné, zda mitochondriální dysfunkce přispívají k vývoji onemocnění, nebo zda se jedná o vedlejší jev.

Křížová propojení mezi nitrobuněčnými signálními cestami transdukce signálu ovlivněnými při poruchách nálady, účincích antidepressiv, stresu, apoptózy a synaptické plasticity znamenají, že změny neuroplasticity mohou být vyvolány v různých místech různých signálních cest a že terapeutická strategie léčby poruch nálady by měla být optimálně zaměřena na více cílů a mechanismů. Předpokládá se, že významným terapeutickým cílem pro léčbu bipolární afektivní poruchy stabilizátory nálady by mohly být procesy oxidačního poškození kontrolované mitochondriemi.¹²⁷

Unikátní vlastnosti mitochondrií je předurčují jako nitrobuněčné cíle nových léčiv selektivně modulujících

OXPHOS, produkci ROS, propustnost mitochondriálních membrán, účinky Bcl-2 a expresi mtDNA.¹⁴⁵ Farmakologická regulace mitochondriálních funkcí při poruchách nálady je teprve ve vývojovém stadiu, neboť není dostatek informací o vedlejších účincích takových látek. V současné době navíc neumíme farmakologicky ovlivnit pouze určitou oblast v mozku.

Použité zkratky: $\Delta\psi_m$ = membránový potenciál na vnitřní mitochondriální membráně; AA = kyselina arachidonová; AIF = apoptózu indukující faktor; Akt = proteinkináza B; AMPA = kyselina (\pm)- α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-izoxazol propionová; Apaf-1 = apoptotický proteáza aktivující protein; ATP = adenosin-5'-trifosfát, adenosin-5'-trifosfát; Bax, Bad, Bcl-2 = proapoptoticky působící členy rodiny proteinů Bcl-2; Bcl-2 = rodina proteinů je zahrnuta v regulaci apoptotické buněčné smrti; Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w = antiapoptoticky působící členy rodiny proteinů Bcl-2; BDNF = mozkový neurotrofní faktor; BER = vyštěpovací oprava báze; Bid/tBid = proapoptotický faktor; CaM = kalmodulin; cAMP = cyklický adenosinmonofosfát; CNS = centrální nervový systém; CoQ = koenzym Q; CREB protein = transkripční faktor aktivovaný v odezvě na zvýšení hladin cAMP; cyt c = cytochrom c; EAAT = membránový přenašeč excitačních aminokyselin; ER = endoplazmatické retikulum; ERK = kináza regulovaná mimobuněčným signálem; GABA = kyselina γ -aminomáselná; Glu = glutamát; GSK-3 = glykogensyntázakináza-3; HPA = hypotalamus-hypofýza-kůra nadledviny; LTD = dlouhodobá deprese; LTP = dlouhodobá potenciace; MAO = monoaminoxidáza; MAPK = proteinkináza aktivovaná mitogenem; MELAS = mitochondriální encefalomyopatie, laktátová acidóza a iktu podobné příhody; MOMP = permeabilizace vnější mitochondriální membrány; MRI = zobrazení pomocí magnetické rezonance; mtDNA = mitochondriální DNA; mtRNA = mitochondriální RNA; NAc = nucleus accumbens; NAD = nikotinamidadenin dinukleotid; NADPH = redukovaný nikotinamidadenin dinukleotid; NF- κ B = jaderný faktor- κ B; NMDA = N-methyl-D-aspartát; nNOS = neuronová syntáza oxidu dusnatého; NO = oxid dusnatý; OXPHOS = oxidační fosforylace; PCD = programovaná buněčná smrt; PI3K = fosfoinozitolid-3-kináza; PKA = proteinkináza typu A; PKCaM = proteinkináza závislá na vápníku a kalmodulinu; PLA₂ = fosfolipáza typu A₂; PLC = fosfolipáza typu C; PTP = póry zvyšující propustnost mitochondriální membrány pro molekuly do molekulové hmotnosti 1500 daltonů; ROC = receptorem řízený kanál; ROS = reaktivní formy kyslíku; RONS = reaktivní formy kyslíku a dusíku; SOD = superoxid dismutáza; trkB = tropomyosin-related kinase B; VOC = napětově řízený kanál; VTA = ventral tegmental area.

LITERATURA

- Fišar Z, Hroudová J. Intracellular signalling pathways and mood disorders. *Folia Biol* 2010; 56 (4): 135–148.
- Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature* 2008; 455 (7215): 894–902.
- Mathew SJ, Manji HK, Charney DS. Novel drugs and therapeutic targets for severe mood disorders. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33 (9): 2080–2092.
- Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ. A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiatry* 1997; 54 (7): 597–606.
- Nicholls DG. Oxidative stress and energy crises in neuronal dysfunction. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1147: 53–60.
- Maes M, Yirmiya R, Norberg J et al. The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: leads for future research and new drug developments in depression. *Metab Brain Dis* 2009; 24 (1): 27–53.
- Castrén E. Is mood chemistry? *Nat Rev Neurosci* 2005; 6 (3): 241–246.
- Castrén E, Rantamäki T. Role of brain-derived neurotrophic factor in the aetiology of depression: implications for pharmacological treatment. *CNS Drugs* 2010; 24 (1): 1–7.
- Quiroz JA, Gray NA, Kato T, Manji HK. Mitochondrially mediated plasticity in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33 (11): 2551–2565.
- Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* 2006; 59 (12): 1116–1127.
- Drzyzga ŁR, Marcinowska A, Obuchowicz E. Antiapoptotic and neurotrophic effects of antidepressants: a review of clinical and experimental studies. *Brain Res Bull* 2009; 79 (5): 248–257.
- Warner-Schmidt JL, Duman RS. Hippocampal neurogenesis: opposing effects of stress and antidepressant treatment. *Hippocampus* 2006; 16 (3): 239–249.
- Pittenger C, Duman RS. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33 (1): 88–109.
- Gould TD, Quiroz JA, Singh J, Zarate CA, Manji HK. Emerging experimental therapeutics for bipolar disorder: insights from the molecular and cellular actions of current mood stabilizers. *Mol Psychiatry* 2004; 9 (8): 734–755.
- Chuang DM. The antiapoptotic actions of mood stabilizers: molecular mechanisms and therapeutic potentials. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1053: 195–204.
- Castrén E, Vöikar V, Rantamäki T. Role of neurotrophic factors in depression. *Curr Opin Pharmacol* 2007; 7 (1): 18–21.
- Tsankova NM, Berton O, Renthal W et al. Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat Neurosci* 2006; 9: 519–525.
- Eisch AJ, Bolaños CA, de Wit J et al. Brain-derived neurotrophic factor in the ventral midbrain-nucleus accumbens pathway: a role in depression. *Biol Psychiatry* 2003; 54 (10): 994–1005.
- Nestler EJ, Carlezon WA Jr. The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biol Psychiatry* 2006; 59 (12): 1151–1159.
- Carlezon WA Jr, Duman RS, Nestler EJ. The many faces of CREB. *Trends Neurosci* 2005; 28 (8): 436–445.
- Campbell S, Marriott M, Nahmias C, MacQueen GM. Lower hippocampal volume in patients suffering from de-

- pression: a meta-analysis. *Am J Psychiatry* 2004; 161 (4): 598–607.
22. Bremner JD, Elzinga B, Schmahl C, Vermetten E. Structural and functional plasticity of the human brain in posttraumatic stress disorder. *Prog Brain Res* 2008; 167: 171–186.
 23. Stockmeier CA, Mahajan GJ, Konick LC et al. Cellular changes in the post-mortem hippocampus in major depression. *Biol Psychiatry* 2004; 56 (9): 640–650.
 24. McKinnon MC, Yucel K, Nazarov A, MacQueen GM. A meta-analysis examining clinical predictors of hippocampal volume in patients with major depressive disorder. *J Psychiatry Neurosci* 2009; 34 (1): 41–54.
 25. Ellison-Wright I, Bullmore E. Anatomy of bipolar disorder and schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Res* 2010; 117 (1): 1–12.
 26. Hajek T, Kopecek M, Kozeny J et al. Amygdala volumes in mood disorders – meta-analysis of magnetic resonance volumetry studies. *J Affect Disord* 2009; 115 (3): 395–410.
 27. Rajkowska G, Miguel-Hidalgo JJ. Gliogenesis and glial pathology in depression. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2007; 6 (3): 219–233.
 28. Rajkowska G, Miguel-Hidalgo JJ, Dubey P, Stockmeier CA, Krishnan KR. Prominent reduction in pyramidal neurons density in the orbitofrontal cortex of elderly depressed patients. *Biol Psychiatry* 2005; 58 (4): 297–306.
 29. Van Otterloo E, O'Dwyer G, Stockmeier CA et al. Reductions in neuronal density in elderly depressed are region specific. *Int J Geriatr Psychiatry* 2009; 24 (8): 856–864.
 30. Mesulam MM. Neuroplasticity failure in Alzheimer's disease: bridging the gap between plaques and tangles. *Neuron* 1999; 24 (3): 521–529.
 31. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ et al. Neurobiology of depression. *Neuron* 2002; 34 (1): 13–25.
 32. Fišar Z, Hroudová J. Common aspects of neuroplasticity, stress, mood disorders and mitochondrial functions. *Activitas Nervosa Superior Rediviva* 2010; 52 (1): 3–20.
 33. Ponti G, Peretto P, Bonfanti L. Genesis of neuronal and glial progenitors in the cerebellar cortex of peripuberal and adult rabbits. *PLoS ONE*. 2008; 3 (6): e2366. doi:10.1371/journal.pone.0002366. Dostupný z <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0002366>.
 34. von Bohlen und Halbach O. Structure and function of dendritic spines within the hippocampus. *Ann Anat* 2009; 191 (6): 518–531.
 35. Citri A, Malenka RC. Synaptic plasticity: multiple forms, functions and mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33 (1): 18–41.
 36. Nelson SB, Turrigiano GG. Strength through diversity. *Neuron* 2008; 60 (3): 477–482.
 37. Abraham WC, Bear MF. Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 1996; 19 (4): 126–130.
 38. García-Junco-Clemente P, Linares-Clemente P, Fernández-Chacón R. Active zones for presynaptic plasticity in the brain. *Mol Psychiatry* 2005; 10 (2): 185–200.
 39. Fišar Z. Phytocannabinoids and endocannabinoids. *Curr Drug Abuse Rev*. 2009; 2 (1): 51–75.
 40. Rebola N, Srikumar BN, Mülle C. Activity-dependent synaptic plasticity of NMDA receptors. *J Physiol* 2010; 588 (Pt 1): 93–99.
 41. Frey U, Morris RG. Synaptic tagging and long-term potentiation. *Nature* 1997; 385 (6616): 533–536.
 42. Nakka VP, Gusain A, Mehta SL, Raghur R. Molecular mechanisms of apoptosis in cerebral ischemia: multiple neuroprotective opportunities. *Mol Neurobiol* 2008; 37 (1): 7–38.
 43. Novo E, Parola M. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2008; 1 (1): 5. doi:10.1186/1755-1536-1-5. Dostupný z <http://www.fibrogenesis.com/content/1/1/5>.
 44. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* 2006; 97 (6): 1634–1658.
 45. Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001; 21(1): 2–14.
 46. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408 (6809): 239–247.
 47. Rao KS. Free radical induced oxidative damage to DNA: relation to brain aging and neurological disorders. *Indian J Biochem Biophys* 2009; 46 (1): 9–15.
 48. Santello M, Volterra A. Synaptic modulation by astrocytes via Ca²⁺-dependent glutamate release. *Neuroscience* 2009; 158 (1): 253–259.
 49. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol Rev* 1999; 79 (4): 1431–1568.
 50. Mattson MP. Glutamate and neurotrophic factors in neuronal plasticity and disease. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1144: 97–112.
 51. Zhang Y, Bhavnani BR. Glutamate-induced apoptosis in neuronal cells is mediated via caspase-dependent and independent mechanisms involving calpain and caspase-3 proteases as well as apoptosis inducing factor (AIF) and this process is inhibited by equine estrogens. *BMC Neurosci* 2006; 7: 49. doi:10.1186/1471-2202-7-49. Dostupný z <http://www.biomedcentral.com/1471-2202/7/49>.
 52. Schwab BL, Guerini D, Didszun C et al. Cleavage of plasma membrane calcium pumps by caspases: a link between apoptosis and necrosis. *Cell Death Differ* 2002; 9 (8): 818–831.
 53. Brunelle JK, Letai A. Control of mitochondrial apoptosis by the Bcl-2 family. *J Cell Sci* 2009; 122 (Pt 4): 437–441.
 54. Bredesen DE, Rao RV, Mehlen P. Cell death in the nervous system. *Nature* 2006; 443 (7113): 796–802.
 55. Fuentes-Prior P, Salvesen GS. The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition. *Biochem J* 2004; 384 (Pt 2): 201–232.
 56. González-García M, García I, Ding L et al. *bcl-x* is expressed in embryonic and postnatal neural tissues and functions to prevent neuronal cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92 (10): 4304–4308.
 57. Bolaños JP, Moro MA, Lizasoain I, Almeida A. Mitochondria and reactive oxygen and nitrogen species in neurological disorders and stroke: Therapeutic implications. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61 (14): 1299–1315.
 58. Dejean LM, Martinez-Caballero S, Manon S, Kinnally KW. Regulation of the mitochondrial apoptosis-induced channel, MAC, by BCL-2 family proteins. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1762 (2): 191–201.
 59. Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature* 1999; 397 (6718): 441–446.
 60. Culmsee C, Mattson MP. p53 in neuronal apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 331 (3): 761–777.
 61. Caspi A, Sugden K, Moffitt TE et al. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* 2003; 301 (5631): 386–389.
 62. Sapolsky RM. Stress and plasticity in the limbic system. *Neurochem Res* 2003; 28 (11): 1735–1742.
 63. Lee AL, Ogle WO, Sapolsky RM. Stress and depression: possible links to neuron death in the hippocampus. *Bipolar Disord* 2002; 4 (2): 117–128.
 64. Lupien SJ, Maheu F, Tu M, Fiocco A, Schramek TE. The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition. *Brain Cogn* 2007; 65 (3): 209–237.
 65. McEwen BS, Sapolsky RM. Stress and cognitive function. *Curr Opin Neurobiol* 1995; 5 (2): 205–216.
 66. Sapolsky RM. Stress, glucocorticoids, and damage to the nervous system: the current state of confusion. *Stress* 1996; 1 (1): 1–19.

67. de Quervain DJ-F, Aerni A, Schelling G, Roozendaal B. Glucocorticoids and the regulation of memory in health and disease. *Front Neuroendocrinol* 2009; 30 (3): 358–370.
68. Sapolsky RM. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry* 2000; 57 (10): 925–935.
69. Santarelli L, Saxe M, Gross C et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 2003; 301 (5634): 805–809.
70. Liston C, Miller MM, Goldwater DS, Radley JJ, Rocher AB, Hof PR, Morrison JH, McEwen BS. Stress-induced alterations in prefrontal cortical dendritic morphology predict selective impairments in perceptual attentional set-shifting. *J Neurosci* 2006; 26 (30): 7870–7874.
71. Bagley J, Moghaddam B. Temporal dynamics of glutamate efflux in the prefrontal cortex and in the hippocampus following repeated stress: effects of pretreatment with saline or diazepam. *Neuroscience* 1997; 77 (1): 65–73.
72. Moghaddam B. Stress activation of glutamate neurotransmission in the prefrontal cortex: implications for dopamine-associated psychiatric disorders. *Biol Psychiatry* 2002; 51 (10): 775–787.
73. Atlante A, Calissano P, Bobba A et al. Glutamate neurotoxicity, oxidative stress and mitochondria. *FEBS Lett* 2001; 497 (1): 1–5.
74. Manoli I, Alesci S, Blackman MR et al. Mitochondria as key components of the stress response. *Trends Endocrinol Metab* 2007; 18 (5): 190–198.
75. Gavish M, Bachman I, Shoukrun R et al. Enigma of the peripheral benzodiazepine receptor. *Pharmacol Rev* 1999; 51 (4): 629–650.
76. Mannella CA. Structural diversity of mitochondria: functional implications. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1147: 171–179.
77. Mattson MP, Gleichmann M, Cheng A. Mitochondria in neuroplasticity and neurological disorders. *Neuron* 2008; 60 (5): 748–766.
78. Bolaños JP, Almeida A, Moncada S. Glycolysis: a bioenergetic or a survival pathway? *Trends Biochem Sci* 2010; 35 (3): 145–149.
79. Starkov AA. The role of mitochondria in reactive oxygen species metabolism and signaling. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1147: 37–52.
80. Hollenbeck PJ, Saxton WM. The axonal transport of mitochondria. *J Cell Sci* 2005; 118 (Pt 23): 5411–5419.
81. Berman SB, Pineda FJ, Hardwick JM. Mitochondrial fission and fusion dynamics: the long and short of it. *Cell Death Differ* 2008; 15 (7): 1147–1152.
82. Knott AB, Bossy-Wetzel E. Impairing the mitochondrial fission and fusion balance: a new mechanism of neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1147: 283–292.
83. Lu B. Mitochondrial dynamics and neurodegeneration. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2009; 9 (3): 212–219.
84. Su B, Wang X, Zheng L et al. Abnormal mitochondrial dynamics and neurodegenerative diseases. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1802 (1): 135–142.
85. Andreyev AY, Kushnareva YE, Starkov AA. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Mosc)* 2005; 70 (2): 200–214.
86. Lambert AJ, Brand MD. Superoxide production by NADH: ubiquinone oxidoreductase (complex I) depends on the pH gradient across the mitochondrial inner membrane. *Biochem J* 2004; 382 (Pt 2): 511–517.
87. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J* 2009; 417 (1): 1–13.
88. Hoffman DL, Salter JD, Brookes PS. Response of mitochondrial reactive oxygen species generation to steady-state oxygen tension: implications for hypoxic cell signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292 (1): H101–H108.
89. Sas K, Robotka H, Toldi J, Vécsei L. Mitochondria, metabolic disturbances, oxidative stress and the kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders. *J Neurol Sci* 2007; 257 (1–2): 221–239.
90. Youdim MB, Bakhle YS. Monoamine oxidase: isoforms and inhibitors in Parkinson's disease and depressive illness. *Br J Pharmacol* 2006; 147 (Suppl 1): S287–S296.
91. Polster BM, Fiskum G. Mitochondrial mechanisms of neural cell apoptosis. *J Neurochem* 2004; 90 (6): 1281–1289.
92. Dawson VL, Dawson TM. Nitric oxide neurotoxicity. *J Chem Neuroanat* 1996; 10 (3–4): 179–190.
93. Chalmers S, Nicholls DG. The relationship between free and total calcium concentrations in the matrix of liver and brain mitochondria. *J Biol Chem* 2003; 278 (21): 19062–19070.
94. Lee HK, Cho YM, Kwak SH, Lim S, Park KS, Shim EB. Mitochondrial dysfunction and metabolic syndrome-looking for environmental factors. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1800 (3): 282–289.
95. Schaefer AM, Taylor RW, Turnbull DM, Chinnery PF. The epidemiology of mitochondrial disorders – past, present and future. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1659 (2–3): 115–120.
96. DiMauro S, Hirano M. Mitochondrial encephalomyopathies: an update. *Neuromuscul Disord* 2005; 15 (4): 276–286.
97. Munakata K, Tanaka M, Mori K et al. Mitochondrial DNA 3644T>C mutation associated with bipolar disorder. *Genomics* 2004; 84 (6): 1041–1050.
98. Munakata K, Iwamoto K, Bundo M, Kato T. Mitochondrial DNA 3243A>G mutation and increased expression of LARS2 gene in the brains of patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2005; 57 (5): 525–532.
99. Kasahara T, Kubota M, Miyauchi T, Noda Y, Mouri A, Nabeshima T, Kato T. Mice with neuron-specific accumulation of mitochondrial DNA mutations show mood disorder-like phenotypes. *Mol Psychiatry*. 2006; 11 (6): 577–593, 523.
100. Hahn CG, Gomez G, Restrepo D et al. Aberrant intracellular calcium signaling in olfactory neurons from patients with bipolar disorder. *Am J Psychiatry* 2005; 162 (3): 616–618.
101. Sproule DM, Kaufmann P. Mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes: basic concepts, clinical phenotype, and therapeutic management of MELAS syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1142: 133–158.
102. Fattal O, Budur K, Vaughan AJ, Franco K. Review of the literature on major mental disorders in adult patients with mitochondrial diseases. *Psychosomatics* 2006; 47 (1): 1–7.
103. Kato T, Kato N. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2000; 2 (3 Pt 1): 180–190.
104. Koene S, Kozicz TL, Rodenburg RJ, Verhaak CM, de Vries MC, Wortmann S, van de Heuvel L, Smeitink JA, Morava E. Major depression in adolescent children consecutively diagnosed with mitochondrial disorder. *J Affect Disord* 2009; 114 (1–3): 327–332.
105. Miyaoka H, Suzuki Y, Taniyama M et al. Mental disorders in diabetic patients with mitochondrial transfer RNA (Leu) (UUR) mutation at position 3243. *Biol Psychiatry* 1997; 42 (6): 524–526.
106. Lacey CJ, Salzberg MR. Obsessive-compulsive disorder with mitochondrial disease. *Psychosomatics* 2008; 49 (6): 540–542.
107. Burnett BB, Gardner A, Boles RG. Mitochondrial inheritance in depression, dysmotility and migraine? *J Affect Disord* 2005; 88 (1): 109–116.
108. Jette N, Patten S, Williams J, Becker W, Wiebe S. Comorbidity of migraine and psychiatric disorders – a national population-based study. *Headache* 2008; 48 (4): 501–516.
109. McIntyre RS, Soczynska JK, Konarski JZ et al. Should Depressive Syndromes Be Reclassified as “Metabolic Syndrome Type II”? *Ann Clin Psychiatry* 2007; 19 (4): 257–264.

110. Kato T, Ishiwata M, Mori K, Washizuka S, Tajima O, Akiyama T, Kato N. Mechanisms of altered Ca²⁺ signalling in transformed lymphoblastoid cells from patients with bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 2003; 6 (4): 379–389.
111. Neustadt J, Pieczenik SR. Medication-induced mitochondrial damage and disease. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52 (7): 780–788.
112. Orth M, Schapira AH. Mitochondria and degenerative disorders. *Am J Med Genet* 2001; 106 (1): 27–36.
113. Stork C, Renshaw PF. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder: evidence from magnetic resonance spectroscopy research. *Mol Psychiatry* 2005; 10 (10): 900–919.
114. Beal MF. Therapeutic approaches to mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2009; 15 (Suppl 3): S189–S194.
115. Chaturvedi RK, Beal MF. Mitochondrial approaches for neuroprotection. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1147: 395–412.
116. Liu J, Ames BN. Reducing mitochondrial decay with mitochondrial nutrients to delay and treat cognitive dysfunction, Alzheimer's disease, and Parkinson's disease. *Nutr Neurosci* 2005; 8 (2): 67–89.
117. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 2005; 12 (10): 1161–1208.
118. Gutteridge JM, Halliwell B. Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 393 (4): 561–564.
119. Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C. Systematic review: primary and secondary prevention of gastrointestinal cancers with antioxidant supplements. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28 (6): 689–703.
120. Raboch J. Kognitivní funkce, stárnutí a stravovací návyky. *Čes a slov Psychiat* 2010; 106 (2): 81–86.
121. Kato T, Kunugi H, Nanko S, Kato N. Mitochondrial DNA polymorphisms in bipolar disorder. *J Affect Disord* 2001; 62 (3): 151–164.
122. Oldfors A, Tulinus M. Mitochondrial encephalomyopathies. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003; 62 (3): 217–227.
123. Jou S-H, Chiu N-Y, Liu C-S. Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorders. *Chang Gung Med J* 2009; 32 (4): 370–379.
124. Rezin GT, Amboni G, Zugno AI, Quevedo J, Streck EL. Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorders. *Neurochem Res* 2009; 34 (6): 1021–1029.
125. Shao L, Martin MV, Watson SJ et al. Mitochondrial involvement in psychiatric disorders. *Ann Med* 2008; 40 (4): 281–295.
126. Sun X, Wang JF, Tseng M, Young LT. Downregulation in components of the mitochondrial electron transport chain in the postmortem frontal cortex of subjects with bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci* 2006; 31 (3): 189–196.
127. Wang J-F. Defects of mitochondrial electron transport chain in bipolar disorder: implications for mood-stabilizing treatment. *Can J Psychiatry* 2007; 52 (12): 753–762.
128. Kato T. Mitochondrial dysfunction as the molecular basis of bipolar disorder: therapeutic implications. *CNS Drugs* 2007; 21 (1): 1–11.
129. Konradi C, Eaton M, MacDonald ML, Walsh J, Benes FM, Heckers S. Molecular evidence for mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2004; 61 (3): 300–308.
130. Fattal O, Link J, Quinn K, Cohen BH, Franco K. Psychiatric comorbidity in 36 adults with mitochondrial cytopathies. *CNS Spectr* 2007; 12 (6): 429–438.
131. Fišar Z, Hroudová J, Raboch J. Inhibition of monoamine oxidase activity by antidepressants and mood stabilizers. *Neuro Endocrinol Lett* 2010; 31 (5): 645–656.
132. Hwang J, Zheng LT, Ock J et al. Inhibition of glial inflammatory activation and neurotoxicity by tricyclic antidepressants. *Neuropharmacology* 2008; 55 (5): 826–834.
133. Dykens JA, Jamieson JD, Marroquin LD et al. In vitro assessment of mitochondrial dysfunction and cytotoxicity of nefazodone, trazodone, and buspirone. *Toxicol Sci* 2008; 103 (2): 335–345.
134. Hroudová J, Fišar Z. Activities of respiratory chain complexes and citrate synthase influenced by pharmacologically different antidepressants and mood stabilizers. *Neuro Endocrinol Lett* 2010; 31 (3): 336–342.
135. Kronenberg G, Colla M, Endres M. Folic acid, neurodegenerative and neuropsychiatric disease. *Curr Mol Med* 2009; 9 (3): 315–323.
136. Gould TD, Manji HK. Glycogen synthase kinase-3: a putative molecular target for lithium mimetic drugs. *Neuropsychopharmacology* 2005; 30 (7): 1223–1237.
137. Hoshi M, Takashima A, Noguchi K et al. Regulation of mitochondrial pyruvate dehydrogenase activity by tau protein kinase I/glycogen synthase kinase 3β in brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93 (7): 2719–2723.
138. Lambert PD, McGirr KM, Ely TD, Kilts CD, Kuhar MJ. Chronic lithium treatment decreases neuronal activity in the nucleus accumbens and cingulate cortex of the rat. *Neuropsychopharmacology* 1999; 21 (2): 229–237.
139. Maurer IC, Schippel P, Volz H-P. Lithium-induced enhancement of mitochondrial oxidative phosphorylation in human brain tissue. *Bipolar Disord* 2009; 11 (5): 515–522.
140. Quiroz JA, Gould TD, Manji HK. Molecular effects of lithium. *Mol Interv* 2004; 4 (5): 259–272.
141. Yildiz-Yesiloglu A, Ankerst DP. Neurochemical alterations of the brain in bipolar disorder and their implications for pathophysiology: a systematic review of the in vivo proton magnetic resonance spectroscopy findings. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2006; 30 (6): 969–995.
142. Jimerson DC, Post RM, Carman JS et al. CSF calcium: clinical correlates in affective illness and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1979; 14 (1): 37–51.
143. Wojda U, Salinska E, Kuznicki J. Calcium ions in neuronal degeneration. *IUBMB Life* 2008; 60 (9): 575–590.
144. Kato T. Role of mitochondrial DNA in calcium signaling abnormality in bipolar disorder. *Cell Calcium* 2008; 44 (1): 92–102.
145. Armstrong JS. Mitochondrial medicine: pharmacological targeting of mitochondria in disease. *Br J Pharmacol* 2007; 151 (8): 1154–1165.