

MGR FARM. ANNA PIOTROWSKA

**BADANIE MECHANIZMU PRZECIWDEPRESYJNEGO
DZIAŁANA SOLI CHROMU III**

**ROZPRAWA
NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK FARMACEUTYCZNYCH**

**UNIwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
Wydział Farmaceutyczny**

W KRAKOWIE

**PROMOTOR
Prof. Dr hab. Gabriel Nowak**

KRAKÓW 2013

Spis treści

WSTEP.....	7
ZABURZENIA AFEKTYWNE	7
DEFINICJA I EPIDEMIOLOGIA ZABURZEŃ AFEKTYWNYCH	7
FARMAKOTERAPIA DEPRESJI	8
DEPRESJA ATYPOWA	10
Leczenie depresji atypowej	12
DYSTYMIA	13
Kryteria diagnostyczne dystymii.....	14
Leczenie dystymii	14
METODY AUGMENTACJI FARMAKOTERAPII ZABURZEŃ AFEKTYWNYCH	16
Strategie augmentacji	16
JONY METALI W PSYCHOFARMAKOLOGII DEPRESJI	18
Lit	18
Cynk	19
Magnez	20
CHROM JAKO BIOPIERWIASTEK I SUPLEMENT DIETY	21
ZAPOTRZEBOWANIE NA CHROM III	22
CHROM- FARMAKOKINETYKA BIOPIERWIASTKA.....	23
Wełnianie chromu po podaniu doustnym.....	23
Tkankowa i komórkowa dystrybucja chromu	24
Wydalanie chromu z organizmu.....	26
WŁAŚCIWOŚCI FIZJOLOGICZNE CHROMU	26
Chrom i metabolizm węglowodanów.....	26
Mechanizm działania hipoglikemizującego chromu III- rola chromoduliny	27
Chrom a hiperinsulinemia i zaburzenia kognitywne	30

Chrom i metabolizm lipidów	32
Inne właściwości chromu w ustroju	33
TOKSYCZNOŚĆ ZWIĄZKÓW CHROMU	34
Toksyczność związków chromu VI	34
Toksyczność związków chromu III.....	35
Biomonitoring działania genotoksycznego związków chromu u ludzi	36
Bioakumulacja związków chromu	37
Efekt prenatalnej ekspozycji na chrom III.....	38
DZIAŁANIE PRZECIWDOPRESYJNE CHROMU	39
BADANIA PRZEDKLINICZNE.....	39
BADANIA KLINICZNE	40
<u>CEL PRACY.....</u>	42
PYTANIA BADAWCZE.....	42
<u>MATERIAŁY I METODY.....</u>	43
ZWIERZĘTA LABORATORYJNE	43
BADANIA BEHAWIORALNE.....	43
TEST PORSOLTA U MYSZY	43
TEST PORSOLTA U SZCZURÓW.....	43
BADANIE SPONTANICZNEJ AKTYWNOŚCI LOKOMOTORYCZNEJ MYSZY	44
TEST PODNIESIONEGO KRZYŻA U SZCZURÓW.....	44
BADANIE AKTYWNOŚCI EKSPLOKACYJNEJ PRZY ZASTOSOWANIU UNIESIONEGO LABIRYNTU KRZYŻOWEGO.....	45
ZWIĄZKI STOSOWANE W TESTACH BEHAWIORALNYCH	46
BADANIA ANALITYCZNE – TESTY SATURACYJNE.....	47
PRZYGOTOWANIE TKANEK DO BADAŃ SATURACYJNYCH	47
BADANIE GĘSTOŚCI RECEPTORÓW B-ADRENERGICZNYCH - ANALIZA SATURACYJNA	47

BADANIE GĘSTOŚCI RECEPTORÓW A1-ADRENERGICZNYCH - ANALIZA SATURACYJNA.....	48
BADANIE STĘŻENIA BIAŁKA METODĄ BRADFORDA	48
BADANIA ANALITYCZNE – TESTY INHIBICYJNE	49
BADANIE POWINOWACTWA CHROMU DO RECEPTORÓW ADRENERGICZNYCH A ₁	49
BADANIE POWINOWACTWA CHROMU DO RECEPTORÓW ADRENERGICZNYCH B ₁	49
BADANIE POWINOWACTWA CHROMU DO RECEPTORÓW SEROTONINOWYCH 5-HT _{1A}	50
BADANIE POWINOWACTWA CHROMU DO TRANSPORTERA SEROTONINY (5HT-T).....	50
<u>WYNIKI.....</u>	51
TESTY BEHAWIORALNE	51
BADANIE DAWKOZALEŻNOŚCI EFEKTU PRZECIWDEPRESYJNEGO WYWOŁANEGO JEDNORAZOWYM PODANIEM SOLI CHROMU III W TEŚCIE PORSOLTA U MYSZY	51
BADANIE ZMIAN SPONTANICZNEJ AKTYWNOŚCI LOKOMOTORYCZNEJ WYWOŁANEJ JEDNORAZOWYM PODANIEM SOLI CHROMU III U MYSZY	52
WPLYW LIGANDÓW RECEPTORÓW GLUTAMINIANERGICZNYCH NMDA I AMPA NA DZIAŁANIE PRZECIWDEPRESYJNE SOLI CHROMU III W TEŚCIE PORSOLTA U MYSZY	53
BADANIE ZMIAN SPONTANICZNEJ AKTYWNOŚCI LOKOMOTORYCZNEJ WYWOŁANEJ ŁĄCZNYM PODANIEM SOLI CHROMU III I LIGANDÓW RECEPTORÓW GLUTAMINIANERGICZNYCH.....	54
WPLYW LIGANDÓW RECEPTORÓW SEROTONINERCZICZNYCH 5-HT ₁ I 5-HT _{2A} NA DZIAŁANIE PRZECIWDEPRESYJNE SOLI CHROMU III W TEŚCIE PORSOLTA U MYSZY	55
BADANIE ZMIAN SPONTANICZNEJ AKTYWNOŚCI LOKOMOTORYCZNEJ WYWOŁANEJ ŁĄCZNYM PODANIEM SOLI CHROMU III I LIGANDÓW RECEPTORÓW SEROTONINERGICZNYCH.....	56
WPLYW LIGANDÓW RECEPTORÓW ADRENERGICZNYCH A I B NA DZIAŁANIE PRZECIWDEPRESYJNE SOLI CHROMU III W TEŚCIE PORSOLTA U MYSZY	57
BADANIE ZMIAN SPONTANICZNEJ AKTYWNOŚCI LOKOMOTORYCZNEJ WYWOŁANEJ ŁĄCZNYM PODANIEM SOLI CHROMU III I LIGANDÓW RECEPTORÓW ADRENERGICZNYCH	58
WPLYW LIGANDÓW RECEPTORÓW DOPAMINERGICZNYCH D ₁ I D ₂ NA DZIAŁANIE PRZECIWDEPRESYJNE SOLI CHROMU III W TEŚCIE PORSOLTA U MYSZY	59

BADANIE ZMIAN SPONTANICZNEJ AKTYWNOŚCI LOKOMOTORYCZNEJ WYWOŁANEJ ŁĄCZNYM PODANIEM SOLI CHROMU III I LIGANDÓW RECEPTORÓW DOPAMINERGICZNYCH	60
BADANIE WZMACNIANIA EFEKTU PRZECIWDOPRESYJNEGO LPD PRZEZ JEDNORAZOWE PODANIE SOLI CHROMU III W TEŚCIE PORSOLTA U MYSZY	62
BADANIE ZMIAN SPONTANICZNEJ AKTYWNOŚCI LOKOMOTORYCZNEJ WYWOŁANEJ ŁĄCZNYM PODANIEM SOLI CHROMU III I LPD	64
BADANIE DAWKOZALEŻNOŚCI EFEKTU PRZECIWDOPRESYJNEGO WYWOŁANEGO JEDNORAZOWYM PODANIEM SOLI CHROMU III W TEŚCIE PORSOLTA U SZCZURÓW	65
BADANIE ZMIAN BEHAWIORALNYCH WYWOŁANYCH PODANIEM SOLI CHROMU III W TEŚCIE UNIESIONEGO LABIRYNTU KRZYŻOWEGO U SZCZURÓW	67
TESTY ANALITYCZNE.....	70
BADANIE ZMIAN GĘSTOŚCI RECEPTORÓW ADRENERGICZNYCH B PO WIELOKROTNYM PODANIU SOLI CHROMU III W KORZE FRONTALNEJ SZCZURA	70
BADANIE ZMIAN GĘSTOŚCI RECEPTORÓW ADRENERGICZNYCH A ₁ PO WIELOKROTNYM PODANIU SOLI CHROMU III W KORZE FRONTALNEJ SZCZURA	71
BADANIE POWINOWACTWA CHROMU DO WYBRANYCH RECEPTORÓW W MÓZGU SZCZURA.....	72
<u>DYSKUSJA.....</u>	73
DLACZEGO NALEŻY BADAĆ MECHANIZMY DZIAŁANIA NOWYCH LEKÓW PRZECIWDOPRESYJNYCH	73
CHROM JAKO ŚRODEK O DZIAŁANIU PRZECIWDOPRESYJNYM. BADANIE ZALEŻNOŚCI DAWKA-EFEKT	74
WPLYW MODULACJI AKTYWNOŚCI RECEPTORÓW GLUTAMINIANERGICZNYCH NMDA I AMPA NA DZIAŁANIE PRZECIWDOPRESYJNE SOLI CHROMU III W TEŚCIE PORSOLTA U MYSZY	77
WPLYW MODULACJI AKTYWNOŚCI RECEPTORÓW SEROTONINERGICZNYCH 5-HT _{1A} I 5-HT _{2A} NA DZIAŁANIE PRZECIWDOPRESYJNE SOLI CHROMU III W TEŚCIE PORSOLTA U MYSZY	82
WPLYW MODULACJI AKTYWNOŚCI RECEPTORÓW ADRENERGICZNYCH A I B NA DZIAŁANIE PRZECIWDOPRESYJNE SOLI CHROMU III W TEŚCIE PORSOLTA U MYSZY	84
WPLYW MODULACJI AKTYWNOŚCI RECEPTORÓW DOPAMINERGICZNYCH D ₁ I D ₂ NA DZIAŁANIE PRZECIWDOPRESYJNE SOLI CHROMU III W TEŚCIE PORSOLTA U MYSZY	88

BADANIE WZMACNIANIA EFEKTU PRZECIWDEPRESYJNEGO LPD PRZEZ JEDNORAZOWE PODANIE SOLI CHROMU III W TEŚCIE PORSOLTA U MYSZY	90
CHROM I DZIAŁANIE PRZECIWLĘKOWE.	92
<u>PODSUMOWANIE.....</u>	95
<u>STRESZCZENIE</u>	98
<u>ABSTRACT</u>	99
<u>PIŚMIENNICTWO.....</u>	100
<u>ŹRÓDŁA INTERNETOWE.....</u>	117
<u>SPIS TABEL I RYSUNKÓW</u>	118
SPIS TABEL.....	118
SPIS RYSUNKÓW	119
WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW	122

Wstęp

Zaburzenia afektywne

Definicja i epidemiologia zaburzeń afektywnych

Zaburzenia afektywne to grupa endogennych schorzeń, w których okresowo występują zaburzenia nastroju, emocji i aktywności oraz w mniejszym stopniu zaburzenia myślenia. Manifestują się występowaniem zespołów depresyjnych i hipomaniakalnych. Choroby afektywne usystematyzowane zostały w dwóch głównych klasyfikacjach chorób i problemów zdrowotnych: DSM-IV (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) oraz obowiązującym na terenie Polski ICD-10 (*International Statistical Classification of Disease and Related Problems*).

Epizod maniakalny

F31 - Zaburzenia afektywne dwubiegunowe

F32 - Epizod depresyjny

F33 - Zaburzenia depresyjne nawracające

F34 - Uporczywe zaburzenia nastroju (afektywne)

F34.0 - Cyklotymia

F34.1 - Dystymia

F38 - Inne zaburzenia nastroju (afektywne)

F39 - Zaburzenia nastroju (afektywne) nie określone

Tabela 1 Podział zaburzeń nastroju według klasyfikacji ICD-10

Depresja jest najczęściej występującym zaburzeniem psychicznym i oznacza rozstrój psychiczny z zahamowaniem afektu. Zmiany nastroju są nieuzasadnione tj. nie odpowiadają sytuacji życiowej w odróżnieniu np. do reakcji żałoby czy smutku (Pużyński, 2005).

Depresja jest wciąż narastającym problemem społecznym oraz ekonomicznym. Szacuje się, że dotyka 121 milionów ludzi na świecie (w Polsce na depresję choruje 1,2 - 1,5 miliona osób), a roczna chorobowość wynosi 10-15% (a). Wykazano, że większą podatnością charakteryzują się kobiety: chorują 2–3 razy częściej. Wynikać to może między innymi z częstości występowania subklinicznych zaburzeń hormonalnych, częste jest też zjawisko depresji poporodowej, która utrzymywać się może nawet do pierwszego roku macierzyństwa (b).

W 2002 roku Katedra i Klinika Psychiatrii AM we Wrocławiu przeprowadziła badania farmakoekonomiczne dotyczące prospektywnej oceny przebiegu depresji oraz jej nawrotów. Oceniono następstwa kliniczne, społeczne oraz ekonomiczne porównując koszty związane z pierwszym, drugim oraz kolejnym epizodem depresji. Średnie koszty leczenia (medyczne koszty bezpośrednio, tj. pobyt w szpitalu, konsultacje specjalistyczne, leczenie farmakologiczne, leczenie nefarmakologiczne, badania laboratoryjne, diagnostyka) jednego pacjenta z pierwszym epizodem depresji w trakcie 6 miesięcy wyniosły 1855 PLN i były ponad 2 razy niższe od średnich kosztów leczenia pacjenta z trzecim lub kolejnym epizodem: 3849 PLN (c).

Farmakoterapia depresji

W 1956 roku Nathan Kline zaobserwował działanie przeciwdepresyjne iproniazydu (nowego leku przeciwprątkowego stosowanego w leczeniu gruźlicy). Rok później (1957) Roland Kuhn wprowadził do leczenia zaburzeń depresyjnych imipraminę, zaprojektowaną początkowo jako lek przeciwpsychotyczny (strukturalne podobieństwo do chlorpromazyny). Ich odkrycia były raczej przypadkowe i opierały się w dużej mierze na starannych obserwacjach klinicznych z pominięciem etapu badań przedklinicznych. Imipramina i iproniazyd były zarzewiem powstania dwóch dużych grup leków przeciwdepresyjnych: TLPD i IMAO. Kolejne lata przynosiły odkrycia leków działających bardziej selektywnie (SSRI, IMAO-A, IMAO-B) oraz leków o nietypowym mechanizmie działania (np. mianseryna, trazodon, tianeptyna, bupropion) (Maj, 2000).

Dynamiczny rozwój psychofarmakologii manifestujący się między innymi wprowadzaniem na rynek wciąż nowych leków przeciwdepresyjnych, przyczynił się w znaczącym stopniu do zwiększenia komfortu życia chorych na depresję, a za najbardziej znaczące osiągnięcia należy uznać:

- Skrócenie czasu utrzymywania się ciężkich zaburzeń depresyjnych
- Możliwość leczenia ambulatoryjnego
- Prewencja nawrotów choroby
- Zawężenie wskazań do stosowania elektrowstrząsów

Inhibitory wychwytu zwrotnego NA i 5-HT
Trójpierścieniowe o działaniu receptorowym (TLPD) imipramina, dezipramina, amitriptylina, klomipramina
Nie-trójpierścieniowe bez działania receptorowego: wenlafaksyna, milnacipran
Selektywne inhibitory wychwytu NA (SNRI)
Maprotylina, reboksetyna
Selektywne inhibitory wychwytu 5-HT (SSRI)
Citalopram, fluoksetyna, sertralina, fluwoksamina, paroksetyna
Inhibitory MAO
Nieselektywne: nialamid, tranylcypromina
Selektywne MAO-A: klorgilina, moklobemid
Nietypowe
timipramina, mianseryna, mirtazapina, trazodon, tianeptyna, bupropion, amineptyna

Tabela 2 Podział leków przeciwdepresyjnych (za Maj, 2000)

Najczęściej stosowany podział leków przeciwdepresyjnych uwzględnia ich mechanizm działania po podaniu jednorazowym. Stoi to jednak w sprzeczności z obserwacjami klinicznymi, gdzie efekt terapeutyczny obserwowany jest po 2-4 tygodniach leczenia (Maj, 2000). Różnice pomiędzy tymi dwoma efektami (po podaniu pojedynczym oraz po podaniu wielokrotnym) najdobitniej przedstawiają dwa przykłady:

1. Stosowane jednorazowo LPD nie wpływają na układ DA, podanie wielokrotne wywołuje jednak wtórne zmiany adaptacyjne w tym układzie
2. SSRI podane jednorazowo aktywują układ serotonergiczny, stosowane długotrwale mogą ten układ hamować

Depresja atypowa

Pierwsze doniesienia na temat depresji atypowej sięgają przełomu lat 50 i 60-tych XX wieku. W tym czasie wyodrębniono grupę pacjentów z objawami depresyjnymi, którzy nie reagowali lub reagowali w sposób niezadowalający na terapie TLPD lub elektrowstrząsami, odpowiadali natomiast na terapię IMAO (Landowski i Rudnik, 2005). Pod koniec lat 80-tych XX wieku pojęcie depresji atypowej zaczęto wiązać z określonym obrazem klinicznym. Grupa badaczy z Uniwersytetu Columbia jako pierwsza opracowała **kryteria diagnostyczne depresji atypowej** (Stewart i wsp., 1993).

<p>Reaktywność nastroju oraz co najmniej dwie spośród czterech cech:</p>
<p>-hiperfagia</p>
<p>-hipersomnia</p>
<p>-ociężałość</p>
<p>-wrażliwość na odrzucenie</p>

Tabela 3 Depresja atypowa – kryteria Uniwersytetu Columbia (za Stewart i wsp., 1993)

Reaktywność nastroju jest podstawowym i niezbędnym warunkiem rozpoznania depresji atypowej. Definiuje się ją jako zdolność do odczuwania przyjemności w odpowiedzi na pozytywne bodźce (cieszenia się, rozweselenia). Reaktywność nastroju ocenia się za obecną gdy przejściowa poprawa nastroju osiąga 50% tej, która uznawana jest za normę (teoretyczne 100%).

Hipersomnię definiowano jako obecność 10-godzinne snu przez co najmniej 3 dni w tygodniu, natomiast **hiperfagię** jako znaczny wzrost apetytu czy jedzenia, lub przyrost masy ciała o co najmniej 5 kg w ciągu 3 miesięcy. **Uczucie ociężałości** rozumiano jako fizyczne „sparaliżowanie”, trwające co najmniej 1 godzinę przez 3 dni w tygodniu, lub częściej.

Wrażliwość na odrzucenie powinna być obecna przez co najmniej 2 lata w okresie po 18 roku życia. Cecha ta prowadzi do istotnego zaburzenia funkcjonowania (burzliwego przebiegu związków intymnych, unikania ich w obawie przed odrzuceniem, niepodejmowaniu wielu działań w obawie przed krytyką) (Stewart i wsp., 1993).

Badania grupy z Uniwersytetu Columbia dowodzą, że tak zdefiniowana grupa pacjentów cechuje się niskim prawdopodobieństwem skuteczności terapeutycznej TLPD (Landowski i Rudnik, 2005).

W klasyfikacji DSM-IV nie ma mowy o depresji atypowej, a jedynie o depresji z cechami atypowymi. Podano w niej warunki wykluczające: obecność objawów melancholii lub katatonii, które pozwoliłyby na zakwalifikowanie obrazu klinicznego jako depresji z cechami odpowiednio melancholii czy katatonii. Klasyfikacja ICD-10 nie uwzględnia depresji atypowej czy depresji z cechami atypowymi.

<i>Wskaźnik</i>	<i>Melancholia</i>	<i>Depresja atypowa</i>
Reaktywność nastroju	-	+
Łaknienie	↓	↑
Sen	↓	↑
Latencja fazy REM	↓	=
CRH w płynie mózgowo-rdzeniowym	↑	↓
DST	↑	=/↓
Wrażliwość postsynaptycznego układu NA-gicznego (α_2)	↓	=
Wrażliwość postsynaptycznego układu 5-HT-gicznego (5-HT_{2C})	↑	↓

Tabela 4 Melancholia vs. depresja atypowa: wskaźniki biologiczne: odniesione do normy (za Landowski i Rudnik, 2005)

Częstość depresji z cechami atypowymi (kryteria DMS-IV) w populacji ogólnej wynosi 4%. Zdecydowanie częściej zapadają na nią kobiety (4,5%) niż mężczyźni (1,2%). Wśród pacjentów hospitalizowanych z powodu depresji 33% wykazuje objawy atypowości, a odsetek ten, wśród pacjentów leczonych ambulatoryjnie wynosi 30-60%.

Dowiedziano również, że depresja z objawami atypowymi częściej występuje u pacjentów z rozpoznaniem zaburzenia afektywnego dwubiegunowego. Wykazano, że epizody mieszane (duża depresja z objawami hipomanii) bardzo często wykazuje cechy atypowości (Landowski i Rudnik, 2005).

Leczenie depresji atypowej

Pierwsza, historyczna definicja podkreślała oporność depresji atypowej na terapie elektrowstrząsami oraz trójcyklicznymi lekami przeciwdepresyjnymi (TLPD). Dlatego też, jako leki pierwszego rzutu stosuje się IMAO, a ostatnio także SSRI.

Skuteczność terapeutyczną wykazują przede wszystkim leki działające na układ serotonergiczny, co jest zgodne z wynikami badań sugerujących zaburzenie pracy układu serotonergicznego, przy braku zaburzeń układu noradrenergicznego (Landowski i Rudnik, 2005). W zaburzeniach afektywnych z cechami atypowymi niezależnie od obecności zaburzeń osobowości dużą skuteczność wykazuje psychoterapia poznawcza. Jej skuteczność jest porównywalna z efektami leczenia fenelzyną (Jarrett i wsp., 1999).

<i>Depresja z cechami atypowymi</i>	<i>Schemat farmakoterapii</i>
Choroba afektywna dwubiegunowa	Sole litu + IMAO lub SSRI
Sezonowa choroba afektywna	Fototerapia, IMAO lub SSRI
Współistniejące zaburzenia osobowości (borderline)	IMAO lub SSRI + psychoterapia
Duża depresja, dystymia	IMAO, SSRI

Tabela 5 Depresja atypowa-schemat terapii (za Landowski i Rudnik, 2005).

Dystymia

Od czasu wprowadzenia przez Fleminga (1814) pojęcia dystymii używane jest ono w wielu znaczeniach, choć zawsze określa stan z zaburzeniami afektu. Od około dwudziestu lat chorobie określanej mianem dystymii próbuje się nadać większą rangę, co jednak udało się tylko częściowo.

Dystymia to wieloznaczne psychiatrycznie pojęcie. Oznaczać może „podprogową” postać depresji, zaburzenie osobowości czy też powikłanie zaburzeń lękowych lub nawet uzależnień. Napady dystymiczne są jedną z postaci padaczki, co dodatkowo komplikuje definiowanie tego pojęcia.

Obecnie, zgodnie z wytycznymi ICD-10 pojęcie dystymii obejmuje zaburzenia definiowane kiedyś jako:

- Nerwicę depresyjną,
- Depresyjne zaburzenia osobowości,
- Depresję lękową przewlekłą

Dystymia jest zaburzeniem przewlekłym. Początek choroby jest trudny do określenia (często rozwija się powoli). Do najbardziej charakterystycznych objawów należy zaliczyć: umiarkowane obniżenie nastroju, gorsze samopoczucie, niską samoocenę oraz uczucie przewlekłego zmęczenia.

W odróżnieniu do epizodów depresji dużej pacjenci zazwyczaj wywiązują się z obowiązków rodzinnych czy zawodowych. Złe samopoczucie wykazuje fluktuacje, i jest w dużej mierze uzależnione od aktualnych wydarzeń. Odnotowuje się dobowe wahania nastroju (podobnie jak w depresji) oraz zaburzenia snu w postaci nadmiernej senności (podobnie jak w depresji atypowej). Częstym objawem dodatkowym jest lęk wolnoplłynący (Nitka-Siemińska i wsp., 2005).

Grupa wiekowa	<i>Częstość zachorowalności na dystymię</i>
Dzieci	0,6-4,6%
Młodzież	1,6-8%
Dorośli	3-5%
Osoby po 65 roku życia	1-1,5%

Tabela 6 Częstość występowania dystymii w różnych grupach wiekowych (Nobile i wsp., 2003, Waintraub i Guelfi, 1998).

Nieleczona dystymia prowadzi do znacznego pogorszenia funkcjonowanie pacjenta w społeczeństwie, dyskomfortu psychicznego i niezadowolenia. Odnotowywano również przypadki udanych prób samobójczych w przebiegu dystymii (Nitka-Siemińska i wsp., 2005).

Dystymia jest zaburzeniem o stosunkowo dużym rozpowszechnieniu (tabela 6). W populacji ogólnej może ono sięgać 3-5%. Wśród osób leczonych przewlekłe odsetek ten wzrasta nawet do 15%. Zaznacza się 2-5 krotna przewaga zachorowalności kobiet (Stefansson i wsp., 1991).

Kryteria diagnostyczne dystymii

Według klasyfikacji ICD-10 aby rozpoznać u pacjenta dystymię powinien on spełnić następujące kryteria:

1. Występowanie stałego lub nawracającego obniżenia nastroju w okresie trwającym co najmniej 2 lata. Należy wykluczyć obecność epizodów hipomanii
2. Żaden z obecnych w tym czasie epizodów depresji nie jest na tyle ciężki, aby spełniać kryteria lekkiego epizodu depresyjnego (F 33.0)
3. W ciągu niektórych okresów choroby występują co najmniej 3 spośród niżej wymienionych objawów: zmniejszenie energii lub aktywności, zaburzenia snu, mała wiara w siebie i poczucie niedostosowania, zaburzenia koncentracji, płaczliwość, zmniejszenie zainteresowania seksem lub satysfakcji z aktywności seksualnej oraz innych czynności sprawiających przyjemność, poczucie bezradności lub zmartwienia, wrażenie, że codzienne trudności są niemożliwe do przewyciężenia, pesymizm dotyczący przyszłości lub nadmierne rozpamiętywanie przeszłości, wycofanie społeczne, zmniejszenie rozmowności (Nitka-Siemińska i wsp., 2005)

Leczenie dystymii

W terapii zaburzeń dystymicznych zastosowanie ma zarówno psycho-, jak i farmakoterapia. Za najbardziej skuteczną metodę psychoterapii uważa się terapię poznawczą oraz interpersonalną (Bilikiewicz i wsp., 2002). W farmakoterapii używane są te same leki, które stosuje się przy leczeniu depresji (Tabela 7).

<i>Lek</i>	<i>Zakres dawek</i>	<i>Lek</i>	<i>Zakres dawek</i>
Amitryptylina	100-300mg	Citalopram	20-60mg
Dezypramina	100-300mg	Flueosetyna	20-60mg
Doksepina	100-300mg	Fluwoksamina	100-300mg
Dibenzepina	240-720mg	Paroksetyna	20-50mg
Imipramina	100-300mg	Sertralina	50-200mg
Klomipramina	100-250mg	Mianseryna	60-120mg
Maprotylina	150-225mg	Milnacipran	100-200mg
Opipramol	100-300mg	Mirtazapina	15-45mg
Trazodon	200-600mg	Maklobemid	150-600mg
Wenlafaksyna	75-225mg	Tianeptyna	12,5-37,5mg

Tabela 7 Wybór najczęściej stosowanych leków i zakresy dawek dobowych w farmakoterapii dystymii (za Nitka-Siemińska i wsp., 2005).

Metody augmentacji farmakoterapii zaburzeń afektywnych

Wprowadzenie leków przeciwdepresyjnych było niezaprzeczalnym osiągnięciem psychofarmakologii, nie rozwiązało jednak wszystkich problemów związanych z farmakoterapią zaburzeń afektu. Wciąż narastającym zjawiskiem jest lekooporność, definiowana jako nieskuteczność, lub skuteczność nieadekwatna właściwie dobranej farmakoterapii. W optymalnych warunkach (12 tygodni farmakoterapii przy pełnej współpracy pacjenta) istnieje jedynie 60-70% prawdopodobieństwo, że lek pierwszego wyboru osiągnie pożądany skutek (Thase, 2007a). Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne (APA) zaleca, że jeżeli co najmniej umiarkowana poprawa nie występuje po 6-8 tygodniach od zastosowania pierwszej farmakoterapii, leczenie powinno być zmodyfikowane, co może oznaczać:

- Zwiększenie dawki stosowanego leku,
- Zmianę leku lub połączenie dwóch LPD o różnych mechanizmach działania (tzw. kojarzenie),
- Zastosowanie dodatkowego leku nie będącego lekiem przeciwdepresyjnym, lecz zwiększającego prawdopodobieństwo wystąpienia efektu klinicznego, czyli zastosowanie augmentacji terapii

Jednym z argumentów zachęcających do stosowania politerapii w zaburzeniach afektu są wyniki badania Yerevanian (2007), które wskazują, że ryzyko pojawienia się zachowań samobójczych jest znacznie większe w grupie chorych leczonych jedynie LPD w porównaniu z grupą chorych leczonych terapią skojarzoną.

Strategie augmentacji

Benzodiazepiny jako czynnik wzmacniający działanie LPD były stosowane już od lat 60-tych XX wieku. Nie zwiększają one znacznie prawdopodobieństwa skuteczności terapii, jednak dzięki działaniu przeciwlękowemu i uspokajającemu znacząco ułatwiają współpracę z pacjentem, zwłaszcza w początkowym okresie terapii. Mimo niebezpieczeństwa wystąpienia zależności lekowych stosowane są również długotrwale u pacjentów lekoopornych z utrzymującymi się ciężkimi zaburzeniami depresyjnymi (Thase, 2007 a).

Leki przeciwpsychotyczne wprowadzono do terapii depresji na przełomie lat 60-tych i 70-tych XX wieku, znajdowały zastosowanie w leczeniu depresji w przypadku współwystępowania agitacji, lęku i psychoz. Popularność tej formy augmentacji potwierdza między innymi fakt istnienia gotowego preparatu zawierającego w swoim składzie perfenazynę i amitryptylinę. Największą kontrowersją dotyczącą tej formy wzmacniania terapii było odkrycie, że pacjenci z zaburzeniami nastroju wykazują zwiększone prawdopodobieństwo rozwoju późnych dyzkinz (Thase, 2007 a). Problem ten częściowo rozwiązało pojawienie się atypowych leków przeciwpsychotycznych (leki drugiej generacji) (Papakostas, 2007). Wśród tych leków potwierdzony klinicznie efekt wzmacniania terapii przeciwdepresyjnej wykazują: rispieidon, kwetiapina, olanzapina, aripiprazol oraz ziprasidon (Thase, 2007 b).

Wielokrotnie obserwowano, że **hormony tarczycy** dodane do TCA zwiększały i przyspieszały manifestację efektu klinicznego leków przeciwdepresyjnych (Thase, 2007 a, Altshuler, 2001), a efekt ten obserwowano zwłaszcza u kobiet. Zjawisko to wiązano ze zwiększonym prawdopodobieństwem występowania subklinicznej hipotyreozy u kobiet (Haggerty i wsp., 1993), i wykorzystywano jako kolejną możliwość wzmacniania farmakoterapii zaburzeń depresyjnych.

U pacjentów anergicznym można rozważyć augmentację przy pomocy **środków stymulujących**. Wstępne badania potwierdzają skuteczność dodatku do terapii uznanymi lekami przeciwdepresyjnymi: metylfenidatu, dekstroamfetaminy oraz modafinilu (Nelson, 2007).

Inne strategie augmentacji farmakoterapii depresji obejmują dodatek buspironu (lub bupropionu) (Nelson, 2007), pindololu (Perez, 1999), lamotryginy (Gabriel, 2006), hormonów płciowych (odpowiednio: testosteronu lub estrogenów), folianów (Fava i Mischoulon, 2009) lub jonów metali: **litu, cynku, magnezu** oraz **chromu**. Badania Bartosza Łoży (2007) pokazują, że w Polsce najpopularniejszym schematem wzmacniającym farmakoterapię depresji jest zastosowanie olanzapiny. Polscy psychiatry często i chętnie stosują też augmentację litem, kwetiapiną, lamotryginą i walproinianem. Rekomendowane jest łączenie (kojarzenie) środków serotoninergetycznych z noradrenergicznymi lub wenlafaksyną. Nie poleca się natomiast łączenia LPD ze stymulantami (za wyjątkiem modafinilu, który jak udowodniono nie wywołuje zależności lekowej), lekami ziołowymi oraz dehydroepiandrosteronem.

Jony metali w psychofarmakologii depresji

Lit

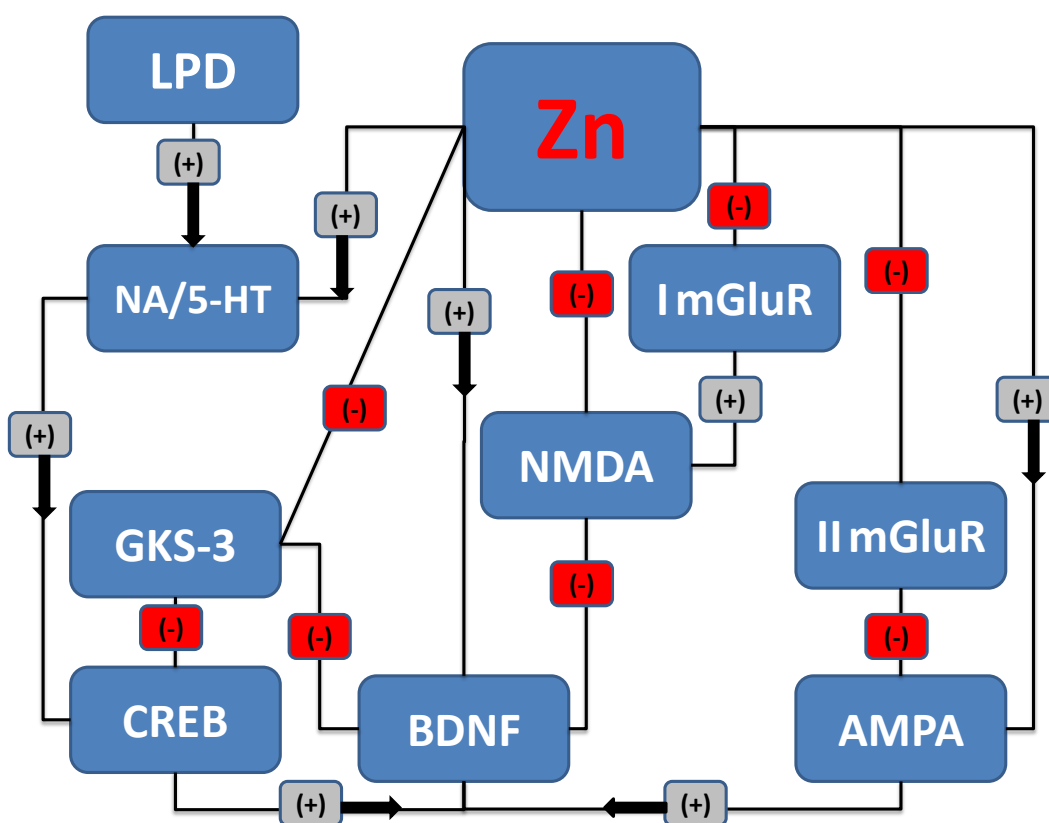
Pierwsze badania kliniczne przeprowadzone w Danii w latach 1952-54 wykazały, że pod wpływem litu obie fazy choroby afektywnej dwubiegunowej (faza depresji i faza manii) ulegały wyciszeniu lub całkowicie zanikały. Obecnie lit jest najczęściej stosowanym lekiem normotymicznym pierwszego rzutu. Główne mechanizmy neuropsychiatrycznego działania litu to (Pietruczuk i Witkowski, 2008):

- Regulacja apoptozy i działanie cytoprotekcyjne (wzrost stężenia Bcl-2 w korze czołowej i hipokampie szczura, spadek stężenia Bax i hamowanie przejścia prokaspazy-3 w formę aktywną u królików)
- Bezpośrednie i pośrednie hamowanie GSK-3 (bezpośrednie hamowanie aktywuje ścieżkę sygnału WNT)
- Hamowanie monofosfatazy inozytolu i gromadzenia monofosforanu inozytolu w neuronie
- Wpływ na produkcję cAMP (lit stabilizuje białko G przez co zmienia ilość powstających wtórnych przekaźników)
- Wzrost stężenia glutaminianu w przestrzeni synaptycznej (poprzez wzrost uwalniania, lub poprzez hamowanie wychwytu zwrotnego)
- Wzrost sygnalizacji GABA (długotrwałe podawanie litu wywołuje wzrost stężenia receptorów GABA-B w hipokampie)
- Udział w neuroplastyczności (podawanie litu wywołuje gromadzenie DAG, co aktywuje PKC. Komórkowymi celami tej kinazy są GAP-43 oraz MARCKS)

Już w latach 60-tych XX wieku stosowano wzmocnienie farmakoterapii depresji przy pomocy soli litu. 20 lat później schemat ten był standardem leczenia depresji lekoopornych, a kazuistyczne prace kliniczne opisywały niezwykle szybki przeciwdepresyjny efekt manifestujący się już po 24-72 godzinach od łącznego podania litu i TLPD (de Montigny i wsp., 1981). Lit był stosowany początkowo jako augmentacja terapii u pacjentów lekoopornych ze skutecznością ocenioną w teście kontrolowanym placebo na poziomie 45% (Heninger i wsp., 1983, Austin i wsp., 1991, Bauer i wsp., 2003), dziś często podawany pacjentom w remisji jako profilaktyka nawrotu zmian dystymicznych (Souza i Goodwin, 1991).

Cynk

Cynk jest jednym z podstawowych mikroelementów wchodzących w skład ludzkiego ciała. Jego niedobór prowadzi między innymi do rozwoju zaburzeń psychicznych (anoreksja, myślenie dysforyczne, trudności w uczeniu się). Badania nad rolą cynku w patomechanizmie i leczeniu depresji sięgają przełomu lat 80-tych i 90-tych XX wieku, a postulowane mechanizmy działania przedstawia rycina nr 1. (Szewczyk i wsp., 2008). Zdolność cynku do wzmacniania działania LPD została udowodniona w teście klinicznym kontrolowanym placebo (Nowak i wsp., 2003, Siwek i wsp., 2009).



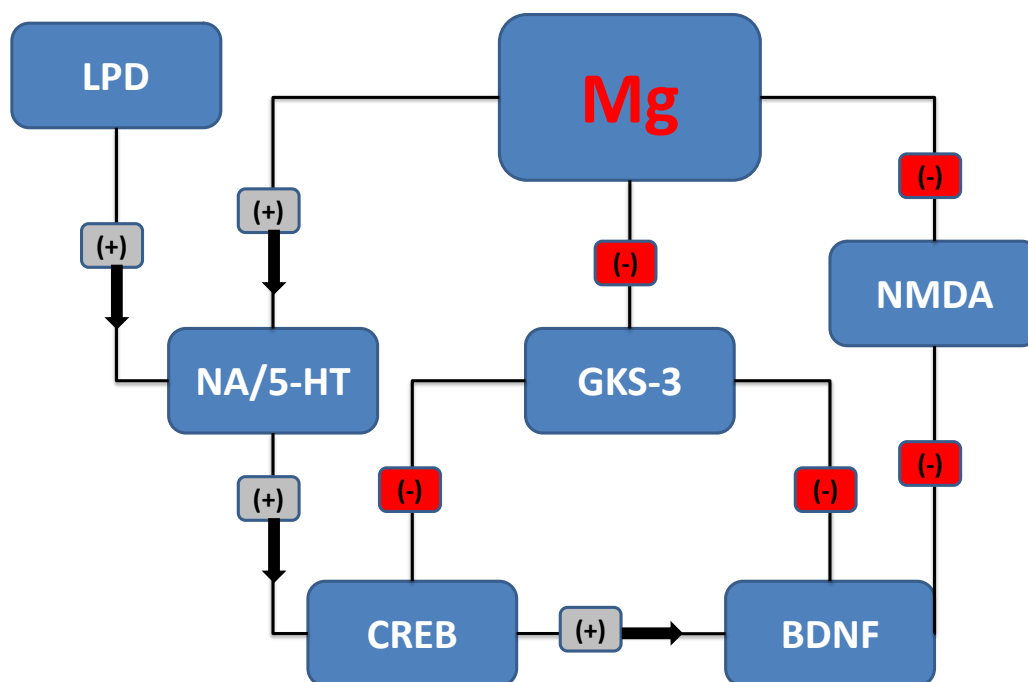
Rysunek 1 Molekularne mechanizmy psychofarmakologicznej aktywności cynku. (+) - pobudzenie szlaku, (-) - hamowanie szlaku, LPD – leki przeciwdepresyjne, NA/5-HT – układ adrenergiczny i serotonergiczny, CREB - białko wiążące się z elementem odpowiedzi na cAMP, BDNF - neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego, GKS-3 – kinaza syntazy glikogenu-3, NMDA i AMPA – jonotropowe receptory glutaminianergiczne, I mGluR – I klasa metabotropowych receptorów glutaminianergicznych, II mGluR – II klasa metabotropowych receptorów glutaminianergicznych (za Szewczyk i wsp., 2008).

Magnez

Magnez jest jednym z najliczniej występujących metali w organizmie. Dorosły człowiek posiada około 24 g tego pierwiastka, z czego prawie połowa zawarta jest w szkielecie. 1% puli magnezowej występuje pozakomórkowo, a około 67% tej liczby stanowi magnez zjonizowany - biologicznie aktywny.

Niedobory magnezu mogą się manifestować w postaci chorób sercowo-naczyniowych, rzucawki, ale też zaburzeń neurologicznych (padaczka) czy psychiatrycznych (zaburzenia afektywne, *delirium tremens*).

Postulowane mechanizmy przeciwdepresyjnego działania magnezu przedstawia rycina nr 2. (Szewczyk i wsp., 2008).



Rysunek 2 Molekularne mechanizmy psychofarmakologicznej aktywności magnezu. (+) - pobudzenie szlaku, (-) - hamowanie szlaku, LPD – leki przeciwdepresyjne, NA/5-HT – układ adrenergiczny i serotoninerpiczny, CREB - białko wiążące się z elementem odpowiedzi na cAMP, BDNF - neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego, GKS-3 – kinaza syntazy glikogenu-3, NMDA – jonotropowe receptory glutaminianergiczne (za Szewczyk i wsp., 2008).

Chrom jako biopierwiastek i suplement diety

Chrom to pierwiastek chemiczny, którego nazwa wywodzi się z greki i oznacza barwę (*chrome*), co stanowi nawiązanie do różnokolorowych soli chromu oraz barwnych minerałów mających w swoim składzie ten pierwiastek (np. krokoit, chromit). Chrom jest metalem przejściowym występującym w postaci 13 izotopów (trwałe są ^{50}Cr , ^{52}Cr , ^{53}Cr i ^{54}Cr). Został odkryty w 1797 roku przez Louisa Nicolasa Vauquellina. Chrom może występować na różnych stopniach utlenienia, jednak stopnie inne niż 0, +II, +III oraz +VI są stosunkowo mało powszechne. Wszystkie występujące naturalnie w przyrodzie związki chromu zawierają chrom na III stopniu utlenienia. Natomiast kwas chromowy VI oraz jego sole są sztucznym tworem przemysłu. Ilość chromu w skorupie ziemskiej szacowana jest na ok. 102 ppm.

<i>Symbol chemiczny</i>	<i>Cr</i>
Liczba atomowa	24
Masa atomowa	51,9961 u
Gęstość (w 0°C)	7140 kg/m ³
Punkt topnienia	1856,85°C
Punkt wrzenia	2571,85°C

Tabela 8 Wybrane właściwości fizykochemiczne chromu.

Pół wieku temu pojawiła się pierwsza publikacja dotycząca biochemicznej roli chromu III w organizmach ssaków (Schwarz i Mertz, 1959), a chrom znalazł się na liście pierwiastków niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych.

Dowody wskazujące na jego zasadniczą rolę podsumował między innymi Moukarzel (2009):

1. Osoczowe stężenie chromu jest wysokie u noworodków i zmniejsza się wraz z wiekiem, istnieje też zależny od wieku spadek ilości tego pierwiastka w strukturze włosów, pocie i moczu. Odróżnia to chrom od czynników zanieczyszczających (kontaminantów), których ilość wraz z wiekiem kumuluje się w organizmie
2. Istnieją doniesienia o objawach niedoboru chromu u pacjentów poddanych długotrwałemu żywieniu pozajelitowemu, które ustępowały po włączeniu suplementacji (Brown i wsp., 1986, Jeejeebhoy i wsp., 1977)
3. U zwierząt karmionych paszą o obniżonej zawartości chromu rozwijały się objawy obniżonej tolerancji glukozy

4. Absorpcja chromu z diety jest zależna od jego podaży, co wskazuje na istnienie mechanizmu regulującego ilość wchłanianego chromu z pożywienia
5. Hiperglikemia predysponuje do zwiększonej nerkowej utraty chromu
6. Chrom jest składnikiem metaloenzymów i koenzymem reakcji metabolicznych

Obecnie chrom jest najprawdopodobniej najbardziej kontrowersyjnym metalem przejściowym, a poglądy na temat jego roli w organizmach żywych wciąż ulegają zmianie (Vincent, 2010, Levina i Lay, 2008, Moukarzel, 2009). W najnowszych publikacjach dotyczących funkcji chromu III w organizmie człowieka mówi się już wyraźnie, że nie jest on niezbędnym elementem prawidłowo zbilansowanej diety, a jego działanie należy rozpatrywać jako efekt farmakologiczny (Wise i Wise, 2011).

Zapotrzebowanie na chrom III

<i>Grupa</i>	<i>AI dla chromu III (µg/dzień)</i>
0-6 miesięcy (karmione wyłącznie piersią)	0.2
7-12 miesięcy (karmione piersią i dodatkowymi odżywkami)	5.5
1-3 lata	11
4-8 lat	15
Chłopcy 9-13 lat	25
Dziewczęta 9-13 lat	21
Mężczyźni 14-18 lat	35
Kobiety 14-18 lat (wylączywszy karmiące i ciężarne)	24
Mężczyźni 19-50 lat	35
Kobiety 19-50 lat (wylączywszy karmiące i ciężarne)	25
Mężczyźni >50 lat	30
Kobiety >50 lat	20

Tabela 9 Zalecane wartości AI dla chromu III dla różnych grup wiekowych (Berner i wsp., 2004)

Anderson i Kozlovsky (1985) zbadali diety mieszkańców USA i stwierdzili, że średnia dobowa podaż chromu w diecie przeciętnego Amerykanina wynosi 33 ± 3 $\mu\text{g}/\text{dzień}$, dla kobiet wartość ta jest nieco mniejsza i wynosi 25 ± 1 $\mu\text{g}/\text{dzień}$. Są to ilości zazwyczaj zaspakajające zapotrzebowanie na ten biopierwiastek. Zalecane wartości AI (*adequate intake*) (National Academy of Sciences USA) dla różnych grup wiekowych przedstawia tabela nr 8. AI zastąpiło w 2002 roku obowiązujące poprzednio wartości ESADDI (*estimated safe and adequate daily dietary intake*), która dla chromu wynosiła 50-200 mg/dzień.

Chrom- farmakokinetyka biopierwiastka

Wchłanianie chromu po podaniu doustnym

Wchłanianie chromu jest procesem nie do końca poznanym i stwarzającym potencjalne problemy badawcze i farmakokinetyczne. Chrom VI jest znacznie łatwiej absorbowany niż chrom III. Wykazano również znaczne różnice biodostępności pomiędzy solami organicznymi i nieorganicznymi chromu III podanymi *per os*. Generalnie należy stwierdzić, że wchłanianie soli chromu III jest niskie i wynosi 0,4-2,5% (Lukaski, 1999, Anderson i Kozlovsky, 1985).

Do końca XX wieku sądzono, że u ssaków ilość wchłanianej soli nieorganicznej jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia tej soli w pokarmie, i tak przy podaży 10 μg chromu na dobę wchłonięciu ulegać miało około 2% dawki, natomiast zwiększenie podaży do 40 μg na dobę zmniejszałoby wchłanianie do 0,4-0,5%. W 2009 roku Kottwitz udowodnił, że absorpcja chromu zastosowanego w postaci soli nieorganicznej (CrCl_3) u szczurów jest niezależna od zastosowanej dawki w szerokim przedziale stężeń: 0,01-20 μg chromu, co może wskazywać na brak mechanizmu kontrolującego ilość absorbowanego metalu, a co za tym idzie, że chrom nie jest niezbędnym mikroelementem dla wszystkich ssaków.

Dodatkowym czynnikiem wpływającym na wchłanianie chromu jest obecność innych substancji w świetle jelita (Lukaski, 1999):

- Fityniany tworzą z chromem kompleksy i uniemożliwiają jego transport przez ścianę jelita
- Aminokwasy w alkalicznym soku jelitowym kompleksują jony chromu i zapobiegają ich precypitacji, co ułatwia jego wchłanianie
- Obecne w wielu warzywach i owocach szczawiany znacząco zwiększają wchłanianie chromu,
- Podobnie działa witamina C i kwas nikotynowy

<i>Forma podania chromu</i>	<i>% absorpcji z przewodu pokarmowego</i>	<i>Podmiot testu</i>
Chlorek	0.9±0.2	Szczur
	0.69 (średnia)	Człowiek
	0.5	Szczur
Nikotynian	1.3±0.3	Szczur
Pikolonian	1.1±0.3	Szczur
	2.8±1.14	
Chrom z pożywienia	1.8	Człowiek
	2-3	Człowiek
Chrom z drożdży piwnych	5-10	Człowiek

Tabela 10 Stopień absorpcji chromu w zależności od rodzaju środka kompleksującego metal w modelach zwierzęcych oraz u ludzi (za Lamson i Plaza, 2002).

Tkankowa i komórkowa dystrybucja chromu

Wehłonięty w jelitach chrom III łączy się z białkami osocza, które transportują go do wątroby i innych narządów. Białkiem transportowym jest najczęściej transferyna, co może powodować interakcję z żelazem (zaburzać jego metabolizm i magazynowanie). Wprawdzie w niskich stężeniach metale te preferują inne miejsca wiązania na białku transportowym, jednak przy wyższych stężeniach pojawia się konkurencja, co może skutkować zmniejszoną saturacją transferyny jonami żelaza, a w skrajnych przypadkach anemią (Lukaski i wsp., 1996). Istnieją też badania wskazujące, że nadmierne wysycenie jonami żelaza (np. w przebiegu hemochromatozy), zaburza wiązanie chromu do transferyny i może odpowiadać za obecne w tym zaburzeniu objawy nietolerancji glukozy (Sargent i wsp., 1979).

Jon chromu III ma strukturę oktameryczną, co utrudnia przenikanie przez kanały jonowe. Obecnie uważa się, że wnika on do wnętrza komórki powoli na drodze dyfuzji, inną możliwością jest pinocytoza lub fagocytoza precypitatów chromu (Eastmond i wsp., 2008).

Hepburn i Vincent (2003) przeprowadzili badania mające na celu sprawdzenie wewnątrzustrojowej trwałości kompleksu pikolinianu chromu oraz jego dystrybucję tkankową i komórkową. W tym celu podawano zwierzętom dożylnie $^{51}\text{Cr}(\text{Pic})_3$ (pikolinian 51 chromu III) w ilości odpowiadającej 600 μmol Cr (co stanowi ekwiwalent dawki 500 μg podanej

75 kg człowiekowi). Próbki moczu pobierane w czasie od 30 minut do 24 godzin po podaniu pokazały, że nerkowe wydalanie chromu gwałtownie wzrasta po 2 godzinach po podaniu dożylnym i utrzymuje się przez kolejne 22 godziny. W ciągu pierwszych 2 godzin 35% podanej dawki jest usuwane na drodze nerkowej, w ciągu 24 godzin ilość ta sięga już 55%. Chrom wydalany z kałem pochodził najprawdopodobniej z żółci, a w ciągu 24 godzin tą drogą usuwane było ok. 10% dawki. Analiza formy w jakiej występował chrom w moczu pozwoliła wykryć chrom w dwóch postaciach: pikolinianu oraz chromoduliny.

Badania tkanek pobranych od zwierząt pozwalają stwierdzić, że maksymalne stężenia chromu osiągnęte są:

- Po 30 minutach w wątrobie i mięśniach
- Po 60 minutach w nerkach, sercu, jądrach i tkance tłuszczowej najądrza oraz trzustce
- Po 120 minutach w śledzionie
- Po 24 godzinach nie było już chromu w sercu i śledzionie, a jedynie niewielkie ilości znajdowano w trzustce, jądrach i tkance tłuszczowej najądrza

Badania Sipowicz i współpracowników (1997) mające na celu porównanie dystrybucji chromu po jednorazowym podaniu dootrzewnowym (*i.p.*) i podskórnym (*s.c.*) pokazały, jak należało się spodziewać że wartości stężeń osoczowych po podaniu *i.p.* były większe niż w przypadku podania *s.c.*, lecz różnice wynosiły jedynie 25-30%. Dodatkowo zaznaczano, że kształty krzywych obrazujących zmiany stężenia w czasie były prawie takie same. Organy takie jak: płuca, mózg i serce wykazywały podobne stężenia chromu w obu modelach podania.

Wewnątrzkomórkową dystrybucję chromu badano między innymi na przykładzie hepatocytów szczura (Hepburn i Vincent, 2003). Stężenie chromu w poszczególnych organellach zmieniało się w czasie. Po 30 minutach chrom gwałtownie pojawiał się w cytozolu i jądrze komórkowym, osiągając maksimum po 3 godzinach. W mitochondriach chrom pojawiał się po godzinie, po 4 godzinach jego stężenie spadało do wartości poniżej możliwości detekcji stosowanej metody analitycznej. Frakcja lizosomalna wykazywała pik chromu po 1 godzinie, który utrzymywał się przez kolejne 3 godziny, a następnie powoli malał. Inaczej zmieniał się profil stężeń chromu we frakcji mikrosomalnej, gdzie stężenie powoli wzrastało przez pierwsze 5 godzin, a po tym czasie zaczynało spadać.

Obserwowane zmiany sugerują, że dystrybucja chromu pomiędzy poszczególne organella komórkowe odbywa się na różnych zasadach:

- Szybka dystrybucja do cytozolu i jądra komórkowego
- Powolny transport oraz redystrybucja do lizosomów i mikrosomów

Wydalanie chromu z organizmu

Zaabsorbowany chrom jest szybko usuwany z osocza. Czas połowicznego trwania chromu we krwi po podaniu doustnym wynosi do 10 godzin (Eastmond i wsp., 2008). Podstawowym organem odpowiedzialnym za eliminację są nerki (skuteczność filtracji kłębuszkowej jest oceniana na 80-95%), dodatkowo małe ilości chromu są wydalane wraz z potem, żółcią lub poprzez wbudowanie w strukturę włosa. Organiczne formy chromu III są aktywnie transportowane do żółci, a wraz z nią do światła jelita (Lukaski, 1999).

Wykazano, że zwiększona utrata chromu na drodze nerkowej jest często związana z działaniem fizjologicznych „stresorów” takich jak uszkodzenie ciała, krótkotrwały lecz intensywny wysiłek fizyczny (Lukaski i wsp., 1996), karmienie piersią, czy źle zbilansowana dieta (Lukaski, 1999). Czynnikiem zwiększającym utratę chromu jest również wiek. W roku 1993 Morris pokazał korelację pomiędzy wzrostem poziomu insuliny wywołanym doustnym podaniem glukozy a spadkiem osoczowego stężenia chromu, któremu towarzyszyła zwiększona utrata chromu z moczem. Powtarzające się epizody obciążania organizmu glukozą po czasie przestają łączyć się ze zwiększoną nerkową utratą chromu, co najprawdopodobniej wynika z wyczerpania osoczowej puli tego biopierwiastka.

Właściwości fizjologiczne chromu

Chrom i metabolizm węglowodanów.

Pierwsze doniesienia na temat roli chromu w utrzymaniu homeostazy węglowodanów pojawiły się w późnych latach pięćdziesiątych XX wieku. Naukowcy Walter Mertz i Klaus Schwarz wyizolowali z homogenatu świńskich nerek składnik, który przywracał zaburzoną tolerancję glukozy u szczurów karmionych karmą na bazie drożdży *Torula*. Składnik ten nazwano GTF (*Glucose Tolerance Factor*), a szczegółowa analiza składu w 1959 roku pokazała, że aktywnym składnikiem GTF jest chrom III (inne składniki to kwas nikotynowy i aminokwasy: glicyna, cysteina oraz kwas glutaminowy).

W latach 80-tych i 90-tych XX wieku chromowe suplementy diety cieszyły się dużą popularnością jako środki wspomagające odchudzanie i zwiększające masę mięśniową (Vincent, 2003).

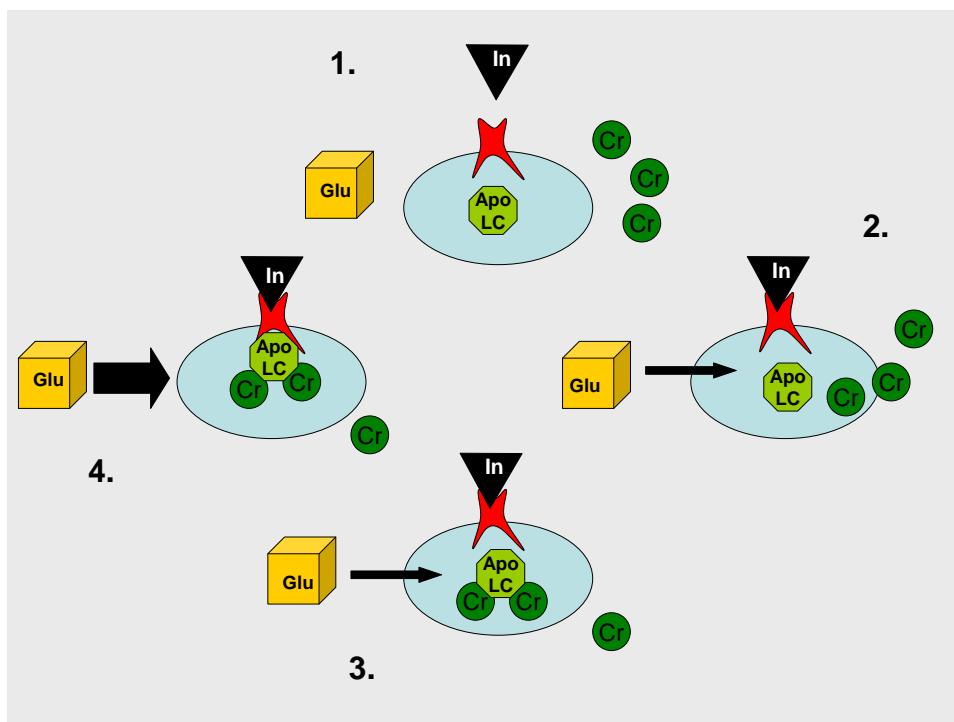
Analizowano również pozytywny wpływ suplementacji solami chromu III w następujących zaburzeniach gospodarki węglowodanowej:

- Insulinooporność i nietolerancja glukozy (praca przeglądowa: Anderson, 1998)
- Cukrzyca typu I (Ravina i wsp., 1995)
- Cukrzyca typu II (Ravina i wsp., 1995, prace przeglądowe: Vincent, 2000 a, b i c)
- Cukrzyca ciężarnych (Jovanovic i wsp., 1999)
- Cukrzyca indukowana steroidoterapią (Ravina i wsp., 1999)
- Zaburzenia utylizacji węglowodanów podczas TPN (Anderson, 1995)

Obecnie prace Mertz'a i Schwarz'a budzą pewne metodologiczne kontrowersje, a istnienie samego GFT jest poddawane w wątpliwość (Vincent, 2010). Naukowcy wskazują, że zastosowane we wcześniejszych badaniach dawki chromu należy rozpatrywać raczej w kategoriach farmakologicznych niż dietetycznych, a chrom należy traktować bardziej jako potencjalny lek a nie niezbędny składnik pokarmowy (Wise i Wise, 2012, Vincent, 2010, Moukarzel, 2009).

Mechanizm działania hipoglikemizującego chromu III- rola chromoduliny

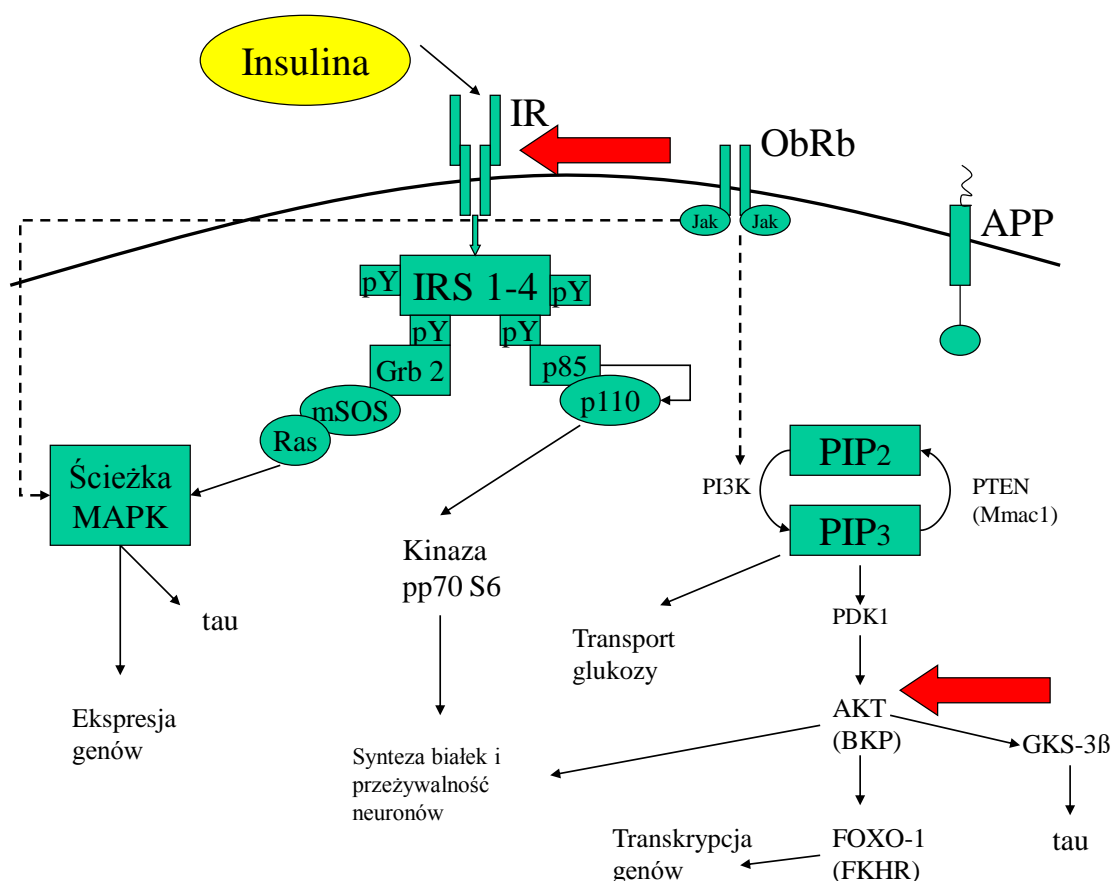
Aktywną biologicznie formą chromu III w ustroju jest niskocząsteczkowa substancja wiążąca chrom (*low molecular weight chromium binding substance LMWCr*) lub inaczej: chromodulina (Vincent, 2000 a i b). Chromodulina jest oligopeptydem wchodzącym w skład unikalnego systemu autoamplifikującego działanie insuliny. W modelu zaproponowanym przez Vincent'a (2000 a) apochromodulina (białko bez przyłączonego chromu) magazynowana jest w komórkach wrażliwych na insulinę. Wzrost osoczowego stężenia tego hormonu powoduje zwiększone wiązanie insuliny do receptorów insulinowych na komórkach insulinowrażliwych. Wywołuje to zmianę konformacji receptora dla insuliny i prowadzi do autofosforylacji tyrozyny znajdującej się w jego centrum. Kolejno obserwuje się przekształcenie do formy aktywnej receptora: kinazy tyrozynowej. Sygnał insuliny jest przekazywany do wnętrza komórki. W odpowiedzi na działanie insuliny chrom zostaje przeniesiony z osocza do komórki, gdzie łączy się z apochromoduliną i tworzy formę aktywną tego oligopeptydu: holochromodulinę. Ta łączy się z receptorem dla insuliny utrzymując jego aktywowaną konformację, co amplifikuje aktywność kinazy tyrozynowej. Sygnał insuliny zostaje zwielokrotniony.



Rysunek 3 Mechanizm współdziałania chromu i insuliny w procesie utylizacji glukozy. In - insulina, Glu - glukoza, Cr - chrom, ApoLC - apochromodulina (Apo-low molecular weight chromium binding substance). (za Vincent, 2000 a)

Osoczowy spadek stężenia insuliny powoduje relaksację konformacji receptora insulinowego, a holochromodulina jest usuwana z komórki i następnie przez nerki zostaje wydalona z organizmu. Udowodniono, że chrom jest niezbędnym składnikiem opisanego mechanizmu, a apochromodulina nie jest samodzielnie zdolna do zwiększania aktywności receptora insulinowego (Davis i Vincent, 1997).

Inny mechanizm działania chromu przedstawili między innymi Chen, Liu i Pattar (2006). Wskazują oni na zwiększenie pod wpływem chromu zależnej od insuliny translokacji transporterów glukozy (zwłaszcza GLUT4) z wnętrza komórki na jej powierzchnię. Inne możliwe mechanizmy hipoglikemizującego działania chromu III przedstawia tabela nr 11. Wiele badań skupiło się na poszukiwaniu konkretnego punktu uchwytu, w którym chrom zmienia działanie kaskady aktywowanej połączeniem insuliny do receptora insulinowego. Obecnie sądzi się, że mogą to być dwa miejsca: IR oraz Akt (rysunek nr 4).



Rysunek 4 Możliwe punkty uchwytu chromu w ścieżce amplifikacji działania insuliny (zaznaczono czerwonymi strzałkami). Transdukcja sygnału przez receptor insulinowy (IR). Po połączeniu hormonu z ekstracelularną domeną α receptor zmienia swoją konformację aktywując kinazę tyrozynową wchodzącą w skład podjednostki β . Enzym katalizuje autofosforylację receptora oraz jednoczesną fosforylację IRS. Miejsca fosforylacji zlokalizowane są na domenach łączących się z domenami takimi jak białko p-85, i Grb2. Połączenie tych białek z IRS prowadzi do ich aktywacji inicjując jednocześnie ścieżki sygnałowe takie jak kaskada Ras-Raf-MAPK czy ścieżka kinaz serynowych/treoninowych PIP3. Impulsy płynące poprzez te ścieżki sygnalizacyjne prowadzą do powstawania różnorodnych efektów biologicznych: inhibicja apoptozy, fosforylacja białka tau, regulacja wydzielania APP czy też zmiana transkrypcji genów. (za Plum i wsp., 2005 oraz Vincent, 2010).

<i>Zastosowana postać chromu III</i>	<i>Zastosowana linia komórkowa</i>	<i>Obserwowany efekt</i>	<i>Referencje</i>
CrCl₃, Cr(Pic)₃	Mięśnie szkieletowe	Zwiększenie poziomu mRNA dla IR	Qiao i wsp., 2009
Cr(Pic)₃	Oporne na insulinę adipocyty 3T3-L1	Brak wpływu na poziom mRNA dla IR i Akt	Wang i Yao, 2009
Cr(Pic)₃	Adipocyty 3T3-L1	Brak wpływu na fosforylację IR, IRS-1 i Akt	Horvath i wsp., 2008
Cr(Pic)₃, histydynian chromu III	Komórki CHO	Aktywacja kinazy receptora insulinowego	Wang i wsp., 2005

Tabela 11 Badania na temat punktu działania chromu III w kaskadzie aktywacji receptora insulinowego.

Chrom a hiperinsulinemia i zaburzenia kognitywne

Receptory insulinowe odnaleziono w różnych strukturach mózgowych zarówno osobników dorosłych jak i w okresie prenatalnym. Największą ich gęstość odnotowano w opuszce węchowej, podwzgórz, hipokampie, korze czołowej i mózdzku (Plum i wsp., 2005).

<i>Rola insuliny oraz sygnalizacji poprzez IR w CSN</i>	<i>Przykłady</i>
Współdział z leptyną w kontroli apetytu	podanie insuliny do mózgu daje efekt anoreksygeniczny, zablokowanie mózgowego działania insuliny wywiera efekt oreksygeniczny
Kontrola obwodowego metabolizmu glukozy	podanie insuliny wprost do CSN zwiększa obwodową wrażliwość na ten hormon
Modulacyjny wpływ na hormony związane z reprodukcją	IGF-1 wzmacnia wyrzut gonadotropin z komórek podwzgórza
Wpływ na łatwość uczenia się i zapamiętywania	u pacjentów cierpiących na chorobę Alzheimera wykryto zmniejszone stężenie insuliny w płynie mózgowo-rdzeniowym przy jednoczesnym zwiększeniu ilości tego hormonu w osoczu, co może wskazywać na zaburzony metabolizm insuliny w mózgu. Działanie to jest wciąż kontrowersyjne a wyniki badań często sprzeczne.
Udział w zaburzeniach neurodegeneracyjnych	pacjenci chorzy na chorobę Alzheimera i Parkinsona mają zmniejszoną ilość IR w mózgu

Tabela 12 Funkcja insuliny i receptorów insulinowych w centralnym systemie nerwowym (za Krikorian i wsp., 2010, Plum i wsp., 2005, van der Heide i wsp., 2006).

Fizjologiczna rola insuliny w centralnym systemie nerwowym jest powoli odkrywana (IR w CSN po raz pierwszy zlokalizowano w 1978 roku wykonując testy autoradiograficzne), jednak już dziś wiadomo, że bierze ona udział między innymi w usuwaniu β -amyloidu, regulacji ekspresji cytokin prozapalnych oraz neuroplastyczności, czyli procesach, których dysfunkcja może prowadzić do demencji i rozwoju zaburzeń kognitywnych. Udowodniono znaczącą rolę insuliny znajdującej się w CSN w regulacji homeostazy energetycznej ustroju, w tym kontroli apetytu poprzez układ nagrody, oraz w modulacji wydzielania hormonów płciowych (Krikorian i wsp., 2010).

Zjawiska związane z neurodegeneracją rejonów mózgu, w których odnaleziono zwiększoną gęstość receptorów insulinowych (IR) kojarzy się z występowaniem między innymi choroby Alzheimera. Obecnie coraz częściej mówi się o korelacji pomiędzy funkcjami metabolicznymi (zwłaszcza nieprawidłową utylizacją glukozy i hiperinsulinemią) a zaburzeniami kognitywnymi (Watson i Craft, 2003).

Mózgowa synteza insuliny jest niezwykle mała, a znakomita większość odnajdywanej w centralnym systemie nerwowym insuliny pochodzi z obwodu, skąd transportowana jest poprzez barierę krew-mózg na drodze transportu kontrolowanego poprzez receptory. Ilość jaka przekracza barierę krew-mózg (BBB) jest różna i silnie zależna od gatunku (Plum i wsp., 2005). Obwodowe zmiany stężenia insuliny związane z kompensacyjnym wyrównywaniem obniżonej utylizacji glukozy w przebiegu insulinooporności prowadzić mogą do zmniejszonego transportu przez BBB i ośrodkowej hipoinsulinemii (Wallum i wsp., 1987). Może to, w konsekwencji wywoływać dysfunkcję procesów regulowanych przez insulinę i receptory insulinowe w mózgu (objawiając się np. zmniejszoną przeżywalnością neuronalną, neurodegeneracją i chorobami z niej wynikającymi).

W 2005 roku Watson i współpracownicy udowodnili, że zabiegi zwiększające obwodową utylizację glukozy (podaż insuliny czy też leków uwrażliwiających komórki na jej działania) zwiększają zdolność do zapamiętywania u chorych na Alzheimera oraz pacjentów z zaburzeniami kognitywnymi o umiarkowanym nasileniu. W roku 2010 przeanalizowano możliwość zastosowania w tym celu suplementacji chromem (Krikorian i wsp., 2010). Autorom udało się potwierdzić zmniejszenie semantycznych zaburzeń uczenia się oraz poprawę wyników w teście odtwarzania pamięciowego (*recognition memory task*). W przeprowadzonym badaniu MRI pokazano również, że 12 tygodniowa suplementacja chromem wywołała zwiększoną aktywność w prawej części wzgórza, prawej części skroniowej i tylnej części płata ciemieniowego, co potwierdza rolę chromu jako czynnika

zwiększającego funkcje kognitywne u chorych na Alzheimera oraz pacjentów z zaburzeniami kognitywnymi o umiarkowanym nasileniu.

Chrom i metabolizm lipidów

Przykłady badań obrazujących wpływ chromu na przemiany lipidowe w modelu zwierzęcym przedstawia tabela nr 13. Wyniki dość jednoznacznie potwierdzają korzystny wpływ na zmianę profilu lipidowego.

Badania nad wpływem suplementacji chromem na metabolizm lipidów u ludzi dają jednak dwuznaczne wyniki. Część prac pokazuje, że dodatek chromu może powodować znamieny spadek stężenia całkowitego cholesterolu (TC), zwłaszcza u pacjentów o wyjściowo patologicznie wysokich poziomach tego czynnika (Rabinovitz i wsp., 2004). Inne prace podkreślają brak wpływu na stężenie całkowitego cholesterolu, ale zwiększenie procentowej frakcji HDL, przy dodatkowej redukcji ilości wolnych kwasów tłuszczowych (Lukaski, 1999). Większość autorów jest zgodna co do jednego stwierdzenia: suplementacja chromem może polepszać wyniki lipidogramu, lecz jedynie u pacjentów, u których parametry te są zaburzone. Chrom nie jest zdolny do obniżenia frakcji LDL czy KT *per se* a jedynie do przywrócenia tych wartości do normy.

<i>Zastosowana postać chromu III</i>	<i>Dawka dzienna (μg Cr/kg masy ciała)</i>	<i>Model zwierzęcy</i>	<i>Obserwowany efekt</i>	<i>Referencje</i>
Cr(Pic)₃	80	Szczury JCR:LA	↓ TC i insuliny, ↑ HDL, zwiększenie ilości GLUT4 związanego z błoną komórkową	Cefalu i wsp., 2002
Cr₃O(O₂CCH₂CH₃)₆	20	Szczury otyłe (Zucker) oraz szczury po STZ	↓ TC i LDL, TG i insuliny	Sun i wsp., 2002
Nikotynian	400	Szczury po STZ	↓ HbA1c, TG i TC, ↑ HDL	Jain i wsp., 2007
Nikotynian	10 000	Ob/ob myszy	↓ TC, TG i LDL, ↑ HDL	Rink i wsp., 2007

Tabela 13 Wpływ soli chromu III na poziom poszczególnych frakcji lipidowych osocza: badania w modelu zwierzęcym.

Inne właściwości chromu w ustroju

- Regulowanie równowagi wodno-elektrolitowej organizmu (Preuss i wsp., 1994)
- Modulowanie metabolizmu katecholamin (Liu i Lin, 1997)
- Wpływ na aktywność NO (Kopilas i wsp., 2007)
- Aktywność immunomodulacyjna (Burton i wsp., 1995, Lukaski, 1999)
- Zdolność do wydłużania czasu życia (Talpur i wsp., 2003)
- Wpływ na tworzenie się wolnych rodników (Preuss i wsp., 1997)
- Zmniejszanie ciśnienia tętniczego (Preuss i wsp., 1994 i 1997)

Toksyczność związków chromu

Toksyczność związków chromu VI

Sześciowartościowy chrom znajduje powszechne zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu i występuje w wielu komercyjnie dostępnych produktach (jest składnikiem barwników, garbników, cementu, środków wybielających i piorących, stosowany jest również w galwanizacji). Ekspozycja na tę formę chromu wiąże się z dobrze już udowodnionym wpływem kancerogennym uwidaczniającym się zarówno u ludzi jak i u zwierząt (Langard, 1990). Niebezpieczną drogą kontaktu jest zwłaszcza droga inhalacyjna, szczególnie w miejscu pracy.

Chromiany to aniony strukturalnie zbliżone do siarczanów i fosforanów, co umożliwia ich przejście do komórki przez kanały jonowe. We wnętrzu komórki chrom VI jest natychmiast redukowany do III przy użyciu tioli, glutationu lub cysteiny, następnie może tworzyć stabilne połączenia z DNA. Zaproponowano trzy mechanizmy działania toksycznego chromu VI na DNA (Eastmond i wsp., 2008):

- Bezpośrednie działanie niszczące reaktywnych form tlenu powstających przy redukcji chromu VI do chromu III
- Łączenie się chromu na pośrednich stopniach utlenienia (V i IV) z DNA
- Tworzenie adduktów DNA i chromu III czego konsekwencją może być powstawanie połączeń krzyżowych zaburzających funkcje DNA

Zatrucie związkami chromu VI

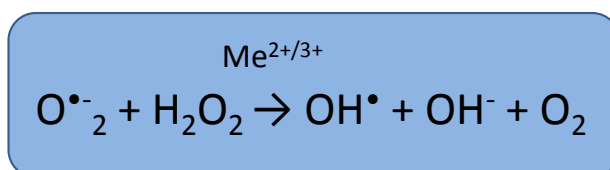
Objawy ostrego zatrucia wiążą się z silnymi właściwościami żrącymi chromianów (soli kwasu chromowego VI) oraz kwasu chromowego i manifestują się jako ciężkie zapalenie żołądka i jelit z zielono-żółtymi wymiotami, silnym bólem brzucha i biegunką. Powodem śmierci jest najczęściej szybko rozwijający się wstrząs oligowolemiczny. Długofalowe efekty ostrego zatrucia chromem VI to: zmiany hematologiczne (między innymi małopłytkowość) oraz ciężkie uszkodzenie wątroby (Woźniak, 1996).

Objawy zatrucia przewlekłego mogą różnić się od siebie w zależności od drogi intoksykacji. Kontakt inhalacyjny może prowadzić do wystąpienia chronicznego kataru, krwawień z nosa połączonych z martwicą śluzówki nosa oraz przegrody nosowej (aż do jej perforacji). Częstym objawem jest zapalenie spojówek. Inne drogi intoksykacji związkami chromu VI mogą prowadzić do utrudnienia gojenia się ran, oraz stosunkowo częstej, zwłaszcza u pracowników budowlanych, skórnej alergii chromowej.

Toksyczność związków chromu III

Mimo, że chrom III jest uznawany za znacznie bezpieczniejszy od chromu VI, obie formy po przedostaniu się do ustroju mogą zmieniać swoje stopnie utlenienia i wpływać na równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną. Chrom na IV i V stopniu utlenienia ma właściwości mutagenne i kancerogenne (Sugden i Stearns, 2000). Redukcja chromu VI do stopni pośrednich (V i IV) oraz stabilnego stopnia III może zachodzić w żywym organizmie (O’Flaherty i wsp., 2001). Dalsza redukcja jest również możliwa i zależy od właściwości liganda kompleksującego atom chromu III.

Najpopularniejszą formą chromu III jest pikolinian chromu, gdzie atom metalu połączony jest z aromatycznym ligandem poprzez azot pirydyny. Takie połączenie czyni chrom III bardziej wrażliwym na czynniki redukcyjne, a zmiana stopnia utlenienia na II umożliwia wejście w cykl reakcji Fentona lub Haber-Weissa. Reakcje te prowadzą do wytworzenia nadtlenku wodoru lub rodnika wodorotlenowego. Nagromadzenie w komórce produktów reakcji Fentona może skutkować między innymi oksydacyjnym uszkodzeniem DNA. Należy podkreślić, że pikolinian chromu penetruje do wnętrza komórki jako kompleks, co może ułatwiać dalszą redukcję chromu i zwiększać powstawanie czynników stresu oksydacyjnego (Bailey i wsp., 2008). Jednym z częstszych targetów silnych oksydantów są elementy błony komórkowej, np. cysteina budująca centra aktywne wielu enzymów (np. fosfataz białkowych). Zaburzenie funkcji tych enzymów prowadzić może to zmian komunikacji komórki z jej środowiskiem, w tym do zwiększenia działania insuliny na daną komórkę (Levina i Lay, 2008)



Rysunek 5 Reakcja Fentona – reakcja nadtlenku wodoru z jonem metalu(II), będąca metodą wytwarzania rodnika hydroksylowego opisana przez brytyjskiego chemika H.J.H. Fentona w 1876 r. W układach biologicznych reakcję tę mogą katalizować jony żelaza, miedzi, kobaltu, niklu, manganu, chromu: szczególnie w formie skompleksowanej z chelatorami.

Chrom III był historycznie uznawany za nieaktywny, lub znacznie mniej aktywny (w porównaniu z chromem VI) czynnik mutagenny i genotoksyczny. Pierwsza duża praca przeglądowa kumulująca wiedzę na temat mutagennego i genotoksycznego działania chromu ukazała się w 1990 roku (De Flora i wsp.). Autorzy podkreślali, że chrom III łatwiej reaguje z DNA w środowisku acelularnym, a w testach z użyciem hodowli komórkowych nie indukuje powstawania zmian toksycznych. Zaznaczyli też, że w testach *in vitro*, w których obserwowano genotoksyczne działanie chromu III zastosowano stężenie 1000-krotnie większe, niż stężenie chromu VI dającego podobne efekty. Zbliżone wnioski wyciągnęła grupa robocza IARC (*International Agency for Research on Cancer*), której raport opublikowano w 1990 roku.

Biomonitoring działania genotoksycznego związków chromu u ludzi

Znakomita większość badań opisujących potencjalne działanie genotoksyczne chromu u ludzi dotyczyła pracowników garbarni, którzy w związku z wykonywanym zawodem narażeni są na częsty kontakt ze związkami chromu. Wyniki tych badań są stosunkowo trudne do interpretacji, gdyż nie można wykluczyć ingerencji innych czynników chemicznych (np. kancerogennych amin aromatycznych) obecnych w środowisku pracy. Badania Gonzalez Cid (1991) pokazały, że ilość aberacji chromosomalnych w limfocytach krwi obwodowej była podniesiona, nie różniła się jednak w sposób statystycznie znamieny od kontroli. Nie obserwowano też różnic w jąderkach (*micronuclei*) złuszczonej komórki wydalonej z moczem pracowników garbarni. Zawartość chromu III w moczu badanych pracowników nie odbiegała od normy, co może świadczyć o niskiej ich ekspozycji lub niskiej dostępności chromu w miejscu pracy (Berner i wsp., 2004). Przeciwnie wyniki otrzymano w pracy Medeiros (2003), gdzie zaobserwowano znaczący wzrost częstości występowania jąderek (*micronuclei*) oraz połączeń krzyżowych DNA-białko w limfocytach pracowników garbarni. Autorzy tej pracy zauważyli również korelację pomiędzy stężeniem chromu w moczu a częstością połączeń krzyżowych DNA-białko, co może świadczyć o zależności przyczynowo-skutkowej tych zjawisk.

Bioakumulacja związków chromu

Niezwykle ważnym aspektem możliwego działania toksycznego badanego metalu jest jego tendencja do bioakumulacji. Doniesienia na ten temat płynęły zarówno z badań na zwierzętach jak i badań w ludzkim modelu farmakokinetycznym (Gargas i wsp., 1994, Lim i wsp., 1983, O’Flaherty, 1996). W cytowanych badaniach nie stwierdzono jednak czy obserwowane lub przewidywane stężenia chromu w tkankach będą nadal rosły przy długotrwałym stosowaniu suplementów chromowych. Nie wiadomo też jaka jest wartość progowa, po przekroczeniu której w analizowanym narządzie będzie można obserwować efekty genotoksyczności lub inne niepożądane efekty związane z „przeładowaniem” chromem (Berner i wsp., 2004).

Badania Anderson (1997) pokazały, że 20 tygodniowe podawanie pikolinianu chromu zwierzętom owocuje akumulacją tego metalu w nerkach i wątrobie. Nie obserwowano jednak żadnych efektów niepożądanych związanych z tym zjawiskiem. Trwające przez całe życie zwierząt badania MacKenzie (1958) z zastosowaniem chlorku chromu, oraz Schroeder (1965) z zastosowaniem octanu chromu jako dodatku do wody pitnej wykazały brak działań toksycznych badanego metalu. Może to sugerować, że chrom ma stosunkowo niską tendencję do wywoływania efektów związanych z toksycznością przewlekłą, oraz że chrom podawany doustnie osiąga w organizmie swoisty stan równowagi (*equilibrium*) i nigdy nie przekracza stężenia mogącego działać toksycznie (Berner i wsp., 2004).

Człowiek	LD 0.5-1g chromian potasu	(d)
Mysz	LD ₅₀ 180 mg/kg p.o	(e)
Człowiek	LD 6-8 g dichromian sodu	(d)
Szczur	LD ₅₀ 1800 mg/kg CrCl ₃ • 6H ₂ O p.o	(d)
Szczur	LD ₅₀ 3250 mg/kg C(NO ₃) ₃ • 9H ₂ O p.o	(d)
Szczur	LD ₅₀ 1790 mg/kg CrCl ₃ • 6H ₂ O p.o	(f)
Szczur	LD ₅₀ 1870 mg/kg CrCl ₃ p.o	(g)

Tabela 14 Wartości LD (dawek śmiertelnych) oraz LD₅₀ dla wybranych związków chromu.

Istnieją doniesienia na temat akumulacji chromu w jądrach samców po dootrzewnym podaniu chlorku chromu (Elbetieha i Al.-Hamood, 1997, Sipowicz i wsp., 1997). Oba badania pokazują, że podanie chlorku chromu w statystycznie znamiennej sposób zmniejsza płodność samców myszy Swiss, zmniejsza ciężar pęcherzyków nasiennych i gruczołów napletkowych przy jednoczesnym wzroście masy całych jąder.

Efekt prenatalnej ekspozycji na chrom III

Zastosowanie suplementacji chromem III u ciężarnych pacjentek jest stosunkowo nowym zagadnieniem. Za jego wprowadzeniem przemawia kilka faktów: ciąża jest stanem zwiększonej nerkowej utraty chromu, co może predysponować ciężarne do niedoborów tego biopierwiastka, dodatkowo istnieją pionierskie prace badające możliwość zastosowania chromu III w przeciwdziałaniu cukrzycy ciężarnych (jednego z najczęstszych powikłań ciąży) (Jovanovic i wsp., 1999). Pojawia się jednak pytanie o bezpieczeństwo zastosowania chromu, oraz o potencjalne skutki prenatalnej ekspozycji płodu na ten biometal.

Wpływ wzbogacenia paszy preparatami chromu III na przebieg i efekt ciąży u myszy był tematem prac grupy badaczy pod kierownictwem Profesora M. M. Bailey (2006, 2008). Zastosowali oni trzy formy chromu: chlorek, pikolinian oraz mający naśladować biologiczną aktywność chromoduliny (Clodfelder i wsp., 2004): $[\text{Cr}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CCH}_2\text{CH}_3)_6(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ (tzw. biomimetyk). Wyniki przyniosły nie do końca spójne wnioski. Nie zaobserwowano znaczących zmian masy ciała czy poboru pokarmu ciężarnych samiczek, nie zaobserwowano również działania toksycznego u matek. Badania płodów nie wykazały różnic w ilości żywych płodów, ilości płodów resorbowanych, ilości implantacji w miocie, czy zaburzeń budowy szkieletu. Badanie z 2006 roku wykazało zwiększenie częstości występowania defektu łuku szyjnego u płodów matek suplementowanych pikolinianem chromu. Wyniku tego nie udało się powtórzyć w 2008 roku. W obu badaniach nie zaobserwowano toksycznych efektów dodatku chlorku chromu oraz biomimetyku chromoduliny.

Wpływ chromu na dobrostan płodów myszy badano również w innym schemacie. Suplementacji chromem poddano samce przed kojarzeniem ich z samicami (z karmą dostarczano 200 mg/kg/dzień pikolinianu chromu przez okres 4 tygodni). Również i te badania wykazały brak wpływu na płodność samców, śmiertelność prenatalną, wielkość i wagę płodów oraz ich strukturę anatomiczną (McAdory i wsp., 2011).

Działanie przeciwdepresyjne chromu

Badania przedkliniczne

Pierwsze postulaty wskazujące na możliwość przeciwdepresyjnego działania chromu powstały w 1994 roku (McCarty, 1994 a). Łączyły one uwrażliwiający na insulinę wpływ pikolinianu chromu z aktywizującą szlaki katecholaminowe właściwością mózgowych receptorów insulinowych, oraz zwiększaniem przez insulinę transportem tryptofanu przez barierę krew-mózg. Ten sam autor (McCarty, 1994 b) sugerował, że chrom poprzez swoje działanie na receptory insulinowe może zatrzymywać zmiany związane ze starzeniem się podwzgórza (podtrzymywanie aktywności katecholaminowej oraz zależnych od insuliny mechanizmów regulujących apetyt i termoregulację). Jednym z proponowanych przez McCarty'ego mechanizmów przeciwdepresyjnego działania chromu miało być działanie troficzne na komórki mózgowe.

Analityczne badania przeciwdepresyjnego działania chromu przeprowadzano od 2001 roku (czyli po pionierskich publikacjach Profesora McLeoda). Stwierdzono między innymi zwiększoną ilość serotoniny w mózgu szczura po 2 tygodniach stosowania diety wzbogacanej o chrom, oraz zmniejszony wyrzut kortyzolu/kortykosteronu po podaniu 5-HTP (Attenburrow i wsp., 2001). Zmiany poziomu serotoniny po podaży chromu nie udało się uzyskać u ludzi, co autorzy tłumaczyli zastosowaniem mniejszych dawek oraz krótszego okresu ekspozycji. Badania na ludzkich komórkach adrenokortykałnych (H295R) aktywowanych forskoliną wykazały hamujący wpływ pikolinianu chromu na uwalnianie kortyzolu (Kim i wsp., 2009).

Wykonane do tej pory testy behawioralne obejmowały zmodyfikowany test pływania u szczurów z indukowaną cukrzycą (Khanam i Pallai, 2006), oraz służące ocenie wpływu suplementacji chromem na lęk i pamięć zwierząt laboratoryjnych: test podniesionego labiryntu krzyżowego (*elevated plus maze*) i test spontanicznej zmienności zachowania (*spontaneous alternation behavior*) (Khanam i Pallai, 2007). Pierwszy z nich pokazał, że chrom stosowany przewlekle w postaci wodnego roztworu pikolinianu chromu działa przeciwdepresyjnie skracając czas bezruchu u szczurów, a dodatkowe obserwacje wskazują, że za to działanie ma być odpowiedzialne nasilenie neurotransmisji serotoninerdycznej. Ta sama droga transmisji neuronalnej miała być odpowiedzialna według autorów za wydłużenie czasu przebywania w ramionach otwartych podniesionego labiryntu krzyżowego, co wskazuje na działanie przeciwłękowe badanego biometalu. Prowadzone badania behawioralne nie wykazały natomiast wpływu na pamięć.

Badania kliniczne

Historia wprowadzenia soli chromu III do leczenia zaburzeń afektu jest nierozłącznie związana z postacią profesora psychiatrii: Malcolma Noella McLeoda (*Northern Carolina University School of Medicine*). W swojej praktyce zawodowej zaobserwował pozytywny wpływ suplementacji chromem na zmniejszenie objawów depresji atypowej, zespołu napięcia przedmiesiączkowego (PMS), sezonowych chorób afektywnych (SAD) oraz dobowych wahań nastroju. Efekty swoich obserwacji badał przy zastosowaniu prób pojedynczo zaślepionych, a następnie po zatwierdzeniu przez FDA nowego wskazania dla zastosowania chromu (nadanie statusu: *Investigational New Drug* IND) suplementacja tym biometalem stała się przedmiotem badań grup naukowców Departamentu Psychiatrii Uniwersytetu Karoliny Północnej oraz Centrum Medycznego Uniwersytetu Duke. Wyniki tych badań zostały opublikowane w kilku czasopismach (McLeod i wsp., 1999, McLeod i Golden, 2000, Davidson i wsp., 2003, Docherty i wsp., 2005) a profesor McLeod otrzymał patenty obejmujące zastosowanie chromu w monoterapii oraz w połączeniu z lekami przeciwdepresyjnymi w leczeniu zaburzeń nastroju. Swoje doświadczenia opisał w książce pt. „*Lifting Your Depression*”.

US Patent 6,034,125 7 03 2000	Leczenie chromem: depresji, dobowych wahań nastroju oraz sezonowych wahań nastroju
US Patent 5,898,036 27 04 1999	Leczenie skojarzone chromem i LPD: depresji, dobowych wahań nastroju oraz sezonowych wahań nastroju
US Patent 5,877,171 2 03 1999	Leczenie skojarzone chromem i LPD zespołu napięcia przedmiesiączkowego (PMS)
US Patent 5,972,390 29 09 1999	Leczenie chromem zespołu napięcia przedmiesiączkowego (PMS)

Tabela 15 Patenty Prof. McLeod'a związane z zastosowaniem chromu w leczeniu zaburzeń nastroju.

W odróżnieniu do wcześniejszych badań o raczej kazuistycznym charakterze (opisy przebiegu leczenia 5-15 pacjentów) praca Docherty (2005) to wielośrodkowa praca badawcza, w której zastosowano metodę podwójnie ślepej próby kontrolowanej placebo. Z wyjściowej grupy 113 dorosłych pacjentów ambulatoryjnych ze zdiagnozowaną depresją atypową, 75 osób (50 otrzymujących preparat chromu oraz 25 otrzymujących placebo)

znalazło się w populacji kwalifikującej się do oceny (przyjęcie co najmniej 80% ordynowanych dawek leku oraz brak znaczących odstępstw od protokołu badania).

Do oceny postępów leczenia zastosowano HAM-D-29 (rozszerzona, 29-punktowa skala oceny depresji według Hamiltona). Po 8 tygodniach kuracji obie grupy wykazały znamienne statystycznie poprawę wyników HAM-D-29. Szczegółowa analiza wykazała jednak, że grupa otrzymująca chrom różniła się od grupy kontrolnej w czterech aspektach badanych skalą HAM-D-29: zwiększony apetyt, nadmierne objadanie się, chęć na słodkie oraz dobowe wahania nastroju. Po wyodrębnieniu populacji pacjentów charakteryzujących się na początku badania zwiększoną ochotą na słodkie wykazano, że grupa otrzymująca suplementację chromem miała znacznie lepsze wyniki badane skalą HAM-D-29, zwłaszcza w aspektach związanych z zaburzeniami odżywiania oraz zaburzeniami funkcji seksualnych. Autorzy sugerują, że chrom może stać się skutecznym środkiem zmniejszającym objawy depresji atypowej lecz głównie te związane ze zwiększonym apetytem.

Pojawienie się leku o wyraźnie określonej grupie docelowej (pacjentów o jednolitym profilu klinicznym) jest niezwykle ciekawą alternatywą dla współcześnie dostępnych schematów leczenia. Chrom może zostać lekiem (ze względu na swoje farmakologiczne a nie dietetyczne działanie należy rozpatrywać go raczej jako lek a nie suplement diety) w leczeniu dystymii oraz depresji atypowych z nasilonym odruchem sięgania po jedzenie a zwłaszcza po słodkie.

Cel pracy

Niezwykle obiecujące badania profesora McLeod'a oraz potwierdzające je, niestety tylko częściowo późniejsze badania kliniczne nie dają pełnego obrazu możliwości stosowania suplementacji chromem w terapii zaburzeń neuropsychiatrycznych. Podobnie przeprowadzone do tej pory badania analityczne nie pozwalają na jasne przedstawienie mechanizmu działania chromu, co jest niezwykle interesujące ze względu na specyfikę i unikalność jego działania klinicznego (aktywność w grupie pacjentów z depresją atypową, dystymią czy depresją połączoną z nadmiernym wzrostem apetytu).

Celem wykonanych eksperymentów było zrozumienie podstawowych, neurobiologicznych mechanizmów odpowiedzialnych za to specyficzne działanie chromu, identyfikacja układów neuroprzekaźnikowych oraz konkretnych receptorów biorących udział w tym działaniu, oraz wstępna analiza możliwości łączenia chromu III z innymi lekami przeciwdepresyjnymi.

Pytania badawcze

Na podstawie przeprowadzonych badań starano się odpowiedzieć na następujące pytania badawcze:

1. Jaka jest dawkozależność działania przeciwdepresyjnego chromu III u myszy i szczurów?
2. Jaka rolę odgrywają układy neuroprzekaźnikowe (noradrenergiczny, serotonergiczny, dopaminergiczny i glutamatergiczny) w manifestacji działania przeciwdepresyjnego u myszy?
3. Jakie jest powinowactwo chromu III do wybranych receptorów w mózgu szczura?
4. Czy istnieje możliwość stosowania chromu jako środka wzmacniającego farmakoterapię depresji w modelu zwierzęcym?
5. Czy po chronicznym podaniu chromu w mózgach szczurów powstają zmiany adaptacyjne w obrębie receptorów β -adrenergicznych i α -adrenergicznych?
6. Czy doniesienia o potencjalnym działaniu przeciwłękowym soli chromu III w modelu zwierzęcym potwierdzą się w niniejszych badaniach?

Materiały i metody

Zwierzęta laboratoryjne

Doświadczenia przeprowadzono na samcach szczurów szczepu Wistar, pochodzących z hodowli Wydziału Farmaceutycznego UJCM, kod: krf: WI(WU), o masie 180-250 g, oraz na samcach myszy szczepu Albino Swiss CD10, z hodowli mgr inż. Marii Staniszewskiej (Kielce), o masie 20-25 g. Zwierzęta przetrzymywano w klimatyzowanych pomieszczeniach o stałej temperaturze $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, w standardowych klatkach domowych (4-6 szczurów lub 10-15 myszy na klatkę), z zachowaniem naturalnego, 12-godzinne go cyklu dobowego światło/ciemność, oraz wolnym dostępem do wody i standardowej, suchej karmy granulowanej. Związki podawano między godzinami: 9.00 a 11.00, a testy behawioralne przeprowadzono zgodnie ze specyfiką zachowań dobowych pomiędzy godziną 9.00 a 14.00. Wszystkie doświadczenia przeprowadzone były za zgodą komisji bioetycznej ds. badań na zwierzętach.

Badania behawioralne

Test Porsolta u myszy

Test wymuszonego pływania (FST - *Forced Swim Test*) u myszy wykonywano wg metody opisanej przez Porsolta i wsp. (1977). Myszy umieszczano pojedynczo w szklanych zlewkach o wysokości 25cm i średnicy 10cm wypełnionych do wysokości 10 cm wodą o temperaturze $23-25^{\circ}\text{C}$. Zwierzęta pozostawiano w wodzie na czas 6 minut. Po upływie pierwszych dwóch minut testu (czas adaptacji do nowego środowiska) mierzono czas bezruchu. Za bezruch uznawano stan, w którym myszy przyjmują charakterystyczną, semihoryzontalną postawę oraz wykonują jedynie niezbędne ruchy umożliwiające utrzymanie głowy tuż nad powierzchnią wody oraz zachowania równowagi.

Test Porsolta u szczurów

Test wymuszonego pływania u szczurów wykonano zgodnie z procedurą opisaną przez Porsolta i wsp. (1978), a pomiar poszczególnych parametrów behawioralnych wykonano zgodnie z modyfikacją wprowadzoną przez Detke (1995). 24 godziny przed testem wykonano pre-test polegający na umieszczeniu szczurów pojedynczo w zlewkach o wysokości 40 cm i średnicy 18 cm napełnionych wodą o stałej temperaturze (25°C) do wysokości 30 cm. Czas trwania pre-testu wynosił 15 minut, a po jego zakończeniu zwierzęta

wyjmowano z wody, suszono i umieszczano w suchej klatce domowej. Właściwy test polegał na ponownym umieszczaniu zwierząt w zlewkach na czas 5 minut i pomiarze całkowitego czasu **bezruchu**, czasu aktywnego **pływania** oraz czasu **wspinania się** na ścianki naczynia. Za bezruch uznawano swobodne unoszenie się na wodzie przy wykonywaniu jedynie niezbędnych dla utrzymania równowagi ruchów. Jako pływanie uznawano aktywne ruchy służące zmianie położenia w zlewce wykonywane w charakterystycznej horyzontalnej postawie. Wspinaniem nazwano próby wydostania się zwierząt ze zlewki poprzez aktywne wspinanie się obiema przednimi łapami na pionowe ścianki naczynia.

Badanie spontanicznej aktywności lokomotorycznej myszy

Spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy mierzono w aktometrach o średnicy 25cm wyposażonych w urządzenie wytwarzające dwie wiązki światła i dwa fotooporniki. Zwierzęta umieszczano w aktometrach pojedynczo, a aktywność lokomotoryczną mierzono przez okres 30 minut. Ilość impulsów generowanych ilością ruchów przecinających wiązkę światła odczytywano po upływie: 2, 6 i 30 minut. Badanie wykonano z zachowaniem ilości wstrzyknięć, dawek, odstępów czasowych i dróg podania stosowanych w teście wymuszonego pływania.

Test podniesionego krzyża u szczurów

Test podniesionego krzyża u szczurów (*Elevatet plus-maze test*) przeprowadzono zgodnie z procedurą opisaną przez Pellow i File (1986). Aparat w postaci drewnianego krzyża został umieszczony na wysokości 50 cm. Dwa ramiona labiryntu (50 cm długości oraz 10 cm szerokości) były otwarte, pozostałe dwa ramiona wyposażone zostały w ścianki boczne o wysokości 38 cm (tzw. ramiona zamknięte). Aparat został umieszczony w zaciemnionym pomieszczeniu, a jego centralne miejsce oświetlono żarówką (25 W) zawieszoną metr powyżej labiryntu. Każdy szczur po 5 minutowym okresie adaptacji w drewnianym pudełku (60 x 60 x 35 cm) był umieszczany w centralnym miejscu aparatu. W celu zwiększenia ogólnej aktywności w labiryncie umieszczano zwierzę przodem do jego zamkniętego ramienia. Pojedynczy test trwał 5 minut, w trakcie których mierzono: ilość wejść do ramion zamkniętych i otwartych, czas spędzony w każdym z typie ramion, długość drogi w nich przebytą oraz ilość ambulacji (lokomocji, ruchliwość w trzech osiach XYZ) wykonaną w czasie trwania pojedynczego testu. Wejście do ramienia labiryntu krzyżowego było definiowane jako umieszczenie wszystkich czterech łap w danym ramieniu aparatu. Po każdym teście aparat był przemywany roztworem etanolu.

Badanie aktywności eksploracyjnej przy zastosowaniu uniesionego labiryntu krzyżowego

Eksperyment przeprowadzono stosując opisany wyżej aparat wyposażony w automatyczny system notowania wyników (Kinder Scientific). W czasie 5 minut obserwacji zliczano: całkowity czas jaki szczur spędza w ramionach otwartych i zamkniętych, całkowitą ilość wejść do tych ramion, dystans oraz ambulacje w ramionach X i Y. Zmiany w tych parametrach pozwalają rozpoznać związki, które nie dają specyficznych wyników w teście uniesionego labiryntu krzyżowego a zmieniają spontaniczną aktywność lokomotoryczną. W celu usunięcia śladów zapachowych po każdym zwierzęciu aparaturę myto roztworem alkoholu.

Związki stosowane w testach behawioralnych

Związek (stosowany skrót)	Działanie	Producent	Zakres stosowanych dawek	Referencje stosowanych dawek	Droga podania	Czas do wykonania testu
Chlorek chromu (Cr)	Sól badanego biometalu	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Niemcy	6 mg/kg 12 mg/kg 32 mg/kg	Franklin i Odontiadis, 2003	i.p.	45 min.
Imipramina (IMI)	Referencyjny lek przeciwdepresyjny LPD w dawce subaktywnej	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Niemcy	30 mg/kg 5 mg/kg	Poleszak i wsp., 2005 Cardoso i wsp., 2009	i.p.	45 min.
Reboksetyna (Reb)	LPD w dawce subaktywnej	Tocris bioscience, USA	5 mg/kg	Rogóż i Kobziński, 2011	i.p.	30 min.
Fluoksetyna (Flu)	LPD w dawce subaktywnej	Ascent scientific Ltd., Wielka Brytania	5 mg/kg	Szewczyk i wsp., 2009	i.p.	30 min.
Bupropion (Bup)	LPD w dawce subaktywnej	Tocris bioscience, USA	1 mg/kg	Cardoso i wsp., 2009, Binfaré i wsp., 2009	i.p.	30 min.
NMDA	Agonista rec NMDA	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Niemcy	75 mg/kg	Szewczyk i wsp., 2010	i.p.	60 min.
NBQX	Antagonista rec AMPA	Tocris bioscience, USA	10 mg/kg	Szewczyk i wsp., 2010	i.p.	60 min.
Ritanseryna (Rit)	Antagonista rec 5-HT _{2A/C}	Tocris bioscience, USA	4 mg/kg	Cardoso i wsp., 2009, Szewczyk i wsp., 2009	i.p.	60 min.
WAY 100635 (WAY)	Antagonista rec 5-HT _{1A}	syntetyzowany w IF PAN Kraków przez dr J. Boksa	0,1 mg/kg	Cardoso i wsp., 2009, Szewczyk i wsp., 2009	s.c.	60 min.
Prazosyna (Praz)	Antagonista rec α_1	Ascent scientific Ltd., Wielka Brytania	1 mg/kg	Cardoso i wsp., 2009, Brocardo i wsp., 2007	i.p.	60 min.
Johimbina (Joh)	Antagonista rec α_2	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Niemcy	1 mg/kg	Cardoso i wsp., 2009, Brocardo i wsp., 2007	i.p.	60 min.
Propranolol (Prop)	Antagonista rec β_2	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Niemcy	2 mg/kg	Binfaré i wsp., 2009	i.p.	60 min.
SCH 23390 (SCH)	Antagonista rec D1	Tocris bioscience, USA	0,5 mg/kg	Cardoso i wsp., 2009	i.p.	60 min.
Sulpiryd (Sulp)	Antagonista rec D2	Tocris bioscience, USA	50 mg/kg	Cardoso i wsp., 2009, Binfaré i wsp., 2009	i.p.	60 min.

Tabela 16 Związki stosowane w testach behawioralnych.

Badania analityczne – testy saturacyjne

Przygotowanie tkanek do badań saturacyjnych

Testy saturacyjne wykonano na tkankach pobranych od szczurów, które przez okres 14 dni codziennie o stałej porze otrzymywały bolus dootrzewnowy (*i.p.*) o objętości 2 ml/kg masy ciała z jednej z trzech substancji:

- roztwór soli fizjologicznej (NaCl)
- imipramina w dawce 15 mg/kg
- chlorek chromu (CrCl_3) w dawkach: 6 i 12 mg/kg

24 godziny po ostatnim podaniu zwierzęta dekapitowano i izolowano odpowiednie struktury mózgowe, które następnie zostały zamrożone na suchym lodzie, a do czasu wykonania testu były przechowywane w temperaturze -80°C .

Badanie gęstości receptorów β -adrenergicznych - analiza saturacyjna

Tkanekę (korę frontalną) izolowaną z mózgu szczura homogenizowano w 20 objętościach 50 mM/l buforu Tris-HCl (pH=7.6 w temperaturze 30°C) przy użyciu homogenizatora Ultra Turrax T25B (IKA) i wirowano 20 minut ($20\,000 \times g$) w temperaturze $0-4^\circ\text{C}$. Supernatant odrzucono a otrzymany pelet ponownie homogenizowano w 20 objętościach buforu i wirowano 20 minut ($20\,000 \times g$, $0-4^\circ\text{C}$). Ostateczny pelet zawieszono w buforze Tris-HCl z zachowaniem proporcji: 1 g tkanki na 35 ml buforu.

Mieszanina inkubacyjna w pojedynczym dołku płytki zawierała:

- 240 μl zawiesiny tkankowej,
- 30 μl roztworu $[3\text{H}]\text{CGP-12177}$ (zakres stężeń 0.03-3.00 nM),
- oraz 30 μl buforu (wiązanie totalne) lub 30 μl 1 μM roztworu propranololu (wiązanie niespecyficzne)

Próbki w dwukrotnych powtórzeniach inkubowano w temperaturze 37°C przez okres 60 minut. Proces inkubacji przerwano przez szybkie przefiltrowanie mieszaniny przez filtry Whatman GF/C oraz dwukrotne przepłukanie zimnym buforem (2 x 100 μl). Wyszuszone filtry umieszczono w plastikowych kopertach, zalano płynem scyntylacyjnym i umieszczono w liczniku MicroBeta (PerkinElmer USA).

Badanie gęstości receptorów $\alpha 1$ -adrenergicznych - analiza saturacyjna

Tkankę (korę frontalną) homogenizowano w 20 objętościach 50 mM/l buforu Tris-HCl (pH=7.6 w temperaturze 30°C) przy użyciu homogenizatora Ultra Turrax T25B (IKA), wirowano 20 minut (20 000 x g) w temperaturze 0-4°C. Supernatant odrzucono a otrzymany pelet ponownie homogenizowano w 20 objętościach buforu i wirowano 20 minut (20 000 x g, 0-4°C). Ostateczny pelet zawieszono w buforze Tris-HCl z zachowaniem proporcji: 1 g tkanki na 35 ml buforu.

Mieszanina inkubacyjna zawierała:

- 240 μ l zawiesiny tkankowej,
- 30 μ l roztworu [3 H]prazosyny (zakres stężeń 0.186-3.5 nM),
- oraz 30 μ l buforu (wiązanie totalne) lub 30 μ l 10 μ M roztworu fentolaminy (wiązanie niespecyficzne)

Próbki w dwukrotnych powtórzeniach inkubowano w temperaturze 25°C przez 30 minut. Proces inkubacji przerwano przez szybkie przefiltrowanie mieszaniny przez filtry Whatman GF/B oraz dwukrotne przepłukanie zimnym buforem (2 x 100 μ l). Wyszuszony filtr umieszczono w plastikowej kopercie, zalano płynem scyntylicyjnym i umieszczono w liczniku MicroBeta (PerkinElmer USA).

Badanie stężenia białka metodą Bradforda

Stężenie białka w homogenatach tkankowych badano metodą Melanii M. Bradford, która wykorzystuje fakt przesunięcia maksimum absorpcji roztworu barwnika Coomassie Brilliant Blue (CBB) G-250 po związaniu z białkiem z 465 nm do 595 nm.

Stężony odczynnik Bradforda sporządzono przez rozpuszczenie 10 mg barwnika Coomassie Brilliant Blue (CBB) G-250 w 5 cm^3 alkoholu etylowego oraz dodatek 10 cm^3 85% kwasu fosforowego. Przed analizą odczynnik rozcieńczono (15 cm^3 + 85 cm^3 wody destylowanej) i dwukrotnie filtrowano. Do homogenatu tkankowego (10 μ l) dodano taką samą ilość 1 M NaOH oraz 300 μ l rozcieńczonego odczynnika Bradforda. Całość wymieszano i poddano 10 minutowej inkubacji. Absorbancję przy długości fali 595 nm mierzono przy pomocy aparatu: Marcel. Ilość białka w próbkach badano w tripletach wynik podając jako średnią.

Badania analityczne – testy inhibicyjne

Badanie powinowactwa chromu do receptorów adrenergicznych α_1

Korę mózgową szczura homogenizowano w 20 objętościach buforu Tris-HCl pH=7,6 w temp. 4°C przy użyciu homogenizatora Ultra Turrax T25B (IKA). Homogenat wirowano przy obrotach 20 000 x g przez 20 minut w temperaturze 4°C. Otrzymany pelet homogenizowano, a następnie wirowano ponownie w tych samych warunkach.

Mieszaninę reakcyjną zawierającą 30 μ l roztworu badanej substancji, 30 μ l 0,2 nM [³H]prazosyny oraz 240 μ l zawiesiny tkankowej (10 mg/ml) inkubowano przez 30 minut w 30°C. Po inkubacji mieszaninę reakcyjną przesączono przez filtry Whatman GF/B. Filtr przepłukano pięciokrotnie 200 μ l buforu Tris-HCl pH=7,6. Po wysuszeniu filtr umieszczono w woreczku i zalano płynem scyntylicyjnym Ultima MV (Perkin Elmer). Radioaktywność mierzono w liczniku scyntylicyjnym MicroBeta (Perkin Elmer). Badane substancje oznaczano w dwukrotnych powtórzeniach. Jako miarę powinowactwa wyznaczono % wiązania całkowitego. Jako związek odniesienia zastosowano fentolaminę.

Badanie powinowactwa chromu do receptorów adrenergicznych β_1

Korę mózgową szczura homogenizowano w 20 objętościach 50 mM buforu Tris-HCl (pH=7,6) przy użyciu homogenizatora Ultra Turrax T25B (IKA). Homogenat wirowano przy obrotach 1000 x g przez 10 minut w temperaturze 0-4°C. Zebrany supernatant wirowano przy obrotach 20 000 x g przez 20 minut w temperaturze 0-4°C. Otrzymany pelet homogenizowano z 20 objętościami buforu i ponownie wirowano.

Mieszaninę reakcyjną zawierającą 30 μ l roztworu badanej substancji, 30 μ l 0,2 nM [³H]CGP-12177 oraz 240 μ l zawiesiny tkankowej (5 mg/ml) inkubowano przez 60 minut w 37°C. Po inkubacji mieszaninę reakcyjną przesączono przez filtry Whatman GF/B. Filtr przepłukano pięciokrotnie 200 μ l buforu Tris-HCl (pH=7,6). Po wysuszeniu filtr umieszczono w woreczku i zalano płynem scyntylicyjnym Ultima MV (Perkin Elmer). Radioaktywność mierzono w liczniku scyntylicyjnym MicroBeta (Perkin Elmer). Badane substancje oznaczano w dwukrotnych powtórzeniach. Jako miarę powinowactwa wyznaczono % wypierania znakowanego liganda z jego specyficznego kompleksu z receptorem.

Badanie powinowactwa chromu do receptorów serotoniny 5-HT_{1A}

Hipokamp szczura homogenizowano w 20 objętościach buforu Tris-HCl (pH=7,7 w temperaturze 0-4°C) przy użyciu homogenizatora Ultra Turrax T25B (IKA). Homogenat wirowano przy obrotach 10 000 x g przez 10 minut w temperaturze 0-4°C. Otrzymany pelet powtórnie homogenizowano, a następnie inkubowano przez 10 minut w temperaturze 37°C i wirowano ponownie.

Mieszaninę reakcyjną zawierającą 30 µl roztworu badanej substancji, 30 µl 1 nM [³H]8-OH-DPAT oraz 240 µl zawiesiny tkankowej (5 mg/ml) inkubowano przez 20 minut w 37°C. Po inkubacji mieszaninę reakcyjną przesączono przez filtry Whatman GF/B. Filtr przepłukano pięciokrotnie 200 µl buforu Tris-HCl (pH=7,7). Po wysuszeniu filtr umieszczono w woreczku i zalano płynem scyntylicyjnym Ultima MV (Perkin Elmer). Radioaktywność mierzono w liczniku scyntylicyjnym MicroBeta (Perkin Elmer). Badane substancje oznaczano w dwukrotnych powtórzeniach. Jako miarę powinowactwa wyznaczono % wypierania znakowanego liganda z jego specyficznego kompleksu z receptorem.

Badanie powinowactwa chromu do transportera serotoniny (5HT-T)

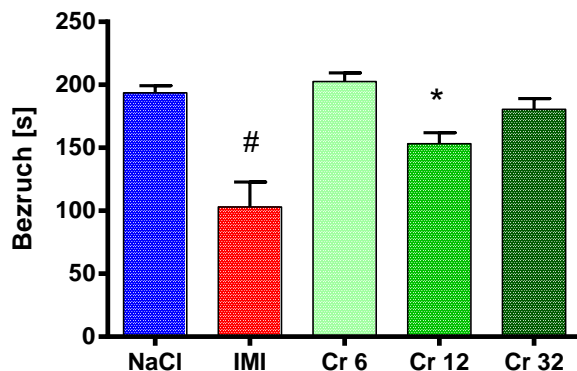
Korę mózgową szczura homogenizowano w 20 objętościach buforu Tris-HCl pH=7,7 zawierającego 120 mM NaCl i 5 mM KCl w temperaturze 0-4°C przy użyciu homogenizatora Ultra Turrax T25B (IKA). Homogenat wirowano przy obrotach 20 000 x g przez 20 minut w temperaturze 0-4°C. Otrzymany pelet homogenizowano i wirowano jeszcze dwukrotnie w tych samych warunkach.

Mieszaninę reakcyjną zawierającą 30 µl roztworu badanej substancji, 30 µl 1 nM [³H]citalopramu oraz 240 µl zawiesiny tkankowej (5 mg/ml) inkubowano przez 60 minut w 24°C. Po inkubacji mieszaninę reakcyjną przesączono przez filtry Whatman GF/B. Filtr przepłukano pięciokrotnie 200 µl buforu Tris-HCl (pH=7,7). Po wysuszeniu filtr umieszczono w plastikowej kopercie i zalano płynem scyntylicyjnym Ultima MV (Perkin Elmer). Radioaktywność mierzono w liczniku scyntylicyjnym MicroBeta (Perkin Elmer). Badane substancje oznaczano w dwukrotnych powtórzeniach. Jako miarę powinowactwa wyznaczono % wypierania znakowanego liganda z jego specyficznego kompleksu z receptorem.

Wyniki

Testy behawioralne

Badanie dawkozależności efektu przeciwdepresyjnego wywołanego jednorazowym podaniem soli chromu III w teście Porsolta u myszy

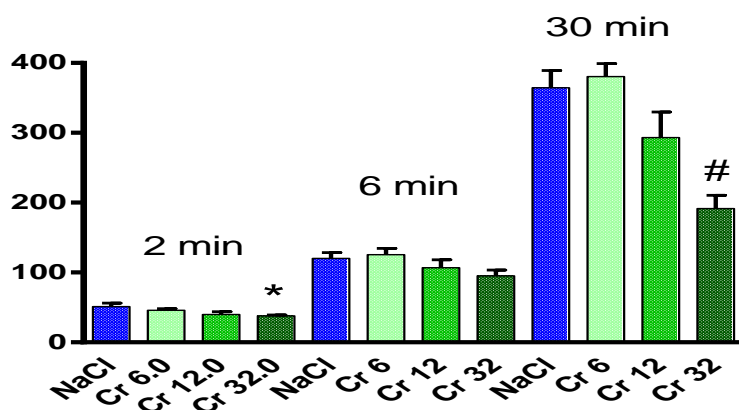


Rysunek 6 Wpływ 1-krotnego podania CrCl_3 (Cr) lub imipraminy (IMI) na czas trwania bezruchu w teście Porsolta u myszy. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=10). # $p < 0,01$ * $p < 0,05$ vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnett.

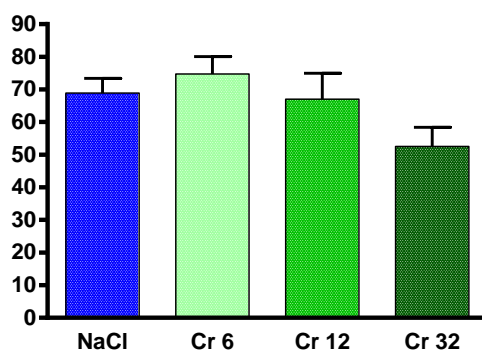
Dawkozależność przeciwdepresyjnego działania soli chromu III u myszy zbadano przy zastosowaniu testu wymuszonego pływania (testu Porsolta). W eksperymencie wykorzystano dwie grupy odwoławcze: grupę, która otrzymywała roztwór soli fizjologicznej (kontrola efektu wywołanego stresem związanym z podaniem dootrzewnowym) oraz grupę, w której zwierzęta otrzymywały aktywną dawkę uznanego leku przeciwdepresyjnego: imipraminę w dawce aktywnej: 30 mg/kg (tzw. kontrola pozytywna). Jednoczynnikowa analiza wariancji wykryła różnice czasów bezruchu dla zastosowanych leków ($F_{(4,45)}=13,21$ $p < 0,0001$). Test post hoc pokazał istotne statystycznie różnice dla grupy otrzymującej imipraminę (skrócenie czasu bezruchu o 47%, $p < 0,01$) oraz chlorek chromu w dawce 12 mg/kg (skrócenie o 22,5%, $p < 0,05$) w porównaniu do grupy kontrolnej (NaCl). Czasy bezruchu zwierząt otrzymujących najmniejszą (6 mg/kg) oraz największą dawkę (32 mg/kg) nie różniły się znamienne od czasów uzyskanych przez zwierzęta kontrolne.

Badanie zmian spontanicznej aktywności lokomotorycznej wywołanej jednorazowym podaniem soli chromu III u myszy

Aby wykluczyć rolę efektu aktywizującego badanej substancji na wynik testu Porsolta wykonano test spontanicznej aktywności lokomotorycznej w warunkach naśladujących te, które miały miejsce w trakcie wykonywania testu wymuszonego pływania (czas i droga podania, zastosowane dawki i rozpuszczalniki).



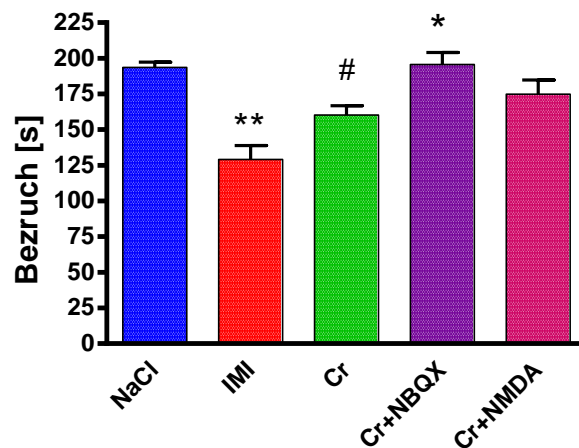
Rysunek 7 Wpływ 1-krotnego podania CrCl_3 na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w 2, 6 i 30 minucie testu. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=9-10). * $p < 0,05$, # $p < 0,01$ vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnett.



Rysunek 8 Wpływ 1-krotnego podania CrCl_3 na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w czasie wykonywania testu Porsolta (6 minuta – 2 minuta). Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=9-10).

W szóstej minucie testu jednoczynnikowa analiza wariancji nie wykazała różnic pomiędzy grupami ($F_{(3,33)}=2,517$ $p=0,0752$). Różnice wykryto natomiast w drugiej ($F_{(3,33)}=3,093$, $p=0,0403$) i w 30 minucie testu ($F_{(3,33)}=10,85$ $p<0,0001$), a test post hoc pokazał, że grupa otrzymująca chrom w największej dawce wykazała zmniejszoną aktywność lokomotoryczną (o 28,15%, $p<0,05$ w drugiej i 47,4%, $p<0,01$ w 30 minucie testu) w porównaniu z grupą kontrolną. Analiza wyników dla czterech minut odpowiadających okresowi pomiaru czasu bezruchu w teście Porsolta wykryła brak różnic pomiędzy grupami ($F_{(3,33)}=2,482$ $p=0,0781$).

Wpływ ligandów receptorów glutaminianergicznym NMDA i AMPA na działanie przeciwdepresyjne soli chromu III w teście Porsolta u myszy



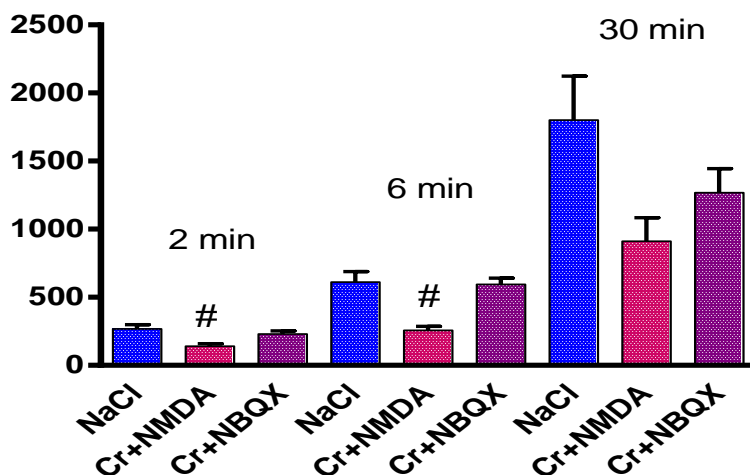
Rysunek 9 Wpływ modulacji aktywności receptorów glutaminianergicznym na zmianę czasu bezruchu wywołanego podaniem chromu w teście Porsolta u myszy. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=8-15).
****** $p<0,001$ # $p<0,01$ vs. grupa kontrolna (NaCl), * $p<0,05$ vs. grupa chromowa (Cr) Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test.

W celu zbadania roli jonotropowych receptorów glutamatergicznych w manifestacji efektu przeciwdepresyjnego chromu u myszy, przed podaniem aktywnej dawki chromu zastosowano premedykację ligandami receptorów NMDA (NMDA w dawce 75 mg/kg) i AMPA (NBQX w dawce 10 mg/kg), a następnie wykonano test wymuszonego pływania. Dla ujednolicenia stresu jakiemu poddane zostały zwierzęta otrzymujące dwa leki (dwa podania dootrzewnowe) grupy: NaCl, IMI oraz Cr otrzymały dodatkowe podanie samego rozpuszczalnika.

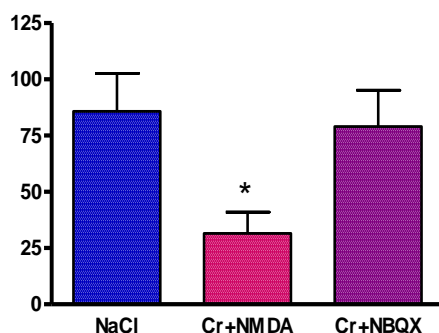
Jednoczynnikowa analiza wariancji pokazała różnice pomiędzy czasami bezruchu w poszczególnych grupach ($F_{(4,47)}=13,12$, $p<0,0001$). Test post hoc wskazał, że grupa otrzymująca imipraminę skracająca czas bezruchu średnio do 129,1 sekundy znacząco różni się od grupy kontrolnej ($p<0,001$), natomiast grupa otrzymująca chrom wykazuje średni czas bezruchu 160,3 dając również wynik znamienne różny ($p<0,01$) w porównaniu z grupą kontrolną. Grupa otrzymująca łącznie chrom oraz NBQX (ze średnim czasem bezruchu 195,6) znacząco różni się od grupy otrzymującej chrom ($p<0,05$).

Badanie zmian spontanicznej aktywności lokomotorycznej wywołanej łącznym podaniem soli chromu III i ligandów receptorów glutaminianergicznych

W celu zbadania efektu łącznego podania chromu w dawce 12 mg/kg oraz ligandów jonotropowych receptorów glutamatergicznych na zachowanie zwierząt laboratoryjnych wykonano test spontanicznej aktywności lokomotorycznej. Zwierzęta z grupy kontrolnej otrzymały dwa podania dootrzewnowe stosowanego rozpuszczalnika.



Rysunek 10 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów glutaminianergicznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w 2, 6 i 30 minucie testu. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=6). # $p<0,01$ vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnet.



Rysunek 11 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów glutaminianergicznyc i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w czasie trwania testu Porsolta (6 minuta – 2 minuta). Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=6). *p<0,05 vs. grupa kontrolna (NaCl) Test post hoc: Dunnet.

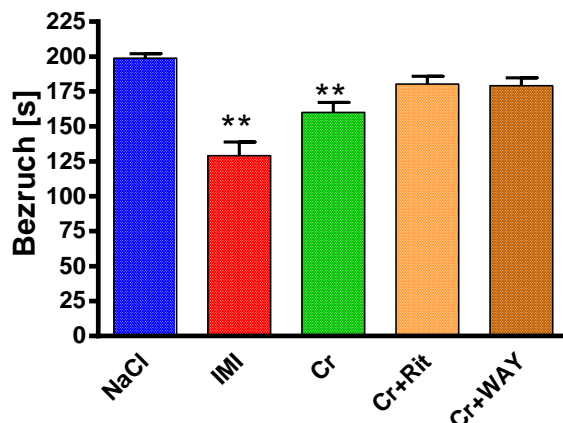
Jednoczynnikowa analiza wariancji wykryła różnice pomiędzy zliczeniami dla poszczególnych grup w drugiej ($F_{(2,15)}=8,125$, $p=0,0041$), szóstej ($F_{(2,15)}=11,07$, $p=0,0011$) oraz naśladującej czas pomiaru bezruchu w teście wymuszonego pływania różnicy pomiędzy szóstą i drugą minutą testu ($F_{(2,15)}=4,126$, $p=0,0374$). Test post hoc wskazał, że w każdym przypadku znamienne statystycznie różnice w porównaniu do grupy kontrolnej wykryto dla grupy otrzymującej łącznie chrom w dawce 12 mg/kg oraz NMDA ($p<0,01$ dla drugiej i szóstej minuty testu, oraz $p<0,05$ dla przedstawionej na rysunku 11 różnicy szóstej i drugiej minuty testu). Sedacyjnego efektu łącznej podaży chromu i NMDA nie obserwowano w 30 minucie testu spontanicznej aktywności lokomotorycznej ($F_{(2,15)}=3,638$ $p=0,0515$).

Wpływ ligandów receptorów serotonergicznyc 5-HT₁ i 5-HT_{2A} na działanie przeciwdepresyjne soli chromu III w teście Porsolta u myszy

Aby zbadać rolę receptorów serotonergicznyc w manifestacji efektu przeciwdepresyjnego chromu u myszy zastosowano ligandy następujących receptorów: 5-HT₁ (WAY 100635 w dawce 0,1 mg/kg podany drogą podskórną) oraz 5-HT_{2A/2C} (ritanseryna w dawce 4 mg/kg). Grupy: NaCl, IMI oraz Cr otrzymały dodatkowe podanie samego rozpuszczalnika.

Jednoczynnikowa analiza wariancji wykazała różnice pomiędzy grupami ($F_{(4,43)}=16,39$ $p<0,0001$). Wykonany następnie test post hoc wskazał, że grupa otrzymująca imipraminę oraz grupa otrzymująca chlorek chromu znamienne różni się od grupy kontrolnej (odpowiednio o 35%, $p<0,01$, oraz 19,5%, $p<0,01$).

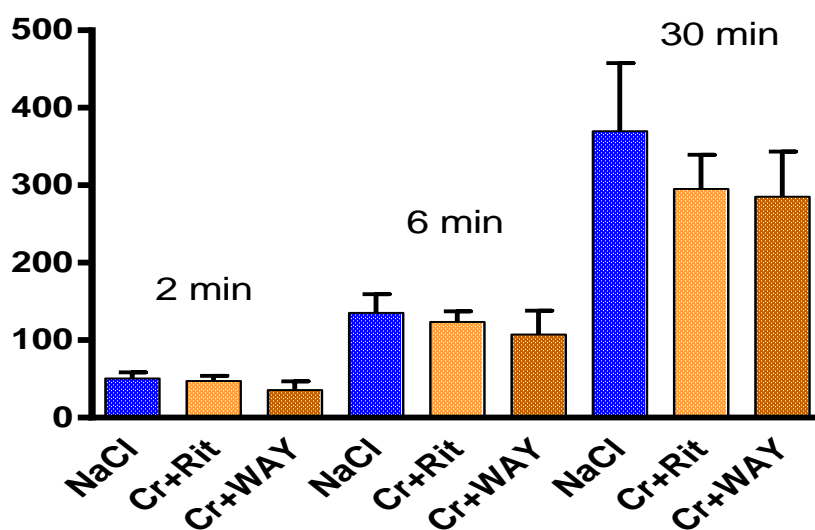
Obie grupy otrzymujące chrom w połączeniu z ligandem receptora serotonergicznego nie różniły się znacząco od grupy otrzymującej aktywną dawkę chromu.



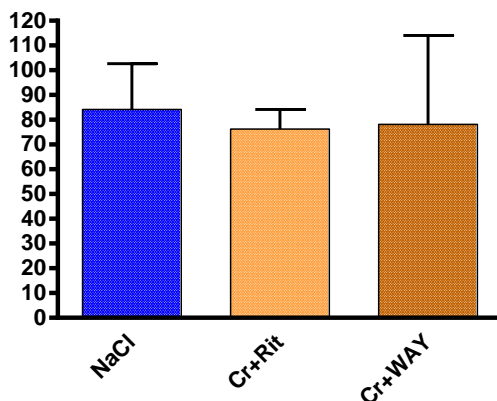
Rysunek 12 Wpływ modulacji aktywności receptorów serotonergiczných na zmianę czasu bezruchu wywołanego podaniem chromu w tęście Porsolta u myszy. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=8-12). ** p<0,001 vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test.

Badanie zmian spontanicznej aktywności lokomotorycznej wywołanej łącznym podaniem soli chromu III i ligandów receptorów serotonergiczných

W celu zbadania wpływu łącznego podania chromu w dawce 12 mg/kg oraz ligandów receptorów serotonergiczných na zachowanie myszy wykonano test spontanicznej aktywności lokomotorycznej w warunkach naśladujących stan wykonania testu Porsolta (czas i droga podania, zastosowane dawki i rozpuszczalniki).



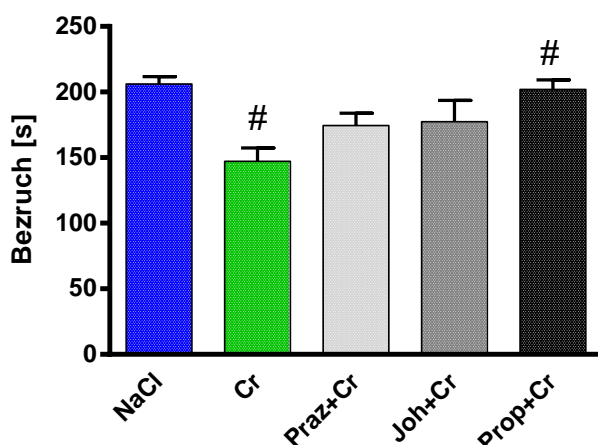
Rysunek 13 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów serotonergiczných i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w 2, 6 i 30 minucie testu. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=6-7).



Rysunek 14 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów serotonergiczných i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w czasie trwania testu Porsolta (6 minuta – 2 minuta). Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=6-7).

Jednoczynnikowa analiza wariancji dla czterech wybranych punktów czasowych nie wykazała różnic pomiędzy grupą kontrolną a grupami, które otrzymywały chrom w dawce aktywnej oraz ligand receptora serotonergicznego: ritamserynę lub WAY 100635 (2min: $F_{(2,16)}=0,8331$ $p=0,4527$; 6min: $F_{(2,16)}=0,3392$ $p=0,7173$; 30min: $F_{(2,16)}=0,4995$ $p=0,6160$; 6-2min: $F_{(2,16)}=0,03305$ $p=0,9676$).

Wpływ ligandów receptorów adrenergicznych α i β na działanie przeciwdepresyjne soli chromu III w teście Porsolta u myszy



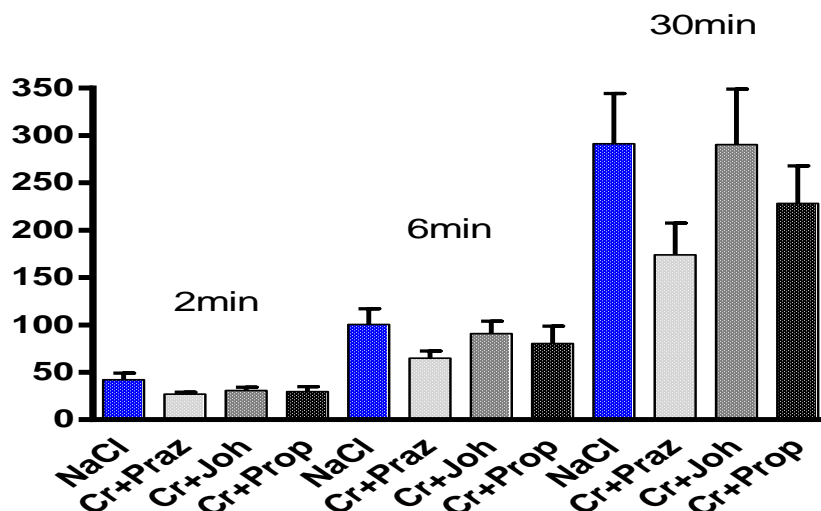
Rysunek 15 Wpływ modulacji aktywności receptorów noradrenergicznych na zmianę czasu bezruchu wywołanego podaniem chromu w teście Porsolta u myszy. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=8-10). # $p<0,01$ vs. grupa kontrolna (NaCl), # $p<0,01$ vs. grupa chromowa (Cr). Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test.

Rola receptorów noradrenergicznych w mechanizmie przeciwdepresyjnego działania chromu u myszy została zbadana poprzez zastosowanie łącznego podania chromu w dawce aktywnej oraz ligandów wybranych receptorów noradrenergicznych (prazosyna i johimbina zastosowane zostały w dawce: 1 mg/kg, a propranolol w dawce 2 mg/kg). Grupy: NaCl oraz Cr otrzymały dodatkowe podanie samego rozpuszczalnika.

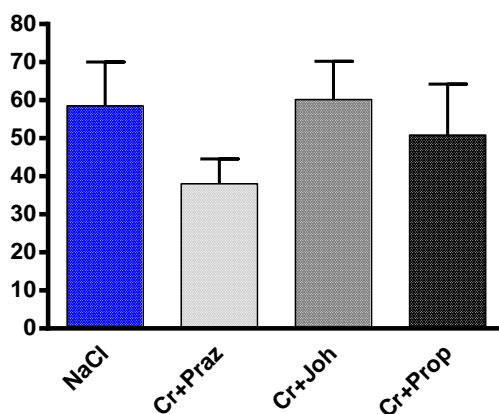
Jednoczynnikowa analiza wariancji otrzymanych wyników wskazała na różnice pomiędzy poszczególnymi grupami ($F_{(4,40)}=5,118$, $p=0,002$). Wykonanie testu post hoc pozwoliło na stwierdzenie, że grupa otrzymująca chrom w dawce 12 mg/kg osiągała czasy bezruchu znamienne różniące się od grupy kontrolnej (o 28,6% $p<0,01$), natomiast połączenie propranololu i chromu całkowicie zniosło efekt przeciwdepresyjny (wydłużenie czasu bezruchu o 37,2% $p<0,05$). Prazosyna (antagonista receptorów α_1 -adrenergicznych) oraz johimbina (antagonista receptorów α_2 -adrenergicznych) jedynie częściowo modulowały efekt wywołany aktywną dawką chromu.

Badanie zmian spontanicznej aktywności lokomotorycznej wywołanej łącznym podaniem soli chromu III i ligandów receptorów adrenergicznych

Dla potwierdzenia specyficzności wyników testu wymuszonego pływania zbadano wpływ łącznej podaży ligandów receptorów adrenergicznych oraz chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy. Analiza wariancji nie wykryła różnic w czterech wybranych punktach czasowych dla poszczególnych grup (2 min: $F_{(3,20)}=1,859$ $p=0,1692$; 6 min: $F_{(3,20)}=1,102$ $p=0,3717$; 30 min: $F_{(3,20)}=1,424$ $p=0,2653$; 6 min-2 min: $F_{(3,20)}=0,8922$ $p=0,4622$).



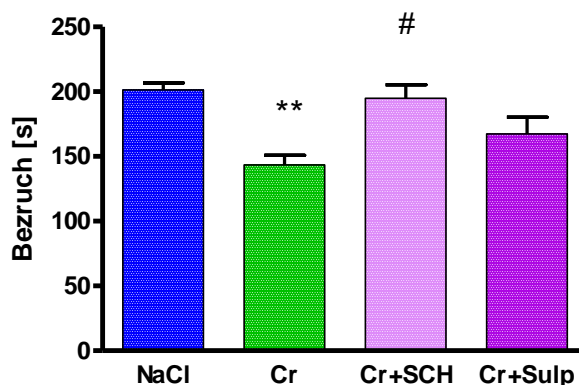
Rysunek 16 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów adrenergicznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w 2, 6 i 30 minucie testu. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=6).



Rysunek 17 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów noradrenergicznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w czasie trwania testu Porsolta (6 minuta – 2 minuta). Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=6).

Wpływ ligandów receptorów dopaminergicznych D₁ i D₂ na działanie przeciwdepresyjne soli chromu III w teście Porsolta u myszy

Zastosowanie sulpirydu (antagonisty receptorów D₂ w dawce 50 mg/kg) oraz SCH 23390 (antagonisty receptorów D₁ w dawce 0,5 mg/kg) w połączeniu z chromem pozwoliło na zbadanie roli receptorów dopaminergicznych D₁ i D₂ w manifestacji efektu przeciwdepresyjnego chromu w teście Porsolta u myszy. Grupy: NaCl oraz Cr otrzymały dodatkowe podanie samego rozpuszczalnika.

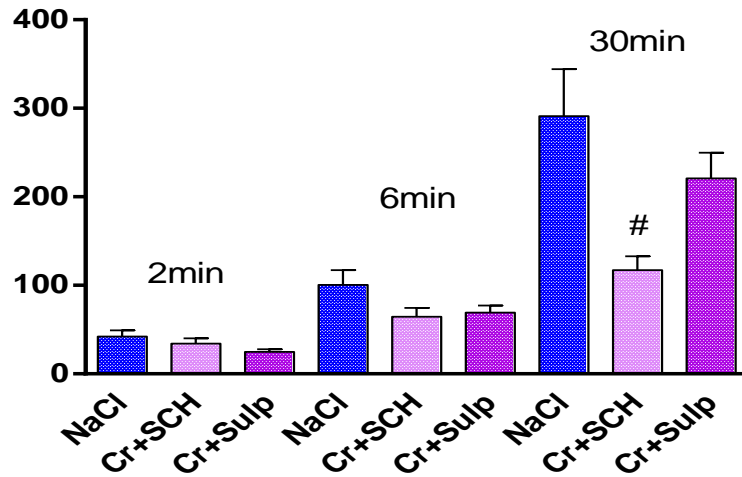


Rysunek 18 Wpływ modulacji aktywności receptorów dopaminergiczných na zmianę czasu bezruchu wywołanego podaniem chromu w teście Porsolta u myszy. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=10-12). ** p<0,001 vs. grupa kontrolna (NaCl), # p<0,01 vs. grupa chromowa (Cr) . Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test.

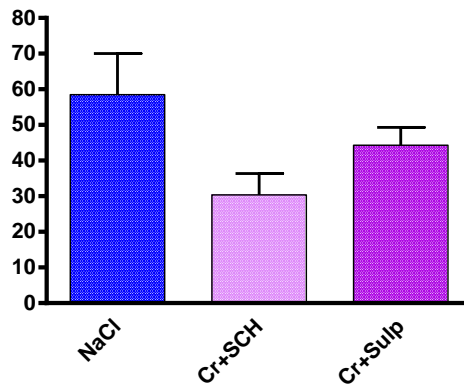
Analiza wyników wskazuje na znamienne statystycznie różnice czasów bezruchu dla poszczególnych grup ($F_{(3,38)}=8,333$ p=0,0002). Wykonany test Benferroniego wskazał, że grupa otrzymująca chrom w dawce 12 mg/kg znamienne różni się od grupy kontrolnej (skrócenie czasu bezruchu o 28,8% p<0,001), natomiast grupa otrzymująca łącznie chrom i SCH 23390 ma czas bezruchu wydłużony o 35,8% w porównaniu z grupą chromową, co daje pewność na poziomie p<0,01 że różni się ona od swojej grupy odwoławczej. Zastosowanie premedykacji sulpirydem wykazywało jedynie częściowy wpływ na zmianę czasu bezruchu.

Badanie zmian spontanicznej aktywności lokomotorycznej wywołanej łącZnym podaniem soli chromu III i ligandów receptorów dopaminergiczných

Analiza spontanicznej aktywności lokomotorycznej po podaniu łącZnym chromu oraz ligandów receptorów dopaminergiczných D₁ i D₂ wykazała brak zmian po 2 ($F_{(2,15)}=2,278$ p=0,1368) i po 6 minutach ($F_{(2,15)}=2,621$ p=0,1056) od rozpoczęcia testu, nie znaleziono też różnic w czasie 4 minut równoległych do czasu pomiaru bezruchu w teście Porsolta ($F_{(2,15)}=3,058$ p=0,0770). W 30 minucie testu stwierdzono różnice pomiędzy wariacjami wyników ($F_{(2,15)}=5,910$ p=0,0128), grupa zwierząt otrzymujących łącZnie chrom i SCH 23390 wykazała 51,7% zmniejszenie aktywności lokomotorycznej w porównaniu do grupy kontrolnej (p<0,01).

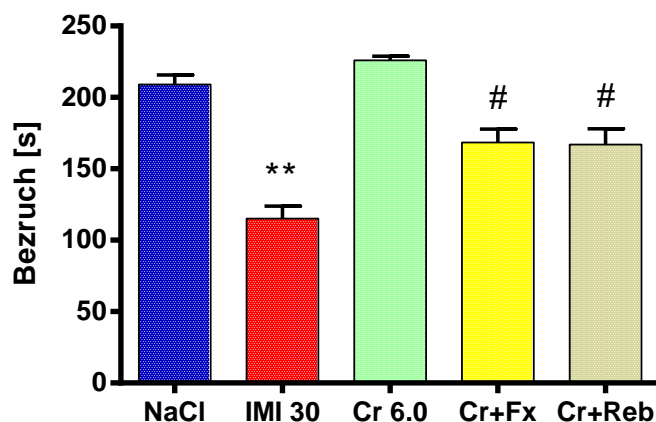


Rysunek 19 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów dopaminergicznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w 2, 6 i 30 minucie testu. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=6). # $p < 0,01$ vs. grupa kontrolna. Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test.



Rysunek 20 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów dopaminergicznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w czasie trwania testu Porsolta (6 minuta – 2 minuta). Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=6).

Badanie wzmacniania efektu przeciwdepresyjnego LPD przez jednorazowe podanie soli chromu III w teście Porsolta u myszy

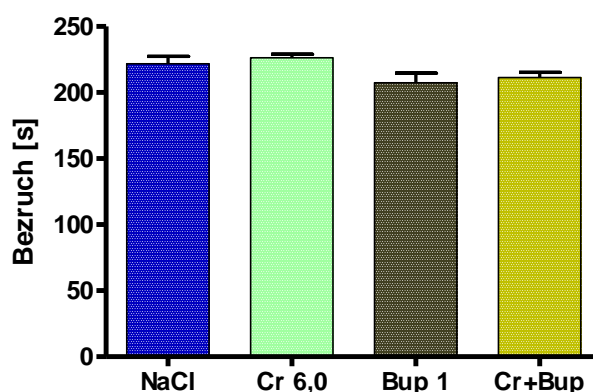


Rysunek 21 Wpływ łącznego podania subaktywnej dawki chromu (Cr 6.0 mg/kg) oraz subaktywnych dawek leków przeciwdepresyjnych (Fx-fluoksetyna, Reb-reboksetyna,) na czas bezruchu u myszy w teście wymuszonego pływania. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=6-12). ** p<0,001 vs. grupa kontrolna (NaCl), # p<0,01 vs. grupa chromowa (Cr 6.0), Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test.

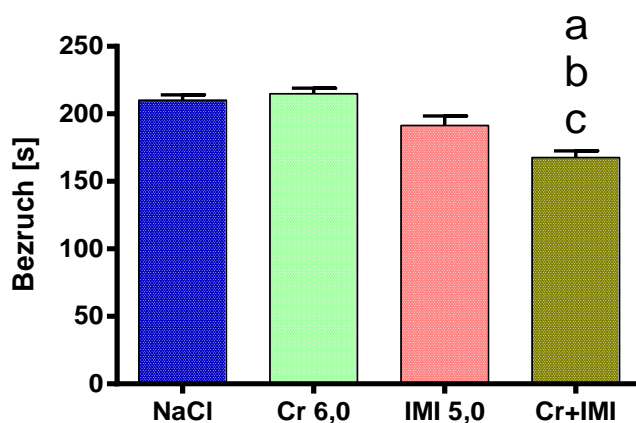
Aby zweryfikować doniesienia o możliwości stosowania chromu jako środka wzmacniającego klasyczną farmakoterapię depresji zaproponowano model, w którym stosowano łączne podanie subaktywnej dawki soli chromu III (6 mg/kg) oraz subaktywnej dawki jednego z wybranych leków przeciwdepresyjnych. Do testowania wybrano cztery leki: fluoksetynę (Fx w dawce 5 mg/kg), reboksetynę (Reb w dawce 5 mg/kg), bupropion (Bup w dawce 1 mg/kg) oraz imipraminę (IMI w dawce 5 mg/kg). Ze względów etycznych (wykorzystanie minimalnie niezbędnej ilości zwierząt) nie badano efektu wywołanego podaniem subaktywnych dawek reboksetyny i fluoksetyny. Zaproponowane dawki weryfikowano na podstawie dostępnej literatury (Cardoso i wsp., 2009, Szewczyk i wsp., 2009, Harkin i wsp., 2004) oraz eksperymentów wykonanych wcześniej w naszym laboratorium. Osobną grupę zwierząt utworzono jedynie dla określenia subaktywnej dawki imipraminy oraz bupropionu ze względu na różnice danych dostępnych w publikacjach (Poleszak i wsp., 2005, Cardoso i wsp., 2009, Ergun i wsp., 2008).

Na rysunku 21 przedstawiono wyniki testu Porsolta dla pięciu grup zwierząt: dwóch grup kontrolnych (NaCl oraz IMI 30 - kontrola pozytywna), subaktywnej dawki chromu (Cr 6,0) oraz połączeń tej dawki z fluoksetyną (Cr+Fx) oraz reboksetyną (Cr+Reb).

Jednoczynnikowa analiza wariancji wskazała na różnice pomiędzy grupami ($F_{(4,39)}=17,32$ $p<0,0001$), a wykonany następnie test post hoc pozwolił wyodrębnić, które grupy różnią się od siebie w sposób znamieny statystycznie. Imipramina w dawce 30 mg/kg potwierdziła prawidłowość wykonania eksperymentu i spowodowała skrócenie czasu bezruchu o 42% ($p<0,01$) w porównaniu do grupy kontrolnej. Fluoksetyna i reboksetyna połączone z subaktywną dawką chromu również znamienie skróciły czas bezruchu (odpowiednio o 25,44 oraz 26,15%) w porównaniu do grupy Cr 6,0. Połączenie chromu i reboksetyny dało wynik znamienie różny również w stosunku do grupy kontrolnej NaCl (o 20,1% $p<0,05$).



Rysunek 22 Wpływ łącznego podania subaktywnej dawki chromu (Cr 6.0 mg/kg) oraz subaktywnej dawki leku przeciwdepresyjnego: bupropionu (Bup 1 mg/kg) na czas bezruchu u myszy w teście wymuszonego pływania. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=6-10).



Rysunek 23 Wpływ łącznego podania subaktywnej dawki chromu (Cr 6.0 mg/kg) oraz subaktywnej dawki leku przeciwdepresyjnego: IMI-imipraminy na czas bezruchu u myszy w teście wymuszonego pływania. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=9-12).

a: $p<0,001$ vs. grupa kontrolna (NaCl),

b: $p<0,001$ vs. grupa chromowa (Cr 6.0),

c: $p<0,05$ vs. grupa otrzymująca imipraminę (IMI 5,0).

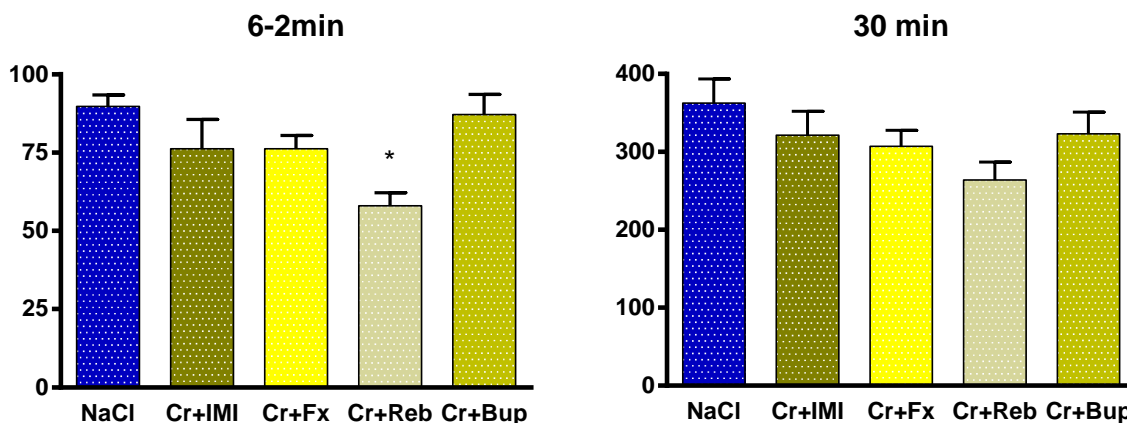
Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test.

Analiza łącznego podania subaktywnych dawek chromu (6 mg/kg) oraz bupropionu (1 mg/kg) dała wynik negatywny. Badane związki podane w zaproponowanych dawkach nie zmieniały czasu bezruchu badanych zwierząt, nie stwierdzono również skrócenia czasu bezruchu w grupie otrzymującej łącznie oba związki (Cr+Bup). Dwuczynnikowa analiza wariancji dała następujące wyniki: zastosowanie bupropionu nie wpływa z sposób znamieny na otrzymany efekt ($F_{(1,27)}=7,58$ $p=0,0104$), zastosowanie chromu nie wpływa na tenże efekt ($F_{(1,27)}=0,03$ $p=0,8667$), nie stwierdzono też istnienia interakcji pomiędzy efektem wywoływanym przez bupropion i chrom ($F_{(1,27)}=0,29$ $p=0,5920$).

W eksperymencie testującym efekt łącznego podania imipraminy i chromu w dawkach subaktywnych analiza wariancji wskazała na różnice pomiędzy czasami bezruchu uzyskanymi przez zwierzęta z różnych grup, a grupa otrzymująca łącznie chrom i imipraminę wywołując 20,2% skrócenie czasu bezruchu znamienne różni się od grupy kontrolnej ($p<0,001$). Różni się też od grupy chromowej (21,96% $p<0,001$) oraz grupy otrzymującej niską dawkę imipraminy (o 12,34% $p<0,05$). Imipramina w dawce 5 mg/kg oraz chrom w dawce 6 mg/kg nie zmieniały czasu bezruchu. Dwuczynnikowa analiza wariancji wskazała na znamieny statystycznie efekt imipraminy ($F_{(1,31)}=39,60$ $p<0,0001$), brak znamienego efektu chromu ($F_{(1,31)}=3,20$ $p=0,0836$) oraz znamiennej interakcję ($F_{(1,31)}=7,26$ $p=0,0113$).

Badanie zmian spontanicznej aktywności lokomotorycznej wywołanej łącznym podaniem soli chromu III i LPD

Łączenie chromu w dawce subaktywnej z subaktywnymi dawkami wybranych leków przeciwdepresyjnych dało efekt sedatywny jedynie w przypadku reboksetyny i to jedynie w czasie 4 minut naśladujących czas pomiaru bezruchu w teście Porsolta, kiedy to odnotowano 35,4% ($p<0,05$) zmniejszenie spontanicznej aktywności lokomotorycznej w porównaniu do kontroli (NaCl) (analiza wariancji dla 6-2 min: $F_{(4,20)}=4,391$ $p=0,0104$; dla 30 min: $F_{(4,20)}=1,717$ $p=0,1856$).

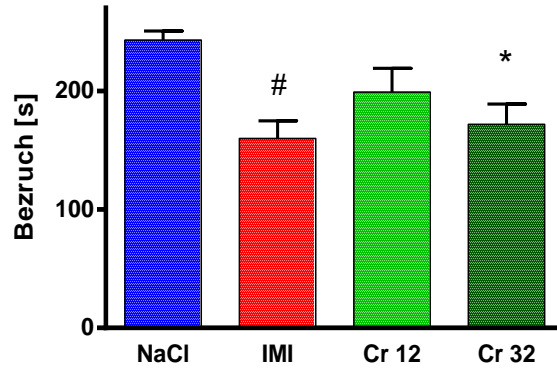


Rysunek 24 Wpływ łącznego podania chromu i LPD (Fx-fluoksetyna, Bup-bupropion, Reb-reboksetyna, IMI-imipramina) na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=6). * $p < 0,05$ vs. grupa kontrolna (NaCl), Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test.

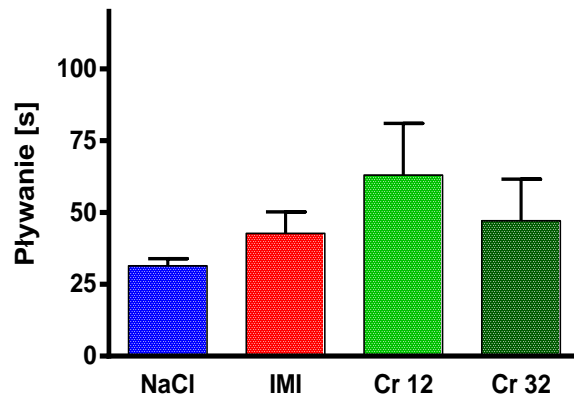
Badanie dawkozależności efektu przeciwdepresyjnego wywołanego jednorazowym podaniem soli chromu III w teście Porsolta u szczurów

Test Porsolta u szczurów wykonano z zastosowaniem dwóch dawek soli chromu III (12 i 32 mg/kg), grupy kontrolnej (NaCl), do której porównywano wyniki pozostałych grup, oraz grupy, w której zwierzęta otrzymywały aktywną dawkę imipraminy (30 mg/kg), co potwierdzało prawidłowość wykonania testu.

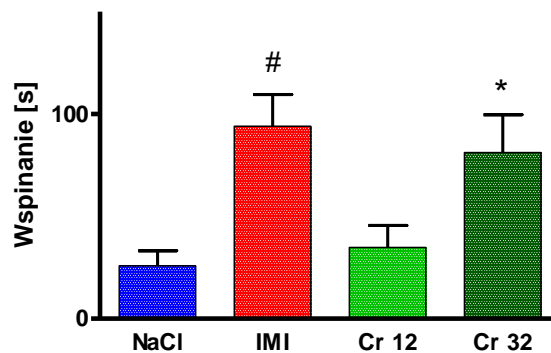
Analiza wariancji otrzymanych wyników pozwoliła na wykrycie różnic pomiędzy grupami dla dwóch badanych typów zachowania: bezruchu ($F_{(3,32)}=5,641$ $p=0,0042$) oraz wspinania ($F_{(3,32)}=6,409$ $p=0,0016$), nie udało się wykryć różnic pomiędzy czasami pływania ($F_{(3,32)}=1,147$ $p=0,3449$). Analiza post hoc wskazała, że grupa otrzymująca imipraminę znacząco skracała czas bezruchu (o 34,14% $p < 0,01$) oraz wydłużała czas wspinania się ($p < 0,01$) w porównaniu do kontroli. Wykryto również, że zwierzęta otrzymujące chrom w najwyższej dawce (32 mg/kg) wykazywały podobny profil zachowania do zwierząt otrzymujących uznany lek przeciwdepresyjny (IMI), to znaczy: miały skrócony czas bezruchu (o 29,21% $p < 0,01$) oraz wydłużony czas wspinania się ($p < 0,05$).



Rysunek 25 Wpływ podania chromu (Cr) lub imipraminy (IMI) na czas bezruchu w teście Porsolta u szczurów. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=8-10). # $p < 0,01$ vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnet.



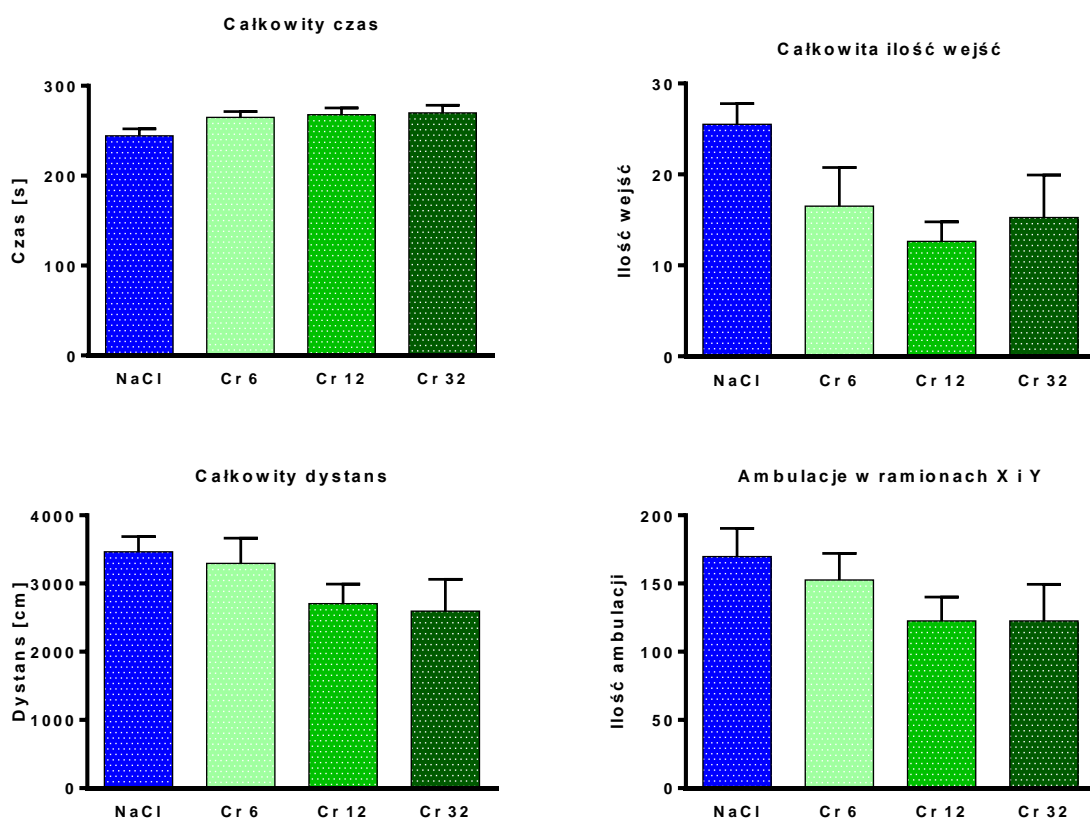
Rysunek 26 Wpływ podania chromu (Cr) lub imipraminy (IMI) na czas pływania w teście Porsolta u szczurów. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=8-10).



Rysunek 27 Wpływ podania chromu (Cr) lub imipraminy (IMI) na czas wspinania w teście Porsolta u szczurów. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=8-10). # $p < 0,01$ * $p < 0,05$ vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnet.

Badanie zmian behawioralnych wywołanych podaniem soli chromu III w teście uniesionego labiryntu krzyżowego u szczurów

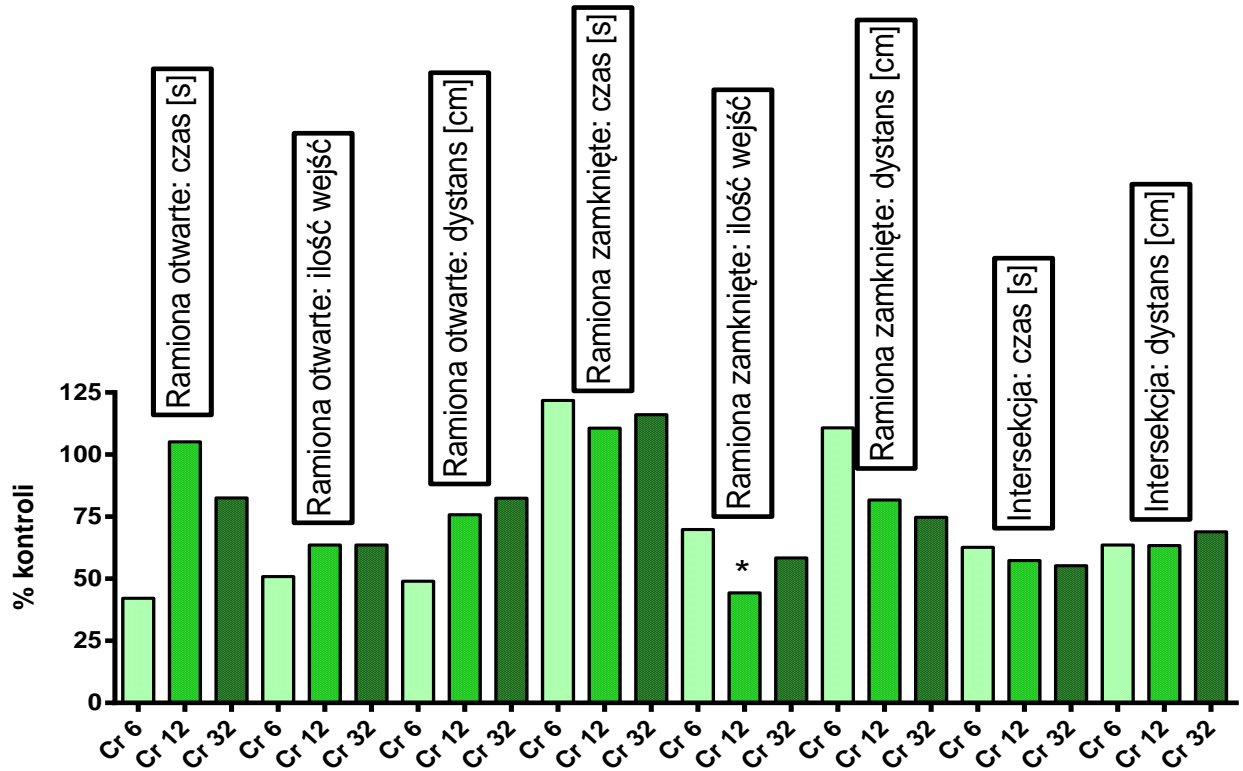
Wyniki testu Porsolta uważa się za specyficzne gdy badana substancja nie zwiększa spontanicznej aktywności lokomotorycznej zwierząt. Dla potwierdzenia wyników testu FST, którego wyniki opisano powyżej zastosowano ocenę aktywności eksploracyjnej szczurów z zastosowaniem podniesionego labiryntu krzyżowego. Analizując wyniki należy stwierdzić, że chrom w dawkach: 6, 12 i 32 mg/kg masy ciała nie zmienia badanych w tym teście parametrów: całkowity czas w ramionach otwartych i zamkniętych ($F_{(3,26)}=2,383$ $p=0,00924$), suma wejść do ramion otwartych i zamkniętych ($F_{(3,26)}=2,776$ $p=0,0613$), całkowity dystans przebyty w ramionach otwartych i zamkniętych ($F_{(3,26)}=1,556$ $p=0,2240$), ilość ambulacji w ramionach X i Y ($F_{(3,26)}=1,196$ $p=0,3306$).



Rysunek 28 Wpływ jednorazowego podania chromu w trzech dawkach (Cr 6, Cr 12 oraz Cr 32) na aktywność eksploracyjną szczurów wyrażoną jako całkowity czas spędzony w ramionach otwartych i zamkniętych, suma wejść do obu rodzajów ramion, całkowity dystans oraz ilość ambulacji w ramionach X i Y (otwartych i zamkniętych) uniesionego labiryntu krzyżowego. Wynik podano jako średnia \pm SEM ($n=6-8$).

W teście podniesionego labiryntu krzyżowego oceniano parametry, które służą rozpoznawaniu związków o działaniu przeciwłękowym. W teście zastosowano trzy dawki chromu: 6, 12 i 32 mg/kg. Wyboru tego dokonano sugerując się pracami dotyczącymi przeciwłękowych właściwości innych metali o znanym działaniu przeciwdepresyjnym, gdzie ten pierwszy efekt obserwowano w dawkach niższych, niż dawki konieczne do manifestacji działania przeciwdepresyjnego (Partyka i wsp., 2011, Szewczyk i wsp., 2009 i 2010).

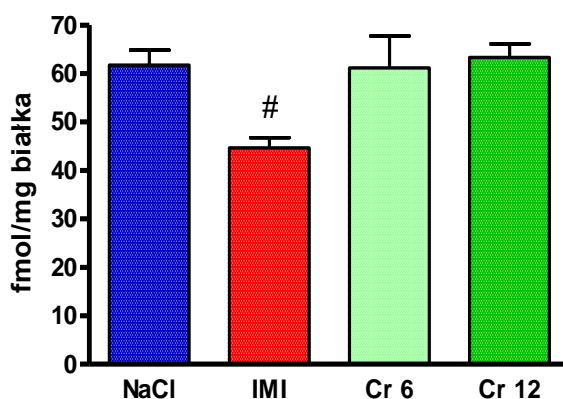
Analiza wyników nie wykazała znamienych różnic pomiędzy grupami otrzymującymi chrom w wybranych dawkach a grupą kontrolną otrzymującą fizjologiczny roztwór soli. Można stwierdzić, że chrom nie wpływa na sposób zachowania się szczurów w ramionach otwartych: dystans ($F_{(3,26)}=0,9116$ $p=0,4489$), czas ($F_{(3,26)}=0,8122$ $p=0,4987$), ilość wejść ($F_{(3,26)}=1,023$ $p=0,3984$) oraz dla ramion zamkniętych: dystans ($F_{(3,26)}=3,514$ $p=0,0291$), czas ($F_{(3,26)}=1,015$ $p=0,4022$). Różnice wykryto w ilości wejść do ramion zamkniętych ($F_{(3,26)}=4,033$ $p=0,0176$), a analiza post hoc (test Dunnet'a) ujawniła, że chrom w dawce 12 mg/kg powodował zmniejszenie ilości wejść do ramion zamkniętych uniesionego labiryntu krzyżowego ($p<0,05$). Wyniki tego testu, podobnie jak w przypadku testu Porsolta należy uznać za specyficzne, gdyż nie odnotowano zmiany aktywności eksploracyjnej zwierząt.



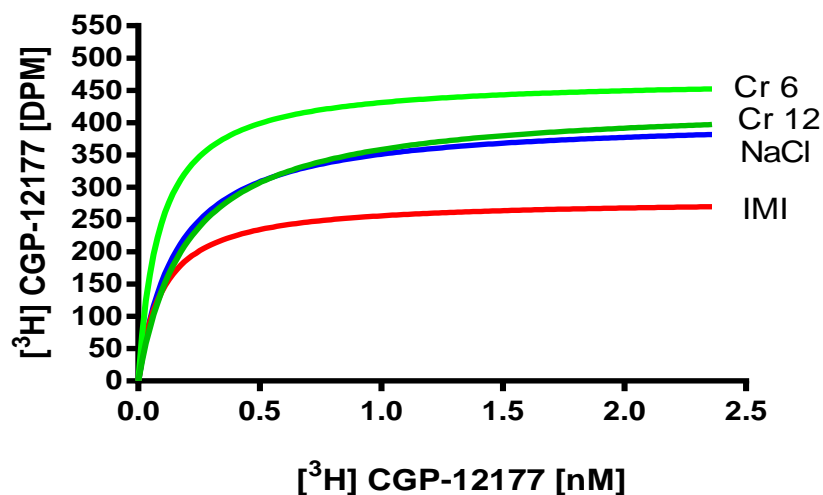
Rysunek 29 Wpływ jednorazowego podania chromu w trzech dawkach (Cr 6, Cr 12 oraz Cr 32) na wybrane parametry zachowań szczurów w teście uniesionego labiryntu krzyżowego wyrażone jako % kontroli. Wynik obliczono jako średnia dla grup o liczebnościach (n=6-8). * p<0,05 vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnet.

*Testy analityczne***Badanie zmian gęstości receptorów adrenergicznych β po wielokrotnym podaniu soli chromu III w korze frontalnej szczura**

Wyniki przeprowadzonych testów saturacyjnych poddano jednoczynnikowej analizie wariancji, która wskazała na obecność znamiennych statystycznie różnic ($F_{(3,16)}=4,723$ $p=0,0152$). Dalsza analiza uwidoczniała, że tkanki zwierząt otrzymujących imipraminę wykazywały zmniejszoną gęstość receptorów beta ($p<0,05$). Tkanki zwierząt otrzymujących chrom w obu dawkach (6 i 12 mg/kg) nie różniły się znacząco od tkanek kontrolnych.

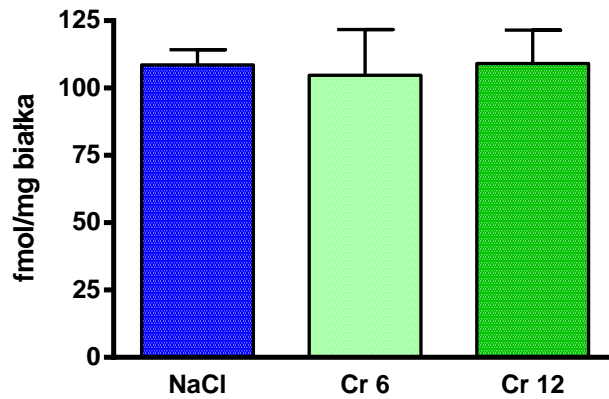


Rysunek 30 Gęstość receptorów beta-adrenergicznych w korach frontalnych szczurów po wielokrotnym podaniu chromu (Cr) imipraminy (IMI) wyrażona jako ilość fentomoli na miligram białka. Wynik podano jako średnia \pm SEM ($n=5$). # $p<0,05$ vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnet.



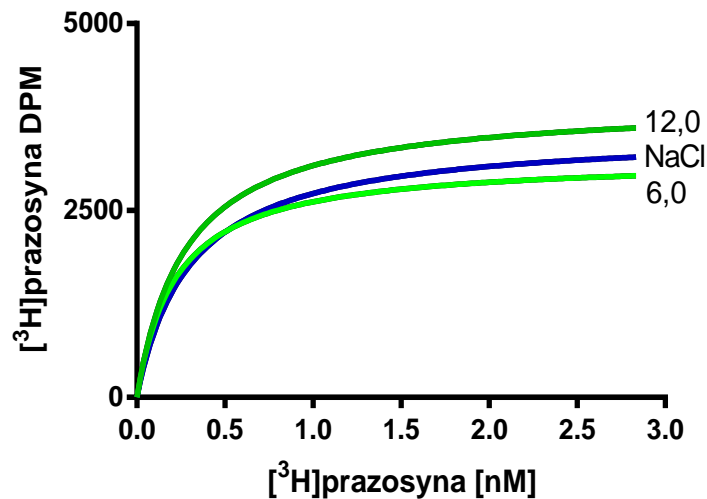
Rysunek 31 Przykładowy wynik analizy saturacyjnej.

Badanie zmian gęstości receptorów adrenergicznych α_1 po wielokrotnym podaniu soli chromu III w korze frontalnej szczura



Rysunek 32 Gęstość receptorów alfa-adrenergicznych w korach szczurów po wielokrotnym podaniu chromu (Cr) wyrażona jako procent gęstości tych receptorów w korach zwierząt kontrolnych (NaCl). Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=5).

Analiza gęstości receptorów alfa została wykonana dla trzech grup tkanek: frontalnych kor zwierząt, którym wielokrotnie podawano chrom w dwóch dawkach (6 i 12 mg/kg), lub fizjologiczny roztwór chlorku sodu (NaCl). Badane kory nie wykazały znamiennej różnicy statystycznej ($F_{(2,12)}=0,03259$ $p=0,9918$).



Rysunek 33 Przykładowy wynik analizy saturacyjnej.

Badanie powinowactwa chromu do wybranych receptorów w mózgu szczura

Receptor	Radioligand	Stężenie Cr	% wypierania
5-HT-T	[³ H]-Citalopram	10 ⁻³	0%
	[³ H]-Citalopram	10 ⁻⁴	3%
5-HT _{1A}	[³ H]8-OH-DPAT	10 ⁻⁴	30%
	[³ H]8-OH-DPAT	10 ⁻⁵	30%
β ₁	[³ H]CGP-12177	10 ⁻³	0%
	[³ H]CGP-12177	10 ⁻⁴	0%
α ₁	[³ H]prazosyna	10 ⁻³	0%
	[³ H]prazosyna	10 ⁻⁴	0%

Tabela 17 Procent wypierania znakowanego liganda z jego specyficznego kompleksu ligand-receptor.

Analiza powinowactwa chromu do wybranych receptorów jako badanie pilotażowe została wykonana dwupunktowo z zastosowaniem wysokich stężeń badanego biometalu. W wybranych stężeniach chrom nie wiązał się (α₁, β₁) lub wiązał się niezwykle słabo (5-HT-T, 5-HT_{1A}).

Dyskusja

Dlaczego należy badać mechanizmy działania nowych leków przeciwdepresyjnych

Poznanie i zrozumienie jednego – wspólnego mechanizmu, czy też różnych mechanizmów działania leków przeciwdepresyjnych jest niezwykle ważne z wielu powodów. Po pierwsze wciąż nie potwierdzono patomechanizmu powstawania zaburzeń depresyjnych, ich biochemicznych przyczyn i czynników np. dietetycznych, w tym niedoborowych, które mogą nasilać lub przyspieszać manifestację objawów. Zrozumienie mechanizmu działania leku może wskazać kierunek (nowy, lub już badany i częściowo potwierdzony) poszukiwania źródeł choroby.

Dodatkowym problemem jest niejednorodność obrazu klinicznego chorych z zaburzeniami afektu. Powiązanie neurobiologicznego mechanizmu działania leku przeciwdepresyjnego z konkretnym obrazem objawów klinicznych może pozwolić na wyselekcjonowanie grupy chorych, którzy z większym prawdopodobieństwem właściwie zareagują na ordynowany lek. Już dziś wiemy np. że atypowość objawów depresji nakazuje stosowanie IMAO lub SSRI a nie TLPD lub EST (Landowski i Rudnik, 2005).

Kolejnym argumentem za ustawicznym poszukiwaniem mechanizmów działania leków przeciwdepresyjnych jest możliwość występowania efektów niepożądanych i działań ubocznych bezpośrednio wynikających z mechanizmu ich działania. Możliwość przewidywania takich zjawisk pozwala na ordynowanie danego leku jedynie pacjentom, dla których dane działania niepożądane czy efekty uboczne nie będą dodatkowo nasilane współwystępowaniem chorób organicznych i/lub już stosowaną terapią lekową (Dudek i Siwek, 2007).

Narastający problem depresji lekoopornych stwarza konieczność stosowania terapii łączonej (zastosowanie dwóch lub więcej leków przeciwdepresyjnych najczęściej o różnych mechanizmach działania) lub wzmacniania farmakoterapii poprzez jej augmentację środkiem, który nie jest lekiem przeciwdepresyjnym, lecz jego dodanie do standardowej terapii pozwala na przyspieszenie lub zwiększenie prawdopodobieństwa klinicznej manifestacji działania przeciwdepresyjnego, niejednokrotnie konieczne jest zastosowanie elektrowstrząsów (Suwalska i Rybakowski, 1996, Pużyński, 2005). Znajomość mechanizmów działania przeciwdepresyjnego poszczególnych leków pozwoli na optymalną kompozycję politerapii, czy też na dobór właściwego środka wzmacniającego.

Chrom jako środek o działaniu przeciwdepresyjnym. Badanie zależności dawka-efekt

Sole chromu III (pikolinian, nikotynian i inne) wykazują pozytywne efekty w leczeniu zaburzeń depresyjnych, gdy stosowane są w monoterapii (Docherty i wsp., 2005, Davidson i wsp., 2003, McLeod i Golden, 2000), oraz jako metoda augmentacji klasycznej farmakoterapii (McLeod i wsp., 1999). Autorzy prac podkreślają zwłaszcza specyficzną aktywność wobec depresji o atypowym obrazie klinicznym, oraz zaburzeń dystymicznych, których bliższą charakterystykę przedstawiono we wstępie. Zastosowanie chromu w leczeniu chorób afektywnych jest nowym, kolejnym wskazaniem do stosowania uznanego już wcześniej suplementu diety, o jak się do niedawna wydawało ugruntowanej roli w regulacji metabolizmu węglowodanów i lipidów (Vincent, 2010, Eastmond i wsp., 2008, Vincent, 2000 b, c). Sytuacja ta, pozwoliła niejako na pominięcie kilku wcześniejszych etapów podstawowych badań, i w związku z tym pozostało wiele pytań dotyczących szczegółowego, neurobiologicznego mechanizmu działania chromu. I mimo posiadania wiedzy o działaniu terapeutycznym, nie można go w pełni i w sposób bezpieczny wykorzystać w praktyce. Konieczne wydawało się zatem wykonanie podstawowych badań analitycznych oraz skryningowych testów behawioralnych rozpoczynających się od analizy zależności dawka – efekt.

Do weryfikacji doniesień o przeciwdepresyjnym działaniu chromu wybrano test Porsolta (test wymuszonego pływania, *Forced swim test, FST*), który przeprowadzono na dwóch gatunkach gryzoni: myszach (Porsolt, 1978) oraz szczurach (Porsolt, 1977). Test wymuszonego pływania jest szeroko stosowanym, szybkim i prostym testem behawioralnym pozwalającym na przesiewowe badanie nowych substancji w kierunku ich możliwego działania przeciwdepresyjnego. Dodatkowo zapewnia, że badany związek penetruje do centralnego systemu nerwowego, co jest istotnym czynnikiem weryfikującym testy w badaniach neuropsychiatrycznych. Zastosowane modyfikacje (Detke, 1995) pozwalają na wykrywanie przy pomocy tego testu nie tylko tych grup leków przeciwdepresyjnych, w stosunku do których czuły był test klasyczny (TLPD, IMAO, leki atypowe) ale również leków z grupy SSRI (Cryan, 2002).

Wyniki przeprowadzonego testu Porsolta po raz pierwszy potwierdzają, że **chrom wykazuje działanie przeciwdepresyjne po jednorazowym podaniu dootrzewnowym zarówno u myszy jak i szczurów.**

W teście badającym dawkozależność efektu przeciwdepresyjnego chromu zastosowano trzy dawki: 6, 12 i 32mg sześciowodnego chlorku chromu III ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)/kg co odpowiada kolejno: 1,17 2,34 oraz 6,25mg jonów Cr^{3+} /kg. Zaproponowane dawki wyrażone ilością jonów zaczerpnięto z pracy Franklin i Odontiadis (2003), w której badano zmiany poziomu neuroprzekazników w mózgach gryzoni po jednorazowym podaniu dootrzewnowym pikolinianu chromu. Dawką aktywną w teście Porsolta u myszy okazała się być dawka 12 mg/kg chlorku chromu III (2,34 mg/kg jonów chromu III), brak działania przeciwdepresyjnego największej zastosowanej dawki może być efektem zmniejszonej aktywności lokomotorycznej. U szczurów dawką aktywną była dawka 32 mg/kg chlorku chromu III (6,25mg/kg jonów chromu III), po zastosowaniu której nie obserwowano żadnych zmian spontanicznej aktywności lokomotorycznej. Otrzymane wyniki korelują z wynikami Franklin i Odontiadis (2003), którzy obserwowali zależne od dawki zmiany osoczowego poziomu kortykosteronu po jednorazowym, dootrzewnowym podaniu pikolinianu chromu w dawce 20 i 50 mg/kg.

Jedyna praca badająca działanie chromu w teście Porsolta powstała w 2005 roku (Khanam i Pillai). W publikacji tej przedstawiono wyniki testu wymuszonego pływania po zastosowaniu soli chromu u szczurów zdrowych oraz zwierząt z indukowaną farmakologicznie cukrzycą. Różnice procedur pomiędzy pracą Khanam i Pillai a wykonaną w naszym zakładzie dotyczyły drogi podania, czasu oraz formy zastosowanego chromu: zwierzęta otrzymywały chrom w postaci wodnego roztworu pikolinianu o stężeniu 8 $\mu\text{g/ml}$ (dodatek do wody pitnej przyjmowanej w sposób dowolny), chronicznie przez okres 4 tygodni. Przeprowadzony test wymuszonego pływania pokazał, że chrom skracał czas bezruchu zarówno u zwierząt zdrowych, jak i u zwierząt z indukowaną przy pomocy streptozotocyny cukrzycą. Khanam i Pillai nie sprawdzili jak chrom podawany w sposób chroniczny zmienia spontaniczną aktywność lokomotoryczną zwierząt, a co za tym idzie nie dowiedli specyficzności wyników otrzymanych w teście Porsolta.

Obserwacja dodatkowych parametrów behawioralnych (wspinanie i pływanie) w trakcie testu wymuszonego pływania u szczurów pozwala na różnicowanie środków o działaniu przeciwdepresyjnym nasilających neurotransmisję noradrenergiczną (wydłużony czas wspinania się zwierząt na ścianki naczynia) lub serotonergiczną (nasilone pływanie) (Detke, 1995, Cryan, 2002). Jak zostało to pokazane na rysunkach nr. 26 i 27 chrom po jednorazowym podaniu dootrzewnowym wydłuża czas wspinania i nie zmienia czasu pływania. Wskazuje to na noradrenergiczną drogę działania chromu, co może wskazywać na słuszność sugestii McCarty'ego (1994 a), który łączył przeciwdepresyjne działanie tego biometalu z nasilaniem aktywności insuliny w CSN, co ma z kolei skutkować zwiększeniem aktywności noradrenergicznej na drodze hamowania doneuronalnego transportu zwrotnego tej katecholaminy. Inne wyniki otrzymali Khanam i Pillai. W ich badaniach zaobserwowano nasilenie odruchu pływania, co wskazuje, że mechanizm przeciwdepresyjnego działania chromu wiązać należy z nasilaniem neurotransmisji serotonergiczną. Podkreślić należy, że odmiennosc uzyskanych wyników wynikać może z różnic w protokole podawania chromu (Khanam i Pillai podawali chrom w sposób chroniczny), co może zmieniać charakter neurobiologicznego działania tego biometalu. Różne efekty farmakologiczne obserwowane po podaniu jednorazowym i wielokrotnym są przecież często obserwowane w wielu grupach leków przeciwdepresyjnych (Maj, 2000).

Już w 2002 roku Attenburrow i współpracownicy dowiedli, że chrom podawany chronicznie moduluje ośrodkowe działanie serotoniny zarówno u ludzi jak i u szczurów. Oba gatunki jednakowo wykazały zmniejszony wyrzut kortyzonu/kortykosteronu po stymulacji 5-HTP, co autorzy łączyli ze zmniejszeniem gęstości receptorów 5-HT_{2A}, i wskazywali jako mechanizm przeciwdepresyjnego działania chromu. Późniejsza praca tej grupy badaczy (Franklin i Odontiadis, 2003) wskazała, że subchroniczne podanie chromu zwiększa nie tylko ośrodkową funkcję serotoniny, lecz również noradrenaliny, co stanowi kolejny czynnik upodabniający chrom do klasycznych środków przeciwdepresyjnych. Autorzy wskazywali również prace, w których podkreślano, że obraz depresji wydaje się korelować z kontrolą glikemii i nasileniem powikłań diabetologicznych (Groot i wsp., 2001, Van Tilburg i wsp., 2001), co pozostawia pytania o powiązanie działania chromu w obu jednostkach chorobowych: depresji i cukrzycy.

Wyniki testów lokomotorycznych wskazują, że po podaniu jednorazowym, chrom nie zmienia aktywności lokomotorycznej u szczurów. U myszy nie stwierdzono zmian ruchliwości w czasie odpowiadającym 4 minutom pomiaru czasu pływania w teście Porsolta, stwierdzono jedynie jej zmniejszenie w 30 minucie testu dla największej (32 mg/kg) dawki chromu. Efekt ten nie ma jednak znaczenia merytorycznego i nie podważa wyników testu wymuszonego pływania, można jednak domniemywać, że jest on odpowiedzialny za dzwonowy kształt wykresu zależności dawka – efekt. Podobne zmniejszenie aktywności lokomotorycznej u myszy obserwowano Cichy (2010) w badaniach dotyczących cynku.

Zmiany aktywności lokomotorycznej nie są ograniczone jedynie do chromu i cynku. Zmniejszenie poziomu lokomotoryki było również obserwowane po dootrzewnowym podaniu litu w teście otwartego pola (Smith, 1975), obserwowano również dawkozależność tego efektu (Cappeliez and White, 1981), jak również jego zanikanie w czasie leczenia (Tomasiewicz i wsp., 2006). Dodać należy, że sedacja jest dość częstym efektem dodatkowym stosowania wielu leków przeciwdepresyjnych, głównie tych z grupy nieselektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego NA i 5-HT (zwłaszcza amitryptylina, doksepina, dotiepinina i trimipramina), ale też leków o działaniu receptorowym (mianseryna i trazodon) (Pużyński, 2005).

Wpływ modulacji aktywności receptorów glutaminianergicznych NMDA i AMPA na działanie przeciwdepresyjne soli chromu III w teście Porsolta u myszy

Receptor NMDA, którego nazwa wywodzi się od specyficznego agonisty: kwasu N-metylo-D-asparaginowego, to jonotropowy receptor glutamatergiczny o skomplikowanej, kompleksowej budowie. Jego układem efektorowym jest nieselektywny kanał jonowy przepuszczalny dla kationów, a aktywacja zależna jest od obecności agonisty (glutaminian, asparaginian, NMDA), koagonisty (glicyna lub D-seryna) oraz wstępnej depolaryzacji błony. Dodatkowo, duże znaczenie ma zewnątrzkomórkowe stężenie jonów Mg^{2+} , oraz obecności licznych modulatorów (np. jonów Zn^{2+} , Pb^{2+} , poliamin takich jak spermina i spermidyna oraz pH). Podstawową funkcją receptorów NMDA w centralnym systemie nerwowym jest kontrolowanie neuroplastyczności oraz funkcji związanych z pamięcią. Bierze też udział w procesach patofizjologicznych takich jak ekscytotoksyczność - proces uszkodzenia i zabijania neuronów przez glutaminian, NMDA oraz kwas kainowy (Pilc, 2008).

Powiązanie receptorów NMDA z mechanizmami działania leków przeciwdepresyjnych jest wielokierunkowe. Po pierwsze, udowodniono, że związki będące funkcjonalnymi antagonistami receptora NMDA (antagoniści miejsca glutamatergicznego, antagoniści miejsca glicynowego oraz ligandy miejsca fencyklidynowego i poliaminowego) wykazują działanie przeciwdepresyjne w testach behawioralnych, a podawane w sposób chroniczny wywołują ich β - *down* regulację (Nowak, 2006). Pokazano również, że LPD wykazują zdolność do hamowania wiązania ligandów oraz osłabiania funkcji kanału jonowego receptora NMDA (np. hamowanie wiązania MK-801 do miejsca fencyklidynowego w kanale jonowym), co w konsekwencji prowadzi do zmniejszania akumulacji Ca^{2+} wewnątrz komórki (Mitchell i Baker, 2010). Kolejnym powiązaniem jest wpływ, jaki LPD wywołują po wielokrotnych podaniach (minimum 7-10 dni). Leki trójcykliczne, IMAO, SSRI, leki o nietypowym mechanizmie działania oraz neuroleptyki o słabym działaniu przeciwdepresyjnym powodują spadek powinowactwa glicyny do miejsca glicynowego oraz obniżają zdolność glicyny do modulacji miejsca glutamatergicznego w kompleksie receptora NMDA w korze mózgowej myszy i szczurów, nie zmieniając jednak tych parametrów w hipokampie (Skolnick i wsp., 1996, Nowak i wsp., 1993).

By określić znaczenie receptorów NMDA w działaniu przeciwdepresyjnym chromu wykorzystano związek NMDA (agonistę). Zwierzęta otrzymujące zarówno NMDA jak i chrom wykazały nieznacznie zmieniony czas bezruchu w porównaniu z grupą otrzymującą sam związek badany, co mogłoby świadczyć o braku znaczenia tych receptorów w mechanizmie działania chromu, lub o znaczeniu częściowym. Analiza spontanicznej aktywności lokomotorycznej po łącznym podaniu chromu i związku NMDA udowodniła ich działanie sedatywne zarówno w 2 jak i 6 minucie testu, co uniemożliwia prostą analizę wyników testu Porsolta (możliwość wystąpienia błędu w postaci wyniku fałszywie negatywnego). Sam związek NMDA w zastosowanej dawce nie ma wpływu na aktywność lokomotoryczną myszy (co wielokrotnie udowodniono w naszym laboratorium).

Otrzymane wyniki nie pozwalają na jednoznaczne stwierdzenie, że chrom nie działa poprzez receptory NMDA.

Metal	Ligand receptora NMDA	Obserwowane zmiany
Chrom	Premedykacja agonistą NMDA	Częściowe zniesienie działania przeciwdepresyjnego w FST Obniżenie spontanicznej aktywności lokomotorycznej
Cynk	Premedykacja agonistą NMDA	Zniesienie działania przeciwdepresyjnego
	Subaktywna dawka antagonisty (CGP 37849, L-701,324, d-cykloseryna, MK-801)	Augmentacja działania przeciwdepresyjnego
Magnez	Premedykacja agonistą	Zniesienie działania przeciwdepresyjnego
	Subaktywna dawka antagonisty (CGP 37849, L-701,324, d-cykloseryna, MK-801)	Augmentacja działania przeciwdepresyjnego
Lit	Subaktywna dawka antagonisty (ketamina, MK-801, ifaprodil)	Augmentacja działania przeciwdepresyjnego

Tabela 18 Rola receptorów glutaminianergicznych NMDA w mechanizmach przeciwdepresyjnego działania jonów metali.

Do grupy jonotropowych receptorów glutaminianergicznych zalicza się również receptory AMPA, które zawdzięczają nazwę swojemu specyficznemu agoniście (propionian α -amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izoksazolu). Receptory te, to tetrameryczne struktury zbudowane z homologicznych podjednostek (Glu R1 - R4). Każda podjednostka w części zewnątrzkomórkowej posiada dwie domeny tworzące kształt litery V. Podjednostki łączą się w pary tworząc dwa „V”-kształtne dimery. Połączenie z ligandem powoduje zbliżanie się zewnątrzkomórkowych domen do siebie, co stwarza naprężenia w strukturze receptora i powoduje otwarcie kanału jonowego (przepuszczalnego dla: Na^+ , K^+ , Ca^{2+}). Zlokalizowane w centralnym systemie nerwowym receptory AMPA mają rozmaite funkcje, donosi się o znaczeniu transmisji poprzez receptory AMPA w procesach takich jak pamięć, natężenie uwagi oraz inteligencja (h). Duże nagromadzenie tych receptorów znajduje się w korze przedczołowej oraz hipokampie, czyli strukturach odpowiedzialnych między innymi za regulację nastroju, a dysfunkcję w obrębie tych struktur można powiązać ze zmianami o charakterze depresji (Martinez-Turrillas i wsp., 2005).

Dla sprawdzenia roli receptorów AMPA w działaniu przeciwdepresyjnym chromu wykorzystano związek NBQX (2,3-dihydroksy-6-nitro-7sulfoamiloil-benzo [f] benzopirazyny-2,3-dion), który jest antagonistą tych receptorów (blokuje też receptory kainianowe). Myszy, u których przed podaniem chromu zastosowano premedykację związkiem NBQX nie wykazywały skrócenia czasu bezruchu. Analiza spontanicznej aktywności

lokomotorycznej zwierząt po łącznym podaniu związku NBQX oraz chromu w dawce 12 mg/kg nie wykazała różnic w porównaniu z grupą kontrolną (NaCl), co wskazuje, że wynik testu Porsolta jest specyficzny. Można więc stwierdzić, że **neurotransmisja poprzez receptory AMPA jest konieczna do wywołania efektu przeciwdepresyjnego, jaki obserwowano po podaniu chromu.**

Ciekawe wnioski płyną z pracy Koike i jego współpracowników (2011), którzy pokazali, że aktywność receptorów AMPA jest konieczna do manifestacji działania przeciwdepresyjnego ketaminy (leku o niezwykle szybkim efekcie klinicznym). W teście zawieszania za ogon (TST) oraz modelu wyuczonej bezradności (LH) pokazali, że premedykacja NBQX blokuje efekt przeciwdepresyjny ketaminy, zarówno ten szybki (30 minut po podaniu dootrzewnowym) jak i ten przedłużony (utrzymujący się do 72 godzin). Czy podobieństwo mechanizmów działania chromu i ketaminy może wskazywać na możliwość szybkiej manifestacji efektu przeciwdepresyjnego badanego biometalu? W kazuistycznych pracach McLeoda postulowano taką możliwość, lecz jest to jednak za mało, aby móc pozostawić ten problem bez dalszej weryfikacji.

Znaczenie receptorów AMPA w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych jest podkreślane już od dawna. Związki działające przez te receptory mogą wywoływać korzystne efekty neurobiologiczne poprzez (Alt i wsp., 2006, Lynch i Gall, 2006, Llorens-Martín i Trejo, 2011):

- Ułatwianie powstawania LTP (*long term potentiation*)
- Potencjalne powiększanie sieci neuronalnych dzięki zwiększaniu czasu trwania oraz amplitudy EPSC (*excitatory post synaptic current* – napływu jonów po wzbudzeniu)
- Zwiększenie wydzielania BDNF, co zwiększa żywotność i tworzenie się nowych komórek nerwowych
- Indukcja ekspresji receptorów AMPA na niedojrzałych komórkach może przeciwdziałać ANH (*adult hippocampal neurogenesis*)

Metal	Ligandy receptora AMPA	Obserwowane zmiany
Chrom	Premedykacja antagonistą NBQX	Zniesienie działania przeciwdepresyjnego w FST Brak wpływu na lokomotorykę
Cynk	Premedykacja antagonistą NBQX Subaktywana dawka ampakiny CX614	Zniesienie działania przeciwdepresyjnego w FST Augmentacja działania przeciwdepresyjnego
Magnez	Premedykacja antagonistą NBQX	Zniesienie działania przeciwdepresyjnego w FST
Lit	Premedykacja antagonistą NBQX	Zniesienie działania przeciwdepresyjnego w FST i TST

Tabela 19 Rola receptorów glutaminainergicznych AMPA w mechanizmach przeciwdepresyjnego działania jonów metali.

Porównując znaczenie jonotropowych receptorów glutaminianergicznych w działaniu przeciwdepresyjnym chromu do innych znanych biometali stosowanych w leczeniu zaburzeń afektu zaznaczyć należy, że działanie litu, magnezu i cynku jest bezpośrednio związane z receptorami NMDA: łączenie magnezu i cynku ze związkami NMDA daje negatywny wynik testu wymuszonego pływania, natomiast subaktywne dawki antagonistów receptora NMDA takie jak: CGP 37849, L-701,324, d-cykloseryna czy MK-801 wzmacniają ich działanie (Poleszak, 2007, Szewczyk, 2010, Ghasemi, 2010). Związki będące antagonistami receptora NMDA (ketamina, MK-801 oraz ifenprodil) zastosowane w dawkach subaktywnych, po wzmocnieniu subaktywną dawką litu wykazały znacznie nasilony efekt przeciwdepresyjny. Wskazuje to na udział transmisji glutaminianergicznej w przeciwdepresyjnym działaniu litu (Ghasemi, 2010).

Rola receptorów AMPA w mechanizmie działania cynku i magnezu badana była przy zastosowaniu antagonisty NBQX (łączenie znosiło skracanie czasu bezruchu obserwowane po podaniu tego biometalu), oraz ampakiny: CX 614 (łączenie subaktywnych dawek dawało pozytywny wynik testu wymuszonego pływania) (Szewczyk, 2010, dane nie publikowane). Rolą receptorów AMPA w mechanizmie przeciwdepresyjnego działania litu zajmowała się grupa Gould. W opublikowanej w 2008 roku pracy badali mechanizm działania litu podawanego centralnie (zastosowanie podania ICV). Premedykacja antagonistami receptora AMPA znosiła skracanie czasu bezruchu myszy zarówno w teście wymuszonego pływania jak i w teście zawieszania za ogon.

W tym aspekcie (zależność od aktywacji receptorów AMPA) można mówić o wyraźnym podobieństwie mechanizmów działania przeciwdepresyjnego chromu i pozostałych aktywnych neurobiologicznie metali.

Wpływ modulacji aktywności receptorów serotonergicznych 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A} na działanie przeciwdepresyjne soli chromu III w teście Porsolta u myszy

Rolę układu serotonergicznego w patogenezie zaburzeń depresyjnych podkreśla hipoteza serotoninowa, sformułowana w pierwotnej postaci prawie 50 lat temu, mimo że dziś ma już jedynie znaczenie historyczne, stała się podstawą burzliwego rozwoju neuropsychofarmakologii. Zakłada ona, że depresyjne zmiany zachowania i samopoczucia wynikają z obniżonego stężenia serotoniny w ośrodkowym układzie nerwowym. Jej potwierdzenia upatrywano w mechanizmie działania szeregu leków przeciwdepresyjnych polegającym na nasilaniu aktywności układu serotonergicznego przez zmniejszenie doneuronalnego wychwytu serotoniny, lub też poprzez hamowanie aktywności monoaminooksydazy (MAO), enzymu rozkładającego serotoninę (Głowiński i Axelrod, 1964, Schildkraut, 1965, Coppen i Doodan, 1988).

W depresji, w układzie serotoninowym obserwuje się obniżenie aktywności presynaptycznej neuronów 5-HT, nasiloną wrażliwość ośrodkowych receptorów postsynaptycznych 5-HT_{2A}, oraz spadek wrażliwości receptorów postsynaptycznych 5-HT_{1A}. Dochodzi też do zmiany w wychwycie 5-HT w obrębie synapsy. Zgodnie ze zmodyfikowaną teorią serotoninową, w depresji dochodzi do dysregulacji receptorów serotoninowych, polegającej na *up* - regulacji receptorów 5-HT₂, i słabszej transmisji serotonergicznej poprzez receptory postsynaptyczne 5-HT_{1A}. Wynika to z osłabienia aktywności części presynaptycznej układu 5-HT_{1A} i obniżonej wrażliwości/liczby samych receptorów 5-HT_{1A}. Dodatkowo sugeruje się, że receptory 5-HT₂ powodują zaburzenia przewodzenia sygnałów wewnątrzkomórkowych, i nawet zwiększenie ich liczby nie umożliwia uzyskania fizjologicznej odpowiedzi (Stahl, 1994, Cryan i Leonard, 2000, Cubała i Landowski, 2006).

W rodzinie receptorów serotoninowych, receptor 5-HT_{1A} wydaje się mieć najistotniejszą rolę w zrozumieniu neurobiologicznych podstaw depresji. Jak już wspomniano powyżej, wrażliwość 5-HT_{1A} zmienia się w trakcie stosowania farmakoterapii (Goodwin, 1989, Cryan i Leonard, 2000), a w badaniach klinicznych przeprowadzonych z użyciem agonistów 5-HT_{1A} wykazano spadek wrażliwości receptora 5-HT_{1A} (McAllister-Williams

i wsp., 1998). Wiadomo także, że aktywacja serotonergicza w trakcie stosowania leków przeciwdepresyjnych modyfikuje ujemne sprzężenie zwrotne glikokortykoidów na funkcję osi LPPN (Cubała i Landowski, 2006). Badania analizujące funkcję receptora 5-HT_{1A} prowadzono na myszach pozbawionych w wyniku manipulacji genetycznej tego receptora. Obserwowano w nich zachowania odpowiadające w warunkach modelowych lękwom i depresji (Heisler i wsp., 1998, Parks i wsp., 1998).

W przeprowadzonym eksperymencie badano efekt działania chromu po zablokowaniu receptorów serotoninowych 5-HT_{1A} oraz 5-HT_{2A/C} przy zastosowaniu specyficznych antagonistów. Wyniki pokazały nieznamiennie statystycznie różnice czasów bezruchu, co świadczyć może o braku lub jedynie częściowym znaczeniu tych receptorów w mechanizmie przeciwdepresyjnego działania chromu. Zaznaczyć należy, że obserwowany efekt był wynikiem jednorazowego podania badanego związku i pozwala wnioskować jedynie o bezpośrednim wpływie pojedynczej dawki.

Metal	Ligandy receptorów serotoninowych	Obserwowane zmiany
Chrom	Premedykacja antagonistami (ritanseryna lub WAY 100635)	Utrzymanie skrócenia czasu bezruchu Brak wpływu na lokomotorykę
Cynk	Premedykacja antagonistami (ritanseryna lub WAY 100635) 3 dniowe podanie pCPA	Zniesienie efektu przeciwdepresyjnego
Magnez	Premedykacja antagonistami (ritanseryna lub WAY 100635) 3 dniowe podanie pCPA	Zniesienie efektu przeciwdepresyjnego
Lit	Dodatek subaktywnych dawek leków przeciwdepresyjnych o serotoninowym mechanizmie działania	Efekt wzmacniający

Tabela 20 Rola receptorów serotonergicznych w mechanizmach przeciwdepresyjnego działania jonów metali.

Zgola inne wyniki otrzymali badacze analizujący rolę receptorów serotoninowych 5-HT_{1A} oraz 5-HT_{2A/C} w mechanizmie przeciwdepresyjnego działania innych biometali: cynku i magnezu. Łączenie ich z ritanseryną oraz ze związkiem WAY 100635 całkowicie znosiło działanie przeciwdepresyjne obserwowane w teście wymuszonego pływania. Skrócenia czasu bezruchu zwierząt nie obserwowano też po zastosowaniu cynku/magnezu u zwierząt poddanych trzydniowej premedykacji pCPA - związkiem zmniejszającym mózgowo zasoby serotoniny poprzez hamowanie jej biosyntezy (Szweczyk i wsp., 2009, Cardoso i wsp., 2009, Poleszak, 2007, Poleszak i wsp., 2005).

Znaczenie przekaźnictwa serotoninowego analizowano również w aspekcie działania litu, i dowiedziono, że układ ten jest niezbędny dla zaistnienia funkcji wzmacniającej (augmentacyjnej) działanie subaktywnych dawek LPD jakie wykazuje lit w stosunku do wielu grup tych leków (Hascoet i wsp., 1994, Nixon i wsp., 1994).

Z wykorzystaniem technik radioreceptorowych badano powinowactwo chromu do transportera serotoniny (5-HT-T) oraz do receptora serotoninowego 5-HT_{1A}. Rolą tego pierwszego białka w CSN jest usuwanie serotoniny z przestrzeni synaptycznej, przez co wpływa na efekt działania serotoniny, a jednocześnie umożliwia jej ponowne użycie przez neuron presynaptyczny. Zmiany budowy i/lub działania transportera serotoniny obserwowano w różnych stanach patologicznych: alkoholizm, zaburzenia obsesyjno-kompulsywne, fobie społeczne, nadciśnienie czy depresja, a także stanach „fizjologicznych”: zakochanie, choć w tym przypadku badano zmiany transportera zlokalizowanego na płytkach krwi, a nie na neuronach, jak miało to miejsce w pozostałych przypadkach (Marazziti i wsp., 1999). Transporter ten, należący do większej rodziny transporterów monoamin (NA, DA, 5-HT), jest targetem dla wielu leków przeciwdepresyjnych. Zarówno leki zmniejszające łącznie serotoniny do transportera (SSRI np. sertralina), jak i leki wykazujące efekt przeciwny: zwiększające wiązanie serotoniny do transportera (SSRE np. tianeptyna) są stosowane w leczeniu zaburzeń psychicznych (Caspi i wsp., 2003). Badany biometal wykazał brak powinowactwa do 5-HT-T, natomiast powinowactwo do badanego receptora serotoninowego okazało się być bardzo niskie, przez co nie może mieć znaczenia farmakologicznego.

Wpływ modulacji aktywności receptorów adrenergicznych α i β na działanie przeciwdepresyjne soli chromu III w teście Porsolta u myszy

Rola noradrenaliny w patofizjologii depresji była wielokrotnie potwierdzana (praca przeglądowa: Brunello i wsp., 2003), a jej znaczenia w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych dowodzi choćby fakt istnienia grupy leków, których mechanizm działania opiera się na selektywnym hamowaniu doneuronalnego wychwytu noradrenaliny (maprotylina, reboksetyna). Dodatkowo stwierdzono, że myszy pozbawione genu transportera dla noradrenaliny wykazują w testach: zawieszania za ogon i wymuszonego pływania profil behawioralny zbliżony do zwierząt poddanych kuracji reboksetyną, imipraminą lub dezipraminą (Dziedzicka-Wasylewska i wsp., 2006).

Poszczególne receptory układu noradrenergicznego różnią się swoją funkcją w aspekcie mechanizmu działania leków przeciwdepresyjnych. Blokada receptorów α_1 naśladuje objawy stanu depresyjnego (który podobnie jak przewlekły stres może być powiązany z desensytyzacją tychże receptorów) (Stone i wsp., 2003). Pewne LPD wykazują wysokie powinowactwo do receptorów α_1 (amitryptylina, mianseryna) oraz α_2 (doksepina, imipramina, mirtazapina czy nortryptylina), co będzie ich cechą charakterystyczną po podaniu jednorazowym (Mutschler i wsp., 2001). Zupełnie inne działanie wywierać będą stosowane w sposób chroniczny. Terapia taka, podobnie jak powtarzane wielokrotnie zabiegi elektrowstrząsowe będą zwiększać gęstość receptorów α_1 w korze frontalnej i hipokampie (Stone i wsp., 2003, Vetulani i wsp., 1984), natomiast ilość receptorów α_2 będzie malała, co jest zjawiskiem charakterystycznym zarówno u chorych z depresją jak i osób poddanych długofalowym czynnikom stresowym (Flugge i wsp., 2003, Stone i wsp., 2003).

W niniejszej pracy badano powinowactwo chromu do receptorów adrenergicznych α_1 i β_1 . Wykorzystując techniki radioreceptorowe i znakowane ligandy o dużej specyficzności ($[^3\text{H}]$ prazosyna i $[^3\text{H}]$ CGP-12177) udowodniono, że chrom nie posiada powinowactwa do żadnego z wybranych receptorów. Powinowactwo do tych receptorów nie stanowi podstawy mechanizmu działania leków przeciwdepresyjnych, lecz często może przyczyniać się do powstawania działań ubocznych. Z tego punktu widzenia można powiedzieć, że np. brak powinowactwa do receptorów α_1 jest cechą pozytywną i może świadczyć o tym, że chrom nie będzie wywoływał sedacji i spowolnienia. Z drugiej jednak strony blokowanie adrenoreceptora α_1 może prowadzić do rozwoju zmian adaptacyjnych typu: *up* – regulacji, a więc zmian pożądaných z terapeutycznego punktu widzenia (Kostowski, 2001).

Czym są opisywane powyżej zmiany adaptacyjne? Udowodniono, że po wielokrotnych podaniach leków przeciwdepresyjnych pojawiają się różne efekty, stwierdzone farmakologicznie, biochemicznie i elektrofizjologicznie, których nie obserwowano po podaniu jednorazowym. Te właśnie zmiany nazwano **adaptacyjnymi** lub **wtórnymi**. Dotyczą często postsynaptycznej części neuronu. Istotą zjawiska adaptacji jest zwiększanie: *up* - regulacja, lub zmniejszanie: *down* - regulacja wrażliwości i/lub aktywności danego układu neuroprzebieżnikowego (Nowak 1997, Vetulani i wsp., 2000, Maj, 2000).

Rodzaj receptora	Typ zmiany wtórnej
α_1	up – regulacja
α_2	down – regulacja
β_1	down – regulacja
5-HT	down – regulacja
rec. dopaminergiczne	up – regulacja

Tabela 21 Najczęściej występujące typy zmian adaptacyjnych w wybranych układach neuroprzekaźnikowych (i).

Pierwszą wykrytą zmianą adaptacyjną była β - adrenergiczna *down* - regulacja (Vetulani i wsp., 1975). Efekt ten wywołują elektrowstrząsy (ECS) oraz większość LPD (TLPD, IMAO) za wyjątkiem SSRI, dla których wyniki są niejednoznaczne (Nalepa i wsp., 1993). β – *down* - regulacja objawia się zmniejszeniem zwłaszcza w przodomózgowiu gęstości i/lub reaktywności receptorów β - adrenergicznych oraz obniżeniem syntezy cAMP aktywowanej noradrenaliną lub izoprenaliną (Vetulani i wsp., 1975).

W układzie noradrenergicznym obserwowana jest też *up* - regulacja receptorów α_1 . Zjawisko to potwierdzono badaniami behawioralnymi i elektrofizjologicznymi, a wywoływane jest przez szereg LPD (np. inhibitory wychwytu zwrotnego NA i 5-HT, citalopram, tianeptyna (Maj i wsp., 1984, Menkes i wsp., 1980, 1981), mitrazapina (Rogóż i wsp., 2002), reboksetyna (Rogóż i wsp., 2001), milnacipran (Maj i wsp., 2000) oraz ECS (Vetulani i wsp., 1984).

β – *down* - regulacja może być wykorzystywana jako jeden z markerów aktywności przeciwdepresyjnej nowo odkrytych leków (Duncan i wsp., 1985, Leonard 1997). Podobne zastosowanie może również mieć analiza gęstości receptorów α_1 (Maj, 1984).

Analiza gęstości wybranych receptorów w korach frontalnych szczurów, którym przez okres 2 tygodni podawano chlorek chromu w dawkach: 12 i 32 mg/kg dała negatywne wyniki. W badanych tkankach nie stwierdzono zmniejszenia gęstości receptorów β , nie odnotowano również zwiększenia gęstości receptorów α_1 . Czy wynik ten dowodzi braku działania przeciwdepresyjnego chromu? Oczywiście nie. Dziś wiadomo, że nie wszystkie leki o klinicznie udowodnionym działaniu przeciwdepresyjnym zmieniają gęstość korowych receptorów adrenergicznych (np. SSRI nie wywołują β – *down* - regulacji).

Lek/terapia	Zmiany wtórne
TLPD	up – regulacja receptorów α_1 up – regulacja postsynaptycznych rec 5-HT _{1A} down – regulacja rec 5-HT ₂
SSRI	down – regulacja autoreceptorów 5-HT _{1A} i 5-HT _{1B} down – regulacja rec 5-HT ₂
IMAO	down – regulacja receptorów α_2 down – regulacja autoreceptorów 5-HT _{1A} down – regulacja rec 5-HT ₂
ECS	up – regulacja receptorów α_1 up – regulacja receptorów 5-HT ₂ up – regulacja postsynaptycznych receptorów 5-HT _{1A}

Tabela 22 Zmiany w układach receptorowych obserwowano podczas długotrwałego stosowania leku/terapii (za Kostowski, 2001).

W niniejszym eksperymencie, w celu podkreślenia roli noradrenaliny w mechanizmie przeciwdepresyjnego działania soli chromu III posłużono się trzema ligandami adrenoreceptorów: prazosyną (antagonista receptorów α_1), johimbiną (antagonista receptorów α_2) oraz propranololem (antagonistą receptorów β_1). Analiza wyników pozwoliła stwierdzić, że jedynie zastosowanie premedykacji propranololem całkowicie zniosło działanie przeciwdepresyjne chromu, pozostałe ligandy wpłynęły jedynie nieznacznie na zmianę czasu bezruchu, co można zinterpretować jako brak znaczenia lub jedynie częściowy ich wpływ na manifestację działania przeciwdepresyjnego chlorku chromu III.

Otrzymane wyniki będą kolejną cechą różnicującą mechanizmy przeciwdepresyjnego działania chromu, cynku, litu i magnezu. Skrócenie czasu bezruchu w teście Porsolta uzyskane po podaniu soli magnezu było całkowicie zniesione przez premedykację prazosyną oraz johimbiną, co wskazuje na zaangażowanie noradrenergicznych receptorów α_1 i α_2 w mechanizm ośrodkowego działania tego metalu (Cardoso i wsp., 2009).

Jednak w pracy Poleszak i wsp. (2005) pokazano, że subaktywna dawka magnezu nie działa jako środek augmentacyjny i nie pozwala na uwidocznienie efektu przeciwdepresyjnego subaktywnej dawki reboksetyny. Podobnie podanie litu nie wzmacnia działania LPD o noradrenergicznym mechanizmie działania (desipramina, maprotilina) (Nixon i wsp., 1994). Natomiast podanie cynku nasila działanie dezipraminy (silny inhibitor wychwytu zwrotnego noradrenaliny przy bardzo słabym wpływie na serotoninę) w teście zawieszenia u myszy (TST) (Cunha i wsp., 2008). Obserwacja ta wskazuje na udział noradrenaliny w przeciwdepresyjnym działaniu magnezu, co stanowić będzie kolejny wspólny element łączący mechanizmy działania chromu i magnezu.

Metal	Ligandy receptorów adrenergicznych	Obserwowane zmiany
Chrom	Premedykacja: prazosyną johimbina propranololem	Utrzymanie efektu przeciwdepresyjnego Utrzymanie efektu przeciwdepresyjnego Całkowite zniesienie skrócenia czasu bezruchu
Cynk	Łączenie z subaktywnymi dawkami leków o noradrenergicznym mechanizmie działania	Działanie wzmacniające
Magnez	Premedykacja prazosyną i johimbina	Zniesienie efektu przeciwdepresyjnego
Lit	Łączenie z subaktywnymi dawkami leków o noradrenergicznym mechanizmie działania	Brak działania wzmacniającego terapię

Tabela 23 Rola receptorów adrenergicznych w mechanizmach przeciwdepresyjnego działania jonów metali.

Wpływ modulacji aktywności receptorów dopaminergicznych D₁ i D₂ na działanie przeciwdepresyjne soli chromu III w teście Porsolta u myszy

W latach siedemdziesiątych XX wieku zwrócono uwagę na możliwość udziału transmisji DA w powstawaniu objawów depresyjnych, a w 1975 roku sformułowano dopaminową koncepcję depresji (Kapur i Mann, 1992). Wprowadzenie kolejnej aminy biogennej do neuropsychofarmakologii wynikało zarówno z danych klinicznych, jak i badań laboratoryjnych. Wiadomo było, że nieselektywne IMAO nasilają nie tylko przekąźnictwo 5-HT i NA, ale również DA. Wiadomo było również, że rezerpina (substancja generująca objawy depresyjne) doprowadza w ośrodkowym układzie nerwowym do ubytku trzech wymienionych monoamin (Willner, 1997). Pacjenci cierpiących na chorobę Parkinsona często manifestują objawy depresji (40-76%) (Gorcowski i Sobów, 2006). Z drugiej strony odnotowano słabe działanie przeciwdepresyjne L-DOPA (u około 1,5% pacjentów może generować stany hipomaniakalne) (Goodwin, 1971). Podobny efekt obserwowany jest po lekach, które poprzez różne mechanizmy nasilają przekąźnictwo dopaminergiczne (bromokryptyna, amantadyna, metylofenidat, amfetamina i metyloamfetamina) (Gorcowski i Sobów 2006; Pużyński, 2002). Większość leków przeciwdepresyjnych, niezależnie od mechanizmu działania, doprowadza do nasilenia transmisji dopaminergicznej w wybranych rejonach mózgu (jądro półleżące, kora przedczołowa) (Willner, 1997). Taki efekt rozwija się powoli, po długotrwałym zastosowaniu leków (SSRI, TLPD, IMAO), elektrowstrząsów lub deprywacji snu. Może być to wynikiem zwiększenia wrażliwości

postsynaptycznych receptorów D_2/D_3 w układzie mezolimbicznym oraz wzrostem ekspresji mRNA receptorów D_3 na terenie jądra półleżącego (Dudek i Siwek, 2008).

W teście wymuszonego pływania u szczurów (FST), skuteczność agonistów D_2/D_3 jest porównywalna do leków przeciwdepresyjnych, a działanie LPD może zostać osłabione lub zniesione po zastosowaniu antagonistów dopaminergicznych (Willner, 1997; Dunlop i Nemeroff, 2007). Wyniki te sugerują, że receptory D_2/D_3 mogą stanowić punkt docelowy dla leków przeciwdepresyjnych (mimo różnic w mechanizmach działania) w przebiegu przewlekłego leczenia. Pobudzenie transmisji dopaminergicznej odbywa się prawdopodobnie poprzez synapsy 5-HT i NA zlokalizowane w ciele migdałowatym, korze przedczołowej oraz hipokampie, z których to miejsc odchodzą projekcje glutaminianergiczne kierujące się do neuronów dopaminergicznych jądra półleżącego (Dudek i Siwek, 2008). Fakt, że większość leków przeciwdepresyjnych nie ma bezpośredniej aktywności dopaminergicznej, a ich wpływ na to przekąźnictwo jest pośredni, może stanowić jedno z wytłumaczeń dla obserwowanej latencji działania przeciwdepresyjnego, jak i niskiej czy niepełnej skuteczności leków przeciwdepresyjnych (Willner, 1997, Dudek i Siwek, 2008).

W przeprowadzonym eksperymencie w celu zweryfikowania roli receptorów dopaminergicznych D_1 i D_2 w działaniu przeciwdepresyjnym soli chromu III zastosowano dwa ligandy: SCH 23390 (antagonistę receptorów D_1) oraz sulpiryd (antagonistę receptorów D_2), a analiza czasów bezruchu po ich łącznym podaniu z chromem w dawce aktywnej ujawniła znaczącą rolę receptorów D_1 oraz jedynie częściową rolę receptorów D_2 .

Badania nad znaczeniem receptorów dopaminergicznych w przeciwdepresyjnym działaniu magnezu wykonane przy zastosowaniu podobnej metodyki wykazały zaangażowanie obu typów receptorów: D_1 i D_2 , gdyż oba zastosowane ligandy (SCH 23390 oraz sulpiryd) podane łącznie z aktywną dawką magnezu całkowicie znosiły skrócenie czasu bezruchu obserwowane po podaniu badanej soli (Cardoso i wsp., 2009).

Badania wpływu cynku na receptory D_1 i D_2 również wykazały ciekawe efekty. W odróżnieniu od innych badanych kationów, które wykazywały działanie bardzo słabe lub całkowity brak działania, cynk hamował wiązanie specyficznych antagonistów do receptorów dopaminergicznych, a antagonizm ten wydaje się mieć charakter antagonizmu allosterycznego (Schetz i Sibley, 1997).

Kolejny biometal: lit wykazuje wielokierunkowy wpływ na układ dopaminergiczny (praca przeglądowa: O'Donnell i Gold, 2007). Wykazano między innymi, że u gryzoni może

on blokować zmiany metabolizmu dopaminy w CSN spowodowane długotrwałą ekspozycją na neuroleptyki (neuroleptyki mogą wywoływać zwiększoną wrażliwość receptorów dopaminergicznych, co stoi u podstaw powstawania późnych dyskinez).

Pokazany w przeprowadzonym obecnie eksperymencie udział neuroprzekaznictwa dopaminergicznego w mechanizmie działania przeciwdepresyjnego chromu upodabnia go do pozostałych biometali: litu, cynku i magnezu.

Co ciekawe, dopaminergiczny mechanizm działania chromu doskonale wpisuje się w profil kliniczny pacjentów z depresją atypową. Wydaje się bowiem, że w podtypie depresji z dominacją spowolnienia psychoruchowego, anhedonią, nadmierną sennością, męczliwością, utratą motywacji, dysfunkcja dopaminergiczna może odgrywać kluczową rolę (Dudek i Siwek, 2008).

DA	5-HT	NA
Zainteresowanie	Zainteresowanie	Zainteresowanie
Nastrój	Nastrój	Nastrój
Uwaga/koncentracja	Lęk	Lęk
Motywacja	Obsesje – kompulsje	Czułość
Przyjemność/nagroda	Fobie	Aktywność psychomotoryczna
Aktywność psychomotoryczna	Zaburzenia łaknienia	Energia/męczliwość
Energia/męczliwość		

Tabela 24 Rola neuroprzeźników monoaminergicznych w regulacji nastroju i zachowania – na podstawie: Dudek i Siwek (2008).

Badanie wzmacniania efektu przeciwdepresyjnego LPD przez jednorazowe podanie soli chromu III w teście Porsolta u myszy

Jak już wspomiano, leki stosowane w leczeniu zaburzeń depresyjnych dają zadawalające efekty lecznicze w 65-70% przypadków (Paul i Skolnick, 2003), dlatego wciąż aktualnym polem poszukiwań jest określenie metody wzmacniania farmakoterapii depresji środkiem, który spełni jedno z dwóch zadań; skróci czas trwania „okienka terapeutycznego”, czyli czasu koniecznego do poprawy stanu pacjenta, i/lub zwiększy odsetek pacjentów reagujących w sposób zadawalający na zastosowaną farmakoterapię. Zatem kolejnym etapem badania chromu w aspekcie stosowania go w farmakoterapii depresji była analiza efektów łączenia tego metalu z subaktywnymi dawkami uznanych leków przeciwdepresyjnych.

Do eksperymentu wybrano cztery leki:

- **Imipraminę** (trójcykliczny lek przeciwdepresyjny)
- **Fluoksetynę** (selektywny inhibitor wychwyty serotoniny)
- **Reboksetynę** (selektywny inhibitor wychwyty noradrenaliny)
- **Bupropion** (zaliczany do leków o nietypowym mechanizmie działania/ukierunkowany na układ dopaminergiczny)

Wszystkie leki, za wyjątkiem bupropionu, po połączeniu z subaktywną dawką chromu (6 mg/kg), wywołały znamienne statystycznie skrócenie czasu bezruchu u badanych zwierząt. Wskazuje to na możliwość zastosowania chromu jako środka wzmacniającego farmakoterapię depresji przy użyciu TCPD, SSRI oraz SNRI. Efekt ten zdaje się potwierdzać wcześniejsze wyniki dowodzące roli układów: NA i 5-HT w mechanizmie przeciwdepresyjnego działania chromu (leki o mechanizmach opartych o serotoninę i noradrenalinę są wzmacniane podaniem subaktywnej dawki chlorku chromu). Zaskakuje negatywny wynik próby wzmacniania działania bupropionu subaktywną dawką chromu, przez co nie udało się potwierdzić roli dopaminy w jego mechanizmie działania.

Zastosowanie chromu jako środka wzmacniającego klasyczną farmakoterapię zaburzeń afektu pojawia się od samego początku klinicznych badań nad chromem. McLeod i wsp. (1999) opisywali przypadek dystymicznego pacjenta leczonego sertralina (SSRI), u którego dodatek chromu dał znakomite efekty, pozwalające nawet na odstawienie podstawowego leku. W tej samej publikacji przedstawiono historię chorego leczonego jednocześnie chromem i litem. Autorzy podkreślali brak efektów niepożądanych (jedynie obecne również przy stosowaniu chromu w monoterapii: wzmożone śnienie), oraz korzystny wpływ na sposób odżywiania się (zmniejszona ochota na słodczyce). Wskazana przez McLeod'a oraz przez wyniki przeprowadzonych obecnie testów możliwość stosowania chromu jako środka wzmacniającego farmakoterapię depresji jest kolejnym aspektem upodabniającym chrom do litu, cynku i magnezu.

Najobszerniejszą literaturę opisującą skuteczność wzmacniania farmakoterapii leków przeciwdepresyjnych posiada oczywiście lit, który obok benzodiazepin oraz leków przeciwpsychotycznych był jednym z pierwszych badanych i stosowanych środków augmentacyjnych. Oczywiście samo działanie przeciwdepresyjne litu nie jest aż tak dobrze

znane i opisane jak jego efekt przeciwmaniakalny, istnieje jednak wiele prac dokumentujących jego korzystne działanie w leczeniu depresji (pierwsze doniesienie o działaniu litu w modelu zwierzęcym znalazło się w polskim czasopiśmie w 1987 roku: Eroglu i Hizal). Obecnie o litie mówi się, że jest najlepiej przebadaną metodą wzmacniania farmakoterapii depresji dla pacjentów niereagujących na monoterapię (praca przeglądowa: Bauer i wsp., 2010).

Stosunkowo nowymi (zwłaszcza w porównaniu z litem) biometalami proponowanymi jako środki wzmacniające farmakoterapię depresji są magnez i cynk. Zasadność wyboru cynku można już podeprzeć pierwszymi badaniami klinicznymi (Nowak i wsp. 2003, Siwek i wsp., 2009), gdzie cynk z powodzeniem stosowano jako wzmocnienie leczenia imipraminą i SSRI. Działanie magnezu u pacjentów depresyjnych sugerują prace o ograniczonej wartości dowodowej (bez kontrolnej ślepej próby, itp.) (Szewczyk i wsp., 2008).

W pracy Li i wsp. (2003) pokazano jak potencjalizatory AMPA, jak np. LY 392098 można stosować w charakterze augmentatorów terapii przeciwdepresyjnej. Badany związek wzmacniał działanie imipraminy, fluoksetyny i citalopramu, czyli wykazywał podobny profil jak badany obecnie chrom, który dla manifestacji swojego działania wymaga obecności niezablokowanych receptorów AMPA. Czy można zatem stwierdzić, że chrom jest potencjalizatorem AMPA? Hipoteza ta wydaje się być prawdziwa lecz wymaga jeszcze wykonania dalszych badań potwierdzających jej słusność.

Chrom i działanie przeciwłękowe.

Współwystępowanie depresji i lęku jest tematem o niezwykle długiej historii. Wspólnymi czynnikami ryzyka dla zaburzeń lękowych i depresyjnych są: płeć żeńska, powikłania okołoporodowe i choroby psychiczne u rodziców (Jaeschke i wsp., 2010). Prawdopodobieństwo wystąpienia zaburzeń lękowych po epizodzie depresyjnym jest duże i wynosi: 47-58% (Stein i Hollander, 2004). Wśród dzieci z depresją od 30 do 77% ma również zaburzenia lękowe (Angold i Costello, 1993).

Dziś częstość tego zjawiska zmusza do zadania pytania: czy występowanie nasilonych objawów depresji i lęku wskazuje na obecność dwóch różnych procesów chorobowych, czy też jednego, dającego dwa rodzaje symptomów (Jaeschke i wsp., 2010). Niezależnie od tego wiadomo, że współistnienie depresji i lęku skutkuje nasileniem niezwykle niepokojących objawów: poczucia winy, niskiej samooceny, bezsenności, anhedonii,

zaburzeń seksualnych, myśli hipochondrycznych i innych, które obniżając jakość życia często doprowadzają do hospitalizacji pacjenta. Obserwuje się też zwiększoną „oporność” pacjentów na stosowaną farmakoterapię (Stein i Hollander, 2004, Altamura, 2004). Pacjenci tacy wymagają więc często stosowania politerapii lub augmentacji terapii farmakologicznej.

Jedną z teorii próbującą tłumaczyć częste nakładanie się symptomów depresji i lęku jest model neurohormonalny. Wskazuje on na nadmierną aktywność osi HPA (podwzgórze-przysadka-nadnercza), co jest istotnym czynnikiem powstawania lęku. Gdy dysfunkcja ta nabiera charakteru przewlekłego, może prowadzić do rozwoju depresji. Obecnie uważa się, że na poziomie neurofizjologicznym zaburzenia lękowo-depresyjne mogą być również następstwem dysfunkcji układów monoaminergicznych: noradrenergicznego oraz serotonergicznego (Jaeschke i wsp., 2010).

Współwystępowanie depresji i lęku wymaga od klinicystów stosowania terapii o szerokim spektrum działania. Co ciekawe, jony metali: cynku i magnezu wykazują korzystny wpływ zarówno w zaburzeniach afektywnych jak i zmianach lękowych. Magnez, który wiąże swoje działanie przeciwłękowe z działaniem na receptory GABA-A oraz wymagający sygnalizacji poprzez receptory NMDA (Poleszak i wsp., 2008, Poleszak, 2008) znany był jako środek przeciwłękowy od lat 60-tych ubiegłego wieku, dziś badany jest pod kątem działania przeciwdepresyjnego (Poleszak i wsp., 2005, Poleszak, 2007). Odwrotną historię posiada cynk, którego przeciwdepresyjne działanie udowodnione w wielu testach zwierzęcych (praca przeglądowa: Szewczyk i wsp., 2008) oraz badaniach klinicznych (Lai i wsp. 2012; np. Siwek i wsp., 2009), poprzedziło doniesienia o działaniu przeciwłękowym (Partyka i wsp., 2011).

W niniejszej pracy wykonano wstępny test badający działanie przeciwłękowe chromu. Zastosowano test uniesionego labiryntu krzyżowego u szczurów z użyciem dawek analizowanych w teście Porsolta. Otrzymano ambiwalentne wyniki: żadna zastosowana dawka chromu nie zmieniała podstawowych elementów zachowania analizowanych w teście (leki przeciwłękowe powinien zwiększać liczbę wejść, dystans i/lub czas spędzony w otwartych częściach labiryntu (Pellow i File, 1986). Znamienność statystyczną uzyskano natomiast dla ilości wejść do ramion ciemnych labiryntu dla dawki pośredniej (12 mg/kg). Interpretacja wyników jest zatem niejednoznaczna, i konieczne wydają się być dalsze badania z zastosowaniem innych modeli. Konieczność tę potwierdza również niejednoznaczność wyników uzyskanych przez Khanam i Pillai (2007), którzy jako pierwsi analizowali możliwość zastosowania soli chromu III jako środka anksjolitycznego. Z zastosowaniem testu

uniesionego labiryntu krzyżowego badali oni działanie pikolinianu chromu stosowanego w sposób chroniczny. Również w tym przypadku podstawowe parametry badane w teście nie uległy zmianie (obserwowany wzrost ilości wejść do ramion otwartych nie uzyskał znamienności statystycznej). Badacze wykryli jednak wzrost procentowej preferencji ramion otwartych, co wg nich może świadczyć o anksjolitycznym działaniu chromu.

Podsumowanie

Jaka jest dawkozależność działania przeciwdepresyjnego chromu u myszy i szczurów?

- Chrom III wykazuje działanie przeciwdepresyjne zarówno u myszy jak i u szczurów
- Dawki aktywne u obu gatunków gryzoni to:
 - u myszy: 12 mg/kg chlorku chromu III (2,34 mg/kg jonów chromu III)
 - u szczurów: 32 mg/kg chlorku chromu III (6,25 mg/kg jonów chromu III)
- Krzywa dawkozależności u myszy ma kształt dzwonu, z obserwowanym wyciszeniem efektu przy wyższych dawkach

Jaką rolę odgrywają układy neuroprzebieżnikowe w manifestacji działania przeciwdepresyjnego u myszy?

- Znaczącą rolę w manifestacji efektu przeciwdepresyjnego chromu III odgrywają receptory: AMPA, β_1 oraz D_1 :
 - Podanie NBQX (antagonisty receptorów AMPA) przed podaniem aktywnej dawki chromu całkowicie znosi jego działanie
 - Podanie propranololu (antagonisty receptorów β_1) jako premedykacji przed podaniem chromu całkowicie znosi jego działanie
 - Podanie SCH 23390 (antagonisty receptorów D_1) blokuje działanie aktywnej dawki chromu u myszy
- Receptory: NMDA, α_1 i α_2 , 5-HT₁ i 5-HT_{2A/C} nie biorą bezpośredniego udziału w mechanizmie przeciwdepresyjnego działania chromu, lub udział ten jest częściowy

Czy istnieje możliwość stosowania chromu jako środka wzmacniającego farmakoterapię depresji w modelu zwierzęcym?

- Chrom może być stosowany jako środek wzmacniający farmakoterapię depresji
- Wrażliwość na wzmocnienie wykazały
 - Imipramina (TLPD)
 - Fluoksetyna (SSRI)
 - Reboksetyna (SNRI)
- Bypropion, lek o nietypowym mechanizmie działania nie wykazał wrażliwości na augmentację solą chromu III

Czy po chronicznym podaniu chromu w mózgach szczurów powstają zmiany adaptacyjne w obrębie receptorów β -adrenergicznych i α -adrenergicznych?

- Chrom III po 14 dniach nie wytworzył zmian adaptacyjnych w obrębie receptorów β_1
- Nie obserwowano również zmian wtórnych w obrębie receptorów α_1

Jakie jest powinowactwo chromu III do wybranych receptorów w mózgu szczura?

- Chrom III nie posiada powinowactwa do receptorów:
 - α_1
 - β_1
- Chrom nie posiada powinowactwa do transportera serotoniny (5-HT-T)
- Powinowactwo chromu do receptorów 5-HT_{1A} jest bardzo niskie

Czy doniesienia o potencjalnym działaniu przeciwłękowym soli chromu III w modelu zwierzęcym potwierdzą się w niniejszych badaniach?

- Wyniki przeprowadzonego testu nie potwierdzają doniesień o przeciwłękowym działaniu chromu

Wnioski

1. Chrom III wykazuje działanie przeciwdepresyjne w teście Porsolta (wymuszonego pływania) u myszy i szczurów.
2. Mechanizm przeciwdepresyjny chromu III jest związany z układem glutamatergicznym (głównie przez receptory AMPA), układem adrenergicznym (głównie przez receptory β_1) i układem dopaminergicznym (głównie przez receptory D_1).
3. Mechanizmy przeciwdepresyjnego działania chromu III wskazują na podobieństwo tych mechanizmów do mechanizmów klasycznych leków przeciwdepresyjnych oraz innych biometali (cynk, magnez, lit).
4. Wyniki badań prezentowanych w tej rozprawie dostarczają dalszych przedklinicznych dowodów na przeciwdepresyjną aktywność chromu III oraz wskazują na możliwość potencjalizacji terapii przeciwdepresyjnej przez suplementację tym biometalem.

Streszczenie

Chrom to mikroelement, który znajdując się na trzecim stopniu utlenienia jest zaangażowany w insulinozależne przemiany węglowodanów, wpływa też na przemiany lipidowe. Dobrze zbilansowana dieta, w której skład wchodzi owoce, warzywa, mięso, ryby i zboża jest wystarczającym jego źródłem. Przypadki niedoborów żywieniowych chromu u ludzi są niezwykle rzadkością, lecz potwierdzają rolę tego biopierwiastka w ustroju. Obecne na rynku suplementy diety oparte o różne sole trójwartościowego chromu (głównie pikolinian chromu III) generują tylko w Stanach Zjednoczonych sprzedaż o wartości 100 milionów dolarów rocznie. Producenci podkreślają wpływ chromu na różne funkcje organizmu: zmniejszanie apetytu i ochoty na słodycze, zwiększanie beztłuszczowej masy ciała, ułatwianie budowy masy mięśniowej u atletów, utrata masy, ochrona przed insulinoopornością i nietolerancją glukozy oraz ochrona przed cukrzycą typu II.

Nowym kierunkiem badań nad rolą chromu w organizmie człowieka stała się neuropsychofarmakologia. Badania laboratoryjne pokazały, że chrom może zmieniać poziomy neuroprzekazników zaangażowanych w patofizjologię depresji a opisy kazuistycznych przypadków podkreślały niezwykle korzystny wpływ suplementacji chromem na przebieg chorób afektywnych, zwłaszcza dystymii i depresji atypowej.

Przedstawiona praca bada rolę receptorów glutamatergicznych i monoaminergicznych w mechanizmie przeciwdepresyjnego działania soli chromu III. Wykonano również badania działania przeciwłękowego tego biometalu. Zamierzone cele osiągnięto dzięki zastosowaniu testów behawioralnych: test Porsolta (wymuszonego pływania) u myszy i szczurów, test uniesionego labiryntu krzyżowego, oraz testów radioreceptorowych: metoda inhibicyjna i saturacyjna. WYNIKI: Chrom III wykazuje w teście wymuszonego pływania dawkozależny efekt przeciwdepresyjny zarówno u szczurów (dawka aktywna: 32 mg/kg) jak i u myszy (dawka aktywna: 12 mg/kg). Wykazano, że do manifestacji tego efektu niezbędna jest sygnalizacja poprzez receptory AMPA, β i D_1 . Chrom III zastosowany w dawce subaktywnej wzmacnia działanie subaktywnych dawek imipraminy, fluoksetyny i reboksetyny. Podania chroniczne u szczurów nie zmieniają jednak gęstości receptorów β i α_1 adrenergicznych w korze frontalnej. Nie obserwowano również właściwości przeciwłękowych chromu III. Reasumując, należy podkreślić, że chrom III pod względem mechanizmu działania wykazuje pewne podobieństwa do cynku, magnezu i litu. Jednakże każdy z nich, ze względu na różnice w tychże mechanizmach wykazywać będzie unikalny profil neuropsychofarmakologiczny.

Abstract

Chromium is an essential metal, as a trivalent compound is used in the human body in insulin-dependent glucose utilization and lipids metabolism. Well-balanced diets, consists of: fruits, vegetables, meat, fish, grains, are capable to cover the requirement of chromium completely. Cr III deficiency cases are extremely rare, but shows the role of this bioelement in organism. Nevertheless, it is reported that in United States chromium supplements (mainly CrPic) generates sales for more than US\$100 million annually. Producers indicate the role of Cr III nutrient supplements in: reducing carbohydrate cravings and appetite, increasing lean body mass, optimal body building for athletes, losing weight, prevention of insulin resistance and glucose intolerance and prevention of type 2 diabetes mellitus.

There is a new direction of research of the role of chromium III in human organism: neuropsychopharmacology. Experiments show that chromium is able to change levels of neurotransmitters involved in pathophysiology of depression, and casual cases of patients using chromium supplementation demonstrate its benefit role in affective disorders, especially dysthymia and atypical depression.

This paper examine the role of glutamatergic and monoaminergic receptors in antidepressant-like action of chromium. Furthermore, the evaluation of anxiolytic-like action of chromium was done. Two behavioral tests were employed: Porsolt's test (forced swim test) in mice and rats, elevated plus maze, and two methods of radioreceptor binding: inhibition and saturation. RESULTS: Chromium III exhibits antidepressant-like effect in a dose-dependent manner (active dose: 12 mg/kg for mices, 32 mg/kg for rats). The AMPA, β and D_1 receptor signaling is necessary for this activity. Subactive dose of chromium augments antidepressant activity of imipramine, reboxetine and fluoxetine. Chronic treatment with chromium III did not alter the β - or α_1 -adrenoceptors' density in rat frontal cortex. No anxiolytic-like action of chromium was noticed. SUMMARY: Mechanism of antidepressant-like activity of chromium III is in some points similar to zinc, magnesium and lithium. However, each of them because of their own mechanisms, may display unique neuropsychopharmacological profile.

Piśmiennictwo

1. Alt A, Nisenbaum E, Bleakman D, Witkin J. A role for AMPA receptors in mood disorders. *Biochem Pharmacol.* 2006, 28, 1273 – 1288
2. Altamura A, Montresor C, Salvadori D, Mundo E.: Does comorbid subthreshold anxiety affect clinical presentation and treatment response in depression? A preliminary 12-month naturalistic study. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2004; 7, 481–487
3. Altshuler L, Bauer M, Frye M.: Does thyroid supplementation accelerate tricyclic antidepressant response? A review and meta-analysis of the literature. *Am J Psychiatry.* 2001, 158, 1617 – 1622
4. Anderson R.: Chromium and parenteral nutrition. *Nutrition,* 1995, 11, 83 – 86
5. Anderson R.: Chromium, glucose intolerance and diabetes. *J Am Coll Nutr,* 1998, 17, 548 – 555
6. Anderson R, Bryden N, Polansky M.: Dietary chromium effects on tissue chromium concentrations and chromium absorption in rats. *J Trace Elem Exp Med.* 1996, 9, 11
7. Anderson R, Bryden N, Polansky M.: Lack of toxicity of chromium chloride and chromium picolinate in rats. *J Am Coll Nutr.* 1997, 16, 273 – 279
8. Anderson R, Kozlovsky A.: Chromium intake, absorption and excretion of subjects consuming self-selected diets. *Am J Clin Nutr.* 1985, 41, 1177 – 1183
9. Angold A, Costello E. Depressive comorbidity in children and adolescents: empirical, theoretical, and methodological issues. *Am. J. Psychiatry* 1993, 150, 1779 – 1791
10. Attenburrow M, Odontiadis J, Murray B, Cowen P, Franklin M.: Chromium treatment decreases the sensitivity of 5-HT_{2A} receptors. *Psychopharmacology (Berl).* 2002, 159, 432 – 436
11. Austin M, Souza F, Goodwin G.: Lithium augmentation in antidepressant-resistant patients. A quantitative analysis. *Br J Psychiatry.* 1991, 159, 510 -514
12. Bailey M, Boohaker J, Sawyer R, Behling J, Rasco J, Jernigan J, Hood R, Vincent J.: Exposure of pregnant mice to chromium picolinate results in skeletal defects in their offspring. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2006, 77, 244 – 249

13. Bailey M, Sturdivant J, Jernigan P, Townsend M, Bushman J, Ankareddi I, Rasco J, Hood R, Vincent J.: Comparison of the potential for developmental toxicity of prenatal exposure to two dietary chromium supplements, chromium picolinate and $[\text{Cr}_3\text{O}(\text{O}_2\text{CCH}_2\text{CH}_3)_6(\text{H}_2\text{O})_3]^+$, in mice. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2008, 83, 27 – 31
14. Bauer M, Adli M, Bschor T, Pilhatsch M, Pfennig A, Sasse J, Schmid R, Lewitzka U.: Lithium's emerging role in the treatment of refractory major depressive episodes: augmentation of antidepressants. *Neuropsychobiology.* 2010, 62, 36 – 42
15. Berner T, Murphy M, Slesinski R.: Determining the safety of chromium tripicolinate for addition to foods as a nutrient supplement. *Food Chem Toxicol.* 2004, 42, 1029 – 1042
16. Bilikiewicz A, Pużyński S, Rybakowski J, Wciórka J. (red.): *Psychiatria.* Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 2002
17. Binfaré R, Rosa A, Lobato K, Santos A, Rodrigues A. Ascorbic acid administration produces an antidepressant-like effect: evidence for the involvement of monoaminergic neurotransmission. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009, 33, 530 – 540
18. Brown R, Forloines-Lynn S, Gross R.: Chromium deficiency after long term total parenteral nutrition. *Dig Dis Sci* 1986, 31, 661 – 664
19. Brunello N, Blier P, Judd L, Mendlewicz J, Nelson C, Souery D, Zohar J, Racagni G.: Noradrenaline in mood and anxiety disorders: basic and clinical studies. *Int Clin Psychopharmacol.* 2003, 18, 191 – 202
20. Burton J, Nonnecke B, Elsasser T, Mallard B, Yang W, Mowat D.: Immunomodulatory activity of blood serum from chromium-supplemented periparturient dairy cows. *Vet Immunol Immunopathol.* 1995, 49, 29 – 38
21. Cappeliez P, White N. Lithium induces dose-related increases and decreases in activity levels in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 1981, 73, 34 – 38
22. Cardoso C, Lobato K, Binfaré R, Ferreira P, Rosa A, Santos A, Rodrigues A.: Evidence for the involvement of the monoaminergic system in the antidepressant-like effect of magnesium. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009, 33, 235 – 242
23. Caspi A, Sugden K, Moffitt T, Taylor A, Craig I, Harrington H, McClay J, Mill J.: Influence of Life Stress on Depression: Moderation by a Polymorphism in the 5-HTT Gene. *Science* 2003, 301, 386 – 389

24. Cefalu W, Wang Z, Zhang X, Baldor L, Russell J.: Oral chromium picolinate improves carbohydrate and lipid metabolism and enhances skeletal muscle Glut-4 translocation in obese, hyperinsulinemic (JCR-LA corpulent) rats. *J Nutr.* 2002, 132, 1107 – 1114
25. Chen G, Liu P, Pattar G, Tackett L, Bhonagiri P, Strawbridge A, Elmendorf J.: Chromium activates glucose transporter 4 trafficking and enhances insulin-stimulated glucose transport in 3T3-L1 adipocytes via a cholesterol-dependent mechanism. *Mol Endocrinol.* 2006, 20, 857 – 870
26. Cichy A.: Mechanizmy przeciwdepresyjnego działania jonów cynku. Rozprawa doktorska. UJ-CM Kraków, 2010
27. Clodfelder B, Chang C, Vincent J.: Absorption of the biomimetic chromium cation triaqua-mu₃-oxo-mu₆-hexapropionatotrichromium(III) in rats. *Biol Trace Elem Res.* 2004, 98, 159 – 169
28. Coppen A, Bailey J.: Enhancement of the antidepressant action of fluoxetine by folic acid: a randomised, placebo controlled trial. *J Affect Disord.* 2000, 60, 121 – 130
29. Coppen A, Doogan D.: Serotonin and its place in the pathogenesis of depression. *J Clin Psychiatry.* 1988, 49, 4 – 11
30. Cryan J, Leonard B.: 5-HT_{1A} and beyond: the role of serotonin and its receptors in depression and the antidepressant response. *Hum Psychopharmacol.* 2000, 15, 113 – 135
31. Cryan J, Markou A, Lucki I.: Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci.* 2002, 23, 238 – 245
32. Cubała W, Landowski J.: Serotonergic system and limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis (LHPA axis) in depression. *Psychiatr Pol.* 2006, 40, 415 – 430
33. Cunha M, Machado D, Bettio L, Capra J, Rodrigues A.: Interaction of zinc with antidepressants in the tail suspension test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008, 12, 1913 – 1920
34. Davidson J, Abraham K, Connor K, McLeod M.: Effectiveness of chromium in atypical depression: a placebo-controlled trial. *Biol Psychiatry.* 2003, 53, 261 – 264
35. Davis C, Vincent J.: Chromium oligopeptide activates insulin receptor tyrosine kinase activity. *Biochemistry.* 1997, 36, 4382 - 4385
36. De Flora S, Bagnasco M, Serra D, Zancacchi P.: Genotoxicity of chromium compounds. A review. *Mutat Res.* 1990, 238, 99 - 172

37. De Montigny C, Grunberg F, Mayer A, Deschenes J.: Lithium induces rapid relief of depression in tricyclic antidepressant drug non-responders. *Br J Psychiatry*. 1981, 138, 252 – 256
38. De Montis M, Gambarana C, Meloni D, Taddei I, Tagliamonte A.: Long-term imipramine effects are prevented by NMDA receptor blockade. *Brain Res* 1993, 606, 63 - 67
39. Detke M, Rickels M, Lucki I.: Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl)*. 1995, 121, 66 - 72
40. Docherty J, Sack D, Roffman M, Finch M, Komorowski J.: A double-blind, placebo-controlled, exploratory trial of chromium picolinate in atypical depression: effect on carbohydrate craving. *J Psychiatr Pract*. 2005, 11, 302 – 314
41. Dudek D, Siwek M.: Rola układu dopaminergicznego w etiopatogenezie zaburzeń Depresyjnych. *Farmakoterapia w psychiatrii i neurologii*. 2008, 4, 211–220
42. Duncan G, Paul I, Harden T, Mueller R, Stumpf W, Breese G.: Rapid down regulation of beta adrenergic receptors by combining antidepressant drugs with forced swim: a model of antidepressant-induced neural adaptation. *J Pharmacol Exp Ther*. 1985, 234, 402 – 408
43. Dunlop B., Nemeroff C.: The role of dopamine in the pathophysiology of depression. *Arch Gen Psychiatry*. 2007, 64, 327 – 337
44. Dziedzicka-Wasylewska M, Faron-Górecka A, Kuśmider M, Drozdowska E, Rogóż Z, Siwanowicz J, Caron M, Bönisch H.: Effect of antidepressant drugs in mice lacking the norepinephrine transporter. *Neuropsychopharmacology*. 2006, 31, 2424 – 2432
45. Eastmond D, Macgregor J, Slesinski R.: Trivalent chromium: assessing the genotoxic risk of an essential trace element and widely used human and animal nutritional supplement. *Crit Rev Toxicol*. 2008, 38, 173 – 190
46. Elbetieha A, Al-Hamood M.: Long-term exposure of male and female mice to trivalent and hexavalent chromium compounds: effect on fertility. *Toxicology*. 1997, 116, 39 – 47
47. Ergün Y, Orhan F, Karaaslan M.: Combination therapy of imipramine and melatonin: additive antidepressant effect in mouse forced swimming test. *Eur J Pharmacol*. 2008, 4, 159 – 63

48. Eroğlu L, Hizal A.: Antidepressant action of lithium in behavioral despair test. *Pol J Pharmacol Pharm.* 1987, 39, 667 - 73
49. Fava M, Mischoulon D.: Folate in depression: efficacy, safety, differences in formulations, and clinical issues. *J Clin Psychiatry.* 2009, 70, 12 – 17
50. Flügge G, van Kampen M, Meyer H, Fuchs E.: Alpha2A and alpha2C-adrenoceptor regulation in the brain: alpha2A changes persist after chronic stress. *Eur J Neurosci.* 2003, 17, 917 – 928
51. Franklin M, Odontiadis J.: Effects of treatment with chromium picolinate on peripheral amino acid availability and brain monoamine function in the rat. *Pharmacopsychiatry.* 2003, 36, 176 – 180
52. Freund H, Atamian S, Fischer J.: Chromium deficiency during total parenteral nutrition. *JAMA* 1979, 241, 496 – 498
53. Gabriel A.: Lamotrigine adjunctive treatment in resistant unipolar depression: an open, descriptive study. *Depress Anxiety.* 2006, 23, 485 – 488
54. Gargas M, Norton R, Paustenbach D, Finley B.: Urinary excretion of chromium by humans following ingestion of chromium picolinate. Implications for biomonitoring. *Drug Metab Dispos.* 1994, 22, 522 – 529
55. Ghasemi M, Raza M, Dehpour AR.: NMDA receptor antagonists augment antidepressant-like effects of lithium in the mouse forced swimming test. *J Psychopharmacol.* 2010, 24, 585 – 594
56. Glowinski J, Axelrod J.: Inhibition of uptake of tritiatednoradrenaline in the intact rat brain by imipramine and structurally related compounds. *Nature* 1964, 204, 1318 – 1319
57. González Cid M, Loria D, Vilensky M, Miotti J, Matos E.: Leather tanning workers: chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes and micronuclei in exfoliated cells in urine. *Mutat Res.* 1991, 259, 197 – 201
58. Goodwin G.: The effects of antidepressant treatments and lithium upon 5-HT1A receptor function. *Progr. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 1989, 13, 445 – 451
59. Goodwin F.: Psychiatric side effects of levodopa in man. *JAMA.* 1971, 218, 1915 – 1920
60. Gorcowski M, Sobów T.: Zaburzenia afektywne w zespołach parkinsonowskich. *Continuo, Wrocław* 2006, 151 – 160

61. Gould TD, O'Donnell KC, Dow ER, Du J, Chen G, Manji HK. Involvement of AMPA receptors in the antidepressant-like effects of lithium in the mouse tail suspension test and forced swim test. *Neuropharmacology*. 2008, 54, 577 – 587
62. Groot M, Anderson R, Freedland K, Clouse R, Lustman P.: Association of depression and diabetes complications: a meta-analysis. *Psychosom Med*. 2001, 63, 619 – 630
63. Haggerty JJ Jr, Stern R, Mason G, Beckwith J, Morey C, Prange A Jr.: Subclinical hypothyroidism: a modifiable risk factor for depression? *Am Psychiatry*. 1993, 150, 508 – 510
64. Hascoet M, Bourin M, Khimake S.: Additive effect of lithium and clonidine with 5-HT_{1A} agonists in the forced swimming test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1994, 18, 381 – 396
65. Heisler L, Chu H, Brennan T, Danao J, Bajwa P, Parsons L, Tecott L.: Elevated anxiety and antidepressant-like responses in serotonin 5-HT_{1A} receptor mutant mice. *Proc. Nat. Acad. Sc. USA* 1998, 95, 15049 – 15054
66. Heninger G, Charney D, Sternberg D.: Lithium carbonate augmentation of antidepressant treatment. An effective prescription for treatment-refractory depression. *Arch Gen Psychiatry*. 1983, 40, 1335 -1342
67. Hepburn D, Vincent J.: Tissue and subcellular distribution of chromium picolinate with time after entering the bloodstream. *J Inorg Biochem*. 2003, 94, 86 – 93
68. Horvath E, Tackett L, McCarthy A, Raman P, Brozinick J, Elmendorf J.: Antidiabetogenic effects of chromium mitigate hyperinsulinemia-induced cellular insulin resistance via correction of plasma membrane cholesterol imbalance. *Mol Endocrinol*. 2008, 22, 937 – 950
69. Jaeschke R, Siwek M., Bartosz Grabski, Dudek D Współwystępowanie zaburzeń depresyjnych i lękowych. *Psychiatria Via Medica*, 2010, 7, 189 – 197
70. Jain S, Rains J, Croad J.: Effect of chromium niacinate and chromium picolinate supplementation on lipid peroxidation, TNF-alpha, IL-6, CRP, glycated hemoglobin, triglycerides, and cholesterol levels in blood of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Radic Biol Med*. 2007, 43, 1124 – 1131
71. Jarrett R, Schaffer M, McIntire D, Witt-Browder A, Kraft D, Risser R.: Treatment of atypical depression with cognitive therapy or phenelzine: a double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry*. 1999, 56, 431 – 437

72. Jeejeebhoy K, Chu R, Marliss E.: Chromium deficiency, glucose intolerance and neuropathy reversed by chromium supplementation in a patient receiving long term total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* 1977, 30, 531 – 538
73. Jovanovic L, Gutierrez M, Peterson C.: Chromium supplementation for women with gestational diabetes. *J Trace Elem Exptl Med* 1999, 12, 91 – 98
74. Kapur S, Mann J.: Role of the dopaminergic system in depression. *Biol Psychiatry*. 1992, 32, 1 – 17
75. Khanam R, Pillai K.: Effect of chronic chromium picolinate in animal models of anxiety and memory. *Fundam Clin Pharmacol*. 2007, 21, 531 – 534
76. Khanam R, Pillai K.: Effect of chromium picolinate on modified forced swimming test in diabetic rats: involvement of serotonergic pathways and potassium channels. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2006, 98, 155 – 159
77. Kim B, Adams J, Jackson B, Lindemann M.: Effects of chromium(III) picolinate on cortisol and DHEAs secretion in H295R human adrenocortical cells. *Biol Trace Elem Res*. 2010, 133, 171 – 180
78. Koike H, Iijima M, Chaki S. Involvement of AMPA receptor in both the rapid and sustained antidepressant-like effects of ketamine in animal models of depression. *Behav Brain Res*. 2011, 10, 107 – 111
79. Kopilas M, Dang L, Anderson H.: Effect of dietary chromium on resistance artery function and nitric oxide signaling in the sucrose-fed spontaneously hypertensive rat. *J Vasc Res*. 2007, 44, 110 – 118
80. Kostowski W.: *Farmakologia. Podstawy farmakoterapii*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL Warszawa, 2001
81. Kottwitz K, Laschinsky N, Fischer R, Nielsen P.: Absorption, excretion and retention of ⁵¹Cr from labelled Cr-(III)-picolinate in rats. *Biometals*. 2009, 22, 289 - 295
82. Krikorian R, Eliassen J, Boespflug E, Nash T, Shidler M.: Improved cognitive-cerebral function in older adults with chromium supplementation. *Nutr Neurosci*. 2010, 13, 116 – 122
83. Lai J, Moxey A, Nowak G, Vashum K, Bailey K, McEvoy M.: The efficacy of zinc supplementation in depression: systematic review of randomised controlled trials. *J Affect Disord*. 2012, 136, 31 – 39
84. Lamson D, Plaza S.: The Safety and Efficacy of High-Dose Chromium Altern Med Rev. 2002, 7, 218 – 235

85. Landowski J, Rudnik E.: Depresja z objawami atypowymi. *Psychiatria Via Medica* 2005, 2, 154 – 160
86. Langård S.: One hundred years of chromium and cancer: a review of epidemiological evidence and selected case reports. *Am J Ind Med.* 1990, 17, 189 – 215
87. Leonard B.: Noradrenaline in basic models of depression. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1997, 7, 11 – 16
88. Leonard B, Myint A. The psychoneuroimmunology of depression. *Hum. Psychopharmacol.* 2009, 24, 165 – 175
89. Levina A, Lay P.: Chemical properties and toxicity of chromium(III) nutritional supplements. *Chem Re. Toxicol.* 2008, 21, 563 – 571
90. Li X, Witkin JM, Need A, Skolnick P: Enhancement of antidepressant potency by a potentiator of AMPA receptors. *Cell Mol Neurobiol*, 2003, 23, 419 – 430
91. Lim T, Sargent T 3rd, Kusubov N.: Kinetics of trace element chromium(III) in the human body. *Am J Physiol.* 1983, 244, 445 - 454
92. Liu P, Lin M.: Biphasic effects of chromium compounds on catecholamine secretion from bovine adrenal medullary cells. *Toxicology.* 1997, 117, 45 – 53
93. Llorens-Martín M, Trejo J. Mifepristone prevents stress-induced apoptosis in newborn neurons and increases AMPA receptor expression in the dentate gyrus of C57/BL6 mice. *PLoS One.* 2011, 6, e28376
94. Lukaski H.: Chromium as a supplement. *Annu Rev Nutr.* 1999, 19, 279 – 302
95. Lukaski H, Bolonchuk W, Siders W, Milne D.: Chromium supplementation and resistance training: effects on body composition, strength, and trace elements status of men. *Am J Clin Nutr.* 1996, 63, 954 – 965
96. Lynch G, Gall C.: Ampakines and the threefold path to cognitive enhancement. *Trends Neurosci.* 2006, 29, 554 – 562
97. Łoza B, Czernikiewicz A, Matejuk-Mazurek I, Roszkowska A, Britmann J, Grzesiewska J, Mosiołek A.: Politerapia zaburzeń depresyjnych. Preferencje polskich psychiatrów. *Psychiatria Via Medica.* 2007, 4, 97 – 104
98. MacKenzie R, Byerrum R, Decker C, Hoppert C, Langham R.: Chronic toxicity studies. II Hexavalent and trivalent chromium administered in drinking water to rats. *AMA Arch Ind Health.* 1958, 18, 232 – 234

99. Maj J.: Farmakologia leków przeciwdepresyjnych. Neuropsychofarmakologia. Dziś i jutro. red. Bijak M, Lasoń W. Instytut Farmakologii PAN. 2000, 71 – 100
100. Maj J.: Central effects following repeated treatment with antidepressant drugs. *Pol J Pharmacol Pharm.* 1984, 36, 87 – 99
101. Maj J, Przegalinski E, Mogilnicka E.: Hypotheses concerning the mechanism of action of antidepressant drugs. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 1984, 100, 1 – 74
102. Maj J, Rogóż Z, Dlaboga D, Dziedzicka-Wasylewska M.: Pharmacological effects of milnacipran, a new antidepressant, given repeatedly on the alpha1-adrenergic and serotonergic 5-HT_{2A} systems. *J Neural Transm.* 2000, 107, 1345 – 1359
103. Marazziti D, Akiskal H, Rossi A, Cassano G.: Alteration of the platelet serotonin transporter in romantic love. *Psychological Medicine* 1999, 29, 741 – 745
104. Martinez-Turrillas R, Del Rio J, Frechilla D: Sequential changes in BDNF mRNA expression and synaptic levels of AMPA receptor subunits in rat hippocampus after chronic antidepressant treatment. *Neuropharmacology*, 2005, 49, 1178 – 1188
105. McAdory D, Rhodes N, Briggins F, Bailey M, Di Bona K, Goodwin C, Vincent J, Rasco J.: Potential of chromium(III) picolinate for reproductive or developmental toxicity following exposure of male CD-1 mice prior to mating. *Biol Trace Elem Res.* 2011, 143, 1666 – 1672
106. McAllister-Williams R, Ferreir I, Young A.: Mood and neuropsychological function in depression: the role of corticosteroids and serotonin. *Psychol. Med.* 1998, 28, 573 – 584
107. McCarty M.: Enhancing central and peripheral insulin activity as a strategy for the treatment of endogenous depression-an adjuvant role for chromium picolinate? *Med Hypotheses.* 1994, 43, 247 – 252
108. McCarty M.: Longevity effect of chromium picolinate-'rejuvenation' of hypothalamic function? *Med Hypotheses.* 1994, 43, 253 – 265
109. McLeod M, Gaynes B, Golden R.: Chromium potentiation of antidepressant pharmacotherapy for dysthymic disorder in 5 patients. *J Clin Psychiatry.* 1999, 60, 237 – 240
110. McLeod M, Golden R.: Chromium treatment of depression. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2000, 3, 311 – 314

111. Medeiros M, Rodrigues A, Batoréu M, Laires A, Rueff J, Zhitkovich A.: Elevated levels of DNA-protein crosslinks and micronuclei in peripheral lymphocytes of tannery workers exposed to trivalent chromium. *Mutagenesis*. 2003, 18, 19 – 24
112. Menkes D, Aghajanian G.: Alpha 1-Adrenoceptor-mediated responses in the lateral geniculate nucleus are enhanced by chronic antidepressant treatment. *Eur J Pharmacol*. 1981, 74, 27 – 35
113. Menkes D, Aghajanian G, McCall R.: Chronic antidepressant treatment enhances alpha-adrenergic and serotonergic responses in the facial nucleus. *Life Sci*. 1980, 27, 45 – 55
114. Mitchell N, Baker G.: An update on the role of glutamate in the pathophysiology of depression. *Acta Psychiatr Scand*. 2010, 122, 192 – 210
115. Morris B, MacNeil S, Stanley K, Gray T, Fraser R.: The inter-relationship between insulin and chromium in hyperinsulinaemic euglycaemic clamps in healthy volunteers. *J Endocrinol*. 1993, 139, 339 – 345
116. Moukarzel A.: Chromium in parenteral nutrition: too little or too much? *Gastroenterology*. 2009, 137, 18 – 28
117. Nalepa I, Vetulani J.: Enhancement of responsiveness of cortical adrenergic receptors by chronic administration of the 5-hydroxytryptamine uptake inhibitor citalopram. *J. Neurochem*. 1993, 60, 2029 – 2035
118. Nelson JC.: Augmentation strategies in the treatment of major depressive disorder. Recent findings and current status of augmentation strategies. *CNS Spectr*. 2007, 12, 6 – 9
119. Nitka-Siemińska A, Siemiński M, Wichowicz H, Nyka W.: Dystymia. *Psychiatrii Via Medica*. 2005, 2, 40 – 43
120. Nixon M, Hascoet M, Bourin M, Colombel M.: Additive effects of lithium and antidepressants in the forced swimming test: further evidence for involvement of the serotonergic system. *Psychopharmacology (Berl)*. 1994, 115, 59 – 64
121. Nobile M, Cataldo G, Marino C, Molteni M.: Diagnosis and treatment of dysthymia in children and adolescents. *CNS Drugs* 2003, 17, 927 – 946
122. Nowak G.: Współczesne poglądy na mechanizm działania leków przeciwdepresyjnych. *Wykłady Monograficzne 37*. Instytut Farmakologii PAN, 1997, Kraków

123. Nowak G.: Rola kompleksu receptora NMDA w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych. W.: depresja i leki przeciwdepresyjne 10 lat później. XIII Zimowa Szkoła Instytutu Farmakologii PAN. Red. Przewłocka B., 1996, 87 – 98
124. Nowak G, Siwek M, Dudek D, Zieba A, Pilc A.: Effect of zinc supplementation on antidepressant therapy in unipolar depression: a preliminary placebo-controlled study. *Pol J Pharmacol.* 2003, 55, 1143 – 1147
125. Nowak G, Trullas R, Layer R, Skolnick P, Paul I.: Adaptive changes in the N-methyl-D-aspartate receptor complex after chronic treatment with imipramine and 1-aminocyclopropanecarboxylic acid. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993, 265, 1380 – 1386
126. O'Donnell KC, Gould TD. The behavioral actions of lithium in rodent models: leads to develop novel therapeutics. *Neurosci Biobehav Rev.* 2007, 31, 932 – 962
127. O'Flaherty E.: A physiologically based model of chromium kinetics in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1996, 138, 54 – 64
128. O'Flaherty E, Kerger B, Hays S, Paustenbach D.: A physiologically based model for the ingestion of chromium(III) and chromium(VI) by humans. *Toxicol Sci.* 2001, 60, 196 – 213
129. Papakostas G.: Augmentation strategies in the treatment of major depressive disorder. Examining the evidence on augmentation with atypical antipsychotics. *CNS Spectr.* 2007, 12, 10 – 12
130. Parks C, Robinson P, Sibille E, Shenk T, Toth M.: Increased anxiety of mice lacking the serotonin 1A receptor. *Proc. Nat. Acad. Sc. USA* 1998, 95, 10734 – 10739
131. Partyka A, Jastrzębska-Więsek M, Szewczyk B, Stachowicz K, Sławińska A, Poleszak E, Doboszewska U, Pilc A, Nowak G. Anxiolytic-like activity of zinc in rodent tests *Pharmacol Rep.* 2011, 63, 1050 – 1055
132. Pellow S, File S.: Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 1986, 24, 525 – 529
133. Pérez V, Soler J, Puigdemont D, Alvarez E, Artigas F.: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of pindolol augmentation in depressive patients resistant to serotonin reuptake inhibitors. *Arch Gen Psychiatry.* 1999, 56, 375 – 379
134. Pietruczuk K, Witkowski J.: Mechanizmy działania soli litu *Psychiatria Via Medica.* 2008, 5, 51 – 57

135. Pilc A, Chaki S, Nowak G, Witkin JM. Mood disorders: regulation by metabotropic glutamate receptors. *Biochem Pharmacol.* 2008, 75, 997 – 1006
136. Plum L, Schubert M, Brüning J.: The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends Endocrinol Metab.* 2005, 16, 59 – 65
137. Poleszak E.: Modulation of antidepressant-like activity of magnesium by serotonergic system. *J Neural Transm.* 2007, 114, 1129 – 1134
138. Poleszak E, Szewczyk B, Kędzierska E, Wlaź P, Pilc A, Nowak G: Antidepressant- and anxiolytic-like activity of magnesium in mice. *Pharmacol Biochem Behav,* 2004, 78, 7 – 12
139. Poleszak E, Wlaź P, Kedzierska E, Nieoczym D, Wróbel A, Fidecka S, Pilc A, Nowak G.: NMDA/glutamate mechanism of antidepressant-like action of magnesium in forced swim test in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2007, 88, 158 – 164
140. Poleszak E, Wlaź P, Kedzierska E, Nieoczym D, Wyska E, Szymura-Oleksiak J, Fidecka S, Radziwoń-Zaleska M, Nowak G. Immobility stress induces depression-like behavior in the forced swim test in mice: effect of magnesium and imipramine. *Pharmacol Rep.* 2006, 58, 746 – 52
141. Poleszak E, Wlaź P, Kedzierska E, Radziwon-Zaleska M, Pilc A, Fidecka S, Nowak G. Effects of acute and chronic treatment with magnesium in the forced swim test in rats. *Pharmacol Rep.* 2005, 57, 654 – 658
142. Poleszak E, Wlaź P, Szewczyk B, Kedzierska E, Wyska E, Librowski T, Szymura-Oleksiak J, Fidecka S, Pilc A, Nowak G.: Enhancement of antidepressant-like activity by joint administration of imipramine and magnesium in the forced swim test: Behavioral and pharmacokinetic studies in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2005, 81, 524 – 529
143. Porsolt R, Anton G, Blavet N, Jalfre M.: Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol.* 1978, 47, 379 – 391
144. Porsolt R, Bertin A, Jalfre M.: Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1977, 229, 327 – 336
145. Preuss H, Grojec P, Lieberman S, Anderson R.: Effects of different chromium compounds on blood pressure and lipid peroxidation in spontaneously hypertensive rats. *Clin Nephrol.* 1997, 47, 325 – 330
146. Preuss H, Memon S, Dadgar A, Gongwei J.: Effects of high sugar diets on renal fluid, electrolyte and mineral handling in rats: relationship to blood pressure. *J Am Coll Nutr.* 1994, 13, 73 – 82

147. Pużyński S.: Depresja lekooporna. *Terapia*, 2005, 11, 27 – 33
148. Pużyński S.: Choroby afektywne nawracające. W: Bilikiewicz A, Pużyński S, Robakowski J, Wciórka J (red.). *Psychiatria*, Tom 2, *Psychiatria Kliniczna*. Wrocław: Urban & Partner, 2002, 343 – 415
149. Qiao W, Peng Z, Wang Z, Wei J, Zhou A.: Chromium improves glucose uptake and metabolism through upregulating the mRNA levels of IR, GLUT4, GS, and UCP3 in skeletal muscle cells. *Biol Trace Elem Res*. 2009, 131, 133 – 142
150. Rabinovitz H, Friedensohn A, Leibovitz A, Gabay G, Rocas C, Habet B.: Effect of chromium supplementation on blood glucose and lipid levels in type 2 diabetes mellitus elderly patients. *Int J Vitam Nutr Res*. 2004, 74, 178 -182
151. Ravina A, Slezak L, Mirsky N, Anderson R.: Control of steroid-induced diabetes with supplemental Chromium *J Trace Elem Exptl Med*, 1999, 12, 375 – 378
152. Ravina A, Slezak L, Rubal A, Mirsky N.: Clinical use of the trace element chromium III in the treatment of diabetes mellitus. *J Trace Elem Exptl Med*, 1995, 8, 183 – 190
153. Rink C, Roy S, Khanna S, Rink T, Bagchi D, Sen C.: Transcriptome of the subcutaneous adipose tissue in response to oral supplementation of type 2 Lepr^{db} obese diabetic mice with niacin-bound chromium. *Physiol Genomics*. 2006, 27, 370 – 379
154. Rogóż Z, Kabziński M.: Enhancement of the anti-immobility action of antidepressants by risperidone in the forced swimming test in mice. *Pharmacol Rep*. 2011, 63, 1533 – 1538
155. Rogóż Z, Kolasiewicz W.: Effect of repeated treatment with reboxetine on the central alpha1-adrenergic system. *Pol J Pharmacol*. 2001, 53, 663 – 667
156. Rogóż Z, Wróbel A, Dlaboga D, Dziedzicka-Wasylewska M.: Effect of repeated treatment with mirtazapine on the central dopaminergic D2/D3 receptors. *Pol J Pharmacol*. 2002, 54, 381 – 389
157. Sargent T 3rd, Lim TH, Jenson R.: Reduced chromium retention in patients with hemochromatosis, a possible basis of hemochromatotic diabetes. *Metabolism*. 1979, 28, 70 – 79
158. Schetz J, Sibley D.: Zinc allosterically modulates antagonist binding to cloned D1 and D2 dopamine receptors. *J Neurochem*. 1997, 68, 1990 – 1997

159. Schildkraut J.: The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry*. 1965, 122, 509 – 522
160. Schroeder H, Balassa J, Vinton W.: Chromium, cadmium and lead in rats: effects on lifespan, tumours and tissue levels. *J Nutr*. 1965. 86, 51 – 66
161. Schwarz K, Mertz W.: Chromium(III) and the glucose tolerance factor. *Arch Biochem Biophys*. 1959, 85, 292 – 295
162. Sipowicz M, Anderson L, Utermahlen W Jr, Issaq H, Kasprzak K.: Uptake and tissue distribution of chromium(III) in mice after a single intraperitoneal or subcutaneous administration. *Toxicol Lett*. 1997, 93, 9 – 14
163. Siwek M, Dudek D, Paul IA, Sowa-Kućma M, Zieba A, Popik P, Pilc A, Nowak G.: Zinc supplementation augments efficacy of imipramine in treatment resistant patients: a double blind, placebo-controlled study. *J Affect Disord*. 2009, 118, 187 – 195
164. Skolnick P, Lauer R, Popik P, Nowak G, Paul I, Trullas R.: Adaptation of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors following antidepressant treatment: implications for the pharmacotherapy of depression. *Pharmacopsychiatry*. 1996, 29, 23 – 26
165. Smith D. Biogenic amines and the effect of short term lithium administration on open field activity in rats. *Psychopharmacologia*. 1975, 41, 295 – 300
166. Stahl S.: 5-HT_{1A} receptors and pharmacotherapy. Is serotonin receptor down-regulation linked to the mechanism of action of antidepressant drugs. *Psychopharmacol. Bull*. 1994, 30, 39 – 43
167. Stefansson J, Lindal E, Bjornsson J, Guomundsdottir A.: Lifetime prevalence of specific mental disorders among people born in Iceland in 1931. *Acta Psychiatr. Scand*. 1991, 84, 142 – 149
168. Stein D, Hollander E.: Współchorobowość depresji i zaburzeń lękowych. *Via Medica*, Gdańsk 2004
169. Stewart J, McGrath P, Rabkin J, Quitkin F.: Atypical depression. A valid clinical entity? *Psychiatr Clin North Am*. 1993, 16, 479 – 495
170. Stone E, Grunewald G, Lin Y, Ahsan R, Rosengarten H, Kramer H, Quartermain D.: Role of epinephrine stimulation of CNS alpha₁-adrenoceptors in motor activity in mice. *Synapse*. 2003, 49, 67 – 76

171. Sugden K, Stearns D.: The role of chromium(V) in the mechanism of chromate-induced oxidative DNA damage and cancer. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 2000, 19, 215 - 230
172. Sun Y, Clodfelder B, Shute A, Irvin T, Vincent J.: The biomimetic $[\text{Cr}(3)\text{O}(\text{O}(2)\text{CCH}(2)\text{CH}(3))_6(\text{H}(2)\text{O})(3)]^{+}$ decreases plasma insulin, cholesterol, and triglycerides in healthy and type II diabetic rats but not type I diabetic rats. *J Biol Inorg Chem.* 2002, 7, 852 – 862
173. Suwalska A., Rybakowski J. Biologiczne mechanizmy lekooporności depresji. *Psychiatr. Pol.* 1996, 30, 713 - 730
174. Szewczyk B, Poleszak E, Sowa-Kućma M, Siwek M, Dudek D, Ryszewska-Pokraśniewicz B, Radziwoń-Zaleska M, Opoka W, Czekał J, Pilc A, Nowak G.: Antidepressant activity of zinc and magnesium in view of the current hypotheses of antidepressant action. *Pharmacol Rep.* 2008, 60, 588 – 589
175. Szewczyk B, Poleszak E, Sowa-Kućma M, Wróbel A, Słotwiński S, Listos J, Właż P, Cichy A, Siwek A, Dybała M, Gołombiowska K, Pilc A, Nowak G.: The involvement of NMDA and AMPA receptors in the mechanism of antidepressant-like action of zinc in the forced swim test. *Amino Acids.* 2010, 39, 205 – 217
176. Szewczyk B, Poleszak E, Właż P, Wróbel A, Blicharska E, Cichy A, Dybała M, Siwek A, Pomierny-Chamioło L, Piotrowska A, Brański P, Pilc A, Nowak G.: The involvement of serotonergic system in the antidepressant effect of zinc in the forced swim test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009, 33, 323 – 329
177. Talpur N, Echard B, Yasmin T, Bagchi D, Preuss H.: Effects of niacin-bound chromium, Maitake mushroom fraction SX and (-)-hydroxycitric acid on the metabolic syndrome in aged diabetic Zucker fatty rats *Mol Cell Biochem.* 2003, 252, 369 – 377
178. Thase M.: Augmentation strategies for depression: history and concepts. *CNS Spectr.* 2007, 12, 3 – 5
179. Thase M.: Treatment of refractory bipolar depression. *Curr Psychiatry Rep.* 2007, 9, 495 – 496
180. Tomaszewicz H, Mague S, Cohen B, Carlezon W Jr.: Behavioral effects of short-term administration of lithium and valproic acid in rats. *Brain Res.* 2006, 1093, 83 – 94
181. van der Heide L, Ramakers G, Smidt M.: Insulin signaling in the central nervous system: learning to survive. *Prog Neurobiol.* 2006, 79, 205 – 221

182. Van Tilburg M, McCaskill C, Lane J, Edwards C, Bethel A, Feinglos M, Surwit R.: Depressed mood is a factor in glycemic control in type 1 diabetes. *Psychosom Med.* 2001, 63, 551 – 555
183. Vetulani J, Antkiewicz-Michaluk L, Rokosz-Pelc A, Pilc A.: Alpha up-beta down adrenergic regulation: a possible mechanism of action of antidepressant treatments. *Pol J Pharmacol Pharm.* 1984, 36, 231 – 248
184. Vetulani J, Nalepa I.: Antidepressants: past, present and future. *Eur J Pharmacol.* 2000, 405, 351 – 363
185. Vetulani J, Sulser F.: Action of various antidepressant treatments reduces reactivity of noradrenergic cyclic AMP-generating system in limbic forebrain. *Nature* 1975, 257, 495 – 496
186. Vincent J.: Chromium: celebrating 50 years as an essential element? *Dalton Trans.* 2010, 39, 3787 – 3794
187. Vincent J.: The potential value and toxicity of chromium picolinate as a nutritional supplement, weight loss agent and muscle development agent. *Sports Med.* 2003, 33, 213 -230
188. Vincent J.: Quest for the molecular mechanism of chromium action and its relationship to diabetes. *Nutr Rev.* 2000, 58, 67 – 72
189. Vincent J.: Elucidating a biological role for chromium at a molecular level. *Acc Chem Res* 2000, 33, 503 – 510
190. Vincent J.: The biochemistry of chromium. *J Nutr.* 2000, 130, 715 – 718
191. Waintraub L, Guelfi J.: Nosological validity of dysthymia. Cz.I: Historical. Epidemiological and clinical data. Cz. II: Familial, comorbidity, biological and psychological data. *Eur Psychiatry.* 1998, 13, 173 – 187
192. Wallum B, Taborsky G Jr, Porte D Jr, Figlewicz D, Jacobson L, Beard J, Ward W, Dorsa D.: Cerebrospinal fluid insulin levels increase during intravenous insulin infusions in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987, 64, 190 – 194
193. Wang H, Kruszewski A, Brautigam D.: Cellular chromium enhances activation of insulin receptor kinase, *Biochemistry* 2005, 44, 8167 – 8175
194. Wang Y, Yao M.: Effects of chromium picolinate on glucose uptake in insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes involve activation of p38 MAPK. *J Nutr Biochem.* 2009, 20, 982 – 991

195. Watson G, Cholerton B, Reger M, Baker L, Plymate S, Asthana S, Fishel M, Kulstad J, Green P, Cook D, Kahn S, Keeling M, Craft S.: Preserved cognition in patients with early Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment during treatment with rosiglitazone: a preliminary study. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2005, 13, 950 – 958
196. Watson G, Craft S.: The role of insulin resistance in the pathogenesis of Alzheimer's disease: implications for treatment. *CNS Drugs*. 2003, 17, 27 – 45
197. Willner P.: The mesolimbic dopamine system as a target for rapid antidepressant action. *Int Clin Psychopharmacol*. 1997, 12, 7 – 14
198. Wise S, Wise J Sr.: Chromium and genomic stability. *Mutat Res*. 2012, 733, 78 - 82
199. Woźniak K.: Molecular effects of chromium compound activity. *Postepy Hig Med Dosw*. 1996, 50, 383 -394
200. Yamada J, Sugimoto Y, Yamada S.: Involvement of dopamine receptors in the anti-immobility effects of dopamine re-uptake inhibitors in the forced swimming test. *Eur J Pharmacol*. 2004, 19, 207 – 211
201. Yerevanian B, Koek R, Mintz J, Akiskal H.: Bipolar pharmacotherapy and suicidal behavior part 2. The impact of antidepressants. *J Affect. Dis*. 2007, 103, 13 – 21

Źródła internetowe

- a: http://www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en/
- b: www.depresja-poporodowa.pl
- c: www.forumprzeciwdepresji.pl
- d: <http://ces.iisc.ernet.in/energy/HC270799/HDL/ENV/enven/vol327.htm>
- e: <http://www.sciencelab.com/page/S/PVAR/SLP5305>
- f: <http://www.sciencelab.com/page/S/PVAR/SLC5287>
- g: <http://www.sciencelab.com/page/S/PVAR/SLC4285>
- h: <http://bioinfo.mol.uj.edu.pl/articles/Chmielarz06>
- i: http://www.portalwiedzy.pan.pl/index.php?option=com_content&view=article&id=94:co-wiemy-o-..

Spis tabel i rysunków

Spis tabel

<i>Tabela 1 Podział zaburzeń nastroju według klasyfikacji ICD-10</i>	7
<i>Tabela 2 Podział leków przeciwdepresyjnych (za Maj, 2000)</i>	9
<i>Tabela 3 Depresja atypowa – kryteria Uniwersytetu Columbia (za Stewart i wsp., 1993)</i>	10
<i>Tabela 4 Melancholia VS depresja atypowa: wskaźniki biologiczne: odniesione do normy (za Landowski i Rudnik, 2005)</i>	11
<i>Tabela 5 Depresja atypowa-schemat terapii (za Landowski i Rudnik, 2005)</i>	12
<i>Tabela 6 Częstość występowania dystymii w różnych grupach wiekowych (Nobile i wsp., 2003, Waintraub i Guelfi, 1998)</i>	13
<i>Tabela 7 Wybór najczęściej stosowanych leków i zakresy dawek dobowych w farmakoterapii dystymii (za Nitka-Siemńska i wsp., 2005)</i>	15
<i>Tabela 8 Wybrane właściwości fizykochemiczne chromu</i>	21
<i>Tabela 9 Zalecane wartości AI dla chromu III dla różnych grup wiekowych (Berner i wsp., 2004)</i>	22
<i>Tabela 10 Stopień absorpcji chromu w zależności od rodzaju środka kompleksującego metal w modelach zwierzęcych oraz u ludzi (za Lamson i Plaza, 2002)</i>	24
<i>Tabela 11 Badania na temat punktu działania chromu III w kaskadzie aktywacji receptora insulinowego</i>	30
<i>Tabela 12 Funkcja insuliny i receptorów insulinowych w centralnym systemie nerwowym (za Krikorian i wsp., 2010, Plum i wsp., 2005, van der Heide i wsp., 2006)</i>	30
<i>Tabela 13 Wpływ soli chromu III na poziom poszczególnych frakcji lipidowych osocza: badania w modelu zwierzęcym</i>	32
<i>Tabela 14 Wartości LD (dawek śmiertelnych) oraz LD₅₀ dla wybranych związków chromu</i>	37
<i>Tabela 15 Patenty Prof. McLeod'a związane z zastosowaniem chromu w leczeniu zaburzeń nastroju</i>	40
<i>Tabela 16 Związki stosowane w testach behawioralnych</i>	46
<i>Tabela 17 Procent wypierania znakowanego liganda z jego specyficznego kompleksu ligand-receptor</i>	72
<i>Tabela 18 Rola receptorów glutaminianergicznych NMDA w mechanizmach przeciwdepresyjnego działania jonów metali</i>	79
<i>Tabela 19 Rola receptorów glutaminainergicznych AMPA w mechanizmach przeciwdepresyjnego działania jonów metali</i>	81
<i>Tabela 20 Rola receptorów serotoninerznych w mechanizmach przeciwdepresyjnego działania jonów metali</i>	83
<i>Tabela 21 Najczęściej występujące typy zmian adaptacyjnych w wybranych układach neuroprzekaźnikowych (i)</i>	86
<i>Tabela 22 Zmiany w układach receptorowych obserwowano podczas długotrwałego stosowania leku/terapii (za Kostowski, 2001)</i>	87
<i>Tabela 23 Rola receptorów adrenergicznych w mechanizmach przeciwdepresyjnego działania jonów metali</i>	88
<i>Tabela 24 Rola neuroprzekaźników monoaminergicznych w regulacji nastroju i zachowania – na podstawie: Dudek i Siwek (2008)</i>	90

Spis rysunków

- Rysunek 1 Molekularne mechanizmy psychofarmakologicznej aktywności cynku. (+) - pobudzanie szlaku, (-) - hamowanie szlaku, LPD – leki przeciwdepresyjne, NA/5-HT – układ adrenergiczny i serotoninergeryczny, CREB - białko wiążące się z elementem odpowiedzi na cAMP, BDNF - neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego, GKS-3 – kinaza syntazy glikogenu-3, NMDA i AMPA – jonotropowe receptory glutaminianergiczne, I mGluR – I klasa metabotropowych receptorów glutaminianergicznych, II mGluR – II klasa metabotropowych receptorów glutaminianergicznych (za Szewczyk i wsp., 2008). _____ 19
- Rysunek 2 Molekularne mechanizmy psychofarmakologicznej aktywności magnezu. (+) - pobudzanie szlaku, (-) - hamowanie szlaku, LPD – leki przeciwdepresyjne, NA/5-HT – układ adrenergiczny i serotoninergeryczny, CREB - białko wiążące się z elementem odpowiedzi na cAMP, BDNF - neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego, GKS-3 – kinaza syntazy glikogenu-3, NMDA – jonotropowe receptory glutaminianergiczne (za Szewczyk i wsp., 2008). _____ 20
- Rysunek 3 Mechanizm współdziałania chromu i insuliny w procesie utylizacji glukozy. In - insulina, Glu - glukoza, Cr - chrom, ApoLC - apochromodulina (Apo-low molecular weight chromium binding substance). (za Vincent, 2000 a) _____ 28
- Rysunek 4 Możliwe punkty uchwytu chromu w ścieżce amplifikacji działania insuliny (zaznaczono czerwonymi strzałkami). Transdukcja sygnału przez receptor insulinowy (IR). Po połączeniu hormonu z ekstracelularną domeną a receptor zmienia swoją konformację aktywując kinazę tyrozynową wchodzącą w skład podjednostki β . Enzym katalizuje autofosforylację receptora oraz jednoczasową fosforylację IRS. Miejsca fosforylacji zlokalizowane są na domenach łączących się z domenami takimi jak białko p-85, i Grb2. Połączenie tych białek z IRS prowadzi do ich aktywacji inicjując jednocześnie ścieżki sygnałowe takie jak kaskada Ras-Raf-MAPK czy ścieżka kinaz serynowych/treoninowych PIP3. Impulsy płynące poprzez te ścieżki sygnalizacyjne prowadzą do powstawania różnorodnych efektów biologicznych: inhibicja apoptozy, fosforylacja białka tau, regulacja wydzielania APP czy też zmiana transkrypcji genów. (za Plum i wsp., 2005 oraz Vincent, 2010). _____ 29
- Rysunek 5 Reakcja Fentona – reakcja nadtlenu wodoru z jonem metalu(II), będąca metodą wytwarzania rodnika hydroksylowego opisana przez brytyjskiego chemika H.J.H. Fentona w 1876 r. W układach biologicznych reakcję tę mogą katalizować jony żelaza, miedzi, kobaltu, niklu, manganu, chromu: szczególnie w formie skompleksowanej z chelatorami. _____ 35
- Rysunek 6 Wpływ 1-krotnego podania $CrCl_3$ (Cr) lub imipraminy (IMI) na czas trwania bezruchu w teście Porsolta u myszy. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=10). # $p < 0,01$ * $p < 0,05$ vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnet. _____ 51
- Rysunek 7 Wpływ 1-krotnego podania $CrCl_3$ na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w 2, 6 i 30 minucie testu. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=9-10). * $p < 0,05$, # $p < 0,01$ vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnet. _____ 52
- Rysunek 8 Wpływ 1-krotnego podania $CrCl_3$ na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w czasie wykonywania testu Porsolta (6 minuta – 2 minuta). Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=9-10). _____ 52
- Rysunek 9 Wpływ modulacji aktywności receptorów glutaminianergicznych na zmianę czasu bezruchu wywołanego podaniem chromu w teście Porsolta u myszy. Wynik podano jako średnia \pm SEM (n=8-15). **

<i>p</i> <0,001 # <i>p</i> <0,01 vs. grupa kontrolna (NaCl), * <i>p</i> <0,05 vs. grupa chromowa (Cr) Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test. _____	53
Rysunek 10 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów glutaminianergicznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w 2, 6 i 30 minucie testu. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=6). # <i>p</i> <0,01 vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnet. _____	54
Rysunek 11 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów glutaminianergicznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w czasie trwania testu Porsolta (6 minuta – 2 minuta). Wynik podano jako średnia ±SEM (n=6). * <i>p</i> <0,05 vs. grupa kontrolna (NaCl) Test post hoc: Dunnet. _____	55
Rysunek 12 Wpływ modulacji aktywności receptorów serotoninergericznych na zmianę czasu bezruchu wywołanego podaniem chromu w teście Porsolta u myszy. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=8-12). ** <i>p</i> <0,001 vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test. _____	56
Rysunek 13 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów serotoninergericznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w 2, 6 i 30 minucie testu. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=6-7). _____	56
Rysunek 14 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów serotoninergericznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w czasie trwania testu Porsolta (6 minuta – 2 minuta). Wynik podano jako średnia ±SEM (n=6-7). _____	57
Rysunek 15 Wpływ modulacji aktywności receptorów noradrenergicznych na zmianę czasu bezruchu wywołanego podaniem chromu w teście Porsolta u myszy. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=8-10). # <i>p</i> <0,01 vs. grupa kontrolna (NaCl), # <i>p</i> <0,01 vs. grupa chromowa (Cr) . Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test. _____	57
Rysunek 16 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów adrenergicznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w 2, 6 i 30 minucie testu. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=6). _____	59
Rysunek 17 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów noradrenergicznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w czasie trwania testu Porsolta (6 minuta – 2 minuta). Wynik podano jako średnia ±SEM (n=6). _____	59
Rysunek 18 Wpływ modulacji aktywności receptorów dopaminergicznych na zmianę czasu bezruchu wywołanego podaniem chromu w teście Porsolta u myszy. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=10-12). ** <i>p</i> <0,001 vs. grupa kontrolna (NaCl), # <i>p</i> <0,01 vs. grupa chromowa (Cr) . Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test. _____	60
Rysunek 19 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów dopaminergicznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w 2, 6 i 30 minucie testu. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=6). # <i>p</i> <0,01 vs. grupa kontrolna. Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test. _____	61
Rysunek 20 Wpływ łącznego podania ligandów receptorów dopaminergicznych i chromu na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy w czasie trwania testu Porsolta (6 minuta – 2 minuta). Wynik podano jako średnia ±SEM (n=6). _____	61
Rysunek 21 Wpływ łącznego podania subaktywnej dawki chromu (Cr 6.0mg/kg) oraz subaktywnych dawek leków przeciwdepresyjnych (Fx-fluoksetyna, Reb-reboksetyna,) na czas bezruchu u myszy w teście wymuszonego pływania. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=6-12). ** <i>p</i> <0,001 vs. grupa kontrolna (NaCl), # <i>p</i> <0,01 vs. grupa chromowa (Cr 6.0), Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test. _____	62

<i>Rysunek 22 Wpływ łącznego podania subaktywnej dawki chromu (Cr 6.0mg/kg) oraz subaktywnej dawki leku przeciwdepresyjnego: bupropionu (Bup 1mg/kg) na czas bezruchu u myszy w teście wymuszonego pływania. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=6-10).</i>	63
<i>Rysunek 23 Wpływ łącznego podania subaktywnej dawki chromu (Cr 6.0mg/kg) oraz subaktywnej dawki leku przeciwdepresyjnego: IMI-imipraminy na czas bezruchu u myszy w teście wymuszonego pływania. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=9-12).</i>	63
<i>Rysunek 24 Wpływ łącznego podania chromu i LPD (Fx-fluoksetyna, Bup-bupropion, Reb-reboksetyna, IMI-imipramina) na spontaniczną aktywność lokomotoryczną myszy. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=6). *p<0,05 vs. grupa kontrolna (NaCl), Test post hoc: Bonferroni's Multiple Comparison Test.</i>	65
<i>Rysunek 25 Wpływ podania chromu (Cr) lub imipraminy (IMI) na czas bezruchu w teście Porsolta u szczurów. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=8-10). # p<0,01 vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnet.</i>	66
<i>Rysunek 26 Wpływ podania chromu (Cr) lub imipraminy (IMI) na czas pływania w teście Porsolta u szczurów. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=8-10).</i>	66
<i>Rysunek 27 Wpływ podania chromu (Cr) lub imipraminy (IMI) na czas wspinania w teście Porsolta u szczurów. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=8-10). # p<0,01 * p<0,05 vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnet.</i>	66
<i>Rysunek 28 Wpływ jednorazowego podania chromu w trzech dawkach (Cr 6, Cr 12 oraz Cr 32) na aktywność eksploracyjną szczurów wyrażoną jako całkowity czas spędzony w ramionach otwartych i zamkniętych, suma wejść do obu rodzajów ramion, całkowity dystans oraz ilość ambulacji w ramionach X i Y (otwartych i zamkniętych) uniesionego labiryntu krzyżowego. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=6-8).</i>	67
<i>Rysunek 29 Wpływ jednorazowego podania chromu w trzech dawkach (Cr 6, Cr 12 oraz Cr 32) na wybrane parametry zachowań szczurów w teście uniesionego labiryntu krzyżowego wyrażone jako % kontroli. Wynik obliczano jako średnia dla grup o liczebnościach (n=6-8). * p<0,05 VS grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnet.</i>	69
<i>Rysunek 30 Gęstość receptorów beta-adrenergicznych w korach frontalnych szczurów po wielokrotnym podaniu chromu (Cr) imipraminy (IMI) wyrażona jako ilość fentomoli na miligram białka. Wynik podano jako średnia ±SEM (n=5). # p<0,05 vs. grupa kontrolna (NaCl). Test post hoc: Dunnet.</i>	70
<i>Rysunek 31 Przykładowy wynik analizy saturacyjnej.</i>	70
<i>Rysunek 32 Gęstość receptorów alfa-adrenergicznych w korach szczurów po wielokrotnym podaniu chromu (Cr) wyrażona jako procent gęstości tych receptorów w korach zwierząt kontrolnych (NaCl). Wynik podano jako średnia ±SEM (n=5).</i>	71
<i>Rysunek 33 Przykładowy wynik analizy saturacyjnej.</i>	71

Wykaz stosowanych skrótów

ADHD - *Attention Deficit Hyperactivity Disorder*, czyli Zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi, określane także jako zaburzenia hiperkinetyczne

AMPA - jonotropowy receptor glutaminianergiczny (nazwa od specyficznego agonisty: kwasu 2-amino-3-(5-metyl-3-okso-1,2- oksazol-4-yl)-propanowego)

AI - *Adequate Intake*) (National Academ of Sciences USA) wystarczające spożycie: norma żywieniowa uznawana na podstawie eksperymentalnych badań lub obserwacji przeciętnego spożycia żywności przez osoby zdrowe i prawidłowo odżywione

APA - *American Psychiatric Association*, Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne

APP - *Amyloid Precursor Protein*, białko związane z błoną komórkową o największym zagęszczeniu w synapsach neuronalnych o jak na razie nieznaną funkcję, łączone z neuroplastycznością. Jest prekursorem A β (beta amyloidu), którego forma fibrylarna stanowi podstawowy budulec płytek amyloidowych u pacjentów cierpiących na chorobę Alzheimera

Akt - Kinaza serynowo-treoninowa kodowana przez gen AKT1, może być szybko i specyficznie aktywowana między innymi przez płytkowy czynnik wzrostu. Aktywacja zachodzi poprzez kinazę 3 fosfatydyloinozytolu. Czynniki przeżywalne poprzez jej aktywację mogą hamować apoptozę, kinaza AKT dokonuje następnie fosforylacji i dezaktywacji czynników proapoptotycznych. Punktowa mutacja genu AKT wywołuje syndrom Proteusza (inaczej zespół Wiedemanna).

BBB - *Blood-Brain Barrier*, bariera krew-mózg

Bax - proteina X powiązana z Bcl-2, białko promujące apoptozę poprzez współzawodniczenie z właściwym białkiem Bcl-2. Gen BAX to pierwszy zidentyfikowany gen dla proapoptotycznej rodziny białek Bcl-2

Bcl-2 – białko antyapoptotyczne

BDNF - *Brain Derived Neurotrophic Factor*, neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego

Bup – bupropion

cAMP - 3',5'-cykliczny adenozymonofosforan

CHO - *Chinese Hamster Ovary cells*, linia komórkowa

CREB - *cAMP response element-binding*, białko wiążące się z elementem odpowiedzi na cAMP

CSN – Centralny System Nerwowy

DA – dopamina

DAG - 1,2-diacyloglicerol

DNA - *DeoxyriboNucleic Acid*, kwas deoksyrybonukleinowy

DSM-IV - *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, klasyfikacja zaburzeń psychicznych Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego wydanie czwarte

EPSC - *Excitatory Post Synaptic Current*, napływu jonów po wzbudzeniu

ESADDI - *Estimated Safe and Adequate Daily Dietary Intake*, największa dawka dla której nie obserwowano skutków ubocznych, norma żywieniowa

FDA - *Food and Drug Administration*, Agencja do spraw żywności i leków

Flu – fluoksetyna

FOXO-1 - *forkhead box protein O1A*, czynnik transkrypcyjny

FST - *Forced Swim Test*, test Porsolta, test wymuszonego pływania

GABA – kwas gamma-aminomasłowy, kwas γ -aminomasłowy

GABA-B – metabotropowy receptor kwasu γ -aminomasłowego

GAP-43 - *Growth Associated Protein 43*, neuromodulina, cytoplazmatyczne białko tkanki nerwowej, bierze udział w formowaniu, regeneracji i plastyczności aksonów

GLUT4 - *GLUcose Transporters*, transporter glukozy typ czwarty

GKS-3 – kinaza syntazy glikogenu-3,

Grb2 - *Growth factor receptor binding protein 2*

GTF - *Glucose Tolerance Factor*, czynnik tolerancji glukozy

HAM-D-29 - *HAMilton Depression Rating Scale*, rozszerzona, 29-punktowa skala oceny depresji wg. Hamiltona

H295R – linia komórkowa ludzkich komórkach adrenokortykalnych

HDL - *High Density Lipoprotein*, lipoproteina o wysokiej gęstości

HPA - *Hypothalamic-pituitary-adrenal axis*, oś podwzgórze- przysadka-kora nadnerczy

5-HT – serotonina

5-HT-T – transporter serotoniny

5-HTP – 5-hydroksytryptofan, prekursor serotoniny

IARC - *International Agency for Research on Cancer*, Międzynarodowa Agencja Badania Raka

ICD-10 - *International Statistical Classification of Disease and Related Problems*, Międzynarodowa Klasyfikacja Chorób i Problemów Zdrowotnych opracowana przez WHO

IMAO – Inhibitory MonoAminoOksydazy

IMAO-A - Inhibitory MonoAminoOksydazy izoformy A

IMAO-B - Inhibitory MonoAminoOksydazy izoformy B

IMI – imipramina

IND - *Investigational New Drug*, status substancji: nadanie nowego wskazania dla zastosowania w lecznictwie

IR - *Insulin Receptor*, receptor insulinowy

IRS - *Intracellular Insulin Receptor Substrate*, wewnątrzkomórkowy substrat receptora insulinowego

Jak - *janus kinase or "Just another kinase"*, grupa wewnątrzkomórkowych kinaz nazwane imieniem rzymskiego boga Janusa o dwóch twarzach ze względu na obecność dwóch niemal identycznych domen (jedna działa jako kinaza, druga hamuje działanie pierwszej)

JCR:LA - szczury Jamesa C Russella, otyłe ze względu na brak receptora dla leptyny

KT – Kwasy Tłuszczowe

LMWCr - *Low Molecular Weight Chromium binding substance*, niskocząsteczkowa substancja wiążąca chrom

LD - *Lethal Dose*, dawka śmiertelna oznacza dawkę substancji, jaka powoduje śmierć określonego gatunku zwierząt po jej wchłonięciu

LD₅₀ - *Lethal Dose 50%*, termin w toksykologii określający dawkę substancji toksycznej, obliczany w miligramach na kilogram masy ciała, potrzebnej do uśmiercenia 50% badanej populacji

LDL - *Low Density Lipoprotein*, lipo proteina o niskiej gęstości

LPD – Leki PrzeciwDepresyjne

LPPN - Oś Limbiczno-Podwzgórzowo-Przysadkowo-Nadnerczowej

MAPK - *Miogen Activated Protein Kinase*, kinazy aktywowane mitogenem

MARCKS – enzym kodowany przez gen MARCKS, który odpowiada między innymi za kształt komórki, transport trans-membranowi oraz cykl komórkowy

mGluR I – I klasa metabotropowych receptorów glutaminianergicznych

mGluR II – II klasa metabotropowych receptorów glutaminianergicznych

mRNA – matrycowy kwas rybonukleinowy

MRI - *Magnetic Resonance Imaging*, obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego

mSOS - *son of sevenless*, określenie to odnosi się do grupy genów kodujących **GEF** (*guanine nucleotide exchange factors*), które mogą działać jako podrodzina Ras

NA – noradrenalina

NBQX - (2,3-dihydroksy-6-nitro-7-sulfoamoi-benzo[f]benzopirazyny-2,3-dion),

NMDA - N-metylo-D-asparaginian, jest agonistą neuronalnego receptora NMDA

NO – tlenek II azotu II

ObRb - *leptin receptor*, receptor leptyny

p85 - jednostka regulatorowa kinazy PI3K

P110 - *catalytic subunit of PI3K*, podjednostka katalityczna PI3K

PDK - *Protein Dependent Kinase*

PEI – polietylenoimina

PI3K - *Phosphatidyl Inositol 3-Kinase*, kinaza fosfatydylo 3-inozytolu

PIP2 - *phosphatidylinositol diphosphate*, bisfosforan fosfatydyloinozytolu

PIP3 - *phosphatidylinositol triphosphate*, trifosforan fosfatydyloinozytolu

PLN – PoLski Nowy złoty, symbol walutowy złotego, zapisany w standardzie ISO 4217

PKC - *Protein Kinase C*, kinaza białkowa C

PMS - *PreMenstrual Syndrome*, zespołu napięcia przedmiesiączkowego

Praz – prazosyna

Prop – propranolol

PTEN - *Phosphatase and Tensin homolog Deleted on Chromosome ten*, ludzki gen o działaniu supresyjnym na guzy zlokalizowany na chromosomie 10

Raf - *proto-oncogene serine/threonine protein kinase*, grupa białek biorących udział w transdukcji sygnałów mitogennych z błony komórkowej do jądra.

Ras – rodzina białek należących do grupy małych GTP-az

REM - *Rapid Eye Movement*, faza snu, w której występują szybkie ruchy gałek ocznych, sen paradoksalny

SAD – *Seasonal Affective Disorder*, choroba afektywna sezonowa

SCH – SCH 23390, antagonist receptorów D₁

SSRE – *Selective Serotonin Reuptake Enhancers* – leki przeciwdepresyjne, które w odróżnieniu od SSRI i TLPD powodują nasilenie zwrotnego wchłaniania serotoniny przez neurony

SSRI – *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor*, selektywne inhibitory zwrotnego wychwytu serotoniny, grupa leków przeciwdepresyjnych.

SNRI – *Selective Norepinephrine Reuptake Inhibitor*, selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego noradrenaliny

Sulp – sulpiryd

STZ – streptozotocyna

Tau - grupa białek biorących udział w stabilizacji mikrotubuli obecne głównie w centralnym systemie nerwowym, ich dysfunkcja prowadzi do neurodegeneracji np. choroby Alzheimera

TC – *Total Cholesterol*, całkowity cholesterol

TLPD – Tójkycliczne Leki Przeciwdępredyjne

TPN – *Total Parenteral Nutrition*, jedna z form leczenia żywieniowego polegająca na dostarczaniu drogą dożylną wszystkich niezbędnych składników, wchłanianych w normalnych warunkach przez przewód pokarmowy

TST – *Tail Suspension Test*, test zawieszania za ogon, test skryningowy dla związków o działaniu przeciwdepresyjnym

3T3-L1 - linia komórkowa wyprowadzona z komórek 3T3, stosowana w badaniach naukowych tkanki tłuszczowej

Reb - reboksetyna

Rit – ritanseryna

WAY - WAY 100635, antagonist receptorów 5-HT_{1A}

WNT - Ścieżka sygnałowa zbudowana z sieci protein o dobrze udokumentowanej roli w embriogenezie, kancerogenezie, ale też w normalnych procesach fizjologicznych komórek osobników dorosłych

Yoh - johimbina

