

Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
Wydział Lekarski

Marcin Siwek

„Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej”

Praca doktorska

Promotor: prof. dr hab. med. Andrzej Zięba

Pracę wykonano w: Klinice Psychiatrii Dorosłych CM UJ
Kierownik jednostki: prof. dr hab. med. Andrzej Zięba

Kraków, 2005

Dziękuję:

Panu prof. dr hab. Andrzejowi Ziębie, Kierownikowi Kliniki Psychiatrii Dorosłych CMUJ, mojemu Promotorowi, za zachętę do pracy badawczej, pomoc i życzliwość;

Dr n. med. Dominice Dudek oraz lek. med. Wojciechowi Datce, za cenne uwagi w trakcie realizacji projektu i na etapie pisania niniejszej pracy;

Pacjentom Kliniki Psychiatrii Dorosłych CMUJ, za współpracę w badaniu;

Ewie, Rodzicom i Rodzeństwu, za wsparcie, cierpliwość i wyrozumiałość.

Spis treści

Wprowadzenie	6
Skuteczność standardowej farmakoterapii przeciwdepresyjnej i sposoby jej zwiększania	7
Konsekwencje niedostatecznej skuteczności leczenia przeciwdepresyjnego	7
Czynniki wpływające na skuteczność leczenia przeciwdepresyjnego	12
Strategie farmakoterapeutyczne mające na celu zwiększenie skuteczności leczenia przeciwdepresyjnego	14
Wybór leku przeciwdepresyjnego i jego dawkowanie. Krótkoterminowa skuteczność leczenia ..	14
Czas leczenia, długoterminowa skuteczność leczenia	18
Zamiana leku przeciwdepresyjnego	21
Łączenie leków przeciwdepresyjnych	22
Potencjalizacja farmakoterapii przeciwdepresyjnej przy pomocy preparatów nie będących lekami przeciwdepresyjnymi	24
Stabilizatory nastroju	25
Leki wpływające na przekąźnictwo serotonergiczne	28
Leki działające na układ dopaminergiczny	33
Hormony tarczycy	35
Inhibitory steroidogenezy i sterydy nadnerczowe	37
Hormony płciowe	39
Tryptofan	40
S-adenosyl-L-metionina	41
Galanina	41
ω -3- kwasy tłuszczowe	42
Laboratoryjne markery stanu depresyjnego oraz reakcji na leczenie	43
Test hamowania deksametazonem i inne markery hormonalne	43
Markery immunologiczne	45
Lipidy osoczone	46
Markery krwinkowe	47
Obwodowy BDNF (brain derived neurotropic factor) jako marker depresji	48
Cynk, magnez i miedź jako markery depresji	49
Układ glutaminianergiczny i jego udział w patofizjologii i terapii depresji	50
Budowa i fizjologia układu glutaminianergicznego	50
Budowa receptora NMDA	51
Aktywacja receptora NMDA i jego agoniści	55
Mechanizmy zabezpieczające receptor NMDA przed jego nadmierną aktywacją	56
Reakcje chemiczne modulujące aktywność receptora NMDA	60
Receptory AMPA i kainowe	61

Receptory metabotropowe	63
Udział układu glutaminianergicznego w patofizjologii i leczeniu depresji	64
Obwodowe i ośrodkowe markery zaburzenia funkcji układów aminokwasów pobudzających ...	65
Działanie leków przeciwdepresyjnych a układ glutaminianergiczny	67
Stres i neuroprotekcja a patologia i terapia depresji	70
Przeciwdepresyjne działanie substancji pośrednio lub bezpośrednio hamujących aktywność receptora NMDA	74
Udział cynku w patofizjologii i terapii depresji	80
Ogólna charakterystyka roli pierwiastka w organizmie	80
Cynk w centralnym układzie nerwowym.	81
Modulacja przekazywania glutaminianergicznego przez cynk	86
Wpływ cynku na inne neurony oraz systemy przekazywania	88
Cynk a etiologia i terapia depresji	91
Cel pracy	99
Metodyka badania	102
Część I – Randomizowane, kontrolowane placebo badanie skuteczności przeciwdepresyjnej połączenia imipraminy z wodorooasparaginianem cynku	102
Opis narzędzi badawczych:	111
Skala Depresji Hamiltona	111
Skala Depresji Montgomery – Asberg	112
Inwentarz Depresji Becka	112
Skala Ogólnego Wrażenia Klinicznego	114
Opis kryteriów badawczych i pojęcia z nimi związane	114
Odpowiedź na leczenie	114
Remisja	115
Lekooporność	116
Metodyka i kryteria oceny skuteczności akceleryacyjnej i potencjalizacyjnej połączenia imipramina – cynk	117
Część II – Badanie zmian surowicowych stężeń cynku jako markera stanu depresyjnego oraz markera odpowiedzi na leczenie	118
Statystyczne opracowanie wyników	121
Wyniki badania	122
Dane demograficzne, ogólna charakterystyka grup	122
Analiza efektów suplementacji leczenia przeciwdepresyjnego cynkiem	127
Badanie poziomów surowicowych cynku	147
Dyskusja	172
Cynk jako potencjalizator leczenia przeciwdepresyjnego	172
Cynk jako marker depresji	180
Wnioski	195

Streszczenie	197
Summary	203
Piśmiennictwo	208
Aneks	254
Wykaz skrótów	255
Wzór Karty Obserwacji Klinicznej Pacjenta	258
Skala Depresji Hamiltona	270
Skala Depresji Mntgomery-Asberg	273
Inwentarz Objawów Depresyjnych Becka	277
Oświadczenie zgody pacjenta – wersja dla kobiet	280
Oświadczenie zgody pacjenta – wersja dla mężczyzn	281
Oświadczenie zgody zdrowego ochotnika	282
Formularz świadomej zgody i informacji dla pacjenta – wersja dla kobiet	283
Formularz świadomej zgody i informacji dla pacjenta – wersja dla mężczyzn	285

Wprowadzenie

W związku z niezadowalającą skutecznością obecnych, farmakologicznych metod leczenia depresji istnieje konieczność poszukiwania nowych leków przeciwdepresyjnych oraz konieczność badania nowych strategii potencjalizacji i akceleracji leczenia przeciwdepresyjnego. Rosnąca liczba doniesień wskazuje na wieloaspektowy udział w patogenezie depresji zaburzeń czynności układu glutaminianergicznego, ze szczególnym uwzględnieniem nadmiernej aktywacji receptora NMDA. Z drugiej strony, zarówno w badaniach doświadczalnych, jak i klinicznych, substancje modulujące aktywność układu glutaminianergicznego, które pośrednio lub bezpośrednio zmniejszają aktywność receptora NMDA, charakteryzują się znaczącym działaniem przeciwdepresyjnym, co pozwala na zaliczenie ich do potencjalnych leków przeciwdepresyjnych przyszłości. Jednym z najważniejszych modulatorów aktywności receptora NMDA jest cynk, a bardzo obiecujące wyniki badań na zwierzętach oraz wyniki jednego, do tej pory przeprowadzonego pilotażowego badania klinicznego uzasadniają koncepcję zbadania skuteczności cynku jako potencjalizatora typowego leczenia przeciwdepresyjnego.

Kolejnym problemem dotyczącym badań na zaburzeniach afektywnych jest fakt, że do tej pory nie znaleziono markerów biologicznych, które w codziennej praktyce klinicznej mogłyby sygnalizować ryzyko rozwoju depresji, obecność stanu depresyjnego, czy też wskazywać na odpowiedź na leczenie lub informować o zjawisku lekooporności. Uzasadnia to konieczność intensywnych poszukiwań laboratoryjnych markerów depresji. Dotychczasowe badania na zwierzętach oraz badania kliniczne (przeprowadzone między innymi w Klinice Psychiatrii Dorosłych CM UJ) sugerują, że cynk może spełniać rolę takiego markera.

Skuteczność standardowej farmakoterapii przeciwdepresyjnej i sposoby jej zwiększania

Konsekwencje niedostatecznej skuteczności leczenia przeciwdepresyjnego

Osiągnięcie jak najszybszej i pełnej **odpowiedzi na leczenie**¹, uzyskanie bezobjawowej, trwałej i pełnej **remisji**², zabezpieczenie przed nawrotami oraz unikanie zjawiska **lekooporności**³ należą do podstawowych zadań farmakoterapii depresji i wydają się mieć kluczowe znaczenie prognostyczne dla pacjenta oraz decydować o możliwości powrotu do przedchorobowego funkcjonowania [1-5].

Jednak, jak wynika z licznych obserwacji, około 15% pacjentów nie odpowiada na leczenie przeciwdepresyjne pierwszego rzutu, a u około 25% odpowiedź ta jest częściowa lub wiąże się z pozostawianiem rezydualnych objawów choroby. Wynika z tego, iż u 30 do 40% chorych leczenie pierwszego rzutu nie przynosi zadowalających rezultatów. U około 2/3 z wymienionej grupy obserwuje się wystąpienie efektu terapeutycznego po zastosowaniu leczenia drugiego rzutu. U pozostałej 1/3 pacjentów oporność na leczenie utrzymuje się nadal, stanowiąc poważny problem terapeutyczny, a u 5 do 10% osób z rozpoznaniem depresji objawy utrzymują się mimo kilku zmian

¹ **Odpowiedź na leczenie lub inaczej odpowiedź terapeutyczna** (*reponse*) – najczęściej definiowana jest jako: **co najmniej 50% (lub 50 do 74%) redukcja nasilenia objawów depresji mierzonego skalą Hamiltona (HDRS) i/lub skalą Montgomery-Asberg (MADRS)** [1-3]

² Do tej pory nie ustalono jednej, powszechnie obowiązującej, szczegółowej definicji remisji oraz wyleczenia. Powszechnie uważa się jednak iż **stan remisji** (*remission*) oznacza brak objawów chorobowych lub utrzymywanie się ich w minimalnym stopniu, pozwalające na powrót pacjenta do normalnego funkcjonowania. Jeżeli stan taki utrzymuje się przez okres dłuższy niż 6 – 12 miesięcy można mówić o **wyleczeniu** (*recovery*). Pojęcie pełnej remisji oznacza stan całkowitego braku objawów chorobowych, natomiast stan niepełnej remisji wiąże się z występowaniem pojedynczych objawów resztkowych (rezydualnych). [3,4].

³ W klinicznych badaniach nad depresją pojęcie **lekooporności** najczęściej jest definiowane jako nieskuteczność dwóch lub więcej kolejnych, prawidłowo prowadzonych kuracji, przy zastosowaniu leków przeciwdepresyjnych o różnych mechanizmach działania [2,5].

strategii farmakoterapeutycznych [6-8]. Niezadowalająca skuteczność leczenia depresji przejawia się również w dużym odsetku chronicznych przebiegów choroby sięgającym w sumie 20% oraz nawrotowości dotyczącej 80 - 85% pacjentów [9-12]. Bardzo poważną wadą współczesnej farmakoterapii depresji jest również opóźniony, pojawiający się po 2 – 12 tygodniach, początek działania leków [13, 14]. Tak długi okres braku wyraźnej odpowiedzi terapeutycznej zwiększa ryzyko zachowań samobójczych oraz przyczynia się do przerywania leczenia przez pacjentów [14].

Badania kliniczne dowodzą, że warunkiem uzyskania pełnej odpowiedzi terapeutycznej oraz dobrej jakościowo remisji po ośmiu tygodniach leczenia jest uzyskanie **poprawy**⁴, pojawiającej się w czasie 2- 4 tygodni od momentu wprowadzenia leku przeciwdepresyjnego, a pacjenci reagujący na leczenie później lub w mniejszym stopniu mają małą szansę na uzyskanie remisji bez objawów resztkowych [10]. Przykładowo, w otwartym badaniu Nierenberga i wsp. [15], obejmującym grupę 143 pacjentów z rozpoznaniem dużej depresji, leczonych fluoksetyną 34.2% osób, u których po 2 tygodniach nastąpiła poprawa, po ośmiu tygodniach obserwacji spełniało kryteria odpowiedzi terapeutycznej. Odpowiedź terapeutyczną zanotowano natomiast zaledwie u 18.9% osób, u których poprawa nastąpiła po 4 tygodniach zażywania leku i u 6.5% pacjentów, u których co najmniej 30% redukcja punktacji Skali Depresji Hamiltona (HDRS) nastąpiła dopiero po 8 tygodniach. W kolejnym, podobnym badaniu, przeprowadzonym pod kierownictwem Nierenberga ponad 75% pacjentów spełniających po 8 tygodniach leczenia kryteria odpowiedzi terapeutycznej należało do grupy osób, u których w ciągu pierwszych 4 tygodni leczenia nastąpiła co najmniej 30% redukcja nasilenia depresji. Brak takiej redukcji w ciągu pierwszych 4 i 6 tygodni wiązał

⁴ Pojęcie **poprawy** (*improvement*) definiowane jest najczęściej jako **20 lub 30% spadek punktacji w skali HDRS w stosunku do pomiaru wyjściowego**. [1,2]

się z odpowiednio 77 i 88% ryzykiem braku odpowiedzi terapeutycznej na końcu obserwacji [16].

Zjawisko częściowej remisji i związana z nim obecność objawów rezydualnych są bardzo powszechne i według niektórych autorów dotyczy nawet około 32% wszystkich pacjentów, którzy pozytywnie zareagowali na leczenie [17]. Z licznych badań wynika, że obecność nawet minimalnych objawów rezydualnych w porównaniu do stanu pełnej, bezobjawowej remisji wiąże się z trzykrotnym wzrostem ryzyka wczesnego nawrotu, 3 -5- krotnym skróceniem okresu, po którym nastąpi kolejny epizod (w przypadku pierwszego zachorowania czas ten skraca się nawet 12 razy!!), zwiększeniem ilości i częstości epizodów, znaczącym wzrostem ryzyka chronicznego przebiegu choroby, pojawianiem się epizodów o większym nasileniu, zmniejszeniem szansy na osiągnięcie stanu pełnego wyleczenia i częstszym występowaniem myśli i zachowań samobójczych w okresie remisji [9, 18, 19].

Niepełna remisja i obecność objawów rezydualnych wiążą się również z wyraźnym pogorszeniem jakości życia oraz funkcjonowania psychospołecznego pacjentów cierpiących na depresję [20-22]. W obserwacji Millera i wsp. [21] pacjenci, u których leczenie przeciwdepresyjne przyniosło pełną remisję w porównaniu do osób, u których udało się osiągnąć jedynie odpowiedź terapeutyczną, charakteryzowali się znacząco wyższą jakością życia, lepszym funkcjonowaniem w pracy i funkcjonowaniem w relacjach interpersonalnych oraz lepszym zdrowiem fizycznym. Ponadto u osób, u których uzyskano odpowiedź na leczenie, ale nie uzyskano remisji, miało miejsce stopniowe pogarszanie się wszystkich wymienionych aspektów funkcjonowania, podczas gdy w przypadku pacjentów osiągających pełną remisję w większości przypadków miało miejsce osiągnięcie poziomu funkcjonowania porównywalnego do kontrolnej grupy zdrowych ochotników. Judd i wsp. [20] na podstawie analizy danych

dotyczących 20 tysięcy dorosłych, zebranych przez 5 amerykańskich centrów badawczych wykazali, że stopień upośledzenia wielu obszarów funkcjonowania u pacjentów, u których utrzymują się objawy resztkowe choroby jest porównywalnie wysoki jak u osób z rozpoznaniem pełnoobjawowego epizodu dużej depresji. Ponadto liczne badania retrospektywne, dotyczące aktywności zawodowej osób cierpiących na depresję jednoznacznie pokazują, że niemożność osiągnięcia pełnej remisji i obecność objawów resztkowych w przeciwieństwie do sytuacji pełnego wyleczenia pociągają za sobą: spadek zainteresowań aktywnością zawodową, zmniejszenie satysfakcji z pracy, znaczący spadek produktywności i zwiększenie absencji [22].

Niepełna remisja bądź jej brak w sposób jednoznacznie negatywny wpływa również na stan zdrowia somatycznego. Jak dowiedziono, obecność objawów depresyjnych wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zapadalności na choroby układu krążenia, szybszą progresją AIDS, znaczącym utrudnieniem kontroli glikemii w przebiegu cukrzycy, zwiększoną umieralnością z przyczyn sercowych oraz z powodu udaru mózgu, a także zwiększoną umieralnością ogólną, która jest szczególnie wysoka u depresyjnych pacjentów po 65 rż. [23-25].

Jak już wspomniano, niewystarczająca skuteczność obecnie stosowanych metod leczenia depresji przejawia się nie tylko powolnością działania, niezadowalającym odsetkiem odpowiedzi terapeutycznych oraz pełnych remisji, ale również słabą i nie dającą się do końca przewidzieć zdolnością do zapobiegania nawrotom choroby. W licznych badaniach naturalistycznych, obejmujących duże grupy pacjentów z depresją nawracającą ryzyko **zaostrzenia**⁵ lub **nawrotu**⁶ waha się w granicach: 19 - 30% w ciągu pierwszych 6 miesięcy, 37 – 41% w ciągu roku i 25 - 59% po dwóch latach od momentu osiągnięcia remisji. Skumulowane ryzyko nawrotu po 5 i 15 latach sięga natomiast

⁵ **Zaostrzenie** (*relapse*) jest definiowane jako pogorszenie stanu psychicznego następujące w trakcie remisji (3,4)

⁶ **Nawrót** (*recurrence*) najczęściej definiowany jako pojawienie się nowego epizodu choroby w okresie wyleczenia, tj. po 6 – 12 miesiącach trwającej remisji. (3,4)

odpowiednio 74 i 85% [26-28]. W przypadku pierwszego zachorowania na depresję ryzyko zaostrzenia lub nawrotu w ciągu następnego roku wynosi 20 - 25%, a szansa na nie pojawienie się drugiego epizodu choroby w ciągu następnych 10 lat jest nie większa niż 25% [29].

Warto tutaj dodać, iż wiążąca się z nieskutecznością leczenia duża ilość epizodów wyraźnie zwiększa ryzyko pojawienia się kolejnych epizodów, skraca czas remisji i zapowiada kolejne, wczesne zaostrzenia i nawroty [4, 9]. Wieloośrodkowe badanie, w ramach którego przeprowadzono 10-letnią obserwację 318 pacjentów z rozpoznaniem depresji nawracającej wykazało, że z każdym kolejnym epizodem choroby czas pozostający do kolejnego nawrotu ulega stopniowemu skróceniu, a ryzyko nawrotu za każdym razem wzrasta średnio o 16% [28]. Wiele danych wskazuje na to, iż największy wzrost ryzyka nawrotu obserwuje się na początku choroby - przykładowo po drugim epizodzie waha się ono w granicach 50 – 90% [3, 29]. Poza obecnością objawów resztkowych oraz wcześniejszymi epizodami i nawrotami ważnym czynnikiem ryzyka zaostrzenia lub nawrotu jest sam czas, jaki upłynął od momentu osiągnięcia remisji. Jak wynika z badań, ryzyko zaostrzenia osiąga maksimum w ciągu pierwszych 3 – 6 miesięcy od początku remisji, po czym powoli i stopniowo maleje [4, 26].

Wszystkie przedstawione powyżej dane wskazują na konieczność opracowywania strategii optymalizacji i potencjalizacji leczenia przeciwdepresyjnego

Czynniki wpływające na skuteczność leczenia przeciwdepresyjnego

W przypadku niezadowalających efektów leczenia przeciwdepresyjnego lub w celu zapobieżenia jego niedostatecznej skuteczności zaleca się rozpatrzenie wielu farmakologicznych i nefarmakologicznych aspektów terapii przeciwdepresyjnej, mogących w istotnym stopniu determinować możliwość uzyskania pełnej odpowiedzi terapeutycznej oraz trwałej i dobrej jakościowo remisji. Aspekty te i działania, jakie w związku z nimi powinny być podjęte przez lekarza, w sposób najbardziej przejrzysty charakteryzuje schemat ABCD, gdzie litera **A** – oznacza **adekwatność terapii** (*Adequacy of treatment*), litera **B** – **zewnętrzne i behawioralne czynniki podtrzymujące objawy choroby** (*Behavioural reinforces*), **C** (*Compliance*) – odnosi się do szeroko rozumianego zagadnienia **współpracy lekarz – pacjent**, **D** - (*Diagnosis*) odnosi się do **właściwej diagnozy**, a więc **zagadnienia współwystępowania** z innymi, psychicznymi oraz somatycznymi zaburzeniami, mogącymi pogarszać przebieg epizodu depresyjnego oraz komplikować jego leczenie. Nieuwzględnianie powyższych aspektów może przyczyniać się do występowania zjawiska **rzekomej lekooporności**, tj. nie wynikającej z rzeczywistej nieskuteczności farmakoterapii [5, 30].

Pod pojęciem adekwatności terapii należy rozumieć przede wszystkim: 1) właściwy dla danego pacjenta wybór leku z uwzględnieniem: specyficznego obrazu choroby (np. depresja atypowa), bezpieczeństwa somatycznego, możliwości interakcji oraz akceptowych przez pacjenta: schematu dawkowania i profilu działań ubocznych; 2) właściwe dawkowanie – tj. unikanie zbyt niskich – nieskutecznych dawek i zbyt wysokich, zwiększających ryzyko działań niepożądanych; 3) adekwatny czas stosowania leku (co najmniej 4 – 6 tygodni); 4) stosowanie strategii farmakoterapeutycznych, mających na celu zwiększenie skuteczności leczenia; 5)

zastosowanie terapii kompleksowej z uwzględnieniem superwizji i różnego typu oddziaływań psychoterapeutycznych i psychoedukacyjnych [5, 30-32].

Do najważniejszych czynników zewnętrznych, mogących nasilać bądź podtrzymywać symptomatologię depresyjną, należy zaliczyć: utraty, stresujące, a niekiedy pozytywne wydarzenia życiowe wymagające szczególnej adaptacji, problemy w relacjach rodzinnych i partnerskich, problemy ekonomiczne i zawodowe, wykorzystywanie objawów choroby do kontroli otoczenia [5, 30].

Szeroko rozumiane zagadnienie odpowiedniej współpracy lekarza z pacjentem, wydaje się mieć niezwykle istotny wpływ na skuteczność leczenia przeciwdepresyjnego. Jak wynika z czterech metaanaliz, dotyczących terapii lekami trójpierścieniowymi (TCA) oraz selektywnymi inhibitorami wychwyty zwrotnego serotoniny (SSRI), od 21 – 33% pacjentów niezależnie od klasy i rodzaju preparatu samodzielnie przerywa jego przyjmowanie [33]. Niestosowanie się do zaleceń lekarza, w tym przyjmowanie leku w sposób nieregularny i o niewłaściwych porach, ma charakter jeszcze bardziej powszechny i w badaniach naturalistycznych dotyczy 30 - 60% pacjentów [34]. Biorąc pod uwagę bardzo duże trudności metodologiczne w zakresie badania stopnia współpracy lekarz-pacjent, zjawiska te można uznać za niedoszacowane i w rzeczywistości występujące jeszcze częściej, niż wynika to z powyższych danych. Niedostateczna współpraca pacjenta z lekarzem (*noncompliance*) może obok samego obrazu choroby, charakterystyki osobowościowej pacjenta, problemów komunikacji lekarz – pacjent wynikać w dużym stopniu z niedoskonałości farmakoterapii w postaci: 1) zbyt długiego oczekiwania na pożądany efekt terapeutyczny; 2) niedostatecznego efektu terapeutycznego; 3) obecności polekowych objawów ubocznych [33, 34].

Strategie farmakoterapeutyczne mające na celu zwiększenie skuteczności leczenia przeciwdepresyjnego

Wśród strategii postępowania farmakoterapeutycznego, mających na celu wieloaspektowe zwiększenie skuteczności leczenia wymienia się najczęściej: 1) wybór odpowiedniego leku przeciwdepresyjnego oraz optymalizacja jego dawki; 2) zamianę dotychczas stosowanego leku przeciwdepresyjnego na inny; 3) zastosowanie terapii kombinowanej – dwoma lekami przeciwdepresyjnymi o różnych mechanizmach działania; 4) potencjalizację terapii przeciwdepresyjnej przy pomocy preparatów nie będących lekami przeciwdepresyjnymi [5, 7, 8, 31, 32, 35].

Wybór leku przeciwdepresyjnego i jego dawkowanie. Krótkoterminowa skuteczność leczenia

Obok tolerancji i bezpieczeństwa stosowania jednym z podstawowych kryteriów wyboru leku przeciwdepresyjnego, gwarantujących adekwatność terapii, wydaje się być jego skuteczność. Jak wynika jednak z bardzo dużej liczby krótkoterminowych badań kontrolowanych (4 – 12 tygodni obserwacji) i sporządzonych na ich podstawie metaanaliz, większość obecnie stosowanych leków przeciwdepresyjnych bez uwagi na mechanizm działania charakteryzuje się generowaniem porównywalnych odsetków odpowiedzi na leczenie, wahającym się w granicach 50-60% i znacząco większym od placebo, dla którego wskaźnik odpowiedzi z reguły wynosi około 30 %. Również w przypadku analizy wskaźników pełnej remisji wszystkie obecnie stosowane leki przeciwdepresyjne wykazują znaczącą przewagę nad placebo oraz z reguły brak istotnej przewagi nad aktywnym lekiem użytym w roli komparatora [4, 36, 37]. Wyjątek stanowi tutaj wenlafaksyna, której przewagę nad SSRI lub imipraminą sugeruje 5 badań

kontrolowanych oraz metaanaliza przeprowadzona przez Thase i wsp. [38]. Freemantle i wsp. [37] przeprowadzili metaanalizę regresyjną 105 badań kontrolowanych porównujących SSRI z alternatywnymi lekami przeciwdepresyjnymi (z wyłączeniem moklobemidu i mirtazapiny), której celem było ustalenie czy specyficzne właściwości farmakologiczne poszczególnych leków mogą skutkować odmienną skutecznością terapii dużej depresji. Żaden z mechanizmów działania leków przeciwdepresyjnych nie stanowił czynnika predykcyjnego większych wskaźników odpowiedzi terapeutycznej. Nie wykazano również przewagi pod tym względem podwójnego czy potrójnego mechanizmu działania nad selektywną blokadą wychwytu zwrotnego serotoniny. Jedynym predykatorem lepszych rezultatów leczenia była obecność sponsora w postaci firmy farmaceutycznej, wiążąca się z występowaniem trendu (bez istotności statystycznej) w kierunku większej skuteczności leku produkowanego przez sponsora. Wnioski przedstawionej metaanalizy pozostają w kontraście do wyników kilku innych metaanaliz, niekiedy sugerujących przewagę preparatów o podwójnym mechanizmie działania nad preparatami z grupy SSRI oraz wskazujących na pewne, zwykle subtelne różnice pomiędzy efektami terapii lekami różnych grup chemicznych (patrz tabela 1).

Dodatkową, oczywistą trudnością w wyborze leku i szacowaniu jego potencjalnej przydatności w danej terapii może być znaczna rozbieżność pomiędzy wykazywaną w randomizowanych badaniach kontrolnych **skutecznością** leku (*efficacy*) a jego rzeczywistą **efektywnością** (*effectiveness*) w naturalnych warunkach leczniczych, które są całkowicie różne od sztucznie stworzonych warunków w badaniach kontrolowanych [34]. Typowymi zjawiskami, spotykanymi w codziennej praktyce klinicznej, są nieobecne w badaniach kontrolowanych: 1) stosowanie wobec każdego pacjenta odmiennych interwencji psychoterapeutycznych; 2) dołączanie najróżniejszych leków wpływających na farmakokinetykę i farmakodynamikę podstawowego leku

przeciwdepresyjnego; 3) brak sztywnego schematu zmiany dawek, 4) obecność różnorodnych schorzeń somatycznych oraz dodatkowych współistniejących zaburzeń psychicznych, czy też myśli samobójczych - często będących przyczynami niezakwalifikowania do badania kontrolowanego; 5) słaba kontrola dostosowywania się pacjenta do zaleceń lekarza; 6) brak losowego doboru pacjentów [34, 45].

Autorzy	Ilość analizowanych badań	Łączna ilość pacjentów	Wnioski
<i>Anderson i wsp. [39]</i>	102	10 706	- Wskaźniki odpowiedzi na leczenie: SSRI = TCA (również w subpoulacji starszych pacjentów) - Wskaźniki przerywania (DrR) terapii w trakcie leczenia - na skutek nietolerancji leczenia: TCA > SSRI (z wyłączeniem FLV, dla której DrR= TCA) - na skutek nieskuteczności leczenia: TCA = SSRI - Wskaźniki odpowiedzi na leczenie w populacji pacjentów hospitalizowanych: TCA > SSRI
	95	10 553	
	25	1377	
<i>Anderson [36]</i>	22	3925	- Wskaźniki odpowiedzi na leczenie: SNRI > SSRI - Początek działania MTZ wcześniejszy od SSRI
	3	653	
<i>Barbui i Hotopf [40]</i>	99	6745	AMT > inne TCA i SSRI (nawet po zakwalifikowaniu przerwania leczenia jako niepowodzenia w terapii)
<i>Edwards i Anderson [41]</i>	19	2999	- Tolerancja FLV gorsza od pozostałych SSRI - Początek działania: FLX > pozostałe SSRI
	20	3283	
<i>Lotufo-Neto i wsp. [42]</i>	28	3220	- Wskaźniki odpowiedzi na leczenie: MCL = TCA - Wskaźniki odpowiedzi na leczenie: MCL > MNS, MPT
	7	655	
<i>Murlov i wsp. [43]</i>	28	5940	Wskaźniki odpowiedzi terapeutycznej w populacji pacjentów leczonych w poradniach pierwszego kontaktu: TCA = pozostałe AD
<i>Thase i wsp. [38]</i>	8	1599	Wskaźniki remisji: VFX > SSRI
<i>Williams i wsp. [44]</i>	6	1400	- Wskaźniki odpowiedzi na leczenie: SNRI, MTZ = TCA - Wskaźniki odpowiedzi na leczenie: SNRI, MTZ > TZD
	3	449	

Tabela 1. Wyniki metaanaliz badań kontrolowanych dotyczących skuteczności farmakoterapii przeciwdepresyjnej w ostrym okresie choroby. Objasnienia skrótów: AMT – amitryptylina, FLV – fluwoksamina, FLX – fluoksetyna, MCL – moklobemid, MNS – mianseryna, MPT – maprotylina, MTZ – mirtazapina, SNRI – selektywne inhibitory wychwyty zwrotnego serotoniny i noradrenaliny (wenlafaksyna, milnacipran), SSRI – selektywne inhibitory wychwyty zwrotnego serotoniny, TCA – trójcykliczne leki przeciwdepresyjne, TZD – trazodon, VFX – wenlafaksyna,

Kolejną niezwykle istotną cechą badań kontrolowanych jest z reguły krótki w porównaniu do realiów klinicznych czas obserwacji (od 4 do 8 lub rzadko 12 tygodni). Warto również dodać, iż bez względu na różnice metodologiczne w badaniach kontrolowanych przypadki wypadnięcia pacjenta z obserwacji nie są z reguły

szczegółowo studiowane i nie są wliczane w analizach statystycznych jako przypadki niepowodzenia terapii. Może to przyczyniać się do zawyżania wskaźników odpowiedzi terapeutycznej oraz do rozbieżności pomiędzy badaniami kontrolnymi a obserwacjami naturalistycznymi dotyczącymi danego leku [6]. Kolejnym istotnym problemem w oszacowywaniu siły działania leczenia przeciwdepresyjnego oraz jego użyteczności klinicznej może być kwestia trudności interpretacji badań porównujących dany lek lub metodę do placebo. Jak wynika z wielu badań w przypadku pacjentów z łagodniejszymi formami depresji (punktacja w skali HDRS mniejsza lub równa 13), z wyraźnym wyłączeniem dystymii, nie można wykazać istotnej różnicy pomiędzy działaniem leku i placebo [6]. Według raportu sporządzonego przez FDA różnica pomiędzy działaniem leku a efektem placebo staje się naprawdę istotna dopiero w przypadku znacznego początkowego nasilenia depresji i wzrasta wraz ze wzrostem tego nasilenia mierzonego Skalą Depresji Hamiltona [46].

Właściwe dawkowanie leku przeciwdepresyjnego oraz jego ewentualna zmiana należą do bardzo ważnych czynników determinujących skuteczność farmakoterapii. Większość leków przeciwdepresyjnych charakteryzuje się występowaniem linearnej zależności pomiędzy zdolnością do generowania odpowiedzi terapeutycznej a dawką (tzw. **zależność dawka – odpowiedź**). Zależności tej nie stwierdza się w sposób jednoznaczny jedynie w przypadku SSRI (z wyłączeniem fluwoksaminy). W związku z powyższym można wnioskować, iż zastosowanie wyższych dawek leków przeciwdepresyjnych będzie wiązało się z większym prawdopodobieństwem pozytywnych efektów leczenia, a zwiększenie dawki leku w trakcie terapii może stanowić postępowanie pierwszego rzutu w przypadku niezadowolającej odpowiedzi terapeutycznej [31, 47]. Dotyczy to zwłaszcza TCA oraz wenlafaksyny [6, 32, 48]. W przypadku tej ostatniej dodatkowo wykazywano występowanie znacząco wcześniejszej

od placebo lub imipraminy odpowiedzi terapeutycznej po szybkim wysyceniu lekiem do dawek maksymalnych [32].

Podejmowane również są jak na razie pojedyncze próby zwiększenia skuteczności leczenia preparatami z grupy SSRI poprzez zastosowanie dużych dawek. Przykładowo w badaniu kontrolowanym Favy i wsp. [49] na małej grupie pacjentów (n=41) wykazano przewagę wysokich dawek fluoksetyny (40-60 mg) nad połączeniem fluoksetyna – dezypramina lub potencjalizacją działania fluoksetyny przy pomocy litu.

Bardzo poważnym problemem wydaje się być stosowanie zbyt niskich dawek leków, dotyczące przede wszystkim preparatów trójpierścieniowych (dawki poniżej 100 – 125 mg/dz.), zwłaszcza w opiece pozaszpitalnej, w tym placówkach podstawowej opieki zdrowotnej. Zjawisko to, potwierdzone w wielu krajach (USA, Włochy, W. Brytania, Australia, Szwecja, Dania) i wiążące się z obawą przed niebezpiecznymi objawami bocznymi i ryzykiem śmiertelnego w skutkach przedawkowania, pociąga za sobą niedostateczną skuteczność terapii przeciwdepresyjnej [34].

Czas leczenia, długoterminowa skuteczność leczenia.

Przypuszcza się, że ustępowanie objawów depresyjnych ma miejsce wcześniej niż ustępowanie procesów patofizjologicznych leżących u podłoża depresji. W związku z tym pacjent jeszcze przez pewien okres, którego długość nie jest dokładnie znana, po ustąpieniu symptomatyki depresyjnej jest szczególnie podatny na zaostrzenie lub nawrót dolegliwości. Stwarza to bardzo duże trudności z ustaleniem właściwego czasu trwania terapii podtrzymującej i wiąże się z jej niewystarczającą skutecznością w zapobieganiu kolejnym epizodom choroby, oraz może determinować nieskuteczność kolejnych terapii [10]. Melfi i wsp. [50] na podstawie analizy danych dotyczących 4052 pacjentów wykazali, że niezależnie od wyjściowego nasilenia depresji oraz współchorobowości z

innymi zaburzeniami psychicznymi lub somatycznymi, pacjenci, których leczenie podtrzymujące zaplanowane na 9 miesięcy zakończyło się przedwcześnie, znacząco częściej doświadczali zaostrzeń lub nawrotów. Podobne wyniki dała analiza przeprowadzona w Wielkiej Brytanii, dotycząca 7500 pacjentów objętych opieką pierwszego kontaktu. Pacjenci, których leczenie podtrzymujące zostało przerwane w ciągu 120 dni od ustąpienia objawów, charakteryzowali się znacznie podwyższonym, w porównaniu do osób poddawanych dłuższej terapii, wskaźnikiem zaostrzeń [51]. Co warto podkreślić, istotne znaczenie w zapobieganiu nawrotom ma działanie aktywnego leku, a nie efekt placebo, nawet jeżeli jest on silnie wyrażony i w początkowym okresie terapii porównywalny do stosowania leku przeciwdepresyjnego. W jednym z badań wskaźnik zaostrzeń w trakcie leczenia podtrzymującego był trzykrotnie wyższy u pacjentów charakteryzujących się pozytywną odpowiedzią terapeutyczną na placebo, w porównaniu do osób pozytywnie reagujących na aktywne leczenie [52].

Podsumowując opinie wielu ekspertów można przyjąć, że w przypadku pierwszego epizodu depresji leczenie profilaktyczne powinno być kontynuowane co najmniej przez 6 –18 miesięcy od momentu ustąpienia objawów. Po drugim epizodzie choroby zaleca się kontynuację leczenia przez okres 2-3 lat, natomiast większa ilość nawrotów depresyjnych może wymagać kilkuletniej (4 -5 lat) lub bezterminowej farmakoterapii podtrzymującej, zwłaszcza jeżeli: 1) liczba epizodów depresyjnych jest większa niż 3; 2) łączny czas trwania epizodów wynosił ponad 120 dni; 3) czas pomiędzy kolejnymi epizodami jest krótszy niż 2,5 roku; 4) wystąpiły do tej pory tylko jeden lub dwa epizody, ale towarzyszą im dodatkowe obciążenia takie jak: obecność zaburzeń afektywnych w rodzinie, epizod z objawami psychiatrycznymi, wczesny początek choroby, lekooporność, próba samobójcza, ciężkie schorzenia towarzyszące,

patologia OUN stwierdzona w badaniach MRI, nieprawidłowy wynik testu deksametazonowego, zaburzenia latencji snu REM [29, 31, 32, 34, 35, 53, 54].

Skuteczność w zapobieganiu nawrotom i zaostrzeniom depresji była przedmiotem randomizowanych i kontrolowanych placebo badań większości stosowanych obecnie leków przeciwdepresyjnych starej i nowej generacji. Praktycznie wszystkie te leki wykazały przewagę nad placebo, co nie zmienia faktu, że wskaźniki nawrotów i zaostrzeń dla aktywnego leczenia w badaniach tych ciągle są znacząco wysokie [55]. Wyniki wybranych badań kontrolowanych, dotyczących długoterminowej terapii lekami nowej generacji u osób dorosłych, przedstawia tabela 2.

Autorzy	Liczba pacjentów objętych badaniem	Czas trwania obserwacji	Badane preparaty	Dawka dobową	Wskaźniki zaostrzenia lub nawrotu na końcu obserwacji
<i>Entsua i wsp.[56]</i>	225	12 miesięcy	VFX PBO	75-225mg	22% 55%
<i>Franchini i wsp.[57]</i>	64	24 miesiące	SRT FLV	100 – 200mg 200 – 300mg	22% 19% ^{ns}
<i>Franchini i wsp.[58]</i>	67	28 miesięcy	PRX PRX	20mg 40mg	52% 24%
<i>Keller i wsp.[59]</i>	161	76 tygodnie	SRT PBO	200mg	26% 50%
<i>Montgomery i Dunbar [60]</i>	135	52 tygodnie	PRX PBO	20 – 30mg	14% 30%
<i>Reimherr i wsp.[61]</i>	394	62 tygodnie	FLX PBO	20mg	11% 15% ^{ns}
<i>Rapaport i wsp.[62]</i>	274	36 tygodni	SCTL PBO	10 – 20mg	26% 40%
<i>Robert i Montgomery [63]</i>	226	6 miesięcy	CTL PBO	20 – 60mg	14% 24%
<i>Rouillon i wsp.[64]</i>	214	12 miesięcy	MLC PBO	100mg	16.3% 23.6%
<i>Thase i wsp.[65]</i>	156	40 tygodni	MTZ PBO	15 – 45mg	19.7% 43.8%
<i>Versiani i wsp.[66]</i>	283	12 miesięcy	RBX PBO	8mg	22% 56%

Tabela 2. Wyniki wybranych badań kontrolowanych dotyczących skuteczności profilaktycznej długoterminowej terapii lekami przeciwdepresyjnymi nowej generacji. Objasnienia skrótów: CTL – citalopramu, FLV - fluwoksamina, FLX – fluoksetyna, MCL – moklobemid, MLC – milnacipran, MTZ – mirtazapina, ^{ns} – brak istotności statystycznej, PBO - placebo, PRX – paroksetyna, RBX – reboksetyna, SCTL – escitalopram, SRT - sertralina, VFX – wenlafaksyna,

Zamiana leku przeciwdepresyjnego (*drug switching*)

Przyjmuje się obecnie, iż brak jakiegokolwiek poprawy po 4 – 6 tygodniach od rozpoczęcia farmakoterapii jest wskazaniem do zmiany strategii farmakoterapeutycznej. W przypadku, jeżeli w ciągu pierwszego miesiąca nastąpiła, chociaż minimalna poprawa stanu psychicznego, można czas oczekiwania na odpowiedź terapeutyczną przedłużyć o kolejne 2 - 4 tygodnie, zanim podjęta zostanie decyzja o zmianie strategii leczenia. Przedstawione ramy czasowe powinny być podwojone wówczas, kiedy leczeniem objęte są osoby w wieku powyżej 65 lat [6, 8, 31, 32, 53]. Wytyczne te wydają się być ściśle i jednoznaczne, nie zmienia to jednak faktu, iż mają one szacunkowy charakter, a jak wynika z badań u istotnej części pacjentów nadal istnieje szansa na pojawienie się odpowiedzi terapeutycznej w ciągu następnych 6 tygodni kontynuacji dotychczasowego, niezadowalającego leczenia [67].

Porównując zamianę leku przeciwdepresyjnego ze strategiami leczenia kombinowanego, należy stwierdzić, iż jej niewątpliwymi zaletami są: 1) zachowanie łatwiejszej do zaakceptowania przez pacjenta i mniej narażonej na niestosowanie się do zaleceń lekarskich monoterapii, 2) uniknięcie ryzyka interakcji czy toksyczności. Podstawową wadą tej strategii jest z reguły dłuższy niż w przypadku terapii kombinowanej czas oczekiwania na pozytywną odpowiedź terapeutyczną [6-8, 53]. Z dotychczasowych badań wynika, że zamiana jednego leku z grupy TCA na inny stwarza niewielką - wahającą się w granicach 9-27% - szansę poprawy i w związku z tym nie zaleca się takiego postępowania. Zupełnie inaczej przedstawia się kwestia zmian w obrębie grupy SSRI, dająca 40 -70% prawdopodobieństwo uzyskania znaczącej poprawy stanu psychicznego. Z równie wysokim - wynoszącym około 50% - prawdopodobieństwem uzyskania zadowalającej reakcji na leczenie wiąże się zamiana inhibitora wychwyty monoaminowego (SSRI, TCA) na inhibitor MAO, bloker receptora

α_2 (mirtazapina, mianseryna) lub wenlafaksynę [7, 53, 68, 69]. Jak do tej pory niewielka ilość danych potwierdza zasadność zamiany leku z grupy SSRI na TCA. Jeszcze słabiej potwierdzona jest skuteczność strategii polegającej na zamianie leku trójpierścieniowego na preparat z grupy SSRI [6].

Przypadki pozytywnych efektów, jakie dała zamiana leków przeciwdepresyjnych, są niejednokrotnie obserwowane w przebiegu pracy klinicznej, niemniej jednak procentowe, dane dotyczące korzyści wynikającej z takiej strategii powinny być traktowane z ostrożnością ze względu na niewielką liczbę badań kontrolowanych, obejmujących z reguły nieliczne grupy pacjentów. Ponadto większość badań dotyczących zamiany leku przeciwdepresyjnego, w których zastosowano ślepą próbę, ma charakter badań *cross-over* lub badań, w których dokonuje się randomizacji do leczenia dwoma nowymi lekami bez zachowania grupy kontrolnej nadal leczonej wcześniejszym niezadowolającym lekiem. W związku z tym nie pozwalają one na weryfikację, na ile stosowanie nowego leku przeważa swoją skutecznością nad przedłużoną o kilka tygodni, a więc dającą dodatkową szansę na odpowiedź, terapią wcześniejszym lekiem [6].

Łączenie leków przeciwdepresyjnych

Łączenie leków przeciwdepresyjnych oraz będąca tematem następnego podrozdziału potencjalizacja działania leku przeciwdepresyjnego preparatem, nie należącym do grupy tymoleptyków (**augmentacja**, z ang.- *augmentation*), należą do tzw. **farmakoterapii kombinowanych** (z ang.- *combined pharmacotherapy*). Strategie te nie są pozbawione wad i wiążą się między innymi z: 1) ryzykiem interakcji; 2) ryzykiem kumulacji objawów ubocznych; 3) zwiększeniem kosztów leczenia; 4) komplikacją schematu zażywania leków, co stwarza zagrożenie ich niewłaściwego

przyjmowania [8, 31, 35]. Jednak bardzo istotnymi zaletami leczenia kombinowanego są: 1) duża szansa na wystąpienie wczesnego początku działania; 2) możliwość wywołania pełniejszej remisji; 3) możliwość działania na szerszy obszar objawów prezentowanych przez pacjenta (objawy psychotyczne, zaburzenia snu, apatia, pobudzenie etc.) – w tym na objawy zaburzeń współwystępujących z epizodem depresyjnym (np. zaburzenia jedzenia, zaburzenia lękowe, zespół stresu pourazowego, zaburzenia obsesyjno-kompulsyjne); 4) możliwość uzyskania dodatkowego działania zabezpieczającego przed nawrotem lub zaostrzeniem [7, 8, 31, 35, 53]

Łączenie leków przeciwdepresyjnych polega na zestawieniu dwóch lub więcej odmiennych mechanizmów działania w taki sposób, aby uzyskać zjawisko synergizmu w obrębie jednego lub kilku systemów przekąźnictwa monoaminowego, co powinno skutkować wzmocnieniem efektu przeciwdepresyjnego. Ważną zaletą kojarzenia leków przeciwdepresyjnych jest możliwość przeciwstawiania typowych dla nich objawów ubocznych celem poprawy tolerancji leczenia [3]. Przykładowo, trazodon lub mirtazapina dołączane do SSRI lub wenlafaksyny mogą redukować nasilenie takich objawów niepożądanych jak: bezsenność, zaburzenia seksualne, nudności czy pobudzenie. Natomiast dodanie bupropionu do wcześniejszej monoterapii może zmniejszyć nasilenie sedacji i zaburzeń seksualnych [3, 7, 35].

Rzetelna ocena skuteczności łączenia leków przeciwdepresyjnych nie jest jak na razie możliwa, ze względu na niewielką ilość badań, często otwartych i obejmujących małe grupy pacjentów. W badaniach tych m.in. wykazano przewagę (w zakresie wskaźnika odpowiedzi na leczenie) łączenia dezipraminy z fluoksetyną nad stosowaniem tych leków w monoterapii, znaczącą skuteczność połączenia: reboksetyna - citalopram u pacjentów niezadowolająco reagujących na monoterapię wenlafaksyną, potencjalizację (również w przypadku lekooporności) działania leków z grupy SSRI

zachodzącą pod wpływem bupropionu SR, trazodonu lub mirtazapiny czy mianseryny. Skuteczna, choć niebezpieczna wydaje się również kombinacja inhibitorów MAO z SSRI czy lekami trójpierścieniowymi [32, 70-74].

Nie wiadomo jak na razie, czy hipotetyczne założenie, wedle którego uzyskanie jak największej ilości synergizmów pociąga za sobą wzrost siły działania przeciwdepresyjnego, znajduje swoje pełne potwierdzenie w doświadczeniu klinicznym. Zalecenia amerykańskich i angielskich ekspertów dotyczące kojarzenia leków przeciwdepresyjnych przedstawia tabela 3.

	Zalecane kojarzenie leków
Pierwszy rzut	• SSRI / SNRI + MTZ / MNS
Drugi rzut	• SSRI / SNRI + bupropion SR
Trzeci rzut	• SSRI + TCA (konieczność redukcji dawki TCA, ze względu na niebezpieczeństwo znacznego wzrostu poziomu we krwi, najbezpieczniejsze połączenia – z SRT lub CTL) • SSRI + MCL (ostrożnie – ze względu na niebezpieczeństwo zespołu serotoninowego; przez niektórych niezalecane jako zbyt ryzykowne) • TCA + MCL lub inne IMAO (uwagi – j.w.)

Tabela 3. Zalecane strategie kojarzenia leków przeciwdepresyjnych (na podstawie: Kennedy i wsp. [7], Sadock i Sadock [35], Stahl [3], Taylor, Paton i Kerwin [32]). **Objaśnienia skrótów:** CTL – citalopramu, IMAO – inhibitory monoaminooksydazy, MCL – moklobemid, MNS – mianseryna, MTZ – mirtazapina, SNRI – selektywne inhibitory wychwyty zwrotnego serotoniny i noradrenaliny, SSRI – selektywne inhibitory wychwyty zwrotnego serotoniny, SRT – sertralina, TCA – trójpierścienne leki przeciwdepresyjne.

Potencjalizacja farmakoterapii przeciwdepresyjnej przy pomocy preparatów nie będących lekami przeciwdepresyjnymi

Duża liczba i niezwykle różnorodność ciągle badanych strategii augmentacji wynika nie tylko z mnogości teorii dotyczących etiologii i patofizjologii depresji, ale jak się wdaje przede wszystkim z ciągle niezadowolającej i niewystarczająco udokumentowanej skuteczności tych strategii. Tylko niektóre metody potencjalizacji terapii depresji poprzez dołączenie preparatu nie będącego lekiem przeciwdepresyjnym były przedmiotem nielicznych randomizowanych badań kontrolowanych placebo.

Przeważająca ilość badań dotyczących augmentacji to badania otwarte lub badania na bardzo małych grupach, czy też grupach o bardzo zróżnicowanym leczeniu. Bardzo często również właściwości potencjalizujące danego preparatu sugerują zaledwie opisy pojedynczych przypadków. W tej sytuacji wnioskowanie o skuteczności nawet najlepiej i najdłużej znanych metod augmentacji powinno być ostrożne.

Stabilizatory nastroju

Potencjalizacja działania leków przeciwdepresyjnych przez stabilizatory nastroju należące do grupy leków przeciwpadaczkowych może być tłumaczona hamowaniem zjawiska rozniecania (*kindling*), poprzez blokadę przekąźnictwa glutaminianergicznego (lamotrygina, walproinian), lub wzmacnianie transmisji gabaergicznej (karbamazepina, walproinian) [75]. Innym wyjaśnieniem może być oddziaływanie stabilizatorów nastroju na systemy drugich przekąźników i związane z nimi liczne enzymy neuronalne [76, 77]. Przypuszcza się również, że aktywność przeciwdepresyjna i potencjalizacyjna stabilizatorów nastroju może być wynikiem ich wpływu na aktywność osi podwzgórza – przysadka-nadnercza (HPA). Przykładowo, badania za zwierzętach wykazują, że zarówno długotrwałe podawanie litu, jak i kwasu walproinowego, pociąga za sobą osłabienie aktywności osi stresu, głównie w wyniku zmian ekspresji mRNA poszczególnych podtypów CRH [78]. Aktywność przeciwdepresyjną litu próbuje się dodatkowo tłumaczyć jego zdolnością do pobudzania transmisji serotoninerdycznej, zarówno na poziomie wtórnych przekąźników, jak i na poziomie interakcji z receptorami 5-HT_{1B}, [75, 77, 79].

Zastosowanie **solu litu** jest najlepiej udokumentowaną strategią potencjalizacji działania leków przeciwdepresyjnych, uznaną za metodę pierwszego rzutu w przypadkach nieskuteczności terapii. Niemniej jednak należy podkreślić, iż nawet w

przypadku tej metody wyniki obserwacji klinicznych nie są jednoznaczne [7, 8, 32, 80]. Bauer i wsp. [81] przeprowadzili metaanalizę 27 badań dotyczących aktywności potencjalizacyjnej litu w depresji odpornej na leczenie i obejmujących łącznie 803 pacjentów. W uwzględnionych w analizie badaniach kontrolowanych placebo odsetek osób, u których po dodaniu litu do dotychczasowego leczenia zaobserwowano odpowiedź terapeutyczną, wyniósł 45%, podczas gdy zastosowanie placebo wiązało się z poprawą stanu psychicznego rejestrowaną zaledwie u 18% badanych. Wskaźnik odpowiedzi terapeutycznych po zastosowaniu potencjalizacji litem we wszystkich analizowanych badaniach kontrolowanych i otwartych wynosił około 50% w ciągu 4 tygodni leczenia. Tak optymistyczne obserwacje są jednak kwestionowane przez niektórych badaczy. Stimpson i wsp. [81] twierdzą, iż znaczne zróżnicowanie metodologiczne badań nad właściwościami potencjalizującymi litu uniemożliwia ich rzetelne porównanie. Jedynie dwa z tych badań były przeprowadzone z zastosowaniem zarówno randomizacji, jak i podwójnie ślepej próby i kontroli placebo. Możliwość wyciągania z nich pozytywnych wniosków jest jednak znacząco ograniczona ze względu na bardzo małą liczebność grup ($n=16$, - w badaniu Zusky i wsp.(1988) i $n=34$ w badaniu Joffe i wsp. (1993) – za Stimpson i wsp. 2002 [81]) oraz zaledwie 2-tygodniowy okres stosowania terapii z użyciem litu. Poza tym istnieją doniesienia o nieskuteczności litu w depresjach lekoopornych. Przykładem może być, obejmujące grupę 32 osób, badanie Nierenberga i wsp. [82], w którym wskaźnik odpowiedzi na leczenie po dodaniu litu do nortyptyliny był znacząco niższy od placebo (odpowiednio 12.5% vs 20%). Należy również zauważyć, iż zastosowanie soli litu jest metodą mającą wiele istotnych ograniczeń, do których należą m.in.: 1) wąskie okno terapeutyczne litu i związane z nim: wysokie niebezpieczeństwo w przypadku zatruc i konieczność regularnego monitorowania poziomu litu w surowicy; 2) obecność objawów ubocznych

będących przyczyną częstego samowolnego przerywania leczenia przez pacjentów; 3) konieczność monitorowania funkcji nerek i tarczycy; 4) obecność licznych względnych i bezwzględnych przeciwwskazań (w tym: choroby nerek, niedoczynność tarczycy, łuszczyca); [7, 8, 32, 35].

Wiele danych wskazuje, że **karbamazepina** może skutecznie wzmacniać działanie leków przeciwdepresyjnych. Należy jednak podkreślić ograniczenia w zastosowaniu karbamazepiny, wynikające z dużego ryzyka potencjalnych interakcji lekowych, związanego ze stymulacją cytochromu P450. Dietrich i Emrich [83] sugerują dużą efektywność i znaczne bezpieczeństwo łączenia karbamazepiny z amitryptyliną. Podejmowane są także próby potencjalizacji działania przeciwdepresyjnego leków należących do innych grup tymoleptyków. Przykładem tego może być badanie Steinachera i wsp. [84], w którym u sześciu pacjentów z rozpoznaniem dużej depresji, dołączenie karbamazepiny do nieskutecznej terapii citalopramem wiązało się z wystąpieniem znaczącej redukcji nasilenia depresji już w pierwszym tygodniu leczenia kombinowanego. W badaniu przeprowadzonym przez Rybakowskiego i wsp. (85), w grupie 59 chorych, wykazano znaczną efektywność karbamazepiny oraz litu jako leków mogących zwiększyć skuteczność dotychczasowej monoterapii przeciwdepresyjnej (TCA, mianseryna, SSRI, moklobemid). Odpowiedź terapeutyczną zaobserwowano u 57% przyjmujących karbamazepinę i 67% przyjmujących lit.

W ostatnich latach pojawia się coraz więcej interesujących danych dotyczących przeciwdepresyjnego działania **lamotryginy** oraz jej zdolności przyspieszania odpowiedzi terapeutycznej. W randomizowanym, obejmującym 40 osób badaniu Normanna i wsp. [86] zastosowanie lamotryginy (dawka końcowa 200 mg/dz.) w charakterze potencjalizatora paroksetyny (20 mg/dz.) wiązało się z uzyskaniem znacząco większego od placebo odsetka remisji oraz wczesnej odpowiedzi

terapeutycznej. Barbosa i wsp. [87] w grupie 23 lekoopornych pacjentów wykazali przewagę połączenia fluoksetyna (20 mg/dz.)-lamotrygina (100 mg/dz.) nad połączeniem fluoksetyna-placebo w zakresie poprawy klinicznej mierzonej skalą CGI. Istotne działanie potencjalizujące lamotryginy sugerują również badania retrospektywne, w których zastosowanie lamotryginy wiązało się wystąpieniem istotnej poprawy klinicznej u 48 – 76 % pacjentów [88, 89]. Swoistą niedogodnością dotyczącą lamotryginy jest, wynikająca z ryzyka niebezpiecznych powikłań dermatologicznych (zespół Stevens – Johnsona, zespół Lyalla), konieczność powolnego osiągania dawki terapeutycznej [31, 32, 35].

Pomimo dużej powszechności zastosowania **kwasu walproinowego** w psychiatrii oraz niewątpliwie dużej aktywności potencjalizacyjnej pozostałych stabilizatorów nastroju do tej pory nie przeprowadzono badań nad skutecznością dołączenia walpoinianu do leków przeciwdepresyjnych w przebiegu leczenia depresji jednobiegunowej. Warto jednak zaznaczyć, że w jednym badaniu otwartym wykazano istotne działanie przeciwdepresyjne walpoinianu stosowanego w monoterapii [90].

Leki wpływające na przekąźnictwo serotoninerгіczne

Do leków tych, badanych pod względem możliwości potencjalizacji leczenia przeciwdepresyjnego, zaliczyć można: 1) agonistów receptora 5-HT_{1A} (buspiron – częściowy agonista i tandospiron – agonista selektywny); 2) antagonistów receptora 5-HT_{1A} (pindolol); 3) antagonistów receptorów 5-HT_{2A} (niektóre atypowe neuroleptyki: olanzapina, risperidon, kwetiapina, ziprazidon); [3, 75, 91].

Zakłada się teoretycznie, że pobudzanie somatodendrycznych autoreceptorów 5-HT_{1A} przez buspiron czy tandospiron hamuje przepływ impulsu w neuronie, zmniejszając wydzielanie serotoniny do szczeliny synaptycznej i tym samym umożliwia

odbudowę presynaptycznej puli serotoniny. Wzmocniona stymulacja somatodendrytycznych autoreceptorów 5-HT_{1A} doprowadza następnie do ich desensytyzacji (*down-regulacja*), co ma skutkować odhamowaniem uwalniania wcześniej nagromadzonej serotoniny i wzmocnieniem działania leków przeciwdepresyjnych [3]. Działanie pindololu ma natomiast polegać, na będącym skutkiem blokady autoreceptorów 5-HT_{1A}, błyskawicznym odhamowaniu uwalniania serotoniny z neuronów, pozwalającym na skrócenie typowej dla leków przeciwdepresyjnych latencji działania terapeutycznego. Aktywność potencjalizacyjną atypowych neuroleptyków powinna opierać się na torowaniu transmisji serotoninowej na skutek przerwania hamującego wpływu postsynaptycznych receptorów 5-HT_{2A} na postsynaptyczne receptory 5-HT_{1A} [3, 91].

Analizy retrospektywne, a także większość dotychczasowych badań przeprowadzonych bez kontroli placebo na małych grupach pacjentów, sugeruje znaczące działanie potencjalizujące **buspironu** (dawka dobową 20-30 mg) dołączanego do dotychczasowej nieskutecznej terapii SSRI lub klomipraminą [92-94]. Jedno kontrolowane placebo badanie randomizowane, obejmujące 102 pacjentów wykazało, że dołączenie buspironu do fluoksetyny lub citalopramu wiąże się z istotnie większą od placebo redukcją objawów depresyjnych obserwowaną już po pierwszym tygodniu leczenia kombinowanego, co może wskazywać na wymagającą dalszej weryfikacji zdolność buspironu do przyspieszania odpowiedzi terapeutycznej [95].

Działanie potencjalizujące **tandospironu** było przedmiotem jednego badania, w którym zaobserwowano większy, aczkolwiek nieistotny statystycznie odsetek odpowiedzi na leczenie po zastosowaniu połączenia tandospironu z klomipraminą w porównaniu do klomipraminy w monoterapii lub w połączeniu z diazepamem [96].

W przypadku **pindololu**, jak do tej pory najlepiej potwierdzono skuteczność jego kombinacji z paroksetyną. W jednorocznej obserwacji naturalistycznej przeprowadzonej przez Tome i Isaac [97], pacjenci, którzy w fazie ostrej leczenia otrzymywali równocześnie paroksetynę oraz pindolol w porównaniu do osób leczonych wyłącznie paroksetyną, znacząco szybciej reagowali na leczenie oraz odznaczali się lepszym rokowaniem długoterminowym. Zanardi i wsp. [98], w badaniu randomizowanym, na grupie 63 pacjentów wykazali, iż 4 tygodniowa terapia łączona paroksetyną i pindololem wiązała się z przyspieszeniem działania przeciwdepresyjnego oraz większym wskaźnikiem odpowiedzi terapeutycznych w porównaniu do połączenia paroksetyna - placebo lub dołączania pindololu na krótszy okres czasu. Istotnie statystycznie większe od placebo przyspieszenie występowania efektu przeciwdepresyjnego przy jednoczesnym braku wpływu na końcowy odsetek odpowiedzi terapeutycznych obserwowano w przypadku połączenia pindololu z fluwoksaminą u pacjentów z rozpoznaniem depresji psychotycznej (n=72); [99]. W badaniu Isaaca i wsp. (n=78), zastosowanie połączenia milnacipran-pindolol w porównaniu do połączenia milnacipran-placebo również charakteryzowało się istotnie statystycznie szybszym występowaniem efektu przeciwdepresyjnego (już od ósmego dnia terapii) oraz dodatkowo wyższym odsetkiem pacjentów, którzy pozytywnie odpowiedzieli na leczenie (97.2% vs 60.6%); [100]. Dodanie pindololu do trazodonu wiązało się z wyższym od placebo wskaźnikiem odpowiedzi terapeutycznych w randomizowanym, przeprowadzonym z zastosowaniem podwójnie ślepej próby badaniu niewielkiej (n=16) grupy pacjentów lekoopornych [101].

Skuteczność potencjalizacji leczenia przeciwdepresyjnego pindololem budzi jednak na tyle duże wątpliwości, że przez niektórych ekspertów stosowanie pindololu uznane jest za metodę niezalecaną [7, 32]. W dwóch randomizowanych badaniach

kontrolowanych, obejmujących odpowiednio – 10 i 80 pacjentów opornych na leczenie przeciwdepresyjne (inhibitory wychwyty serotoniny) nie wykazano przewagi pindololu nad placebo [102, 103]. Zasadność połączenia pindololu z lekami przeciwdepresyjnymi podważają również interesujące obserwacje Rabinera i wsp. [104], przeprowadzone przy użyciu PET. Wykazali oni, iż powszechnie stosowany w badaniach schemat dawkowania pindololu – 3 razy dziennie po 2,5 mg, z reguły nie pozwala na wysycenie receptorów 5-HT_{1A}, w stopniu umożliwiającym uzyskanie istotnych zmian aktywności układu serotonergicznego. Znaczące wysycenie receptorów 5-HT_{1A} miało miejsce dopiero po zastosowaniu 2 razy większej dawki. Stosowanie wysokich dawek może jednak stanowić problem, choćby ze względu na ryzyko objawów ubocznych, zwłaszcza nadmiernej sedacji [105]. Według Sokolskiego i wsp. [106] jednym ze sposobów na uzyskanie odpowiedniego wysycenia mózgowych receptorów serotoninowych pindololem, przy jednoczesnym zachowaniu zadowalającej tolerancji, może być podawanie pindololu raz dziennie, w dawce 7.5 mg. Taki schemat dawkowania przebadali oni z pozytywnym skutkiem zaledwie u 4 lekoopornych pacjentów, dlatego też z oczywistych względów koncepcja ta wymaga dalszej weryfikacji.

Zastosowanie **atypowych neuroleptyków**, wywierających działanie na układ serotonergiczny (olanzapina, risperidon, kwetiapina, ziprazidon), wydaje się być jedną z najbardziej obiecujących i bezpiecznych, aczkolwiek niedostatecznie udokumentowanych metod zwiększania skuteczności leczenia przeciwdepresyjnego. Część ekspertów uznaje dołączenie **olanzapiny** za metodę na równi rekomendowaną co potencjalizacja leczenia przeciwdepresyjnego litem [7]. Randomizowane, kontrolowane placebo badanie skuteczności połączenia olanzapiny i fluoksetyny w depresji lekoopornej, obejmujące grupę 28 pacjentów, wykazało przewagę terapii kombinowanej nad monoterapią fluoksetyną lub olanzapiną [107]. Obserwacja długoterminowych

efektów terapii kombinowanej fluoksetyną i olanzapiną była przedmiotem badania otwartego, obejmującego 560 pacjentów z rozpoznaniem depresji jednobiegunowej. Na końcu siedemdziesięciodwutygodniowej obserwacji odsetki odpowiedzi terapeutycznej oraz remisji dla całej badanej grupy były wysokie i wyniosły odpowiednio: 62 i 56%, a odsetek nawrotów był relatywnie niski (15%). Dla wyłonięnej z całości grupy pacjentów lekoopornych odsetki odpowiedzi, remisji oraz nawrotów wyniosły odpowiednio: 53%, 44% i 25%. Obserwowano wystąpienie szybkiej odpowiedzi terapeutycznej. Połączenie olanzapina - fluoksetyna było bezpieczne i dobrze tolerowane, wiązało się jednak ze stanowiącym istotne ograniczenie tej metody częstym występowaniem u pacjentów wzrostu apetytu oraz wzrostu masy ciała [108].

Podobnie jak w przypadku olanzapiny, również pierwsze badania z użyciem **risperidonu** w małych dawkach (0.5 – 1 mg/dz.) w charakterze potencjalizatora leczenia przeciwdepresyjnego są bardzo obiecujące. W jednym badaniu otwartym, obejmującym 30 pacjentów zastosowanie połączenia fluwoksaminy z risperidonem dało wysoki wskaźnik pełnej remisji wynoszący 76%. U żadnego z objętych badaniem pacjentów nie stwierdzono objawów pozapiramidowych ani objawów zmuszających do wyłączenia z badania [109]. W innym badaniu, u wszystkich objętych nim ośmiu pacjentów lekoopornych po dodaniu do dotychczasowego leczenia SSRI risperidonu, zaobserwowano wystąpienie remisji w ciągu tygodnia od rozpoczęcia leczenia kombinowanego. Dodatkowo zastosowanie risperidonu wiązało się z poprawą snu oraz zmniejszeniem nasilenia dysfunkcji seksualnych Ostroff i Nelson [110]. Akceleracja odpowiedzi terapeutycznej obserwowana była również u 5 pacjentów, u których zastosowano połączenie risperidonu z milnacipranem [111].

Możliwości potencjalizacyjne **kwetiapiny** nie były jeszcze badane w grupach pacjentów z rozpoznaniem depresji jednobiegunowej. Użyteczność **ziprazidonu** w

charakterze substancji skutecznie wzmacniającej działanie przeciwdepresyjne sugeruje jedno badanie otwarte, obejmujące pacjentów lekoopornych [112].

Leki działające na układ dopaminergiczny.

Efektywność przeciwdepresyjna leków, których wpływ na przekąźnictwo dopaminergiczne jest dodatkowym (wenlafaksyna, sertralina, amitryptylina, amoksapina, trimipramina) lub podstawowym (bupropion) mechanizmem działania, sugeruje możliwość zwiększania skuteczności leczenia przeciwdepresyjnego przy pomocy związków o działaniu dopaminergicznym bezpośrednim lub pośrednim i należących do następujących grup: 1) leki przeciwparkinsonowskie (bromokryptyna, kabergolina, pramipeksol, amantadyna); 2) psychostymulanty (metylfenidat, amfetamina, modafinil); 3) atypowe neuroleptyki o działaniu dopaminergicznym (aripiprazol, sulpiryd, amisulpryd) [113].

Aktywność potencjalizującą **bromokryptyny** stosowanej zarówno w niskich (5 mg/d.), jak i wysokich dawkach (7.5 – 52.5)mg, mogą sugerować jedynie dwa opisy przypadków oraz jedno badanie, obejmujące 6 pacjentów z wysokim stopniem lekooporności [114-116]. Poważnym ograniczeniem w stosowaniu bromokryptyny mogą być objawy uboczne pojawiające się po zestawieniu z lekami przeciwdepresyjnymi (nudności, wymioty, zmiany ciśnienia) [8, 32]. Aktywność wzmacniającą leczenie przeciwdepresyjne **kabergoliny** sugerują opisy dwóch przypadków jej skutecznego połączenia z milnacipranem [117]. Zdolność **pramipeksolu** do potencjalizacji leczenia przeciwdepresyjnego sugerowana w dwóch badaniach pilotażowych, była szerzej badana na grupie 23 pacjentów z rozpoznaniem epizodu dużej depresji jedno- i dwubiegunowej. Dodanie pramipeksolu do dotychczasowego leczenia przeciwdepresyjnego (SSRI, TCA), wiązało się z

wystąpieniem remisji u 14 osób (60.9%), z czego u 4 osób do końca obserwacji (35.7%) stan psychiczny pogorszył się ponownie [118].

Na szczególną uwagę wśród leków antyparkinsonowskich zasługuje **amantadyna** – lek o licznych mechanizmach działania mogących tłumaczyć jego właściwości potencjalizujące. Poza niekompetytywnym antagonizmem wobec miejsca glutaminowego receptora NMDA, amantadyna posiada również aktywność przeciwwirusową oraz pośrednią aktywność dopaminergiczną [119, 120]. Sugeruje się, iż amantadyna długotrwale podawana z imipraminą wywołuje *up*-regulację receptorów dopaminowych D₂ oraz D₃, co ma być odpowiedzialne za synergizm działania tych substancji [121]. W Klinice Psychiatrii Dorosłych w Krakowie, w grupie 12 pacjentów z epizodem depresyjnym opornym na co najmniej 2 wcześniejsze terapie oraz brakiem istotnej reakcji na sześciotygodniowe leczenie imipraminą, dołączano amantadynę w dawce 100 – 150 mg/dobę. Po 6 tygodniach terapii kombinowanej zaobserwowano istotną statystycznie redukcję nasilenia objawów depresyjnych mierzonych Skalą Depresji Hamiltona oraz Inwentarzem Depresji Becka, wynoszącą odpowiednio 47.8 % i 49.5% w stosunku do punktu początkowego. Czterech pacjentów spełniło kryteria odpowiedzi terapeutycznej [122]. W innym badaniu, przeprowadzonym przez Stryjera i wsp. [123], dołączenie amantadyny do dotychczasowego, nieskutecznego leczenia przeciwdepresyjnego (wenlafaksyna, mirtazapina, trazodon, SSRI) wiązało się z wystąpieniem odpowiedzi terapeutycznej u 4 spośród 8 objętych obserwacją pacjentów. Metodyka obydwu przedstawionych badań nie pozwala na jednoznaczne określenie wartości amantadyny jako potencjalizatora leczenia przeciwdepresyjnego. Badania te stanowią uzasadnienie dalszych prac prowadzonych z zastosowaniem podwójnie ślepej próby i kontroli placebo oraz obejmujących większe grupy pacjentów.

Psychostymulanty - substancje, mające zarówno działanie dopaminergiczne jak i noradrenergiczne (metylfenidat, amfetamina), były stosowane w redukcji objawów rezydualnych, apatii, męczliwości i nadmiernej sedacji [124, 125]. Ponadto zaobserwowano, iż metylfenidat skutecznie przyspiesza wystąpienie efektu przeciwdepresyjnego citalopramu u pacjentów w wieku podeszłym [126]. Duże nadzieje związane są z modafinilem – nowym lekiem psychostymulującym o nieznanym mechanizmie działania. Wykazuje on aktywność potencjalizacyjną w przypadkach lekoopornych, szczególnie silnie redukując męczliwość [127, 128]. Aktualnym pozostaje pytanie o bezpieczeństwo stosowania psychostymulantów w kontekście ich działania uzależniającego.

Skuteczność połączenia leków przeciwdepresyjnych z **sulpirydem** czy **amisulprydem** u pacjentów z rozpoznaniem dużej depresji jednobiegunowej nie była jak dotąd badana. Aktywność potencjalizującą **aripiprazolu** może natomiast sugerować jedno badanie retrospektywne [129].

Hormony tarczycy

Koncepcja zastosowania hormonów tarczycy w celu wzmocnienia efektów terapii przeciwdepresyjnej wynikała z jednej strony z obserwowania w przebiegu niedoczynności tarczycy częstych objawów psychopatologicznych podobnych do depresji, z drugiej zaś strony z wykrywanej u części pacjentów z endogennym zespołem depresyjnym subklinicznej niedoczynności tarczycy i związanym z nią osłabieniem wzrostu syntezy TSH po stymulacji TRH [130]. Obecnie wiadomo, iż nie ma jednoznacznej zależności pomiędzy czynnością tarczycy a stopniem odpowiedzi na potencjalizację hormonami tarczycowymi, których mechanizm współdziałania z lekami przeciwdepresyjnymi nie jest jasny. Przypuszcza się jednak, iż wynika on z nasilenia

neurotransmisji serotoninerгіcznej w strukturach korykalnych na skutek desensytyzacji somatodendrytycznych autoreceptorów 5-HT_{1A} oraz sensytyzacji postsynaptycznych receptorów 5-HT₂ [131]. Pewną rolę może odgrywać również fakt, iż trójjodotyronina (T₃) stanowi kotransmitter w układzie noradrenergicznym [130].

Wzmocnienie oraz przyspieszenie efektu leczenia przeciwdepresyjnego przy pomocy T₃, zwłaszcza w przypadku zastosowania preparatów trójpierścieniowych, wykazywane były w wielu badaniach, a metoda ta, obok dołączenia litu lub atypowych neuroleptyków, należy do najbardziej rekomendowanych [7, 8]. W przeprowadzonej w 1996r. metaanalizie wyników 8 randomizowanych, kontrolowanych placebo badań, które sumarycznie objęły 292 pacjentów, odsetek popraw w grupach otrzymujących T₃ w porównaniu z grupami kontrolnymi był blisko dwukrotnie wyższy [132].

Podejmowane są również próby zastosowania hormonów tarczycy jako środków przyspieszających działanie leków trójpierścieniowych. Altshuler i wsp. przedstawili w 2001r. metaanalizę badań opisujących to zagadnienie. W 5-ciu z 6-ciu analizowanych badań obejmujących sumarycznie 125 pacjentów połączenie TCA i T₃ przyniosło istotne statystycznie przyspieszenie efektu przeciwdepresyjnego w porównaniu z grupami, w których zastosowano placebo [133].

Kwestia efektywności łączenia hormonów tarczycy z lekami nowej generacji, ze względu na niewielką ilość badań, obejmujących nieliczne grupy i niejednoznaczność wyników, nie została jeszcze rozstrzygnięta. Teoretycznie, biorąc pod uwagę postulowane, serotoninerгіczne mechanizmy przeciwdepresyjnego działania hormonów tarczycy, ich połączenie z lekami z grupy SSRI powinno skutkować wzmocnieniem i przyspieszeniem odpowiedzi na leczenie. Jednak badanie przeprowadzone na grupie 113 pacjentów z rozpoznaniem dużej depresji, nie wykazało przewagi połączenia

paroksetyna – T₃ nad połączeniem paroksetyna – placebo, zarówno pod względem wskaźnika odpowiedzi na leczenie jak i szybkości odpowiedzi [134].

Inhibitory steroidogenezy i sterydy nadnerczowe.

Zjawisko dysfunkcji osi podwzgórze-przysadka-nadnercza w przebiegu epizodu depresyjnego jest dobrze udokumentowane i przejawia się między innymi: hiperkortyzolemią, zmniejszeniem wahań dobowych kortyzolu we krwi, podwyższonym poziomem CRH w płynie mózgowo-rdzeniowym, zwiększeniem objętości nadnerczy oraz osłabieniem hamowania zwrotnego podwzgórza i przysadki przez kortyzon (dodatni test deksametazonowy) [135]. Powyższe dane wskazują na możliwość zastosowania w leczeniu depresji substancji, które na drodze różnych mechanizmów oraz na różnych poziomach hamują aktywność HPA. Do substancji tych należą: 1) sterydy nadnerczowe (deksametazon, hydrokortyzon), ACTH i CRH, których podanie może nasilić mechanizmy ujemnego sprzężenia zwrotnego HPA; 2) inhibitory steroidogenezy (aminoglutetymid, metyrapon); 3) antagoniści receptora kortyzolowego (ketokonazol).

Opisy pojedynczych przypadków oraz wyniki badań prowadzonych na z reguły bardzo niewielkich grupach pacjentów z rozpoznaniem dużej depresji i/lub depresji lekoopornej, u których stosowano w monoterapii **aminoglutetymid**, **ketokonazol** czy **metyrapon** lub dodawano je do wcześniejszego leczenia przeciwdepresyjnego, dały obiecujące rezultaty wskazujące na potencjał przeciwdepresyjny tych substancji. W przeprowadzonej przez Wolkiwitza i Reusa [136] analizie 11 takich badań i opisów przypadków zastosowania tych substancji u 77% spośród leczonych pacjentów zanotowano częściową odpowiedź terapeutyczną, a u 67% odpowiedź zakwalifikowano jako pełną lub znaczącą klinicznie. Jak dotąd przeprowadzono nieliczne obserwacje

obejmujące ponad 10 osobowe grupy pacjentów. W randomizowanym badaniu Jahna i wsp. [137], obejmującym 64 pacjentów połączenie metyraponu (1g/dz.) z lekiem przeciwdepresyjnym (nefazodon lub fluwoksamina) charakteryzowało się istotnie większym od placebo odsetkiem odpowiedzi terapeutycznych w 21 i 35 dniu obserwacji, co sugeruje zdolność metyraponu do potencjalizacji i akceleracji. W Klinice Psychiatrii Dorosłych w Krakowie przeprowadzono obserwację 9 pacjentów z epizodem depresyjnym opornym na 6 tygodniową terapię imipramina oraz co najmniej 2 wcześniejsze, adekwatne terapie. Przez dalsze 6 tygodni do podawanej imipraminy dołączono metyrapon (500 mg/dobę). Zaobserwowano istotną redukcję nasilenia objawów depresyjnych, badanych Skalą Depresji Hamiltona, dokonującą się w czasie łącznego podawania imipraminy i metyraponu (średni wynik HDRS na początku badania: 31,9 vs 17,2 na końcu badania). Trzech pacjentów spełniło kryteria odpowiedzi terapeutycznej. Połączenie metyraponu i imipraminy nie wiązało się z istotnymi efektami ubocznymi [138]. Zastosowanie inhibitorów steroidogenezy i antagonistów receptora kortyzolowego wydaje się być uzasadnione, zwłaszcza w przypadku lekooporności z wykazaniem zaburzeniem aktywności HPA [7, 8, 32]. Problem ten wymaga poprawnych metodycznie badań, prowadzonych na dużych populacjach pacjentów.

Połączenia **hydrokortyzonu** czy **CRH** z lekami przeciwdepresyjnymi nie były jak dotąd badane, warto jednak zaznaczyć, iż istnieje doniesienie o istotnie wyższej od placebo i CRH, szybko występującej aktywności przeciwdepresyjnej kilkudniowej, dożylnej monoterapii hydrokortyzonem [139]. Podobne wyniki dała czterodniowa monoterapia **deksametazonem** (jedna iniekcja dziennie), będąca przedmiotem jednego badania kontrolowanego placebo [140]. Badanie obejmujące 10 pacjentów, niereagujących na terapię SSRI, sugeruje ponadto możliwość wykorzystania schematu

czterech iniekcji deksametazonu w celu zwiększenia skuteczności wcześniej wprowadzonego leczenia przeciwdepresyjnego [141].

Hormony płciowe

Zakłada się, iż zastosowanie **estrogenów** w celu zwiększania efektywności leków przeciwdepresyjnych może znaleźć zastosowanie u kobiet w okresie postmenoapuzalnym lub w innych przypadkach niedoborów żeńskich hormonów płciowych i związanych z nimi zaburzeniami emocjonalnymi. W jednym z badań dołączanie w grupie 11 kobiet estrogenów do nieskutecznej terapii imipraminą, nie spowodowało jednak istotnej poprawy stanu psychicznego [142]. Podobnie Amsterdam i wsp. [143] w obserwacji retrospektywnej nie stwierdzili różnic w skuteczności leczenia fluoksetyną pomiędzy grupą kobiet w wieku (N=40), otrzymujących hormonalną terapię zastępczą a kobietami w wieku ≥ 45 lat nie otrzymującymi takiej terapii (N=132) lub kobietami młodszymi (N=396), czy też mężczyznami (N=262). Z kolei obserwacja Schneidera i wsp. zdaje się wykazywać istotnie większą od placebo aktywność potencjalizacyjną estrogenów stosowanych w połączeniu z fluoksetyną u kobiet w okresie postmenopauzalnym (n=358) [144]. Wydaje się zatem, iż ocena skuteczności estrogenów wymaga dalszych badań, przy czym kluczowe znaczenie może mieć wiek obejmowanych nimi pacjentek i zastosowanie podwójnie ślepej próby i kontroli placebo.

Zachodzący u mężczyzn w przebiegu procesów starzenia spadek poziomu **testosteronu** wiąże się z występowaniem różnorodnych objawów, w tym objawów afektywnych. Ponadto niektóre badania mogą wskazywać na istotną rolę obniżenia poziomów testosteronu w generowaniu lekooporności dystymii oraz epizodów

depresyjnych u starszych mężczyzn. Dane te sugerują możliwość potencjalizacji leczenia przeciwdepresyjnego testosteronem u mężczyzn ze stwierdzonym obniżeniem jego poziomu. [145]. Koncepcję tą zdają się potwierdzać dwa badania. W obserwacji Seidmana i Rabkina [146] u 5 mężczyzn dołączenie testosteronu w do SSRI przyniosło znaczną i szybko następującą redukcję nasilenia objawów depresyjnych, a zamiana testosteronu na placebo wiązała się z nawrotem objawów u 3 osób. Pope i wsp. [147] wykazali natomiast, w badaniu przeprowadzonym w grupie 22 osób, znacząco większą od placebo redukcję nasilenia depresji po dołączeniu do dotychczasowej terapii przeciwdepresyjnej żelu testosteronowego.

Tryptofan

Zastosowanie tryptofanu - aminokwasu będącego prekursorem serotoniny - w zwiększaniu efektywności leczenia przeciwdepresyjnego, było przedmiotem licznych badań od lat sześćdziesiątych i siedemdziesiątych, kiedy to zaobserwowano jego silne działanie w połączeniu z nieodwracalnymi inhibitorami monoaminooksydazy. Dane dotyczące jego wpływu na skuteczność leczenia preparatami trójpierścieniowymi mają mniej spójny charakter. Obserwowano, przedstawianą w opisach przypadków, przewagę tryptofanu nad placebo w nasilaniu przeciwdepresyjnego działania klomipraminy [148]. Z drugiej strony w licznych badaniach nie stwierdzano efektu potencjalizacyjnego tryptofanu w połączeniach z klomipraminą, imipraminą, dezipraminą, amitryptyliną, a także fluoksetyną. Sugeruje się, iż zastosowanie tryptofanu może wiązać się z przyspieszeniem wystąpienia odpowiedzi na leczenie. W jednym randomizowanym badaniu z podwójnie ślepą próbą, u 30 pacjentów z rozpoznaniem dużej depresji połączenie tryptofanu z fluoksetyną było dobrze tolerowane i wiązało się z wystąpieniem istotnie większej, w porównaniu do połączenia fluoksetyna – placebo,

redukcji punktacji w skali HDRS już po pierwszym tygodniu leczenia [149]. W USA i Wielkiej Brytanii na początku lat dziewięćdziesiątych tryptofan został wycofany z leczenia z powodu występowania zespołu eozynofilia-mialgia, wywoływanego przez towarzyszące mu zanieczyszczenia powstające w trakcie produkcji [105].

S-adenosyl-L-metionina (SAM)

SAM, jako naturalny donor grup metylowych bierze udział w syntezie wielu neuroprzekaźników. W przeprowadzonej do tej pory niewielkiej liczbie badań klinicznych SAM podawana doustnie lub domięśniowo, przy bardzo dobrej tolerancji i wysokim stopniu bezpieczeństwa, odznaczała się znacząco wyższą od placebo oraz porównywalną do imipraminy aktywnością przeciwdepresyjną, pojawiającą się wcześniej niż w przypadku stosowania konwencjonalnego leczenia. Sugeruje się również zdolność SAM do potencjalizacji działania antydepresantów [150]. W jednym badaniu otwartym po dołączeniu SAM (800 – 1600 mg/dz.) u 30 pacjentów, nie reagujących na dotychczasowe leczenie wenlafaksyną lub SSRI, uzyskano wysokie wskaźniki odpowiedzi terapeutycznej i remisji wynoszące odpowiednio: 50% i 43%. Do nielicznych objawów ubocznych pojawiających się w trakcie leczenia kombinowanego należały: zaburzenia żołądkowo-jelitowe oraz bóle głowy [151].

Galanina

Jak wykazano, ustępowanie objawów depresyjnych zbiega się w czasie między innymi ze zmianami proporcji i aktywności receptorów galaninowych. W badaniach na zwierzętach podawanie fluoksetyny, działanie elektrowstrząsów lub deprywacji snu wiąże się ze wzrostem syntezy galaniny oraz wzrostem ekspresji receptorów galaninowych w jądrach szwu oraz w obrębie miejsca sinawego. Na udział galaniny w patogenezie i terapii depresji zdaje się wskazywać również fakt, iż u zwierząt

doświadczalnych podawanie M40 - antagonisty receptorów galaninowych – pociąga za sobą osłabienie działania fluoksetyny w teście wymuszonego pływania (tzw. test Porsolta) [152]. W jednym z badań, przeprowadzonych z zastosowaniem podwójnie ślepej próby oraz kontroli placebo, galanina w podaniach dożylnych dołączana była u 10 pacjentów leczonych nieefektywnie trimipraminą. Zdolność do potencjalizacji oraz akceleracji leczenia przeciwdepresyjnego przez galaninę manifestowała się znacząco większą niż w grupie placebo redukcją punktacji w skali HDRS, obserwowaną pomiędzy godziną 8³⁰ a 12³⁰ w ciągu 2 dni obserwacji [153].

ω -3- kwasy tłuszczowe

Z badań epidemiologicznych wynika, iż zmniejszone spożycie ω -3 kwasów tłuszczowych jest skorelowane ze zwiększoną zapadalnością na powiązane ze sobą patofizjologicznie: depresję i chorobę niedokrwienną serca. ω -3- kwasy tłuszczowe mają prawdopodobnie właściwości stabilizujące nastrój, na co mogłyby wskazywać wyniki jednego, do tej pory przeprowadzonego u osób z rozpoznaniem choroby dwubiegunowej, randomizowanego badania kontrolowanego placebo [154]. Wyniki badań dotyczących zastosowania ω - 3 - kwasów tłuszczowych w potencjalizacji leczenia przeciwdepresyjnego mają sprzeczny charakter. W randomizowanym badaniu, obejmującym 20 pacjentów, dołączenie kwasu eikozanopentaenowego (EPA) do aktualnej adekwatnej farmakoterapii przeciwdepresyjnej wiązało się z uzyskaniem znacząco wyższego od placebo wskaźnika odpowiedzi na leczenie (60% vs 10%) (154). Z drugiej strony inne, randomizowane badanie, obejmujące grupę 77 osób z rozpoznaniem dużej depresji, nie potwierdziło niestety przewagi nad placebo preparatów olejów rybnych stosowanych w celu potencjalizacji terapii przeciwdepresyjnej [155].

Laboratoryjne markery stanu depresyjnego oraz reakcji na leczenie

Pod pojęciem markerów laboratoryjnych depresji można rozumieć takie wykrywane w badaniach krwi, moczu, śliny (czy innych próbkach laboratoryjnych) parametry, które albo stanowią stałą cechę depresji jako choroby i w postaci niezmienniczej występują zarówno w ostrej fazie choroby jak i w fazie remisji (**marker cechy**, z ang. - *trait marker*), albo mają charakter dynamiczny i ulegają zmianie wraz ze zmianą nasilenia objawów i procesów patofizjologicznych towarzyszących ostremu epizodowi choroby. (**marker stanu**, z ang. – *state marker*) Dokładne poznawanie markerów cechy może potencjalnie przyczynić się do możliwości wykrywania podatności na depresję przed jej wystąpieniem i jej wczesnego wykrywania. Opracowywanie rzetelnych markerów stanu może natomiast pozwolić na prognozowanie stopnia i szybkości odpowiedzi terapeutycznej oraz szacowanie zagrożenia nawrotem.

Żadna z wykrywanych dotąd w depresji nieprawidłowości czy odmienności w badaniach laboratoryjnych nie może zostać uznana za użyteczny klinicznie marker. Część z nich po wieloletniej weryfikacji została odrzucona, pozostałe wykazane zostały w pojedynczych badaniach i na taką weryfikację dopiero oczekują.

Test hamowania deksametazonem (DST) i inne markery hormonalne

Najbardziej znanym i wielokrotnie badanym laboratoryjnym markerem stanu depresyjnego jest test deksametazonowy. Pozytywny wynik DST, świadczący o osłabieniu ujemnego sprzężenia zwrotnego w obrębie osi stresu, stwierdza się jednak zaledwie u 40 – 50% chorych (nieco większy odsetek pozytywnych wyników charakteryzuje subpopulację pacjentów z depresją melancholiczną lub psychotyczną).

Jego niskiej czułości w zespołach depresyjnych towarzyszy również niezadowalająca swoistość. Znaczące odsetki pozytywnych wyników DST stwierdza się w anoreksji, schizofrenii, uzależnieniu od alkoholu, w stanach chronicznego stresu oraz pod wpływem niektórych leków. Z tych właśnie przyczyn test DST nie może znaleźć praktycznego zastosowania. Od wielu lat prowadzone są badania nad jego usprawnieniem, czego przykładem może być, charakteryzujący się znacznie większą czułością, test deksametazon - CRH. DST oraz jego modyfikacje mają potencjalną wartość prognostyczną [136, 156, 157]. Wykrywana przez nie, uporczywa i utrzymująca się mimo pozytywnej odpowiedzi na leczenie hiperstymulacja HPA wskazuje na wysokie ryzyko zaostrzenia lub nawrotu objawów depresyjnych. Z drugiej strony słabiej wyrażona wzmożona aktywność osi podwzgórze-przysadka-nadnercza i jej ustępowanie w przebiegu terapii zapowiadają wczesną i pełną reakcję na leczenie oraz lepszą prognozę długoterminową. [158].

Kolejnym testem, który pomimo intensywnych badań nie mógł znaleźć zastosowania klinicznego, jest test stymulacji TRH. Osłabiony wzrost syntezy TSH po stymulacji TRH występuje bowiem zaledwie u 25 – 30 % pacjentów z rozpoznaniem dużej depresji i jest obecny również w przebiegu innych zaburzeń psychicznych (epizod maniakalny, uzależnienie od alkoholu, zaburzenia osobowości typu *borderline*, zespół lęku napadowego) [156, 157, 159]. Interesującym, ale wysoce niepraktycznym sposobem na zwiększenie wartości klinicznej testów: DST i stymulacji TRH było ich równoczesne wykonanie pozwalające na prognozowanie odpowiedzi na leczenie z 50% czułością i 100% swoistością [160].

Obecnie prowadzone są badania nad opracowaniem nowych, mniej kłopotliwych w oznaczaniu markerów depresji związanych z zaburzeniami hormonalnymi. Przykładem tego mogą być oznaczenia kortyzolu i dehydroepiandrosteronu (DHEA) w

próbkach śliny. Jak wynika z pierwszych obserwacji, wielkość współczynnika stężeń kortyzol/DHEA w ślinie pacjentów z pełnoobjawowym epizodem depresji jest znacząco wyższa w porównaniu do zdrowych ochotników i dodatnio skorelowana z długością jego trwania, a obniżenie bezwzględne poziomu DHEA dodatnio skorelowane z nasileniem objawów [161, 162].

Markery immunologiczne

Liczne badania dowiodły, iż depresja wiąże się z występowaniem zaburzeń funkcji systemu odpornościowego, typowych dla procesów zapalnych i/lub autoimmunologicznych. Do najczęściej obserwowanych należą: 1) wzrost liczby aktywności makrofagów; 2) zwiększenie współczynnika limfocytów CD4/CD8; 3) obniżenie aktywności proliferacyjnej limfocytów na miogeny; 4) spadek bezwzględnej liczby limfocytów T i B; 5) obniżenie aktywności cytotoksycznej komórek NK; 6) zwiększenie wydzielania, elastazy polimorfonuklearnej (PMNE) i neopteryny; 7) wzrost poziomu pozytywnych białek ostrej fazy (haptoglobiny, alfa-1-antytrypsyny, ceruloplazminy, kwaśnej alfa-1-glikoproteiny, białka c-reaktywnego, alfa-1-antyhymotrypsyny); 8) spadek poziomu peptydazy dipeptydylowej IV oraz (DPP IV) negatywnych białek ostrej fazy (albuminy, transferyny); 9) wzrost poziomu interleukin 1 (IL-1) i 6(IL-6), rozpuszczalnego receptora IL-6 (sIL-6R), rozpuszczalnego receptora interleukiny 2 (sIL-2R), receptora transferyny (TfR) [163-166]. Wyniki zaledwie pojedynczych badań sugerują, że: 1)poziomy: sIL-6R, sIL-2R, TfR (a także IL-1 i haptoglobiny w subpopulacji pacjentów z objawami melancholicznymi) nie ulegają normalizacji w okresie remisji i mogą stanowić stały marker depresji [164]; 2)bardzo wysoki wzrost poziomu kwaśnej alfa-1-glikoproteiny wskazuje na duże prawdopodobieństwo braku odpowiedzi na leczenie [166]; 3) poziom DPP IV ujemnie

koreluje z nasileniem depresji [167]; 4) poziomy PMNE, INF α i CRP ulegają normalizacji w przebiegu skutecznej farmakoterapii i mogą stanowić markery nasilenia depresji i/lub ustępowania stanu depresyjnego. Wszystkie te wyniki wymagają dalszych potwierdzeń [168].

Lipidy osoczowe

Istnieją doniesienia, wedle których zmiany poziomu cholesterolu osoczowego (najczęściej jego spadek) są charakterystycznym zjawiskiem dla epizodu depresyjnego oraz mogą stanowić marker zagrożenia zachowaniami samobójczymi [169]. Przykładowo, w badaniach Maesa i wsp. [170, 171], u pacjentów depresyjnych wykazano znacząco niższe, w porównaniu do osób zdrowych i nie ulegające normalizacji po skutecznym leczeniu, wartości cholesterolu całkowitego (C), cholesterolu HDL i współczynnika HDL/C. Poziomy HDL były najniższe u pacjentów z historią zachowań samobójczych. Kim i Mytni [172] na podstawie porównania dużej grupy pacjentów z rozpoznaniem depresji i aktualnymi zachowaniami samobójczymi z pacjentami depresyjnymi nie wykazującymi takich zachowań ustalili, że poziom cholesterolu całkowitego poniżej 180 mg/dl może stanowić czuły (82%), a poziom poniżej 150 mg/dl specyficzny (72%) marker zagrożenia samobójstwem w depresji. Z drugiej strony jednak dwa ostatnio przeprowadzone badania, obejmujące duże grupy pacjentów i zdrowych ochotników, nie wykazały żadnych zależności pomiędzy poziomami lipidów osoczowych a nasileniem depresji, jej przebiegiem czy też obecnością zachowań samobójczych [173, 174].

Markery krwinkowe

Przypuszcza się, iż niektóre wykazywane w przebiegu depresji zaburzenia metabolizmu i aktywności krwinek mogą odzwierciedlać obecność procesów patologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym i stanowić marker stanu depresyjnego i/lub odpowiedzi na leczenie. Najczęściej obserwowanym w przebiegu depresji zaburzeniem funkcji krwinek płytkowych, uważanym za obwodowy marker depresji, jest zwiększona gęstość oraz nadwrażliwość płytkowych receptorów 5-HT_{2A}, objawiająca się znaczącym wzrostem wewnątrzkomórkowego poziomu wolnego wapnia po stymulacji serotoniną [175]. Jak wynika z dwóch przeprowadzonych do tej pory badań, nadwrażliwość ta w niezmiennym stopniu utrzymuje się nadal w okresie remisji, po zastosowaniu farmakoterapii, natomiast zastosowanie elektrowstrząsów wiąże się ze znaczącą redukcją reaktywności płytek na serotoninę. [176, 177]. U pacjentów cierpiących na depresję wykryto również zwiększoną gęstość płytkowych receptorów adrenergicznych α_2 , ulegającą normalizacji w przypadku ustępowania objawów depresji. Brak spadku zagęszczenia receptorów α_2 oraz ich zmniejszona zdolność do łączenia się z białkiem G_i wydają się być potencjalnymi predyktorami braku odpowiedzi na leczenie. Kolejnym zjawiskiem zachodzącym w przebiegu depresji jest podwyższenie poziomu markerów aktywacji płytek, czego przykładem jest wzmożona ekspresja selektyny – P, utrzymująca się w niezmiennym stopniu również w okresie remisji i odzwierciedlająca typowe dla depresji podwyższone ryzyko powikłań choroby niedokrwiennej serca [178]. Dalszych badań pod względem użyteczności w charakterze markerów wymagają, wykazywane u pacjentów z rozpoznaniem depresji: zmniejszona aktywność płytkowej cykazy adenylowej i zwiększona zawartość wewnątrzpłytkowej serotoniny. Jak dotąd zaobserwowano, iż bardzo znaczne

podwyższenie wewnątrzpłytkowej serotoniny wiąże się ze znacznym ryzykiem opóźnionej i/lub osłabionej odpowiedzi terapeutycznej [179].

Badania limfocytów pobranych od pacjentów w ostrej fazie depresji wskazują na spadek zarówno ilości, jak i aktywności białek G (G_s i G_i). Obydwa te parametry, pozostające w dodatniej korelacji z nasileniem objawów chorobowych, stanowią potencjalne markery obecności i ustępowania stanu depresyjnego [180]. Kolejnym kandydatem do roli markera depresji wydaje się być mRNA limfocytarnego receptora D_4 , którego poziom w jednym do tej pory przeprowadzonym badaniu, znacząco obniżony u nieleczonych pacjentów z rozpoznaniem epizodu dużej depresji, wzrastał do wartości porównywalnych z grupą zdrowych ochotników po skutecznym leczeniu przeciwdepresyjnym [181].

Obwodowy BDNF (*brain derived neurotropic factor*) jako marker depresji

Koncepcja depresji jako wyniku zaburzeń mechanizmów neuroportekcji i nadmiernej aktywacji układu aminokwasów pobudzających oraz dane wskazujące na wzrost syntezy BDNF w centralnym systemie nerwowym, obserwowany w badaniach za zwierzętach po zastosowaniu zarówno klasycznych leków przeciwdepresyjnych, jak i preparatów hamujących aktywność receptora NMDA, skłoniły do badań zmian poziomu BDNF we krwi pacjentów cierpiących na depresję. Dwa przeprowadzone do tej pory badania pokazały, iż w trakcie epizodu depresyjnego ma miejsce znaczące w porównaniu do grup zdrowych ochotników obniżenie surowicowego stężenia BDNF. Poziom ten jest negatywnie skorelowany z nasileniem depresji mierzonym HDRS i ulega normalizacji pod wpływem skutecznego leczenia [182, 183].

Cynk, magnez i miedź jako markery depresji

Cynk, magnez oraz miedź są ważnymi modulatorami przekąźnictwa glutaminianergicznego powiązanego z etiopatogenezą depresji. Wiadomo również, że fizjologiczne stężenia miedzi odgrywają istotną rolę w aktywacji zależnych od tego pierwiastka enzymów, zaangażowanych w przekąźnictwo katecholaminowe. Poza tym zarówno niedobory cynku czy magnezu, jak i zaburzenia spichrzania miedzi, wiążą się z występowaniem licznych objawów psychopatologicznych, często składających się na obraz depresji. Dane te uzasadniają badania zmian obwodowych stężeń wyżej wymienionych pierwiastków w przebiegu epizodu depresyjnego [184,185].

Do tej pory przeprowadzono kilka badań stężenia miedzi w surowicy u ludzi cierpiących na depresję. Ich wyniki nie są jednoznaczne, chociaż według większości z nich osoby z rozpoznanym epizodem depresyjnym mają znacząco statystycznie podwyższone stężenie miedzi we krwi, ulegające normalizacji po skutecznej farmakoterapii. Badania osoczowego poziomu magnezu wykazywały zarówno brak różnic jak i obniżone, a niekiedy podwyższone wartości w porównaniu do zdrowych ochotników [184]. Spośród wymienionych pierwiastków badania stężeń cynku są najbardziej obiecujące i wydają się mieć najmocniejsze podstawy teoretyczne i eksperymentalne [185]. Omówiono je w rozdziale: „*Udział cynku w patofizjologii i terapii depresji*”.

Układ glutaminianergiczny i jego udział w patofizjologii i terapii depresji

Budowa i fizjologia układu glutaminianergicznego

Okolo 99% neuronów mózgu człowieka tworzy parę antagonistycznych układów: pobudzający układu glutaminianergiczny i hamujący układ GABA-ergiczny. Największe skupiska neuronów glutaminianergiczych, występujące w korze mózgowej, posiadają projekcje do licznych struktur mózgu i rdzenia kręgowego (prążkowie, jądro półleżące, guzek węchowy, jądro migdałowe, wzgórze, obszar brzuszny nakrywki, jądro czerwienne, istota czarna, jądra mostu). W zależności od okolicy i warstwy kory mózgowej, neurony glutaminowe stanowią od kilkunastu do 50% wszystkich komórek nerwowych. Receptory układu glutaminianergicznego obecne są na prawie wszystkich neuronach mózgu oraz na komórkach glejowych, a glutaminian stanowi najpowszechniejszy neuroprzekaźnik w systemie aminokwasów pobudzających [186, 187].

Receptory układu glutaminianergicznego dzielą się na dwie grupy: jonotropowe i metabotropowe. Wśród receptorów jonotropowych wyróżnia się: **receptory NMDA** oraz receptory **nie-NMDA**: 1) **receptor AMPA**, 2) **receptor kainowy** [186, 188, 189]. Każdy receptor jonotropowy zbudowany jest z czterech podjednostek białkowych, tworzących kanał jonowy (budowa tetrameryczna), ulegający otwarciu po aktywacji i przepuszczający głównie kationy wapniowe, sodowe i potasowe. Receptory jonotropowe biorą udział w szybkiej transmisji synaptycznej [188, 189]. Fizjologiczna rola receptorów NMDA jest bardzo różnorodna. Biorą one udział w: rozwoju i dojrzewaniu centralnego systemu nerwowego, synaptycznych procesach adaptacyjnych, mechanizmach plastyczności synaptycznej, procesach uczenia się i pamięci,

powstawaniu lęku i formowaniu reakcji awersyjnych regulacji i kontroli czynności oddechowej, przekazywaniu impulsów wzrokowych oraz bólu [189, 190]. Niewłaściwa i/lub nadmierna aktywacja kompleksu NMDA w mózgu może powodować masywny napływ wapnia do komórki nerwowej, indukujący jej apoptozę (zjawisko ekscytotoksyczności). Sugeruje się, iż nadmierna aktywacja oraz inne patologie funkcji i regulacji receptora NMDA, biorą udział w powstawaniu wielu chorób psychicznych oraz neurologicznych, takich jak: schizofrenia, zaburzenia afektywne, zaburzenia lękowe, uzależnienia, choroby neurodegeneracyjne, tworzenie ogniska zawału mózgu [186, 189].

Receptory metabotropowe zaangażowane są w proces modulacji pobudzenia neuronów. Ich aktywacja za pośrednictwem białka G wyzwała kaskadę wtórnych przekazników [186].

Budowa receptora NMDA

Budowa strukturalna receptora NMDA przypomina budowę innych receptorów związanych z kanałami jonowymi, bramkowanymi przez neuroprzekaznik (np. receptory: 5-HT₃, glicynowy, nikotynowy, receptor GABA_A i C). Tworzą go cztery podjednostki białkowe, formujące kanał jonowy i zawierające liczne miejsca regulatorowe (patrz rysunek 1). Podjednostki te, na podstawie badań molekularnych podzielono na dwa typy, wykazujące zaledwie około 18% podobnych sekwencji aminokwasowych: **NR1** – kodowane przez jeden gen i **NR2** – kodowane przez cztery geny. Różnorakie składanie się (*splicing*) trzech egzonów w obrębie genu podjednostki NR1 - jednego kodującego 21-aminokwasowy insert w obrębie końca aminowego (N1, egzon 5) oraz dwóch kodujących dodatkowe 37 i 38 aminokwasowe sekwencje w obrębie końca karboksylowego (odpowiednio C1- egzon 21, C2 – egzon 22) - jest odpowiedzialne za istnienie jej ośmiu izoform (*splice*-wariantów). Ponadto wyróżnia się

cztery podstawowe warianty podjednostki NR2, różniące się w około 50 – 60% sekwencjami aminokwasowymi; są to: NR2_A, NR2_B, NR2_C, NR2_D. W skład prawidłowo funkcjonującego receptora muszą wchodzić zarówno podjednostki NR1 jak i NR2. W jednym receptorze mogą być obecne różne warianty podjednostek NR2 [191-193].

W budowie każdej podjednostki białkowej receptora NMDA występują cztery 20- aminokwasowe sekwencje o właściwościach hydrofobowych, tworzące regiony przechodzące przez błonę komórkową (transmembranowe) i oznaczone symbolami: **TM1, TM2, TM3, TM4**. Pomiedzy odcinkami TM3 i TM4 łańcuch polipeptydowy tworzy dużą pętlę wystającą na zewnątrz komórki (pętla TM3-TM4). Znajdujący się na zewnątrz neuronu obszar, zawarty pomiędzy odcinkiem TM1 a pętlą TM3-TM4, tworzy przypominające muszlę małża, miejsce wiązania agonisty lub koagonisty. Region TM2, na kształt spinki do włosów, wgłębia się od strony cytoplazmy do błony komórkowej nie przebijając jej. W jego obrębie znajduje się asparagina, mająca kluczowe znaczenie dla stopnia przepuszczalności kanału dla kationów. W obrębie podjednostek białkowych znajdują się ponadto liczne miejsca regulatorowe, przyłączające ligandy lub podlegające reakcjom chemicznym (patrz rysunek 2). Na uwagę zasługuje **miejsce fencyklidynowe** (tzw. **miejsce PCP**), znajdujące się wewnątrz kanału jonowego. Fizjologiczna rola miejsca PCP nie jest dokładnie znana, podobnie jak nie są znane jego endogenne ligandy. Wiadomo natomiast, że PCP wywołuje bezkompetycyjną blokadę receptora NMDA oraz wiąże się klinicznie z występowaniem objawów wytwórczych. Niektóre substancje oddziałujące z miejscem PCP wykazują aktywność przeciwdepresyjną i/lub prokognitywną (MK-801, metapramina, ketamina, MK-801); [186, 191-193]; (patrz rysunek 1).

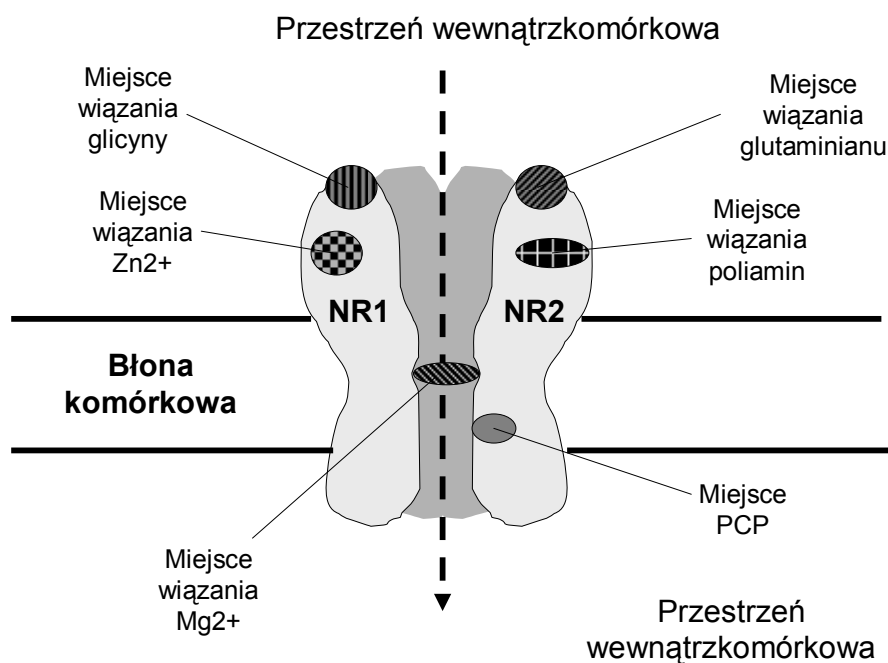
W ostatnim czasie wykryto istnienie nowej klasy tzw. podjednostek podobnych do podjednostek NMDA (*NMDA receptor-like subunits*) i oznaczanych symbolami:

NMDAR-L, NR3_A lub x-1. Mogą one łączyć się z podjednostkami NR1 i NR2_B, a ich obecność wiąże się z osłabieniem aktywności receptora i modyfikacją jego przewodności dla jonów wapniowych. Podjednostki NR3_A wykazują 27% podobieństwo genetyczne z podjednostkami receptorów NMDA i 23% podobieństwo do jednostek nie-NMDA [192-194].

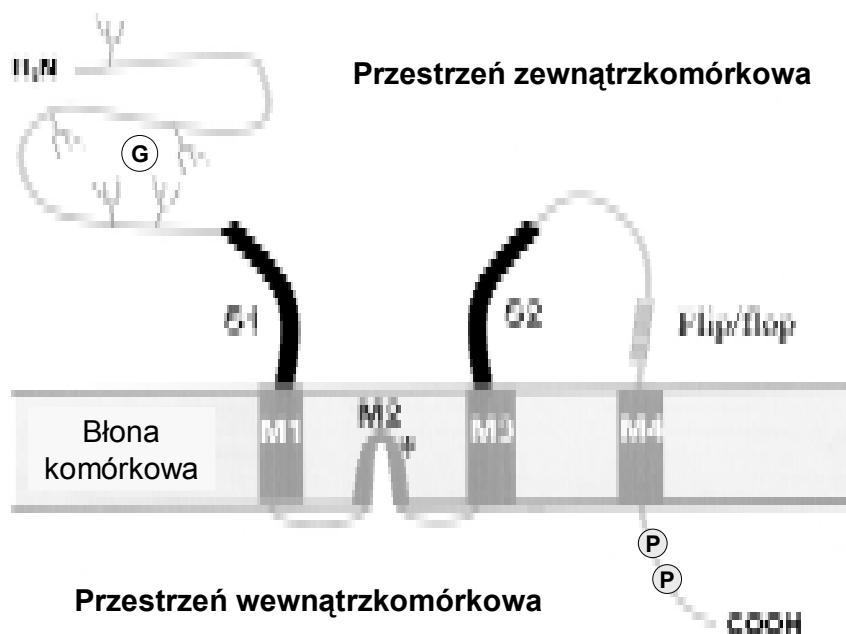
Każdy wariant receptora NMDA powstały z kombinacji podjednostki NR1 z różnymi podtypami podjednostek NR2 i występujący w określonych obszarach mózgu, charakteryzuje się specyficznym profilem takich właściwości jak: przewodność kanału dla jonów, kinetyka procesów deaktywacji, powinowactwo do określonych naturalnych i sztucznych agonistów, koagonistów i antagonistów [191-193].

Receptor NMDA, podobnie jak inne kanały jonowe, nie występuje w błonie komórkowej w postaci izolowanej. Końce karboksylowe jego podjednostek NR1 i NR2_B powiązane są z neurofilamentami cytoszkieletu oraz **białkami SAP** (*synapse associated protein*;; inne nazwy to: *channel-associated proteins of synapse*; *chapsyns*), wymuszającymi jego rozmieszczenie, warunkującymi strukturalną stabilizację oraz pozwalającymi na interakcję ze środowiskiem wewnątrzkomórkowym i znajdującymi się tam enzymami [191]. Wiadomo również, że z białkiem SAP o nazwie PSD-95 połączona jest **syntaza tlenku azotu** (NOs), katalizująca przemianę argininy w NO i cytrulinę. Enzym ten ulega aktywacji pod wpływem kompleksu kalmodulina-wapń po otwarciu kanału jonowego receptora NMDA. Powstający w wyniku tego tlenek azotu pełni funkcję wstecznego neuroprzekaźnika. Dyfunduje on z zakończenia postsynaptycznego do presynaptycznego, gdzie w mechanizmie zależnym od cykazy guanylowej, pobudza dalsze wydzielanie neuroprzekaźników. Proces ten odgrywa znaczącą rolę zarówno w długotrwałej potencjalizacji (*long – term potentiation*, LTP),

jak i w mediowaniu nadmiernego pobudzenia neuronów typowego dla patologicznego zjawiska ekscytotoksyczności [195].



Rysunek 1. Budowa receptora NMDA. **Objaśnienia:** NR1, NR2 – podjednostki białkowe,



Rysunek 2. Budowa podjednostki białkowej receptora NMDA.

Objaśnienia: (G) – miejsca glikozylacji; (P) – miejsca fosforylacji; M1, M2, M3 – regiony transmembranowe; S1, S2 – fragmenty tworzące miejsce wiązania agonisty lub ko-agonisty.

Aktywacja receptora NMDA i jego agoniści

Pełna aktywacja kanału receptora NMDA wymaga obecności zarówno **L-glutaminianu**, będącego głównym agonistą, jak i koagonisty, którym najczęściej jest **glicyna**. Rolę koagonisty może również spełniać **D-seryna**, przeważająca ilościowo nad glicyną w takich strukturach mózgu jak: istota szara kory mózgowej, hipokamp, opuszki węchowe, prążkowie i ciało migdałowe. Oprócz glutaminianu właściwości agonistyczne wobec receptora NMDA w warunkach naturalnych mogą spełniać **kwasy: asparaginowy i chinolinowy** [186, 193]. Analiza kinetyki aktywacji receptora pozwoliła na ustalenie, iż do otwarcia kanału jonowego receptora konieczne jest przyłączenie nie tylko dwóch molekuł agonisty, ale również dwóch molekuł koagonisty. Zaobserwowano również, iż glutaminian na zasadzie modyfikacji allosterycznej zwiększa powinowactwo glicyny, a glicyna i D-seryna zwiększa powinowactwo glutaminianu do znajdujących się na receptorze odpowiednich dla nich miejsc ich wiązania. Miejsce wiązania glicyny (GLY_B) znajduje się na podjednostce NR1. Stopień jego wysycenia, zależny od stale zmieniającego się stężenia glicyny lub D-seryny w przestrzeni pozakomórkowej, jest czynnikiem determinującym zdolność receptora do wejścia w stan pobudzenia. Endogennym antagonistą miejsca GLY_B jest produkowany przez astrocyty kwas kinurenowy [191-193]. Receptory NMDA, w zależności od kombinacji budujących je podjednostek, pozostających w allosterycznej interakcji, charakteryzują się różnorodnym powinowactwem do koagonisty. Największym powinowactwem do glicyny odznaczają się receptory zawierające podjednostki NR2_C, a największym powinowactwem do D-seryny charakteryzują się receptory zawierające podjednostki NR2_B [191, 193]. Miejsce wiązania glutaminianu znajduje się w obrębie podjednostki NR2, aczkolwiek na jego powinowactwo dla glutaminianu wpływa nie tylko podtyp danej podjednostki, lecz również obecność innych podjednostek NR2 i

NR1. Największe powinowactwo do glutaminianu występuje w przypadku obecności podjednostek NR2_B [196-198].

Mechanizmy zabezpieczające receptor NMDA przed jego nadmierną aktywacją

W warunkach fizjologicznych istnieje szereg mechanizmów zabezpieczających przed nadmierną aktywacją receptora NMDA, prowadzącą do uruchomienia procesów neurodegeneracyjnych. Można zakładać, iż wrodzona czy też nabyta, trwała lub okresowa niewydolność tych mechanizmów, w przypadku działania czynników uszkadzających, takich jak: stres, glikokortykoidy, działanie substancji toksycznych, niedokrwienie czy mechaniczne uszkodzenie tkanki mózgowej, wiąże się z uruchomieniem procesów patofizjologicznych, skutkujących określoną symptomatyką neurologiczną lub psychopatologiczną, w tym depresyjną. Do najważniejszych czynników hamujących aktywność receptora NMDA zalicza się: **jony cynku, jony magnezu, poliaminy, równowagę kwasowo zasadową środowiska pozakomórkowego oraz indukowane napływem wapnia do wnętrza neuronu: zmiany w obrębie cytoszkieletu i zmiany aktywności enzymów** [189-193, 199].

Cynk jest bardzo istotnym endogennym antagonistą receptora NMDA, wielokierunkowo modulującym jego aktywność. W stężeniach do 10 $\mu\text{mol/l}$, cynk prawdopodobnie przyłączając się do podjednostki NR1, poprzez oddziaływanie allosteryczne, zmniejsza powinowactwo miejsca GLY_B dla glicyny oraz niweluje działający potencjalizująco na receptor wpływ małych stężeń magnezu i wapnia. Antagonizm cynku do miejsca glicynowego jest zjawiskiem napięciowoniezależnym, prowadzącym do: 1) utrudnienia aktywacji receptora; 2) zmniejszenia częstotliwości otwierania się kanału jonowego i czasu jego pozostawania w stanie otwartym; 3) wydłużenia czasu przebywania receptora w stanie inaktywowanym lub

zdesensytyzowanym [192, 200]. Na wyżej wymienione działania najbardziej podatne są podjednostki NR2_A, których blokada cynkowa w przeciwieństwie do innych podtypów podjednostek NR2 jest dodatkowo zależna od obecności protonów i ulega nasileniu w niższych pH [201]. Receptory NMDA zawierające podjednostki NR2_A, których największa koncentracja znajduje się w korze mózgowej i hipokampie, w warunkach fizjologicznych, nawet w przypadku nanomolarnych stężeń cynku, podlegają tonicznej blokadzie. Blokada ta może ulec zniesieniu w przypadku nasilania się aktywności fosforylacyjnej kinazy tyrozynowej Src oraz w obecności chelatujących cynk substancji redukujących, zawierających grupy tiolowe. Poza oddziaływaniem na miejsce wiązania glicyny cynk może również blokować allosterycznie miejsce wiązania poliamin, czego efektem jest zmniejszenie prawdopodobieństwa pozostawania kanału jonowego w stanie otwartym [202]. Ponadto w wyższych stężeniach, w procesie zależnym od napięcia, cynk bezpośrednio blokuje kanał wapniowy receptorów zawierających podjednostki NR2_A [191, 203, 204].

Należy dodać, iż poza działaniem bezpośrednim cynk hamuje aktywność receptora NMDA również za pośrednictwem innych receptorów glutaminianergicznych. W stężeniach do 30 $\mu\text{mol/l}$ cynk wzmacnia odpowiedzi mediowane przez receptor AMPA, działając jak jego potencjalizator. Pociąga to za sobą zmniejszenie ilości pobudzeń receptorów NMDA na rzecz receptorów AMPA i kainowych. Jak wiadomo stymulacja aktywność receptorów AMPA przy pomocy różnorodnych substancji doświadczalnych pociąga za sobą nasilenie syntezy czynnika BDNF, odgrywającego istotną rolę w zjawiskach neuroprotekcji oraz hamującego aktywność receptora NMDA poprzez wpływ na ekspresję genów kodujących poszczególne jego podjednostki [186, 205]. Ze wstępnych badań na zwierzętach wynika, iż długotrwałe podawanie cynku również wiąże się z nasileniem syntezy BDNF w centralnym systemie nerwowym [206].

W przypadku wysokich stężeń cynku, przekraczających 30 $\mu\text{mol/l}$, ujawnia się dodatkowy mechanizm hamowania pobudzeń receptorów NMDA za pośrednictwem receptorów AMPA. W niektórych obszarach mózgu (np. w regionie CA1 hipokampa) aktywacja receptora NMDA może zachodzić dopiero po wstępnej depolaryzacji błony komórkowej, powodującej zniesienie blokady magnezowej i będącej wynikiem pobudzenia receptorów AMPA. W stężeniach ponad 30 $\mu\text{mol/l}$, cynk blokuje jednak receptory AMPA uniemożliwiając tym samym aktywację receptora NMDA [186].

Kolejnym miejscem modulacji aktywności receptora NMDA przez cynk są metabotropowe receptory glutaminianergiczne grupy I. W stężeniach 10-30 $\mu\text{mol/l}$ cynk osłabia odpowiedź tych receptorów na działanie agonisty, zmniejszając tym samym stymulację receptorów NMDA [186].

Modulujące działanie **magnezu** wobec receptora NMDA, podobnie jak w przypadku cynku, ma charakter wielokierunkowy. Po pierwsze magnez, łącząc się ze specjalnym miejscem znajdującym się wewnątrz kanału wapniowego, doprowadza do blokady tego kanału. Blokada ta ma charakter zależny od potencjału błonowego komórki. W stanie spoczynkowym, kiedy potencjał błonowy komórki wynosi około -70mv, przewodność kanału wapniowego w obecności jonów magnezu jest bliska zeru i nawet w obecności agonisty receptor NMDA nie ulega aktywacji. Dopiero wstępna depolaryzacja, dokonująca się przy udziale receptorów AMPA, doprowadza do zniesienia blokady magnezowej [192, 207]. Wrażliwość receptora NMDA na blokadę magnezową pozostając, w zależności od zestawienia budujących go podjednostek, jest największa w przypadku obecności podjednostek: NR2_A i B [191]. W przypadku dodatnich potencjałów błonowych oraz w małych, milimolarnych stężeniach magnez może z jednej strony wzmacniać odpowiedź receptora NMDA - poprzez oddziaływanie z

miejszem GLY_B i następne nasilenie działania glicyny - z drugiej strony, może redukować napływ jonów przez otwarty kanał [192, 208].

Hamowanie aktywności receptora NMDA przez **poliaminy** – sperminę i spermidynę - zachodzi pod kontrolą podjednostek NR2_A i NR2_B. Poliaminy mogą blokować przewodność kanału jonowego receptora w mechanizmie zależnym od potencjału błonowego, poprzez interakcję z miejscem wiążącym magnez i/lub miejscem wiążącym cynk. Ponadto w wysokich stężeniach, spermina i spermidyna zmniejszają powinowactwo miejsca wiązania glutaminianu do agonistów. Ma to szczególnie istotne znaczenie w warunkach uszkodzenia tkanki mózgowej, kiedy to gwałtownie nasila się synteza poliamin [191, 192, 209]. Poza hamowaniem receptora NMDA w pewnych warunkach spermina i spermidyna mogą wzmacniać jego odpowiedź, zarówno w mechanizmie zależnym jak i niezależnym od obecności oraz ilości glicyny. W pierwszym przypadku poliaminy trzykrotnie zwiększają wrażliwość receptora na małe, niewysycające stężenia glicyny, w drugim przypadku ma miejsce potencjalizacja zachodzącego przy wystarczającym poziomie glicyny pobudzenia receptora [192].

Równowaga kwasowo - zasadowa przestrzeni zewnątrzkomórkowej tkanki mózgowej u kręgowców ma charakter wysoce plastyczny i podlega znaczącym zmianom w zależności od aktywności neuronów. Receptory NMDA są bardzo podatne na zmiany stężenia protonów H⁺. Zaobserwowano, iż w fizjologicznym pH dochodzi do tonicznego hamowania aktywności kompleksu NMDA [192]. Zjawisko to, niezależne od woltażu oraz obecności agonisty i polegające głównie na spadku częstotliwości otwierania się kanału wapniowego, ulega znacznemu nasileniu w kwaśnym pH, tj. w stanach uszkodzenia czy niedokrwienia neuronów. Alkalizacja środowiska zewnątrzkomórkowego wiąże się z potencjalizacją pobudzenia receptora. Wrażliwość receptora NMDA na zmiany pH zależy m.in. od obecności określonych izoform

podjednostki NR1 oraz ich zestawienia z poszczególnymi podtypami podjednostek NR2 [191, 210].

W ostatnich latach wykazano, iż zachodzące pod wpływem ATP i wapnia **dynamiczne zmiany filamentów aktynowych** mogą regulować aktywność receptora NMDA. Będący wynikiem otwarcia kanału jonowego, wzrost poziomu wewnątrzkomórkowego wapnia indukuje depolimeryzację aktyny, co pociąga za sobą niestabilność kompleksu receptora z następowym hamowaniem odpowiedzi receptora na glutaminian [211]. Poza tym, wzrost poziomu wapnia wewnątrzkomórkowego pociąga za sobą aktywację kalmoduliny, która przyłączając się do podjednostek NR1, powoduje pięciokrotne zmniejszenie prawdopodobieństwa otwarcia się kanału jonowego. Przedstawione powyżej zjawiska, podobnie do działania kwaśnego pH i poliamin, są kolejnymi przykładami mechanizmów ujemnego sprzężenia zwrotnego, zapobiegających nadmiernemu napływowi jonów Ca^{2+} do wnętrza neuronu [212].

Reakcje chemiczne modulujące aktywność receptora NMDA

Zarówno endogenne jak i egzogenne wiązki zawierające grupy sulfhydrylowe mogą, poprzez **redukcję lub utlenianie** grup tiolowych, wchodzących w skład podjednostek białkowych (głównie NR1), wpływać na amplitudę odpowiedzi receptora na agonistów. W warunkach doświadczalnych procesy redukcji wiążą się z reguły ze wzmaganiem aktywacji oraz wzrostem częstotliwości otwierania się kanału jonowego, a procesy utleniania z hamowaniem receptora NMDA [191, 213, 214].

Kolejnym istotnym czynnikiem modulującym aktywność receptora NMDA są **procesy fosforylacji**. Przyjmuje się, iż w warunkach fizjologicznych w mózgu od 10 do 70% podjednostek receptora NMDA jest ufosforylowanych w jednym lub w kilku miejscach. Tak duża zmienność proporcji i stopnia fosforylacji powiększa zakres

olbrzymiej różnorodności funkcjonalnej receptorów NMDA, uwarunkowanej obecnością licznych wariantów strukturalnych oraz działaniem ligandów i modulatorów [215]. Końce karboksylowe poszczególnych podjednostek receptora NMDA podlegają fosforylacji przy udziale różnorodnych kinaz. Kinazy proteinowe: C (PKC) i A (PKA) oraz kinazy tyrozynowe: Fyn i Src, potencjalizują odpowiedzi receptora na glutaminian [216]. Fosfatazy serynowo-treoninowe 1, 2A i 2B - działające w mechanizmie zależnym od obecności wapnia i kalmoduliny - zmniejszają aktywność lub blokują aktywację receptora NMDA [191, 217].

Każda z podjednostek receptora NMDA zawiera od 6 do 12 miejsc, mogących podlegać **glikozylacji**. Znaczenie tego procesu dla funkcji receptora nie zostało jeszcze dokładnie poznane. Wiadomo jednak, iż glikozylacja wpływa na przepuszczalność kanału jonowego oraz jest niezbędna dla przyłączania niektórych syntetycznych antagonistów, takich jak kwas dichlorokinurenowy [191, 192].

Receptory AMPA i kainowe

Receptory AMPA oraz receptory kainowe, podobnie jak receptory NMDA, mają budowę tetrameryczną. Tak jak w przypadku receptora NMDA, każdy z nich jest homomerycznym lub heteromerycznym kompleksem, stanowiącym kombinację dwóch lub więcej rodzajów podjednostek, kodowanych przez różne geny. W przypadku receptorów AMPA, są to podjednostki: GluR1, GluR2, GluR3 lub GluR4, a w przypadku receptorów kainowych podjednostki oznaczone symbolami: GluR5, GluR6, GluR7, KA1 i KA2. W zależności od wzajemnej proporcji tworzących go podtypów podjednostek receptor AMPA (lub kainowy) odznacza się różnymi właściwościami czynnościowymi. Wykazano między innymi, że podjednostki GluR2, GluR4, GluR5 i GluR7 występują w kilku izoformach (*splice*-wariantach), różniących się długością

końców karboksylowych łańcucha polipeptydowego i warunkujących odmienną wielkość prądów jonowych przechodzących przez otwarty kanał receptora [186]. Podjednostki tworzące receptor AMPA występują formach *flip* lub *flop*, powstających na drodze odmiennej posttranskrypcyjnej modyfikacji mRNA i wykazujących różnice funkcjonalne. Forma *flip* charakteryzuje się wolniejszym procesem desensytyzacji, czego wynikiem jest znacznie dłuższa przepuszczalność kanału dla jonów w trakcie jego aktywacji. Zarówno ilość, jak i wzajemna proporcja form *flip* i *flop*, zmieniają się w trakcie rozwoju osobniczego [186, 191, 193].

Głównym naturalnym agonistą receptorów AMPA i kainowych jest kwas glutaminowy. Niemniej jednak w warunkach doświadczalnych receptory AMPA odznaczają się największą wrażliwością wobec kwasu alfa-amino-3-hydroxy-5-metylo-4-izoksazolo-propionowego (AMPA), a receptory kainowe charakteryzują się największym powinowactwem do kwasu kainowego [186, 193].

Poza miejscem głównego przekąźnika, receptor AMPA ma również – mniej liczne niż w przypadku receptora NMDA – miejsca modulujące. Należy do nich miejsce dla 2,3-benzodwiazepin, którego pobudzenie hamuje desensytyzację receptora. Agonistą tego miejsca jest cyklotiazyd, a antagonistą GYKI-52466. Bardzo ważnym modulatorem aktywności receptora AMPA jest cynk [204, 218].

Receptory AMPA mogą również podlegać procesom glikozylacji i fosforylacji, wiążącym się z nasileniem przepływu prądów jonowych przez kanał receptora. Wrażliwość na te modyfikacje jest zależna od obecności form *flip* i *flop* podjednostek białkowych [186, 191]. Zagadnienie modyfikacji aktywności receptora kainowego nie zostało jeszcze dokładnie zbadane. Wiadomo jednak, iż podobnie jak w przypadku receptorów AMPA małe stężenia cynku wzmagają, a duże hamują jego aktywność.

Receptory metabotropowe

Obecnie wyróżnia się osiem podtypów metabotropowych receptorów glutaminianergicznych (mGluR1, mGluR2, mGluR3, mGluR4, mGluR5, mGluR6, mGluR7, mGluR8), które w zależności od homologii sekwencji aminokwasowej oraz systemu drugich przekaźników podzielono na trzy grupy: I (mGluR1 i 5), II (mGluR2 i 3), III (mGluR4, 6, 7 i 8) [219]. Każdy receptor mGluR utworzony jest przez pojedynczy łańcuch polipeptydowy, w obrębie którego można wyróżnić 7 domen hydrofobowych, przechodzących przez błonę komórkową. Pomiedzy domenami hydrofobowymi znajdują się odcinki hydrofilowe, tworzące zewnątrz – i wewnątrzkomórkowe pętle. Koniec karboksylowy łańcucha polipeptydowego znajduje się wewnątrz komórki, a koniec aminowy wystaje w kierunku przestrzeni pozakomórkowej [220]. W obrębie bardzo długiego zewnątrzkomórkowego odcinka N-końcowego znajdują się dwie domeny, tworzące tzw. region zawiasowy, stanowiący miejsce wiązania glutaminianu. Region zawiasowy, w sposób podobny do muszli małża, zamyka się wokół cząsteczki glutaminianu, co wyzwała kaskadę zmian konformacyjnych w obrębie całego receptora i wiąże się z pobudzeniem aktywności białka G, którego określony podtyp odpowiedzialny jest za uruchomienie odmiennych systemów wtórnych przekaźników [221]. Pobudzenie receptorów grupy I pociąga za sobą: 1) uruchomienie kaskady przemian doprowadzających do syntezy trójfosforanu inozytolu (IP_3) i dwuacyloglicerolu (DAG), z następowym uwolnieniem wapnia z siateczki śródplazmatycznej oraz aktywacją PKC; 2) aktywację cyklazy adenylowej i wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia cAMP. Pobudzenie receptorów mGluR grupy II skutkuje: 1) spadkiem poziomu cAMP w środowisku wewnątrzkomórkowym; 2) blokadą kanałów wapniowych typu N. Zjawisko to jest odpowiedzialne za hamowanie uwalniania glutaminianu z zakończenia presynaptycznego. Podobnie jak w przypadku

receptorów grupy II, pobudzenie receptorów grupy III wiąże się ze spadkiem śródkomórkowego poziomu cAMP [186, 222, 223].

Receptory metabotropowe grupy I zlokalizowane są postsynptycznie, tworząc tzw. pierścień okołosynaptyczny, okalający położone bardziej centralnie receptory jonotropowe. Receptory pozostałych grup zlokalizowane są presynaptycznie, przy czym receptory grupy II zlokalizowane są bardziej obwodowo, a niekiedy poza synapsą [186].

Podstawową funkcją glutaminianergicznych receptorów metabotropowych jest modulacja aktywności innych receptorów. Zaobserwowano, iż zastosowanie agonistów receptorów grupy pierwszej potencjalizuje odpowiedź receptora NMDA na glutaminian oraz powoduje spadek ilości receptorów AMPA na błonach synaptycznych, co wiąże się z przesunięciem równowagi transmisji synaptycznej w stronę kompleksu NMDA [224]. Pobudzenie receptorów grupy II, pociąga za sobą natomiast hamowanie uwalniania glutaminianu z zakończenia presynaptycznego i przyczynia się do zmniejszenia stymulacji receptora NMDA [186].

Udział układu glutaminianergicznego w patofizjologii i leczeniu depresji

Istnieje cały szereg zjawisk wskazujących, iż układ glutaminianergiczny, ze szczególnym uwzględnieniem modulacji aktywności receptora NMDA oraz zaburzenia zależnych od tego układu mechanizmów plastyczności neuronalnej, może brać udział w etiopatogenezie i terapii zaburzeń depresyjnych [225]. Do zjawisk tych należą między innymi, obserwowane w depresji: 1) obwodowe i ośrodkowe oznaki zaburzenia funkcji układu aminokwasów pobudzających; 2) czynnościowa i strukturalna patologia układu aminokwasów pobudzających; wykazywana w zwierzęcych modelach stresu i depresji

oraz w badaniach klinicznych; 3) liczne powiązania pomiędzy działaniem leków przeciwdepresyjnych a zmianami adaptacyjnymi w układzie glutaminianergicznym, neuroplastycznością i działaniem czynników neurotroficznych; 4) powiązania pomiędzy nadmierną aktywacją osi stresu, a zmianami neurodegeneracyjnymi i neuroplastycznymi; 5) przeciwdepresyjne działanie substancji pośrednio lub bezpośrednio hamujących aktywność receptora NMDA.

Hipoteza udziału układu glutaminianergicznego w powstawaniu depresji pozostaje poza tym w ścisłym związku z, będącą przedmiotem intensywnych badań, patologią szlaku limbiczno-korowo-prążkowiowo-gałkowo-wzgórkowego (LCSPT, limbic-cortical-striatal-pallidal-thalamic), odpowiedzialnego za regulację emocji, uczestniczącego w procesach uczenia się i pamięci, a także zaangażowanego w kontrolę autonomicznego układu nerwowego. Zmiany strukturalne i czynnościowe w LCSPT - dotyczące przede wszystkim kory przedczołowej, hipokampa i ciała migdałowatego - są typowym zjawiskiem dla depresji nawracającej oraz wielu chorób neurologicznych i somatycznych, którym towarzyszy depresja (ch. Alzheimera, ch. Parkinsona, ch. Cushinga, udar mózgu, padaczka). Równocześnie należy zaznaczyć, że zaburzona funkcja tych struktur może być odpowiedzialna za większość typowych dla epizodu depresyjnego objawów psychopatologicznych [226].

Obwodowe i ośrodkowe markery zaburzenia funkcji układów aminokwasów pobudzających

Wiele danych, pomimo swojej niejednoznaczności oraz często sprzecznego charakteru wskazuje, iż w przebiegu depresji zarówno w ośrodkowym układzie nerwowym, jak i we krwi dochodzi do zmian poziomów oraz wzajemnych proporcji aminokwasów biorących udział w neuroprzekazywaniu aminokwasowym. Jak do tej

pory w trzech badaniach wykazano, iż pacjenci cierpiący na depresję, w porównaniu do zdrowych ochotników oraz osób z rozpoznaniem schizofrenii lub zaburzeń lękowych, mają znacząco wyższy poziom glutaminianu w surowicy [227-229]. W badaniu Altamury i wsp. [230] u nieleczonych pacjentów z rozpoznaniem dużej depresji osoczowy poziom glicyny był znacząco niższy, a współczynnik stężeń glicyna/seryna wyższy w porównaniu do grupy zdrowych ochotników. Nie wykazano natomiast różnic w poziomie glutaminianu we krwi pomiędzy grupami. Podobnie, w badaniu Maesa i wsp. [231], nie wykazano istotnych różnic poziomu glutaminianu pomiędzy pacjentami z depresją lekooporną, nielekooporną oraz osobami zdrowymi. Grupa pacjentów lekoopornych charakteryzowała się natomiast znacząco niższym w stosunku do pozostałych grup poziomem osoczym seryny, asparaginy i asparaginianu oraz podwyższonym stężeniem glutaminy. Berk i wsp. [232] zaobserwowali - u pacjentów z rozpoznaniem dużej depresji bez objawów psychiatrycznych w przebiegu choroby afektywnej jednobiegunowej - występowanie nadwrażliwości receptorów glutaminianowych krwinek płytkowych, objawiającej się wzmożonym dokomórkowym napływem jonów wapniowych po stymulacji glutaminianem. Sugeruje się, iż nadwrażliwość płytkowych receptorów glutaminianowych może być obwodowym markerem występujących w depresji zaburzeń funkcji układu glutaminianergicznego i metabolizmu glutaminianu. Kolejnym zjawiskiem występującym w przebiegu depresji, jest znacząco podwyższony w porównaniu do zdrowych ochotników poziom glutaminy w płynie mózgowo-rdzeniowym [227, 230, 232, 233]. Dane dotyczące wpływu farmakoterapii przeciwdepresyjnej na wyżej wymienione parametry są niejednoznaczne. W badaniu Maesa i wsp. [231] zmiany poziomu licznych aminokwasów, w tym: seryny, asparaginianu i asparaginy; wiązały się z wystąpieniem odpowiedzi terapeutycznej u pacjentów lekoopornych. W badaniach przeprowadzonych z użyciem rezonansu

magnetycznego zaobserwowano, iż w przebiegu depresji na terenie kory przedniej części obręczy, oraz grzbietowo-bocznej kory przedczołowej, dochodzi do znaczącej redukcji poziomu glutaminianu oraz zaburzenia metabolizmu glutaminianu i glutaminy, ulegających normalizacji po skutecznej terapii elektrowstrząsowej [234-236].

Działanie leków przeciwdepresyjnych a układ glutaminianergiczny

Działanie terapeutyczne klasycznych leków przeciwdepresyjnych wydaje się pozostawać w ścisłym związku z wpływem na przekąźnictwo glutaminianergiczne, ze szczególnym uwzględnieniem pośredniej lub bezpośredniej modyfikacji aktywności receptora NMDA. W badaniach na zwierzętach zaobserwowano, że nagłe odstawienie imipraminy pociąga za sobą gwałtowne i znaczne nasilenie transmisji glutaminianergicznej [237]. Zjawisko to, wiążące się z nasileniem ekscytotoksyczności, może stanowić wytłumaczenie wzmożonej podatności na nawroty, typowej dla chaotycznej farmakoterapii z częstym i/lub nagłym odstawianiem leków [238].

Zastosowanie leków przeciwdepresyjnych, jak i elektrowstrząsów pociąga za sobą wystąpienie wyraźnych zmian adaptacyjnych w obrębie receptorów NMDA, APMA i metabotropowych. Obserwacje przeprowadzone na neuronach obszaru CA1 hipokampa pokazują, że imipramina wywołuje spadek wrażliwości receptorów metabotropowych grupy I na działanie agonistów. Zjawisko to, pojawiając się po 7 dniach podawania leku i osiągając maksimum nasilenia po 14 dniach od rozpoczęcia podawania, pokrywa się czasowo z typowym dla leku przeciwdepresyjnego opóźnieniem odpowiedzi klinicznej [239]. Spadek aktywacji receptorów metabotropowych grupy I wydaje się być jednym z wielu procesów prowadzących w trakcie klasycznej farmakoterapii przeciwdepresyjnej do osłabienia funkcji receptora NMDA. Kolejnym takim zjawiskiem jest wykazywany dla długotrwałych (21 dni)

podają imipraminy i paroksetyny wzrost ekspresji podjednostek GluR1 i współwystępowania podjednostek GluR2 i 3 receptora AMPA, wiążący się z przesunięciem transmisji w układzie glutaminianergicznym z receptorów NMDA na receptory AMPA [240]. Ponadto, badania przeprowadzone na szczurach wykazują, iż długotrwałe podawanie leków przeciwdepresyjnych należących do różnych klas (inhibitory MAO, SSRI, leki trójpierścieniowe), a także zastosowanie elektrowstrząsów, wiąże się z powstawaniem w korze mózgowej zmian adaptacyjnych w zakresie kompleksu receptora NMDA, prowadzących do osłabienia jego funkcji. Do zmian tych należą: 1) spadek powinowactwa glicyny do miejsca GLY_B; 2) zmniejszenie zdolności glicyny do modulacji allosterycznej miejsca wiązania glutaminianu; 3) wzrost powinowactwa cynku do receptora NMDA; 4) desensytyzacja receptora NMDA; 5) zmiany wzajemnych proporcji podjednostek białkowych budujących kompleks receptorowy, będące wynikiem około 40% redukcji ekspresji mRNA kodującego podjednostki NR2_{A, B i C} [240-245]. Do podobnych zmian adaptacyjnych w zakresie receptora NMDA dochodzi również na terenie hipokampa [240].

Mechanizm, za pomocą którego leki przeciwdepresyjne wywołują wyżej wymienione zmiany, nie jest jak dotąd jednoznacznie wyjaśniony. Wiadomo jednak, iż nie jest on wynikiem bezpośredniego działania leków przeciwdepresyjnych na receptor NMDA, pomimo iż większość z tych leków ma zdolność oddziaływania z jego miejscem PCP. Wykazano, że doświadczalne zniszczenie neuronów noradrenergicznych (za pomocą DSP-4) pociąga za sobą niemożność wywołania spadku powinowactwa miejsca GLY_B pomimo wielokrotnych podań dezypraminy, co sugeruje, że zmiany adaptacyjne spowodowane przez LPD zachodzą za pośrednictwem ich wpływu na przekaznictwo monoaminergiczne [240, 246]. Mechanizmy odpowiedzialne za modyfikowanie aktywności układu glutaminianergicznego przez LPD najpełniej

tłumaczy hipoteza zaproponowana przez prof. Skolnicka. Według niej leki nasilające transmisję noradrenergiczną (inhibitory MAO, inhibitory wychwytu zwrotnego noradrenaliny, mirtazapina), poprzez zwiększanie stężenia noradrenaliny w szczelinie synaptycznej, doprowadzają do wzmożonej stymulacji receptorów β -adrenergicznych, czego rezultatem jest wzrost aktywności cAMP w środowisku wewnątrzkomórkowym. Długotrwałe podawanie LPD pociąga za sobą spadek gęstości receptorów β w błonie postsynaptycznej (β -down-regulacja), niemniej jednak podwyższone stężenie noradrenaliny kompensuje spadek ilości receptorów i pozwala na stałe utrzymanie podwyższonego poziomu cAMP, który aktywuje PKA. Skutkiem tego jest nasilenie procesów fosforylacji, pociągające za sobą zwiększenie ekspresji czynnika transkrypcyjnego CREB. Fosforylacja CREB prowadzi do wzrostu poziomu mózgowego czynnika neurotropowego (BDNF – *brain derived neurotropic factor*), który ma zdolność hamowania syntezy niektórych podjednostek receptora NMDA (głównie NR2_A i NR2_C). Pociąga to za sobą zmianę proporcji podjednostek, skutkującą spadkiem aktywności receptora. Leki przeciwdepresyjne wpływające na przekąźnictwo serotoniny (np. SSRI, mirtazapina, IMAO) również doprowadzają do nasilenia syntezy BDNF; dzieje się to jednak na drodze innego mechanizmu. Pobudzenie postsynaptycznych receptorów serotoniny, będące skutkiem wzrostu poziomu serotoniny w szczelinie synaptycznej, pociąga za sobą wzrost aktywności kompleksu kalmodulina-wapń uruchamiającego procesy fosforylacyjne, a co za tym idzie - doprowadzającego między innymi do wzrostu poziomu czynnika CREB [247].

Hipoteza Skolnicka znajduje swoje potwierdzenie w badaniach eksperymentalnych. Zaobserwowano m.in., że długotrwałe podawanie leków przeciwdepresyjnych różnych grup (TCA, IMAO, SSRI) pociąga za sobą znaczące (1.5 – 2 razy) nasilenie ekspresji mRNA kodującego czynnik BDNF na terenie hipokampa u

szczurów. Efekt ten pojawia się po trwającej około 21 dni latencji, która może ulec skróceniu do 7-14 dni w przypadku dołączenia do LPD inhibitora fosfodiesterazy, blokującego rozkład cAMP [205, 248]. Opóźnienie pobudzenia syntezy czynnika BDNF indukowanej przez LPD - podobnie jak zmiany adaptacyjne w obrębie receptorów glutaminianergicznych - wydają się pokrywać w czasie z typowym dla wszystkich stosowanych obecnie leków okresem oczekiwania na odpowiedź terapeutyczną [205].

Stres i neuroprotekcja a patologia i terapia depresji

Działanie czynnika BDNF na kompleks receptora NMDA ma charakter wielowymiarowy i w istotny sposób potwierdza rolę przekaźnictwa glutaminianergicznego i receptora NMDA w patofizjologii i terapii zaburzeń depresyjnych. BDNF działa protekcyjnie na neurony dopaminergiczne, zwiększa zdolność przetrwania i różnicowania komórek serotoninergicznych jąder szwu oraz nasila procesy rozgałęziania się ich aksonów [249]. Uszkodzenie i zanik neuronów serotoninergicznych i dopaminergicznych są zjawiskami mediowanymi przez receptor NMDA i zachodzącymi w warunkach szeroko pojętego stresu (działanie glikokortykoidów, niedotlenienie lub niedokrwienie tkanki mózgowej, działanie toksyn) (250). W związku z powyższym uważa się, że wzmożona sekrecja BDNF oraz związana z nią ochrona przed nadmierną stymulacją receptora NMDA, może odgrywać podstawową rolę w utrzymywaniu prawidłowych poziomów transmisji serotoninergicznej i dopaminergicznej w ostrych i przewlekłych sytuacjach stresowych, a rozwój depresji może wiązać się z niewydolnością mechanizmów prowadzących do wzmożenia neuroprotekcji [205].

Jak wiadomo depresja oraz zwierzęce modele depresji wiążą się ze zjawiskiem nadmiernej stymulacji osi podwzgórze – przysadka nadnercza, pociągającym za sobą

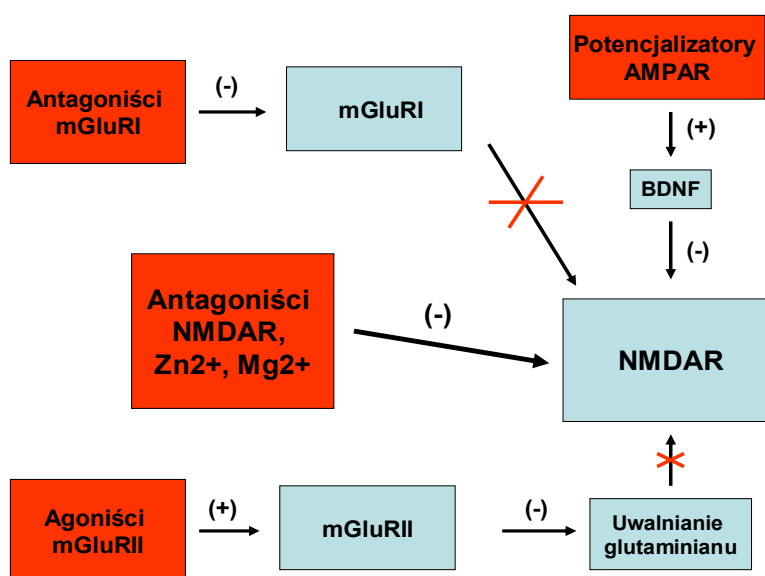
podwyższenie poziomu sterydów nadnerczowych, działających neurodegeneracyjnie na niektóre struktury ośrodkowego układu nerwowego, ze szczególnym uwzględnieniem hipokampa. Wywoływane u zwierząt doświadczalnych zjawisko wyuczonej bezradności oraz reakcja na nieprzewidywalny stres, uważane za modele rozwoju stanu depresyjnego i zależne od zachodzącego w hipokampie procesu długotrwałej potencjalizacji, w którym kluczową rolę odgrywa aktywacja receptorów NMDA, wiąże się z obniżeniem poziomu BDNF [251]. Objawy zespołu wyuczonej bezradności ulegają redukcji pod wpływem podania leków przeciwdepresyjnych, po zastosowaniu elektrowstrząsów oraz po centralnych podaniach BDNF [252, 253]. Podawanie leków przeciwdepresyjnych (klomipramina, fluoksetyna, tianeptyna) w warunkach doświadczalnych, zapobiega również typowemu dla chronicznego stresu spadkowi proliferacji neuronów i neurogenezy. Ponadto stwierdzono, że u szczurów chroniczny łagodny stres, będący eksperymentalnym modelem depresji, powoduje wzrost powinowactwa glicyny do miejsc glicynowych receptora NMDA w korze mózgowej, pociągający za sobą nasilenie aktywacji tego receptora. Efekt ten może zostać zniwelowany po wielokrotnych podaniach imipraminy czy citalopramu [254]. Badania przeprowadzone na kulturach komórek hipokampa dowodzą, że BDNF może zapobiegać uszkodzeniu i śmierci neuronów wywoływanej przez glikokortykoidy [255]. Również antagoniści receptora NMDA i klasyczne leki przeciwdepresyjne charakteryzują się zdolnością do zabezpieczania komórek mózgowych przed szkodliwym działaniem sterydów nadnerczowych [205].

Większość badań klinicznych przeprowadzonych z użyciem MRI wykazała, że u osób z rozpoznaniem zaburzeń depresyjnych nawracających ma miejsce redukcja objętości hipokampa (w tym głównie zakrętu zębatego), jądra centralnego ciała migdałowatego oraz istoty szarej kory czołowej i podkolanowej części kory

przedczołowej. Spadek objętości hipokampa i jądra centralnego ciała migdałowatego, według niektórych badań pozostają u tych osób we wzajemnej dodatniej korelacji [256–261]. Ponadto obrazowanie techniką pozytronowej tomografii emisyjnej pozwoliło stwierdzić, że w przebiegu epizodu depresyjnego ma miejsce znaczące i skorelowane z nasileniem depresji zwiększenie przepływu krwi przez ciało migdałowate i hipokamp [257, 262]. W badaniach *post-mortem* osób z wieloletnim wywiadem depresji nawracającej w korze przedczołowej, zakręcie zębatym hipokampa i w ciele migdałowatym stwierdza się zwykle spadek neurogenezy, nasilony zanik komórek glejowych, powiększenie ciał komórek nerwowych, demielinizację i utratę aksonów, spadek gęstości upakowania neuronów oraz gleju [263]. W skład wszystkich wymienionych struktur wchodzi głównie neurony glutaminianergiczne, które tworzą między nimi recyprokalne połączenia. Co warte podkreślenia, zmiany patologiczne zachodzące w obrębie ciała migdałowatego w przebiegu depresji dotyczą prawie wyłącznie jądra centralnego, będącego jedynym obszarem ciała migdałowatego, zawierającym neurony glutaminianergiczne [260]. Można wnioskować, iż przedstawione zjawiska są wynikiem ekscytotoksyczności, związanej z nadmierną stymulacją receptora NMDA, indukowanej przez typowy dla depresji oraz sytuacji stresowych podwyższony poziom glikokortykoidów i najprawdopodobniej zachodzącej w warunkach obniżonej aktywności czynnika BDNF [238, 256]. Obecność wzajemnych pobudzających połączeń aminokwasowych pomiędzy jądrem migdałowatym, hipokampem i korą przedczołową wskazuje, że nadmierna stymulacja i uszkodzenie w jednej z tych struktur, może inicjować podobne procesy w dwóch pozostałych. Powstające w ten sposób zjawisko błędnego koła, może być dodatkowo potęgowane przez utratę komórek glejowych, odpowiedzialnych za: rozkład glutamianu, utrzymywanie homeostazy metabolicznej i równowagi pomiędzy układem

glutaminianergicznym i gabaergicznym oraz produkcję czynników neurotroficznych (w tym BDNF). Poza tym, biorąc pod uwagę, że hipokamp stanowi jeden z elementów ujemnego sprzężenia zwrotnego osi stresu – obumieranie komórek hipokampa może pociągać za sobą spadek hamowania produkcji i uwalniania przed podwzgórze CRH, co pociąga za sobą wzrost produkcji glukokortykoidów i nasilenie ich działania uszkodzającego w ośrodkowym układzie nerwowym [238, 256, 264, 265].

Z powyższych danych wynika, iż modulacja aktywności receptora NMDA może mieć kluczowe znaczenie dla aktywności przeciwdepresyjnej oraz stwarza perspektywy wprowadzenia nowych grup leków działających nie tylko na objawy, ale również na mechanizmy leżące u podstaw rozwoju zaburzeń afektywnych [205, 266]. Leki te mogą hamować aktywność receptora NMDA zarówno bezpośrednio (antagoniści NMDA, cynk, magnez), jak i pośrednio, poprzez modulację receptorów metabotropowych (antagoniści mGluRI, agoniści receptorów mGluRII) lub potencjalizację receptorów AMPA (patrz rysunek 3). Koncepcję tą zdają się potwierdzać liczne badania o charakterze eksperymentalnym oraz pierwsze badania kliniczne.



Rysunek 3. Podtypy pośrednich i bezpośrednich modulatorów aktywności receptora NMDA.
Objaśnienia skrótów: AMPAR – receptor AMPA, BDNF – czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego, mGluRI – receptor glutaminianergiczny metabotropowy grupy I, mGluRII – receptor glutaminianergiczny metabotropowy grupy II, NMDAR – receptor NMDA).

Przeciwdepresyjne działanie substancji pośrednio lub bezpośrednio hamujących aktywność receptora NMDA

Wśród substancji bezpośrednio hamujących aktywność receptora NMDA wyróżnia się następujące podgrupy: 1) ligandy miejsca PCP, 2) kompetytywni i niekompetytywni antagoniści miejsca glutaminianowego, 3) ligandy miejsca glicynowego, 4) ligandy miejsca poliaminowego, 5) jony magnezowe, 6) riluzol. Do najważniejszych związków pośrednio hamujących aktywność receptora NMDA, badanych pod względem potencjału przeciwdepresyjnego należą: 1) potencjalizatory receptora AMPA, 2) antagoniści receptorów metabotropowych grupy I, 3) inhibitory syntazy NO.

Do grupy **ligandów miejsca PCP** zalicza się MK-801 (dizokilpina) oraz metapraminę. Aktywność przeciwdepresyjna MK-801 została wykazana: w teście wymuszonego pływania u szczurów i myszy, teście zawieszenia u myszy, a także w modelu chronicznego łagodnego stresu oraz bulbektomii węchowej u szczurów [266, 267]. O istotnym potencjale przeciwdepresyjnym MK-801 może również świadczyć fakt, iż długotrwale podawanie tej substancji wywołuje β -down regulację, tj. obniżenie gęstości i reaktywności receptorów β -adrenergicznych, będące typowym zjawiskiem obserwowanym w przypadku wielokrotnych podań większości stosowanych obecnie leków przeciwdepresyjnych [268]. MK-801 nie może jednak znaleźć szerszego zastosowania klinicznego ze względu na niekorzystny profil objawów ubocznych, ze szczególnym uwzględnieniem działania psychozomimetycznego, ataksji oraz różnorodnego działania neurotoksycznego. Metapramina wykazująca dodatkową zdolność blokowania wychwyty zwrotnego noradrenaliny, aktywna w licznych modelach zwierzęcych trafiła do fazy badań klinicznych, w których charakteryzowała

się znaczącym działaniem przeciwdepresyjnym. Została ona jednak wycofana z powodu silnego działania neurotoksycznego [266].

Wśród **kompetytywnych antagonistów miejsca glutaminianowego** - AP-7, CGP-37849 i CGP-39551 charakteryzują się wysokim, często porównywalnym do imipraminy potencjałem przeciwdepresyjnym w teście wymuszonego pływania u myszy i szczurów. Ponadto CGP-37849, CGP-39551 oraz CGP-40116 wykazują działanie w modelu chronicznego łagodnego stresu [266, 269, 270]. Użyteczność kliniczna kompetytywnych antagonistów miejsca glutaminianowego podobnie jak w przypadku ligandów miejsca PCP wydaje się być jednak bardzo ograniczona ze względu na szeroki profil objawów ubocznych, do których należą: wywoływanie zależności, działanie psychozomimetyczne, ataksja, miorelaksacja, zaburzenia pamięci, a także indukcja procesów neurodegeneracyjnych [191, 192, 266]. Wyżej wymienionych działań pozbawieni są **niekompetytywni antagoniści miejsca glutaminianowego**, do których zalicza się amantadynę, ketaminę oraz memantynę [271]. W teście wymuszonego pływania amantadyna i memantyna charakteryzują się zarówno samodzielnym, porównywalnym do imipraminy działaniem przeciwdepresyjnym, jak i zdolnością do potencjalizacji działania imipraminy, wenlafaksyny i fluoksetyny [272-274]. Pierwsze badania kliniczne przeprowadzone z użyciem amantadyny oraz ketaminy dały bardzo obiecujące wyniki. Berman i wsp. [275] w 72 godzinnej obserwacji 7 pacjentów wykazali przewagę nad placebo jednorazowego podania dożylnego ketaminy, powodującego szybką i znaczącą redukcję punktacji w Skali Depresji Hamiltona (średnio o 14 pkt.) Wyniki badań klinicznych dotyczących amantadyny omówiono w podrozdziale: „Potencjalizacja farmakoterapii przeciwdepresyjnej przy pomocy preparatów nie będących lekami przeciwdepresyjnymi”.

Do **ligandów miejsca glicynowego** należą m.in.: kwas 7-chloro-kinurenowy (7-CKA), kwas 5,7-dichlorokinurenowy (5,7-DCKA), D-cykloseryna oraz kwas 1-aminocyklopropanokarboksylowy (ACPC) [266]. Aktywność przeciwdepresyjna tych substancji była wykazana wielokrotnie w teście wymuszonego pływania u szczurów (ACPC, D-cykloseryna, 7-CKA, 5,7-DCKA) i myszy (ACPC, D-cykloseryna) oraz w modelu chronicznego łagodnego stresu (ACPC) [266, 270, 276]. W przypadku długotrwałego podawania ACPC obserwowano występowanie typowego dla leków przeciwdepresyjnych zjawiska β -down-regulacji, a substancja ta objęta jest obecnie pierwszą fazą badań klinicznych. Antagoniści miejsca glicynowego charakteryzują się wysokim stopniem bezpieczeństwa oraz brakiem objawów ubocznych, typowych dla kompetytywnych antagonistów glutaminianu i ligandów miejsca PCP [191, 192]. Ich użyteczność kliniczna może być jednak ograniczona, ze względu na pojawiający się w przypadku długotrwałego podawania rozwój tolerancji na ich działanie, obserwowany w teście Porsolta [277, 278].

Wśród **antagonistów miejsca poliaminowego** najczęściej badanymi substancjami są ifenprodil oraz eliprodil. Wyniki badań eksperymentalnych przeprowadzonych z ich użyciem są niejednoznaczne (aktywność w teście Porsolta, brak działania w teście zawieszenia) i wskazują na potrzebę dalszej weryfikacji ich potencjału przeciwdepresyjnego [266, 279, 280]. Warto dodać, że przewlekłe podawanie eliprodilu podobnie jak podawanie ACPC i MK-801 doprowadza do zjawiska β -down-regulacji [281, 282].

Do **antagonistów receptorów metabotropowych grupy I** należy m.in. 2-metylo-6-(fenyletynyl)-pirydyna (MPEP) [283]. W teście bulbektomii węchowej, wykazuje ona - w przypadku długotrwałych podań - działanie przeciwdepresyjne podobne do dezipraminy; nie działa jednak w teście wymuszonego pływania u szczurów [284, 285].

Potencjalizatory receptora AMPA, takie jak: leviracetam, aniracetam, LY392098, i LY451616 - wykazują działanie przeciwdepresyjne w teście wymuszonego pływania. Dodatkowo LY392098 i LY451616 działają również w teście zawieszenia [205, 266, 286]. Warto zaznaczyć, że w teście Porsolta dołączenie niskich nieaktywnych dawek LY392098, do leków przeciwdepresyjnych (fluoksetyna, citalopram, imipramina, duloksetyna, rolipram) pociąga za sobą nawet pięciokrotne nasilenie ich działania. Efekt ten zachodzi dwukierunkowo, bowiem dołączenie do aktywnych dawek LY392098 leków o klasycznym mechanizmie działania w dawkach nie wykazujących aktywności w teście wymuszonego pływania pociąga za sobą silną potencjalizację, skutkującą nawet 10-krotnym skróceniem czasu bezruchu zwierząt doświadczalnych [287].

Inhibitory syntazy NO: błękit metylenowy (MB), N^G-monometyl-L-arginina (L-NMMA), N^G-nitro-L-arginina (L-NNA) oraz ester metylowy N^G-nitro-L-argininy (L-NAME), wykazują porównywalne do imipraminy działanie przeciwdepresyjne w teście wymuszonego pływania u myszy lub szczurów, a długotrwale (21 dni) podawanie L-NNA wiąże się w wystąpieniem zjawiska β -down-regulacji [288, 289]. Błękit metylenowy był przedmiotem badań klinicznych, obejmujących pacjentów z rozpoznaniem choroby afektywnej jedno- i dwubiegunowej. W jednym badaniu kontrolowanym wykazano przewagę błękitu metylenowego podawanego w dawce 15 mg/dz. nad placebo, w zakresie redukcji objawów dużej depresji [290]. Ponadto dwuletnia obserwacja 31 pacjentów z rozpoznaniem choroby afektywnej dwubiegunowej sugeruje, iż błękit metylenowy jako leczenie dodatkowe może znacząco zwiększać skuteczność profilaktyki nawrotów afektywnych prowadzonej litem [291].

Dotychczasowe badania na zwierzętach wskazują na wysoki przeciwdepresyjny potencjał **magnezu**. W teście wymuszonego pływania u szczurów i myszy magnez charakteryzował się siłą działania porównywalną do imipraminy i MK-801. W

badaniach na myszach magnez odznaczał się dodatkowo działaniem przeciwlękowym. Aktywność przeciwdepresyjna i przeciwlękowa magnezu występuje zarówno przy krótkotrwałym jak i długotrwałym podawaniu i co ważne, nie doprowadza do rozwoju zjawiska tolerancji [292, 293]. Jedno z badań na szczurach sugeruje również znacząco większą od placebo zdolność magnezu do zabezpieczania przed rozwojem objawów lękowych i depresyjnych po eksperymentalnie wywołanym urazie czaszkowo – mózgowym [294].

Do tej pory nie przeprowadzono badań klinicznych, dotyczących efektywności przeciwdepresyjnej magnezu. Warto jednak przytoczyć interesujące wyniki, jakie uzyskano stosując magnez u osób z rozpoznaniem zespołu chronicznego zmęczenia, w którego obrazie występuje wiele elementów pokrywających się z obrazem epizodu depresyjnego. Cox i wsp. [295] wykazali na grupie 32 pacjentów z tym rozpoznaniem, iż iniekcje siarczanu magnezu wykazują znacząco wyższą od placebo skuteczność w zakresie poprawy energii, poprawy stanu emocjonalnego oraz redukcji odczuwania bólu. Magnez wykazuje również skuteczność w redukcji objawów afektywnych w przebiegu zespołu napięcia przedmiesiączkowego. Sugeruje to między innymi obserwacja przy użyciu podwójnie ślepej próby i kontroli placebo przeprowadzona na 32 kobietach [296].

Riluzol jest substancją stosowaną w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych, ma on poza tym działanie przeciwdrgawkowe. Miejsce działania riluzolu w obrębie receptora NMDA nie jest dokładnie poznane. Wiadomo, iż hamuje on aktywność receptora NMDA, na drodze bezpośredniej niekompetytywnej blokady. Prawdopodobnie, dodatkowo riluzol moduluje przekazywanie glutaminianergiczne za pośrednictwem oddziaływania z receptorami AMPA, jak i za pośrednictwem modulacji aktywności receptorów AMPA [297]. W jednym badaniu otwartym riluzol stosowany w

kombinacji z litem charakteryzował się znaczącą aktywnością przeciwdepresyjną w grupie 14 pacjentów z rozpoznaniem depresji dwubiegunowej [298]. W kolejnym badaniu otwartym zaobserwowano istotne działanie przeciwdepresyjne riluzolu, podawanego w monoterapii u 19 pacjentów z rozpoznaniem depresji jednobiegunowej o wysokim stopniu lekooporności [299].

Udział cynku w patofizjologii i terapii depresji

Ogólna charakterystyka roli pierwiastka w organizmie

W organizmie człowieka występuje około 2-2,5g cynku, z czego największa ilość znajduje się w mięśniach (55%) i kościach(30%). Około 0.1% całkowitej zawartości cynku przypada na osocze. 95% cynku osoczowego związane jest z białkami biorącymi udział w reakcji ostrej fazy: albuminą (55%) oraz alfa-2-makroglobuliną (40%); natomiast pozostałe 5% związane jest z aminokwasami (300, 301). Wartości referencyjne stężenia cynku w surowicy krwi podawane w polskim piśmiennictwie są zróżnicowane. W zależności od autorów ich minimalne prawidłowe wartości wahają się w granicach 0.5 – 0.75 mg/l (8-11 $\mu\text{mol/l}$), a maksymalne prawidłowe wartości w granicach 1.1 – 1.5 mg/l (16,8 – 23 $\mu\text{mol/l}$) [302-304].

Cynk jest kofaktorem oraz elementem strukturalnym wielu białek budulcowych i ponad 300 enzymów we wszystkich tkankach. Jego obecność jest niezbędna w procesach syntezy DNA, stabilizacji błon komórkowych, mechanizmach transportów przez błonowych, a także regulacji układu immunologicznego. Szacuje się, że aż około 1% genomu ludzkiego koduje białka zawierające tzw. palce cynkowe [199, 301].

Wchłanianie cynku z przewodu pokarmowego odbywa się z udziałem tzw. **puli szybkowymiennej**, związanej z przedostawaniem się cynku ze światła jelita do krwi i **puli wolnowymiennej**, tj. cynku zmagazynowanego w błonie śluzowej jelit [305]. Intensywność wchłaniania cynku, podobnie jak w przypadku magnezu jest odwrotnie proporcjonalna do jego zawartości w pożywieniu [301]. Ważnymi czynnikami mającymi wpływ na dostępność cynku oraz stopień jego absorpcji są również zawarte w pokarmie ligandy i związki chelatujące. Wiadomo między innymi, że cynk może

tworzyć nierozpuszczalne i wydalone z kałem kompleksy z wapniem (np. w przypadku diety bogatomlecznej) oraz - zawartymi w produktach zbożowych, orzechach, roślinach strączkowych i warzywach - fitynianami [306, 307].

Naturalnymi magazynami cynku w organizmie są przede wszystkim: wątroba, grasicca oraz szpik. Wychwyt cynku przez te narządy jest procesem inicjowanym i nasilanym przez interleukinę -1, której poziom wzrasta: w stanach zapalnych, w przebiegu depresji oraz w odpowiedzi na szeroko rozumiany stres. Poza wymienionymi miejscami w organizmie człowieka cynk jest gromadzony również w komórkach wydzielniczych ślinianek i przysadki, a także w obrębie cząsteczek insuliny [301]. Wydalanie cynku z organizmu odbywa się głównie poprzez przewód pokarmowy (złuszczenie się nabłonka jelitowego oraz wydzielanie soków trawiennych zawierających cynk), a w mniejszym stopniu poprzez skórę i nerki oraz w trakcie ejakulacji nasienia [199, 301].

Cynk w centralnym układzie nerwowym

Ośrodkowy układ nerwowy (zwłaszcza istota szara kory mózgowej, hipokamp i ciało migdałowate) jest miejscem największej w całym organizmie koncentracji cynku, tworzącego tutaj trzy następujące pule: 1) **cynk związany z białkami**, tj. wchodzący w skład enzymów i białek strukturalnych; 2) **cynk wolny** – tj. wolne jony Zn^{2+} (jest to pula hipotetyczna ponieważ jony cynkowe ulegają natychmiastowemu związaniu); 3) **cynk synaptyczny** (inaczej – cynk ulegający chelatowaniu). Pula cynku synaptycznego, obejmująca 5 – 15% całkowitej zawartości cynku w mózgu, stanowi prawie 100% cynku reagującego histochemicznie i uwidacznianego w preparatach tkankowych metodą Timma lub barwnikami fluorescencyjnymi [186, 199, 308]. Cynk synaptyczny, pełniący rolę neurotransmitera oraz regulatora neurotransmisji i aktywności neuronów,

zawarty jest w zakończeniach presynaptycznych specjalnej subpopulacji neuronów glutaminianergicznych. Należy tu podkreślić, że wszystkie neurony zawierające cynk (**ZCNs – zinc containing neurons**) to neurony glutaminianergiczne, aczkolwiek tylko niewielka część neuronów tego układu neurotransmisyjnego to ZCNs [199].

Ciała glutaminianergicznych komórek zawierających cynk znajdują się prawie wyłącznie w korze mózgowej oraz jądrach ciała migdałowatego. Włókna eferentne ZCNs kierują się z wyżej wymienionych struktur do: 1) kory mózgowej i ciała migdałowatego tej samej i przeciwnej strony; 2) prążkowie; 3) struktur układu limbicznego. Taki kierunek oraz układ włókien eferentnych pozostaje w kontraście do szlaków przekazu monoaminowego, w przypadku których ciała komórek neuronów skupione w strukturach subkortykalnych wysyłają liczne rozsiiane zakończenia idące do półkul mózgowych [199].

Układ przekazywający cynk tworzy sieć w obrębie której można wyróżnić kilka ważnych „węzłów” anatomicznych i czynnościowych. Pierwszym takim węzłem jest **kora przynosowa płata skroniowego**. Z tego obszaru ZCNs wysyłają projekcje do kory nowej i starej oraz do przegrody. Poza tym kora przynosowa jest gęsto unerwiona przez zakończenia zawierające cynk [309, 310]. Drugim węzłem jest **hipokamp**, który ze wszystkich struktur mózgowych charakteryzuje się największą koncentracją cynku. W obrębie hipokampa znajdują się cztery obszary skupiające zakończenia ZCNs. Pierwszym z nich jest niewielkie zgrupowanie komórek piramidalnych w obrębie *prosubiculum*, umiejscowionego na pograniczu podkładki (*subiculum*) i pola CA1. Neurony z tego miejsca wysyłają projekcje w kierunku przegrody, podkładki, oraz do kilku pól hipokampa.. Pozostałe trzy obszary to: zgrupowanie komórek warstwy ziarnistej zakrętu zębatego oraz komórki piramidalne w obrębie pól CA1 i CA3. Włókna tych komórek tworzą kręgi neuronalne oraz unerwiają

komórki piramidalne podkładki. Kolejnym ważnym węzłem w układzie ZCNs jest **ciało migdałowe**. Wszystkie jądra ciała migdałowatego są unerwiane przez zakończenia zawierające cynk, z drugiej strony większość tych jąder zawiera ciała komórek również zawierających cynk i wysyłających aksony w kierunku licznych lokalnych oraz odległych rejonów OUN, w tym do: kory gruszkowatej, kory okolic ciała migdałowatego oraz do prążkowie. Czwartym węzłem zawierającym liczne skupienia neuronów cynkowych jest **kora gruszkowata**, z której wychodzą wyłącznie włókna zawierające cynk [199, 309-312].

Reasumując, należy stwierdzić, że systemy przekąźnikowe zawierające cynk to przede wszystkim szlaki: koryko - korykalne, koryko - limbiczne, i limbiczno – korykalne. Można również zaryzykować uogólnienie, że cynk znajduje się głównie w krótkich szlakach asocjacyjnych tworzonych przez neurony typu II charakteryzujące się krótkimi aksonami, dużą plastycznością oraz tendencją do tworzenia dużej i zmiennej liczby połączeń synaptycznych; Nie jest on natomiast obecny w zakończeniach neuronów typu I odznaczających się dużymi ciałami, bardzo długimi aksonami i małą plastycznością [199].

Cynk synaptyczny w zakończeniach neuronów przechowywany jest razem z glutaminianem w **pęcherzykach z charakterystyczną jasną obwódką** (*small clear round vesicles*). W niektórych obszarach mózgu (np. warstwa włókien mszystych hipokampa) pęcherzyki te mogą stanowić nawet 25% objętości tankowej. Szacuje się, że stężenie zawartego w nich cynku może wahać się w granicach od 350 $\mu\text{mol/l}$ do 1.4 mmol/l [308, 313]. Sekwestracja cynku w pęcherzykach ma miejsce po oderwaniu pęcherzyka od aparatu Golgiego i odbywa się na drodze aktywnego transportu, w którym najważniejszą rolę pełni zlokalizowany w błonach pęcherzyków transporter ZnT-3. Obecność tego transportera jest specyficzną cechą ZCNs [199]. W

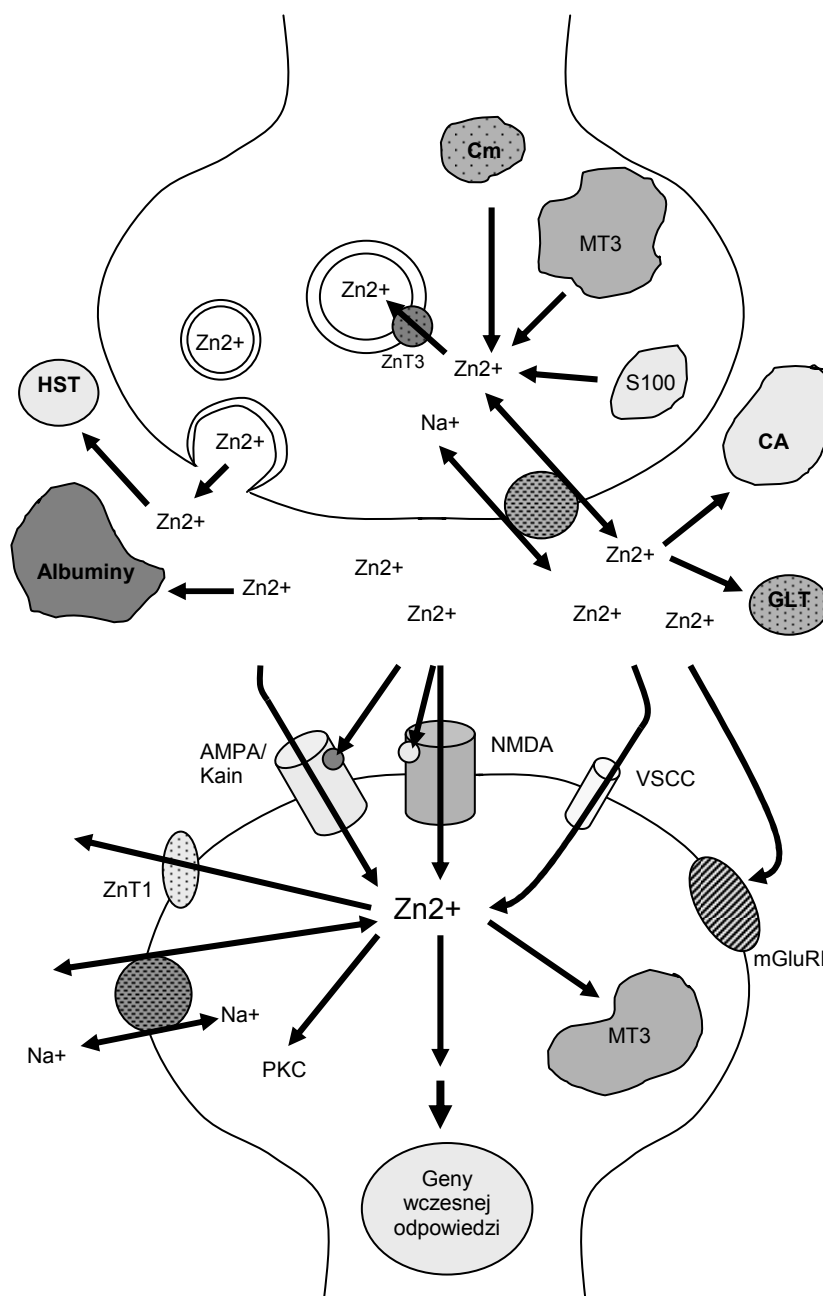
wewnątrzneuronalny obrót cynkiem zaangażowane są również **metalotioneiny** (MT): MTI, MTII, MTIII. – białka niespecyficznie i odwracalnie wiążące jony metali. **MT-III** jest obecna wyłącznie w mózgu ze szczególną preferencją do okolic o dużym zagęszczeniu neuronów i zakończeń zawierających cynk (np. hipokampa). Poza metalotioneinami, rolę wewnątrzneuronalnych magazynów cynku mogą również spełniać: białko S-100, kalmodulina oraz tubulina [314-317].

Obecny w cytoplazmie cynk transportowany do pęcherzyków przez ZnT-3 pochodzi z dwóch źródeł, tj. z połączeń z białkami sekwestrującymi (MT, S-100, kalmodulina, tubulina) oraz ze środowiska zewnątrzkomórkowego [315, 316]. Drogi, jakimi cynk może przedostawać się do wnętrza neuronu pre- i postsynaptycznego, przedstawia rysunek 4.

Uwalnianie cynku z zakończeń presynaptycznych jest zjawiskiem zależnym od depolaryzacji oraz wapnia i odbywa się na drodze egzocytozy [199, 308]. Stężenie cynku w szczelinach synaptycznych w większości obszarów mózgu jest niewielkie i waha się w granicach 1 – 20 $\mu\text{mol/l}$, podczas gdy w hipokampie (zwłaszcza w rejonie CA3) osiąga ono wartości 100 – 300 $\mu\text{mol/l}$ [240]. Część wydzielonego cynku trafia do zakończenia postsynaptycznego, gdzie łączy się on z licznymi receptorami modyfikując ich aktywność, a także wnika do wnętrza neuronu. Przechodząc do wnętrza neuronu postsynaptycznego, cynk zmienia rolę neurotransmitera na rolę drugiego przekaźnika wchodzącego w interakcję z kinazami oraz białkami jądra komórkowego [199, 319].

Pewna ilość cynku uwolnionego do szczeliny synaptycznej jest wychwytywana zwrotnie do zakończenia presynaptycznego, jednak największa jego część zostaje przejęta przez ligandy pozakomórkowe takie jak: albuminy, glutation, czy histydyna, odpowiedzialne za usuwanie nadmiaru cynku i utrzymywanie jego pozakomórkowego stężenia w fizjologicznych zakresach. Śladowe ilości cynku mogą się również łączyć ze

znajdującymi się w przestrzeni pozakomórkowej enzymami takimi jak anhydraza węglanowa [315, 316, 319]; (patrz rysunek 4).



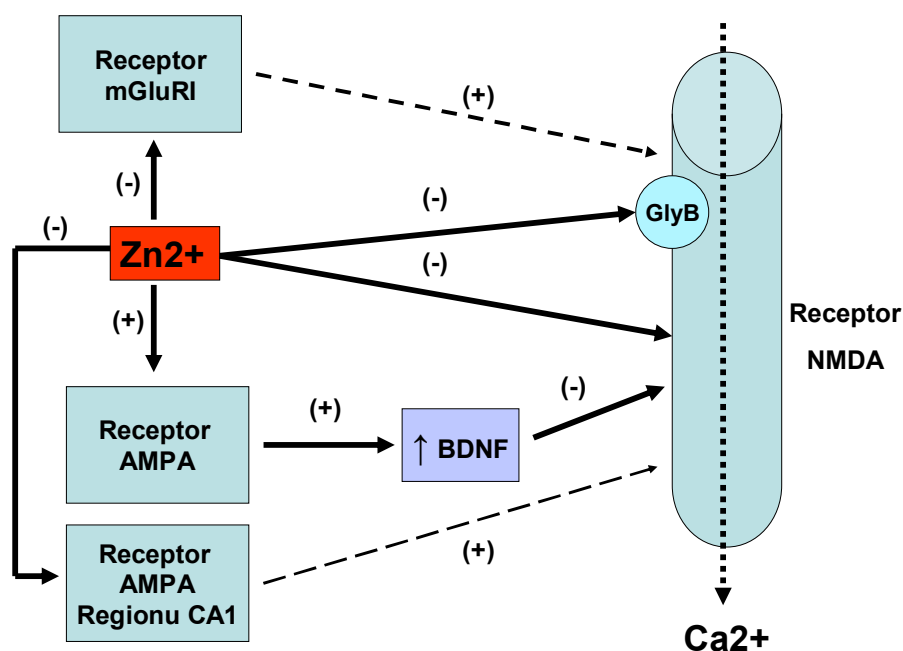
Rysunek 4. Obrót jonów cynkowych w obrębie połączenia synaptycznego. **Objaśnienia rysunku:** AMPA/Kain – receptory AMPA i kainowe, CA – anhydraza węglanowa, GLT – glutation, HST – histydyna, mGluRI – receptor metabotropowe grupy I, MT-3 – metalotioneina III, NMDA – receptor NMDA, PKC – kinaza białkowa C, S100 – białko S100, VSCC – kanał wapniowy zależny od potencjału błony, ZnT1, ZnT3 – transportery cynkowe.

Modulacja przekąźnictwa glutaminianergicznego przez cynk

Kolokalizacja cynku oraz glutaminianu odzwierciedla zaangażowanie cynku w modulację funkcji synaps glutaminianergicznych, zachodzącą na trzech poziomach: 1) w obrębie pęcherzyków synaptycznych; 2) w szczelinie synaptycznej i na błonach synaptycznych; 3) na etapie zmian efektorowych neuronu postsynaptycznego [199].

W obrębie pęcherzyka cynk pełni istotną rolę w przechowywaniu oraz gromadzeniu glutaminianu. Sugeruje się, że może on w sposób wydatny zwiększyć pojemność pęcherzyków dla glutaminianu (poprzez polimeryzację oraz precypitację glutaminianu) oraz spowolnić uwolnienie i zmniejszyć ilość uwalnianego glutaminianu poprzez wpływ na kinetykę procesów oddysocjowywania glutaminianu z jego połączeń magazynowych [199].

Najbardziej istotnym miejscem modulacji przekąźnictwa aminokwasowego przez cynk są receptory glutaminianergiczne, zlokalizowane na błonach synaptycznych. Reasumując informacje zawarte w poprzednim rozdziale można stwierdzić, że cynk na drodze pośredniej i bezpośredniej osłabia aktywność receptorów NMDA oraz pełni funkcję potencjalizatora receptorów AMPA i kainowych, a wspólne uwalnianie glutaminianu i cynku z zakończeń synaptycznych wiąże się z przesunięciem równowagi pobudzenia z receptorów NMDA na receptory AMPA oraz kainowe [186, 191, 192, 320]; (patrz rysunek 5).



Rysunek 5. Cynk jako modulator aktywności receptorów glutaminianergicznych. (**receptor mGluRI** – glutaminianergiczny receptor metabotropowy grupy I)

Modyfikacja czynności neuronów postsynaptycznych przez cynk, będąca dowodem jego zaangażowania w mechanizmy plastyczności neuronalnej, ma charakter niezwykle różnorodny i jest wynikiem zarówno interakcji z receptorami błonowymi, jak i bezpośredniego wpływu na procesy biochemiczne i genetyczne po dotarciu jonów Zn^{2+} do wnętrza komórki. W warunkach fizjologicznych niewielkie ilości jonów cynkowych wnikają do cytoplazmy neuronu postsynaptycznego przez otwarte kanały jonowe. Uruchamia to kaskadę zdarzeń, prowadzących do aktywacji kinaz białkowych (w tym kinazy białkowej II) oraz białek wiążących wapń, a także wpływa na czynniki posttranskrypcyjne. Przypuszcza się, że w wyniku tych procesów uruchomiona zostaje synteza białek niezbędnych do, będącej podstawą zjawiska plastyczności, przebudowy połączeń neruronalnych. Wiadomo poza tym, że pod wpływem cynku dochodzi do translokacji kinazy białkowej C do błon biologicznych, co pociąga za sobą trwałą aktywację tego enzymu, będącą ważnym etapem tworzenia się śladu pamięciowego. Wzrost śródkomórkowego stężenia cynku, poprzez zmniejszenie stopnia polimeryzacji

tubuliny, wpływa również na zwiększenie elastyczności cytoszkieletu, co może ułatwiać tworzenie się nowych połączeń synaptycznych [308, 319-321].

Penetracja cynku do wnętrza neuronu postsynaptycznego, jeżeli ma charakter masywny i niekontrolowany, może odgrywać rolę w rozwoju procesów patologicznych. W przypadku uszkodzenia tkanki mózgowej, w przebiegu niedokrwienia, napadu padaczkowego czy też urazu tkanki mózgowej, dochodzi do nadmiernego uwalniania glutaminianu oraz cynku. Może to skutkować egzocytozą nawet wszystkich pęcherzyków zawierających cynk, co wiąże się z nawet kilkakrotnym przekroczeniem jego fizjologicznego poziomu w szczelinie synaptycznej. Ponieważ mechanizmy wychwyty zwrotnego cynku nie są tak wydolne i szybko działające jak transportery wychwyty w szlakach przekąźnictwa monoaminowego, powstaje w ten sposób olbrzymia pula cynku mogącego ulec masywnej i gwałtownej translokacji do wnętrza neuronu postsynaptycznego z następującą indukcją procesów apoptozy. Translokacja ta może nastąpić, jeżeli w wyniku załamania mechanizmów ujemnego sprzężenia zwrotnego (blokada receptorów NMDA przez cynk, protony, poliaminy i magnez) dojdzie do nadmiernej aktywacji receptora NMDA oraz nadmiernie długiego pozostawania kanałów receptorów jonotropowych w stanie otwartym [199].

Wpływ cynku na inne neurony oraz systemy przekąźnikowe

Neurony i zakończenia glutaminianergiczne, zawierające cynk w regionach CA1 i CA3 hipokampa, współwystępują z włóknami i komórkami układu GABA- ergicznego oraz astrocytami wyposażonymi w transporter kwasu γ – aminomasłowego - GAT4 (*gamma-amino butyric acid transporter*) [322]. **GAT4** obok transportera GAT1 jest jednym z najważniejszych regulatorów transmisji GABA-ergicznej w ośrodkowym układzie nerwowym [323]. Jak wynika z badań, cynk jako jedyny kation metalu w

fizjologicznych stężeniach hamuje wychwyt kwasu gamma – amino masłowego poprzez blokadę transportera GAT4. Skutkiem tego dochodzi do nasilenia gabaergicznego hamowania neuronów, będącego wynikiem synaptycznej i pozasynaptycznej kumulacji GABA. W ten sposób po raz kolejny cynk pełni rolę neuromodulatora, zabezpieczającego neurony przed nadmiernym pobudzeniem i ustalającego stan bezpiecznej równowagi pomiędzy hamującymi i pobudzającymi systemami neuroprzekaźnikowymi. W sytuacjach nasilonej transmisji glutaminianergicznej, uwalniający się razem z glutaminianem cynk nie tylko hamuje aktywność receptora NMDA i „przesuwa” transmisję w stronę szybciej ulegających desensytyzacji i deaktywacji oraz mniej zagrażających ekscytotoksycznością receptorów AMPA i kainowych, ale również nasila działanie antagonistycznego układu GABA-ergicznego poprzez blokowanie wychwyty GABA [322-324].

Niektóre, przeprowadzone na izolowanych neuronach lub receptorach badania *in vitro* wskazują na zdolność cynku do blokowania receptorów GABA_A, pozostającą w kontraście do wyżej opisanego mechanizmu modulacji układu gabaergicznego. Prawdopodobnie jednak w warunkach *in vivo*, w obrębie hipokampa, działanie blokujące cynku nie odgrywa większej roli ze względu na zbyt dużą odległość pomiędzy zakończeniami glutaminianergicznymi a receptorami GABA_A, znajdującymi się na ciałach neuronów, na którą jony cynkowe, przemieszczające się w środowisku pozakomórkowym drogą dyfuzji, nie docierają wcale lub docierają w stężeniach niewystarczających żeby wywołać odpowiednie zmiany regulatorowe [199, 324].

Poza układami aminokwasów pobudzających i hamujących, cynk wydaje się być również istotnym pierwiastkiem wpływającym na przekaźnictwo monoaminowe i to zarówno na etapie metabolizmu amin biogennych, jak i na poziomie oddziaływań receptorowych.

Jak wiadomo, obecność kompleksu Zn-ATP jest konieczna dla prawidłowego funkcjonowania syntetazy pirydoksalo-5-fosforanu (PLP) oraz flawokinazy, zaangażowanej w produkcję flawonomononukleotydu (FAD) (325). PLP i FAD pełnią natomiast funkcję koenzymów niezbędnych w syntezie amin biogennych i wpływają na aktywność monoaminooksydazy (MAO) [326]. Dodatkowo wykazano, że cynk pełni rolę odwracalnego i selektywnego kompetytywnego inhibitora MAO – A u makaków. Działanie takie nie zostało potwierdzone w przypadku monoaminooksydazy szczurów i królików [327].

Na poziomie receptorowym w stężeniach fizjologicznych cynk, poprzez modulację allosteryczną zwiększa powinowactwo receptora β dla agonistów, hamuje przyłączanie się antagonistów i nasila kumulację wewnątrzkomórkowego cAMP po stymulacji receptora [328].

W obrębie układu dopaminergicznego, najważniejszym działaniem cynku, uwalniającego się z zakończenia glutaminianergicznego, jest niekompetytywna blokada transportera dopaminowego, pociągająca za sobą hamowanie wychwytu zwrotnego dopaminy oraz nasilanie jej wyrzutu. Efekt ten jest najsilniej zaznaczony w przypadku stężeń cynku, mieszczących się w zakresie od 3 -30 $\mu\text{mol/l}$ [328, 329]. Poza tym w stężeniach ponad 100 $\mu\text{mol/l}$ cynk na drodze modulacji allosterycznej, w sposób odwracalny blokuje wiązanie antagonistów z receptorami D_1 , D_2 , D_4 [330, 331].

Znaczenie fizjologiczne i patologiczne działania cynku w układzie serotoninerpicznym jest niejasne i poznane w małym stopniu. Jak do tej pory ustalono, że cynk może nasilać wiązanie agonistów z receptorem $5HT_3$, osłabiać proces jego desensytyzacji i zwiększać wielkość maksymalnych prądów jonowych przechodzących przez jego kanał [332].

Cynk a etiologia i terapia depresji

Stanom niedoboru cynku, poza objawami neurologicznymi i somatycznymi, towarzyszą liczne objawy psychopatologiczne, z których znaczna część pokrywa się z objawami depresji. Wspomnieć tu należy o pogorszeniu się apetytu, osłabieniu odczuwania smaku, obniżeniu libido, spadku odporności immunologicznej, obniżeniu nastroju, labilności emocjonalnej, drażliwości oraz zaburzeniach poznawczych [301]. Zjawiska te w sposób pośredni mogą sugerować udział zaburzeń obrotu cynku w generowaniu objawów depresji oraz zaangażowanie tego pierwiastka w etiopatogenezie oraz terapii zaburzeń depresyjnych.

Hipotezy, sugerujące rolę cynku w etiologii i terapii depresji, opierają się przede wszystkim na wieloaspektowym zaangażowaniu tego pierwiastka w modulację aktywności systemów neuroprzekaźnikowych aminokwasów pobudzających i hamujących oraz związane z tym zjawiska plastyczności neuronalnej. Jak wykazywano w podrozdziale: „*Udział układu glutaminianergicznego w patofizjologii i leczeniu depresji*”, zjawiska patofizjologiczne oraz kliniczne symptomy depresji mogą być rozumiane jako odzwierciedlenie uszkodzania neuronów, będącego skutkiem pojawiających się w warunkach szeroko rozumianego stresu: nadmiernej aktywacji receptorów NMDA i ogólnego zaburzenia proporcji aktywności poszczególnych receptorów jonotropowych w układzie glutaminianergicznym. Jak wiadomo, działanie cynku tworzy jedno z podstawowych zabezpieczeń chroniących neurony przed nadmierną aktywacją receptorów NMDA. Warto również podkreślić, iż struktury mózgu, w których w przebiegu depresji dochodzi do postępujących zmian degeneracyjnych (hipokamp, ciało migdałowate), są obszarami szczególnej koncentracji zakończeń oraz ciał neuronów glutaminianergicznych sekwestrujących cynk, a obecne w nich liczne receptory NMDA charakteryzują się wysokim stopniem ekspresji

podjednostek białkowych NR2_A, warunkujących najwyższy stopień podatności receptora na hamujące działanie cynku. Dodatkowo udział cynku w etiologii i terapii depresji może być tłumaczony jego bezpośrednim oddziaływaniem z układami neuroprzekaźników monoaminowych oraz jego zaangażowaniem w utrzymanie integralności błon biologicznych.

Jak wynika z badań, w stanach niedoboru cynku może dochodzić do destabilizacji błon komórkowych, a co za tym idzie, zaburzeń funkcji receptorów oraz transporterów błonowych. Poza tym cynk jest ważnym elementem mechanizmów antyoksydacyjnych odpowiedzialnych za stabilność bariery krew mózg. Chroni on grupy tiolowe białek przed oksydacją oraz zmniejsza potencjał prooksydacyjny miedzi i żelaza. Niedobór cynku wiąże się ze zmniejszeniem integralności bariery krew-mózg oraz zwiększeniem jej przepuszczalności dla substancji toksycznych [332, 333].

Na udział cynku w patofizjologii depresji wskazywać mogą również badania na zwierzętach oraz badania kliniczne, ukazujące zmiany poziomu tego pierwiastka w mózgu oraz krwi w przebiegu epizodu depresyjnego lub w eksperymentalnych modelach depresji.

Zaobserwowano, że u szczurów poddanych procedurze chronicznego, nieprzewidywalnego stresu, ma miejsce znaczące obniżenie poziomu cynku we krwi. Hipocynkemia nie pojawia się jednak u zwierząt poddanych bulbektomii węchowej, czy też chronicznemu łagodnemu stresowi [335]. Stosowanie u szczurów leków przeciwdepresyjnych oraz elektrowstrząsów wiąże się z wyraźnymi zmianami zawartości cynku w różnych częściach mózgu i w surowicy krwi. Przykładowo citalopram powoduje wzrost cynkemii o około 20%, czego nie obserwuje się w przypadku imipraminy oraz wstrząsów elektrycznych. Zarówno citalopram, jak i imipramina zwiększają o około 10% stężenie cynku w hipokampie. Znacznie wyższy,

bo sięgający 30%, wzrost poziomu cynku w hipokampie obserwuje się po elektrowstrząsach. Należy tutaj dodać, iż wielokrotne stosowanie wstrząsów elektrycznych pociąga za sobą rozrastanie się komórek ziarnistych warstwy włókien mszystych hipokampa, stanowiącej miejsce szczególnie wysokiej koncentracji cynku. Imipramina i citalopram powodują spadek poziomu cynku w przodomózgowiu, korze oraz mózdzku, podczas gdy rezultatem działania elektrowstrząsów jest - sięgające około 11-15% - zwiększenie stężenia cynku w tych strukturach [240]. Dotychczas nie znaleziono wzajemnych zależności pomiędzy poziomem cynku w surowicy i ośrodkowym układzie nerwowym [335].

Istnieją liczne doniesienia wskazujące na obecność hipocynkemi w przebiegu depresji. Doniesienia te, w połączeniu z przedstawionymi wcześniej przesłankami teoretycznymi oraz wynikami obserwacji na zwierzętach, uzasadniają badanie zmian poziomu cynku we krwi jako markera stanu depresyjnego oraz markera reakcji na leczenie. Już w 1983 roku opisano przypadek zaburzeń depresyjnych nawracających, współwystępujących z obniżonym poziomem cynku w surowicy [336]. W przeprowadzonym w 1989 roku badaniu na 31 osobach z populacji Karaczi, cierpiących na depresję, zaobserwowano znacząco niższy poziom osoczkowego cynku u depresyjnych kobiet, w porównaniu do kobiet z grupy kontrolnej. Nie znaleziono takiej zależności u mężczyzn [337]. McLoughlin i Hodge [334] przebadali osoczowy poziom cynku u 14 nieleczonych pacjentów z pierwszorazowym rozpoznaniem epizodu depresyjnego. Wyniki porównano z 14 osobową grupą zdrowych ochotników. Średnie stężenie osoczkowe cynku w grupie pacjentów wyniosło 12.3 $\mu\text{mol/l}$ i było znacząco niższe w porównaniu do grupy kontrolnej (14.1 $\mu\text{mol/l}$). U 9 pacjentów, u których dodatkowo powtórzono badanie krwi po osiągnięciu poprawy klinicznej, średni poziom cynku wzrósł do wartości zbliżonej do grupy kontrolnej (14.3 $\mu\text{mol/l}$). W kolejnym

badaniu, przeprowadzonym na 35 pacjentach cierpiących na depresję, oznaczano osoczowy poziom cynku dwukrotnie – przed rozpoczęciem terapii i po uzyskaniu klinicznej poprawy. Wyniki porównano z 35 osobową grupą zdrowych ochotników. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w zakresie stężenia cynku pomiędzy badanymi grupami. Poprawa kliniczna przyniosła jednak istotny statystycznie wzrost średniego poziomu cynku z 107.62 µg/dl do 125.68 µg/dl u osób leczonych [338]. W 1994 roku Maes i wsp. [339] porównali stężenia cynku w surowicy u 48 aktualnie nieleczonych i przyjętych do szpitala pacjentów z rozpoznaniem choroby afektywnej jednobiegunowej z 32 osobową grupą zdrowych ochotników. Grupa pacjentów depresyjnych została podzielona na 3 podgrupy w zależności od nasilenia objawów: pacjenci z epizodem dużej depresji oraz objawami melancholicznymi, pacjenci z rozpoznaniem dużej depresji bez objawów melancholicznych i pacjenci z rozpoznaniem małej depresji. We wszystkich 3 podgrupach poziom cynku był znacząco niższy w porównaniu do grupy kontrolnej (2.02 mg/l) i wynosił odpowiednio: 1.78; 1.77; 1.89 mg/l. Ponadto wykazano ujemną korelację pomiędzy poziomem cynku a nasileniem depresji, mierzonym HDRS. Kolejne badanie Maesa i wsp. [340] potwierdziło znacząco niższe stężenie surowicowego cynku, u trzydziestu jeden pacjentów depresyjnych (0.95 µg/dl) w porównaniu z piętnastoosobową grupą kontrolną (1.15 µg/dl). Nie wykazano jednak korelacji pomiędzy poziomem cynku a nasileniem depresji mierzonej HDRS, długością trwania epizodu depresyjnego czy też obecnością cech melancholicznych. Poziom cynku u pacjentów z depresją lekooporną był istotnie statystycznie niższy zarówno od poziomu cynku u pozostałych pacjentów, jak i zdrowych ochotników i wynosił 0.91 µg/dl. Trwające następnie 5 tygodni leczenie przeciwdepresyjne (trazodon w monoterapii lub w połączeniu z fluoksetyną lub pindololem), nie spowodowało istotnych zmian poziomu cynku, niezależnie od stopnia odpowiedzi na leczenie.

Obserwacja Maesa i wsp. z 1999 roku [341], przeprowadzona na 48 pacjentach z rozpoznaniem dużej depresji i 15 zdrowych ochotnikach, dała podobne rezultaty. Ponownie nie zaobserwowano normalizacji poziomu cynku w przebiegu leczenia ani jego korelacji z nasileniem depresji mierzonym Skalą Depresji Hamiltona. W obydwu badaniach obniżenie poziomu cynku, rejestrowane u pacjentów lekoopornych, wykazywało większe nasilenie w porównaniu z pacjentami dobrze reagującymi na leczenie i stanowiło czuły (79%) oraz specyficzny (93%) marker lekooporności [340, 341]. Wyniki te pozostają w opozycji do badania polskiego przeprowadzonego przez zespół pod kierunkiem Schlegel-Zawadzkiej w 1999 roku [342]. W badaniu tym u 19 pacjentów z rozpoznaniem dużej depresji w przebiegu choroby afektywnej jednobiegunowej dokonano 3 – krotnego pomiaru surowcowego poziomu cynku (przed rozpoczęciem leczenia, a następnie po 2 i 6 tygodniach jego kontynuacji). Uzyskane wyniki zostały porównane z 16-sto osobową grupą zdrowych ochotników. Przed rozpoczęciem terapii stężenie cynku we krwi u pacjentów depresyjnych było o 12% niższe w porównaniu ze średnim poziomem uzyskanym w grupie kontrolnej (0.79 mg/l vs. 0.9 mg/l) i dodatnio skorelowane z nasileniem depresji mierzonym HDRS. Skuteczna terapia przeciwdepresyjna powodowała normalizację cynkiemii.

Teoretycznie, hipocynkemia obserwowana w depresji mogłaby wynikać z trzech odmiennych przyczyn. Po pierwsze próbowano ją tłumaczyć niedoborami żywieniowymi, wynikającymi z typowego dla obrazu choroby obniżenia apetytu. Badania Maesa i współpracowników nie wykazały jednak korelacji pomiędzy obniżeniem surowcowego poziomu cynku, a spadkiem masy ciała, czy też obniżeniem apetytu u chorych z rozpoznaniem dużej depresji [343]. Co również warto podkreślić, w populacjach pacjentów depresyjnych nie stwierdzono ani odmienności zwyczajów żywieniowych ani zwiększonej w stosunku do populacji osób zdrowych ilości

przypadków niedoborów żywieniowych [344]. Kolejnym wytłumaczeniem obniżenia poziomu cynku we krwi pacjentów depresyjnych mogłaby być hiperstymulacja osi podwzgórze-przysadka-nadnercza oraz związana z nią hiperkortyzolemia. Hipotezę tą podważać może badanie, w którym nie znaleziono różnic poziomów cynku pomiędzy osobami o dodatnim lub ujemnym wyniku DST. Nie znaleziono również zależności pomiędzy poziomem cynku i kortyzonu we krwi [339].

Najbardziej przekonująca wydaje się być koncepcja, według której hipocynkemia jest efektem uruchamiania w trakcie depresji mechanizmów zapalnych oraz reakcji ostrej fazy. Jak do tej pory u chorych na depresję wykazano dodatnią korelację obniżonego poziomu cynku ze spadkiem całkowitego poziomu protein, albuminy i transferyny oraz ujemną korelację ze wzrostem poziomu neopteryny, IL-6 i współczynnika CD4/CD8 [165, 339, 340, 345]. Z powyższych danych wynika, iż obniżony poziom cynku w surowicy krwi w przebiegu depresji może po pierwsze wynikać ze spadku poziomu jego głównego transportera – albuminy, po drugie może być efektem nadmiernego wychwytu cynku z krwioobiegu przez syntezowanie w wątrobie metalotioneiny. Zarówno spadek poziomu albumin, jak i synteza metalotionein są zjawiskami indukowanymi przez IL-1 oraz IL-6 [163].

Zainteresowanie cynkiem jako pierwiastkiem mogącym odegrać istotną rolę w leczeniu depresji wynika niewątpliwie z faktu, iż posiada on właściwości farmakodynamiczne kilku grup substancji modulujących aktywność układu glutaminianergicznego i posiadających potencjał przeciwdepresyjny, wykazywany w badaniach na zwierzętach. Jak już wspomniano, cynk jest zarówno bezpośrednim antagonistą receptora NMDA, jak i potencjalizatorem receptorów AMPA i antagonistą metabotropowych receptorów grupy pierwszej.

Wyniki licznych badań przeprowadzonych na zwierzętach sugerują istotną potencjalną aktywność przeciwdepresyjną cynku podawanego dootrzewnowo. Chlorek cynku w dawce 30 mg/kg m.c. wykazuje aktywność w teście zawieszenia u myszy [346]. Siarczan cynku podawany w dawce 30 mg/kg m.c. w teście wymuszonego pływania u myszy i szczurów redukuje czas bezruchu w takim samym stopniu jak imipramina [347], nie zwiększając aktywności lokomotorycznej zwierząt, co wyklucza możliwość fałszywie dodatnich wyników badania. Identycznie silne działanie w teście Porsolta u myszy i szczurów również bez nasilania aktywności lokomotorycznej wykazuje wodorooasparaginian cynku (dawka 30 mg/kg m.c.). Jego wielokrotne podawanie, podobnie do leków przeciwdepresyjnych i w przeciwieństwie do wielu substancji hamujących aktywność receptora NMDA, nie doprowadza do występowania zjawiska tolerancji. U szczurów siła działania wodorooasparaginianu cynku w teście Porsolta jest dodatnio skorelowana z jego stężeniem we krwi [240, 348]. Co więcej, u myszy łączne podanie imipraminy oraz wodorooasparaginianu cynku w dawkach, w których substancje te podawane oddzielnie nie wykazują skuteczności w teście Porsolta (imipramina: 15 mg/kg m.c., Cynk – 15 lub 10 mg/kg m.c.) również powoduje znaczne skrócenie czasu bezruchu, bez wpływu na aktywność lokomotoryczną, co jednoznacznie sugeruje potencjalizację działania przeciwdepresyjnego imipraminy przez cynk. Analogiczne zjawisko potencjalizacji zaobserwowano, łącząc niskie nieefektywne w monoterapii dawki cynku z nieefektywnymi w monoterapii dawkami citalopramu (15 mg/kg m.c.); [348]. Ostatnie badania eksperymentalne raczej wykluczają farmakokinetyczne podłoże potencjalizacyjnej aktywności cynku i wskazują na jego interakcję farmakodynamiczną z lekami przeciwdepresyjnymi, odbywającą się najprawdopodobniej na poziomie modulacji aktywności układu glutaminianergicznego oraz modulacji ekspresji genów kodujących BDNF [349]. Jak do tej pory udowodniono,

że wielokrotnie podawana imipramina zwiększa powinowactwo cynku do receptora NMDA, nasilając tym samym jego działanie hamujące na receptor [240].

W doświadczeniach prowadzonych na szczurach wodoroasparaginian cynku, zarówno podawany jednorazowo, jak i podawany wielokrotnie, wykazał również swoją znaczącą aktywność w teście bulbektomii węchowej, w modelu chronicznego nieprzewidywalnego stresu i chronicznego łagodnego stresu [349, 350]. Co warto podkreślić, działanie cynku w teście wymuszonego pływania i teście bulbektomii węchowej utrzymuje się nadal po zaprzestaniu jego długotrwałego podawania [350]. Bardzo ważnym dodatkowym argumentem przemawiającym za aktywnością przeciwdepresyjną cynku są wyniki badania przeprowadzonego przez Nowaka i wsp.[206], w którym długotrwałe podawanie cynku wywołało zwiększenie w korze mózgowej szczurów ekspresji mRNA kodującego BDNF. Jak wiadomo, wzrost syntezy BDNF na terenie kory mózgowej i hipokampa należy do podstawowych efektów długoczasowej terapii wszystkimi obecnie stosowanymi lekami przeciwdepresyjnymi.

W krakowskiej Klinice Psychiatrii Dorosłych we współpracy z Zakładem Neurobiologii PAN przeprowadzono pilotażowe badanie randomizowane, z zastosowaniem podwójnie ślepej próby i kontroli placebo, którego celem była obserwacja efektów terapeutycznych skojarzenia typowego leczenia przeciwdepresyjnego (SSRI, TCA) z podawaniem cynku [351]. *Wyniki tego pierwszego badania klinicznego oraz przedstawione wyniki badań eksperymentalnych na zwierzętach, wydają się w pełni uzasadniać koncepcję szerszego zbadania użyteczności cynku w charakterze potencjalizatora leczenia przeciwdepresyjnego.*

Cel pracy

Jak wykazano w rozdziale „*Skuteczność standardowej farmakoterapii przeciwdepresyjnej i sposoby jej zwiększania*”, zarówno stosowane obecnie farmakologiczne metody leczenia depresji jak i strategie, mające na celu zwiększenie ich efektywności dają, niezadowalające rezultaty, co dla znaczącego odsetka pacjentów wiąże się z niekorzystnym rokowaniem krótko- i długoterminowym, przejawiającym się między innymi: dużą liczbą nawrotów choroby, ryzykiem lekooporności i związanym z nią chronicznym utrzymywaniem się objawów, wysokim stopniem upośledzenia funkcjonowania społecznego i zawodowego.

Przedstawione w rozdziale „*Układ glutaminianergiczny i jego udział w patofizjologii i terapii depresji*” niniejszej pracy dowody na powiązanie patogenezы depresji z zaburzeniami czynności układu glutaminianergicznego, ze szczególnym uwzględnieniem nadmiernej aktywacji receptora NMDA oraz znaczący potencjał przeciwdepresyjny substancji hamujących w sposób pośredni lub bezpośredni aktywność receptora NMDA, wykazywany głównie w badaniach doświadczalnych oraz pojedynczych obserwacjach klinicznych, uzasadniają dalsze poszukiwanie nowych metod skutecznego leczenia depresji, opartych na modulacji systemu neuroprzebieźnikowego aminokwasów pobudzających.

Fakt wielopłaszczyznowego oddziaływania cynku z układem glutaminianergicznym oraz obserwowane w modelach zwierzęcych: jego aktywność przeciwdepresyjna i zdolność do wzmacniania działania imipraminy i citalopramu, stały się uzasadnieniem, będącej częścią powyższej rozprawy, koncepcji sprawdzenia w fazie klinicznej skuteczności cynku jako potencjalizatora typowego leczenia przeciwdepresyjnego.

Jak przedstawiono w rozdziale „*Laboratoryjne markery stanu depresyjnego oraz reakcji na leczenie*”, kolejnym istotnym problemem dotyczącym terapii zaburzeń depresyjnych jest fakt, iż do tej pory nie znaleziono markerów biologicznych, które w codziennej praktyce klinicznej mogłyby sygnalizować zagrożenie nawrotem depresji, pozwalałyby na oszacowanie stopnia odpowiedzi na leczenie, czy też informowały o zjawisku lekooporności. Część z wykrywanych dotąd w depresji nieprawidłowości czy odmienności w badaniach laboratoryjnych mogących pełnić rolę markerów po wieloletniej weryfikacji została odrzucona, głównie powodu niezadowalającej czułości i/lub swoistości, a pozostałe wykazane zostały w pojedynczych badaniach i na taką weryfikację dopiero oczekują. Wyniki dotychczasowych badania eksperymentalnych i klinicznych, wskazujące na zmiany poziomu cynku w surowicy w przebiegu depresji, uzasadniają zbadanie roli tego pierwiastka w charakterze markera depresji.

W związku z powyższym celem części badawczej pracy „*Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej*” była weryfikacja następujących hipotez:

1. Dodanie wodoroasparaginianu cynku w dawce 0.15 g dziennie do imipraminy u pacjentów z rozpoznaniem epizodu depresji, przyspiesza wystąpienie odpowiedzi na leczenie.
2. Dodanie wodoroasparaginianu cynku, w dawce 0.15 g dziennie do imipraminy u pacjentów z rozpoznaniem epizodu depresji, powoduje wystąpienie odpowiedzi na leczenie u większego odsetka pacjentów oraz wiąże się z większą, niż w przypadku monoterapii imipraminą, redukcją nasilenia objawów depresyjnych.
3. Istnieją różnice w odpowiedzi na działanie potencjalizujące cynku u chorych z depresją oporną i nieoporną na dotychczasowe leczenie stosowane w obecnym epizodzie choroby.

- 4.** Zmiany poziomu cynku w surowicy u pacjentów z rozpoznaniem zaburzeń depresyjnych stanowią marker stanu depresyjnego, jego nasilenia i ustępowania, co przejawia się w następujący sposób:
- a.** Poziom cynku w surowicy u pacjentów z rozpoznaniem epizodu depresji różni się istotnie od poziomu tego pierwiastka u osób zdrowych.
 - b.** W miarę zmniejszania się nasilenia stanu depresyjnego ma miejsce normalizacja poziomu cynku, tj. jego powrót do wartości porównywalnej z osobami zdrowymi.
 - c.** Istnieją znaczące różnice stężeń cynku w surowicy pomiędzy pacjentami, którzy na końcu obserwacji odpowiedzieli a pacjentami, którzy nie odpowiedzieli na zastosowane leczenie.
 - d.** Poziom cynku w surowicy u pacjentów, którzy na końcu obserwacji nie odpowiedzieli na leczenie, nie różni się istotnie od poziomu wyjściowego i jest znacząco niższy niż w populacji osób zdrowych.
 - e.** Istnieją różnice w zakresie wyjściowego poziomu cynku w surowicy odpowiednio pomiędzy pacjentami, którzy spełnili lub nie kryteria odpowiedzi terapeutycznej lub kryteria remisji.
 - f.** Poziom cynku odzwierciedla nasilenie objawów depresji w ostrym okresie choroby.

Metodyka badania

Część I – Randomizowane, kontrolowane placebo badanie skuteczności przeciwdepresyjnej połączenia imipraminy z wodoroasparaginianem cynku

Do badania włączono 60 chorych leczonych w Poradni Zaburzeń Afektywnych lub hospitalizowanych na Oddziale Leczenia Depresji Kliniki Psychiatrii Dorosłych Collegium Medicum U J. Badaniem zostały objęte osoby obojga płci, z rozpoznaniem zaburzenia depresyjnego nawracającego (choroba afektywna jednobiegunowa), w wieku kwalifikującym do leczenia w wyżej wymienionych placówkach (18 – 55 lat), spełniające kryteria ICD – 10 epizodu depresyjnego umiarkowanego lub ciężkiego bez objawów psychotycznych [352].

Ze względu na to, iż rozpoznanie zaburzenia depresyjnego nawracającego bywa diagnozą tymczasową i w populacji pacjentów z tym rozpoznaniem znajduje się około 5 – 10% osób, u których w przyszłości mogą pojawić się epizody hipomaniakalne lub maniakalne, świadczące o obecności zaburzenia dwubiegunowego (CHAD), kryteria ICD10 zaburzenia depresyjnego nawracającego uznane zostały za niewystarczające [353-355]. Celem większego prawdopodobieństwa rozpoznania choroby jednobiegunowej:

- Przyjęto zaproponowane przez Perrisa kryterium trzech lub więcej epizodów depresji w wywiadzie. *Do badania włączano zatem pacjentów, u których obecnie*

stwierdzany epizod depresji był co najmniej trzecim z kolei udokumentowanym epizodem [356].

- Do badania nie były kwalifikowane osoby, u których bezpośrednio po epizodzie depresyjnym i/lub w wyniku terapii lekami przeciwdepresyjnymi pojawiały się krótkotrwale stany wzmożonego samopoczucia i aktywności, ze względu na znaczące prawdopodobieństwo, iż mogły to być nierozpoznane stany hipomaniakalne. Jak wynika bowiem z rosnącej liczby doniesień, pacjenci chorujący na depresję są w niewystarczający sposób poinformowani na temat możliwości rozwinięcia się u nich objawów „drugiego bieguna” i bardzo często bagatelizują występujące u nich objawy hipomanii. Z drugiej strony powszechnym zjawiskiem wydają się być: niewystarczająca czujność lekarzy pierwszego kontaktu i psychiatrów wobec objawów hipomanii oraz problemy z jej identyfikacją w świetle dzisiejszych systemów kwalifikacyjnych [357-360].
- Do badania nie były kwalifikowane osoby z obecnością zaburzenia afektywnego dwubiegunowego u krewnych pierwszego i drugiego stopnia. Zarówno poplekowe epizody hipomaniakalne, jak i nawracające zaburzenia depresyjne z obciążeniem rodzinnym chorobą dwubiegunową, przez wielu ekspertów uznawane są obecnie za spektrum zaburzeń dwubiegunowych i zaliczane do choroby afektywnej dwubiegunowej typu III [357-361].
- Do badania nie były również kwalifikowane osoby z rozpoznaniem depresji psychotycznej w wywiadzie, ze względu na to, iż depresja psychotyczna: 1) jest często mylona z CHAD oraz zaburzeniami schizoafektywnymi; 2) stanowi istotny czynnik ryzyka rozpoznania dwubiegunowego w przyszłości [353, 361].

Ponadto zostały przyjęte następujące, dodatkowe kryteria zakwalifikowania do badania:

- Podpisanie świadomej zgody przez pacjenta.
- Brak drugiej diagnozy: 1) zaburzeń psychicznych na tle organicznego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego; 2) uzależnienia od alkoholu, substancji psychoaktywnych lub leków (z wyjątkiem uzależnienia od kofeiny i/lub nikotyny oraz z wyjątkiem pacjentów uzależnionych w pełnej remisji uzależnienia).
- Nieobecność w wywiadzie nadużywania alkoholu lub substancji psychoaktywnych w ciągu miesiąca poprzedzającego rekrutację do badania.
- Nieobecność przeciwwskazań do zażywania preparatów cynku lub sytuacji, wiążących się z niebezpieczeństwem wchodzenia cynku w interakcje skutkujące zmianami jego poziomu w surowicy; należą do nich: 1) *niewydolność nerek*; 2) *leczenie: hydralazyną, antybiotykami (fluorochinolony, tetracykliny), niesyterydowymi lekami przeciwzapalnymi (kwasem acetylosalicylowym, ibuprofenem, indometacyną, tiazydowymi lekami moczopędnymi), kortykosteroidami*; 3) *przyjmowanie preparatów osłabiających wchłanianie cynku z przewodu pokarmowego (preparaty żelaza, wapnia oraz substancje chelatujące)*; 4) *uczulenie na preparaty cynku [301, 362]*.
- Zakwalifikowanie pacjenta do terapii trójpierścieniowym lekiem przeciwdepresyjnym i związana z tym nieobecność przeciwwskazań do ich przyjmowania, takich jak: 1) *jaskra z zamkniętym kątem przesączania*; 2) *znaczne zaburzenia rytmu serca (zwłaszcza tachyarytmia, migotanie przedsionków, zaburzenia przewodnictwa)*; 3) *niestabilna choroba wieńcowa*; 4) *kres bezpośrednio po zawale mięśnia sercowego*; 5) *znaczne nadciśnienie lub niedociśnienie tętnicze*; 6) *nadczynność tarczycy dużego stopnia*; 7) *choroba*

Addisona; 8) ciężkie uszkodzenie narządów miękkich (w tym: niewydolność wątroby lub nerek); 9) zmiany w obrazie morfologicznym krwi wskazujące na możliwość uszkodzenia układu krwiotwórczego; 10) zespoły depresyjne przebiegające z zaburzeniami świadomości; 11) zatrucie: lekami psychotropowymi, alkoholem, lekami działającymi cholinolitycznie albo adrenergicznie; 12) zaburzenia oddawania moczu; 13) alergia na imipraminę [8, 363].

- Nieprzyjmowanie przez pacjenta:
 - Preparatów wchodzących z imipraminą (lub jej metabolitem – dezypraminą) w interakcje, wiążące się z ryzykiem niebezpiecznych objawów ubocznych lub modyfikacją skuteczności leczenia. Do leków tych należą: *blokery receptora H_1 , blokery kanału wapniowego (werapamil, diltiazem, nifedypina), cymetydyna, cholestyramina, disulfiram, fenylobutazon, leki cholinolityczne, karbamazepina, labetalol, niektóre leki antyarytmiczne (amiodaron, chinidyna, prokainamid), niektóre leki hipotensyjne (betanidyna, guanetydyna, klonidyna, metylodopa), leki przeciwzakrzepowe (warfaryna, acenokumarol), metylfenidat, pochodne sulfonylomocznika, fenytoina* [8, 31, 364].
 - Imipraminy i/lub doustnych preparatów zawierających cynk w 4 – tygodniowym okresie poprzedzającym badanie.
 - Fluoksetyny w okresie 3 ostatnich tygodni poprzedzających rekrutację do badania, ze względu na fakt, iż okres półtrwania norfluoksetyny – aktywnego metabolitu fluoksetyny wynoszący 7 – 9 dni, przekraczał długość planowanego w badaniu okresu *washout*, a co za tym idzie, istniała

możliwość nakładania się działania imipraminy i metabolitu fluoksetyny skutkującego potencjalizacją efektu przeciwdepresyjnego [363].

- Nieobecność następujących poważnych schorzeń somatycznych, nie uwzględnionych we wcześniejszej liście przeciwwskazań do przyjmowania TCA oraz cynku, ale mogących w istotny sposób wpłynąć na przebieg i skuteczność leczenia przeciwdepresyjnego lub zwiększających ryzyko poważnych działań niepożądanych w przebiegu leczenia imipraminą lub też wiążących się z istotnymi zmianami poziomu cynku w surowicy; należą do nich: 1) *poważne schorzenia neurologiczne*⁷; 2) *niedoczynność tarczycy*; 3) *choroba lub zespół Cushinga*; 4) *przerost gruczołu krokowego*; 5) *nabyte uszkodzenia serca*; 6) *przebyte lub aktualne choroby nowotworowe*; 7) *przebyty zawał serca*; 8) *choroby układowe i inne schorzenia autoimmunologiczne*; 9) *procesy zapalne i infekcyjne w ciągu ostatnich dwóch tygodni przed włączeniem do badania*; 10) *cukrzyca*; 11) *stan odwodnienia*.
- Nieobecność znaczącego ryzyka podjęcia próby samobójczej, stwierdzana na podstawie wywiadu i/lub aktualnego badania psychiatrycznego.
- W przypadku kobiet w okresie rozrodczym: ujemny wynik testu ciążowego (czułość testu: 25 IU/L HCG) na 12 godzin przed rozpoczęciem podawania leków oraz stosowanie zalecanych metod zapobiegania ciąży (hormonalne środki antykoncepcyjne, zabezpieczenia o typie podwójnej bariery, wkładki wewnątrzmaciczne), celem zminimalizowania ryzyko zajścia w ciążę w okresie badania i do 3 tyg. po jego zakończeniu. *Ponadto do badania nie były włączane kobiety znajdujące się w okresie karmienia piersią.*

⁷ migrena, padaczka oraz inne zespoły drgawkowe (z wyłączeniem incydentalnych drgawek związanych z gorączką w okresie dzieciństwa), choroba Parkinsona, choroba Alzheimera, stwardnienie rozsiane, przebyty udar mózgu, przemijające epizody niedokrwienne mózgu, porażenie mózgowe, uraz głowy z utratą przytomności i/lub rozpoznanym wstrząśnieniem mózgu.

- Prawidłowe wyniki badań krwi (morfologia, poziom kreatyniny, mocznika, wapnia, sodu, potasu) i badania ogólnego moczu

Każdy pacjent otrzymał precyzyjną i szczegółową ustną informację o celach i zasadach przeprowadzanego eksperymentu medycznego, spodziewanych korzyściach leczniczych i innych, oraz ryzyku związanym z poddaniem się eksperymentowi. Informacji tych udzielił lekarz prowadzący badanie. W trakcie i po zapoznaniu się z pisemną informacją pacjent miał możliwość zadawania pytań i uzyskania na nie szczegółowej odpowiedzi. Kobiety w okresie rozrodczym uzyskały dodatkową szczegółową informację odnośnie konieczności i metod zapobiegania ciąży w trakcie badania, jak również zostały pouczone o postępowaniu w przypadku zajścia w ciążę w trakcie badania. Uczestniczący w badaniu został również poinformowany o sposobie szybkiego kontaktu z prowadzącym badanie oraz o możliwości odstąpienia od badania na każdym z jego etapów, bez podania przyczyny swej decyzji. Zgoda na przystąpienie do badania uzyskiwana była w formie pisemnej w obecności prowadzącego eksperyment lekarza.

Przyjęto następujące kryteria wyłączenia pacjenta z badania w trakcie jego trwania:

- Wycofanie przez pacjenta zgody na dalszy udział w badaniu
- Poważny brak współpracy, nie stosowanie się do wymogów protokołu badania przez pacjenta w ocenie badacza
- Wystąpienie w trakcie obserwacji: epizodu hipomanii, manii lub epizodu mieszanego, świadczące o konieczności zmiany rozpoznania - z zaburzeń afektywnych jednobiegunowych na dwubiegunowe.

- Wystąpienie innych objawów świadczących o występowaniu każdej innej choroby psychicznej niż głęboka depresja.
- Pojawienie się objawów psychotycznych.
- Gwałtowne pogorszenie stanu psychicznego, pociągające konieczność zmiany strategii terapeutycznej, w tym konieczność zastosowania terapii elektrowstrząsowej.
- Wystąpienie objawów poważnej lub ostrej choroby somatycznej.
- Konieczność zastosowania leków wchodzących w niekorzystne interakcje z imipraminą lub mających sugerowaną zdolność do potencjalizacji leczenia przeciwdepresyjnego.
- Wystąpienie objawów sugerujących nietolerancję lub zatrucie preparatami cynku. Należą do nich: *ostre bóle brzucha, nudności, biegunka, bóle głowy, metaliczny posmak w ustach, niedokrwistość*⁸.
- Występowanie objawów nietolerancji imipraminy, w nasileniu stwarzającym konieczność jej odstawienia i wprowadzenia innego leku.
- Dodatni wynik testu ciążowego⁹.
- Każdy przypadek, w którym w opinii badacza kontynuacja leczenia nie leży w najlepszym interesie chorego.
- Zmiana statusu pacjenta na taki, który wiąże się z jego ubezwłasnowolnieniem (pozbawienie wolności z wyroku sądu, konieczność przymusowego leczenia itp.)

⁸W przypadku podejrzenia zatrucia cynkiem przewidziano następującą procedurę: 1. Natychmiastowe „odsłepienie” badania pozwalające na kontrolę czy otrzymywanym przez pacjenta preparatem badanym był cynk czy placebo. 2. Zebranie dokładnego wywiadu dotyczące spożytych przez pacjenta leków, substancji, pokarmów, a także potencjalnych narażeń środowiskowych 3. Przeprowadzenie badania oraz zebranie informacji dotyczących stanu ogólnego pacjenta, połączone z konsultacją telefoniczną z lekarzem dyżurnym Oddziału Toksykologii. 4. Podjęcie decyzji czy pacjent ma być transportowany na Izbę Przyjęć Oddziału Toksykologii Kliniki Toksykologii CM UJ oraz decyzja o formie transportu (karetka reanimacyjna, transport sanitarny)

⁹W przypadku zajścia w ciążę w trakcie trwania badania lub do 3 tygodni po jego zakończeniu, przewidziani wdrożenie następujących procedur: 1. Wyłączenie z badania, 2. Odstąpienie od wprowadzenia leku lub zaprzestanie podawania leku, 3. Objęcie ciężarnej specjalistyczną opieką medyczną, 4. Raportowanie faktu o zaistniałym wydarzeniu lokalnej Komisji Etycznej.

Po zakwalifikowaniu do badania pacjent drogą randomizacji przydzielany był do jednej z dwóch grup o porównywalnej liczebności (randomizacja w proporcji 1:1), otrzymujących przez okres 12 tygodni imipraminę (Imiramin, Polpharma, zezwolenie MZiOS nr: 743):

- **grupa I** – dodatkowo otrzymująca placebo, raz dziennie, w postaci jednej tabletki, rano (tabletki placebo, mające identyczny wygląd jak tabletki preparatu Zincas Forte, zostały przygotowane przez firmę Farmapol Poznań).
- **grupa II** – dodatkowo otrzymująca preparat, zawierający standardową dawkę suplementacyjną cynku, przyjmowaną w postaci jednej tabletki, rano (Zincas Forte, Farmapol Poznań, zezwolenie MZiOS nr: 2849, 0.15 g wodorooasparagianu cynku –tj. 0.025 g jonów Zn^{2+}).

Przyjęto, iż dawka terapeutyczna imipraminy w trakcie badania powinna wynosić w zależności od nasilenia i tolerancji objawów ubocznych od 100 do 200 mg/dz., a sytuacje wiążące się z koniecznością obniżenia lub podwyższenia dawki poza ww. zakres wiązały się z wyłączeniem z badania.

Przed rozpoczęciem dwunastotygodniowej, aktywnej fazy leczenia, celem wygaśnięcia działania wcześniej przyjmowanych leków przeciwdepresyjnych pacjenci przechodzili tygodniowy okres *washout*, w czasie którego nie podawano żadnych leków o udowodnionym działaniu przeciwdepresyjnym. Dopuszczalne było podawanie, nie mających takiego działania, środków anksjolitycznych (klorazepat) oraz nasennych (zopiklon, zolpidem, estazolam). Podawanie tych leków było dopuszczalne również w aktywnej fazie leczenia.

W trakcie całego okresu obserwacyjnego pacjenci nie mogli otrzymywać leków wchodzących w interakcje z imipraminą oraz preparatów o sugerowanej lub wykazywanej zdolności do potencjalizacji leczenia przeciwdepresyjnego.

Ze względu na fakt, iż dieta bogatomleczna może ograniczyć wchłanianie cynku z przewodu pokarmowego, pacjentom z obydwu grup zalecono ograniczenie spożywania preparatów mlecznych w trakcie trwania badania (zwłaszcza w ramach śniadania); [301].

W dniu włączenia do badania:

1. Z każdym z pacjentów przeprowadzano dokładny wywiad, dotyczący: jego danych demograficznych, sytuacji rodzinnej i zawodowej, dotychczasowej historii chorób psychicznych i somatycznych, obciążeń rodzinnych, wcześniej przyjmowanego leczenia. Wywiad przeprowadzano według specjalnie skonstruowanego kwestionariusza CRF (*case report form*); (p. Aneks).
2. Celem wykluczenia obecności poważnych schorzeń somatycznych dodatkowo:
 - przeprowadzano: badanie fizykalne, badanie EKG, pomiar masy ciała, ciśnienia i tętna, których wyniki odnotowywane były w kwestionariuszu CRF;
 - pobierano 2.9 ml krwi w celu zbadania parametrów morfologicznych i 4.9 ml krwi na oznaczenie poziomu kreatyniny, mocznika, sodu i potasu;
 - pobierano próbkę moczu na badanie ogólne.

W każdym z czterech dni oceny stanu psychicznego odnotowywano informacje dotyczące: 1) ewentualnych poczynionych przez pacjenta odstępstw od zaleconego schematu zażywania preparatów stosowanych w badaniu; 2) występowania objawów ubocznych. Informacje o zaistnieniu działań niepożądanych uzyskiwane były na podstawie obserwacji pacjenta, badania psychiatrycznego, oraz spontanicznych odpowiedzi na nie sugerujące typ objawu pytania otwarte, dotyczące stanu zdrowia, zadawane przez badacza w trakcie kolejnych wizyt.

Ocena stanu psychicznego pacjentów dokonywana była czterokrotnie: w dniu włączenia do badania (Badanie 1.) i następnie: po drugim (Badanie 2.), szóstym (Badanie 3.) i dwunastym (Badanie 4.) tygodniu od zakończenia okresu *washout* i rozpoczęcia aktywnego leczenia przeciwdepresyjnego, tj. odpowiednio po trzecim, siódmym i trzynastym tygodniu od momentu włączenia do badania.

Do oceny nasilenia objawów depresyjnych w każdym z punktów pomiarowych zastosowano następujące narzędzia badawcze:

- Inwentarz Depresji Becka;
- Skala Depresji Hamiltona (17 itemów);
- Skala Depresji Montgomery - Asberg;
- Skala Ogólnej Oceny Klinicznej: stopień ciężkości stanu psychicznego ;
- Skala Ogólnej Oceny Klinicznej – stopień poprawy stanu psychicznego .

Opis narzędzi badawczych:

Skala Depresji Hamiltona (Hamilton Depression Rating Scale, HDRS)

Jest to skala opublikowana w 1960 roku, opracowana w celu diagnostyki zespołu depresyjnego (zwłaszcza endogennego) oraz pomiaru nasilenia jego objawów [365]. Zastosowanie HDRS w badaniach oceny klinicznej leków przeciwdepresyjnych należy obecnie do standardów międzynarodowych. Skala Depresji Hamiltona jest wypełniana przez lekarza (lub innego wykwalifikowanego pracownika) na podstawie wywiadu i obserwacji pacjenta oraz informacji uzyskanych od rodziny czy personelu [366].

Charakterystyka objawów analizowanych w HDRS może stwarzać trudności interpretacyjne w przypadku współobecności u pacjenta objawów schorzeń

somatycznych. Najczęściej używaną w badaniach lekowych odmianą skali jest wersja zawierająca 17 cech.

Proponowane przez badaczy zależności pomiędzy punktacją uzyskaną w 17-cechowej skali Hamiltona, a klinicznie obserwowanym nasileniem depresji przedstawia tabela 4 [365-368].

Skala Depresji Montgomery – Asberg (Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale, MADRS)

Skala ta stanowi czułe narzędzie służące do oceny zmian nasilenia objawów w trakcie leczenia depresji i w związku z tym zastosowanie, jej podobnie jak HDRS, stanowi standard w badaniach klinicznych, oceniających skuteczność farmakoterapii przeciwdepresyjnej. MADRS jest skalą sześciostopniową, zawierającą 10 cech, wypełnianą jest przez lekarza lub innego wykwalifikowanego pracownika. Ilość uzyskiwanej w niej punktów waha się w granicach od 0 – 60 [366, 369]. Zależność pomiędzy punktacją MADRS a obserwowaną ciężkością objawów depresyjnych - przedstawia tabela 4.

Inwentarz Depresji Becka (Beck Depression Inventory; BDI)

Inwentarz Depresji Becka jest jednym z najczęściej używanych – poza Skalą Depresji Hamiltona – narzędzi oceny głębokości objawów depresyjnych. BDI stosowana jest zarówno w badaniach klinicznych stanów depresyjnych, jak i w ocenie leczenia przeciwdepresyjnego. Inwentarz jest skalą samooceny, wypełnianą przez pacjenta, zawierającą 21 pytań, skonstruowanych na zasadzie testu wielokrotnego wyboru, opisujących symptomy choroby [370, 371].

W obrębie BDI wyróżnia się dwie podskale: 1) poznawczo-afektywną – tworzoną przez pierwsze 13 punktów (BDI 13); 2) somatyczną – tworzoną przez pozostałych 8 punktów (BDI 14-21); [371].

Ogólny wynik pomiaru waha się od 0 do 63 punktów, a wyższe wyniki oznaczają większe nasilenie depresji. Niemniej jednak przyjmuje się, że punktacja poniżej 4 może wiązać się z zaprzeczaniem depresji, a punktacja przekraczająca 40 jest charakterystyczna dla pacjentów z zaburzeniami osobowości (zwłaszcza typu histerycznego lub *borderline*) oraz może sugerować tendencje do agrawacji objawów [372]. Szacowane zależności pomiędzy punktacją BDI a obserwowanym w badaniu klinicznym nasileniem objawów depresji przedstawia tabela 4.

Punktacja	Nasilenie depresji
HDRS	
≥ 23	Bardzo ciężka
19 – 22	Ciężka
14 - 18	Umiarkowana
8 - 13	Lekka
≤ 7	Brak depresji
MADRS	
≥ 44	Bardzo ciężka
30 - 43	Ciężka
20-29	Umiarkowana
12 - 19	Lekka depresja
0 - 11	Brak depresji
BDI	
≥ 30	Ciężka
29 - 19	Umiarkowana - ciężka
18 - 10	Lekka - umiarkowana
≤ 9	Brak depresji

Tabela 4. Zależności pomiędzy punktacjami: BDI, CGI-S, HDRS, MADRS a obserwowaną ciężkością objawów depresyjnych.

Skala Ogólnego Wrażenia Klinicznego (Skala Ogólnej Oceny Klinicznej; Clinical Global Impression, CGI)

Jest to prosta skala porządkowa, odzwierciedlająca ogólne wrażenie klinicysty, dotyczące nasilenia zaburzeń psychicznych prezentowanych przez pacjenta (*CGI-severity*) oraz stopnia poprawy klinicznej w stosunku do punktu początkowego obserwacji (*CGI-improvement*); (tabela 5). Ma ona charakter orientacyjny. Jej zaletą jest prostota, a niekwestionowaną wadą niejasność przesłanek jakimi kieruje się oceniający w swojej dosyć swobodnej interpretacji analizowanego stanu pacjenta. Warto jednak podkreślić jej wysoki stopień korelacji z bardziej precyzyjnymi skalami skonstruowanymi do oceny określonych jednostek chorobowych. CGI stanowi bardzo częste uzupełnienie narzędzi badawczych w badaniach skuteczności leków [366].

	CGI- S (nasilenie objawów)	CGI- I (poprawa kliniczna)
1	Zdrowy	Bardzo dobra poprawa
2	Niemal zdrowy	Wyraźna poprawa
3	Lekko chory	Mała poprawa
4	Umiarkowanie chory	Stan bez zmian
5	Wyraźnie chory	Nieznaczne pogorszenie
6	Poważnie chory	Wyraźne pogorszenie
7	Ciężko chory	Bardzo duże pogorszenie

Tabela 5. Skale Ogólnego Wrażenia Klinicznego

Opis kryteriów badawczych i pojęcia z nimi związane

Odpowiedź na leczenie (response)

Termin - odpowiedź na leczenie - najczęściej definiowany jest jako co najmniej:

- 1) 50% (lub 50 do 74%) redukcję nasilenia objawów depresji mierzonego skalą HDRS i/lub skalą MADRS; 2) stan wyraźnej lub bardzo dobrej poprawy w skali CGI-I.

W przypadku wyróżniania *częściowej i pełnej odpowiedzi*, pojęcie pełnej odpowiedzi, zwłaszcza w badaniach z lat dziewięćdziesiątych, bywa mylone z pojęciem remisji lub używane jako jego synonim. W przypadku badań rozróżniających te pojęcia, granica pomiędzy pełną odpowiedzią a remisją wyznaczana była przez punktację w Skali Depresji Hamiltona. – Wyniki powyżej 7 - 11 punktów (w zależności od badania), osiągane na skutek redukcji nasilenia depresji o co najmniej 50%, odpowiadały pełnej odpowiedzi, a wyniki poniżej tej granicy wiązały się z pojęciem remisji. Odpowiedź terapeutyczna, rozumiana jako redukcja nasilenia depresji o co najmniej połowę w stosunku do stanu wyjściowego, jest najczęściej analizowanym parametrem w badaniach dotyczących krótkoterminowej skuteczności leczenia przeciwdepresyjnego [1, 4].

W związku z przedstawionymi rozbieżnościami przyjęto następujące kryteria odpowiedzi terapeutycznej: **co najmniej 50% redukcja punktacji HDRS i stan wyraźnej lub bardzo dobrej poprawy w skali CGI-I (punktacja 1 lub 2); (kryterium HDRS/CGI) lub co najmniej 50% redukcja punktacji MADRS w stosunku do pomiaru wyjściowego i stan wyraźnej lub bardzo dobrej poprawy w skali CGI-I (punktacja 1 lub 2) – kryterium MADRS/CGI**

Remisja (remission)

Do tej pory nie ustalono jednej, powszechnie obowiązującej, szczegółowej definicji remisji. Powszechnie uważa się jednak, iż **stan remisji** oznacza brak objawów chorobowych lub utrzymywanie się ich w minimalnym stopniu, pozwalające na powrót pacjenta do normalnego funkcjonowania. Jeżeli stan taki utrzymuje się przez okres dłuższy niż 6 – 12 miesięcy, można mówić o tzw. **wyleczeniu (recovery)**; [3,4].

Definicje remisji, używane w licznych badaniach skuteczności farmakoterapii lub psychoterapii depresji, wzbogacane są dodatkowo o kryteria oparte na punktacji w skalach mierzących nasilenie objawów depresyjnych (głównie HDRS, MADRS, BDI i CGI). Kryteria te, w zależności od badań odznaczają się bardzo dużą zmiennością, utrudniającą porównywanie oraz interpretację wyników. W zależności od badań przyjmuje się, że stan remisji charakteryzuje: punktacja w skali HDRS₁₇ niższa niż 6 – 12, i/lub punktacja w skali MADRS niższa niż 8 – 15 i/lub punktacja BDI niższa niż 9 i/lub stan w skali CGI – *improvement*, opisywany jako bardzo znaczna poprawa. Jak do tej pory w największej liczbie badań klinicznych użyto pojęcia remisji spełniającego trzy następujące kryteria: *punktacja w HDRS₁₇ mniejsza lub równa 7, punktacja w Skali Depresji Montgomery – Asberg mniejsza lub równa 10 oraz stan bardzo znacznej poprawy w skali CGI* [3,4].

W prezentowanym badaniu przyjęto zatem następujące trzy kryteria **remisji**: **kryterium HADRS/CGI: punktacja HDRS₁₇ ≤ 7 i stan bardzo znacznej poprawy w skali CGI-I (punktacja = 1) lub kryterium MADRS/CGI: punktacja MADRS ≤ 10 i stan bardzo znacznej poprawy w skali CGI-I (punktacja = 1) lub kryterium BDI/CGI: punktacja BDI ≤ 9 i stan bardzo znacznej poprawy w skali CGI-I.**

Lekooporność (drug resistance, refractory depression)

Część pacjentów rekrutowanych do badania stanowiły osoby nie reagujące na wcześniejsze farmakoterapie stosowane w trakcie aktualnie trwającego epizodu depresji. W związku z tym w przypadku każdego pacjenta włączanego do badania zbierano informację dotyczące reakcji na ewentualne wcześniejsze leczenie i określano stopień lekooporności według, przedstawionych w tabeli 6, **kryteriów Thase’a i Rush’a.**

Stopień	Opis
0	Nie zastosowano prawidłowego leczenia
1	Nieskuteczność jednej, prawidłowo prowadzonej kuracji (dawka terapeutyczna, czas trwania leczenia 4 – 6 tygodni)
2	Nieskuteczność dwóch kolejnych, prawidłowo prowadzonych kuracji, przy zastosowaniu leków przeciwdepresyjnych o różnych mechanizmach działania
3	Stopień drugi + niepowodzenie jednej strategii potencjalizacji leku (np. dołączenie litu lub hormonów tarczycy)
4	Stopień trzeci + niepowodzenie drugiej strategii potencjalizacji działania leku przeciwdepresyjnego
5	Stopień czwarty + niepowodzenie elektrowstrząsów

Tabela 6. kryteria poszczególnych stopni lekooporności wg Thase'a i Rush'a [5]

Metodyka i kryteria oceny skuteczności akceleracyjnej i potencjalizacyjnej połączenia imipramina – cynk

Ocena efektów terapii kombinowanej (imipramina + cynk) oparta została na porównaniu pomiędzy grupami: I i II, w kolejnych punktach pomiarowych (badanie 2. 3. 4.):

- nasilenia depresji mierzonego skalami: CGI-S, HADRS, MADRS oraz Inwentarzem Depresji Becka;
- wskaźników odpowiedzi terapeutycznej według kryteriów HADRS/CGI i MADRS/CGI w przeliczeniu na liczebności początkowe grup oraz aktualne liczebności grup w danym punkcie pomiarowym;
- wskaźników remisji według kryteriów BDI/CGI, HADRS/CGI i MADRS/CGI w przeliczeniu na liczebności początkowe grup oraz aktualne liczebności grup w danym punkcie pomiarowym.

Przyjęto, że znacząco wyższe w grupie pacjentów otrzymujących imipraminę w połączeniu z cynkiem: redukcja nasilenia depresji i/lub odsetki odpowiedzi terapeutycznej i/lub odsetki remisji stwierdzane:

- w badaniu 2. i/lub 3. – można uznać za dowód działania przyspieszającego cynku;
- na końcu obserwacji, tj. w badaniu 4 – można uznać za dowód na działanie potencjalizujące cynku.

Część II – Badanie zmian surowicowych stężeń cynku jako markera stanu depresyjnego oraz markera odpowiedzi na leczenie.

Ta część badania polegała na analizie zmian stężeń surowicowych cynku w grupie I i II oraz ich porównaniu z pomiarami poziomów cynku w grupie zdrowych ochotników (grupa III), liczącej 25 osób. Grupa zdrowych ochotników, w wieku 18 – 55lat, rekrutowana była spośród personelu Kliniki Psychiatrii Dorosłych CMUJ i ich rodzin z uwzględnieniem następujących kryteriów zakwalifikowania do badania:

- Podpisanie świadomej zgody na uczestnictwo w badaniu;
- Brak obecnych poważnych ostrych lub przewlekłych chorób somatycznych (w tym stanów zapalnych oraz infekcji w okresie co najmniej 2 tygodni przed badaniem);
- Nieobecność ani aktualnie, ani w przeszłości rozpoznania jakichkolwiek zaburzeń lub chorób psychicznych - w tym: Nieobecność epizodu depresyjnego stwierdzona w badaniu psychiatrycznym z użyciem Inwentarza Depresji Becka oraz Skali Depresji Hamiltona ($HDRS_{17} \leq 7$, $BDI \leq 9$);
- Nieotrzymywanie jakichkolwiek preparatów o działaniu psychotropowym oraz preparatów zawierających cynk (z wyjątkiem leków do stosowania zewnętrznego);

- Nieobecność w wywiadzie uzależnienia od alkoholu lub substancji psychoaktywnych;
- W przypadku kobiet w wieku rozrodczym – ujemny wynik testu ciążowego.

Każdy zdrowy ochotnik otrzymał precyzyjną i szczegółową ustną informację o celach i zasadach przeprowadzanego eksperymentu medycznego. Informacje przekazywane były w formie pisemnej i ustnej przez lekarza prowadzącego badanie. W trakcie i po zapoznaniu się z pisemną informacją ochotnik miał możliwość zadawania pytań i uzyskania szczegółowych odpowiedzi. Zgoda na przystąpienie do badania uzyskiwana była w formie pisemnej w obecności prowadzącego eksperyment lekarza.

Badanie krwi na oznaczenie poziomu jonów cynkowych w surowicy przeprowadzane było jednorazowo u zdrowych ochotników oraz czterokrotnie (w każdym dniu oceny stanu psychicznego – badanie: 1., 2., 3., 4.) u pacjentów należących do grup: I i II.

Próbki 2-2.5ml (krwi na skrzep) pobierano o godzinie 8⁰⁰(±30 min) i przechowywano następnie w ujemnej temperaturze. Poziom cynku oznaczano w Zakładzie Toksykologii Klinicznej i Przemysłowej *CM UJ*, metodą atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej (AAS), przy użyciu aparatu firmy Perkin-Elmer typ 2380, w następujących warunkach pomiarowych:

- Źródło światła: lampa katodowo-próżniowa (typ HCL) firmy Perkin-Elmer
- Płomień: acetylen – sprężone powietrze (temp.ok.2300°C, przepływ sprężonego powietrza: 5 l/min., przepływ acetyleny: 2 l/min.)
- Długość fal: 213,9 nm
- Szerokość szczeliny monochromatora: 0,7 nm
- Czas pomiaru: 4 s (dla każdej próbki)

- Wzorce: WZORMAT z Centralnego Ośrodka Badawczo – Rozwojowego
- Tło (próba ślepa): 5% wodny roztwór glicerolu
- Rozcieńczenie wzorców: 1:5 (0,5 ml wzorca + 2,0 ml 5% wodnego roztworu glicerolu).
- Rozcieńczenie próbek badanych i kontrolnych: 1:5 wodą redestylowaną.
- Jako surowicę kontrolną dla oznaczania cynku używano: Validate N.s.5B308, firmy Organon-Teknika (USA)

Stworzenie grupy kontrolnej w tej części badania podyktowane zostało zaleceniami wedle których przy interpretacji własnych wyników, w związku z bardzo dużym zróżnicowaniem wartości referencyjnych stężenia cynku w surowicy krwi, należy posługiwać się własną grupą odniesienia o zbliżonych do grup badanych warunkach socjoekonomicznych, płci wieku [301].

Na przeprowadzenie wszystkich procedur przewidzianych w części badawczej pracy „Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej” uzyskano zgodę komisji bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Statystyczne opracowanie wyników

Statystycznego opracowania wyników dokonano na podstawie porównania średnich wyników pomiarów. Przed przystąpieniem do wykonania obliczeń sprawdzano zgodność danych wartości z rozkładem normalnym, stosując w tym celu test Shapiro – Wilka [373, 374].

Porównywanie zmiennych ilościowych w przypadku potwierdzenia hipotezy o rozkładzie normalnym dokonywane było za pomocą testu $-t$ dla prób zależnych oraz testu $-t$ dla prób niezależnych. Dane ilościowe, nie posiadające rozkładu normalnego, porównywane były testem - U Manna Whitneya (zmienne niezależne) lub testem kolejności par Wilcozona (zmienne zależne); [373, 374].

Związki korelacyjne w zależności od obecności lub nieobecności rozkładu normalnego analizowanych cech badane były z pomocą odpowiednio: korelacji Pearsona lub korelacji rang Spearmana [373, 374].

Porównania pomiędzy zmiennymi o charakterze jakościowym wykonywane były za pomocą testu - χ^2 , a w przypadku niewielkiej liczebności grup wykorzystywany był dokładny test Fishera [373, 374].

Analiza zmian punktacji CGI, BDI, HADRS i MADRS w obrębie poszczególnych grup i wydzielanych podgrup, przeprowadzana była analizą wariancji dla układu z powtarzanymi pomiarami (ANOVA). Następnie wykonano porównania zaplanowane (analiza kontrastów). W dalszej analizie posłużono się odpowiednio testem t -studenta lub jego odpowiednikiem nieparametrycznym.

Analiza zmian stężeń cynku w obrębie poszczególnych grup i wydzielanych podgrup przeprowadzona została w oparciu o jednoczynnikową analizę wariancji [373, 374].

Wyniki badania

Dane demograficzne, ogólna charakterystyka grup

Do badania zakwalifikowano grupę 60 osób z rozpoznaniem epizodu depresyjnego umiarkowanego lub ciężkiego (40 kobiet - 66.7% i 20 mężczyzn – 33.3%), mieszczącego się w skali Ogólnej Oceny Klinicznej w zakresie od 4 do 6 stopnia (umiarkowanie chory – poważnie chory). 18 osób leczonych było w Poradni Leczenia Chorób Afektywnych Kliniki Psychiatrii Dorosłych. Pozostałe 42 osoby były hospitalizowane na Oddziale Leczenia Depresji ww. Kliniki. Średnia wieku wyniosła 45.9 ± 5.9 . Wśród rekrutowanych do badania przeważały osoby ze średnim wykształceniem ($n = 29$ tj. 48.3%), pozostające w związkach małżeńskich ($n=50$, tj. 83.3%). Na uwagę zasługuje fakt wysokiego odsetka osób pozostających na rencie ($n=46$, tj. 76.6%) i nie pracujących ($n= 38$, tj. 63.3%). U 21 osób (35%) występowało obciążenie rodzinne depresją. 43.3% pacjentów (26 osób) miało dodatni wywiad prób samobójczych w przeszłości. Wskaźnik objawów rezydualnych w trakcie ostatniej remisji był wysoki i wynosił 48.3% ($n=29$). Aż 40% pacjentów ($n=24$) zakwalifikowanych do badania w sposób niezadowolający odpowiedziało na co najmniej jedną wcześniejszą adekwatną farmakoterapię w trakcie obecnego epizodu. Przed włączeniem do badania: 11 spośród ww pacjentów otrzymywało lek z grupy SSRI (z wyjątkiem fluoksetyny), 4 osoby leczone były kłomipraminą, po 3 osoby: wenlafaksyną, mianseryną i trazodonem.

Pacjenci zakwalifikowani do badania chorowali średnio od 9 lat (9.2 ± 6.5), a średnia ilość przebytych epizodów depresyjnych wyniosła 6.2 ± 3.8 (tabela 7).

	Grupa I+II (n=60)	Grupa I (n=30)	Grupa II (n=30)	Grupa I vs II
				Test - <i>t</i>
Wiek	45.9±5.9	45.7±6.1	46.2±5.8	<i>p</i> =0.73
				Test- χ^2
Płeć				
Kobiety	40 (66.7%)	21 (70.0%)	19 (63,3%)	<i>p</i> =0.58
Mężczyźni	20 (33.3%)	9 (30.0%)	11 (36.7%)	
Wykształcenie				
Podstawowe lub zawodowe	20 (33.3%)	9 (30.0%)	11 (36.7%)	<i>p</i> =0.85
Średnie	29 (48.3%)	15 (50.0%)	14 (46.7%)	
Wyższe	11 (18.3%)	6 (20.0%)	5 (16.7%)	
Sytuacja zawodowa				
Pracuje	22 (36.7%)	14 (46.7%)	8 (26.7%)	<i>p</i> =0.11
Nie pracuje	38 (63.3%)	16 (53.3%)	22 (73.3%)	
Renta	46 (76.7%)	22 (73.3%)	24 (80.0%)	<i>p</i> =0.54
Stan cywilny				
Wolny	5 (8.3%)	3 (10.0%)	2 (6.7%)	<i>p</i> =0.35
Zamężna/zonaty	50 (83.3%)	26 (86.7%)	24 (80.0%)	
Separacja/rozwód	5 (8.3%)	1 (3.3%)	4 (13.3%)	
Palenie papierosów				
Niepalący	29 (48.3%)	16 (53.3%)	13 (43.3%)	<i>p</i> =0.79
Palący	31 (51.7%)	14 (46.7%)	17 (56.7%)	
≤ 20 papierosów/dz.	27 (46.7%)	13 (43.3%)	14 (46.7%)	
> 20 papierosów/dz.	4 (6.7%)	1 (3.3%)	3 (10%)	
Miejsce leczenia w dniu rekrutacji				
Poradnia	17 (28.3%)	10 (33.3%)	7 (23.3%)	<i>p</i> =0.57
Oddział	43 (71.6%)	20 (66.7%)	23 (76.7%)	

Tabela 7. Charakterystyka danych demograficznych pacjentów włączonych do badania oraz ich porównanie (testy: χ^2 i *t*) pomiędzy wydzielonymi grupami. (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk, grupa I + II – wszyscy pacjenci włączeni do badania).

Pacjentów zrandomizowano do dwóch grup o równej liczebności: **Grupy I – otrzymującej imipraminę oraz placebo (n=30), Grupy II – otrzymującej imipraminę w połączeniu z cynkiem (n=30)**. Nie wykazano żadnych istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami w zakresie, przedstawionych w tabeli 1: średniej wieku, proporcji mężczyzn i kobiet, stanu cywilnego, wykształcenia, sytuacji zawodowej, ilości osób palących, odsetka osób pozostających na rencie. Omawiane grupy nie różniły się również pod względem takich parametrów charakteryzujących przebieg choroby, jak: dotychczasowa ilość epizodów i hospitalizacji z powodu depresji, ilość lat jaka upłynęła od początku choroby, czas trwania obecnego epizodu i reakcja na jego ewentualne leczenie, ilość prób samobójczych, obecność objawów rezydualnych w trakcie ostatniej remisji, czy też obciążenie rodzinne depresją (tabela 8).

Zgodnie z założeniami przedstawionymi w metodyce badania, **grupa zdrowych ochotników (grupa III) liczyła 25 osób**. Jej charakterystykę demograficzną przedstawia tabela 9.

Porównanie grupy III z 60 osobową grupą pacjentów (grupa I + II), nie wykazało istotnych statystycznie różnic w zakresie takich parametrów jak: średnia wieku (43.0 ± 9.1 vs 45.9 ± 5.9 ; $p=0.08$, test-*t*), proporcja mężczyzn i kobiet (9/16 v 1/2) czy stan cywilny. W grupie III znajdowało się jednak istotnie mniej osób: palących (24% vs 51.7%), pozostających na rencie (20% vs 76.7%) i niepracujących (24% vs 63.3%). Różnice pomiędzy grupami III i I+II w zakresie wykształcenia znajdowały się na granicy istotności statystycznej ($p=0.56$); (patrz tabela 9).

	Grupa I+II (n=60)	Grupa I (n=30)	Grupa II (n=30)	Grupa I vs II
				Test -U
Dotychczasowa ilość epizodów (z obecnym epizodem włącznie)	6.2±3.8	6.6±4.2	5.8±3.4	$p=0.68$
Czas trwania obecnego epizodu (tygodnie)	10.1±6.6	9.9±5.8	10.3±7.4	$p=0.82$
Czas trwania choroby od momentu pierwszego epizodu (lata)	9.2±6.5	8.6±6.1	9.7±6.9	$p=0.51$
Ilość dotychczasowych hospitalizacji	2.6±2.8	2.4±2.7	2.8±2.8	$p=0.38$
				Test - χ^2
Obciążenie rodzinne depresją				
Brak	39 (65.0%)	18 (60.0%)	21 (70.0%)	$p=0.41$
Obecne	21 (35.0%)	12 (40.0%)	9 (30.0%)	
Ze strony krewnych				
1 st.	16 (26.7%)	9 (30.0%)	7 (23.3%)	
2 st.	5 (8.3%)	3 (10.0%)	2 (6.7%)	
Obecność objawów rezydualnych w trakcie ostatniej remisji				
Nieobecne	31 (51.7%)	17 (56.6%)	14 (46.7%)	$p=0.43$
Obecne	29 (48.3%)	13 (43.3%)	16 (53.3%)	
Próby samobójcze w wywiadzie				
Brak	34 (56.7%)	20 (66.7%)	14 (46.7%)	$p=0.12$
Obecne	26 (43.3%)	10 (33.3%)	16 (53.3%)	
Jedna	19 (31.7%)	8 (26.7%)	11 (36.7%)	
Więcej niż jedna	7 (11.7%)	2 (6.7%)	5 (16.7%)	
Dotychczasowa reakcja na leczenie w obecnym epizodzie				
Nie leczeni w tym epizodzie	36 (60%)	19 (63.3%)	17 (56.7%)	$p=0.75$
Niezadowolająca odpowiedź na adekwatną terapię	24 (40%)	11 (36.7%)	13 (43.3%)	
Jedną	11 (18.3%)	5 (16.7%)	6 (20.0%)	
Dwie lub więcej	13 (21.7%)	6 (20.0%)	7 (23.3%)	

Tabela 8. Charakterystyka wybranych danych dotyczących historii choroby oraz aktualnego epizodu depresji u pacjentów włączonych do badania oraz ich porównanie (testy: χ^2 i t) pomiędzy wydzielonymi grupami (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk, grupa I + II – wszyscy pacjenci włączeni do badania).

Porównania: grupy III z grupą I oraz grupy III z grupą II ponownie nie wykazały istotnych różnic w średniej wieku, stanie cywilnym, odsetku mężczyzn i kobiet. Dodatkowo, na poziomie porównań z poszczególnymi grupami (gr. III vs I, gr. III vs II)

różnica w zakresie wykształcenia okazała się nieistotna statystycznie. Nadal w grupie III w porównaniu do grupy I i II znajdowało się znacząco mniej osób palących, niepracujących i pozostających na rencie (tabela 9).

	Gr. III (n=25)	Gr. III vs I + II	Gr. III vs I	Gr. III vs II
		Test - <i>t</i>		
Wiek	43±9.1	p=0.08	p=0.2	p=0.12
		Test χ^2		
Płeć				
Kobiety	16 (64.0%)	<i>p</i> =0.81	<i>p</i> =0.64	<i>p</i> =0.96
Mężczyźni	9 (36.0%)			
Wykształcenie				
Podstawowe/zawodowe	5 (20.0%)	<i>p</i> =0.051	<i>p</i> =0.16	<i>p</i> =0.07
Średnie	9 (36.0%)			
Wyższe	11 (44.0%)			
Sytuacja zawodowa				
Pracuje	19 (76.0%)	<i>p</i> <0.01	<i>p</i> <0.05	<i>p</i> <0.01
Nie pracuje	6 (24.0%)			
Renta	5 (20.0%)	<i>p</i> <0.001	<i>p</i> <0.001	<i>p</i> <0.001
Stan cywilny				
Wolny	5 (20.0%)	<i>p</i> =0.12	<i>p</i> =0.4	<i>p</i> =0.73
Zamężna/żonaty	20 (80.%)			
Separacja/rozwód	-			
Palenie papierosów				
Niepalący	19 (76.0%)	<i>p</i> <0.05	<i>p</i> <0.05	<i>p</i> <0.05
Palący	6 (24.0%)			
≤ 20 szt./ dz. > 20 szt. / dzień	6 (24.0%) -			

Tabela 9. charakterystyka danych demograficznych grupy zdrowych ochotników oraz ich porównanie z danymi demograficznymi grup pacjentów włączonych do badania (testy: χ^2 i *t*); (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk, grupa I + II – wszyscy pacjenci włączeni do badania) (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk, grupa I + II – wszyscy pacjenci włączeni do badania; grupa III – zdrowi ochotnicy)

Analiza efektów suplementacji leczenia przeciwdepresyjnego cynkiem

Celem tej części analiz statystycznych było sprawdzenie hipotez badawczych: 1, 2 i 3.

Do końca badania pozostało 52 (86.6%) pacjentów – 25 osób (83.3%) w grupie I i 27 osób (90.0%) w grupie II. 3 osoby z grupy I i 2 osoby z grupy II zostały wyłączone z badania z powodu objawów niepożądanych lub konieczności zmiany strategii farmakoterapeutycznej z powodu istotnego klinicznie pogorszenia stanu psychicznego. Pozostałe 3 osoby (1 z grupy II i 2 z grupy I) zostały wyłączone z badania z powodu braku współpracy. Liczebność grup w poszczególnych punktach pomiarowych przedstawiono w tabeli 10.

	Badanie 1	Badanie 2	Badanie 3	Badanie 4
Grupa I	30	28	27	25
Grupa II	30	29	27	27

Tabela 10. Liczebności grup I i II - w poszczególnych punktach pomiarowych (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk).

Wskaźnik wszystkich objawów ubocznych w przeliczeniu na 60 pacjentów (grupa I+II) włączonych do badania wyniósł 58.3%. W grupie II zanotowano nieco więcej objawów ubocznych niż w grupie I (63.7% vs 53.3%), ale różnica ta nie była istotna statystycznie. Pomiedzy grupami I i II nie wykazano również żadnych istotnych statystycznie różnic na poziomie częstości występowania poszczególnych objawów ubocznych (tabela 11).

Średnie końcowe dawki imipraminy nie różniły się istotnie pomiędzy grupami i wyniosły odpowiednio: 140.2 ± 17.1 mg/dz. w grupie I i 137.1 ± 15.8 mg/dz. w grupie II (test- *U* Manna Whitney'a, $p=0.47$).

Powyższy brak różnic pomiędzy grupami I i II w zakresie średnich dawek imipraminy, częstości występowania poszczególnych objawów ubocznych, porównywalna liczba pacjentów wyłączonych z badania z powodu nietolerancji leczenia oraz nieobecność w grupie II dodatkowych objawów ubocznych (w tym objawów zatrucia cynkiem), nie występujących w grupie I pozwala stwierdzić, iż dodanie cynku do imipraminy nie pogarsza ani nie poprawia jej tolerancji a połączenie imipramina + cynk jest dobrze tolerowane i bezpieczne.

	Grupa I+II	Grupa I	Grupa II	Grupa I vs II test χ^2
Pacjenci wyłączeni z badania z powodu objawów ubocznych	5 (8.3%)	3 (10.0%)	2 (6.7%)	$p=0.64$
Wszystkie objawy uboczne	35 (58.3%)	16 (53.33%)	19 (63.3%)	$p=0.43$
Suchość w ustach	30 (50%)	14 (46.7%)	16 (53.3%)	$p=0.61$
Zawroty głowy / hipotonia ortostatyczna	19 (31.7%)	11 (36.7%)	8 (26.7%)	$p=0.41$
Senność	8 (13.3%)	5 (16.7%)	3 (10.0%)	$p=0.45$
Zaparcia	17 (28.3%)	7 (23.3%)	10 (33.3%)	$p=0.57$
Tachykardia	5 (8.3%)	3 (10.0%)	2 (6.7%)	$p=0.64$
Zaburzenia oddawania moczu	3(5.0%)	1 (3.3%)	2 (6.7%)	$p=0.55$
Nudności	3 (5.0%)	2 (6.7%)	1 (3.3%)	$p=0.55$
Bóle głowy	3 (5.0%)	2 (6.7%)	1 (3.3%)	$p=0.55$
Zaburzenia widzenia	2 (3.3%)	1(3.3%)	1 (3.3%)	$p=1.0$

Tabela 11. Częstość poszczególnych objawów ubocznych występujących w przebiegu obserwacji w grupach I, II, I+II oraz ich porównanie pomiędzy grupami I i II (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk, grupa I + II – wszyscy pacjenci włączeni do badania).

Dla całości pacjentów biorących udział w badaniu (grupa I + II) oraz osobno dla grup I i II policzone zostały współczynniki korelacji Spearmana pomiędzy zastosowanymi w badaniu narzędziami oceny stanu psychicznego: *Inwentarzem Depresji Becka*, *Skalą Ogólnej Oceny Klinicznej*, *skalami depresji: Hamiltona i*

Montgomery Asberg. W każdym punkcie pomiarowym pomiędzy wszystkimi narzędziami badawczymi uzyskano istotną statystycznie korelację (tabele 12-14).

	Badanie							
	1		2		3		4	
	R	p	R	p	R	p	R	p
BDI & CGI-S	0.79	<0.05	0.66	<0.05	0.64	<0.05	0.81	<0.05
BDI & HDRS	0.7	<0.05	0.61	<0.05	0.91	<0.05	0.92	<0.05
BDI & MADRS	0.61	<0.05	0.65	<0.05	0.9	<0.05	0.92	<0.05
CGI-S & HDRS	0.85	<0.05	0.78	<0.05	0.67	<0.05	0.86	<0.05
CGI-S & MADRS	0.7	<0.05	0.78	<0.05	0.67	<0.05	0.83	<0.05
HDRS & MADRS	0.77	<0.05	0.89	<0.05	0.95	<0.05	0.95	<0.05

Tabela 12.

	Badanie							
	1		2		3		4	
	R	p	R	p	R	p	R	p
BDI & CGI-S	0.86	<0.05	0.63	<0.05	0.71	<0.05	0.86	<0.05
BDI & HDRS	0.78	<0.05	0.66	<0.05	0.93	<0.05	0.91	<0.05
BDI & MADRS	0.77	<0.05	0.66	<0.05	0.94	<0.05	0.93	<0.05
CGI-S & HDRS	0.88	<0.05	0.88	<0.05	0.72	<0.05	0.9	<0.05
CGI-S & MADRS	0.82	<0.05	0.84	<0.05	0.7	<0.05	0.87	<0.05
HDRS & MADRS	0.76	<0.05	0.94	<0.05	0.97	<0.05	0.94	<0.05

Tabela 13.

	Badanie							
	1		2		3		4	
	R	p	R	P	R	p	R	p
BDI & CGI-S	0.79	<0.05	0.66	<0.05	0.64	<0.05	0.81	<0.05
BDI & HDRS	0.7	<0.05	0.61	<0.05	0.91	<0.05	0.92	<0.05
BDI & MADRS	0.61	<0.05	0.65	<0.05	0.9	<0.05	0.92	<0.05
CGI-S & HDRS	0.85	<0.05	0.78	<0.05	0.67	<0.05	0.86	<0.05
CGI-S & MADRS	0.7	<0.05	0.78	<0.05	0.67	<0.05	0.83	<0.05
HDRS & MADRS	0.77	<0.05	0.89	<0.05	0.95	<0.05	0.95	<0.05

Tabela 14.

Tabele 12-14. Współczynniki korelacji Spearmana pomiędzy punktacjami poszczególnych narzędzi badawczych w kolejnych badaniach (punktach pomiarowych) w grupie I+II, (tabela 12), I (tabela 13), II (tabela 14).

*Kolejnym etapem analiz statystycznych, mającym na celu **sprawdzenie hipotez***

***badawczych nr 1 i 2**, było porównanie pomiędzy grupami I i II:*

- redukcji nasilenia depresji mierzonego: Skalą Ogólnej Oceny Klinicznej, Inwentarzem Depresji Becka, Skalą Depresji Hamiltona i Skalą Depresji Montgomery - Asberg w kolejnych punktach pomiarowych, tj. w badaniu: 2., 3. i 4.;
- odsetków pacjentów spełniających w kolejnych punktach pomiarowych (badanie 2., 3., 4.) kryteria HADRS/CGI lub MADRS/CGI odpowiedzi terapeutycznej oraz kryteria BDI/CGI, HADRS/CGI lub MADRS/CGI remisji.

Średnia punktacja w skalach depresji: Hamiltona i Montgomery – Asberg, w grupie 60 zakwalifikowanych do badania pacjentów (grupa I + II) w pierwszym badaniu, tj. na początku obserwacji wynosiła odpowiednio: 22.9 ± 3.3 i 37.0 ± 5.6 pkt. Średnie punktacje w CGI-S i BDI w dniu rozpoczęcia obserwacji wyniosły odpowiednio: 5.0 ± 0.8 i 35.9 ± 4.9 pkt.

Pomiędzy grupami I i II nie wykazano żadnych istotnych statystycznie różnic w zakresie początkowego (badanie 1.) nasilenia depresji mierzonego skalami: BDI, CGI, HADRS, MADRS (tabela 15).

Analiza wariancji, średnich punktacji BDI, CGI-S, HADRS i MADRS wykazała, że w badaniu 2, tj. 3 tygodnie od rozpoczęcia obserwacji i 2 tygodnie od rozpoczęcia aktywnego leczenia w obydwu grupach, miała miejsce istotna statystycznie redukcja nasilenia depresji mierzonego wszystkimi zastosowanymi narzędziami badawczymi ($p < 0.05$). W badaniach 3. i 4. w obydwu grupach stwierdzono dalszą znaczącą w stosunku do punktu początkowego redukcję punktacji CGI, BDI, HADRS i MADRS ($p < 0.05$).

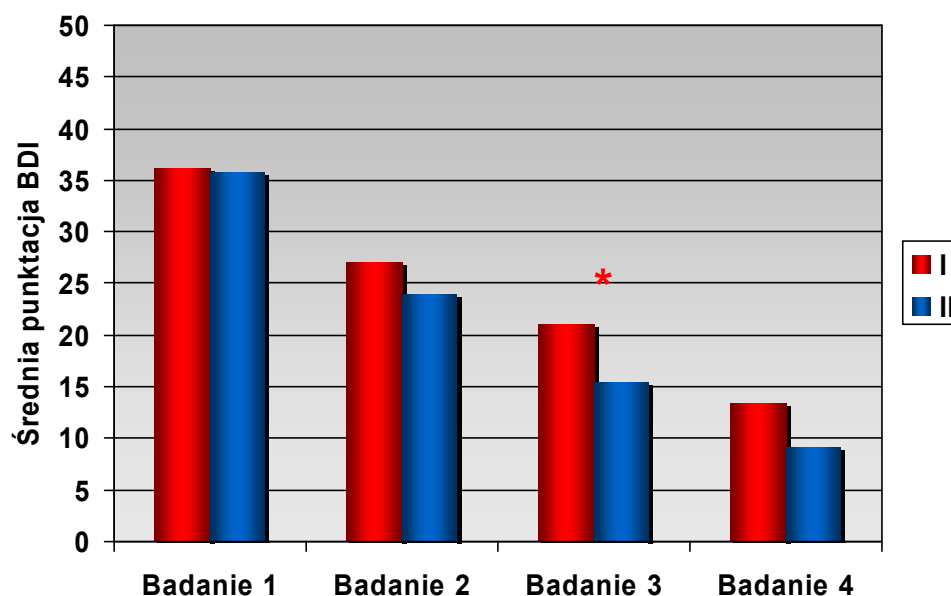
Prześledzenie i porównanie średnich punktacji, osiąganych przez grupę I i II w poszczególnych zastosowanych narzędziach badawczych, w kolejnych punktach pomiarowych dało następujące rezultaty: W badaniu 2. i 4. nie znaleziono żadnych istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami. Jedyne znaczące różnice wykazano w badaniu 3. i dotyczyły one większej w grupie II redukcji nasilenia depresji mierzonego Inwentarzem Depresji Becka oraz skalą CGI-S (tabela 15; rysunki 6-9).

Brak różnic pomiędzy grupami I i II w nasileniu depresji w badaniu 2 oraz mniejsze nasilenie depresji w grupie II w badaniu 3., wykazane jedynie w skalach BDI i CGI-S, wskazują na brak podstaw dla potwierdzenia hipotezy nr 1, dotyczącej występowania przyspieszonego działania przeciwdepresyjnego w przypadku zastosowania połączenia imipramina – cynk.

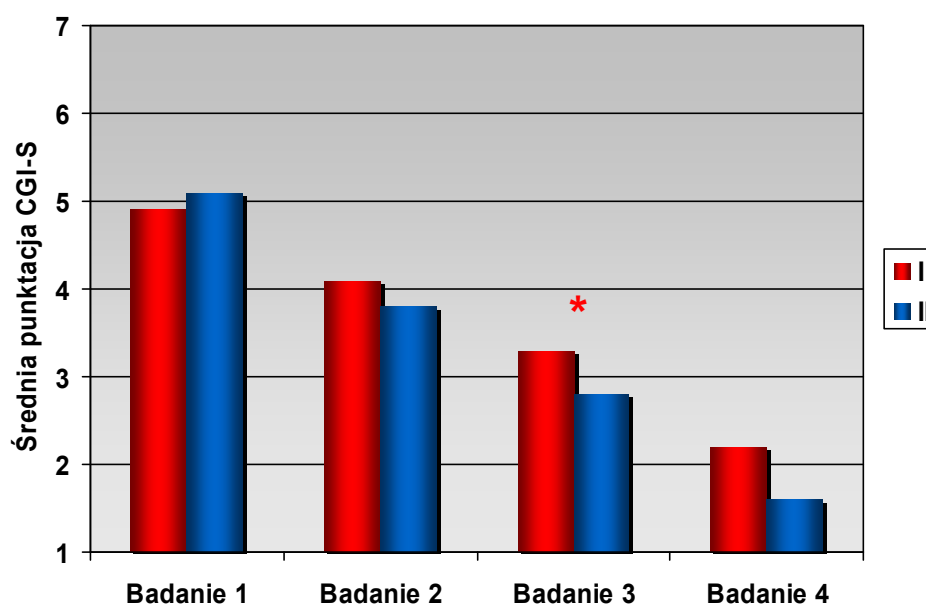
Można również przyjąć, iż brak różnic pomiędzy grupami w nasileniu depresji mierzonym wszystkimi użytymi skalami w badaniu 4., tj. na końcu obserwacji obala hipotezę nr 2, dotyczącą potencjalizacji działania imipraminy przez dołączenie cynku.

		Badanie 1		Badanie 2		Badanie 3		Badanie 4	
		Średnia	I vs II	Średnia	I vs II	Średnia	I vs II	Średnia	I vs II
			p		p		p		p
BDI	Gr. I	36.3±5.3	0.51	27.1±10.1	0.24	21.0±10.8	<0.05	13.5±8.2	0.06
	Gr. II	35.7±4.4		24.0±8.0		15.5±8.6		9.2±6.0	
CGI – S	Gr. I	4.9±0.8	0.53	4.1±0.7	0.14	3.3±1.1	<0.05	2.2±1.3	0.17
	Gr. II	5.1±0.8		3.8±0.7		2.8±0.9		1.6±0.9	
HADRS	Gr. I	22.6±3.4	0.44	15.5±4.3	0.51	10.9±5.4	0.1	8.6±5.3	0.06
	Gr. II	23.2±3.2		14.4±3.0		8.3±4.1		6.2±3.6	
MADRS	Gr. I	36.8±5.6	0.62	25.1±7.9	0.18	16.6±7.6	0.06	12.8±6.8	0.09
	Gr. II	37.3±5.6		22.0±5.1		13.0±5.3		9.4±5.1	

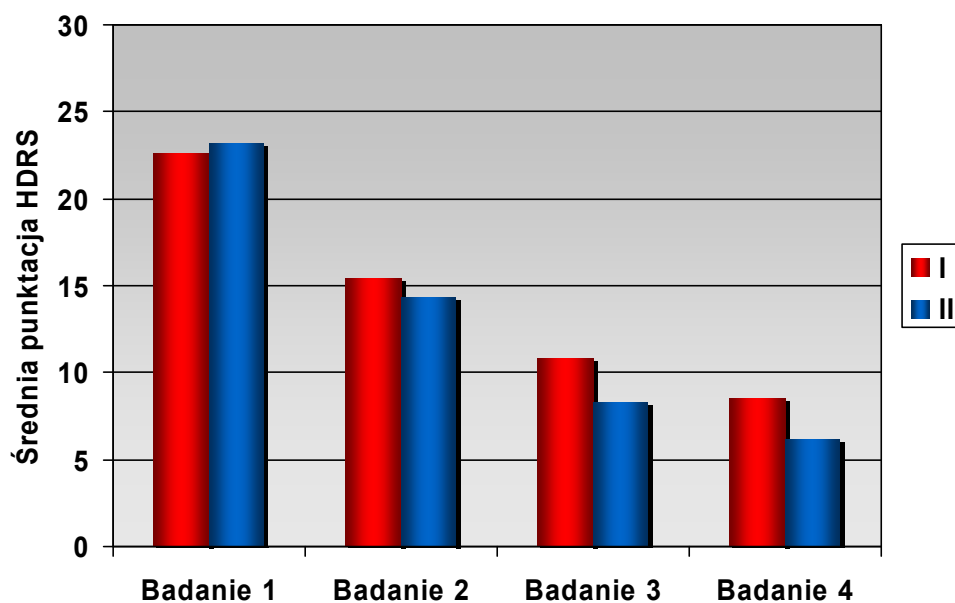
Tabela 15. Średnie punktacje w skalach: BDI, CGI, HADRS, i MADRS w poszczególnych badaniach w grupach I i II oraz ich porównania pomiędzy grupami (test U – Manna Whitneya); (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk)



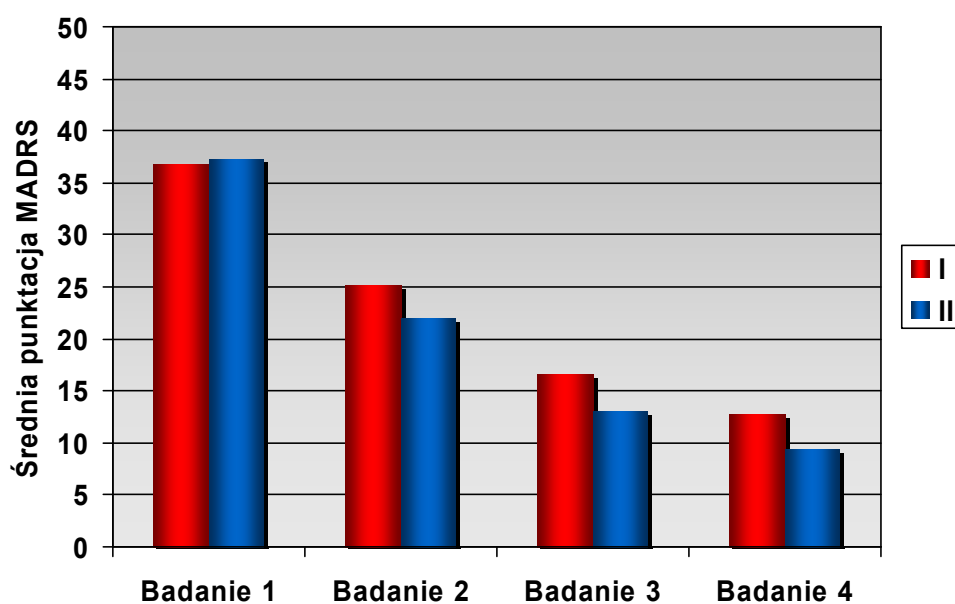
Rysunek 6. Porównanie pomiędzy grupami: I i II, średnich punktacji BDI osiąganych w kolejnych badaniach. I - grupa I (pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo), II – grupa II (pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk); * - $p < 0.05$.



Rysunek 7. Porównanie pomiędzy grupami: I i II, średnich punktacji CGI-S osiąganych w kolejnych badaniach. I - grupa I (pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo), II – grupa II (pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk); * - $p < 0.05$.



Rysunek 8. Porównanie pomiędzy grupami: I i II, średnich punktacji HDRS osiąganych w kolejnych badaniach. I - grupa I (pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo), II – grupa II (pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk).



Rysunek 9. Porównanie pomiędzy grupami: I i II, średnich punktacji MADRS osiąganych w kolejnych badaniach. I - grupa I (pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo), II – grupa II (pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk).

Kolejnym elementem analizy skuteczności akceleracyjnej i potencjalizacyjnej cynku było porównanie pomiędzy grupami I i II w kolejnych punktach pomiarowych (badanie 2., 3., 4.) wskaźników remisji i odpowiedzi terapeutycznej z zastosowaniem 2 różnych kryteriów odpowiedzi terapeutycznej i 3 różnych kryteriów remisji.

Wskaźniki odpowiedzi terapeutycznej i remisji według wszystkich zastosowanych w badaniu kryteriów, zarówno w przeliczeniu na liczebność początkową grup, jak i w przeliczeniu na liczebności pomniejszone o pacjentów, którzy w kolejnych punktach pomiarowych odpadli z badania, przedstawiono w tabelach 16 - 18.

Na końcu obserwacji (badanie 4.) w przeliczeniu na liczebności początkowe w grupie I 40% pacjentów spełniało kryteria remisji MADRS/CGI i BDI/CGI, a 36.7% kryteria HDRS/CGI. W grupie II kryteria remisji MADRS/CGI spełniło 56.7% pacjentów, 50% osiągnęło remisję wg założonych w badaniu kryteriów HDRS/CGI, a 53.3% osób spełniło kryteria BDI/CGI. W grupie I 56.7% osób w badaniu 4. spełniło kryteria MADRS/CGI odpowiedzi terapeutycznej, a 53.3% kryteria HDRS/CGI. W grupie II zarówno kryteria MADRS/CGI, jak i HDRS/CGI odpowiedzi terapeutycznej spełniło 73.3% osób.

W żadnym z punktów pomiarowych nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami I i II w zakresie odsetków: 1) remisji według kryteriów BDI lub MADRS/CGI lub HDRS/CGI; 2) odpowiedzi wg kryteriów HDRS/CGI i MADRS/CGI.

*Powyższe wyniki, podobnie jak przedstawiona wcześniej analiza redukcji nasilenia depresji, nie pozwalają na potwierdzenie zarówno **hipotezy nr 1** dotyczącej przyspieszenia działania przeciwdepresyjnego, jak i **hipotezy nr 2** o potencjalizacji efektu przeciwdepresyjnego w przypadku zastosowania terapii kombinowanej w postaci połączenia imipraminy z wodoroasparaginianem cynku.*

	Pacjenci spełniający kryteria		% w przeliczeniu na początkową liczebność grupy		p (Test χ^2)	% w przeliczeniu na liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym		p (Test χ^2)
	Gr. I	Gr. II	Gr. I n=30	Gr. II n=30		Gr. I N=28	Gr. II n=29	
BDIrem.	0	0	0	0	-	0	0	-
HADodp.	5	6	16.7	20	0.74	17.9	20.7	0.79
HADrem.	0	0	0	0	-	0	0	-
MADodp.	7	7	23.3	23.3	1	25	24.1	0.94
MADrem.	0	0	0	0	-	0	0	-

Tabela 16.

	Pacjenci spełniający kryteria		% w przeliczeniu na początkową liczebność grupy		p (Test χ^2)	% w przeliczeniu na liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym		p (Test χ^2)
	Gr. I	Gr. II	Gr. I N=30	Gr. II n=30		Gr. I n=27	Gr. II n=28	
BDI rem.	9	12	30	40	0.42	33.3	42.9	0.47
HADodp.	14	18	46.7	60	0.3	51.8	64.3	0.35
HADrem.	10	12	33.3	40	0.59	37	42.8	0.66
MADodp.	16	19	53.3	63.3	0.43	59.3	67.9	0.51
MADrem.	10	13	33.3	43.3	0.42	37	46.4	0.48

Tabela 17.

	Pacjenci spełniający kryteria		% w przeliczeniu na początkową liczebność grupy		p (Test χ^2)	% w przeliczeniu na liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym		p (Test χ^2)
	Gr. I	Gr. II	Gr. I n=30	Gr. II n=30		Gr. I n=25	Gr. II n=27	
BDI rem.	12	16	40	53.3	0.3	48	59.3	0.42
HADodp.	16	22	53.3	73.3	0.11	64	81.5	0.16
HADrem.	11	15	36.7	50	0.3	44	55.6	0.4
MADodp.	17	22	56.7	73.3	0.18	68	81.5	0.26
MADrem.	12	17	40	56.7	0.2	48	63	0.28

Tabela 18.

Tabele 16 - 18. Liczba oraz odsetki pacjentów (w przeliczeniu na początkową liczebność grupy oraz liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym) spełniających w badaniu 2 (tabela 16), badaniu 3 (tabela 17) i badaniu 4 (tabela 18) kryteria: odpowiedzi: HADRS/CGI (HADodp.), MADRS/CGI (MADodp.); remisji: BDI/CGI (BDIrem.), HADRS/CGI (HADrem.), MADRS/CGI (MADrem.) w grupach I i II oraz ich porównanie pomiędzy grupami. (grupa I - pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – otrzymujący imipraminę i cynk)

W celu weryfikacji **hipotezy badawczej nr 3** oraz w celu sprawdzenia, czy wykazany powyżej brak zdolności cynku do przyspieszenia oraz potencjalizacji efektu leczenia przeciwdepresyjnego nie jest efektem niejednorodności grup pod względem

stopnia odpowiedzi na dotychczasowe leczenie, w grupach I i II wydzielono następujące podgrupy o porównywalnej liczebności: 1) **IA(n=19) i IIA (n=17)** – podgrupy obejmujące pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu choroby nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny, tj. osoby ze stopniem lekooporności = 0, wg kryterium Thase’a i Rush’a; 2) **podgrupy IB(n=11) i IIB (n=13)** - obejmujące pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, w obecnym epizodzie choroby, nie odpowiedzieli na co najmniej jedną strategię farmakoterapeutyczną (stopień ≥ 1 wg kryteriów lekooporności Thase’a i Rush’a). Ze względu na małe liczebności nie wyodrębniano oddzielnie podgrup pacjentów ze stopniem lekooporności = 1, 2 czy > 2 wg kryteriów Thase’a i Rush’a.

W pierwszej kolejności przeprowadzono porównanie skuteczności leczenia pomiędzy podgrupami IA i IIA.

Podobnie jak w przypadku całych grup I i II, analiza wariancji, średnich punktacji BDI, CGI-S, HADRS i MADRS wykazała, że w obu podgrupach - IA i IIA - już w badaniu 2., miała miejsce istotna statystycznie, w stosunku do badania 1., redukcja nasilenia depresji mierzonego wszystkimi zastosowanymi narzędziami badawczymi ($p < 0.05$). W badaniach 3. i 4., zarówno w podgrupie IA jak i IIA, stwierdzono dalszą znaczącą w stosunku do punktu początkowego redukcję punktacji CGI, BDI, HADRS i MADRS ($p < 0.05$).

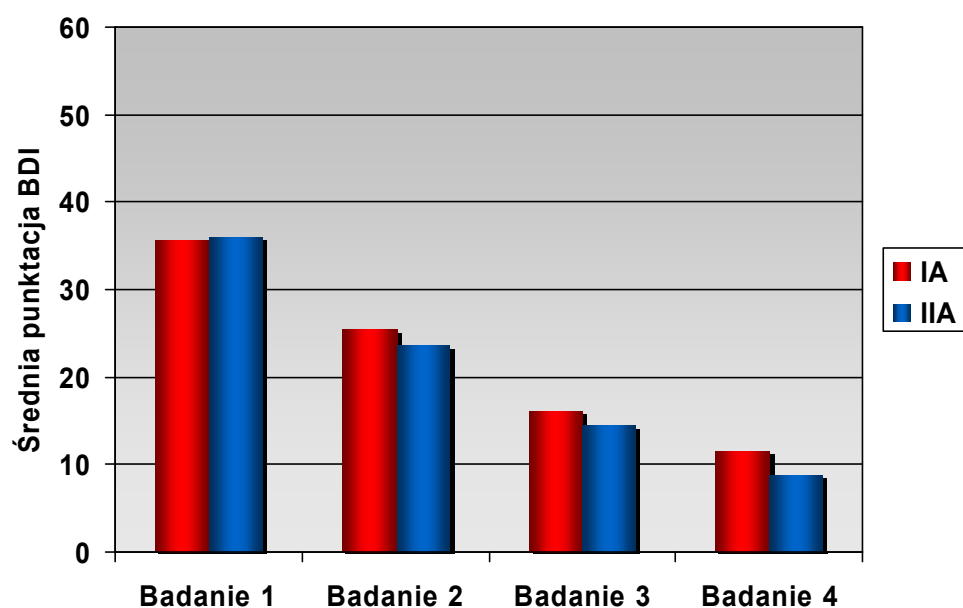
Średnie punktacje CGI-S, BDI, MADRS, i HADRS osiągnęte przez pacjentów w podgrupach IA i IIA, przedstawia tabela 13. Porównanie pomiędzy podgrupami IA i IIA nie wykazało istotnych statystycznie różnic w zakresie początkowego nasilenia depresji mierzonego Inwentarzem Depresji Becka oraz skalami: HDRS, MADRS i CGI-S. Nie wyazano również żadnych istotnych statystycznie różnic w zakresie redukcji nasilenia depresji we wszystkich wymienionych skalach w kolejnych punktach pomiarowych

(badanie 2., 3., 4.), co wskazuje na brak przyspieszenia działania przeciwdepresyjnego oraz brak efektu potencjalizującego cynku w przypadku osób ze stopniem lekooporności =0 (tabela 19). *Przedstawione wyniki nie pozwalają zatem na potwierdzenie hipotez badawczych nr 1 i 2 w odniesieniu do pacjentów z nie stwierdzanym brakiem reakcji na wcześniejsze leczenie w danym epizodzie depresji.*

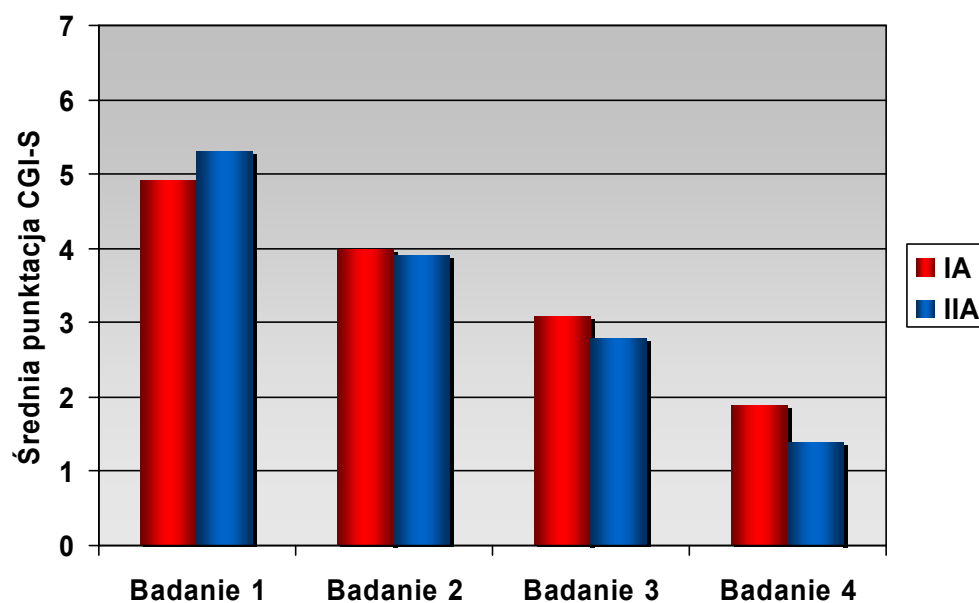
Zmiany nasilenia depresji i różnice pomiędzy podgrupami IA i IIA wyrażone w poszczególnych narzędziach oceny stanu psychicznego w kolejnych punktach pomiarowych obrazują rysunki 10-13.

		Badanie 1		Badanie 2		Badanie 3		Badanie 4	
		Średnia	I vs II	Średnia	I vs II	Średnia	I vs II	Średnia	I vs II
			p		p		p		p
BDI	Gr. IA	35.6±5.5	0.84	25.5±9.2	0.59	16.1±10.3	0.75	11.6±9.0	0.66
	Gr. IIA	36.0±4.6		23.6±7.5		14.5±7.9		8.7±4.9	
CGI – S	Gr. IA	4.9±0.8	0.22	4.0±0.7	0.82	3.1±1.1	0.6	1.9±1.3	0.16
	Gr. IIA	5.3 ±0.9		3.9±0.7		2.8±0.9		1.4±0.7	
HADRS	Gr. IA	22.5±3.5	0.29	14.4±3.8	0.34	8.5±5.0	0.76	7.3±5.0	0.54
	Gr. IIA	23.7±3.4		15.2±3.0		8.1±4.3		6.1±3.1	
MADRS	Gr. IA	36.7±6.0	0.3	23.5±6.3	0.99	13.2±7.2	0.8	10.9±7.3	0.94
	Gr. IIA	38.6±5.3		23.3±5.5		12.9±5.3		9.4±4.2	

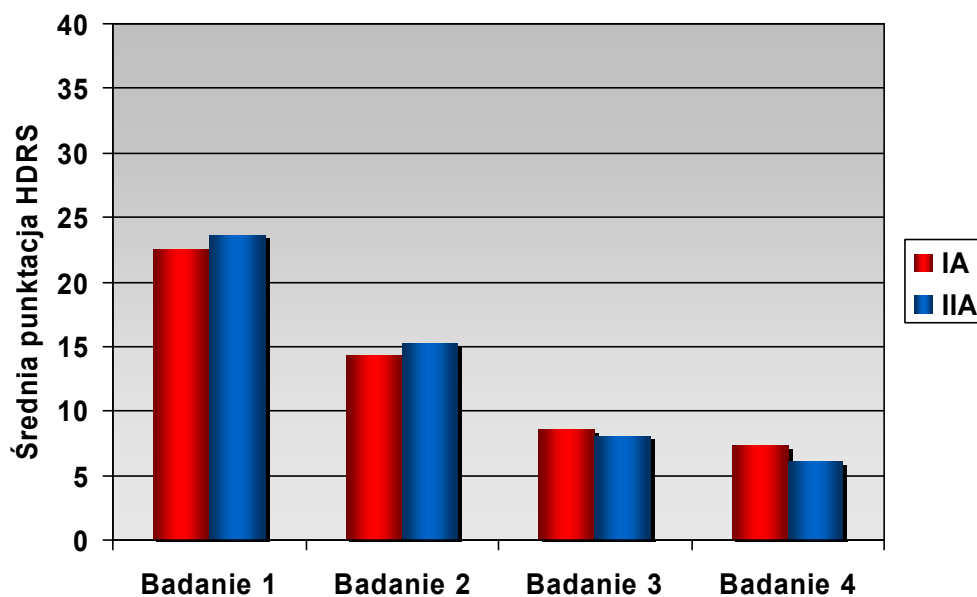
Tabela 19. Średnie i odchylenia standardowe punktacji w skalach: BDI, CGI, HADRS, i MADRS w poszczególnych badaniach w podgrupach IA i IIA oraz ich porównanie pomiędzy podgrupami (test *U* – Mana Whitney). (IA, IIA - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu choroby nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny; IA – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIA – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk)



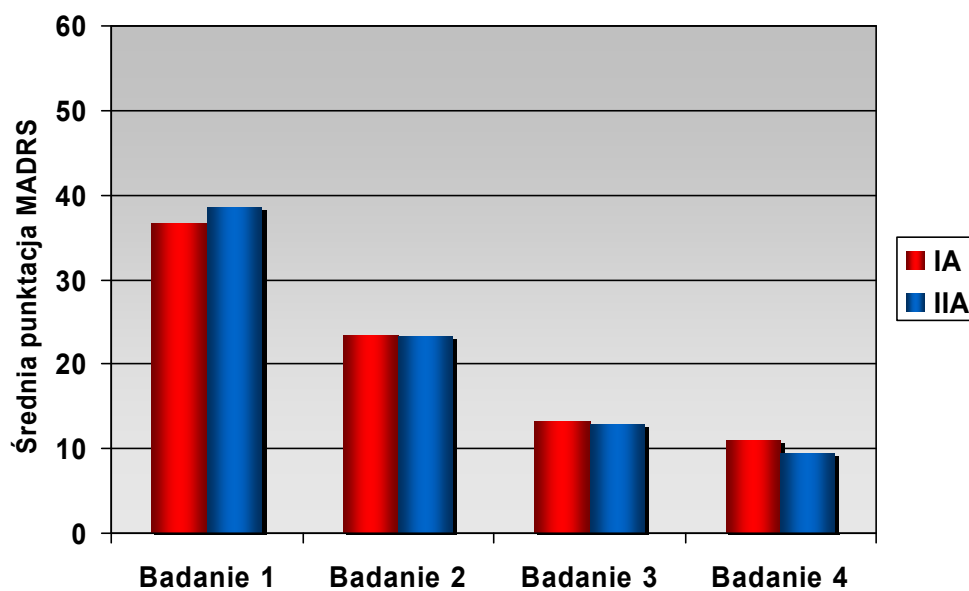
Rysunek 10. Porównanie pomiędzy podgrupami: IA i IIA, średnich punktacji BDI osiąganych w kolejnych badaniach. (IA, IIA - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny; IA – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIA – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk)



Rysunek 11. Porównanie pomiędzy podgrupami: IA i IIA średnich punktacji CGI-S osiąganych w kolejnych badaniach. (IA, IIA - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny; IA – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIA – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk).



Rysunek 12. Porównanie pomiędzy podgrupami: IA i IIA średnich punktacji HDRS osiąganych w kolejnych badaniach. (IA, IIA - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny; IA – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIA – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk)



Rysunek 13. Porównanie pomiędzy podgrupami: IA i IIA średnich punktacji MADRS osiąganych w kolejnych badaniach. (IA, IIA - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny; IA – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIA – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk)

W dalszej kolejności w podgrupach IA i IIA przeanalizowano odsetki remisji i odpowiedzi.

W żadnym z punktów pomiarowych pomiędzy podgrupami IA i IIA, nie wykazano istotnych statystycznie różnic zarówno w zakresie odsetków remisji według kryteriów BDI/CGI lub MADRS/CGI lub HADRS/CGI, jak i w zakresie wskaźników odpowiedzi terapeutycznej według kryteriów MADRS/CGI czy HADRS/CGI (tabele 20-22). *Po raz kolejny potwierdza to brak zdolności wodorooasparaginianu cynku do przyspieszania lub wzmacniania działania imipraminy u pacjentów ze stopniem lekooporności = 0 wg kryteriów Thase'a i Rush'a, a co za tym idzie, ponownie obala hipotezy badawcze nr 1 i 2 w odniesieniu do powyższej subpopulacji pacjentów.*

	Pacjenci spełniający kryteria		% w przeliczeniu na początkową liczebność grupy		p (Test χ^2)	% w przeliczeniu na liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym		p (Test χ^2)
	Gr. IA	Gr. IIA	Gr. IA n=19	Gr. IIA n=17		Gr. IA n=18	Gr. IIA n=17	
BDI rem.	0	0	0	0	-	0	0	-
HADodp.	4	3	21	17.6	0.79	22.2	17.6	0.73
HADrem.	0	0	0	0	-	0	0	-
MADodp.	5	4	26.3	23.5	0.85	27.8	23.5	0.77
MADrem.	0	0	0	0	-	0	0	-

Tabela 20.

	Pacjenci spełniający kryteria		% w przeliczeniu na początkową liczebność grupy		p (Test χ^2)	% w przeliczeniu na liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym		p (Test χ^2)
	Gr. IA	Gr. IIA	Gr. IA N=19	Gr. IIA n=17		Gr. IA n=17	Gr. IIA n=16	
BDI rem.	7	6	36.8	35.3	0.92	41.2	37.5	0.83
HADodp.	11	10	57.8	58.8	0.95	76.5	68.8	0.89
HADrem.	8	7	42.1	41.2	0.95	47	43.8	0.85
MADodp.	13	10	68.4	58.8	0.55	82.4	62.5	0.38
MADrem.	9	7	47.4	41.2	0.92	52.9	43.8	0.6

Tabela 21.

Tabele 20-21. Liczba oraz odsetki pacjentów (w przeliczeniu na początkową liczebność grupy oraz liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym spełniających w badaniu 2 (tabela 20) i 3 (tabela 21), kryteria: odpowiedzi HADRS/CGI (HADodp.), MADRS/CGI (MADodp.); remisji BDI/CGI (BDIrem.), HADRS/CGI (HADrem.), MADRS/CGI (MADrem.), w podgrupach IA i IIA oraz ich porównanie pomiędzy podgrupami. (IA, IIA - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie byli jeszcze leczeni lub leczenia byli w sposób nieadekwatny; IA – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIA – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk)

	Pacjenci spełniający kryteria		% w przeliczeniu na początkową liczebność grupy		p (Test χ^2)	% w przeliczeniu na liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym		p (Test χ^2)
	Gr. IA	Gr. IIA	Gr. IA N=19	Gr. IIA n=17		Gr. IA n=16	Gr. IIA n=15	
BDI rem.	10	11	52.6	64.7	0.46	62.5	73.3	0.52
HADodp.	12	13	63.2	76.5	0.37	75	86.7	0.41
HADrem.	9	9	47.4	52.9	0.74	56.3	60	0.83
MADodp.	14	13	73.7	76.5	0.85	87.3	86.7	0.95
MADrem.	10	11	52.6	64.7	0.46	62.5	73.3	0.52

Tabela 22. Liczba oraz odsetki pacjentów (w przeliczeniu na początkową liczebność grupy oraz liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym spełniających w badaniu 4 kryteria: odpowiedzi HADRS/CGI (HADodp.), MADRS/CGI (MADodp.); remisji BDI/CGI (BDIrem.), HADRS/CGI (HADrem.), MADRS/CGI (MADrem.) w podgrupach IA i IIA oraz ich porównanie pomiędzy podgrupami. (IA, IIA - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny; IA – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIA – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk).

Odmienne rezultaty uzyskano, analizując skuteczność potencjalizacji leczenia przeciwdepresyjnego cynkiem u pacjentów, którzy przed włączeniem do badania nie odpowiadali na dotychczasowe, zastosowane w obecnym epizodzie choroby, farmakoterapie.

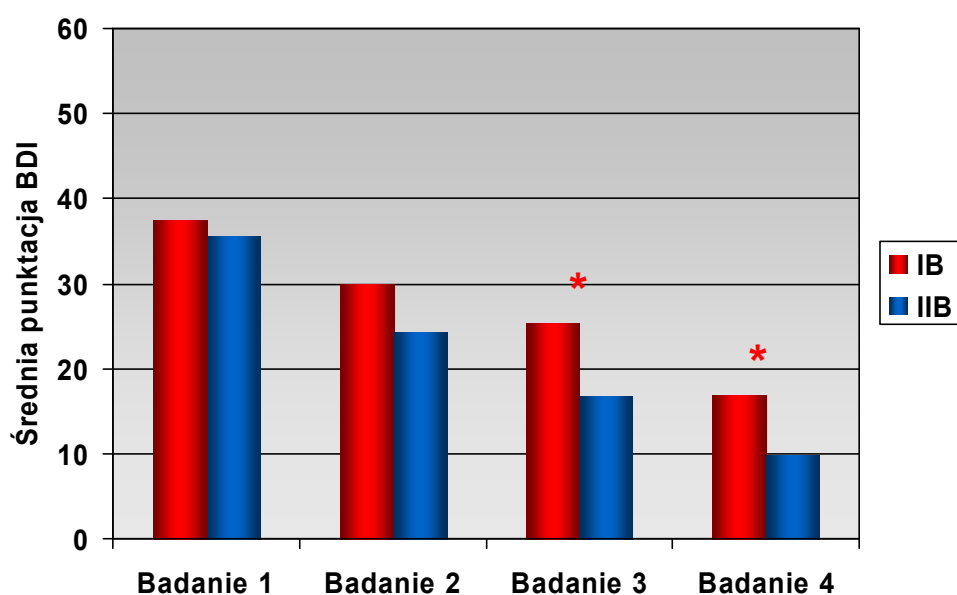
Analiza wariancji, średnich punktacji BDI, CGI-S, HADRS i MADRS zarówno w podgrupie IB jak i IIB wykazała w badaniu 2., znaczącą w stosunku do punktu początkowego ($p < 0.05$) redukcję nasilenia depresji mierzonego wszystkimi powyższymi narzędziami badawczymi, pogłębiającą się następnie badaniach 3. i 4. ($p < 0.05$). Porównanie średnich punktacji CGI-S, BDI, MADRS, i HADRS (tabela 23), uzyskanych przez podgrupy IB i IIB w badaniu 2., nie wykazano żadnych istotnych statystycznie różnic, natomiast w badaniu 3. podgrupa IIB charakteryzowała się znacząco większą redukcją nasilenia depresji mierzonego wszystkimi użytymi narzędziami badawczymi. W badaniu 4 podgrupa IIB nadal miała istotnie statystycznie niższe wyniki uzyskiwane w HDRS, MADRS i BDI, nie stwierdzono natomiast znaczących różnic w nasileniu objawów mierzonym skalą CGI (tabela 23).

*Istotnie mniejsze nasilenie depresji w podgrupie IIB, wykazywane w badaniu 3. (BDI, CGI-S, HADRS, MADRS) i 4. (HADRS, MADRS i BDI), wskazuje na wzmacnianie i przyspieszenie działania przeciwdepresyjnego imipraminy przez cynk u pacjentów niereagujących na dotychczasowe farmakoterapie w danym epizodzie choroby i stanowi potwierdzenie **hipotez badawczych nr1 i 2** w tej podgrupie pacjentów.*

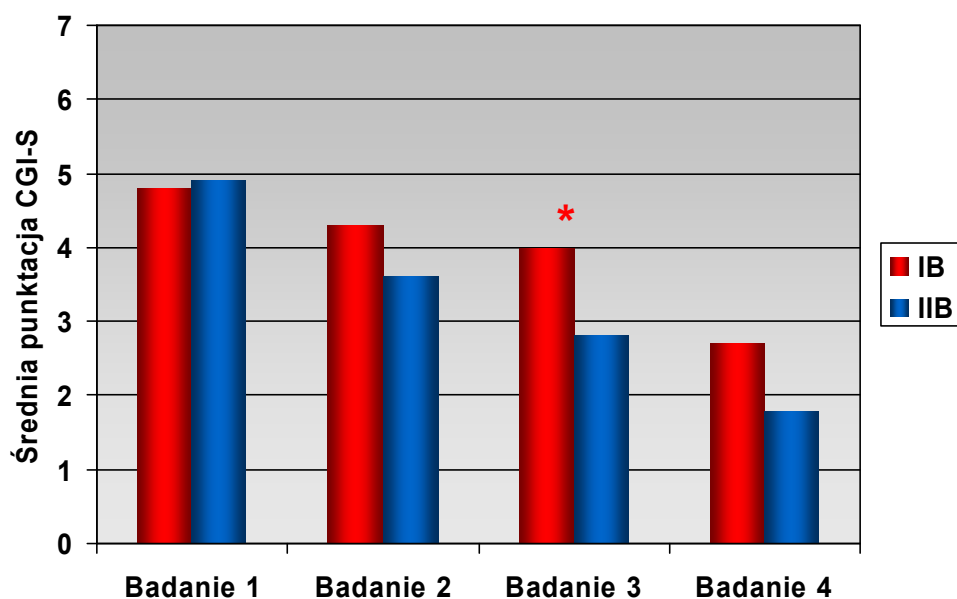
Różnice pomiędzy podgrupami IB i IIB, w zakresie redukcji nasilenia depresji mierzonego poszczególnymi narzędziami badawczymi, obrazują rysunki 14-17.

		Badanie 1		Badanie 2		Badanie 3		Badanie 4	
		Średnia	I vs II	Średnia	I vs II	Średnia	I vs II	Średnia	I vs II
			p		P		p		p
BDI	Gr. IB	37.5±5.0	0.19	29.9±11.6	0.21	25.3±4.9	<0.05	16.9±5.4	<0.05
	Gr. IIB	35.6±4.1		24.3±9.4		16.7±9.8		9.6±7.4	
CGI – S	Gr. IB	4.8±0.8	0.73	4.3±1.1	0.09	4.0±0.8	<0.05	2.7±1.3	0.13
	Gr. IIB	4.9±0.7		3.6±0.7		2.8±0.8		1.8±1.1	
HADRS	Gr. IB	22.7±3.6	1.0	17.3±4.6	0.06	15.1±3.1	<0.05	11.1±3.8	<0.05
	Gr. IIB	22.2±2.7		13.6±2.8		8.8±3.8		6.3±4.4	
MADRS	Gr. IB	36.9± 5.3	0.79	27.9±9.8	0.06	22.3±4.5	<0.05	16.1±4.5	<0.05
	Gr. IIB	35.2±5.2		19.9±3.9		13.2±5.6		9.4±6.2	

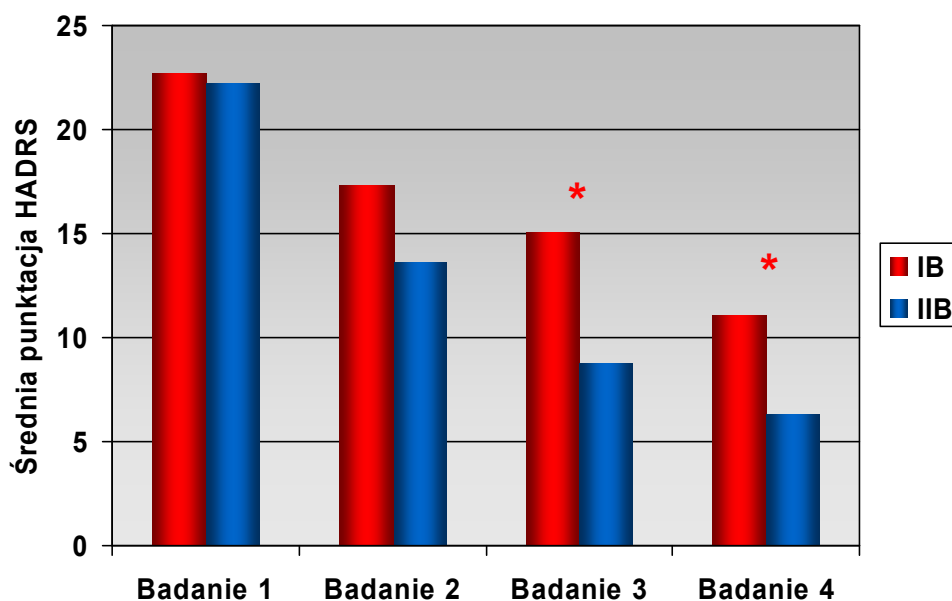
Tabela 23. Średnie i odchylenia standardowe punktacji w skalach: BDI, CGI, HADRS, i MADRS w poszczególnych badaniach w podgrupach IB i IIB oraz ich porównanie pomiędzy podgrupami (test -U Mana Whitneya). (IB, IIB - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię; IB – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIB – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk).



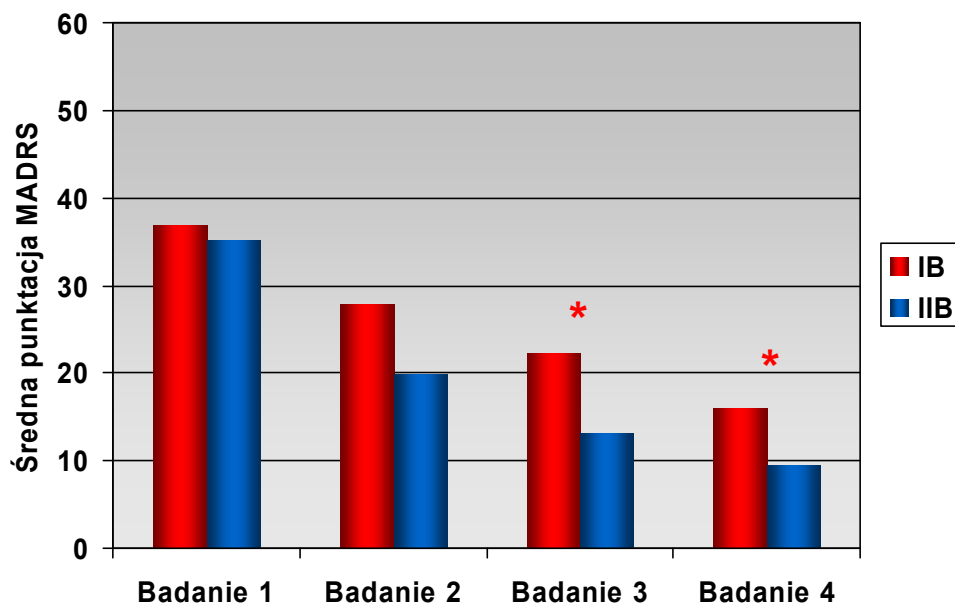
Rysunek 16. Porównanie pomiędzy podgrupami: IB i IIB średnich punktacji BDI osiąganych w kolejnych badaniach. (IB, IIB - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię; IB – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIB – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk); * - $p < 0.05$ (test U).



Rysunek 17. Porównanie pomiędzy podgrupami: IB i IIB średnich punktacji w CGI-S osiąganych w kolejnych badaniach. (IB, IIB - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię; IB – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIB – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk); * $p < 0.05$ (test U).



Rysunek 14. Porównanie pomiędzy podgrupami: IB i IIB średnich punktacji w HDRS osiągniętych w kolejnych badaniach. (IB, IIB - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji, nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię; IB – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIB – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk); * - $p < 0.05$ (test U).



Rysunek 15. Porównanie pomiędzy podgrupami: IB i IIB średnich punktacji w MADRS osiągniętych w kolejnych badaniach. (IB, IIB - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię; IB – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIB – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk); * - $p < 0.05$ (test U).

Wnioski wynikające z analizy średnich punktacji CGI-S, BDI, HADRS i MADRS w podgrupach IB i IIB znalazły również swoje uzasadnienie w wynikach porównania wskaźników odpowiedzi terapeutycznej i remisji uzyskiwanych w powyższych podgrupach.

W badaniu 3. podgrupa IIB charakteryzowała się zarówno istotnie większym niż w podgrupie IB wskaźnikiem odpowiedzi terapeutycznej według kryterium MADRS/CGI (69.2% vs 27.3%), jak i większym wskaźnikiem remisji według kryterium MADRS/CGI (46.2 vs 9.1%). W badaniu 4. w podgrupie IIB nadal więcej pacjentów spełniało kryteria odpowiedzi terapeutycznej MADRS/CGI, natomiast różnice w zakresie odsetków remisji utraciły istotność statystyczną (tabele 24 - 26).

Wyższy w podgrupie IIB odsetek pacjentów, którzy uzyskali remisję po 6 tygodniach aktywnego leczenia (badanie 3.) sugeruje, iż zastosowanie połączenia imipraminy i cynku może zwiększać szanse na wcześniejsze jej osiągnięcie u pacjentów nie odpowiadających na dotychczasowe leczenie. Istotnie wyższe wskaźniki odpowiedzi terapeutycznej stwierdzone u otrzymujących cynk pacjentów, nie odpowiadających na dotychczasowe farmakoterapie po szóstym tygodniu aktywnego leczenia oraz w momencie zakończenia obserwacji (12 tygodni aktywnego leczenia), mogą natomiast wskazywać na to, iż dołączenie cynku do imipraminy zwiększa szanse na uzyskanie odpowiedzi terapeutycznej oraz jej wcześniejsze wystąpienie.

*Powyższe wyniki ponownie potwierdzają **hipotezy badawcze nr 1 i 2** w podgrupie pacjentów nie odpowiadających na wcześniejsze farmakoterapie w obecnym epizodzie choroby.*

	Pacjenci spełniający kryteria		% w przeliczeniu na początkową liczebność grupy		p (Test χ^2)	% w przeliczeniu na liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym		p (Test χ^2)
	Gr. IB	Gr. IIB	Gr. IB n=11	Gr. IIB N=13		Gr. IB N=10	Gr. IIB n=12	
BDI rem.	0	0	0	0	-	0	0	-
HADodp.	1	3	9.1	23.1	0.36	10	25	0.36
HADrem.	0	0	0	0	-	0	0	-
MADodp.	2	3	18.2	23.1	0.77	20	25	0.78
MADrem.	0	0	0	0	-	0	0	-

Tabela 24.

	Pacjenci spełniający kryteria		% w przeliczeniu na początkową liczebność grupy		p (Test χ^2)	% w przeliczeniu na liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym		p (Test χ^2)
	Gr. IB	Gr. IIB	Gr. IB N=11	Gr. IIB N=13		Gr. IB n=10	Gr. IIB n=12	
Birem.	2	6	18.2	46.2	0.15	20	50	0.14
HADodp.	3	7	27.3	53.8	0.19	30	58.3	0.18
HADrem.	2	5	18.2	38.5	0.27	20	41.6	0.28
MADodp.	3	9	27.3	69.2	<0.05	30	75	<0.05
MADrem.	1	6	9.1	46.2	<0.05	10	50	<0.05

Tabela 25

	Pacjenci spełniający kryteria		% w przeliczeniu na początkową liczebność grupy		p (Test χ^2)	% w przeliczeniu na liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym		p (Test χ^2)
	Gr. IB	Gr. IIB	Gr. IB N=11	Gr. IIB N=13		Gr. IB N=9	Gr. IIB N=12	
BDIrem.	2	5	18.2	38.5	0.28	22.2	41.2	0.35
HADodp.	4	9	36.4	69.2	0.11	44.4	75	0.15
HADrem.	3	6	27.3	46.15	0.27	30	50	0.45
MADodp.	3	9	27.3	69.2	<0.05	30	75	0.056
MADrem.	2	6	18.2	46.2	0.15	22.2	50	0.2

Tabela 26.

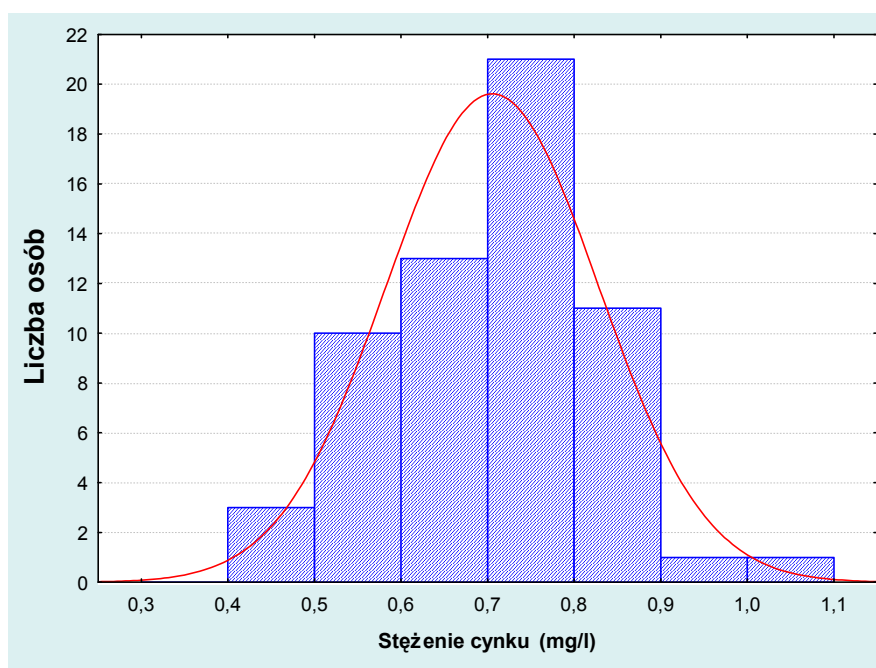
Tabele 24 – 26. Liczba oraz odsetki pacjentów (w przeliczeniu na początkową liczebność grupy oraz liczebność grupy w danym punkcie pomiarowym spełniających w badaniach: 2 (tabela 24), 3 (tabela 25) i 4 (tabela 26) kryteria: odpowiedzi HADRS/CGI (HADodp.), MADRS/CGI (MADodp.); remisji BDI/CGI (BDIrem.), HADRS/CGI (HADrem.), MADRS/CGI (MADrem.), w podgrupach IB i IIB oraz ich porównanie pomiędzy podgrupami. (IB, IIB - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię; IB – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIB – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk).

Analizy skuteczności leczenia w poszczególnych wydzielonych podgrupach (IA, IIA, IB, IIB), wskazujące na istnienie różnic w zakresie odpowiedzi na działanie potencjalizacyjne cynku u chorych opornych i nieopornych na dotychczasowe leczenie, potwierdzają hipotezę badawczą nr 3.

Badanie poziomów surowicowych cynku

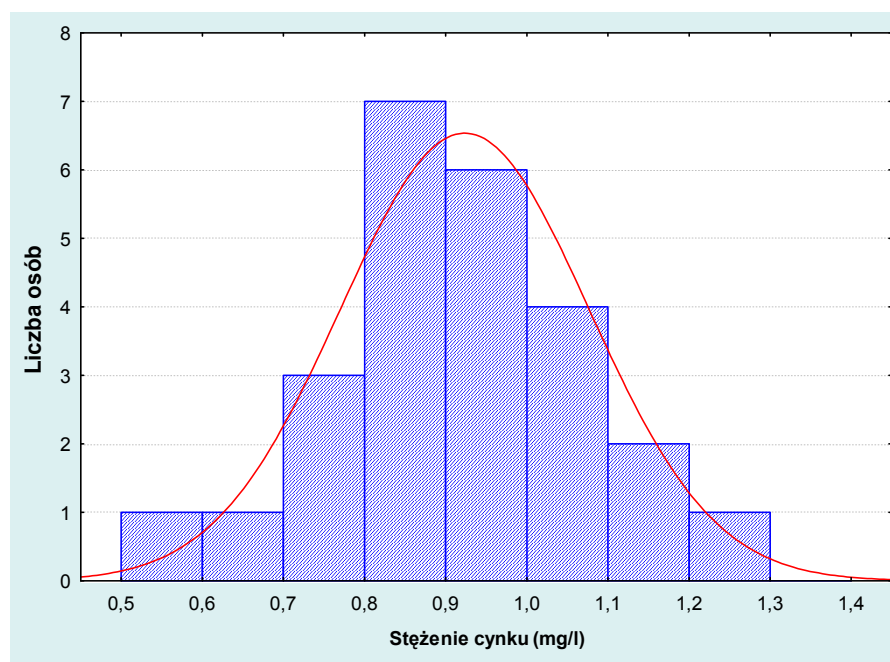
Przedmiotem tej części analiz statystycznych była weryfikacja hipotez badawczych 4a – 4e.

W pierwszej kolejności celem wyboru metod statystycznych wykonano test Shapiro – Wilka, sprawdzający hipotezę o rozkładzie normalnym stężeń cynku w grupach pacjentów oraz grupie zdrowych ochotników. W grupie I +II w badaniu 1 (rysunek 18), a także w grupach I i II w kolejnych badaniach stwierdzono dystrybucję stężeń cynku w surowicy, zgodną z rozkładem normalnym.



Rysunek 18. Rozkład normalny stężeń cynku w badaniu 1, w surowicy w całej zakwalifikowanej do badania populacji pacjentów (grupa I +II).

Dystrybucja stężeń surowicowych cynku w grupie III również miała charakter rozkładu normalnego (rysunek 19).



Rysunek 19. Rozkład normalny stężeń cynku w surowicy w grupie zdrowych ochotników (grupa III).

W następnej kolejności sprawdzono, czy zmienne takie, jak: wiek, płeć czy palenie papierosów miały istotny wpływ na porównywane pomiędzy grupami I, II i III stężenia cynku w surowicy.

Analiza poziomów cynku w surowicy w dniu włączenia do badania (badanie 1.), zarówno w całej sześćdziesięcioosobowej grupie pacjentów (grupa I + II), jak i w obrębie grup I i II, nie wykazała znaczących różnic w zakresie średniego poziomu tego pierwiastka w surowicy pomiędzy kobietami i mężczyznami, czy też osobami palącymi i niepalącymi. Ponadto ani w całej początkowej populacji pacjentów włączonych do badania ani w obrębie grup I i II nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy stężeniem cynku i wiekiem (tabela 27).

	Grupa I + II		Grupa I		Grupa II	
	Porównanie stężeń cyku (test-t)					
	Poziom cynku (mg/l)	Test -t p	Poziom cynku (mg/l)	Test -t p	Poziom cynku (mg/l)	Test -t p
Płeć						
Kobiety	0.71±0.13	0.52	0.72±0,13	0.56	0.70±0.13	0.78
Mężczyźni	0.69±0.1		0.69±0.08		0.69±0.12	
Palący	0.71±0.13	0.53	0.73±0.13	0.53	0.70±0.14	0.78
Niepalący	0.69±0.11		0.70±0.11		0.69±0.12	
	Współczynniki korelacji Pearsona					
	R	p	R	p	R	p
Wiek	-0.06	0.65	- 0.03	0.87	- 0.11	0.57

Tabela.27 Średnie i odchylenia standardowe stężeń cynku w badaniu I, u mężczyzn i kobiet, palących i niepalących (test- t) oraz współczynniki korelacji Pearsona pomiędzy wiekiem a stężeniem cynku w badaniu I w grupach: I+II, I i II (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk, grupa I + II – wszyscy pacjenci włączeni do badania).

Podobnie - w grupie III - również nie zaobserwowano znaczących różnic w zakresie średniego stężenia cynku pomiędzy kobietami i mężczyznami ($0,94 \pm 0,19$ vs $0,90 \pm 0,17$ mg/l, test – t, $p=0,61$), czy też osobami palącymi i niepalącymi ($0,90 \pm 0,8$ vs $0,94 \pm 0,21$ mg/l, test – t, $p=0,7$). Nie stwierdzono również korelacji pomiędzy poziomem cynku a wiekiem ($r=0,04$, $p=0,87$, korelacja Pearsona).

Wyniki te sugerują, iż powyższe zmienne nie miały wpływu na porównywane w dalszej części analiz poziomy cynku w surowicy we wszystkich objętych badaniem grupach.

Przeanalizowano również występowanie ewentualnych zależności pomiędzy stężeniem cynku w surowicy w okresie ostrych objawów depresji, tj. w dniu włączenia do badania (badanie I.), a wybranymi zmiennymi dotyczącymi dotychczasowej historii choroby oraz aktualnego jej epizodu. Zarówno w grupie I + II jak i w obrębie grup I i II podgrupy pacjentów - odmienne pod względem takich danych dotyczących choroby jak: obciążenie rodzinne depresją, próby samobójcze w przeszłości, obecności objawów

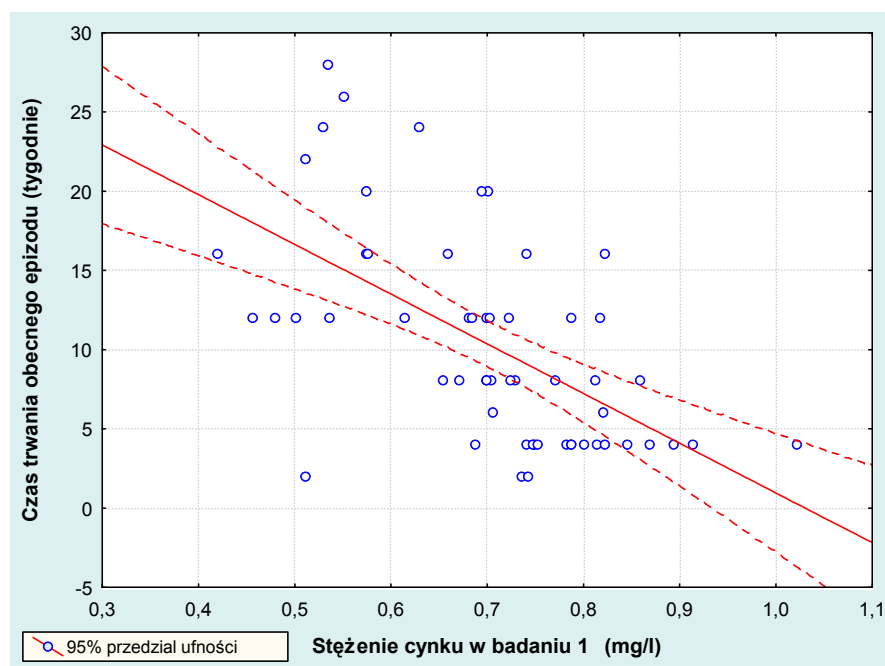
rezydujących po ostatnim epizodzie - nie różniły się istotnie pomiędzy sobą poziomem cynku w surowicy (tabela 24). Nie stwierdzono również istotnej korelacji pomiędzy poziomem tego pierwiastka w surowicy w badaniu 1. z czasem, jaki upłynął od pierwszego zachorowania na depresję (tabela 28). *Można zatem założyć, iż powyższe zmienne również nie miały wpływu na porównywane w dalszej części analiz poziomy cynku w surowicy w badaniu 1. w grupach I +II oraz I i II.*

	Grupa I + II		Grupa I		Grupa II	
	Współczynniki korelacji Spearmana					
	R	p	R	p	R	p
Dotychczasowa ilość epizodów (z obecnym epizodem włącznie)	-0.11	0.42	0.07	0.7	-0.28	0.13
Czas trwania obecnego epizodu (tygodnie)	-0.61	< 0.05	-0.62	<0.05	-0.59	< 0.05
Od ilu lat chory	-0.16	0.22	0.03	0.89	-0.29	0.12
Liczba nieskutecznych farmakoterapii w tym epizodzie	-0.60	<0.05	-0.52	< 0.05	-0.66	<0.05
	Porównanie stężeń cynku (test-t)					
	Poziom cynku (mg/l)	p	Poziom cynku (mg/l)	p	Poziom cynku (mg/l)	p
Obciążenie rodzinne depresją						
Brak	0,69±0.12	0.44	0.71±0.12	0.92	0.68±0.13	0.37
Obecne	0.72±0.12		0.72±0.13		0.73±0.12	
Objawy rezydualne w trakcie ostatniej remisji						
Nieobecne	0.73±0.13	0.07	0.74±0.14	0.21	0.72±0.13	0.25
Obecne	0.67±0.10		0.68±0.83		0.68±0.13	
Próby samobójcze w wywiadzie						
Brak	0.73±0.124	0.07	0.72±0.11	0.46	0.73±0.11	0.1
Obecne	0.67±0.113		0.69±0.09		0.66±0.13	

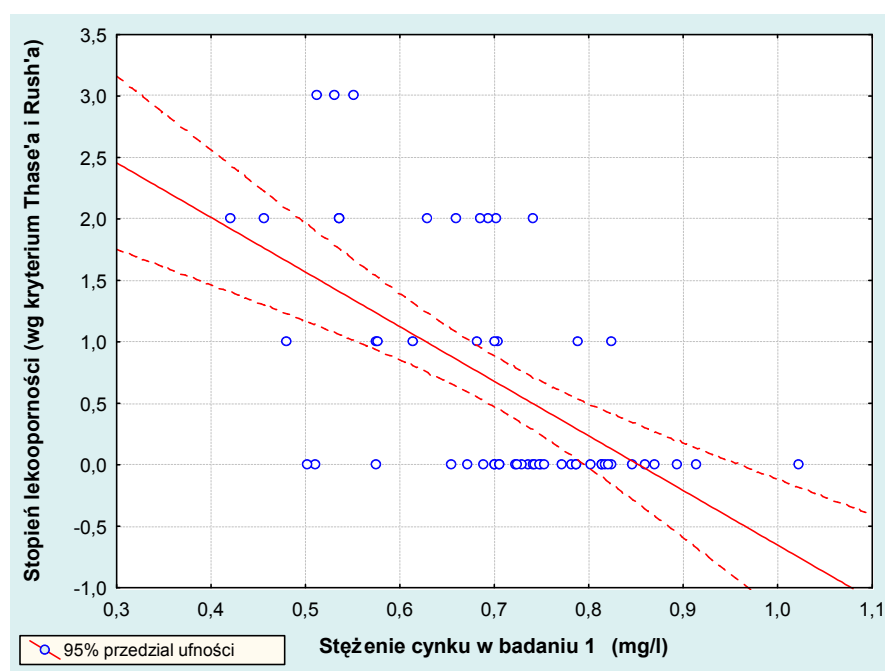
Tabela 28. Współczynniki korelacji Spearmana (R) pomiędzy stężeniem cynku w badaniu 1, a wybranymi danymi dotyczącymi dotychczasowego przebiegu choroby oraz obecnego epizodu depresji. Porównanie średnich poziomów cynku pomiędzy pacjentami różniącymi się wybranymi zmiennymi charakteryzującymi dotychczasowy przebieg choroby oraz aktualny epizod depresji (test-t). - w grupach: I +II, I i II (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk, grupa I + II – wszyscy pacjenci włączeni do badania).

Co warto jednak zaznaczyć - zarówno w grupie I + II, jak i w obrębie grup I i II, zaobserwowano wysoką, ujemną korelację pomiędzy stężeniem cynku w surowicy w badaniu 1. a stopniem lekooporności wg Thase'a i Rush'a oraz przeciętnego stopnia

ujemną korelację początkowego stężenia cynku z czasem trwania obecnego epizodu (tabela 28).



Rysunek.20. Korelacja pomiędzy czasem trwania aktualnego epizodu depresji (w tygodniach) a stężeniem cynku na początku obserwacji (badanie I) w grupie I + II.



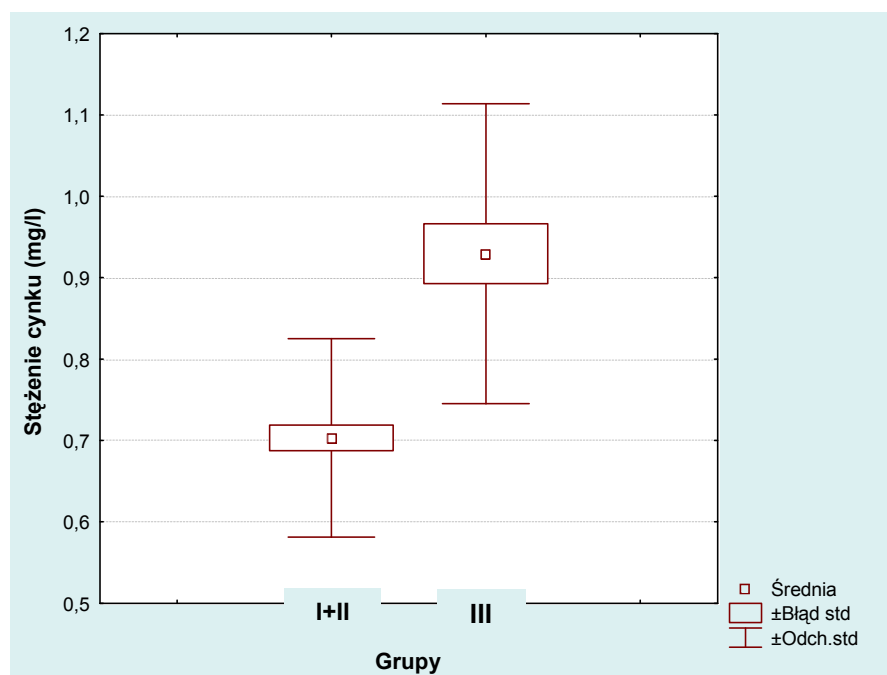
Rysunek.21. Korelacja pomiędzy stopniem lekooporności wg kryterium Thase'a i Rush'a, a stężeniem cynku na początku obserwacji (badanie I) w grupie I + II.

Dalsza analiza korelacji przeprowadzona dla podgrup pacjentów o różnym stopniu niezadowolającej odpowiedzi na dotychczasowe leczenie w obecnym epizodzie wykazała, iż zarówno w grupie I +II, jak i w obrębie grup I i II, istotna korelacja pomiędzy czasem trwania aktualnego epizodu choroby a poziomem cynku w badaniu 1 dotyczyła wyłącznie pacjentów ze stopniem lekooporności = 0 wg Thase'a i Rush'a i nie była wykrywana w podgrupach pacjentów ze stopniem lekooporności = 1 czy też ≥ 2 (tabela 29).

	Stopnie lekooporności							
	0		1		≥ 2		≥ 1	
	R	p	R	p	R	p	R	p
Gr. I+II	-0.54	<0.01	-0.25	0.46	-0.07	0.85	-0.32	0.13
Gr. I	-0.52	<0.05	-0.21	0.74	-0.29	0.57	-0.35	0.29
Gr. II	-0.55	<0.05	-0.43	0.4	0.35	0.44	-0.3	0.33

Tabela.29. Współczynniki korelacji Spearmana pomiędzy stężeniem cynku w surowicy w badaniu 1, a czasem trwania obecnego epizodu depresji u należących do grup I + II, I i II pacjentów z różnymi stopniami lekooporności wg kryteriów Thase'a i Rush'a (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk, grupa I + II – wszyscy pacjenci włączeni do badania).

Pierwszym zasadniczym etapem weryfikacji **hipotezy badawczej nr 4** było porównanie stężeń cynku w surowicy, rejestrowanych w populacji pacjentów włączonych do badania (grupa I+II oraz oddzielenie grupy I i II), ze stężeniami tego pierwiastka w populacji zdrowych ochotników (grupa III). Średnie stężenie cynku w badaniu 1. w grupie I + II (0.70 ± 0.12 mg/l) było znacząco niższe (średnio o 24.4%) od stężenia cynku stwierdzanego w grupie III, wynoszącego: 0.93 ± 0.18 mg/l (test-*t*; $p < 0.01$) (rysunek 22).



Rysunek 22. Średnie i odchylenia standardowe stężenia cynku w grupie I + II, w badaniu 1 oraz w grupie III (grupa I+II – wszyscy pacjenci włączeni do badania, grupa III – zdrowi ochotnicy, Błąd std – błąd standardowy, Odch. std – odchylenie standardowe)

Stężenia cynku w badaniu 1. w grupie I (0.71 ± 0.12 mg/l) i II (0.69 ± 0.13 mg/l) nie różniły się istotnie pomiędzy sobą i były znacząco niższe (test- t ; $p < 0.01$) niż u osób zdrowych (grupa III), średnio, odpowiednio o: 23.4 i 25.4%.

Powyższe dane potwierdzają hipotezę 4a wskazując, iż: poziom cynku w surowicy w grupie pacjentów z rozpoznaniem epizodu depresji jest istotnie statystycznie niższy w porównaniu do populacji osób zdrowych.

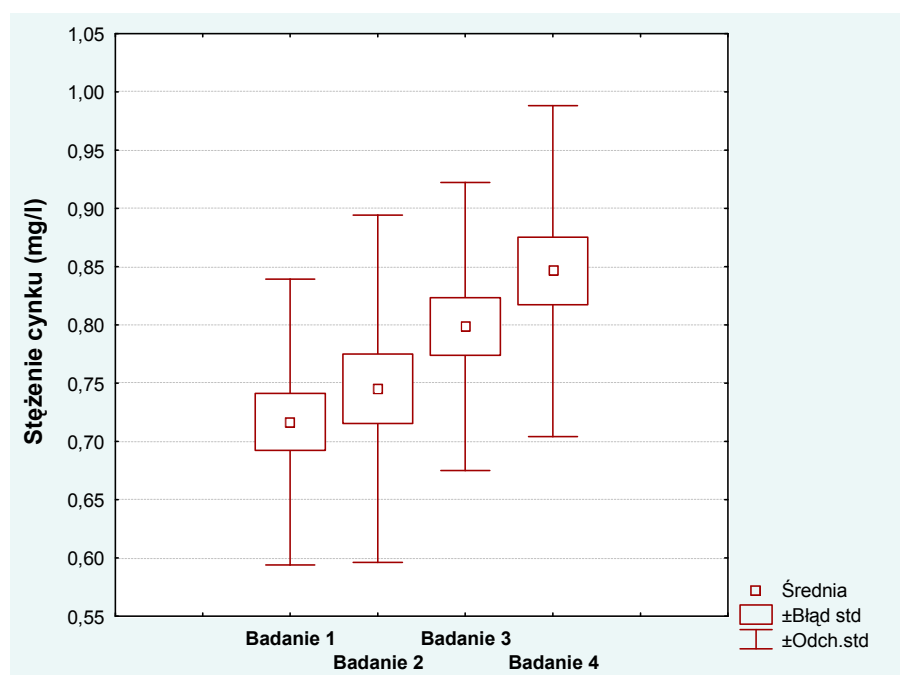
Kolejnym etapem weryfikacji **hipotezy badawczej nr 4** było sprawdzenie czy w poszczególnych punktach pomiarowych w trakcie całej obserwacji (badanie 2., 3., 4.) średnie poziomy cynku w grupie I osiągały wartość zbliżoną do grupy zdrowych ochotników.

Analiza wariancji zmian stężeń cynku w surowicy w przebiegu całej obserwacji oraz przeprowadzone następnie porównanie testem – t średnich stężeń cynku osiąganych w kolejnych badaniach w grupie I, wykazała powolny wzrost jego poziomu w surowicy.

W badaniu 2., tj. 3 tygodnie od początku obserwacji i 2 tygodnie od momentu rozpoczęcia aktywnego leczenia, wzrost ten wynosił średnio zaledwie 3.85% i nie był istotny w stosunku do badania 1 ($p=0.29$). Dopiero w badaniu 3. poziom cynku w surowicy w grupie I był istotnie wyższy w porównaniu do poziomu wyjściowego (średnio o 11%, tj. o 0.08 ± 0.11 ; $p<0.001$), wzrastając ostatecznie na końcu obserwacji średnio o 16.5% (0.12 ± 0.12 mg/l) w stosunku do badania 1 ($p<0.001$); (rysunek 23).

Zarówno w badaniu 2. jak i w badaniu 3. średnie poziomy cynku w surowicy, w grupie I wynoszące odpowiednio: 0.74 ± 0.15 i 0.80 ± 0.12 mg/l, były znacząco niższe niż w populacji osób zdrowych (test- t , $p<0.001$ i $p<0.01$). Dopiero na końcu obserwacji, tj. w badaniu 4. średnie stężenie cynku w surowicy w grupie I, osiągając wartość 0.84 ± 0.14 mg/l, nie różniło się istotnie statystycznie od grupy III (test- t , $p=0.08$).

Dane te, w zestawieniu z faktem, iż na końcu obserwacji (badanie 4.) w porównaniu do punktu początkowego (badanie 1.) w grupie I uzyskano znaczącą i istotną statystycznie redukcję nasilenia depresji mierzonego skalami CGI-S, BDI, HADRS i MADRS wskazują, iż w przebiegu leczenia depresji w trakcie zmniejszania się jej nasilenia ma miejsce normalizacja poziomu cynku, tj. jego powrót do wartości porównywalnej z osobami zdrowymi. Potwierdza to hipotezę 4b.



Rysunek 23. Średnie i odchylenia standardowe stężeń cynku w surowicy w grupie I (pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo) w kolejnych badaniach. (Błąd std – błąd standardowy, Odch. std – odchylenie standardowe)

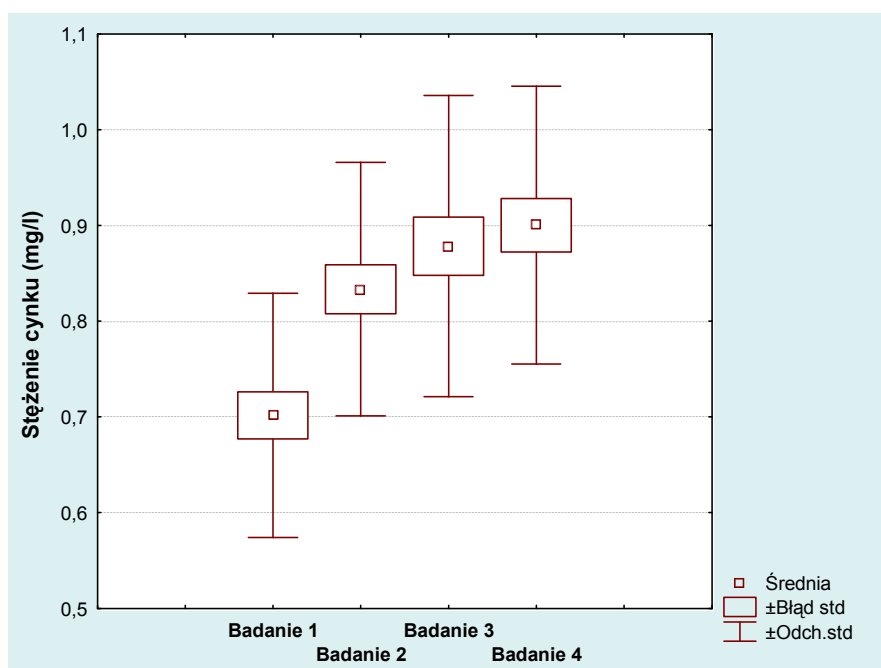
Celem sprawdzenia, w jaki sposób podawanie cynku w przebiegu leczenia przeciwdepresyjnego wpływa na zmiany poziomu tego pierwiastka w surowicy, przeprowadzono analizę zmian jego stężeń w grupie II – tj. u pacjentów otrzymujących cynk. Wyniki tej analizy porównano następnie z grupą I.

Porównanie pomiędzy grupami I i II uznano za metodycznie możliwe ze względu na wykazany wcześniej brak istotnych różnic w zakresie skuteczności leczenia w obydwu grupach. W takiej sytuacji można było wykluczyć, iż ewentualne różnice pomiędzy grupami mogą częściowo lub całkowicie wynikać z istotnej przewagi liczebnej w jednej z grup pacjentów, którzy pozytywnie odpowiedzieli na leczenie lub osiągnęli remisję.

Analiza wariancji stężeń cynku w grupie II pokazała, iż suplementacja cynkiem wiązała się już w drugim badaniu (tj. po dwóch tygodniach podawania preparatu) z istotnym statystycznie wzrostem jego średniego poziomu o 18,8% (tj. o $0,14 \pm 0,11$ mg/l) w stosunku do pomiaru początkowego ($p < 0,001$). Badanie 3. ujawniło dalszy istotny w

stosunku do pomiaru początkowego (o 0.18 ± 0.14 mg/l, tj. o: 25.2%; $p < 0.001$), ale nieistotny w stosunku do badania 2 ($p = 0.1$) wzrost poziomu cynku, którego średnia wartość na końcu obserwacji (badanie 4) była o 28.4% (0.2 ± 0.17 mg/l) wyższa od wartości początkowej ($p < 0.0001$); (patrz rysunek 24).

Podawanie wodorooasparagianu cynku w grupie II już w badaniu 2., tj. 3 tygodnie od rozpoczęcia obserwacji i 2 tygodnie od momentu rozpoczęcia aktywnego leczenia (imipramina + cynk), pozwoliło na wzrost stężenia cynku w surowicy do wartości 0.84 ± 0.14 mg/l, nie różniące się istotnie od średniego poziomu stwierdzanego u osób zdrowych (test- t , $p = 0.06$). W grupie II również w badaniu 3. oraz na końcu obserwacji (badanie 4.) poziomy cynku w surowicy wynoszące odpowiednio: 0.88 ± 0.16 i 0.90 ± 0.15 mg/l, nie różniły się istotnie od średniego poziomu stwierdzanego w grupie zdrowych ochotników (test- t , $p = 0.28$ i 0.53).



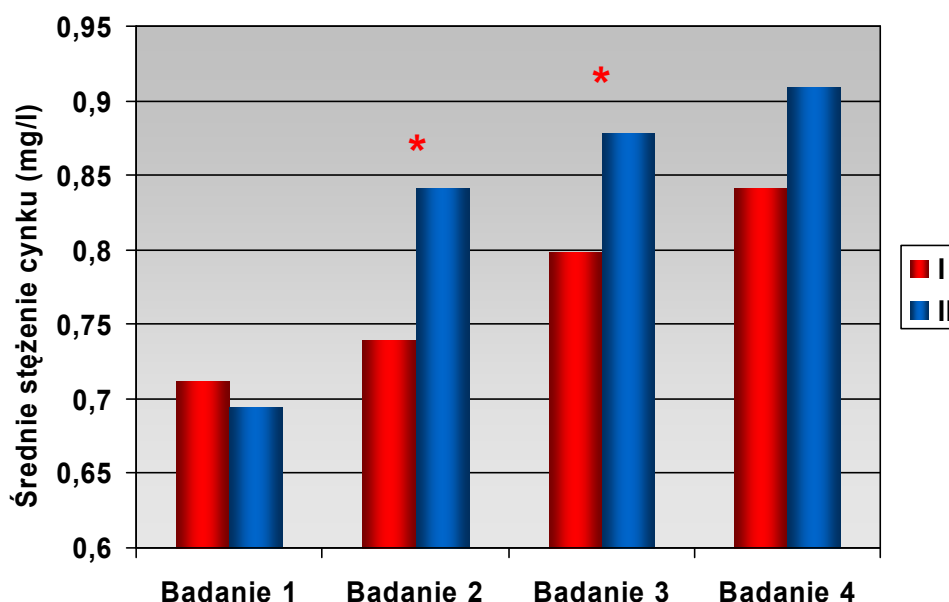
Rysunek 24. Średnie i odchylenia standardowe stężeń cynku w surowicy w grupie II (pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk), w kolejnych badaniach. (Błąd std – błąd standardowy, Odch. std – odchylenie standardowe)

Porównanie pomiędzy grupami I i II wykazało, iż zarówno w badaniu 2. jak i 3., średnie stężenie cynku w grupie otrzymujących go pacjentów (grupa II) było

znacząco wyższe niż w grupie I. Poziom cynku w grupie I osiągnął porównywalną do grupy II wartość dopiero w badaniu 4.(tabela 30). Dynamikę oraz porównanie zmian poziomu cynku w grupie I i II w przebiegu całej obserwacji obrazuje rysunek 25.

	Średnie stężenia cynku (mg/l)		Grupa I vs II p (test – t)
	Grupa I	Grupa II	
Badanie 1.	0.71±0.12	0.69±0.13	0.57
Badanie 2.	0.74±0.153	0.84±0.14	<0.05
Badanie 3.	0.80±0.123	0.88±0.14	<0.05
Badanie 4.	0.84±0.14	0.9±0.15	0.15

Tabela 30. Średnie i odchylenia standardowe stężeń cynku zarejestrowane w kolejnych badaniach w grupie I i grupie II oraz ich porównanie pomiędzy grupami (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk).



Rysunek 25. Porównanie pomiędzy grupami I i II średnich stężeń cynku w kolejnych badaniach (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk);*- p<0.05.

Z powyższych analiz przeprowadzonych w grupie II oraz ich porównania z grupą I można wnioskować, iż podawanie cynku w przebiegu epizodu depresyjnego wiąże się z szybszym niż w przypadku osób, które nie otrzymywały cynku, powrotem stężenia tego pierwiastka w surowcy do wartości stwierdzanej u osób zdrowych.

Fakt znamiennej korelacji pomiędzy stężeniem cynku w dniu włączenia do badania a stopniem lekooporności oraz wykazane w grupie I + II i związane z nim znaczące różnice poziomu cynku pomiędzy pacjentami ze stopniem lekooporności =0 a osobami nie odpowiadającymi na dotychczasowe farmakoterapie w obecnym epizodzie, uzasadnił konieczność weryfikacji **hipotez 4a i 4b** w podgrupach pacjentów różniących się stopniem odpowiedzi na dotychczasowe leczenie.

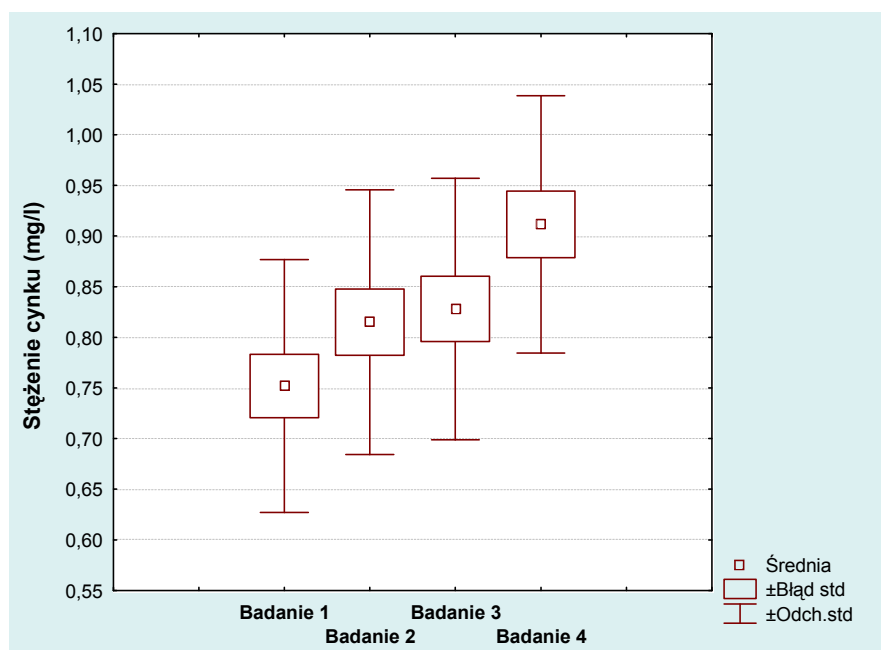
Podobnie jak w przypadku analizy skuteczności leczenia przeciwdepresyjnego, w grupach I i II wyodrębniono dwie podgrupy o podobnej liczebności : 1) **IA(n=19) i IIA (n=17)** – podgrupy obejmujące pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu choroby nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny, tj. osoby ze stopniem lekooporności = 0, wg kryterium Thase’a i Rush’a; 2) **podgrupy IB(n=11) i IIB (n=13)** - obejmujące pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, w obecnym epizodzie choroby, nie odpowiedzieli na co najmniej jedną strategię farmakoterapeutyczną (stopień ≥ 1 wg kryteriów lekooporności Thase’a i Rush’a). Ze względu na małe liczebności nie wyodrębniano oddzielnie podgrup pacjentów ze stopniem lekooporności = 1, 2 czy > 2 wg kryteriów Thase’a i Rush’a.

Średnie wartości stężeń cynku w surowicy, w badaniu 1. w podgrupach IA, IB, IIA i IIB, były istotnie statystycznie niższe niż w grupie zdrowych ochotników. Poza tym, zarówno w grupie I jak i w grupie II stężenia cynku w surowicy w badaniu 1. w podgrupach pacjentów, którzy przed włączeniem do badania nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię były znacząco niższe niż w podgrupach pacjentów ze stopniem lekooporności = 0 (tabela 31).

Podgrupy	Średnie stężenia cynku w badaniu 1 (mg/l)	Porównanie A vs B w obrębie danej grupy – wartość p (test -t)	Porównanie z grupą III – wartość p (test-t)
IA	0.75±0.12	<0.05	<0.05
IB	0.64±0.10		<0.001
IIA	0.76±0.89	<0.01	<0.05
IIB	0.61±0.12		<0.001

Tabela 31. Średnie i odchylenia standardowe wartości stężeń cynku w surowicy w badaniu 1 w rejestrowane podgrupach podgrup IA, IB, IIA i IIB oraz ich porównanie z poziomem cynku w grupie zdrowych ochotników (grupa III); (IA – otrzymujący imipraminę i placebo pacjenci, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji, nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny; IB – otrzymujący imipraminę i placebo, pacjenci, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji, nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię; IIA – otrzymujący imipraminę i cynk pacjenci, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji, nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny; IIB – otrzymujący imipraminę i cynk, pacjenci, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji, nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię)

Analiza zmian stężeń cynku w surowicy w kolejnych punktach pomiarowych w podgrupie IA, wykazała nieistotny statystycznie w stosunku do badania 1. wzrost poziomu cynku w badaniu 2., średnio o 8.5% tj. o 0.06 ± 0.13 mg/l ($p=0.07$). Dopiero w badaniu 3. stężenie cynku w surowicy w grupie IA było znacząco wyższe niż w badaniu 1. (wzrost średnio o: 10.1% tj o 0.08 ± 0.08 mg/d, $p<0.01$), a na końcu obserwacji wzrosło ono średnio o 0.14 ± 0.13 mg/d, tj. o 18.5% ($p<0.001$).

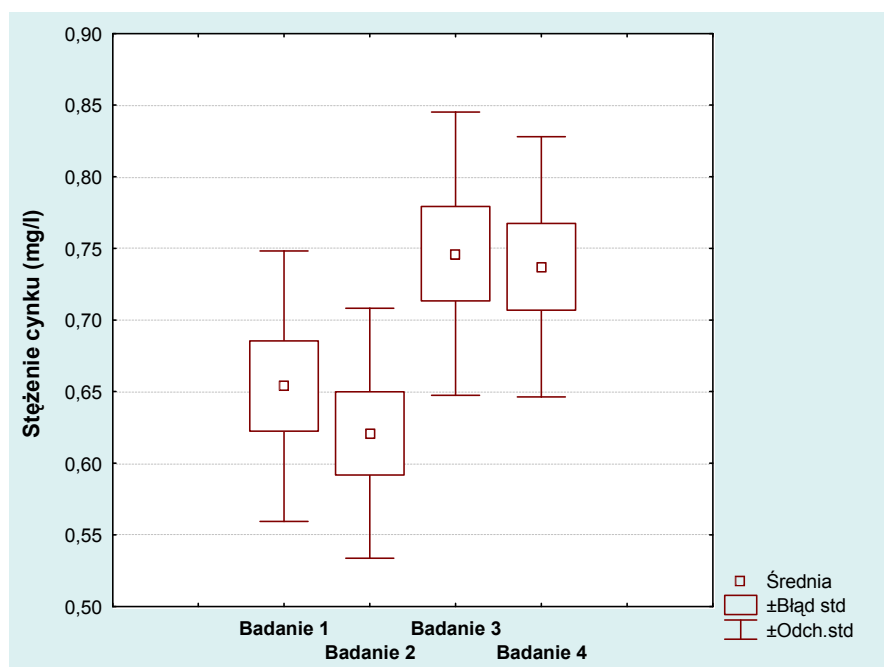


Rysunek.26. Średnie i odchylenia standardowe stężeń cynku w surowicy w podgrupie IA w kolejnych badaniach (podgrupa IA – otrzymujący imipraminę i placebo pacjenci, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji, nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny; Błąd std – błąd standardowy, Odch. std – odchylenie standardowe).

W badaniu 2. średni poziom cynku w surowicy w podgrupie IA, wynoszący 0.815 ± 0.12 mg/l, był znacząco niższy niż w populacji osób zdrowych (test-*t*, $p < 0.05$). Dopiero w badaniu 3. i 4. średnie stężenia cynku w surowicy w podgrupie IA osiągając wartości odpowiednio: 0.82 ± 0.12 i 0.91 ± 0.13 mg/l, nie różniło się istotnie statystycznie od grupy III (test-*t*, $p =$ odpowiednio: 0.06 i 0.74).

Dane te - w zestawieniu z faktem, iż na końcu obserwacji (badanie 4.) w porównaniu do punktu początkowego (badanie 1.) w podgrupie IA uzyskano znaczącą i istotną statystycznie redukcję nasilenia depresji mierzonego skalami CGI-S, BDI, HADRS i MADRS - potwierdzają hipotezę 4b dla pod grupy IA, tworzonej przez pacjentów, którzy w aktualnym epizodzie choroby nie byli do tej pory poddawani leczeniu lub byli leczeni w sposób nieadekwatny.

W podgrupie I B wzrost poziomu cynku był bardziej powolny. W badaniu 2. zanotowano nieistotny statystycznie spadek jego poziomu o 0.03 mg/d (średnio o: 5%, $p = 0.42$) a w badaniu 3. nieistotny w stosunku do pomiaru początkowego wzrost o 0.09 mg/dl (średnio o: 14.1%, $p = 0.11$); na końcu obserwacji, tj. w badaniu 4. pomimo nieistotnego w stosunku do badania 3. spadku stężenia cynku, było ono istotnie wyższe w stosunku do badania 1. o 0.08 mg/d, tj. średnio o: 12.7%.



Rysunek 27. Średnie i odchylenia standardowe stężeń cynku w surowicy w podgrupie IB w kolejnych badaniach (IB – otrzymujący imipraminę i placebo, pacjenci, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji, nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię); (Błąd std – błąd standardowy, Odch. std – odchylenie standardowe)

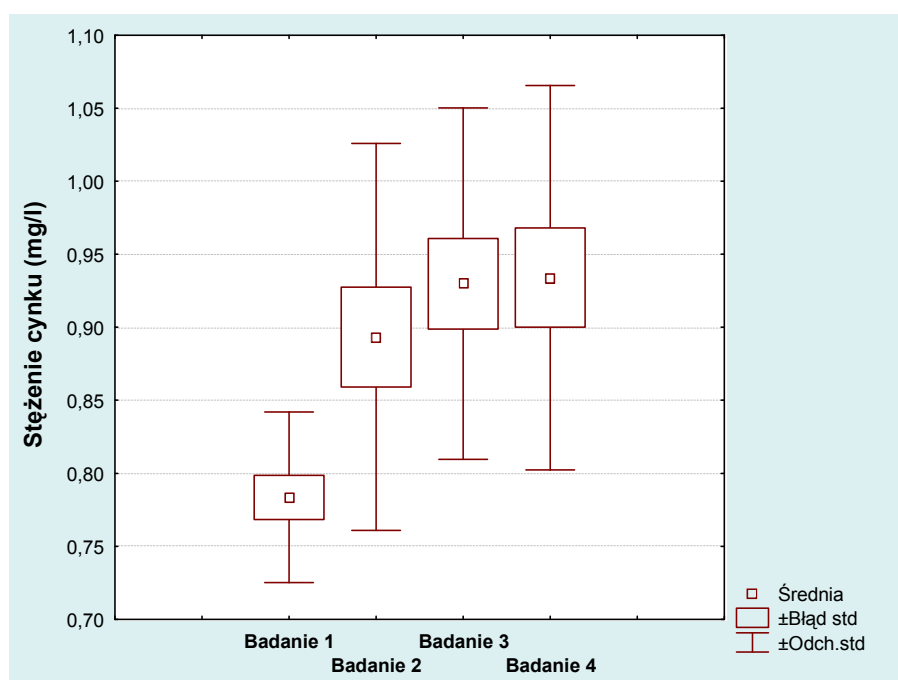
Co jednak ważne, średnie stężenia cynku w surowicy w podgrupie IB były znacząco niższe od poziomu tego pierwiastka w grupie zdrowych ochotników - zarówno w badaniu 2. (0.6 ± 0.1 mg/l; $p < 0.001$), 3. (0.75 ± 0.1 mg/l; $p < 0.01$), jak i na końcu obserwacji (badanie 4., 0.74 ± 0.09 mg/l; $p < 0.01$), wskazując na brak normalizacji poziomu cynku u pacjentów nie odpowiadających na 1 lub więcej dotychczasowych terapii.

Dane te - w zestawieniu z faktem, iż na końcu obserwacji (badanie 4.) w porównaniu do punktu początkowego (badanie 1.) w podgrupie IB uzyskano znaczącą i istotną statystycznie redukcję nasilenia depresji mierzonego skalami CGI-S, BDI, HADRS i MADRS w odniesieniu do pacjentów, nie odpowiadających na dotychczasowe, adekwatne farmakoterapie w obecnym epizodzie - obalają hipotezę 4b.

Celem sprawdzenia, w jaki sposób podawanie cynku w przebiegu leczenia przeciwdepresyjnego wpływa na zmiany poziomu tego pierwiastka w surowicy u pacjentów różniących się stopniem niezadowolającej odpowiedzi na dotychczasowe

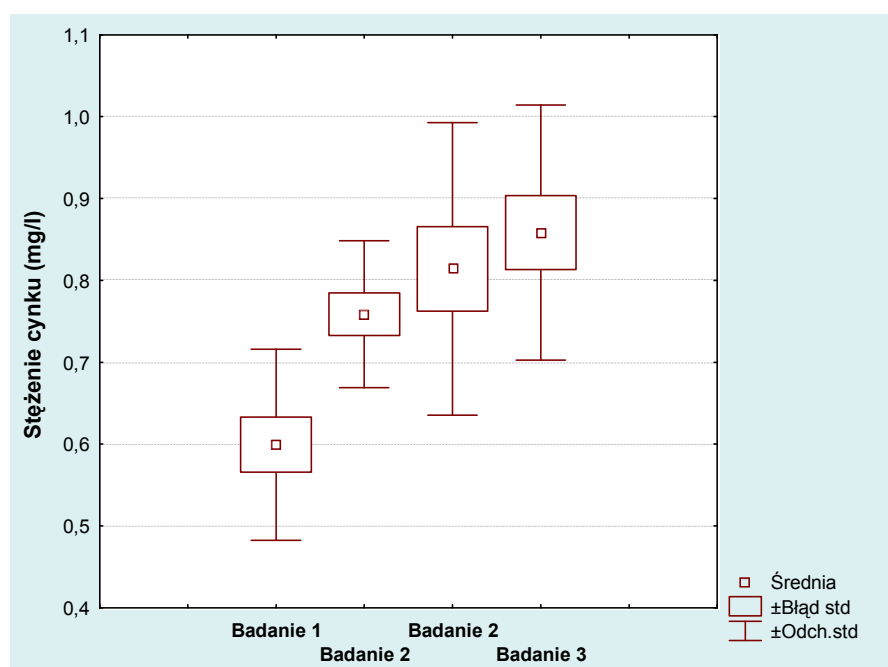
leczenie w aktualnym epizodzie choroby, przeprowadzono analizę zmian jego stężeń w podgrupach IIA i IIB – tj. u pacjentów otrzymujących cynk oraz jej porównanie z podgrupami IA i IB, tworzonymi przez pacjentów, którzy w trakcie badania nie otrzymywali cynku.

W obrębie podgrupy IIA, już w badaniu 2. zanotowano istotny wzrost stężenia cynku w surowicy o 0.11 ± 0.12 mg/d, tj. średnio o: 14% ($p < 0.05$). W badaniu 3. zanotowano nieistotny w stosunku do badania 2. ($p = 0.36$) dalszy wzrost poziomu cynku o 0.15 ± 0.11 mg/d, tj. średnio o 18.8% stosunku do pomiaru początkowego ($p < 0.01$). Na końcu obserwacji (badanie 4.) stężenie cynku w surowicy w podgrupie IIA było o 0.15 ± 0.13 mg/d (tj. średnio o 19.3%) wyższe niż w momencie rozpoczęcia badania (rysunek 28). Już w badaniu 2. średnie stężenie cynku wynoszące w podgrupie IIA 0.89 ± 0.13 mg/dl nie różniło się istotnie od stwierdzanego w grupie zdrowych ochotników (test- t , $p = 0.44$), a w badaniach 3. i 4. osiągnęło ono wartości odpowiednio: 0.93 ± 0.13 ; 0.93 ± 0.14 mg/l - niemal identyczne jak w grupie III ($p = 0.1$; $p = 0.94$).



Rysunek 28. Średnie i odchylenia standardowe stężeń cynku w surowicy w podgrupie IIA w kolejnych badaniach. (podgrupa IIA – otrzymujący imipraminę i cynk pacjenci, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji, nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny); (Błąd std – błąd standardowy, Odch. std – odchylenie standardowe)

Podgrupa IIB, podobnie jak podgrupa IIA, już w drugim badaniu osiągnęła znacząco wyższy od początkowego średni poziom cynku w surowicy wynikający ze wzrostu o 0.16 ± 0.06 mg/l, tj. średnio o 12.7% ($p < 0.001$). W badaniu 3. zanotowano wzrost poziomu cynku w surowicy o 0.22 ± 0.14 mg/l, tj. średnio o 13.6% stosunku do pomiaru początkowego ($p < 0.001$), a na końcu obserwacji (badanie 4.) stężenie cynku w surowicy w podgrupie IIA było o 0.26 ± 0.20 mg/l (tj. o 14.3%) wyższe niż w momencie rozpoczęcia badania ($p < 0.001$); (rysunek 29).

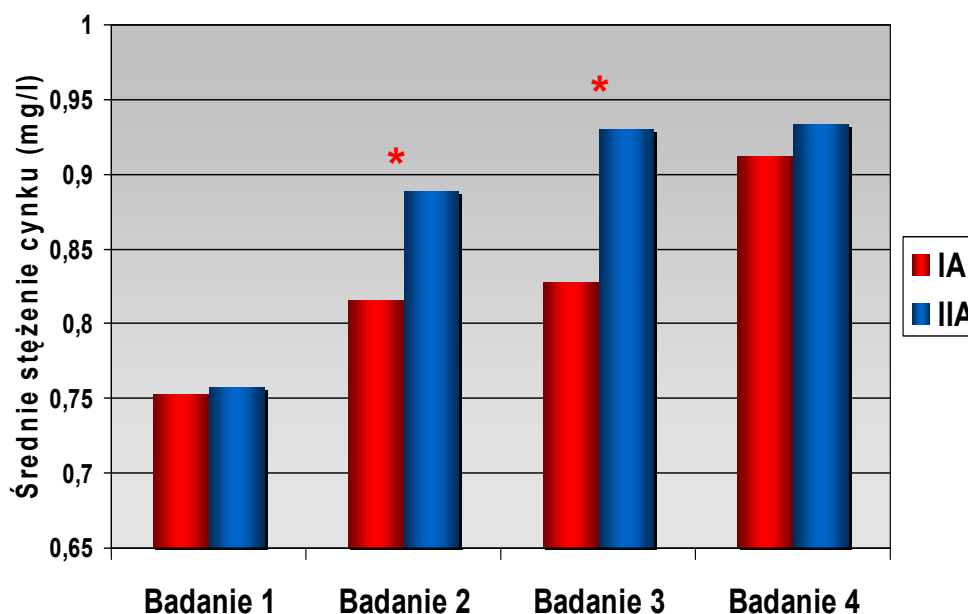


Rysunek 29. Średnie i odchylenia standardowe stężeń cynku w surowicy w podgrupie IIB w kolejnych badaniach. (IIB – otrzymujący imipraminę i cynk, pacjenci, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji, nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię); (Błąd std – błąd standardowy, Odch. std – odchylenie standardowe)

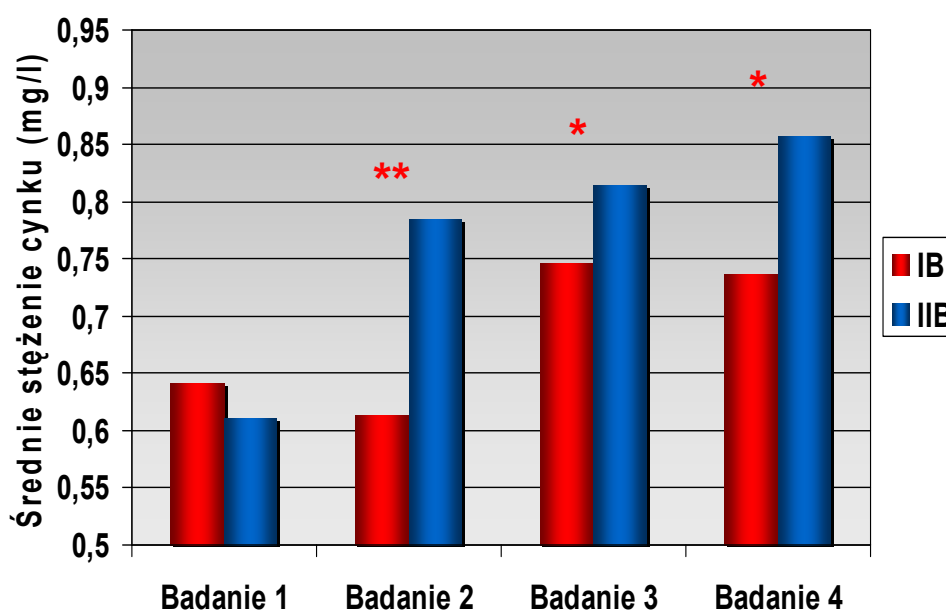
W badaniu 2. średnie stężenie cynku, wynoszące w podgrupie IIB: 0.79 ± 0.13 mg/l, było istotnie niższe od stwierdzanego w grupie zdrowych ochotników (test- t , $p < 0.05$). Natomiast w badaniach 3. i 4. uległo ono normalizacji, osiągając wartości odpowiednio: 0.81 ± 0.18 i 0.86 ± 0.16 mg/l, nie różniące się istotnie od średniej wartości stwierdzanej u osób zdrowych ($p = 0.08$, $p = 0.26$).

Przeprowadzone pomiędzy podgrupami IA i IIA porównanie dało następujące rezultaty: nie wykazano żadnych istotnych statystycznie różnic w pomiędzy podgrupami IA i IIA ($p=0.82$) w zakresie początkowych (badanie 1.) średnich wartości stężeń cynku. Średnie poziomy cynku u pacjentów z podgrupy IA były znacząco niższe w porównaniu do podgrupy IIA zarówno w badaniu 2. ($p<0.05$), jak i 3. ($p<0.05$). Dopiero w badaniu 4. nie wykazano istotnych różnic pomiędzy podgrupami ($p=0.64$).

Nie stwierdzono różnic w zakresie początkowego (badanie 1.) stężenia cynku w surowicy pomiędzy podgrupami IB i IIB ($p=0.49$) Średnie wartości poziomu cynku w surowicy u należących do podgrupy IB pacjentów, były znacząco niższe od wartości osiąganych przez podgrupę IIB, zarówno 2 ($p<0.01$) i 3 punkcie pomiarowym ($p<0.05$), jak i na końcu obserwacji ($p<0.05$); (badanie 4.).



Rysunek 30. Porównanie pomiędzy podgrupami IA i IIA średnich stężeń cynku w surowicy w kolejnych badaniach (IA, IIA - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny; IA – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIA – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk); * - $p<0.05$ (test $-t$)



Rysunek 31. Porównanie pomiędzy podgrupami IB i IIB średnich stężeń cynku w surowicy w kolejnych badaniach (IB, IIB - podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię; IB – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, IIB – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk); * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$.

Z powyższych analiz, przeprowadzonych w podgrupie IIA oraz ich porównania z wynikami uzyskanymi w podgrupie IA, można wnioskować, iż podawanie cynku w przebiegu epizodu depresyjnego wiąże się z szybkim powrotem stężenia tego pierwiastka w surowicy do wartości stwierdzanej u osób zdrowych. Podobne wnioski, mogące wynikać z analiz w podgrupach IB i IIB, ogranicza fakt wykazanych pomiędzy tymi podgrupami różnic w zakresie skuteczności leczenia przeciwdepresyjnego, co zgodnie z hipotezą 4c i 4d może wpływać na dynamikę zmian oraz wysokość średnich stężeń cynku w surowicy w kolejnych badaniach.

Kolejnym etapem analiz statystycznych była weryfikacja hipotez badawczych 4c i 4d.

W tym celu w grupach I i II przeanalizowane zostały stężenia cynku w surowicy w wydzielonych podgrupach pacjentów, którzy na końcu obserwacji (badanie 4.)

osiągnęli lub nie osiągnęli poszczególnych, przyjętych w badaniu kryteriów remisji lub odpowiedzi terapeutycznej (tabele 32-34).

W grupie I pacjenci, którzy nie spełnili kryteriów HADRS/CGI odpowiedzi terapeutycznej, mieli znacząco niższe stężenie cynku w surowicy na końcu obserwacji w porównaniu z tymi, u których stwierdzono odpowiedź terapeutyczną wg tego kryterium. Ponadto zarówno w podgrupach osób, które nie spełniły kryteriów remisji HADRS/CGI, jak i osób, które nie spełniły kryteriów MADRS/CGI - średnie stężenia cynku w surowicy były istotnie statystycznie mniejsze niż w podgrupach pacjentów, spełniających wyżej wymienione kryteria. Średni poziom cynku u pacjentów, którzy nie spełnili kryteriów remisji BDI/CGI był niższy od rejestrowanego u pacjentów spełniających te kryteria, nie wykazano jednak istotności statystycznej. Podobnie - nie wykazano istotnych statystycznie różnic w zakresie średniego poziomu cynku pomiędzy pacjentami spełniającymi i nie spełniającymi kryteriów odpowiedzi terapeutycznej MADRS/CGI (tabela 32). Zarówno w podgrupach pacjentów, którzy spełnili kryteria odpowiedzi terapeutycznej (HADRS/CGI lub MADRS/CGI) jak i w podgrupach pacjentów, którzy osiągnęli remisję na końcu obserwacji, zanotowano znaczący w stosunku do badania 1. wzrost stężenia cynku w surowicy, wahający się w zależności od rozpatrywanych kryteriów odpowiedzi lub remisji w granicach: 21.1 – 27.6%. Natomiast u pacjentów, którzy nie osiągnęli remisji lub odpowiedzi terapeutycznej, w zależności od rozpatrywanych kryteriów końcowe stężenie cynku (badanie 4.) nie różniło się w sposób istotny od wyjściowego bądź też notowano znacząco mniejszy niż u pacjentów odpowiadających na leczenie wzrost stężenia, wahający się w granicach: 7.9 – 9.1% (tabela 33).

Zarówno pacjenci nie spełniający kryteriów odpowiedzi terapeutycznej (HADRS/CGI lub MADRS/CGI) jak i pacjenci, którzy nie osiągnęli remisji wg

kryteriów MADRS/CGI lub HADRS/CGI lub BDI/CGI - mieli w badaniu 4. znacząco niższe stężenia cynku w porównaniu do grupy zdrowych ochotników. Natomiast stężenia cynku w badaniu 4. w podgrupach pacjentów, spełniających kryteria remisji (HADRS/CGI, MADRS/CGI lub BDI/CGI) jak i pacjentów spełniających kryteria odpowiedzi terapeutycznej (HADRS/CGI lub MADRS/CGI) - nie różniły się od średniego stężenia tego pierwiastka rejestrowanego w grupie III (tabela 34).

Spełnione kryterium:	Grupa I		Grupa II	
	Stężenie cynku w Bad 4 (mg/l)	Porównanie stężeń p (test-t)	Stężenie cynku w Bad 4 (mg/l)	Porównanie stężeń p (test-t)
BDI rem.	Tak	0.08	0.96±0.14	<0.05
	Nie		0.83±0.14	
HADodp.	Tak	<0.05	0.93±0.18	0.14
	Nie		0.83±0.16	
HADrem	Tak	<0.05	0.94±0.14	0.09
	Nie		0.84±0.14	
MADodp.	Tak	0.13	0.91±0.14	0.51
	Nie		0.86±0.18	
MADrem.	Tak	<0.05	0.94±0.14	0.07
	Nie		0.83±0.14	

Tabela 32. Średnie i odchylenia standardowe stężeń cynku w surowicy w badaniu 4. w podgrupach pacjentów: spełniających i nie spełniających kryteriów: odpowiedzi terapeutycznej MADRS/CGI (MADodp.) lub HADRS/CGI (HADodp.); spełniających i nie spełniających kryteriów remisji BDI/CGI (BDIrem.) lub MADRS/CGI (MADrem.) lub HADRS/CGI (HADrem.) oraz porównanie stężeń pomiędzy podgrupami (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk).

Spełnione kryterium:	Wzrost poziomu cynku w Bad. 4 w stosunku do Bad. 1 (mg/l)	Średni % wzrost poziomu cynku w Bad. 4 w stosunku do Bad. 1	Bad 1 vs Bad 4 wartość p (test-t)
BDIrem- Tak	0.20±0.11	27.6	<0.001
BDIrem.- Nie	0.059±0.09	7.8	<0.05
HADodp.-Tak	0.17±0.11	23.8	<0.001
HADodp.-Nie	0.04±0.09	4.9	0.24
HADrem.-Tak	0.18±0.12	23.7	<0.01
HADrem.-Nie	0.07±0.10	9.1	<0.05
MADodp.-Tak	0.15±0.13	21.1	<0.001
MADodp.- Nie	0.06±0.06	7.9	<0.05
MADrem.- Tak	0.18±0.12	24.1	<0.001
MADrem.-Nie	0.06±0.10	7.9	0.06

Tabela 33. Przyrost stężenia cynku w grupie I, notowany na końcu obserwacji (badanie 4.) w porównaniu do poziomu wyjściowego (badanie 1.) i jego istotność w stosunku poziomu wyjściowego w podgrupach pacjentów spełniających i niespełniających określonych kryteriów remisji lub odpowiedzi terapeutycznej (MADodp. – kryterium odpowiedzi terapeutycznej MADRS/CGI; HADodp. – kryterium odpowiedzi terapeutycznej HADRS/CGI; BDIrem. – kryterium BDI/CGI remisji; MADrem. – kryterium remisji MADRS/CGI; HADrem – kryterium remisji HADRS/CGI).

Kryterium	Test-t, wartość p	
	Gr. I vs Gr. III	Gr. II vs Gr. III
BDIrem.- Tak	0.65	0.19
BDIrem.- Nie	<0.05	0.10
HADodp.- Tak	0.48	0.93
HADodp.- Nie	<0.05	0.21
HADrem.- Tak	0.77	0.86
HADrem.- Nie	<0.05	0.18
MADodp. – Tak	0.34	0.68
MADodp. – Nie	<0.05	0.45
MADrem.- Tak	0.66	0.85
MADrem.- Nie	<0.05	0.15

Tabela 34. Porównanie średnich stężeń cynku podgrup pacjentów spełniających lub nie- na końcu obserwacji (badanie 4.) określone kryteria remisji lub odpowiedzi terapeutycznej z poziomem cynku w grupie zdrowych ochotników (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk; grupa III – zdrowi ochotnicy); (MADodp. – kryterium odpowiedzi terapeutycznej MADRS/CGI; HADodp. – kryterium odpowiedzi terapeutycznej HADRS/CGI; BDIrem. – kryterium BDI/CGI remisji; MADrem. – kryterium remisji MADRS/CGI; HADrem. – kryterium remisji HADRS/CGI).

*Wykazane różnice stężeń cynku w surowicy pomiędzy pacjentami, którzy na końcu obserwacji odpowiedzieli lub nie na zastosowane leczenie - potwierdzają **hipotezę badawczą 4c**. U pacjentów, którzy na końcu obserwacji nie odpowiedzieli na leczenie obserwowano niewielki lub nieistotny statystycznie wzrost poziomu cynku, a także brak jego normalizacji, co potwierdza **hipotezę badawczą 4d**.*

W grupie II nie wykazano istotnych statystycznie różnic w zakresie średniego poziomu cynku pomiędzy pacjentami spełniającymi i nie spełniającymi kryteriów MADRS/CGI lub HADRS/CGI odpowiedzi terapeutycznej, czy remisji. Jedynie pacjenci, którzy nie osiągnęli remisji wg kryterium BDI/CGI, mieli znacząco niższy poziom cynku od osób spełniających powyższe kryterium. W badaniu 4. we wszystkich wymienionych podgrupach poziom cynku w badaniu 4. uległ normalizacji. *Można zatem wnioskować, iż podawanie cynku w przebiegu terapii przeciwdepresyjnej wiąże się z niwelowaniem różnic w zakresie stężeń tego pierwiastka w surowicy, pomiędzy pacjentami spełniającymi i nie spełniającymi kryteriów odpowiedzi terapeutycznej lub remisji.*

W celu weryfikacji **hipotezy 4e** porównano średnie stężenia cynku w dniu włączenia do badania (badanie 1.) w wydzielonych podgrupach pacjentów, należących do grupy I, którzy w badaniu 4., tj. na końcu obserwacji spełniali lub nie kolejne kryteria odpowiedzi terapeutycznej lub remisji. Wyniki tego porównania, przedstawione w tabeli 35., wskazują na brak różnic w zakresie wyjściowego poziomu cynku w surowicy odpowiednio pomiędzy pacjentami, którzy: spełnili i nie spełnili poszczególnych kryteriów odpowiedzi na leczenie, oraz pacjentami którzy osiągnęli

remisję, a pacjentami którzy remisji nie osiągnęli. W związku z powyższym należy wyciągnąć wniosek o obalający **hipotezę badawczą 4e**.

Kryterium	Grupa I		Grupa II	
	Stężenie cynku w Bad. 1(mg/l)	Porównanie stężeń p (test-t)	Stężenie cynku w Bad. 1(mg/l)	Porównanie stężeń p (test-t)
BDIrem. Tak Nie	0.71±0.11 0.72±0.13	0.83	0.69±0.14 0.70±0.11	0.94
HADodp. Tak Nie	0.71±0.12 0.71±0.13	0.93	0.71±0.13 0.68±0.10	0.45
HADrem. Tak Nie	0.73±0.11 0.70±0.13	0.48	0.70±0.14 0.69±0.11	0.88
MADodp. Tak Nie	0.71±0.12 0.72±0.13	0.76	0.69±0.12 0.71±0.13	0.68
MADrem. Tak Nie	0.72±0.11 0.71±0.13	0.79	0.7±0.13 0.69±0.12	0.76

Tabela 35. Średnie i odchylenia standardowe stężeń cynku w surowicy w badaniu I w podgrupach pacjentów: spełniających i niespełniających na końcu obserwacji (badanie 4.) kryteriów: odpowiedzi terapeutycznej MADRS/CGI (MADodp.) lub HADRS/CGI (HADodp.); spełniających i nie spełniających kryteriów remisji BDI/CGI (BDIrem.) lub MADRS/CGI (MADrem.) lub HADRS/CGI (HADrem.).

Ostatnim etapem prowadzonych analiz statystycznych była weryfikacja **hipotezy 4f**. W związku z tym, iż hipoteza badawcza 4f zakładała, iż istnieją różnice w poziomie cynku w surowicy na początku leczenia (badanie 1.), w zależności od wyjściowej głębokości stanu depresyjnego, dla grupy I+II oraz osobno dla grup I i II obliczono współczynniki korelacji, pomiędzy oznaczonym w dniu włączenia do badania stężeniem cynku, a nasileniem depresji wyrażonym punktacją CGI-S, BDI, HADRS i MADRS (tabela 36).

Zarówno w grupie I + II, jak i osobno w grupach I i II, nie wykazano istotnej statystycznie korelacji pomiędzy stężeniem cynku w badaniu 1., a punktacją w żadnej z użytych w badaniu skal (CGI, BDI, HADRS, MADRS).

W celu zbadania, czy wykazany powyżej brak zależności, pomiędzy wyjściowym stężeniem cynku, a nasileniem depresji, nie jest wynikiem obecności

znacznego odsetka pacjentów nieodpowiadających na dotychczasowe terapie, w grupie I + II obliczono zatem współczynniki korelacji osobno dla pacjentów odznaczających się różnym stopniami lekooporności wg Thase'a i Rush'a, ponownie nie znajdując żadnej istotnej zależności (tabela 37).

Powyższe wyniki badań wydają się jednoznacznie obalać hipotezę 4f.

	Grupa I + II		Grupa I		Grupa II	
	R	p	R	p	R	p
CGI	-0.05	0.70	-0.01	0.95	-0.09	0.64
BDI	-0.06	0.66	-0.04	0.83	-0.14	0.46
HDRS	-0.12	0.36	-0.22	0.23	-0.05	0.81
MADRS	-0.003	0.98	-0.04	0.86	-0.01	0.95

Tabela 36. Współczynniki korelacji Spearmana pomiędzy stężeniem cynku w badaniu I, a punktacjami CGI-S, BDI, HDRS, MADRS w grupach I +II, I i II (grupa I – pacjenci otrzymujący imipraminę i placebo, grupa II – pacjenci otrzymujący imipraminę i cynk, grupa I + II – wszyscy pacjenci włączeni do badania).

	Stopnie lekooporności							
	0		1		2		1+2	
	R	p	R	p	R	p	R	p
CGI	-0.10	0.55	0.17	0.61	-0.04	0.91	0.03	0.88
BDI	-0.02	0.92	0.22	0.52	-0.03	0.99	-0.08	0.73
HDRS	-0.25	0.14	0.05	0.87	-0.18	0.55	-0.04	0.84
MADRS	-0.09	0.61	-0.16	0.65	0.17	0.58	0.08	0.72

Tabela 37. Współczynniki korelacji Spearmana pomiędzy stężeniem cynku w badaniu I a punktacjami CGI-S, BDI, HDRS, MADRS u pacjentów o różnych stopniach lekooporności wg kryterium Thase'a i Rush'a w grupie I +II, obejmującej wszystkich pacjentów włączonych do badania.

Dyskusja

Cynk jako potencjalizator leczenia przeciwdepresyjnego

Analiza skuteczności potencjalizacyjnej połączenia wodoroasparaginianu cynku z imipraminą, wchodząca w skład części badawczej rozprawy: *„Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej”*, poza badaniem pilotażowym przeprowadzonym przez Nowaka i wsp.[351] w Klinice Psychiatrii Dorosłych we współpracy Instytutem Neurobiologii PAN, nie była wcześniej przedmiotem obserwacji klinicznych.

Połączenie imipraminy i cynku, podobnie jak we wspomnianym badaniu pilotażowym, okazało się być bezpieczne i dobrze tolerowane, a dodanie cynku do imipraminy wydało się nie pogarszać ani nie poprawiać jej tolerancji. Świadczą o tym:

- 1) brak różnic pomiędzy grupą otrzymującą imipraminę i cynk, a grupą otrzymującą imipraminę i placebo w zakresie średnich dawek imipraminy i częstości występowania poszczególnych objawów ubocznych;
- 2) porównywalna w obydwu grupach liczba pacjentów wyłączonych z badania z powodu nietolerancji leczenia;
- 3) nieobecność w grupie leczonej cynkiem dodatkowych objawów ubocznych (w tym objawów zatrucia cynkiem), nie występujących w grupie otrzymującej placebo.

Jak wynika z analiz przeprowadzonych w badaniu *„Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej”*:

- **Dodanie wodoroasparaginianu cynku, w dawce 0.15 g dziennie do imipraminy - u pacjentów z rozpoznaniem epizodu depresyjnego o nasileniu umiarkowanym lub głębokim bez objawów psychotycznych (wg kryteriów ICD-10) i spełniających kryteria stopnia „0”, lekooporności według kryterium Thase’a i Rush’a - w porównaniu do monoterapii imipraminą,**

nie powoduje przyspieszenia odpowiedzi terapeutycznej ani wzmocnienia działania przeciwdepresyjnego. Wskazuje na to brak istotnych różnic pomiędzy pacjentami otrzymującymi leczenie kombinowane (imipramina + cynk) a pacjentami poddanymi monoterapii imipraminą, w kolejnych punktach pomiarowych oraz na końcu obserwacji, w zakresie: 1) redukcji nasilenia depresji mierzonego skalami CGI, BDI, HADRS i MADRS¹⁰; 2) wskaźników odpowiedzi terapeutycznej lub remisji (zarówno w przeliczeniu na początkowe jak i końcowe liczebności grup);

- **Dodanie wodoroasparaginianu cynku, w dawce 0.15 g dziennie do imipraminy - u pacjentów z rozpoznaniem epizodu depresyjnego o nasileniu umiarkowanym lub głębokim bez objawów psychotycznych (wg kryteriów ICD-10); nie odpowiadających na co najmniej jedną adekwatną farmakoterapię w obecnym epizodzie choroby - w porównaniu do monoterapii imipraminą, wiąże się z przyspieszeniem i potencjalizacją działania przeciwdepresyjnego, zwiększeniem szansy na uzyskanie odpowiedzi terapeutycznej oraz zwiększeniem prawdopodobieństwa wcześniejszej odpowiedzi terapeutycznej lub remisji.** Sugerować to mogą, większe u pacjentów otrzymujących leczenie kombinowane: 1) redukcje nasilenia depresji mierzonego skalami CGI, BDI, HADRS i MADRS w badaniu 3.; 2) redukcje nasilenia depresji mierzonego skalami BDI, HADRS i MADRS na końcu obserwacji; 3) wskaźniki odpowiedzi terapeutycznej (wg kryteriów MADRS/CGI) po sześciu tygodniach aktywnego leczenia i na końcu obserwacji; 4) wskaźniki remisji (kryterium MADRS/CGI) po sześciu tygodniach aktywnego leczenia.

¹⁰ Z wyjątkiem badania 3., przeprowadzonego 6 tygodni od rozpoczęcia aktywnego leczenia, w którym redukcja nasilenia depresji mierzonego BDI i CGI – S była znacząco większa w grupie pacjentów otrzymujących cynk.

W cytowanym powyżej badaniu Nowaka i wsp. [351] w grupie pacjentów otrzymujących lek przeciwdepresyjny w połączeniu z wodoroasparaginianem (LPD+cynk) cynku, zaobserwowano istotnie statystycznie większą w porównaniu do grupy otrzymującej lek przeciwdepresyjny i placebo (LPD+placebo): 1) redukcję punktacji HDRS w szóstym i dwunastym tygodniu od rozpoczęcia leczenia; 2) redukcję nasilenia depresji mierzonego Inwentarzem Depresji Becka w dwunastym tygodniu aktywnego leczenia. Oczywistymi ograniczeniami tego badania, uniemożliwiającymi przeprowadzenie rzetelnego porównania z wynikami pracy *„Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej”*, były jednak: 1) bardzo małe końcowe liczebności grup (6 osób w grupie LPD+cynk, 8 osób w grupie LPD + placebo); 2) zróżnicowane leczenie przeciwdepresyjne stosowane w badaniu (klomipramina, imiramina, citalopram); 3) brak informacji dotyczących reakcji na ewentualne wcześniejsze leczenie w obecnym epizodzie choroby.

Wynikające z obserwacji przeprowadzonych w pracy *„Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej”* wnioskowanie, o zdolności cynku do potencjalizacji leczenia przeciwdepresyjnego u pacjentów nieodpowiadających na dotychczasowe adekwatne farmakoterapie w aktualnym epizodzie choroby, należy uznać za ograniczone z dwóch podstawowych przyczyn. Po pierwsze - ze względu na małą liczebność porównywanych podgrup pacjentów, nie odpowiadających na dotychczasowe, adekwatne farmakoterapie (podgrupa spełniających te kryteria pacjentów, otrzymujących imipraminę i cynk liczyła 13, a podgrupa pacjentów otrzymujących imipraminę w połączeniu z placebo - 11 osób), po drugie - w związku z faktem, iż ani po szóstym tygodniu aktywnego leczenia, ani na końcu obserwacji nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy podgrupami w zakresie wskaźników odpowiedzi terapeutycznej wg kryterium HADRS/CGI czy też

remisji według kryteriów HADRS/CGI lub BDI/CGI (istotne różnice wykazano jedynie, biorąc pod uwagę kryteria MADRS/CGI remisji lub odpowiedzi terapeutycznej). Niemniej jednak powyższe wyniki można uznać za kolejny, obiecujący przykład efektywności antagonisty receptora NMDA w przypadkach niezadowolającej reakcji na dotychczasowe leczenie przeciwdepresyjne.

Jak do tej pory nie ustalono zależności pomiędzy poziomem cynku w surowicy, a jego koncentracją w poszczególnych strukturach mózgu. Interakcje, zachodzące w ośrodkowym układzie nerwowym pomiędzy cynkiem, a lekami przeciwdepresyjnymi, analizowane były jedynie na modelach zwierzęcych [243].

Badania przeprowadzone na szczurach pokazują, iż potencjalizacji efektu przeciwdepresyjnego obserwowanej po łącznym podawaniu imipraminy i wodorooasparagianu cynku towarzyszy spadek zarówno całkowitej zawartości cynku, jak i metabolitu imipraminy - dezipraminy w mózgu [350]. Z drugiej strony długotrwałe podawanie imipraminy lub citalopramu u szczurów wywołuje istotny, średnio 10% wzrost poziomu cynku w hipokampie oraz znaczący spadek koncentracji cynku w przodomózgowiu, korze i mózdzku [243]. Ponadto wielokrotnie podawana imipramina znacząco zmniejsza wartość IC_{50} hamowania przez cynk wiązania [3H] MK-801 do kanału jonowego receptora NMDA, co wskazuje na uwrażliwienie receptora NMDA na blokujące działanie cynku [243]. Zestawiając powyższe wyniki oraz ekstrapolując je z eksperymentalnego modelu zwierzęcego na sytuację kliniczną, można zakładać teoretycznie, że obserwowana w przypadku połączenia imipraminy z cynkiem potencjalizacja efektu przeciwdepresyjnego u pacjentów nie odpowiadających na wcześniejsze terapie, jest wynikiem redystrybucji cynku (oraz ewentualnie imipraminy) w obrębie centralnego systemu nerwowego oraz interakcji farmakodynamicznej pomiędzy imipraminą i cynkiem, zachodzącej pośrednio i/lub bezpośrednio na poziomie

receptora NMDA, a co za tym idzie - na poziomie regulacji układu aminokwasów pobudzających.

Jak wykazano w podrozdziale: „*Potencjalizacja farmakoterapii przeciwdepresyjnej przy pomocy preparatów nie będących lekami przeciwdepresyjnymi*”, zastosowanie antagonistów receptora NMDA w leczeniu depresji, w tym depresji lekoopornej jest metodą, której skuteczność pomimo znaczących podstaw teoretycznych oraz bardzo pozytywnych wyników obserwacji eksperymentalnych była jak do tej pory przedmiotem zaledwie kilku badań otwartych, obejmujących niewielkie grupy pacjentów. Badania te, dotyczyły przede wszystkim pacjentów lekoopornych. Dwa z nich wskazują na możliwość przełamania braku odpowiedzi na dotychczasowe leczenie po połączeniu antagonisty NMDA - amantadyny - z typowym lekiem przeciwdepresyjnym [123,124], a jedno z nich sugeruje możliwość uzyskania odpowiedzi terapeutycznej u pacjentów z wysokim stopniem lekooporności po zastosowaniu riluzolu w monoterapii [301].

Wyniki te, w zestawieniu z rezultatami prezentowanej pracy, wskazują na udział kompleksu receptora NMDA oraz układu glutaminianergicznego w patomechizmie braku odpowiedzi terapeutycznej oraz mogą stanowić uzasadnienie dalszych badań nad wykorzystaniem modulatorów receptora NMDA u pacjentów reagujących w niezadowalający sposób na dotychczasowe leczenie.

Jak do tej pory nie przedstawiano modelu teoretycznego depresji lekoopornej opartego o dysfunkcję układu glutaminianergicznego. Jednak omawiana w rozdziale „*Układ glutaminianergiczny i jego udział w patofizjologii i terapii depresji*” koncepcja, wiążąca etiologię depresji z zaburzeniami funkcji receptora NMDA i zaburzeniem transmisji w obrębie układu aminokwasów pobudzających, nie pozostaje w sprzeczności

z większością postulowanych do tej pory hipotez lekooporności, a nawet wydaje się integrować większość z nich.

Najczęściej wymienianymi i najlepiej udokumentowanymi koncepcjami biologicznymi depresji lekoopornej są: 1) zaburzenie funkcji układu serotonergicznego; 2) zaburzenia funkcji osi podwzgórze-przysadka-tarczyca; 3) zaburzenia osi: układ limbiczny-podwzgórze-przysadka-nadnercza (LPPN); 4) zaburzenie odczynowości immunologicznej z aktywacją chronicznej reakcji zapalnej i ewentualnym uruchomieniem procesów autoimmunizacji [375].

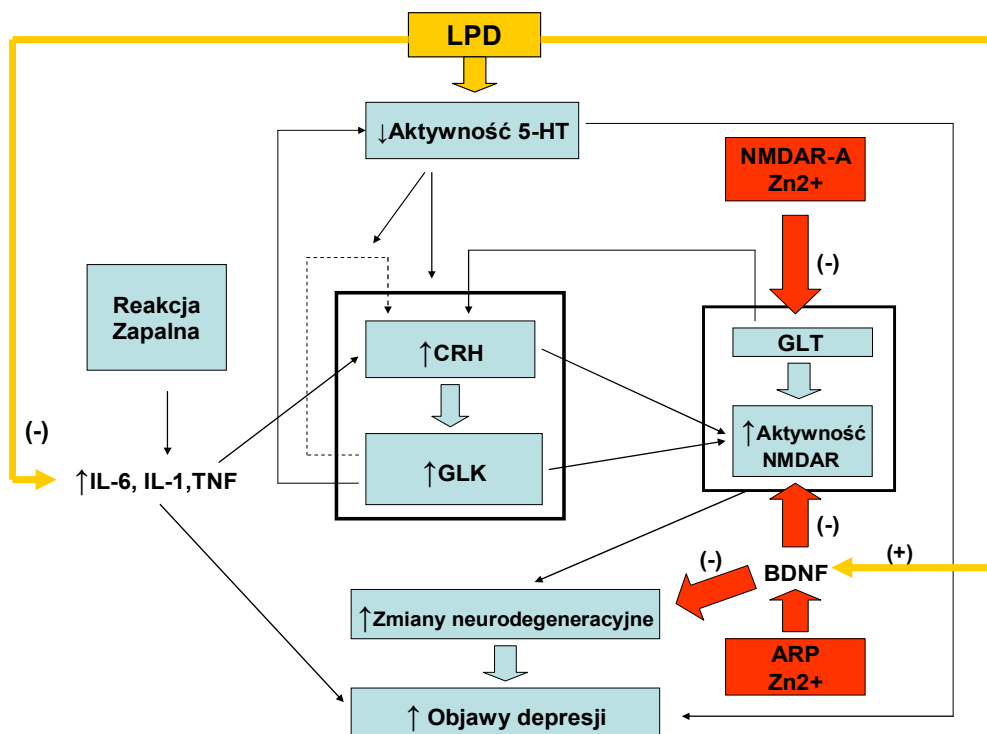
Dwie ostatnie koncepcje wydają się być ściśle ze sobą związane. Jak wynika zarówno z badań klinicznych jak i eksperymentalnych - obserwowane w depresji: nadmierna aktywność osi LPPN i aktywacja immunologiczna - mogą być indukowane przez działanie szeroko rozumianych czynników stresowych. Ponadto z całą pewnością IL-1, a prawdopodobnie również IL-6 i TNF α , których podwyższenie aktywności w osoczu jest typowym zjawiskiem wykazywanym w depresji - mają zdolność do stymulacji osi LPPN zarówno na poziomie podwzgórza jak i przysadki, a osoczowy poziom IL-2 i IL-6 jest w depresji pozytywnie skorelowany z poziomem kortyzolu [375-377]. Istnieją również wyraźne powiązania pomiędzy czynnością osi LPPN, a aktywnością układu serotonergicznego. Postuluje się między innymi, iż spadek tonicznej aktywności układu serotonergicznego w depresji jest czynnikiem wywołującym zmniejszenie ekspresji receptorów glukokortykoidowych, co ma skutkować zaburzeniem mechanizmów ujemnego sprzężenia zwrotnego w obrębie osi podwzgórze-przysadka-nadnercza. Z drugiej strony funkcja receptorów w 5-HT_{1A} w depresji wydaje się być osłabiona między innymi na skutek tonicznej blokady ze strony podwyższonego poziomu kortykosterydów. Zaburzona funkcja receptorów 5-HT_{1A},

które biorą udział w aktywacji osi stresu może przyczyniać się zwrotnie do powstawania lub utrwalania zaburzeń czynności osi LPPN [375, 378].

Jak wykazano we wstępie teoretycznym, istnieją wyraźne powiązania pomiędzy aktywnością HPA, a aktywnością układu glutaminianergicznego. Zarówno patologiczne działanie CRH w postaci wywoływania nadmiernego pobudzenia neuronów, jak i neurotoksyczne działanie glikokortykoidów - są mediowane za pośrednictwem receptora NMDA [206, 379]. Z badań eksperymentalnych poza tym wynika, iż glutaminian może nasilać sekrecję CRH, co teoretycznie przyczynia się do wzmacniania powyższych patologicznych zależności [380]. Z drugiej strony, zastosowanie antagonistów receptora NMDA zapobiega patologicznym efektom działania CRH i glikokortykoidów [206]. Można zatem wysunąć koncepcję, że zmiany neurodegeneracyjne, zachodzące w przebiegu depresji i wynikające z nich objawy depresyjne, są efektem nadmiernej aktywacji receptorów NMDA i związanej tym zaburzonej neurotransmisji glutaminianergicznej, mającej charakter pierwotny bądź wtórny w stosunku do nadmiernej aktywności osi LPPN, indukowanej stresem i/lub czynnikami zapalnymi i/lub zaburzeniami neurotransmisji serotoninowej. Można również teoretycznie założyć, iż w depresji lekoopornej wyżej wymienione procesy mają charakter szczególnie nasilony i/lub chroniczny, a działanie potencjalizujące cynku wiąże się z przerwaniem ww. zależności bezpośrednio na poziomie receptora NMDA lub na poziomie regulacji jego aktywności przez receptory AMPA i/lub glutaminianergiczne receptory metabotropowe (rysunek 32).

Kwestią otwartą pozostaje sugerowany przez wyniki prezentowanej pracy brak skuteczności potencjalizacyjnej cynku u pacjentów ze stopniem lekooporności =0. Wydaje się, że interpretacja tego zjawiska wymaga dalszych badań zarówno z

wykorzystaniem cynku, jak i innych pośrednich i bezpośrednich antagonistów kompleksu receptora NMDA u pacjentów nielekoopornych.



Rysunek 32. Model powiązania zjawisk patofizjologicznych wykrywanych w przebiegu depresji. **Objaśnienie skrótów:** ARP – potencjalizatory receptora AMPA, BDNF – *brain driven neurotropic factor*, CRH – kortykoliberyna, GLK – glikokortykoidy, GLT – glutaminian, IL- interleukiny, LPD – leki przeciwdepresyjne, NMDAR – receptor NMDA, NMDAR-A – antagoniści receptora NMDA, TNF – *tumor necrosis factor*, Zn2+ – jony cynkowe.

Cynk jako marker depresji

W ramach rozprawy „*Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej*” przeprowadzono pierwszą jak do tej pory obserwację zmian poziomu cynku w surowicy u pacjentów z rozpoznaniem depresji, otrzymujących jednorodne leczenie (imipramina + placebo lub imipramina + cynk). We wszystkich bowiem dotychczasowych badaniach analizowane grupy otrzymywały różnorodne leki przeciwdepresyjne, często mające odmienne mechanizmy działania, ponadto w dwóch badaniach część pacjentów poddana była również terapii kombinowanej (np. trazodon + pindolol, trazodon + fluoksetyna, fluoksetyna + mianseryna lub pindolol); [334, 335 339-341]. Poza tym prezentowana praca stanowi pierwszą analizę zmian poziomu cynku w surowicy u pacjentów poddanych suplementacji tym pierwiastkiem.

W przeciwieństwie do wcześniej przeprowadzonych badań europejskich, oznaczenia poziomu cynku w surowicy u pacjentów z rozpoznaniem depresji miały miejsce czterokrotnie w przebiegu długotrwałej – trzynastotygodniowej obserwacji. W badaniu McLoughlin’a i Hodge’a [334], Maesa z 1997 roku [340] i Schlegel-Zawadzkiej i wsp. [335] oznaczenia poziomu cynku przeprowadzono dwukrotnie (odpowiednio: na początku i na końcu badania). Co warto zaznaczyć, jedynie w badaniu Maesa i wsp. analiza stężeń cynku w depresji poprzedzona była podobnie jak w pracy „*Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej*” okresem *wash-out*.

Koleją odmiennością prezentowanej pracy w stosunku do wcześniej prowadzonych badań jest objęcie obserwacją wyłącznie pacjentów z rozpoznaniem choroby jednobiegunowej, kwalifikowanych według zaostrzonych kryteriów. W badaniu Schlegel-Zawadzkiej [335] kwalifikowano pacjentów spełniających kryteria

DSM depresji nawracającej, w pozostałych przypadkach kwalifikowani byli pacjenci z rozpoznaniem epizodu dużej depresji. Do jednego z badań włączano również osoby z rozpoznaniem dystymii.

Jedną z podstawowych obserwacji wynikających z analiz przeprowadzonych w pracy „*Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej*” jest fakt, iż:

- **W trakcie pełnoobjawowego epizodu depresji o nasileniu umiarkowanym lub ciężkim bez objawów psychotycznych (ICD-10) ma miejsce obniżenie poziomu cynku w surowicy do wartości znacząco niższych od wartości rejestrowanych u osób zdrowych, a obniżenie to wydaje się być niezależne od: płci, wieku, palenia papierosów, ilości lat jakie upłynęły od pierwszego epizodu choroby, wywiadu prób samobójczych, obciążenia rodzinnego depresją, jakości ostatniej remisji oraz nasilenia obecnego epizodu mierzonego skalami: CGI, BDI, HADRS i MADRS.**

Istotne w porównaniu do osób zdrowych obniżenie poziomu cynku w surowicy pacjentów z rozpoznaniem depresji zostało wcześniej wykazane w trzech badaniach przeprowadzonych przez Maesa i wsp.[339-341], a także w badaniu McLoughlin’a i Hodge’a [334] oraz Schlegel – Zawadzkiej i wsp. [335]. We wszystkich powyższych badaniach, podobnie jak w prezentowanej pracy, grupa zdrowych ochotników rekrutowana była spośród pracowników państwowych, w których prowadzona była obserwacja oraz rodzin tych pracowników. Grupy zdrowych ochotników nie różniły się od analizowanych populacji pacjentów pod względem proporcji mężczyzn i kobiet, a także średniej wieku.

Brak zależności pomiędzy stężeniem cynku, a płcią czy wiekiem u pacjentów z rozpoznaniem depresji, został stwierdzony również w większości wymienionych powyżej badań. Jedynie w badaniu Maesa i wsp. z 1997 roku [340] zaobserwowano słabą, istotną statystycznie, ujemną korelację (-0.31) pomiędzy stężeniem cynku a wiekiem. Natomiast w 1994 roku zespół pod kierownictwem Maesa zaobserwował nieco wyższe poziomy cynku u mężczyzn [339].

W badaniu Maesa i wsp. z 1997 [340], podobnie do prezentowanej pracy nie znaleziono zależności pomiędzy poziomem cynku w surowicy, a paleniem tytoniu, ilością lat jakie upłynęły od początku zachorowania na depresję, czy też ilością dotychczasowych epizodów choroby. W pozostałych wymienianych pracach nie analizowano tych zależności.

W żadnym do tej pory przeprowadzonym badaniu nie analizowano zależności pomiędzy początkowym, obniżonym poziomem cynku w surowicy, a obecnością objawów rezydualnych, obciążeniem rodzinnym depresją czy też wywiadem prób samobójczych.

Obserwowany w prezentowanej pracy brak zależności pomiędzy początkowym poziomem cynku w surowicy, a punktacją CGI-S, BDI, HDRS czy MADRS wskazujący na to, iż stopień obniżenia stężenia cynku w surowicy nie odzwierciedla nasilenia stanu depresyjnego - pozostaje w kontraście do wyników badań: Schlegel-Zawadzkiej i wsp. z 1999 roku [335] oraz Maesa i wsp. z roku 1994 [339]. W badaniach tych korelacja pomiędzy poziomem cynku, a punktacją w HDRS w dniu włączenia pacjentów do badania była istotna statystycznie i wynosiła odpowiednio: -0.30 ($p=0.03$) i -0.50 ($p=0.029$). Różnice te można jednak tłumaczyć po pierwsze faktem nieobecności w dwóch powyższych badaniach, w przeciwieństwie do prezentowanej pracy, pacjentów opornych na wcześniejsze terapie; tym bardziej, iż w badaniu Maesa i wsp. z 1997 roku

[340], w którym pacjenci z niezadowalającą odpowiedzią na co najmniej 1 dotychczasowe leczenie w obecnym epizodzie choroby stanowili około 80% badanej grupy (w tym 74% spełniających kryteria co najmniej 2. stopnia lekooporności wg Thase'a i Rush'a) - również nie wykazano zależności pomiędzy nasileniem depresji mierzonym Skalą Depresji Hamiltona, a poziomem cynku w ostrej fazie choroby. Jednak w związku z faktem, iż w powyższej rozprawie doktorskiej zależność pomiędzy nasileniem depresji mierzonym skalami CGI, BDI, HADSR i MADRS a wyjściowym poziomem cynku w surowicy nie została również wykazana dla podgrupy pacjentów ze stopniem lekooporności=0 wg kryterium Thase'a i Rush'a, powyższe wyjaśnienie wydaje się niepełne i niewystarczające.

Inną przyczyną braku korelacji pomiędzy początkowym, obniżonym stężeniem cynku w surowicy a punktacją BDI, CGI HADRS czy MADRS - może być fakt znacznego nasilenia depresji (średnio 23.7 ± 3.39 punktów w HDRS) oraz jego małego zróżnicowania w grupie pacjentów zakwalifikowanych do badania. Na początku obserwacji jedynie 17 pacjentów, tj. 28.3% oceniono w skali CGI-S jako umiarkowanie chorych (4 pkt.), a pozostałe 43 osoby (71.7%) uznane zostały za poważnie lub ciężko chore (5 lub 6 pkt. w skali CGI-S). Taka struktura nasilenia i zróżnicowania depresji kontrastuje z badaniami: Schelgel-Zawadzkiej i wsp. [334] i Maesa i wsp. [339]. W pierwszym z nich nasilenie depresji w grupie pacjentów było znacznie mniejsze (18.9 ± 5.3 pkt. w HDRS₁₇), a w badaniu Maesa i wsp. z 1994 roku, znalazło się: 16 osób (33.3%) z rozpoznaniem małej depresji lub dystymii (średnia punktacja HDRS₁₇: 13.2 ± 2.7), 14 (29.2%) osób z dużą depresją bez cech melancholicznych (średnia punktacja HDRS₁₇: 18.4 ± 2.6) i 18 (37.5%) pacjentów z rozpoznaniem dużej depresji z cechami melancholicznymi (25.1 ± 4.2 pkt. w HDRS₁₇).

Dotychczasowe badania pozwalają wykluczyć, iż znaczące obniżenie poziomu cynku we krwi jest efektem często spotykanych w depresji: hiperstymulacji osi przysadka – podwzgórze – nadnercza, czy też spadku apetytu z towarzyszącym spadkiem masy ciała.

Jak przedstawiono we wprowadzeniu teoretycznym niniejszej pracy, u pacjentów depresyjnych nie stwierdza się niedoborów żywieniowych o typie marazmu lub kwashiorkor, często mogących doprowadzać do niedoborów cynkowych [343]. Co więcej, osoby chorujące na depresję nie mają odmiennych od ludzi zdrowych zwyczajów żywieniowych i nie spożywają znacząco większej ilości substancji mogących upośledzać wchłanianie cynku z przewodu pokarmowego [344]. Warto również dodać, iż stężenie cynku we krwi nie pozostaje w prostej zależności z ilością i jakością spożywanych pokarmów, a niekiedy zależność ta wydaje się paradoksalna. Przykładowo w badaniach Couturier'a - pięciodniowa głódówka u zdrowych ochotników o prawidłowej masie ciała nie wpłynęła w istotny sposób na charakterystyczne dla tego pierwiastka dobowe fluktuacje poziomu we krwi, a trwająca dwa tygodnie głódówka terapeutyczna, wprowadzona w grupie otyłych, wiązała się ze znaczącym podwyższeniem cynkemie, obniżającej się do poziomu wyjściowego po ponownym wprowadzeniu posiłków [381]. Co również ciekawe, w badaniu Goode i wsp., eksperymentalna hiperalimentacja doustna lub dożylna, prowadzona u zdrowych ochotników, skutkowała obniżeniem poziomu cynku we krwi [382,383]. Poza tym w żadnym z dotychczasowych badań, analizujących poziom cynku we krwi u pacjentów z rozpoznaniem depresji, nie wykazano jego zależności od masy ciała czy jej ewentualnych fluktuacji [334, 335, 339-341].

Wydaje się, iż najbardziej prawdopodobną przyczyną spadku poziomu cynku we krwi w przebiegu epizodu depresyjnego jest aktywacja procesów zapalnych. Typowymi

jej oznakami obserwowanymi w największej ilości badań dotyczących depresji są: 1) wzrost poziomu cytokin pozapalnych IL-1 β , IL-6, INF γ , TNF α ; 2) spadek poziomu albuminy i transferyny (Tf); 3) wzrost współczynnika CD4⁺/CD8⁺; 4) spadek aktywności komórek NK; 5) wzrost poziomu pozytywnych białek ostrej fazy (głównie CRP i α 1-AG); 6) spadek odpowiedzi proliferacyjnej limfocytów na mitogen [164].

Jak wspomniano we wstępie teoretycznym prezentowanej pracy, poziom cynku w surowicy u pacjentów z rozpoznanym epizodem depresyjnym jest między innymi dodatnio skorelowany z poziomem: albuminy, Tf i DPP-IV oraz ujemnie skorelowany z aktywnością IL-6, neopteryny i współczynnikiem CD4/CD8. W związku z powyższym spadek stężenia cynku we krwi może być tłumaczony: 1) spadkiem, w trakcie epizodu depresji, poziomu jego głównego osoczowego nośnika – albuminy; 2) wzrostem aktywności IL-6 odpowiedzialnej za modyfikację ekspresji genów metalotionein oraz indukcję sekwestracji cynku z krwioobiegu do wątroby i śledziony [164].

Analizy przeprowadzone w ramach rozprawy: „Rola cynku w depresji jednobiegunowej” pokazują ponadto, iż:

- **W przebiegu ustępowania objawów depresyjnych odzwierciedlanego przez znaczącą redukcję punktacji BDI, CGI-S, HADRS i MADRS ma miejsce normalizacja poziomu cynku, tj. jego powrót do wartości porównywalnej z osobami zdrowymi;**
- **Poziom cynku w surowicy u nie otrzymujących tego pierwiastka pacjentów, którzy osiągnęli remisję (kryteria HADRS/CGI, MADRS /CGI lub BDI/CGI) lub odpowiedź terapeutyczną (według kryterium HADRS/CGI lub MADRS/CGI) nie różni się istotnie statystycznie od poziomu stwierdzanego u osób zdrowych i jest znacząco wyższy niż u pacjentów**

którzy nie spełnili kryteriów remisji (HADRS/CGI lub MADRS /CGI) lub odpowiedzi terapeutycznej (HADRS/CGI);

- **Nie istnieją różnice w zakresie wyjściowego poziomu cynku w surowicy odpowiednio pomiędzy pacjentami, którzy na końcu obserwacji: spełnili lub nie – kryteria remisji lub odpowiedzi terapeutycznej.**

W prezentowanym badaniu w całej grupie pacjentów, którzy nie otrzymywali cynku (grupa I), obserwowano powolny powrót poziomu tego pierwiastka do wartości porównywalnych z osobami zdrowymi. Jeszcze w szóstym tygodniu aktywnego leczenia stężenie cynku w surowicy było znacząco niższe od średnich wartości w grupie zdrowych ochotników, a normalizacja poziomu cynku została wykazana dopiero na końcu trzynastotygodniowej obserwacji. Jednak podział pacjentów na podgrupy, różniące się pod względem stopnia lekooporności wg kryterium Thase’a i Rush’a, wykazał odmienną dynamikę zmian stężeń cynku w surowicy w zależności od stopnia odpowiedzi na dotychczasowe leczenie. W podgrupie pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, podczas obecnego epizodu depresji nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny (podgrupa IA), normalizacja poziomu cynku została wykazana już w badaniu 3., tj. po 7 tygodniach od rozpoczęcia obserwacji i 6 tygodniach aktywnego leczenia i ponownie potwierdzona na końcu obserwacji. **W podgrupie pacjentów, którzy w dniu włączenia do badania nie odpowiadali na wcześniejsze adekwatne farmakoterapie (stopień lekooporności ≥ 1 wg Thase’a i Rush’a); (podgrupa IB) zarówno początkowy jak i końcowy poziom cynku był istotnie niższy w porównaniu do pacjentów ze stopniem lekooporności =0 i nie osiągnął poziomu porównywalnego z osobami zdrowymi, pomimo wyraźnej redukcji nasilenia depresji, przejawiającej się istotną statystycznie (w porównaniu**

do momentu rozpoczęcia badania) redukcją punktacji BDI, CGI-S, HADRS i MADRS.

Podobnie jak w prezentowanej pracy, w badaniach McLoughlin'a i Hodge'a [335] oraz Schlegel-Zawadzkiej i wsp. [334] na końcu obserwacji znacząca redukcja nasilenia depresji w badanych grupach pacjentów (odpowiednio $n=9$ i $n=19$), wyrażająca się istotną statystycznie redukcją punktacji BDI lub HDRS, wiązała się ze wzrostem średniego stężenia cynku w surowicy do wartości nie różniącej się od grup zdrowych ochotników. W badaniu Schlegel-Zawadzkiej i wsp. [335] wzrost poziomu cynku do wartości porównywalnej z osobami zdrowymi został zarejestrowany bardzo wcześnie - już po drugim tygodniu od rozpoczęcia obserwacji. Należy jednak zaznaczyć, że pacjenci włączani do tego badania nie przechodzili okresu *washout* i znajdowali się pod wpływem leczenia przeciwdepresyjnego (amitryptylina, imipramina, klomipramina), trwającego od 2 do 6 tygodni. Normalizacja poziomu cynku w badaniu Schlegel – Zawadzkiej i wsp., stwierdzana ponownie na końcu obserwacji, tj. po 6 tygodniach jej trwania, wydaje się odpowiadać wykazanej w pracy „*Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej*” normalizacji poziomu tego pierwiastka w surowicy po 6 tygodniach aktywnego leczenia (tj. po 7 tygodniach od początku obserwacji) stwierdzanej w podgrupie pacjentów ze stopniem lekooporności =0.

Jedynie w badaniu Maesa i wsp. z 1997 roku [340], na końcu pięcioletniej obserwacji średni poziom cynku we krwi u pacjentów był nadal znacząco niższy w porównaniu do osób zdrowych. Należy jednak zwrócić uwagę na krótki czas badania oraz podkreślaną już wcześniej wyraźną liczebną przewagę (80%) osób nie odpowiadających na wcześniejsze strategie farmakoterapeutyczne. Można zatem przyjąć, iż obserwacje poczynione w ramach badania „*Rola cynku w terapii depresji*

jednobiegunowej” nie są sprzeczne z wynikami uzyskanymi przez Maesa i wsp., a analiza stężeń cynku - przeprowadzona w podgrupie pacjentów, nie odpowiadających na conajmniej jedną dotychczasową, adekwatną farmakoterpię wydaje się nawet te wyniki potwierdzać.

Spośród wymienianych powyżej badań w żadnym z nich nie przeprowadzono porównań poziomów cynku pomiędzy pacjentami, którzy osiągnęli i nie osiągnęli remisji. Tak więc wykazany w pracy „*Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej*” brak normalizacji poziomu cynku w surowicy u pacjentów nie osiągających remisji, stanowi pierwsze tego typu doniesienie wymagające zatem potwierdzenia w kolejnych badaniach.

Jedynie w badaniu Maesa i wsp. z 1997 roku [340] przeprowadzono analizę stężeń cynku u pacjentów spełniających i nie spełniających kryteriów odpowiedzi terapeutycznej, nie stwierdzając jednak istotnych statystycznie różnic pomiędzy nimi.

Zmiany poziomu cynku, zachodzące w przebiegu terapii przeciwdepresyjnej oraz różnice w zakresie poziomów tego pierwiastka wykazane pomiędzy pacjentami odpowiadającymi lub nie na zastosowane leczenie również można interpretować jako związane z procesami immunologicznymi, zachodzącymi w depresji.

W dotychczasowych badaniach klinicznych stwierdzano, świadcząc o wygasaniu lub zmniejszaniu się nasilenia reakcji zapalnej w trakcie ustępowania ostrych objawów depresji, normalizację aktywności: PMNE, TNF α i CRP [164, 168]. Badania *in vitro* pokazują natomiast, iż leki przeciwdepresyjne o różnych mechanizmach działania (TCA, SSRI, wenlafaksyna, moklobemid, trazodon) oraz lit, powodują spadek wartości osocznego współczynnika INF γ /IL-10 na drodze hamowania syntezy prozapalnego INF γ i/lub indukcji syntezy antyzapalnej IL-10 [384]. Co jeszcze bardziej istotne, w badaniu Służewskiej i wsp. z 1994 roku, stwierdzano w ostrej fazie

depresyjnej znaczący wzrost poziomu IL-6 w surowicy ulegał normalizacji po ośmiotygodniowej, skutecznej terapii fluoksetyną (cytat za: Służewska i wsp. 1996 [165]). Podobne wyniki uzyskali Basterzi i wsp. obserwując znaczący spadek osocznego poziomu IL-6 po 6 tygodniach trapi przy pomocy leków z grupy SSRI [385].

Można więc wnioskować, iż wykazana u pacjentów ze stopniem lekooporności wg kryteriów Thase'a i Rush'a =0 normalizacja poziomu cynku w surowicy jest wynikiem zachodzącego w trakcie ustępowania epizodu depresyjnego, wygasania procesów zapalnych ze szczególnym uwzględnieniem spadku aktywności IL-6.

Z drugiej strony brak normalizacji poziomu cynku w surowicy u nieotrzymujących cynku pacjentów, którzy nie osiągnęli remisji lub odpowiedzi terapeutycznej, może być tłumaczony brakiem wygasania procesów patofizjologicznych, towarzyszących ostremu epizodowi choroby, w tym pojawiającej się w trakcie epizodu aktywacji immunologicznej i reakcji zapalnej. Dowodem na utrzymywanie się, a nawet nasilanie reakcji zapalnej w przypadku nieefektywnego leczenia przeciwdepresyjnego, może być badanie Nieto i wsp. [167], w którym brak odpowiedzi terapeutycznej po sześciotygodniowej terapii imipraminą wiązał się ze wzrostem aktywności α 1-kwaśnej glikoproteiny w osoczu pacjentów z rozpoznaniem dużej depresji.

Tak dalekie interpretację należy jednak traktować z ostrożnością choćby ze względu na to, iż w świetle nielicznych jak na razie i niekiedy sprzecznych badań nie wszystkie markery stanu zapalnego (np. sIL-6R, sIL-2R, TfR, IL-1) ulegają zawsze normalizacji w przebiegu kilkutygodniowej, skutecznej farmakoterapii przeciwdepresyjnej [163]. Nie prowadzono natomiast badań dotyczących zmian

aktywności układu immunologicznego po długotrwałym – wielotygodniowym czy wielomiesięcznym – podawaniu leków przeciwdepresyjnych.

Brak normalizacji poziomu cynku u nieotrzymujących go pacjentów, którzy nie odpowiadali na dotychczasowe leczenie prowadzone przed włączeniem do badania oraz u pacjentów, którzy w trakcie obserwacji w ramach prezentowanej pracy nie osiągnęli remisji wg kryteriów HADRS/CGI lub MADRS/CGI czy też osób, które nie spełniły kryteriów MADRS/CGI odpowiedzi terapeutycznej - również może być tłumaczony rezultatami badań dotyczących markerów immunologicznych w depresji lekoopornej. W badaniach tych pozostające w korelacji z poziomem cynku w surowicy i podwyższone w ostrej fazie choroby: współczynnik CD4/CD8 i poziom neopteryny, oraz obniżony poziom transferyny i DPP IV nie ulegały normalizacji po trwającej 5 tygodni terapii przeciwdepresyjnej, pomimo znaczącej redukcji nasilenia depresji[340, 386, 387]. Za Maesem i Nowakiem można zatem przyjąć, iż zjawisko braku odpowiedzi na leczenie, w tym lekooporności w depresji, wiąże się z chronicznym lub subchronicznym utrzymywaniem się procesów zapalnych angażujących jony cynkowe znajdujące się we krwi [340, 388].

Znaczące - w porównaniu do osób zdrowych - obniżenie poziomu cynku w surowicy w okresie pełnoobjawowego epizodu depresji oraz normalizacja cynkemieii w przebiegu skutecznej farmakoterapii, wskazują na to, iż zmiany stężenia cynku w surowicy mogą stanowić marker obecności stanu depresyjnego oraz jego ustępowania.

Nie można natomiast jednoznacznie stwierdzić, że brak normalizacji poziomu cynku, wykazany: 1) w prezentowanej pracy w podgrupie nie otrzymujących cynku pacjentów, którzy przed włączeniem do badania nie odpowiedzieli na co najmniej 1 adekwatną terapię; 2) stwierdzany w badaniu Maesa i wsp., dotyczącym w

przeważającej ilości pacjentów lekoopornych - wskazuje na to, iż obniżenie poziomu cynku w surowicy jest markerem lekooporności jako stałej cechy. Liczebność podgrupy pacjentów nie odpowiadających na co najmniej 1 terapię i nieotrzymujących cynku, objętych obserwacją w ramach pracy „Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej”- była zbyt mała, aby dokonać rzetelnego porównania końcowych poziomów cynku pomiędzy należącymi do tej podgrupy osobami spełniającymi i nie spełniającymi kryteriów odpowiedzi lub remisji. W badaniu Maesa natomiast, pacjenci otrzymywali zróżnicowane leczenie, a zbyt krótki czas obserwacji (5 tygodni) mógł się okazać niewystarczający do uchwycenia ewentualnych zmian poziomu cynku. Stosunkowo krótki czas obserwacji ogranicza również wnioskowanie wynikające z przytoczonych powyżej badań Maesa, wskazujących na brak normalizacji markerów immunologicznych w depresji lekoopornej.

Jak sugerowano powyżej, większe u pacjentów lekoopornych nasilenie angażujących jony cynkowe procesów zapalnych może wskazywać, iż procesy te wymagają znacznie dłuższego - w porównaniu do pacjentów nielekoopornych - czasu potrzebnego do wygaśnięcia. Zatem do momentu przeprowadzenia badań - analizujących stężenie cynku oraz aktywność markerów immunologicznych w depresji lekoopornej po wielu miesiącach od rozpoczęcia skutecznego leczenia - nie można rozstrzygnąć, czy reakcja zapalna i wtórne do niej zmiany są cechą stałą stanu lekooporności, czy też wygasają one po dłuższym niż w przypadku braku lekooporności czasie.

Kolejnymi obserwacjami wynikającymi z przeprowadzonych w ramach pracy „Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej” analiz są:

- **Znacznego stopnia ujemna korelacja, pomiędzy poziomem cynku w surowicy w pełnoobjawowej fazie choroby (badanie 1.), a stopniem lekooporności wg klasyfikacji Thase’a i Rush’a w aktualnym epizodzie choroby, mogąca wskazywać na to, iż poziom cynku w surowicy odzwierciedla nasilenie stanu lekooporności;**
- **Znacznego stopnia korelacja stężenia cynku we krwi w dniu włączenia do badania z czasem trwania obecnego epizodu, dotycząca wyłącznie pacjentów ze stopniem lekooporności=0 wg kryteriów Thase’a i Rush’a.**

Wyniki te wydają się potwierdzać obserwacje Maesa i wsp. z 1997 roku [340] – tj. jedyne do tej pory badania analizujące zależności pomiędzy wyżej wymienionymi zmiennymi. Maes i wsp. wykazali nieco niższą korelację, wynoszącą: -0.44 ($p < 0.05$) pomiędzy poziomem cynku w pełnoobjawowym epizodzie depresji, a stopniem lekooporności wg Thase’a i Rush’a. Nie znaleźli oni natomiast istotnej korelacji pomiędzy czasem trwania epizodu, a stężeniem cynku. Należy jednak ponownie podkreślić, iż w badaniu tym przeważającą większość stanowili pacjenci z co najmniej pierwszym stopniem lekooporności wg Thase’a i Rush’a (80%), tj. pacjenci, u których również w prezentowanej rozprawie nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy poziomem cynku, a czasem trwania aktualnego epizodu depresji.

Ujemna korelacja pomiędzy stopniem lekooporności wg Thase’a i Rush’a a poziomem cynku w surowicy może być tłumaczona stanem bardziej nasilonej aktywacji układu immunologicznego, czego przykładem mogą być wyniki badania Służewskiej i

wsp., w którym w grupie pacjentów lekoopornych wykazano istotnie wyższe niż w grupie pacjentów bez cech lekooporności: stężenia białek ostrej fazy: AGP i CRP, wyższą monocytosę, a przede wszystkim większą aktywność IL-6 (cytat za: Suwalska i wsp. [375]).

W świetle przytoczonych badań oraz interpretacji, stwierdzana w prezentowanej pracy ujemna korelacja pomiędzy czasem trwania obecnego epizodu a poziomem cynku w surowicy, dotycząca wyłącznie pacjentów w aktualnym epizodzie choroby nie leczonych lub leczonych w sposób nieadekwatny, może być rozumiana jako odzwierciedlenie narastania (w miarę trwania epizodu choroby) reakcji zapalnej, angażującej znajdujące się w surowicy jony cynkowe i mogącej relatywnie szybko wygasnąć w przypadku skutecznej terapii przeciwdepresyjnej. Świadczy o tym fakt normalizacji poziomu cynku obserwowany w tej podgrupie pacjentów w miarę zmniejszania się nasilenia objawów depresyjnych.

Można przypuszczać, iż brak zależności - poziom cynku/czas trwania epizodu - stwierdzany u pacjentów nie odpowiadających na 1 lub więcej dotychczasowych terapii jest efektem ustalenia się po dłuższym czasie trwania niewyleczonego epizodu depresji, pewnego wysokiego i względnie stałego poziomu nasilenia reakcji zapalnej, której ewentualne wygasanie ma charakter długotrwały lub nie następuje.

Obserwacje przeprowadzone w ramach badania „Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej” w grupie pacjentów otrzymujących cynk (grupa II omawianej pracy) wskazują, iż podawanie go u osób spełniających kryteria stopnia 0 wg Thase’a i Rush’a (podgrupa IIA) wiąże się z szybkim, stwierdzanym już po dwóch tygodniach wzrostem jego poziomu do wartości porównywalnej do osób zdrowych. W podgrupie IIB - pacjentów nie odpowiadających na co najmniej

jedną dotychczasową terapię , po dwóch tygodniach podawania cynku zanotowano znaczący w porównaniu do początkowego wzrost jego poziomu, którego normalizacja została jednak stwierdzona dopiero po szóstym tygodniu podawania.

Nie można oczywiście jednoznacznie rozstrzygnąć, na ile normalizacja poziomu cynku w surowicy u pacjentów, ze stopniem lekooporności ≥ 1 (wg kryteriów Rush'a i Thase'a), należących do grupy IIB, jest wynikiem samego podawania cynku, a na ile jest związana ze znaczącym odsetkiem osób, które odpowiedziały pozytywnie na terapię oraz osiągnęły remisję.

Jak już wspomniano, dynamika zmian poziomu cynku w surowicy w trakcie suplementacji tym pierwiastkiem u osób z rozpoznaniem epizodu depresji nie była do tej pory przedmiotem badań klinicznych, w związku z powyższym przedstawione wyniki obserwacji wymagają dalszych potwierdzeń w kolejnych badaniach. Można jednak wnioskować, iż fakt bardzo powolnej normalizacji poziomu cynku u otrzymujących ten pierwiastek pacjentów nieodpowiadających na dotychczasowe terapie - pomimo dużego w tej grupie odsetka osób, które spełniły kryteria odpowiedzi terapeutycznej lub remisji - stanowi kolejny dowód świadczący o znacznym nasileniu i długotrwałości, towarzyszących lekooporności procesów immunologicznych oraz o powolności ewentualnego procesu ich wygasania.

Wnioski

1. Dodanie wodorooasparaginianu cynku do imipraminy może w sposób zróżnicowany wpłynąć na skuteczność leczenia przeciwdepresyjnego w zależności od obecności historii braku odpowiedzi na wcześniejsze farmakoterapie zastosowane w obecnym epizodzie choroby. Wykazano bowiem, iż u pacjentów nie wykazujących cech oporności na uprzednie leczenie aktualnego epizodu depresji wodorooasparaginian cynku nie przyspiesza i nie potencjalizuje działania imipraminy. Natomiast dodanie wodorooasparaginianu cynku do imipraminy u pacjentów nie odpowiadających na co najmniej jedną dotychczasową, adekwatną farmakoterapię prowadzoną w trakcie aktualnego epizodu depresji wiąże się z przyspieszeniem i potencjalizacją działania imipraminy, co przejawia się większą w porównaniu do monoterapii imipraminą redukcją nasilenia depresji, wcześniejszym wystąpieniem remisji oraz większym wskaźnikiem odpowiedzi terapeutycznych na końcu zastosowanego leczenia.
2. Poziom cynku w surowicy pacjentów, którzy podczas obecnego epizodu depresji nie wykazywali cech oporności na uprzednie leczenie, odzwierciedla obecność stanu depresyjnego i jego ustępowanie. W tej grupie pacjentów, stężenie cynku w surowicy w okresie ostrych objawów depresyjnych było znacząco niższe od stężenia rejestrowanego u osób zdrowych. W miarę ustępowania objawów depresyjnych znacząco wzrastało, a w przypadku wystąpienia odpowiedzi terapeutycznej lub remisji osiągało wartości porównywalne do osób zdrowych. Natomiast stężenie cynku w surowicy u pacjentów, którzy nie odpowiedzieli na zastosowane leczenie nie różniło się istotnie od poziomu wyjściowego, lub w przebiegu leczenia nieznacznie wzrastało i nie ulegało normalizacji.

3. U pacjentów z historią braku odpowiedzi na dotychczasowe adekwatne farmakoterapie prowadzone w obecnym epizodzie depresji, poziom cynku w surowicy odzwierciedla obecność stanu depresyjnego oraz nasilenie lekooporności mierzone z zastosowaniem sześciostopniowego kryterium Thase'a i Rush'a; nie obrazuje jednak redukcji nasilenia objawów depresyjnych zachodzącej w przebiegu leczenia. W tej grupie pacjentów poziom cynku w surowicy nie uległ normalizacji podczas trwającego 12 tygodni leczenia przeciwdepresyjnego, pomimo znaczącej redukcji nasilenia depresji.
4. Poziom cynku w surowicy nie koreluje z nasileniem objawów depresji, mierzonych Inwentarzem Depresji Becka, Skalą Ogólnego Wrażenia Klinicznego, Skalą Depresji Hamiltona, Skalą Depresji Montgomery – Asberg.
5. Na podstawie pomiarów stężenia cynku w surowicy, prowadzonych w okresie ostrych objawów choroby nie można prognozować odpowiedzi na zastosowane leczenie, nie wykazuje się bowiem różnic w zakresie wyjściowego poziomu cynku w surowicy odpowiednio pomiędzy pacjentami, którzy po zastosowanym następnie leczeniu przeciwdepresyjnym spełnili lub nie kryteria odpowiedzi terapeutycznej lub kryteria remisji.

Streszczenie

Zarówno stosowane obecnie farmakologiczne metody leczenia depresji jak i strategie, mające na celu zwiększenie ich efektywności dają, niezadowalające rezultaty, Istnieje zatem konieczność poszukiwania nowych leków przeciwdepresyjnych oraz badania nowych strategii potencjalizacji i akceleracji leczenia przeciwdepresyjnego.

Rosnąca liczba doniesień wskazuje na powiązanie patogenezy depresji z zaburzeniami czynności układu glutaminianergicznego, ze szczególnym uwzględnieniem nadmiernej aktywacji receptora NMDA. Ponadto, jak wynika przede wszystkim z badań doświadczalnych oraz pojedynczych obserwacji klinicznych - substancje hamujące w sposób pośredni lub bezpośredni aktywność receptora NMDA charakteryzują się znaczącym potencjałem przeciwdepresyjnym i zdolnością do wzmacniania działania klasycznych leków przeciwdepresyjnych. Jednym z najważniejszych modulatorów aktywności receptora NMDA jest cynk, który w zwierzęcych modelach depresji wykazuje samodzielną aktywność przeciwdepresyjną oraz zdolność do wzmacniania działania imipraminy i citalopramu. Dane te uzasadniają koncepcję zbadania w fazie klinicznej, zdolności cynku do potencjalizacji leczenia przeciwdepresyjnego.

Kolejnym problemem dotyczącym badań na zaburzeniami afektywnymi jest fakt, że do tej pory nie znaleziono markerów biologicznych, które w codziennej praktyce klinicznej mogłyby sygnalizować o ryzyku rozwoju depresji czy zagrożeniu nawrotem choroby, pozwalałyby na oszacowanie stopnia odpowiedzi na leczenie i informowałyby o zjawisku lekooporności. Dotychczasowe badania na zwierzętach oraz badania kliniczne (przeprowadzone między innymi w Klinice Psychiatrii Dorosłych CM UJ) sugerują, że cynk może spełniać rolę takiego markera.

Podstawowymi celami badawczymi niniejszej rozprawy były: 1) próba klinicznej oceny zdolności, podawanego doustnie, wodorooasparaginianu cynku do przyspieszania odpowiedzi oraz potencjalizacji efektów typowego leczenia przeciwdepresyjnego (imipramina); 2) zbadanie roli cynku surowicowego w charakterze markera depresji i markera odpowiedzi na leczenie lub jej braku.

Realizacja pierwszego celu badawczego oparta została o badanie randomizowane, z podwójnie ślepą próbą i kontrolą placebo. Do badania zakwalifikowano 60 pacjentów obojga płci, w wieku 18 – 55 lat, z rozpoznaniem choroby afektywnej jednobiegunowej (depresja nawracająca), spełniających kryteria ICD-10 – epizodu depresji o nasileniu umiarkowanym lub ciężkim (bez objawów psychotycznych), leczonych w Poradni Leczenia chorób Afektywnych lub Oddziale Leczenia Depresji Kliniki Psychiatrii Dorosłych, Katedry Psychiatrii Szpitala Uniwersyteckiego Collegium Medicum UJ. Warunkiem koniecznym zakwalifikowania było ponadto podpisanie świadomej, pisemnej zgody. Pacjentów zrandomizowano do dwóch grup o jednakowej liczebności, otrzymujących przez okres 12 tygodni imipraminę (dawka dobową 100 – 200 mg): **grupa I** (n=30)- dodatkowo otrzymująca placebo, raz dziennie, w postaci jednej tabletki, rano; **grupa II** (n=30)- dodatkowo otrzymująca preparat, zawierający standardową dawkę suplementacyjną cynku, przyjmowaną w postaci jednej tabletki, rano (Zincas Forte, Farmapol Poznań, 0.15g wodorooasparaginianu cynku –tj. 0.025 g jonów Zn^{2+}). Stan psychiczny pacjentów, oceniany był - za pomocą: Inwentarza Depresji Becka (BDI), Skali Ogólnego Wrażenia Klinicznego (CGI), Skali Depresji Hamiltona (HDRS) i Skali Depresji Montgomery-Asberg (MADRS) – czterokrotnie, tj.: w dniu włączenia do badania; następnie: po 2, 6 i 12 tygodniach od momentu rozpoczęcia aktywnego leczenia. Część pacjentów rekrutowanych do badania stanowiły osoby nie reagujące na wcześniejsze

farmakoterapie stosowane w trakcie aktualnie trwającego epizodu depresji. Celem oceny nasilenia lekooporności posłużono się 6 stopniową skalą lekooporności wg kryteriów Thase'a i Rush'a. Odpowiedź terapeutyczną definiowano jako: stan wyraźnej lub bardzo dobrej poprawy w skali CGI-I + co najmniej 50% redukcja punktacji HDRS (kryterium HDRS/CGI) lub MADRS (kryterium MADRS/CGI) w stosunku do pomiaru wyjściowego. Remisję zdefiniowano jako: stan bardzo znacznej poprawy w skali CGI + punktacja HDRS₁₇ ≤ 7 (kryterium HDRS/CGI) lub punktacja MADRS ≤ 10 (kryterium MADRS/CGI) lub punktacja BDI ≤ 9 (kryterium BDI/CGI).

W ramach realizacji drugiego celu badawczego od każdego z pacjentów pobrano czterokrotnie krew (w dniu włączenia do badania, a następnie 2, 6 i 12 tygodni od rozpoczęcia aktywnego leczenia) na oznaczenie stężenia cynku w surowicy. Wyniki te zostały porównane ze stężeniami cynku w surowicy, oznaczonymi jednorazowo w 25 osobowej grupie zdrowych ochotników. Do grupy zdrowych ochotników rekrutowano kobiety i mężczyzn, w wieku 18 – 55 lat, z ujemnym wywiadem dotyczącym: chorób psychicznych i obciążenia rodzinnego depresją.

Do końca obserwacji pozostało 52 pacjentów (27 osób w grupie II i 25 osób w grupie I). Pozostałe 8 osób wykluczono z badania przed jego zakończeniem z powodu: nasilonych objawów ubocznych leczenia imipraminą, pogorszenia stanu psychicznego lub niestosowania się do protokołu badania. Połączenie imipraminy i cynku, okazało się być bezpieczne i dobrze tolerowane, a dodanie cynku do imipraminy wydało się nie pogarszać ani nie poprawiać jej tolerancji. Pomiedzy całymi grupami I i II nie wykazano żadnych istotnych statystycznie różnic w zakresie: redukcji nasilenia depresji, wskaźników odpowiedzi terapeutycznej i remisji, zarówno po 2 i 6 tygodniach od rozpoczęcia aktywnego leczenia jak i na końcu obserwacji. Podobne wyniki uzyskano porównując wydzielone podgrupy pacjentów, którzy przed włączeniem do badania,

podczas obecnego epizodu choroby nie byli jeszcze leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny, (tj. osoby ze stopniem lekooporności = 0, wg kryterium Thase'a i Rush'a); otrzymujących imipraminę z cynkiem (n=17) lub imipraminę + placebo (n=19). Porównanie przeprowadzone pomiędzy wydzielonymi następnie podgrupami pacjentów nieodpowiadających na co najmniej 1 dotychczasową adekwatną farmakoterapię prowadzoną przed włączeniem do badania (stopień lekooporności ≥ 1 wg kryteriów Rush'a i Thase'a), dało odmienne rezultaty: u pacjentów otrzymujących imipraminę w połączeniu z cynkiem (n=13) w porównaniu do pacjentów otrzymujących imipraminę + placebo (n=11), wykazano: 1) istotnie większą redukcję nasilenia depresji po 6 tygodniach aktywnego leczenia (CGI, BDI, HADRS i MADRS) i na końcu obserwacji (BDI, HADRS i MADRS); 2) istotnie wyższe wskaźniki odpowiedzi terapeutycznej (wg kryteriów MADRS/CGI) po sześciu tygodniach aktywnego leczenia i na końcu obserwacji; 3) wyższy odsetek osób, które osiągnęły remisję (kryterium MADRS/CGI) po sześciu tygodniach aktywnego leczenia.

Analiza stężeń cynku w surowicy wykazała, iż: 1) w dniu włączenia do badania średnie stężenie cynku w surowicy w całej populacji pacjentów było istotnie niższe od wartości rejestrowanej w grupie zdrowych ochotników; 2) stężenie cynku w surowicy u pacjentów ze stopniem lekooporności = 0 było ujemnie skorelowane z czasem trwania aktualnego epizodu choroby, zależności takiej nie wykazano w podgrupach pacjentów ze stopniami lekooporności wg kryteriów Rush'a i Thase'a = 1, 2 lub ≥ 1 ; 3) poziom cynku w surowicy w dniu włączenia do badania był ujemnie skorelowany z nasileniem lekooporności wg kryteriów Rush'a i Thase'a; 4) Poziom cynku w surowicy u nie otrzymujących go pacjentów, którzy na końcu badania osiągnęli remisję (kryteria HADRS/CGI, MADRS/CGI lub BDI/CGI) lub odpowiedź terapeutyczną (według kryterium HADRS/CGI lub MADRS/CGI) nie różnił się istotnie statystycznie od

poziomu stwierdzanego u osób zdrowych i był znacząco wyższy niż u pacjentów którzy nie spełnili kryteriów remisji (HADRS/CGI lub MADRS /CGI) lub odpowiedzi terapeutycznej (HADRS/CGI); 5) nie wykazano istotnych różnic w zakresie poziomu cynku oznaczonego w dniu włączenia do badania pomiędzy pacjentami, którzy na końcu obserwacji: spełnili lub nie – kryteria remisji lub odpowiedzi terapeutycznej; 6) w podgrupie nie otrzymujących cynku pacjentów, którzy przed włączeniem do badania, w obecnym epizodzie choroby, nie odpowiedzieli na co najmniej jedną adekwatną strategię farmakoterapeutyczną, poziom cynku na końcu badania był istotnie niższy w porównaniu do pacjentów, którzy przed włączeniem do badania nie byli leczeni lub byli leczeni w sposób nieadekwatny (stopień lekooporności =0 wg. Thase'a i Rush'a) i nie osiągnął poziomu porównywalnego z osobami zdrowymi, pomimo istotnej redukcji nasilenia depresji; 7) Nie wykazano zależności pomiędzy nasileniem objawów depresyjnych mierzonym Inwentarzem Becka lub skalami CGI, HADRS, MADRS; 8) W grupie pacjentów otrzymujących cynk, na końcu obserwacji nie wykazano istotnych statystycznie różnic w średnim stężeniu cynku w surowicy pomiędzy pacjentami, którzy przed włączeniem do badania nie byli leczeni lub leczeni byli w sposób nieadekwatny a osobami nie odpowiadającymi na dotychczasowe, adekwatne farmakoterapie; 8) w grupie pacjentów otrzymujących cynk, na końcu obserwacji nie wykazano istotnych statystycznie różnic w średnim stężeniu cynku w surowicy pomiędzy pacjentami którzy spełnili i nie spełnili kryteriów odpowiedzi terapeutycznej oraz pacjentami którzy osiągnęli i nie osiągnęli remisji.

Uzyskane wyniki wskazują, że: 1) dodanie cynku do imipraminy nie wpływa w istotny sposób na skuteczność leczenia przeciwdepresyjnego u pacjentów, u których nie stwierdza się braku odpowiedzi na dotychczasową farmakoterapię przeciwdepresyjną prowadzoną w aktualnym epizodzie choroby; 2) połączenie imipraminy cynkiem w

porównaniu do monoterapii imipraminą u pacjentów nie odpowiadających na dotychczasowe leczenie może zwiększyć szansę na uzyskanie odpowiedzi na leczenie oraz wcześniejsze osiągnięcie remisji. Może to wskazywać na udział kompleksu receptora NMDA oraz układu glutaminianergicznego w patomechaniźmie lekooporności;

3) Poziom cynku w surowicy rejestrowany w przebiegu depresji odzwierciedla obecność stanu depresyjnego i jego ustępowanie; nie odzwierciedla natomiast nasilenia objawów depresji;

4) Poziom cynku w surowicy rejestrowany w okresie ostrych objawów depresyjnych u pacjentów opornych na dotychczasowe leczenie, odzwierciedla stopień lekooporności, wyznaczany według kryteriów lekooporności Thase’a i Rush’a;

5) Na podstawie pomiarów stężenia cynku w surowicy, prowadzonych w okresie ostrych objawów choroby nie można prognozować odpowiedzi na zastosowane leczenie.

Summary

Background: One of the main problems in the therapy of depression is the unsatisfactory efficacy of antidepressants and the problematic usefulness of augmentation strategies prompting further research concerning a new class of antidepressant agents and new methods of treatment enhancement. The next important problem in clinical practice is the lack of markers indicating: the acute state of depression, the drug resistance or helpful in foreseeing the therapeutic response.

A growing body of evidence suggest, that disturbances of glutamatergic transmission (especially NMDA-receptor overactivation) are involved in the pathogenesis of mood disorders. Direct and indirect NMDA receptor antagonists exhibit antidepressant-like effects in animal models of depression in rodents. Moreover, there are some clinical reports suggesting augmentation of antidepressant therapy by NMDA receptor antagonists (e.g. amantadine, riluzole) in refractory depression. Zinc is an important modulator of glutamatergic transmission. The main activity of zinc in the glutamatergic system is an attenuation of NMDA receptor function – directly or via modulation of AMPA receptors and metabotropic glutamate receptors. Preclinical studies demonstrated the antidepressant – like effects of zinc administration in animal models/tests of depression. Recent data has revealed, that zinc enhances the antidepressant effect of citalopram or imipramine in laboratory animals. These data suggest the possibility of increasing efficacy of antidepressant therapy by zinc supplementation in human depression. Moreover some clinical investigations pointed to alterations of blood zinc level as a potential marker of depression.

Objectives: 1) to assess the efficacy of zinc supplementation in the hastening and augmentation of the response to imipramine, 2) to assess if the serum zinc is a state or trait marker of depression and drug resistance.

Methods and Materials: A placebo-controlled, double blind study of zinc supplementation in antidepressant therapy was conducted in sixty, 18-55-year old, unipolar depressed patients fulfilling the ICD-10 criteria for a moderate or severe depressive episode without psychotic symptoms. Some of the patients entering the trial were treatment nonresponders. The study was approved by the Ethical Committee of the Collegium Medicum of the Jagiellonian University. Informed consent was obtained from all participants. After a one week washout period, patients were randomized into two groups treated with imipramine (100-200 mg daily) and receiving once daily either zinc supplementation (group II; n=30; zinc hydroaspartate - 0.15 g (25 mg of Zn²⁺), Zincas Forte, Farmapol Poznań, Poland) or placebo (group I; n=30), for 12 weeks. The efficacy of antidepressant therapy, and the psychopathological status were assessed by: Beck Depression Inventory (BDI), Hamilton Depression Rating Scale (HDRS), Montgomery Asberg Depression Rating Scale (MADRS) and Clinical Global Impression Scale (CGI), the day before the treatment and 2, 6 and 12 weeks after its commencement. A therapeutic response was defined as: “much” or “very much improved” in CGI scale plus at least 50% reduction in MADRS (MADRS/CGI criteria) scores or HDRS scores (HDRS/CGI criteria). Remission was defined as: “very much improved” in CGI scale plus ≤ 10 scores in MADRS (MADRS/CGI criteria) or ≤ 7 scores in HDRS (HDRS/CGI criteria) or ≤ 9 scores in BDI (BDI/CGI criteria). Staging of depression based on prior treatment response was made according to 6-grade treatment resistant criteria by Thase and Rush.

According to the second objective of the study, a group of 25 healthy volunteers (normal controls) was recruited. The normal controls (18 – 55 years old) were free of mental disorders and had no family history of depression or mania. In the normal controls (once) and depressed subjects (four times: before treatment and 2, 6 and 12 weeks after beginning the treatment) blood samples were drawn for the assay of serum zinc.

Results: Of the 60 patients enrolled, 52 patients completed the study and 8 were excluded before the end of the trial because of: adverse events of imipramine therapy, worsening of the psychopathological status or compliance failure. The zinc supplementation was well tolerated and did not influence the severity of side effects of imipramine treatment. Comparison of CGI, BDI, HADRS, MADRS score reduction and remission or response ratios revealed no significant differences between groups I and II. Also a comparison between the subgroups of patients scored before entering the trial as stage 0 of drug resistance (according to Rush and Thase criteria) revealed no differences between zinc supplemented (n=13) and placebo group (n=19). Efficacy of treatment was also analyzed in a subgroup of patients nonresponding to at least one adequate pharmacotherapy prior to enrollment to the trial. The ratio of patients who fulfilled remission criteria after 6 weeks of treatment and response criteria after 6 and 12 weeks of treatment was significantly higher in the zinc treated group (n=13) than in placebo group (n=11). Moreover, zinc supplementation significantly reduced CGI, BDI, HADRS, MADRS scores after 6 weeks and BDI, HADRS, MADRS scores at the end of the study when compared with placebo treatment.

Analysis of serum zinc levels exhibited as follows: 1) serum zinc level was significantly lower in acute depressed patients than in healthy volunteers, 2) serum zinc level in depressed patients scored before the beginning of the trial as level zero of drug

resistance by Thase and Rush criteria was significantly and inversely correlated with the duration of the depressive episode, 3) there was a significant inverse correlation between serum zinc and staging of depression according to previous treatment non-response (Rush and Thase criteria), 4) at the end of the study, there were significant differences in zinc values between therapy responders and non-responders (HADRS/CGI or MADRS/CGI criteria) and between remitters and non-remitters (HADRS/CGI or MADRS/CGI criteria) in the placebo group. Serum zinc in treatment responders and in remitters significantly rose and reached the level comparable to the healthy control group, 5) at the beginning of the study there were no significant differences in zinc values between the patients classified at the end of the study as therapy responders and non-responders or remitters and non-remitters, 6) in the placebo treated group: serum zinc in patients entering the study as treatment nonresponders did not change significantly during the follow-up, and at the end of the study was significantly lower than in normal controls, 7) there was no significant correlation between serum zinc and CGI, BDI, HADRS or MADRS scores, 8) at the end of the study there were no significant differences in zinc values between therapy responders and non-responders and between remitters and non-remitters in the zinc-supplemented group, 9) in the zinc-supplemented group, at the end of the study, there were also no significant differences in serum zinc levels between patients entering the study as treatment non-responders and patients entering the study in stage of depression based on prior treatment resistance scored as 0 (by the Thase and Rush criteria).

Conclusions: 1) zinc supplementation has no influence on efficacy of imipramine therapy in patients with no history of poor response to antidepressant therapy in a current depressive episode, 2) in treatment non-responders zinc supplementation can enhance the effect of imipramine by increasing the chance of

response and accelerating remission. These data suggests the participation of disturbed glutamatergic transmission in the pathological basis of drug resistance, 3) serum zinc is a state marker of depression and reflects the level of therapy resistance; 4) there are no relationships between serum zinc and severity of depression, 5) serum zinc level in the acute phase of depression does not reflect further response to treatment.

Piśmiennictwo

1. Nierenberg AA, DeCecco LM. Definitions of antidepressant treatment response, remission, nonresponse, partial response, and other relevant outcomes: a focus on treatment-resistant depression. *J Clin Psychiatry* 2001; 62 (Suppl), 16: 5-9
2. Souery D, Amsterdam J, de Montigny C, Lecrubier Y, Montgomery S, Lipp O, Racagni G, Zohar J, Mendlewicz J. Treatment resistant depression: methodological overview and operational criteria. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999; 9: 83-91.
3. Stahl SM. Depresja i choroba afektywna dwubiegunowa. Bielsko-Biała: Ośrodek Wydawniczy „Augustyna”; 2003.
4. Keller MB. Past, present, and future directions for defining optimal treatment outcome in depression: remission and beyond. *JAMA* 2003; 289: 3152-3160.
5. Rybakowski J. Potencjalizacja działania leków przeciwdepresyjnych za pomocą środków normotymicznych. *Lęk i Depresja* 1999; 4: 30-39.
6. Anderson I M. Drug treatment of depression: reflections on the evidence. *Advances in Psychiatric Treatment* 2003; 9: 11-20.
7. Kennedy SH, Lam RW, Nutt DJ, Thase ME. Treatment-resistant depression. W: Kennedy SH, Lam RW, Nutt DJ, Thase ME (red.). *Treating depression effectively*. Nowy Jork-Londyn: Martin Dunitz; 2004; 99-107.
8. Rzewuska M. Leczenie farmakologiczne depresji w przypadku niedostatecznego wyniku pierwszej kuracji. W: Rzewuska M (red.) *Leczenie zaburzeń psychicznych*. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2003;257-264.
9. Keller MD, Lavori P, Mueller T, Endicott J, Coryell W, Hirschfeld RM, DHEA T. Time to recovery, chronicity and levels of psychopathology in major

- depression. A 5-year prospective follow-up of 431 subjects. *Arch Gen Psychiatry* 1992;49:809-816.
10. Kennedy S, McIntyre R, Fallu A, Lam R. Pharmacotherapy to sustain the fully remitted state. *J Psychiatry Neurosci* 2002, 27:269-280.
 11. Mueller, T. I., Leon, A. C., Keller, M. B., Solomon DA, Endicott J, Coryell W, Warshaw M, Maser JD. Recurrence after recovery from major depressive disorder during 15 years of observational follow-up. *Am J Psychiatry* 1999; 156: 1000-1006.
 12. Young A.H. Recurrent unipolar depression requires prolonged treatment. *Br J Psychiatry* 2001; 178: 294-295.
 13. Gelenberg AJ, Chesen CL. How fast are antidepressants?. *J Clin Psychiatry* 2000; 61: 712-721.
 14. Tran PV, Bymaster FP, McNamara RK, Potter WZ. Dual monoamine modulation for improved treatment of major depressive disorder. *J Clin Psychopharmacol* 2003; 23: 78-86
 15. Nierenberg AA, McLean NE, Alpert JE, Worthington JJ, Rosenbaum JF, Fava M. Early nonresponse to fluoxetine as a predictor of poor 8-week outcome. *Am J Psychiatry* 1995; 152: 1500-1503.
 16. Nierenberg AA, Farabaugh AH, Alpert JE, Gordon J, Worthington JJ, Rosenbaum JF, Fava M. Timing of onset of antidepressant response with fluoxetine treatment. *Am J Psychiatry* 2000;157: 1423-1428.
 17. Van Londen L, Molenaar RP, Goekoop JG, Zwinderman AH, Rooijmans HG. Three- to 5-year prospective follow-up of outcome in major depression. *Psychol Med* 1998; 28: 731-735.
 18. Judd LL, Akiskal HS, Maser JD, Zeller PJ, Endicott J, Coryell W, Paulus MP,

- Kunovac JL, Leon AC, Mueller TI, Rice JA, Keller MB. Major depressive disorder: a prospective study of residual subthreshold depressive symptoms as predictor of rapid relapse. *J Affect Disord* 1998; 50: 97-108.
19. Judd LL, Paulus MJ, Schettler PJ, Akiskal HS, Endicott J, Leon AC, Maser JD, Mueller T, Solomon DA, Keller MB. Does incomplete recovery from first lifetime major depressive episode herald a chronic course of illness? *Am J Psychiatry* 2000; 157: 1501-1504.
20. Judd LL, Paulus MP, Wells KB, Rapaport MH. Socioeconomic burden of subsyndromal depressive symptoms and major depression in a sample of the general population. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 1411-1417.
21. Miller IW, Keitner GI, Schatzberg AF, Klein DN, Thase ME, Rush AJ, Markowitz JC, Schlager DS, Kornstein SG, Davis SM, Harrison WM, Keller MB. The treatment of chronic depression, part 3: psychosocial functioning before and after treatment with sertraline or imipramine. *J Clin Psychiatry* 1998; 59: 608-619.
22. Simon GE, Revicki D, Heiligenstein J, Grothaus L, VonKorff M, Katon WJ, Hylan TR. Recovery from depression, work productivity, and health care costs among primary care patients. *Gen Hosp Psychiatry* 2000; 22: 153-162.
23. Everson SA, Roberts RE, Goldberg DE, Kaplan GA. Depressive symptoms and increased risk of stroke mortality over a 29-year period. *Arch Intern Med* 1998; 158: 1133-1138.
24. Frasure-Smith N, Lesperance F. Reflections on depression as a cardiac risk factor. *Psychosom Med* 2005; 67: 19-25.
25. Tuma TA. Outcome of hospital-treated depression at 4.5 years. An elderly and a younger adult cohort compared. *Br J Psychiatry* 2000; 176: 224-228.

26. Keller MB, Boland RJ. Implications of failing to achieve successful long-term maintenance treatment of recurrent unipolar major depression. *Biol Psychiatry* 1998; 44:348-360.
27. Lin EH, Katon WJ, VonKorff M, Russo JE, Simon GE, Bush TM, Rutter CM, Walker EA, Ludman E. Relapse of depression in primary care. Rate and clinical predictors. *Arch Fam Med* 1998; 7: 443-449.
28. Solomon DA, Keller MB, Leon AC, Mueller TI, Lavori PW, Shea MT, Coryell W, Warshaw M, Turvey C, Maser JD, Endicott J. Multiple recurrences of major depressive disorder. *Am J Psychiatry*. 2000 Feb;157(2):229-233.
29. Wing Y K. Recent advances in the management of depression and psychopharmacology. *Hong Kong Med J* 2000; 6: 85-92.
30. Ellison JM, Harney PA. Treatment-resistant depression and the collaborative treatment relationship. *J Psychother Pract Res* 2000; 9: 7-17.
31. Bazire S. Psychotropic drug directory 2005. Bath: Fivepin LTD; 2005.
32. Taylor D, Paton C, Kerwin R. 2005 – 2006 prescribing guidelines; 8th Edition. London: Taylor and Francis; 2005.
33. Pampallona S, Bollini P, Tibaldi G, Kupelnick B, Munizza C. Patient adherence in the treatment of depression. *Br J Psychiatry* 2002; 180: 104-109.
34. Donoghue J, Hylan TR. Antidepressant use in clinical practice: efficacy v. effectiveness. *Br J Psychiatry* 2001; 42: 9-17.
35. Sadock BJ, Sadock VA. Synopsis of psychiatry. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003.
36. Anderson IM. Meta-analytical studies on new antidepressants. *Br Med Bull* 2001; 57: 161-178.
37. Freemantle N, Anderson IM, Young P. Predictive value of pharmacological

- activity for the relative efficacy of antidepressant drugs. Meta-regression analysis. *Br J Psychiatry* 2000; 177: 292-302.
38. Thase ME, Entsuah AR, Rudolph RL. Remission rates during treatment with venlafaxine or selective serotonin reuptake inhibitors. *Br J Psychiatry* 2001; 178: 234-241.
39. Anderson IM. Selective serotonin reuptake inhibitors versus tricyclic antidepressants: a meta-analysis of efficacy and tolerability. *J Affect Disord* 2000; 58: 19-36.
40. Barbui C, Hotopf M. Amitriptyline v. the rest: still the leading antidepressant after 40 years of randomised controlled trials. *Br J Psychiatry* 2001; 178: 129-144.
41. Edwards JG, Anderson I. Systematic review and guide to selection of selective serotonin reuptake inhibitors. *Drugs* 1999; 57: 507-533.
42. Lotufo-Neto F, Trivedi M, Thase ME. Meta-analysis of the reversible inhibitors of monoamine oxidase type A moclobemide and brofaromine for the treatment of depression. *Neuropsychopharmacology* 1999; 20: 226-247.
43. Mulrow CD, Williams JW Jr, Chiquette E, Aguilar C, Hitchcock-Noel P, Lee S, Cornell J, Stamm K. Efficacy of newer medications for treating depression in primary care patients. *Am J Med* 2000; 108: 54-64.
44. Williams JW Jr, Mulrow CD, Chiquette E, Noel PH, Aguilar C, Cornell J. A systematic review of newer pharmacotherapies for depression in adults: evidence report summary. *Ann Intern Med* 2000; 132: 743-756.
45. Zimmerman M, Mattia JJ, Posternak MA. Are subjects in pharmacological treatment trials of depression representative of patients in routine clinical practice?. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 469-473.

46. Khan, A, Leventhal, R M, Khan RK, Brown WA. Severity of depression and response to antidepressants and placebo: an analysis of the Food and Drug Administration database. *J Clin Psychopharmacol* 2002; 22: 40–45.
47. Deakin B, Dursun S. Optimizing antidepressant treatment: efficacy and tolerability. *Int Clin Psychopharmacol* 2002; 17 (Suppl): 13-24.
48. Poirier MF, Boyer P Venlafaxine and paroxetine in treatment-resistant depression. Double-blind, randomised comparison. *Br J Psychiatry* 1999; 175: 12-16.
49. Fava M, Alpert J, Nierenberg A, Lagomasino I, Sonawalla S, Tedlow J, Worthington J, Baer L, Rosenbaum JF. Double-blind study of high-dose fluoxetine versus lithium or desipramine augmentation of fluoxetine in partial responders and nonresponders to fluoxetine. *J Clin Psychopharmacol* 2002; 22: 379-387.
50. Melfi CA, Chawla AJ, Croghan TW, Hanna MP, Kennedy S, Sredl K. The effects of adherence to antidepressant treatment guidelines on relapse and recurrence of depression. *Arch Gen Psychiatry* 1998; 55: 1128-1132.
51. Claxton AJ, Li Z, McKendrick J. Selective serotonin reuptake inhibitor treatment in the UK: risk of relapse or recurrence of depression. *Br J Psychiatry* 2000; 177: 163-168.
52. Quitkin FM, Stewart JW, McGrath PJ, Nunes E, Ocepek-Welikson K, Tricamo E, Rabkin JG, Ross D, Klein DF. Loss of drug effects during continuation therapy. *Am J Psychiatry* 1993; 150: 562-565.
53. Kasper S, Zohar J. Pharmacotherapy of unipolar depression. W: Kasper S, Zohar J, Stein D J (red.). *Decision making in psychopharmacology*. London: Martin Dunitz, 2000; 1-12.

54. Laux G. Długotrwała terapia z użyciem leków przeciwdepresyjnych. W: Moller W E, Rother E. (red.) Nowoczesne leki przeciwdepresyjne. Wrocław: Urban & Partner, 2004; 65-77.
55. Heiden A, Kasper S. Skuteczność przeciwdepresyjna w przebiegu ciężkiej depresji: nowoczesne i tradycyjne leki przeciwdepresyjne – porównanie. W: Moller W E, Rother E (red.). Nowoczesne leki przeciwdepresyjne. Wrocław: Urban & Partner, 2004; 51-63.
56. Entsuah R, Gao B. Global Benefit-risk Evaluation of Antidepressant Action: Comparison of Pooled Data for Venlafaxine, SSRIs, and Placebo. *CNS Spectrum* 2002;7: 882-888.
57. Franchini L, Gasperini M, Perez J, Smeraldi E, Zanardi R. double-blind study of long-term treatment with sertraline or fluvoxamine for prevention of highly recurrent unipolar depression. *J Clin Psychiatry* 1997;58: 104-107.
58. Franchini L, Gasperini M, Perez J, Smeraldi E, Zanardi R. Dose-response efficacy of paroxetine in preventing depressive recurrences: a randomized, double-blind study. *J Clin Psychiatry* 1998; 59: 229-232.
59. Keller MB, Kocsis JH, Thase ME, Gelenberg AJ, Rush AJ, Koran L, Schatzberg A, Russell J, Hirschfeld R, Klein D, McCullough JP, Fawcett JA, Kornstein S, LaVange L, Harrison W. Maintenance phase efficacy of sertraline for chronic depression: a randomized controlled trial. *JAMA* 1998; 280: 1665-1672.
60. Montgomery S.A, Dunbar G. Paroxetine is better than placebo in relapse prevention and the prophylaxis of recurrent depression, *Int Clin Psychopharmacol* 1993; 8: 189-195.
61. Reimherr FW, Amsterdam JD, Quitkin FM, Rosenbaum JF, Fava M, Zajecka J, Beasley CM Jr, Michelson D, Roback P, Sundell K. Optimal length of

- continuation therapy in depression: a prospective assessment during long-term fluoxetine treatment. *Am J Psychiatry* 1998;155: 1247-1253.
62. Rapaport MH, Bose A, Zheng H. Escitalopram continuation treatment prevents relapse of depressive episodes. *J Clin Psychiatry* 2004; 65: 44-49.
63. Robert P, Montgomery SA. Citalopram in doses of 20-60 mg is effective in depression relapse prevention: a placebo-controlled 6 month study. *Int Clin Psychopharmacol* 1995;10 (Suppl): 29-35.
64. Rouillon F, Warner B, Pezous N, Bissierbe JC. Milnacipran efficacy in the prevention of recurrent depression: a 12-month placebo-controlled study. Milnacipran recurrence prevention study group. *Int Clin Psychopharmacol* 2000; 15 :133-140.
65. Thase ME, Nierenberg AA, Keller MB, Panagides J; Relapse Prevention Study Group. Efficacy of mirtazapine for prevention of depressive relapse: a placebo-controlled double-blind trial of recently remitted high-risk patients. *J Clin Psychiatry* 2001; 62: 782-788.
66. Versiani M, Mehilane L, Gaszner P, Arnaud-Castiglioni R. Reboxetine, a unique selective NRI, prevents relapse and recurrence in long-term treatment of major depressive disorder. *J Clin Psychiatry* 1999; 60: 400-406.
67. Licht RW, Qvitzau S. Treatment strategies in patients with major depression not responding to first-line sertraline treatment. A randomised study of extended duration of treatment, dose increase or mianserin augmentation. *Psychopharmacology* 2002;161: 143-151.
68. Ferreri M, Lavergne F, Berlin I, Payan C, Puech AJ. Benefits from mianserin augmentation of fluoxetine in patients with major depression non-responders to fluoxetine alone. *Acta Psychiatr Scand* 2001; 103: 66-72.

69. Wan DD, Kundhur D, Solomons K, Yatham LN, Lam RW. Mirtazapine for treatment-resistant depression: a preliminary report. *J Psychiatry Neurosci* 2003; 28: 55-59.
70. Nelson JC, Mazure CM, Jatlow PI, Bowers MB, Price LH. Combining norepinephrine and serotonin reuptake inhibition mechanisms for treatment of depression: a double-blind, randomized study. *Biol Psychiatry* 2004; 55: 296-300.
71. Dursun SM, Devarajan S. Reboxetine plus citalopram for refractory depression not responding to venlafaxine: possible mechanisms. *Psychopharmacology* 2001; 153: 497-498.
72. DeBattista C, Solvason HB, Poirier J, Kendrick E, Schatzberg AF. A prospective trial of bupropion SR augmentation of partial and non-responders to serotonergic antidepressants. *J Clin Psychopharmacol* 2003; 1 (23): 27-30.
73. Maes M, Westenberg H, Vandoolaeghe E, Demedts P, Wauters A, Neels H, Meltzer HY. Effects of trazodone and fluoxetine in the treatment of major depression: therapeutic pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions through formation of meta-chlorophenylpiperazine. *J Clin Psychopharmacol* 1997; 17: 358-364.
74. Carpenter LL, Yasmin S, Price LH. A double-blind, placebo-controlled study of antidepressant augmentation with mirtazapine. *Biol Psychiatry* 2002; 51: 183-188.
75. Stahl SM. Podstawy farmakologii leków przeciwpsychotycznych i normotymicznych. Gdańsk: Via Medica; 2004.
76. Kaidanovich-Beilin O, Milman A, Weizman A, Pick CG, Eldar-Finkelman H. Rapid antidepressive-like activity of specific glycogen synthase kinase-3

- inhibitor and its effect on beta-catenin in mouse hippocampus. *Biol Psychiatry* 2004; 55: 781-784.
77. Rybakowski J: Mechanizmy psychotropowego działania litu. W: Kostowski W, Pużyński S (red.). *Psychofarmakologia doświadczalna i kliniczna*. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 1996; 488-489.
78. Gilmor M L, Skelton K H., Nemeroff CH B, Owens M J. The Effects of Chronic Treatment with the Mood Stabilizers Valproic Acid and Lithium on Corticotropin-Releasing Factor Neuronal Systems. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 305:434–439.
79. Quiroz JA, Gould TD, Manji HK. Molecular effects of lithium. *Mol Interv* 2004; 4: 259-272.
80. Stimpson N, Agrawal N, Lewis G. Randomised controlled trials investigating pharmacological and psychological interventions for treatment-refractory depression. Systematic review. *Br J Psychiatry* 2002; 181: 284-294.
81. Bauer M, Forsthoff A, Baethge C, Adli M, Berghofer A, Dopfner S, Bschor T. Lithium augmentation therapy in refractory depression -update 2002. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2003; 253: 132-139.
82. Nierenberg AA, Papakostas GI, Petersen T, Montoya HD, Worthington JJ, Tedlow J, Alpert JE, Fava M. Lithium augmentation of nortriptyline for subjects resistant to multiple antidepressants. *J Clin Psychopharmacol* 2003;23: 92-95.
83. Dietrich DE, Emrich HM. The use of anticonvulsants to augment antidepressant medication. *J Clin Psychiatry* 1998; 59: 51-58.
84. Steinacher L, Vandel P, Zullino DF, Eap CB, Brawand-Amey M, Baumann P. Carbamazepine augmentation in depressive patients non-responding to citalopram: a pharmacokinetic and clinical pilot study. *Eur*

- Neuropsychopharmacol 2002; 12: 255-260.
85. Rybakowski JK, Suwalska A, Chlopocka-Wozniak M. Potentiation of antidepressants with lithium or carbamazepine in treatment-resistant depression. Neuropsychobiology 1999; 40: 134-139.
86. Normann C, Hummel B, Scharer LO, Horn M, Grunze H, Walden J. Lamotrigine as adjunct to paroxetine in acute depression: a placebo-controlled, double-blind study. J Clin Psychiatry 2002; 63: 337-344.
87. Barbosa L, Berk M, Vorster M. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of augmentation with lamotrigine or placebo in patients concomitantly treated with fluoxetine for resistant major depressive episodes. J Clin Psychiatry 2003; 64: 403-407.
88. Barbee JG, Jamhour NJ. Lamotrigine as an augmentation agent in treatment-resistant depression. J Clin Psychiatry 2002; 63: 737-741.
89. Rocha FL, Hara C: Lamotrigine augmentation in unipolar depression. Int Clin Psychopharmacol 2003;18: 97-99.
90. Davis LL, Kabel D, Patel D, Choate AD, Foslien-Nash C, Gurguis GN, Kramer GL, PettyF. Valproate as an antidepressant in major depressive disorder. Psychopharmacol Bull 1996;32: 647-652.
91. Pineyro G, Blier P. Autoregulation of serotonin neurons: role in antidepressant drug action. Pharmacol Rev 1999; 51: 533-591.
92. Bouwer C, Stein DJ. Buspirone is an effective augmenting agent of serotonin selective re-uptake inhibitors in severe treatment-refractory depression. S Afr Med J 1997; 87: 534-537.
93. Dimitriou EC, Dimitriou CE. Buspirone augmentation of antidepressant therapy. J Clin Psychopharmacol 1998; 18: 465-469.

94. Joffe RT, Schuller DR. An open study of buspirone augmentation of serotonin reuptake inhibitors in refractory depression. *J Clin Psychiatry* 1993; 54: 269-271.
95. Appelberg BG, Syvalahti EK, Koskinen TE, Mehtonen OP, Muhonen TT, Naukkarinen HH. Patients with severe depression may benefit from buspirone augmentation of selective serotonin reuptake inhibitors: results from a placebo-controlled, randomized, double-blind, placebo wash-in study. *J Clin Psychiatry* 2001; 62: 448-452.
96. Yamada K, Yagi G, Kanba S. Clinical efficacy of tandospirone augmentation in patients with major depressive disorder: a randomized controlled trial. *Psychiatry Clin Neurosci* 2003; 57: 183-187.
97. Tome MB, Isaac MT. One year real world prospective follow-up study of a major depressive episode of patients treated with paroxetine and pindolol or paroxetine for 6 weeks. *Int Clin Psychopharmacol* 1998; 13: 169-174.
98. Zanardi R, Artigas F, Franchini L, Sforzini L, Gasperini M, Smeraldi E, Perez J. How long should pindolol be associated with paroxetine to improve the antidepressant response? *J Clin Psychopharmacol* 1997; 17: 446-450.
99. Zanardi R, Franchini L, Gasperini M, Lucca A, Smeraldi E, Perez J. Faster onset of action of fluvoxamine in combination with pindolol in the treatment of delusional depression: a controlled study. *J Clin Psychopharmacol* 1998; 18: 441-446.
100. Isaac MT, Isaac MB, Gallo F, Tournoux A. Milnacipran and pindolol: a randomized trial of reduction of antidepressant latency. *Hum Psychopharmacol* 2003; 18: 595-601.
101. Maes M, Vandoolaeghe E, Desnyder R. Efficacy of treatment with trazodone in combination with pindolol or fluoxetine in major depression. *J Affect Disord*

- 1996; 41: 201-210.
102. Moreno FA, Gelenberg AJ, Bachar K, Delgado PL. Pindolol augmentation of treatment-resistant depressed patients. *J Clin Psychiatry* 1997; 58: 437-439.
103. Perez 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. *Grup de Recerca en Trastorns Afectius. Arch Gen Psychiatry* 1999; 56: 375-379.
104. Rabiner EA, Bhagwagar Z, Gunn RN, Sargent PA, Bench CJ, Cowen PJ, Grasby PM. Pindolol augmentation of selective serotonin reuptake inhibitors: PET evidence that the dose used in clinical trials is too low. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 2080-2082.
105. Malhi GS, Bridges PK. *Postępowanie w depresji*. Wrocław: Urban & Partner, 2001; 85-98.
106. Sokolski KN, Conney JC, Brown BJ, DeMet EM. Once-daily high-dose pindolol for SSRI-refractory depression. *Psychiatry Res* 2004; 125: 81-86.
107. Shelton RC, Tollefson GD, Tohen M, Stahl S, Gannon KS, Jacobs TG, Buras WR, Bymaster FP, Zhang W, Spencer KA, Feldman PD, Meltzer HY. A novel augmentation strategy for treating resistant major depression. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 131-134.
108. Corya SA, Andersen SW, Detke HC, Kelly LS, Van Campen LE, Sanger TM, Williamson DJ, Dube S. Long-term antidepressant efficacy and safety of olanzapine/fluoxetine combination: a 76-week open-label study. *J Clin Psychiatry* 2004; 64: 1349-1356.
109. Hirose S, Ashby CR Jr. An open pilot study combining risperidone and a selective serotonin reuptake inhibitor as initial antidepressant therapy. *J Clin*

- Psychiatry 2002; 63: 733-736.
110. Ostroff RB, Nelson JC. Risperidone augmentation of selective serotonin reuptake inhibitors in major depression. *J Clin Psychiatry* 1999; 60: 256-259.
111. Tani K, Takei N, Kawai M, Suzuki K, Sekine Y, Toyoda T, Minabe Y, Mori N. Augmentation of milnacipran by risperidone in treatment for major depression. *Int J Neuropsychopharmacol* 2004; 7:55-58.
112. Papakostas GI, Petersen TJ, Nierenberg AA, Murakami JL, Alpert JE, Rosenbaum JF, Fava M. Ziprasidone augmentation of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) for SSRI-resistant major depressive disorder. *J Clin Psychiatry* 2004; 65: 217-221.
113. Kostowski W. Związki dopaminergiczne o działaniu bezpośrednim. Związki dopaminergiczne o działaniu pośrednim. W: Kostowski W, Pużyński S (Red.). *Psychofarmakologia doświadczalna i kliniczna*. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 1996, 72-74.
114. Inoue T, Tsuchiya K, Miura J, Sakakibara S, Denda K, Kasahara T, Koyama T. Bromocriptine treatment of tricyclic and heterocyclic antidepressant-resistant depression. *Biol Psychiatry* 1996; 40: 151-153.
115. Kondo S, Hayashi H, Eguchi T, Oyama T, Wada T, Otani K: Bromocriptine augmentation therapy in a patient with Cotard's syndrome. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; 27: 719-721.
116. Wada T, Kanno M, Aoshima T, Otani K. Dose-dependent augmentation effect of bromocriptine in a case with refractory depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2001; 25: 457-462.
117. Takahashi H, Yoshida K, Higuchi H, Shimizu T, Inoue T, Koyama T. Addition of a dopamine agonist, cabergoline, to a serotonin-noradrenalin reuptake

- inhibitor, milnacipran as a therapeutic option in the treatment of refractory depression: two case reports. *Clin Neuropharmacol* 2003; 26 : 230-232.
118. Cassano P, Lattanzi L, Soldani F, Navari S, Battistini G, Gemignani A, Cassano GB. Pramipexole in treatment-resistant depression: an extended follow-up. *Depress Anxiety*. 2004;20(3):131-138.
119. Huber TJ, Dietrich DE, Emrich HM. Possible use of amantadine in depression. *Pharmacopsychiatry* 1999; 32: 47-55.
120. Takahashi T, Yamashita H, Zhang YX, Nakamura S. Inhibitory effect of MK-801 on amantadine-induced dopamine release in the rat striatum. *Brain Res Bull* 1996; 41: 363-367.
121. Rogóż Z, Dlaboga D, Dziedzicka-Wasylewska M. Effect of combined treatment with imipramine and amantadine on the central dopamine D2 and D3 receptors in rats. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54: 257-270.
122. Rogoz Z, Dziedzicka-Wasylewska M, Daniel WA, Wojcikowski J, Dudek D, Wrobel A, Zieba A. Effects of joint administration of imipramine and amantadine in patients with drug-resistant unipolar depression. *Pol J Pharmacol* 2004; 56: 735-742.
123. Stryjer R, Strous RD, Shaked G, Bar F, Feldman B, Kotler M, Polak L, Rosenczwaig S, Weizman A. Amantadine as augmentation therapy in the management of treatment-resistant depression. *Int Clin Psychopharmacol* 2003; 18: 93-96.
124. Carlson PJ, Merlock MC, Suppes T. Adjunctive stimulant use in patients with bipolar disorder: treatment of residual depression and sedation. *Bipolar Disord* 2004; 6: 416-420.
125. Masand PS, Anand VS, Tanquary JF. Psychostimulant augmentation of second

- generation antidepressants: a case series. *Depress Anxiety* 1998; 7: 89-91.
126. Lavretsky H, Kim MD, Kumar A, Reynolds CF 3rd. Combined treatment with methylphenidate and citalopram for accelerated response in the elderly: an open trial. *J Clin Psychiatry* 2003; 64: 1410-1414.
127. Menza MA, Kaufman KR, Castellanos A. Modafinil augmentation of antidepressant treatment in depression. *J Clin Psychiatry* 2000; 61: 378-381.
128. DeBattista C, Doghramji K, Menza MA, Rosenthal MH, Fieve RR. Adjunct modafinil for the short-term treatment of fatigue and sleepiness in patients with major depressive disorder: a preliminary double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Psychiatry* 2003; 64: 1057-1064.
129. Barbee JG, Conrad EJ, Jamhour NJ. Aripiprazole augmentation in treatment-resistant depression. *Ann Clin Psychiatry* 2004; 16:189-194.
130. Rybakowski J. Inne leki o działaniu psychotropowym lub stosowane w psychiatrii. W: Bilikiewicz A, Pużyński S, Rybakowski J (red.). *Psychiatria. Tom 3, Terapia. Zagadnienia etyczne, prawne, organizacyjne i społeczne*. Wrocław: Urban i Partner, 2003; 152 – 166.
131. Gur E, Lerer B, Newman ME. Chronic clomipramine and triiodothyronine increase serotonin levels in rat frontal cortex in vivo: relationship to serotonin autoreceptor activity. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 288: 81-87.
132. Aronson R, Offman HJ, Joffe RT, Naylor CD. Triiodothyronine augmentation in the treatment of refractory depression. A meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 1996; 53: 842-848.
133. Altshuler LL, Bauer M, Frye MA, Gitlin MJ, Mintz J, Szuba MP, Leight KL, Whybrow PC. Does thyroid supplementation accelerate tricyclic antidepressant response? A review and meta-analysis of the literature. *Am J Psychiatry* 2001;

- 158: 1617-1622.
134. Appelhof BC, Brouwer JP, van Dyck R, Fliers E, Hoogendijk WJ, Huyser J, Schene AH, Tijssen JG, Wiersinga WM. Triiodothyronine addition to paroxetine in the treatment of major depressive disorder. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 6271-6276.
135. Landowski J. Zespoły depresyjne – przewlekła aktywacja układu stresu. W: Dudek D, Zięba A (red.) *Depresja w chorobie niedokrwiennej serca*. Kraków: Biblioteka Psychiatrii Polskiej, 2001; 25-35.
136. Wolkowitz OM, Reus VI. Treatment of depression with antiglucocorticoid drugs. *Psychosom Med* 1999; 61: 698-711.
137. Jahn H, Schick M, Kiefer F, Kellner M, Yassouridis A, Wiedemann K. Metyrapone as additive treatment in major depression: a double-blind and placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry* 2004; 61: 1235-1244.
138. Rogoz Z, Skuza G, Wojcikowski J, Daniel WA, Wrobel A, Dudek D, Zieba A. Effect of metyrapone supplementation on imipramine therapy in patients with treatment-resistant unipolar depression. *Pol J Pharmacol* 2004; 56: 849-855.
139. DeBattista C, Posener JA, Kalebzan BM, Schatzberg AF. Acute antidepressant effects of intravenous hydrocortisone and CRH in depressed patients: a double-blind, placebo-controlled study. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 1334-1337.
140. Arana GW, Santos AB, Laraia MT, McLeod-Bryant S, Beale MD, Rames LJ, Roberts JM, Dias JK, Molloy M. Dexamethasone for the treatment of depression: a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Am J Psychiatry* 1995; 152: 265-267.
141. Dinan TG, Lavelle E, Cooney J, Burnett F, Scott L, Dash A, Thakore J, Berti C. Dexamethasone augmentation in treatment-resistant depression. *Acta Psychiatr*

- Scand 1997; 95: 58-61.
142. Shapira B, Oppenheim G, Zohar J, Segal M, Malach D, Belmaker RH. Lack of efficacy of estrogen supplementation to imipramine in resistant female depressives. *Biol Psychiatry* 1985; 20: 576-579.
143. Amsterdam J, Garcia-Espana F, Fawcett J, Quitkin F, Reimherr F, Rosenbaum J, Beasley C. Fluoxetine efficacy in menopausal women with and without estrogen replacement. *J Affect Disord* 1999; 55: 11-17.
144. Schneider LS, Small GW, Hamilton SH, Bystritsky A, Nemeroff CB, Meyers BS. Estrogen replacement and response to fluoxetine in a multicenter geriatric depression trial. Fluoxetine Collaborative Study Group. *Am J Geriatr Psychiatry* 1997; 5: 97-106.
145. Carnahan RM, Perry PJ. Depression in aging men: the role of testosterone. *Drugs and Aging* 2004; 21: 361-376.
146. Seidman SN, Rabkin JG. Testosterone replacement therapy for hypogonadal men with SSRI-refractory depression. *J Affect Disord* 1998; 48: 157-161.
147. Pope HG, Cohane GH, Kanayama G, Siegel AJ, Hudson JI. Testosterone Gel Supplementation for Men With Refractory Depression: A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 105-111.
148. Hale AS, Procter AW, Bridges PK. Clomipramine, tryptophan and lithium in combination for resistant endogenous depression: seven case studies. *Br J Psychiatry* 1987; 151: 213-217.
149. Levitan RD, Shen JH, Jindal R, Driver HS, Kennedy SH, Shapiro CM. Preliminary randomized double-blind placebo-controlled trial of tryptophan combined with fluoxetine to treat major depressive disorder: antidepressant and hypnotic effects. *J Psychiatry Neurosci* 2000; 25:337-346.

150. Mischoulon D, Fava M. Role of S-adenosyl-L-methionine in the treatment of depression: a review of the evidence. *Am J Clin Nutr* 2002 ; 76: 1158-1161.
151. Alpert JE, Papakostas G, Mischoulon D, Worthington JJ 3rd, Petersen T, Mahal Y, Burns A, Bottiglieri T, Nierenberg AA, Fava M. S-adenosyl-L-methionine (SAME) as an adjunct for resistant major depressive disorder: an open trial following partial or nonresponse to selective serotonin reuptake inhibitors or venlafaxine. *J Clin Psychopharmacol* 2004; 24: 661-664.
152. Lu X, Barr AM, Kinney JW, Sanna P, Conti B, Behrens MM, Bartfai T. A role for galanin in antidepressant actions with a focus on the dorsal raphe nucleus. *PNAS U S A* 2005; 102: 874-879.
153. Murck H, Held K, Ziegenbein M, Kunzel H, Holsboer F, Steiger A. Intravenous administration of the neuropeptide galanin has fast antidepressant efficacy and affects the sleep EEG. *Psychoneuroendocrinology* 2004; 29: 1205-1211
154. Nemets B, Stahl Z, Belmaker RH. Addition of omega-3 fatty acid to maintenance medication treatment for recurrent unipolar depressive disorder. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 477-479.
155. Silvers KM, Woolley CC, Hamilton FC, Watts PM, Watson RA. Randomised double-blind placebo-controlled trial of fish oil in the treatment of depression. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005; 72: 211-218.
156. Landowski J. Badania laboratoryjne w psychiatrii. W: Bilikiewicz A, Pużyński S, Rybakowski J (red.). *Psychiatria. Tom 1, podstawy psychiatrii*. Wrocław: Urban i Partner, 2002; 591- 602.
157. Pużyński S, Rybakowski J. Neurobiologia zaburzeń psychicznych. W: Bilikiewicz A, Pużyński S, Rybakowski J (red.). *Psychiatria. Tom 1, podstawy psychiatrii*. Wrocław: Urban i Partner, 2002; 151-178.

158. Hatzinger M, Hemmeter UM, Baumann K, Brand S, Holsboer-Trachsler E The combined DEX-CRH test in treatment course and long-term outcome of major depression. *J Psychiatr Res* 2002; 36: 287-297.
159. Loosen PT. The TRH-induced TSH response in psychiatric patients: a possible neuroendocrine marker. *Psychoneuroendocrinology*. 1985 ;10: 237-260.
160. Isogawa K, Nagayama H, Tsutsumi T, Kiyota A, Akiyoshi J, Hieda K. Simultaneous use of thyrotropin-releasing hormone test and combined dexamethasone/corticotropine-releasing hormone test for severity evaluation and outcome prediction in patients with major depressive disorder. *J Psychiatr Res* 2005; 39: 467-473.
161. Assies J, Visser I, Nicolson NA, Eggelte TA, Wekking EM, Huyser J, Lieveise R, Schene AH. Elevated salivary dehydroepiandrosterone-sulfate but normal cortisol levels in medicated depressed patients: preliminary findings. *Psychiatry Res* 2004; 128: 117-122.
162. Young AH, Gallagher P, Porter RJ. Elevation of the cortisol-dehydroepiandrosterone ratio in drug-free depressed patients. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 1237-1239.
163. Kubera M. Immunologiczne aspekty zaburzeń homeostazy cynku w depresji. W: Nowak G (red.). *Cynk w fizjologii oraz patofizjologii i terapii depresji*. Kraków: Instytut Farmakologii PAN; 2001, 65-89
164. Maes M, Meltzer HY, Bosmans E, Bergmans R, Vandoolaeghe E, Ranjan R, Desnyder R. Increased plasma concentrations of interleukin-6, soluble interleukin-6, soluble interleukin-2 and transferrin receptor in major depression. *J Affect Disord* 1995; 34: 301-309.
165. Służewska A, Rybakowski J, Sobieska M. Aktywacja układu immunologicznego

- w depresji endogennej. *Psychiatr Pol* 1996; 30(5): 771 – 782.
166. Nieto E, Vieta E, Alvarez L, Torra M, Colom F, Gasto C. Alpha-1-acid glycoprotein in major depressive disorder. Relationships to severity, response to treatment and imipramine plasma levels. *J Affect Disord* 2000; 59: 159-164.
167. Maes M, De Meester I, Vanhoof G, Scharpe S, Bosmans E, Vandervorst C, Verkerk R, Minner B, Suy E, Raus J Decreased serum dipeptidyl peptidase IV activity in major depression. *Biol Psychiatry* 1991; 30: 577-586.
168. Bekaroglu M, Deger O, Karahan SC, Bilici M, Soylu C, Orem A. Effects of antidepressant treatments on polymorphonuclear elastase levels in patients with depression.. *J Affect Disord* 2000; 59: 175-182.
169. Rybakowski J, Ainiyet J, Szajnerman Z, Zakrzewska M. Badania zależności między stężeniem cholesterolu i lipidów a zachowaniami samobójczymi u chorych na schizofrenię i choroby afektywne. *Psychiatr Pol* 1996; 30 (5): 699-712.
170. Maes M, Christophe A, Delanghe J, Altamura C, Neels H, Meltzer HY. Lowered omega3 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids and cholesteryl esters of depressed patients *Psychiatry Res* 1999; 85: 275-291.
171. Maes M, Smith R, Christophe A, Vandoolaeghe E, Van Gastel A, Neels H, Demedts P, Wauters A, Meltzer HY. Lower serum high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in major depression and in depressed men with serious suicidal attempts: relationship with immune-inflammatory markers. *Acta Psychiatr Scand* 1997; 95: 212-221.
172. Kim YK, Myint AM Clinical application of low serum cholesterol as an indicator for suicide risk in major depression. *J Affect Disord* 2004; 81:161-166.
173. Deisenhammer EA, Kramer-Reinstadler K, Liensberger D, Kemmler G,

- Hinterhuber H, Fleischhacker WW. No evidence for an association between serum cholesterol and the course of depression and suicidality. *Psychiatry Res* 2004; 121: 253-261.
174. Huang TL. Serum lipid profiles in major depression with clinical subtypes, suicide attempts and episodes. *J Affect Disord* 2005; 86: 75-79.
175. Plein H, Berk M. Changes in the platelet intracellular calcium response to serotonin in patients with major depression treated with electroconvulsive therapy: state or trait marker status. *Int Clin Psychopharmacol* 2000; 15: 93-98.
176. Lestra C, d'Amato T, Ghaemmaghami C, Perret-Liaudet A, Broyer M, Renaud B, Dalery J, Chamba G. Biological parameters in major depression: effects of paroxetine, viloxazine, moclobemide, and electroconvulsive therapy. Relation to early clinical outcome. *Biol Psychiatry* 1998 ;44: 274-280.
177. Muck-Seler D, Pivac N, Sagud M, Jakovljevic M, Mihaljevic-Peles A The effects of paroxetine and tianeptine on peripheral biochemical markers in major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biol Psychiatry* 2002; 26: 1235-1243.
178. Piletz JE, Zhu H, Madakasira S, Pazzaglia P, Lindsay DeVane C, Goldman N, Halaris A. Elevated P-selectin on platelets in depression: response to bupropion. *Psychiatry Res* 2000;34: 397-404.
179. Hines LM, Tabakoff B. Platelet Adenylyl Cyclase Activity: A Biological Marker for Major Depression and Recent Drug Use. *Biol Psychiatry* 2005; 9; [artykul w druku; abstrakt za pośrednictwem: www.pubmed.gov]
180. Avissar S, Nechamkin Y, Roitman G, Schreiber G. Reduced G protein functions and immunoreactive levels in mononuclear leukocytes of patients with depression. *Am J Psychiatry* 1997; 154: 211-217.

181. Rocc P, De Leo C, Eva C, Marchiaro L, Milani AM, Musso R, Ravizza L, Zanalda E, Bogetto F. Decrease of the D4 dopamine receptor messenger RNA expression in lymphocytes from patients with major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2002; 26: 1155-1160.
182. Aydemir O, Deveci A, Taneli F. The effect of chronic antidepressant treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients: a preliminary study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29: 261-265.
183. Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, Koike K, Komatsu N, Kumakiri C, Nakazato M, Watanabe H, Shinoda N, Okada S, Iyo M. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biol Psychiatry* 2003; 54: 70-75.
184. Siwek M, Wróbel A, Dudek D, Nowak G, Zięba A. Udział miedzi i magnezu w patogenezie i terapii zaburzeń afektywnych. *Psychiatr Pol* 2005; 34(5): 911-920.
185. Siwek M, Wróbel A, Dudek D, Nowak G, Zięba A. Udział cynku w patogenezie i terapii zaburzeń afektywnych. *Psychiatr Pol* 2005; 34(5): 899-909.
186. Pałucha A, Pilc A: Układ glutaminianergiczny – interakcja z cynkiem. W: Nowak G (red.). *Cynk w fizjologii oraz patofizjologii i terapii depresji*. Kraków: Instytut Farmakologii PAN, 2001; 39-55.
187. Storm-Mathisen J, Ottersen OP: Anatomy of putative glutamatergic neurons. W: Avoli M, Reader TA, Dykes RW, Gloor P(red.). *Neurotransmitters and cortical function*. New York: Plenum Publishing Corporation; 1988, 39-70
188. Nakanishi S: Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain functions. *Science* 1992; 258: 597-603.
189. Płażnik A. Aminokwasy pobudzające – rola w patogenezie chorób ośrodkowego

- układu nerwowego. W: Kostowski W, Pużyński S (red.). Psychofarmakologia doświadczalna i kliniczna. Warszawa: PZWL, 1996; 103-112.
190. Willets RL, Leander JD. The behavioral pharmacology of NMDA receptor antagonists. *Trends Pharmacol Sci* 1990, 11: 423-428.
191. Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev* 1999; 51: 7-61.
192. Liu Y, Zhang J. Recent development in NMDA receptors. *Chin Med J* 2000; 113: 948-956.
193. Parsons CG, Danysz W, Quack G. Memantine is a clinically well tolerated NMDA receptor antagonist – a review of preclinical data. *Neuropharmacology* 1999; 38: 85-108.
194. Ciabarra AM, Sullivan JM, Gahn LG, Pecht G, Heinemann S, Sevarino KA. Cloning and characterization of χ -1: a developmentally regulated member of a novel class of the ionotropic glutamate receptor family. *J Neurosci* 1995; 15: 6498-6508.
195. Maffei A, Prestori F, Shibuki K, Rossi P, Taglietti V, D'Angelo E. NO enhances presynaptic currents during cerebellar mossy fiber-granule cell LTP. *J Neurophysiol* 2003; 90: 2478-2483
196. Ishii T, Moriyoshi K, Sugihara H, et al. Molecular characterization of the family of the N-methyl-D-aspartate receptor subunits. *J Biol Chem* 1993; 268: 2836-2843.
197. Kutsuwada T, Kashiwabushi N, Mori H, Sakimura K, Kushiya E, Araki K, Meguro H, Masaki H, Kumanishi T, Arakawa M, Mishina M. Molecular diversity of the NMDA receptor channel. *Nature* 1992; 358: 36-41
198. Mishina M, Mori H, Araki K, Kushiya E, Meguro H, Kutsuwada T,

- Kashiwabuchi N, Ikeda K, Nagasawa M, Yamazaki M . Molecular and functional diversity of the NMDA receptor channel. *Annals of the New York Academy of Science* 1993; 707: 136-152.
199. Frederickson CJ, Suh SW, Silva D, Frederickson CJ, Thompson RB. Importance of zinc in the central nervous system: the zinc-containing neuron. *J Nutr* 2000; 130(Suppl):1471-1483
200. Hashemzadeh-Gargari H, Guilarte TR. Divalent cations modulate N-methyl-D-aspartate receptor function at the glycine site. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 290: 1356-1362.
201. Low CM, Zheng F, Lyuboslavsky P, Traynelis SF. Molecular determinants of coordinated proton and zinc inhibition of N-methyl-D-aspartate NR1/NR2A receptors. *PNAS U S A* 2000; 97: 11062-11067.
202. Berger ML, Rebernik P. Zinc and ifenprodil allosterically inhibit two separate polyamine-sensitive sites at N-methyl-D-aspartate receptor complex. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289: 1584-1591.
203. Chen N, Moshaver A, Raymond LA. Differential sensitivity of recombinant N-methyl-D-aspartate receptor subtypes to zinc inhibition. *Mol Pharmacol* 1997; 51: 1015-1023
204. Smart TG, Xie X, Krishek BJ. Modulation of inhibitory and excitatory amino acid receptor ion channels by zinc. *Prog Neurobiol* 1994; 42: 393-341
205. Skolnick P, Legutko B, Li X, Bymaster FP. Current perspectives on the development of non-biocenic amine-based antidepressants. *Pharmacological Research* 2001; 43: 411-422.
206. Nowak G, Legutko B, Szewczyk B, Papp M, Sanak M, Pilc A. Zinc treatment induces cortical brain-derived neurotrophic factor gene expression. *Eur J*

- Pharmacol 2004; 492: 57-59.
207. Nowak L, Bregestovski P, Acher P, Herbert A, Prochiantz A. Magnesium Gates glutamate-activated channels in mouse central neurons. *Nature* 1984; 307: 462-465
208. Liu Y, von Euler G. Ca^{2+} and H^{+} antagonizes the decrease of $[\text{}^3\text{H}]$ MK-801 binding induced by glutamate and glycine in the presence of Mg^{2+} . *Neurochemistry International* 1996;28:401-415
209. Johnson TD. Modulation of channel function by polyamines. *Trends Pharmacol Sci* 1996; 17: 22-27.
210. Traynelis SF, Hartley M, Heinemann SF. Control of proton sensitivity of the NMDA receptor by RNA splicing and polyamines. *Science* 1995; 268: 873-876.
211. Rosenmund C, Westbrook GL. Calcium-induced actin depolymerization reduces NMDA channel activity. *Neuron* 1993; 10: 805-814.
212. Westphal RS, Tavalin SJ, Lin JW, Alto NM, Fraser ID, Langeberg LK, Sheng M, Scott JD. Regulation of NMDA receptors by an associated phosphatase-kinase signaling complex. *Science*. 1999; 285:93-96.
213. Aizenman E. Modulation of N-methyl-D-aspartate receptors by hydroxyl radicals in rat cortical neurons in vitro. *Neurosci Lett* 1995; 189: 57-59
214. Sullivan JM, Traynelis SF, Chen H-SV, Escobar W, Heinemann SF, Lipton SA. Identification of two cysteine residues that are required for redox modulation of the NMDA subtype of glutamate receptor. *Neuron* 1994; 13: 929-936.
215. Leonard AS, Hell JW. Cyclic AMP-dependent protein kinase and protein kinase C phosphorylate N-methyl-D-aspartate receptors at different sites. *J Biol Chem* 1997; 272: 12107-12115
216. Dildy-Mayfield JE and Harris RA. Activation of protein kinase C inhibits

- kainate-induced currents in oocytes expressing glutamate receptor subunits. *J Neurochem* 1994; 62: 1639-1642
217. Lieberman DN and Mody I. Regulation of NMDA channel function by endogenous Ca^{2+} -dependent phosphatase. *Nature* 1994; 369: 235-239.
218. Weigand E, Keller BU. Functional diversity of synaptic AMPA/KA receptors from rat as revealed by subtype-specific antagonists. *Eur J Neurosci* 1998; 10:64-70.
219. Pin JP, Duvoisin R. The metabotropic glutamate receptors: structure and functions. *Neuropharmacology* 1995; 34:1-26.
220. Bhawe G, Nadin BM, Brasier DJ, Glauner KS, Shah RD, Heinemann SF, Karim F, Gereau RW. Membrane topology of a metabotropic glutamate receptor. *J Biol Chem* 2003; 278: 30294-30301.
221. Havlickova M, Blahos J, Brabet I, Liu J, Hruskova B, Prezeau L, Pin JP. The second intracellular loop of metabotropic glutamate receptors recognizes C termini of G-protein alpha-subunits. *J Biol Chem* 2003; 278: 35063-35070.
222. Aramori I, Nakanishi S. Signal transduction and pharmacological characteristics of a metabotropic glutamate receptor, mGluR1, in transfected CHO cells. *Neuron* 1992; 8:757-765.
223. Winder DG, Conn PJ. Metabotropic glutamate receptor (mGluR)-mediated potentiation of cyclic AMP responses does not require phosphoinositide hydrolysis: mediation by a group II-like mGluR. *J Neurochem* 1995; 64 :592-599.
224. Xiao MY, Zhou Q, Nicoll RA. Metabotropic glutamate receptor activation causes a rapid redistribution of AMPA receptors. *Neuropharmacology* 2001; 41: 664-671.

225. Duman RS. Teorie patofizjologiczne depresji – od monoamin do neuroplastyczności. W: Olie J P, Costa e Silva J P, Macher J P (red.). Neuroplastyczność. Patofizjologia depresji w nowym ujęciu. Gdańsk: Via Medica, 2004; 9-20.
226. Sheline Y I. Następsta depresji w hipokampie oraz w innych obszarach mózgu. W: Olie J P, Costa e Silva J P, Macher J P (red.). Neuroplastyczność. Patofizjologia depresji w nowym ujęciu. Gdańsk: Via Medica, 2004; 33-46.
227. Kim JS, Schmid-Burgk W, Claus D, Kornhuber HH. Increased serum glutamate in depressed patients. *Archiv fur Psychiatrie und Nervenkrankheiten* 1982; 232: 299-304, - abstrakt
228. Altamura CA, Mauri MC, Ferrara A, Moro AR, D'Andrea G, Zamberlan F. Plasma and platelet excitatory amino acids in psychiatric disorders. *Am J Psychiatry* 1993; 150: 1731-1733.
229. Mauri MC, Ferrara A, Boscati L, Bravin S, Zamberlan F, Alecci M, Invernizzi G. Plasma and platelet amino acid concentrations in patients affected by major depression and under fluvoxamine treatment. *Neuropsychobiology* 1998, 37(3), 124-129.
230. Altamura C, Maes M, Dai J, Meltzer HY. Plasma concentrations of excitatory amino acids, serine, glycine, taurine and histidine in major depression. *Eur Neuropsychopharmacol* 1995; 5(supl.): 71-75.
231. Maes M, Verkerk R, Vandoolaeghe E, Lin A, Scharpe S. Serum levels of excitatory amino acids, serine, glycine, histidine, threonine, taurine, alanine and arginine in treatment-resistant depression: modulation by treatment with antidepressants and prediction of clinical responsivity. *Acta Psychiatr Scand* 1998; 97: 302-308.

232. Berk M, Plein H, Ferreira D. Platelet glutamate receptor supersensitivity in major depressive disorder. *Clin Neuropharmacol* 2001; 24: 129-132.
233. Levine J, Panchalingam K, Rapoport A, Gershon S, McClure RJ, Pettegrew JW: Increased cerebrospinal fluid glutamine levels in depressed patients. *Biol Psychiatry* 2000; 47: 586-593.
234. Auer DP, Putz B, Kraft E, Lipinski B, Schill J, Holsboer F. Reduced glutamate in the anterior cingulate cortex in depression: an in vivo proton magnetic resonance spectroscopy study. *Biol Psychiatry* 2000; 47: 305-313.
235. Michael N, Erfurth A, Ohrmann P, Arolt V, Heindel W, Pfleiderer B. Metabolic changes within the left dorsolateral prefrontal cortex occurring with electroconvulsive therapy in patients with treatment resistant unipolar depression. *Psychol Med* 2003; 33: 1277-1284.
236. Pfleiderer B, Michael N, Erfurth A, Ohrmann P, Hohmann U, Wolgast M, Fiebich M, Arolt V, Heindel W. Effective electroconvulsive therapy reverses glutamate/glutamine deficit in the left anterior cingulum of unipolar depressed patients. *Psychiatry Res* 2003; 122: 185-192.
237. Harvey BH, Jonker LP, Brand L, Heenop M, Stein DJ. NMDA receptor involvement in imipramine withdrawal-associated effects on swim stress, GABA levels and NMDA receptor binding in rat hippocampus. *Life Sci* 2002; 71: 43-54.
238. MacQueen GM, Campbell S, McEwen BS, Macdonald K, Amano S, Joffe RT, Nahmias C, Young LT. Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *PNAS U S A* 2003; 100: 1387-1392.
239. Zahorodna A, Bijak M. An antidepressant-induced decrease in the responsiveness of hippocampal neurons to group I metabotropic glutamate

- receptor activation. *Eur J Pharmacol* 1999; 386: 173-179.
240. Krocza B, Nowak G. Rola cynku w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych. Implikacje terapeutyczne. W: Nowak.G (red.). Cynk w fizjologii i patofizjologii i terapii depresji. Kraków: Instytut Farmakologii PAN, 2001; 91 – 109.
241. Martinez-Turrillas R, Frechilla D, Del Rio J. Chronic antidepressant treatment increases the membrane expression of AMPA receptors in rat hippocampus. *Neuropharmacology* 2002; 43: 1230-1237.
242. Nowak G, Legutko B, Skolnick P, Popik P. Adaptation of cortical NMDA receptors by chronic treatment with specific serotonin reuptake inhibitors. *Eur J Pharmacol* 1998; 342: 367-370.
243. Nowak G, Trullas R, Laser RT, Skolnick P, Paul IA. Adaptative changes In the N-methyl-D-aspartate-receptor complex after chronic treatment with imipramine and 1-aminocyclopropanecarboxylic amid. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 265:1380-1386.
244. Paul IA, Layer RT, Skolnick P, Nowak G. Adaptation of the NMDA receptor in rat cortex following chronic electroconvulsive shock of imipramine. *Eur J Pharmacol* 1993; 247: 305-311.
245. Paul IA, Nowak G, Layer RT, Popik P, Skolnick P. Adaptation of the N-methyl-D-aspartate receptor complex following chronic antidepressant treatments. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 269: 95-102.
246. Harkin A, Nowak G, Paul IA. Noradrenergic lesion antagonizes desipramine-induced adaptation of NMDA receptors. *Eur J Pharmacol* 2000; 389: 187-192.
247. Skolnick P: Antidepressant for new millennium. *Eur J Pharmacol* 1999; 375: 31-40.

248. Fujimaki K, Morinobu S, Duman RS. Administration of a cAMP phosphodiesterase 4 inhibitor enhances antidepressant-induction of BDNF mRNA in rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22: 42-51.
249. Gould E, Tanapat P: Stress and hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry* 1999; 46: 1472-1479.
250. Mamounas LA, Altar CA, Blue ME, Kaplan DR, Tessarollo L, Lyons WE. BDNF promotes the regenerative sprouting, but not survival, of injured serotonergic axons in the adult rat brain. *J Neurosci* 2000; 20: 771-782.
251. Shors TJ, Seib TB, Levine S, Thompson RF. Inescapable versus escapable shock modulates long-term potentiation in the rat hippocampus. *Science* 1989; 244: 224-226.
252. Shanks N, Anisman H. Strain-specific effects of antidepressants on escape deficits induced by inescapable shock. *Psychopharmacology* 1989; 99: 122-128.
253. Siuciak JA, Lewis DR, Wiegand SJ, Lindsay RM. Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmacol Biochem Behav* 1997; 56: 131-137.
254. Nowak G, Ossowska G, Jopek R, Papp M. Strychnine-insensitive glycine/NMDA sites are altered in two stress models of depression. *Pol J Pharmacol* 1998; 50(4-5): 365-369.
255. Nitta A, Ohmiya M, Sometani A, Itoh M, Nomoto H, Furukawa Y, Furukawa S. Brain-derived neurotrophic factor prevents neuronal cell death induced by corticosterone. *J Neurosci Res* 1999; 57: 227-235.
256. Campbell S, Macqueen G. The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression. *J Psychiatry Neurosci* 2004; 29: 417-426.
257. Drevets WC. Neuroimaging abnormalities in the amygdala in mood disorders.

- Ann N Y Acad Sci 2003 ; 985: 420-444.
258. Sheline YI, Wang PW, Gado MH, Csernansky JG, Vannier MW. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. PNAS 1996; 93: 3908-3913.
259. Sheline YI, Gado M, Price JL. Amygdala core nuclei volumes are decreased in recurrent major depression. Neuroreport 1998; 9: 2023-2028.
260. Sheline Y I, Sanghavi M, Mintun M A., Gado M H. Depression Duration But Not Age Predicts Hippocampal Volume Loss in Medically Healthy Women with Recurrent Major Depression J Neurosci 1999; 19: 5034-5043.
261. Sheline YI, Gado MH, Kraemer HC. Untreated depression and hippocampal volume loss. Am J Psychiatry 2003; 160: 1516-1518.
262. Drevets WC, Bogers W, Raichle ME. Functional anatomical correlates of antidepressant drug treatment assessed using PET measures of regional glucose metabolism. Eur Neuropsychopharmacol 2002; 12: 527-544.
263. Stockmeier CA, Mahajan GJ, Konick LC, Overholser JC, Jurjus GJ, Meltzer HY, Uylings HB, Friedman L, Rajkowska G. Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression. Biol Psychiatry 2004; 56 : 640-650.
264. Malberg JE. Implications of adult hippocampal neurogenesis in antidepressant action. J Psychiatry Neurosci 2004; 29: 196-205
265. Sapolsky RM. The possibility of neurotoxicity in the hippocampus in major depression: a primer on neuron death. Biol Psychiatry 2000; 48: 755-765.
266. Pilc A, Klodzinska A, Nowak G: A role for glutamate in the treatment of anxiety and depression: focus on group I metabotropic glutamate (mGlu) receptors. Drugs of the future 2002; 27: 753-763.
267. Redmond AM, Kelly JP, Leonard BE. Behavioural and neurochemical effects of

- dizocilpine in the olfactory bulbectomized rat model of depression. *Pharmacol Biochem Behav* 1997; 58: 355-359.
268. Klimek V, Papp M. The effect of MK-801 and imipramine on beta-adrenergic and 5-HT₂ receptors in the chronic mild stress model of depression in rats. *Pol J Pharmacol* 1994; 46: 67-69.
269. Maj J, Rogoz Z, Skuza G, Sowinska H. The effect of CGP 37849 and CGP 39551, competitive NMDA receptor antagonists, in the forced swimming test. *Pol J Pharmacol* 1992; 44: 337-346.
270. Przegalinski E, Tatarczynska E, Derenwesolek A, Chojnackawojcik E. Antidepressant-like effects of a partial agonist at strychnine-insensitive glycine receptors and competitive NMDA receptor antagonist. *Neuropharmacology* 1997; 36: 31-37.
271. Hesselink MB, Smolders H, Deboer AG, Breimer DD, Danysz W. Modifications of the behavioral profile of non-competitive NMDA receptor antagonists, memantine, amantadine and (+)MK-801 after chronic administration. *Behav Pharmacol* 1990; 10: 85-98.
272. Rogoz Z, Skuza G, Kusmider M, Wojcikowski J, Kot M, Daniel WA. Synergistic effect of imipramine and amantadine in the forced swimming test in rats. Behavioral and pharmacokinetic studies. *Pol J Pharmacol* 2004; 56: 179-185.
273. Rogoz Z, Skuza G, Maj J, Danysz W. Synergistic effect of uncompetitive NMDA receptor antagonists and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats. *Neuropharmacology* 2002; 42: 1024-1030.
274. Maj J, Rogoz Z. Synergistic effect of amantadine and imipramine in the forced swimming test. *Pol J Pharmacol* 2000; 52: 111-114.

275. Berman RM, Cappiello A, Anand A, Oren D, Heniger GR, Charney DS, Krystal JH. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biol Psychiatry* 2000; 47: 351-354.
276. Maj J, Rogoz Z, Skuza G, Kolodziejczyk K. Some central effects of kynurenic acid, 7-chlorokynurenic acid and 5,7- dichloro-kynurenic acid, glycine site antagonists. *Pol J Pharmacol* 1994; 46: 115-124.
277. Lopes T, Neubauer P, Boje KM. Chronic administration of NMDA glycine partial agonists induces tolerance in the Porsolt swim test. *Pharmacol Biochem Behav* 1997; 58: 1059-1064.
278. Skolnick P, Miller R, Young A, Boje K, Trullas R. Chronic treatment with 1-aminocyclopropanecarboxylic acid desensitizes behavioral responses to compounds acting at the N-methyl-D-aspartate receptor complex. *Psychopharmacology* 1992; 107: 489-496
279. Sanger DJ, Jackson A. Effects of phencyclidine and other N-methyl-D-aspartate antagonists on the schedule-controlled behavior of rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 248: 1215-1221.
280. Wiley JL, Compton AD, Holcomb JD, McCallum SE, Varvel SA, Porter JH, Balster RL. Effects of modulation of NMDA neurotransmission on response rate and duration in a conflict procedure in rats. *Neuropharmacology* 1998; 37: 1527-1534.
281. Layer RT, Popik P, Olds T, Skolnick P. Antidepressant-like actions of the polyamine site NMDA antagonist, eliprodil (SL-82.0715). *Pharmacol Biochem Behav* 1995; 52: 621-627.
282. Paul IA, Trullas R, Skolnick P, Nowak G. Down-regulation of cortical beta-adrenoceptors by chronic treatment with functional NMDA antagonists.

- Psychopharmacology 1992;106: 285-287.
283. Gasparini F, Lingenhohl K, Stoehr N, Flor PJ, Heinrich M, Vranesic I, Biollaz M, Allgeier H, Heckendorn R, Urwyler S, Varney MA, Johnson EC, Hess SD, Rao SP, Sacca AI, Santori EM, Velicelebi G, Kuhn R. 2-Methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP), a potent, selective and systemically active mGlu5 receptor antagonist. *Neuropharmacology* 1999; 38: 1493-1503.
284. Wieronska JM, Szewczyk B, Branski P, Palucha A, Pilc A. Antidepressant-like effect of MPEP, a potent, selective and systemically active mGlu5 receptor antagonist in the olfactory bulbectomized rats. *Amino Acids* 2002; 23: 213-216.
285. Tatarczyńska E, Kłodzinska A, Chojnacka-Wojcik E, Palucha A, Gasparini F, Kuhn R, Pilc A. Potential anxiolytic- and antidepressant-like effects of MPEP, a potent, selective and systemically active mGlu5 receptor antagonist. *Br J Pharmacol* 2001; 132: 1423-1430.
286. Husum H, Bolwig TG, Sanchez C, Mathe AA, Hansen SL. Levetiracetam prevents changes in levels of brain-derived neurotrophic factor and neuropeptide Y mRNA and of Y1- and Y5-like receptors in the hippocampus of rats undergoing amygdala kindling: implications for antiepileptogenic and mood-stabilizing properties. *Epilepsy Behav* 2004; 5: 204-215.
287. Li X, Witkin JM, Need AB, Skolnick P. Enhancement of antidepressant potency by a potentiator of AMPA receptors. *Cell Mol Neurobiol* 2003; 23: 419-430.
288. Eroglu L, Caglayan B. Anxiolytic and antidepressant properties of methylene blue in animal models. *Pharmacol Res* 1997; 36: 381-385.
289. Karolewicz B, Bruce KH, Lee B, Paul IA. Nitric oxide synthase inhibitors have antidepressant-like properties in mice. 2. Chronic treatment results in downregulation of cortical beta-adrenoceptors. *Eur J Pharmacol* 1999; 372: 215-

- 220.
290. Naylor GJ, Smith AH, Connelly P. A controlled trial of methylene blue in severe depressive illness. *Biol Psychiatry* 1987;22: 657-659.
291. Naylor GJ, Martin B, Hopwood SE, Watson Y. A two-year double-blind crossover trial of the prophylactic effect of methylene blue in manic-depressive psychosis. *Biol Psychiatry* 1986; 21: 915-920.
292. Decollogne S, Tomas A, Lecerf C, Adamowicz E, Seman M. NMDA receptor complex blockade by oral administration of magnesium : comparison with MK-801. *Pharmacol Biochem Behav* 1997; 58: 261-268.
293. 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.
294. Fromm L, Heath DL, Vink R, Nimmo AJ. Magnesium attenuates post-traumatic depression/anxiety following diffuse traumatic brain injury in rats. *J Am Coll Nutr* 2004; 23: 529-533.
295. Cox IM, Campbell MJ, Dowson D. Red blood cell magnesium and chronic fatigue syndrome. *Lancet* 1991; 337: 757-760
296. Facchinetti F, Borella P, Sances G, Fioroni L, Nappi RE, Genazzani AR. Oral magnesium successfully relieves premenstrual mood changes. *Obstet Gynecol* 1991; 78: 177-181.
297. De Sarro G, Siniscalchi A, Ferreri G, Gallelli L, De Sarro A. NMDA and AMPA/kainate receptors are involved in the anticonvulsant activity of riluzole in DBA/2 mice. *Eur J Pharmacol* 2000; 408: 25-34.
298. Zarate CA Jr, Quiroz JA, Singh JB, Denicoff KD, De Jesus G, Luckenbaugh DA, Charney DS, Manji HK. An open-label trial of the glutamate-modulating

- agent riluzole in combination with lithium for the treatment of bipolar depression. *Biol Psychiatry* 2005; 57: 430-432.
299. Zarate CA Jr, Payne JL, Quiroz J, Sporn J, Denicoff KK, Luckenbaugh D, Charney DS, Manji HK. An open-label trial of riluzole in patients with treatment-resistant major depression. *Am J Psychiatry* 2004; 161: 171-174.
300. Cousins RJ. Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev* 1985; 65: 238-309.
301. Schlegel-Zawadzka M. Cynk: źródła, biodostępność, metabolizm, preparaty cynku. W: Nowak G (red.). Cynk w fizjologii oraz patofizjologii i terapii depresji. Kraków: Instytut Farmakologii. Polska Akademia Nauk, 2001; 7-26.
302. Dębińska – Kieć A, Naskalski J W. Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Wrocław: Volumed, 1998.
303. Pawelski S, Maj S. Normy i diagnostyka chorób wewnętrznych. Warszawa: PZWL, 1993.
304. Tomaszewski J.J. Diagnostyka laboratoryjna. Warszawa: PZWL, 1997
305. Hambidge KM, Krebs NF, Miller L Evaluation of zinc metabolism with use of stable-isotope techniques: implications for the assessment of zinc status. *Am J Clin Nutr* 1998; 68 (Suppl): 410-413.
306. Sandstead HH, Frederickson CJ, Penland JG. History of zinc as related to brain function. *J Nutr* 2000; 130(Suppl): 496-502.
307. Sandstead HH. Causes of iron and zinc deficiencies and their effects on brain. *J Nutr* 2000; 130(Suppl): 347-349.
308. Skangiel – Kramská J, Czupryn A. Cynk: rola w procesach plastyczności mózgu. W: Nowak G. (red.). Cynk w fizjologii oraz patofizjologii i terapii depresji.

- Kraków: Instytut Farmakologii PAN, 2001; 27-38.
309. Long Y Y, Hardwick A, Frederickson C J. Zinc-containing innervation of the subicular region in the rat. *Neurochem Int* 1995; 27: 95-103.
310. Mandava P, Howell G. A., Frederickson C. J. Zinc-containing neuronal innervation of the septal nuclei. *Brain Res* 1993; 608: 115-122.
311. Frederickson C J, Danscher G. Zinc-containing neurons in the hippocampus and related CNS structures. *Prog Brain Res* 1990; 83: 71-84.
312. Christensen M, Geneser F. Distribution of neurons of origin of zinc-containing projections in the amygdala of the rat. *Anat Embryol* 1995; 191: 227-237
313. Frederickson C. J. Neurobiology of zinc and zinc-containing neurons. *Int Rev Neurobiol* 1989; 31:145-238
314. Colvin R. A, Davis N, Nipper R. W, Carter P. A. Zinc transport in the brain: routes of zinc influx and efflux in neurons. *J Nutr* 2000; 130: 1484-1487
315. Aschner M., Cherian M. G., Klaassen C. D., Palmiter R. D., Erickson J. C., Bush A. I. Metallothioneins in brain—the role in physiology and pathology. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 142: 229-242
316. Palmiter R. D., Cole T. B., Quaife C. F., Findley S. D. ZnT-3, a putative transporter of zinc into synaptic vesicles. *PNAS* 1996; 93:14934-14939
317. Colvin R. Characterization of a plasma membrane zinc transporter in rat brain. *Neurosci Lett* 1998; 247: 147-150.
318. Wensink J, Molenaar A, Woroniecka U, Van den Hamer C. Zinc uptake into synaptosomes. *J Neurochem* 1988; 50: 782-789
319. Li Y, Hough CJ, Suh SW, Sarvey JM, Frederickson CJ. Rapid translocation of Zn(2+) from presynaptic terminals into postsynaptic hippocampal neurons after physiological stimulation. *J Neurophysiol* 2001; 86: 2597-2604.

320. Smart TG, Xie X, Krishek BJ. Modulation of inhibitory and excitatory amino acid receptor ion channels by zinc. *Prog Neurobiol* 1994; 42: 393-341.
321. Danysz W, Zajączkowski W, Parsons C. Modulation of learning processes by ionotropic glutamate receptor ligands. *Behav Pharmacol* 1995; 6: 455-474,
322. Cohen-Kfir E, Lee W, Eskandari S, Nelson N. Zinc inhibition of gamma-aminobutyric acid transporter 4 (GAT4) reveals a link between excitatory and inhibitory neurotransmission. *PNAS* 2005; 102: 6154-6159.
323. Nelson N The family of Na⁺/Cl⁻ neurotransmitter transporters. *J Neurochem* 1998;71: 1785-1803.
324. Dudek FE. Zinc and Epileptogenesis. *Epilepsy Curr* 2001; 1: 66-70.
325. Churchich JE, Scholz G, Kwok F. Activation of pyridoxal kinase by metallothionein. *Biochim Biophys Acta* 1989; 996: 181-186.
326. Nakano H, McCormick DB Stereospecificity of the metal.ATP complex in flavokinase from rat small intestine. *J Biol Chem* 1991; 266: 22125-22128.
327. Egashira T, Takayama F, Sakai K. Inhibition by Zn(2+) of A-form monoamine oxidase in monkey brain mitochondria. *J Pharmacol Sci* 2003; 9: 239-245.
328. Scholze P, Norregaard L, Singer EA, Freissmuth M, Gether U, Sitte HH. The role of zinc ions in reverse transport mediated by monoamine transporters. *J Biol Chem* 2002; 277: 21505-21513.
329. Norregaard L, Frederiksen D, Nielsen EO, Gether U. Delineation of an endogenous zinc-binding site in the human dopamine transporter. *EMBOJ* 1998; 17(15):4266-4273.
330. Schetz JA, Sibley DR. The binding-site crevice of the D4 dopamine receptor is coupled to three distinct sites of allosteric modulation. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 296: 359-363.

331. Schetz JA, Sibley DR. Zinc allosterically modulates antagonist binding to cloned D1 and D2 dopamine receptors. *J Neurochem* 1997; 68: 1990-1997.
332. Hubbard PC, Lummis. Zn(2+) enhancement of the recombinant 5-HT(3) receptor is modulated by divalent cations. *SC Eur J Pharmacol* 2000; 394:189-197.
333. Noseworthy MD, Bray TM. Zinc deficiency exacerbates loss in blood-brain barrier integrity induced by hyperoxia measured by dynamic MRI. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 223:175-182.
334. McLoughlin IJ, Hodge JS. Zinc in depressive disorder. *Acta Psychiatr Scand* 1990; 82: 451-453.
335. Nowak G, Schlegel-Zawadzka M. Alterations in serum and brain trace element levels after antidepressant treatment. Part I. Zinc. *Biol Trace Elem Res* 1999; 67: 85-92.
336. Hansen CR, Malecha M, Mackenzie TB, Kroll J. Copper and zinc deficiencies in association with depression and neurological findings. *Biol Psychiatry* 1983; 18: 395-401.
337. Manser WW, Khan MA, Hazan KZ. Trace elements studies on Karachi population. Part IV: Blood copper, zinc, magnesium and lead levels in psychiatric patients with depression, mental retardation and seizure disorders. *J Pak Med Assoc* 1989; 39: 269 – 274.
338. Narang RL, Gupta KR., Narang AP, Singh R. Levels of copper and zinc in depression. *Indian J Physiol Pharmacol* 1991; 35: 272-274.
339. Maes M, D'Haese PC, Scharpe S, D'Hondt P, Cosyns P, De Broe ME. Hipozincemia in depression. *J Affect Disord* 1994; 31: 135 -140.
340. Maes M, Vandoolaeghe E, Neels H, Demedts P, Wauters A, Meltzer H.Y,

- Altamura C. Lower serum zinc in major depression is a sensitive marker of treatment resistance and of the immune/inflammatory response in that illness. *Biol Psychiatry* 1997; 42: 269 – 274.
341. Maes M, De Vos N, Demeds P, Wauters A, Neels H. Lower serum zinc in major depression in relation to changes in serum acute phase proteins. *J Affect Disord* 1999; 56: 189-194.
342. Schlegel Zawadzka M, Zięba A, Dudek D, Szymaczek M, Krośniak M, Nowak G. Effect of depression and of antidepressant therapy on serum zinc levels. W: Roussel A M, Anderson R A, Favrier A E (red.). *Trace Elements in Man and Animals 10*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2000; 607-610.
343. Maes M, Vandewoude M, Scharpe S, De Clerck L, Stevens W, Lepoutre L, Schotte C. Anthropometric and biochemical assessment of the nutritional state in depression: evidence for lower visceral protein plasma levels in depression. *J Affect Disord* 1991; 23: 25-33.
344. Schlegel-Zawadzka M, Zięba A, Dudek D. Zwyczaje żywieniowe a zawartość cynku we krwi u pacjentów w chorobach afektywnych. Badanie wstępne. *Żywnienie człowieka i metabolizm* 2000; supl. XXVII: 216 – 219.
345. Mulle N, Hofschuster E, Ackenheil M, Mempel W, Eckstein R: Investigations of the cellular immunity during depression and the free interval: evidence for an immune activation in affective psychosis. *Progr Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1993; 17: 713-730,
346. Rosa AO, Lin J, Calixto JB, Santos AR, Rodrigues AL. Involvement of NMDA receptors and L-arginine-nitric oxide pathway in the antidepressant-like effects of zinc in mice. *Behav Brain Res* 2003; 144: 87-93.
347. Krocza B, Zięba A, Dudek D, Pilc A, Nowak G. Zinc exhibits an

- antidepressant-like effect in the forced swimming test in mice. *Pol J Pharmacol* 2000; 52: 403-406.
348. Szewczyk B, Branski P, Wieronska JM, Palucha A, Pilc A, Nowak G. Interaction of zinc with antidepressants in the forced swimming test in mice. *Pol J Pharmacol* 2002; 54: 681-685.
349. Wyska E, Szymura-Oleksiak J, Opoka W, Bas B, Niewiara E, Pomierny L, Dybala M, Nowak G. Pharmacokinetic interaction after joint administration of zinc and imipramine in forced swim test in mice. *Pol J Pharmacol* 2004; 56: 479-484.
350. Nowak G, Szewczyk B, Wieronska JM, Branski P, Palucha A, Pilc A, Sadlik K, Piekoszewski. Antidepressant-like effects of acute and chronic treatment with zinc in forced swim test and olfactory bulbectomy model in rats. *Brain Res Bull* 2003; 61: 159-164
351. 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.
352. ICD -10. Międzynarodowa Statystyczna Klasyfikacja Chorób i Problemów Zdrowotnych. Rewizja dziesiąta. Klasyfikacja zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania. Kraków – Warszawa: Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne „Vesalius”. Instytut Psychiatrii i Neurologii; 1997.
353. Goodwin FK, Jamison KR. Manic – Depressive Illnes. New York, Oxford: Oxford University Press; 1990.
354. Puzyński S. Choroby afektywne nawracające. W: Bilikiewicz A, Puzyński S, Robakowski J, Wciórka J (red.). *Psychiatria, Tom 2, Psychiatria Kliniczna*. Wrocław: Urban & Partner, 2002; 343 – 415.

355. Walden J, Grunze H. Choroba afektywna dwubiegunowa. Etiologia i leczenie. Wrocław: Urban & partner; 2004.
356. Pużyński S. Depresje, wyd 2. Warszawa: PZWL, 1988.
357. Akiskal H S. Spektrum zaburzeń afektywnych dwubiegunowych w praktyce ogólnomedycznej i psychiatrycznej. *Psychiatria po dyplomie* 2005; 2(3): 9-15
358. Bowden CL. Strategies to reduce misdiagnosis of bipolar depression. *Psychiatr Services* 2001;52(1): 51-5.
359. Glick ID. Undiagnosed Bipolar Disorder: New Syndromes and New Treatments. *Primary Care Companion to the J Clin Psychiatry* 2004;6(1):27-33.
360. Pużyński S. Klasyfikacja i pozycja nozologiczna zaburzeń afektywnych dwubiegunowych. *Wiadomości psychiatryczne* 2004; 7(4): 267 – 272.
361. Goldberg JF, Harrow M, Whiteside JE. Risk for bipolar illness in patients initially hospitalized for unipolar depression. *Am J Psychiatry* 2001;158(8):1265-1270.
362. Harkness R, Bratman S. *Mosby's Handbook of Drug-Herb and Drug-Supplement Interactions*. Mosby 2003.
363. Pużyński S. Leki przeciwdepresyjne. W: Kostowski W, Pużyński S (red.). *Psychofarmakologia doświadczalna i kliniczna*. Warszawa: PZWL, 1996; 390 – 472
364. Ciraulo D A, Creelman W L, Shader R I, O'Sullivan R L. Leki przeciwdepresyjne. Pierścieniowe leki przeciwdepresyjne. W: Ciraulo D A, Shader R I, Greenblatt D J, Creelman W L (red.). *Interakcje leków w psychiatrii*. Gdańsk: Medical Press, 1999; 31-73.
365. Hamilton M. A rating scale for depression. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 1960; 23: 56–62.

366. Pużyński S, Wciórka J. Narzędzia oceny stanu psychicznego. W: Bilikiewicz A, Pużyński S, Rybakowski J, Wciórka J (red.). *Psychiatria tom 1. Podstawy psychiatrii*. Wrocław: Urban & Partner, 2002; 453 – 526
367. Pużyński S: Skale i inwentarze psychopatologiczne. W: *Zasady rozpoznawania i leczenia zaburzeń psychicznych*. Warszawa: Instytut Psychiatrii i Neurologii, 1993; 246-255.
368. Bech P. Acute therapy of depression. *J Clin Psychiatry* 1993; 54: 18-27.
369. Montgomery SA, Asberg M. A new depression scale designed to be sensitive to change. *Br J Psychiatry* 1979; 134:382-389.
370. Beck AT, Ward CH, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry* 1961; 4: 561–571
371. Beck AT, Steer RA. *Beck Inventory Manual*. The Psychological Corporation. Harcourt Brace & Co, 1993.
372. Groth-Marnat G. *The handbook of psychological assessment (2nd ed.)*. John Wiley & Sons, New York; 1990.
373. Stanisław A. *Przystępny kurs statystyki*. Kraków: Statsoft Polska; 2000
374. Brzeziński J. *Metodologia badań psychologicznych*. Warszawa: PWN; 1996.
375. Suwalska A, Rybakowski J. Biologiczne mechanizmy lekooporności depresji. *Psychiatr Pol* 1996; 30(5): 713-730
376. Connor TJ, Leonard BE. Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders. *Life Sci* 1998; 62(7): 583-606
377. Maes M, Bosmans E, Meltzer HY. Immunoendocrine aspects of major depression. Relationships between plasma interleukin-6 and soluble interleukin-2 receptor, prolactin and cortisol. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1995; 245(3): 172-178.

378. Froger N, Palazzo E, Boni C, Hanoun N, Saurini F, Joubert Ch, Dutriez-Casteloot I, Enache I, Maccari S, Barden N, Cohen-Salmon Ch, Hamon M, Lanfumey L. Neurochemical and behavioral alterations in glucocorticoid receptor-impaired transgenic mice after chronic mild stress. *J Neurosci* 2004; 24(11): 2787 – 2796
379. Rainnie DG, Bergeron R, Sajdyk TJ, Patil M, Gehlert DR, Shekhar A. Corticotropin Releasing factor-induced synaptic plasticity in the amygdala translates stress into emotional disorders. *J Neurosci* 2004; 24(14): 3471-3479.
380. Joanny P, Stinberg J, Oliver C, Grino M. Glutamate and NMDA stimulate rat hypothalamic corticotrophin-releasing factor in vitro. *J Neuroendocrinol* 1997; 9(2): 93-97.
381. Couturier E, van Onderbergen A, Bosson D, Neve J. Circadian variations in plasma zinc and cortisol in man. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1988; 2(4): 245-9.
382. Goode HF, Robertson DA, Kelleher J, Walker BE Effect of fasting, self-selected and isocaloric glucose and fat meals and intravenous feeding on plasma zinc concentrations. *Ann Clin Biochem* 1991; 28: 442-445.
383. Taylor CM, Goode HF, Aggett PJ, Bremner I, Walker BE, Kelleher J. Symptomatic zinc deficiency in experimental zinc deprivation. *J Clin Pathol* 1992;45(1): 83-84.
384. Maes M. The immunoregulatory effects of antidepressants. *Hum Psychopharmacol* 2001; 16(1): 95-103.
385. Basterzi AD, Aydemir C, Kisa C, Aksaray S, Tuzer V, Yazici K, Goka E. IL-6 levels decrease with SSRI treatment in patients with major depression. *Hum Psychopharmacol* 2005; 20(7): 473-476.

386. Maes M, De Meester I, Scharpe S, Desnyder R, Ranjan R, Meltzer HY.
Alterations in plasma dipeptidyl peptidase IV enzyme activity in depression and schizophrenia: effects of antidepressants and antipsychotic drugs. *Acta Psychiatrica Scand* 1996; 93(1):1-8.
387. Maes M, De Meester I, Verkerk R, De Medts P, Wauters A, Vanhoof G, Vandoolaeghe E, Neels H, Scharpe S. Lower serum dipeptidyl peptidase IV activity in treatment resistant major depression: relationships with immune-inflammatory markers. *Psychoneuroendocrinology* 1997;22: 65-78.
388. Nowak G, Zięba A, Dudek D, Krośniak M, Szymaczek M, Schlegel-Zawadzka M. Serum trace elements in animal models and human depression. Part I. Zinc. *Hum Psychopharmacol* 1999; 14: 83-86

Aneks

Wykaz skrótów

α1-AG	– α 1-kwaśna glikoproteina
ACPC	– kwas 1-aminocyklopropanokarboksylowy
ACTH	– adrenokortykotropina
AMPA	– amino-3-hydroxy-5-methylo-izoxazolo-propionian
ATP	– adenozylotrójfosforan
BDI	– Inwentarz Depresji Becka
BDNF	– czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego
C	– cholesterol całkowity
cAMP	– cykliczny adenozynomonofosforan
CGI-I	– Skala Ogólnego Wrażenia Klinicznego (poprawa)
CGI-S	– Skala Ogólnego Wrażenia Klinicznego (nasilenie objawów)
ch.	– choroba
CHAD	– choroba afektywna dwubiegunowa
CREB	– białko wiążące cAMP
CRH	– kortykoliberyna
CRP	– białko C-reaktywne
DAG	– dwuacyloglicerol
DHEA	– dehydroepiandrosteron
DPP IV	– peptydaza dipeptydylowa IV
DST	– test hamowania deksametazonem
FAD	– flawonomononukleotyd
FDA	– <i>Food and Drug Administration</i>
GABA	– kwas γ -aminomasłowy
HCG	– gonadotropina kosmówkowa

HDRS	– Skala Depresji Hamiltona
HDRS₁₇	– Skala Depresji Hamiltona, wariant z 17-stoma itemami
HPA	– oś podwzgórze-przysadka-nadnercza
ICD-10	– Międzynarodowa Klasyfikacja Chorób i Problemów Zdrowotnych, rewizja dziesiąta
IL	– interleukina
IMAO	– inhibitory monoaminooksydazy
INFα	– interferon α
INFγ	– interferon γ
IP₃	– trójfosforan inozytolu
LCSPT	– szlak limbiczno-korowo-prążkowiowo-gałkowo-wzgórkowy
L-NAME	– N ^G -nitro-L-argininy
L-NMMA	– N ^G -monometyl-L-arginina
L-NNA	– N ^G -nitro-L-arginina
LPD	– leki przeciwdepresyjne
LPPN	– oś układ limbiczny-podwzgórzeprzysadka-nadnercza
MADRS	– Skala Depresji Montgomery – Asberg
MAO	– monoaminooksydaza
MAO-A	– monoaminooksydaza typu A
mGluR	– glutaminianergiczny receptor metabotropowy
MRI	– rezonans magnetyczny
MT	– metalotioneina
NMDA	– N-metylo-D-asparaginian
NO	– tlenek azotu
NOs	– syntaza tlenku azotu

OUN	– ośrodkowy układ nerwowy
PAN	– Polska Akademia Nauk
PCP	– fencyklidyna
PET	– pozytronowa tomografia emisyjna
PKA	– kinaza białkowa A
PKC	– kinaza białkowa C
PLP	– pirydoksalo-5-fosforan
PMNE	– elastaza polimorfonuklearna
SAM	– S-adenozyl-L-metionina
sIL-6R	– rozpuszczalny receptor IL-6
sIL-2R	– rozpuszczalny receptor IL-2
SSRI	– selektywne inhibitory wychwyty zwrotnego serotoniny
SNRI	– selektywne inhibitory wychwyty zwrotnego serotoniny i noradrenaliny
TCA	– trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne
Tf	– transferyna
TfR	– receptor transferynowy
TNFα	– czynnik martwicy nowotworu
TRH	– tyreoliberyna
TSH	– hormon tyreotropowy
ZCNs	– neurony zawierające cynk

Wzór Karty Obserwacji Klinicznej Pacjenta

Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej

1. INFORMACJE OGÓLNE

Numer pacjenta:

Numer preparatu:

Miejscowość:

Data badania:

Imię:

Nazwisko:

Płeć:

Data urodzenia:

Adres zamieszkania, telefon:

Wykształcenie:

- Niepełne podstawowe
- Podstawowe
- Zasadnicze zawodowe
- Średnie zawodowe (technikum, liceum)
- Wyższe

Zawód:

- Pracuje zawodowo
- Prowadzi gospodarstwo rolne
- Nie pracuje zawodowo
- Narażenia na substancje toksyczne
- Renta:

- Nie
- Tak
 - Na czas.....
 - Główny powód.....
 - Praca dodatkowa
- Emerytura
- Nie
- Tak
 - od kiedy.....
 - praca dodatkowa
- W jaki sposób depresja wpłynęła na sytuację zawodową
.....
.....

Stan cywilny

- Wolny
- Żonaty/zamężna
 - Które małżeństwo
 - Ilość dzieci
 - Ogólna ocena związku przez pacjenta
- Separacja
- Rozwód
- Wdowiec/wdowa

Palenie papierosów

- Tak/dzień
- Nie
- Palenie w przeszłości w okresie od.....do.....

Alkohol

- Nie
- Tak(ilość)

2. INFORMACJE DOTYCZĄCE CHOROBY

Rozpoznanie (ICD-10).....

Obciążenie rodzinne

- Depresja (który z członków rodziny).....
- Choroba afektywna dwubiegunowa (który z członków rodziny).....
- Schizofrenia (który z członków rodziny).....
- Inne.....

Od jak dawna choruje....

Czy były czynniki precypitujące....

- Nie
- Tak jakie?.....

Który rzut choroby.....

Hospitalizacje (ilość, daty)

.....

.....

Wcześniejsze fazy (mania , depresja, epizod mieszany).....

Jakość kolejnych remisji

- Brak remisji
- Subdepresje
- Resztkowe objawy choroby
- Powrót do pełnego zdrowia

Leczenie od początku choroby

- Podawane leki, ich dawki, przez jaki okres były przyjmowane
.....
.....
- Regularność leczenia (ewentualne przerwy w leczeniu i ich przyczyny)
.....
.....

- Dotychczasowa współpraca lekarz –pacjent
.....
.....

Próby samobójcze (ilość, daty, rodzaj)

.....
.....

Nadużywanie leków w wywiadzie

.....
.....

3. CHOROBY SOMATYCZNE

Jakie w przeszłości (hospitalizacje, zabiegi operacyjne)

.....

.....

Aktualne schorzenia somatyczne i ich leczenie

.....

.....

Ewentualna specjalna dieta stosowana przez pacjenta

.....

.....

4. OBECNY STAN SOMATYCZNY

	Nieprawidłowości w wywiadzie	Aktualne nieprawidłowości
Układ nerwowy		
Układ krążenia		
Układ oddechowy		
Wątroba		
Układ pokarmowy		
Układ wydzielania wewnętrznego		
Układ krwiotwórczy		
Układ moczowo- płciowy		
Układ kostno- stawowy		
Alergie		
Inne		

Data ostatniej miesiączki.....

Czy miesiączkuje regularnie

- tak

- nie

5. OBECNY EPIZOD DEPRESJI

Od jak dawna.....

Czynniki precipitujące

.....
.....

Leczenie dotychczasowe obecnego epizodu

- Leki przeciwdepresyjne (rodzaj, dawka)

.....
.....

- Leki anksjolityczne (rodzaj, dawka)

.....
.....

- Leki normotymiczne (rodzaj, dawka)

.....
.....

- Neuroleptyki (rodzaj, dawka)

.....
.....

Obecność myśli samobójczych podczas obecnego epizodu

.....
.....

6. PRZEBIEG BADANIA

Badanie I – włączenie do badania:

Data:

Numer leczenia:

Ciśnienie:

Tętno:

Masa ciała:

Stan somatyczny (ewentualne odchylenia od normy)

.....
.....
.....
.....

Morfologia:

ASPAT:

ALAT:

Kreatynina:

Mocznik:

Glukoza:

Sód:

Potas:

Leczenie:

.....

.....

.....

.....

Uwagi na temat stanu psychicznego:

.....

.....

Objawy uboczne

.....

.....

.....

.....

CGI:

BDI:

HDRS:

MARS:

Badanie II – po 2 tygodniach aktywnego leczenia

Data:

Ciśnienie:

Tętno:

Masa ciała:

Stan somatyczny (ewentualne odchylenia od normy)

.....

.....

Leczenie:

.....

.....

.....

.....

Uwagi na temat stanu psychicznego:

.....

.....

Objawy uboczne

.....

.....

.....

.....

CGI – S:

CGI – I:

BDI:

HDRS:

MADRS:

Badanie III – po 6 tyg aktywnego leczenia.

Data:

Ciśnienie:

Tętno:

Masa ciała:

Stan somatyczny (ewentualne odchylenia od normy)

.....

.....

Leczenie:

.....

.....

.....

.....

Uwagi na temat stanu psychicznego:

.....

.....

Objawy uboczne

.....

.....

.....

.....

CGI – S:

CGI – I:

BDI:

HDRS:

MADRS:

Badanie IV – po 12 tyg aktywnego leczenia.

Data:

Ciśnienie:

Tętno:

Masa ciała:

Stan somatyczny (ewentualne odchylenia od normy)

.....
.....

Leczenie:

.....
.....
.....
.....

Uwagi na temat stanu psychicznego:

.....
.....

Objawy uboczne

.....
.....
.....
.....

CGI – S:

CGI – I:

BDI:

HDRS:

MADRS:

SKALA DEPRESJI HAMILTONA (HDRS)

Data Imię i nazwisko

.....

1. Nastroj depresyjny

- ☐ 0 = Nie stwierdza się ☐ 1 = Ujawniany przez pacjenta dopiero po zapytaniu
- ☐ 2 = Ujawnia depresję spontanicznie
- ☐ 3 = Stwierdza się niewerbalne przejawy depresji (wyraz twarzy, głos, płacz)
- ☐ 4 = Depresja stanowi jedyny typ nastroju ujawniany drogą werbalną i niewerbalną

2. Poczucie winy

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Poczucie sprawienia zawodu innym, wymówki wobec siebie
- ☐ 2 = Rozważania o winie, błędach popełnionych w przeszłości
- ☐ 3 = Przekonanie, że obecna choroba jest karą, urojenia winy
- ☐ 4 = Omamy słuchowe o treści oskarżającej pacjenta

3. Zniechęcenie do życia, myśli, tendencje samobójcze

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Poczucie, że nie warto żyć
- ☐ 2 = Pragnienie (życzenie) śmierci, np. drogą naturalną
- ☐ 3 = Myśli o samobójstwie, zamiary
- ☐ 4 = Próby samobójcze (brać pod uwagę jedynie poważne)

4. Zaburzenia zasypiania

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Sporadyczne trudności z zasypianiem (oczekiwanie na sen ponad 0,5 godziny)
- ☐ 2 = Częste, znaczne trudności z zasypianiem

5. Sen płytki, przerywany

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Płytki, niespokojny sen
- ☐ 2 = Budzenie się w nocy, opuszczanie łóżka (nie oceniać budzenia się w związku z potrzebami fizjologicznymi)

6. Wczesne budzenie się

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Budzenie się nad ranem i ponowne zasypianie
- ☐ 2 = Budzenie się zbyt wczesne z niemożliwością ponownego uśnięcia

7. Aktywność złożona, praca

- ☐ 0 = Nie stwierdza się zaburzeń aktywności
- ☐ 1 = Poczucie obniżonej wydolności, niechęć do podejmowania aktywności złożonej
- ☐ 2 = Utrata zainteresowań i chęci do działania, wykonywania pracy, hobby
- ☐ 3 = Zmniejszenie liczby godzin przeznaczonych na aktywność złożoną (praca, hobby, rozrywki); w szpitalu: gdy pacjent zajmuje się aktywnością złożoną poniżej 3 godzin dziennie
- ☐ 4 = Niezdolność do pracy, przerwa w pracy, na oddziale brak przejawów spontanicznej aktywności

8. Spowolnienie, zahamowanie

(myślenia, mowy, upośledzenie koncentracji uwagi, obniżenie aktywności ruchowej w czasie badania)

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Nieznaczące
- ☐ 2 = Wyraźne spowolnienie
- ☐ 3 = Na skutek zahamowania – trudności w przeprowadzeniu badania
- ☐ 4 = Osłupienie

9. Niepokój, podniecenie ruchowe

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Zaznaczony niepokój manipulacyjny
- ☐ 2 = Wyraźny niepokój manipulacyjny, przebieganie palcami, bawienie się włosami
- ☐ 3 = Niepokój ruchowy, niemożność przebywania w jednym miejscu
- ☐ 4 = Podniecenie ruchowe, wykręcanie rąk, obgryzanie paznokci, wyrywanie włosów, przygryzanie warg

10. Lęk – objawy depresyjne

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Subiektywne: napięcie, rozdrażnienie
- ☐ 2 = Martwienie się drobiazgami
- ☐ 3 = Cechy lęku w wyrazie twarzy i w wypowiedziach
- ☐ 4 = Lęk i obawy ujawniane spontanicznie przez pacjenta

11. Lęk – objawy somatyczne

(oceniać: suchość w jamie ustnej, biegunki, wzdęcia, palpacje, objawy hiperwentylacji, pocenie się, częste oddawanie moczu, zawroty głowy, nieostre widzenie)

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Łagodnie (nieznacznie) nasilone
- ☐ 2 = Umiarkowanie nasilone
- ☐ 3 = Znaczne (ciężkie) nasilenie
- ☐ 4 = Nasilenie bardzo duże, dominuje

12. Przewód pokarmowy, brak apetytu, zaparcia

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Brak apetytu, ale pokarmy spożywa bez pomocy personelu
- ☐ 2 = Jada mało, pod namową lub przy pomocy personelu, stałe zaparcia (potrzeba stosowania laxantia)

13. Objawy somatyczne ogólne

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Uczucie ciężaru w głowie, karku, barkach, wzmożona męczliwość, utrata energii
- ☐ 2 = Znaczne nasilenie dolegliwości wymienionych w punkcie 1

14. Utrata libido, popędu seksualnego, zaburzenia miesiączkowania

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Nasilenie łagodne
- ☐ 2 = Nasilenie znaczne
- ☐ x = Nie dotyczy

15. Hipochondria

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Zaabsorbowanie problemem własnego ciała
- ☐ 2 = Nadmierna dbałość o zdrowie, obawy przed chorobą
- ☐ 3 = Narzekanie i skargi na złe zdrowie, żądanie pomocy, leczenia
- ☐ 4 = Urojenia hipochondryczne

16. Ubytek masy ciała

A = Ocena danych z wywiadu (przeszłość)

- ☐ 0 = Nie stwierdza się
- ☐ 1 = Prawdopodobnie wystąpiła utrata masy w związku z obecną chorobą
- ☐ 2 = Potwierdzona utrata masy ciała

B = Ocena stanu aktualnego (oceniać okres 1 tygodnia)

- ☐ 0 = Poniżej 0,5 kg
- ☐ 1 = Od 0,5 kg do 1 kg (na tydzień)
- ☐ 2 = Powyżej 1 kg (na tydzień)

17. Krytycyzm (wgląd)

- ☐ 0 = Poczucie obecności depresji jako choroby (krytycyzm zachowany)
- ☐ 1 = Krytycyzm częściowo zachowany – poczucie obecności choroby, ale jest ona następstwem np. wadliwej diety, infekcji, przemęczenia itp
- ☐ 2 = Brak krytycyzmu

SUMA PUNKTÓW:

SKALA DEPRESJI MONTGOMERY – ASBERG (MADRS)

Imię i nazwisko Data

Data urodzenia

1. SMUTEK OBSERWOWANY PRZEZ BADAJĄCEGO

Ocena dotyczy przygnębienia, ponurego nastroju, rozpacz (czegoś więcej niż przejściowe obniżenie nastroju), które znajdują odzwierciedlenie w mowie, wyrazie twarzy i postawie ciała, należy oceniać nasilenie zaburzeń i niemożliwość poprawy nastroju chorego.

- ☐0. Nie stwierdza się smutku.
- ☐1.
- ☐2. Pacjent sprawia wrażenie smutnego, ale bez trudności można go pocieszyć.
- ☐3.
- ☐4. Przez większość czasu sprawia wrażenie smutnego i nieszczęśliwego.
- ☐5.
- ☐6. Przez cały czas sprawia wrażenie bardzo smutnego. Skrajnie przygnębiony.

2. SKARGI NA SMUTEK

Ocena dotyczy skarg na nastrój depresyjny, niezależnie od tego, czy znajdują one odzwierciedlenie w wyglądzie chorego, czy też nie.

- ☐0. Sporadycznie występuje smutek, związany z okolicznościami życiowymi.
- ☐1.
- ☐2. Smutek lub przygnębienie, ale nastrój może bez trudności ulec poprawie.
- ☐3.
- ☐4. Przenikliwe uczucie smutku lub przygnębienia.
- ☐5.
- ☐6. Smutek, przygnębienie, cierpienie utrzymują się stale, nie ulegają wahaniom

3. POCZUCIE NAPIĘCIA WEWNĘTRZNEGO

Ocena poczucia dyskomfortu związanego z chorobą, zdenerwowania, niepokoju wewnętrznego, napięcia psychicznego sięgającego paniki lub przerażenia i udręki. Przy ocenie należy brać pod uwagę nasilenie, częstość, czas występowania oraz stopień, w jakim pacjent domaga się pomocy.

- ☐ 0. Pacjent spokojny. Jedyne przelotne poczucie napięcia wewnętrznego.
- ☐ 1.
- ☐ 2. Okresowo występuje poczucie zdenerwowania i dyskomfortu związanego z chorobą.
- ☐ 3.
- ☐ 4. Stałe poczucie napięcia wewnętrznego lub pojawiające się okresowo napady paniki, nad którymi pacjent z trudnością panuje.
- ☐ 5.
- ☐ 6. Ciągłe uczucie lęku lub przerażenia. Przytłaczająca panika.

4. SKRÓCENIE SNU

Ocena dotyczy poczucia skrócenia czasu trwania i głębokości snu w porównaniu z normalnym wzorcem snu w czasie zdrowia.

- ☐ 0. Pacjent śpi jak zwykle.
- ☐ 1.
- ☐ 2. Niewielkie trudności w zasypianiu lub niewielkie skrócenie bądź spłylenie snu (sen przerywany).
- ☐ 3.
- ☐ 4. Skrócenie snu o co najmniej 2 godziny lub co najmniej 2 – godzinna przerwa we śnie.
- ☐ 5.
- ☐ 6. Mniej niż 2 lub 3 godziny snu.

5. ZMNIEJSZENIE APETYTU

Ocena dotyczy poczucia utraty apetytu w porównaniu z okresem zdrowia. Należy ocenić stopień utraty chęci do jedzenia lub stopień przymusu, który trzeba stosować, żeby nakarmić chorego.

- ☐ 0. Apetyt normalny lub wzmożony.
- ☐ 1.
- ☐ 2. Apetyt nieznacznie zmniejszony.
- ☐ 3.
- ☐ 4. Brak apetytu. Jedzenie pozbawione smaku.
- ☐ 5.
- ☐ 6. Chory wymaga namawiania do jedzenia.

6. TRUDNOŚCI W KONCENTRACJI UWAGI

Ocena dotyczy trudności w skupieniu myśli, aż do całkowitej niezdolności do koncentracji. Należy ocenić nasilenie, częstość i stopień niewydolności wynikających z zaburzeń koncentracji.

- ☐ 0. Nie stwierdza się trudności w koncentracji uwagi.
- ☐ 1.
- ☐ 2. Przemijające trudności w skupieniu myśli.
- ☐ 3.
- ☐ 4. Trudności w koncentracji i skupieniu myśli zmniejszające zdolność do czytania lub podtrzymywania rozmowy.
- ☐ 5.
- ☐ 6. Czytanie lub prowadzenie rozmowy wymaga wielkiego wysiłku.

7. ZNUŻENIE, MĘCZLIWOŚĆ

Ocena obejmuje trudności w rozpoczynaniu lub powolne rozpoczynanie i wykonywanie codziennych czynności.

- ☐ 0. Nie stwierdza się trudności w podejmowania działania. Spowolnienie nie występuje.
- ☐ 1.
- ☐ 2. Trudności w rozpoczynaniu czynności.
- ☐ 3.
- ☐ 4. Trudności w rozpoczynaniu prostych, codziennych czynności. Ich wykonywanie wymaga od pacjenta wysiłku.
- ☐ 5.
- ☐ 6. Stałe znużenie. Pacjent nie jest zdolny do wykonywania jakichkolwiek czynności bez pomocy.

8. NIEMOŻNOŚĆ PRZEŻYWANIA UCZUĆ

Ocena obejmuje subiektywne poczucie obniżenia zainteresowania otoczeniem lub czynnościami, które zwykle sprawiały przyjemność. Mniejsza zdolność dostosowanej reakcji emocjonalnej na otoczenie lub innych ludzi.

- ☐ 0. Normalne zainteresowanie otoczeniem i innymi ludźmi.
- ☐ 1.
- ☐ 2. Obniżenie zdolności do czerpania radości ze zwykłych zainteresowań.
- ☐ 3.
- ☐ 4. Utrata zainteresowania otoczeniem. Utrata uczuć dla przyjaciół i znajomych.
- ☐ 5.
- ☐ 6. Poczucie braku emocji, niemożność odczuwania gniewu, żalu lub przyjemności i całkowity lub nawet bolesny brak uczuć wobec najbliższej rodziny oraz przyjaciół.

9. PESYMISTYCZNE MYŚLI

Ocena obejmuje poczucie winy, poczucie mniejszej wartości, stawianie sobie zarzutów, przekonanie o własnej grzeszności, wyrzuty sumienia i przekonanie o własnej zagładzie.

- ☐ 0. Nie ma pesymistycznych myśli.
- ☐ 1.
- ☐ 2. Przemijające myśli o niepowodzeniach, samooskarżanie się lub deprecjonowanie własnej wartości. .
- ☐ 3.
- ☐ 4. Stałe samooskarżanie się lub zdecydowane, ale wciąż mieszczące się w granicach racjonalnych myśli o winie i grzechu. Pesymistyczna ocena przyszłości.
- ☐ 5.
- ☐ 6. Urojenia klęski materialnej, grzechu, którego nie można odkupić i winy. Samooskarżanie się absurdałne i niezmiennie w treści.

10. MYŚLI SAMOBÓJCZE

Ocena dotyczy przekonania, że nie warto żyć, że śmierć z przyczyn naturalnych byłaby wybawieniem, myśli samobójczych i przygotowań do samobójstwa. Próby samobójcze same przez się nie mają wpływu na ocenę.

- ☐ 0. Pacjent cieszy się życiem, lub przyjmuje je takim jakie jest.
- ☐ 1.
- ☐ 2. Znużenie życiem. Przelotne myśli o samobójstwie.
- ☐ 3.
- ☐ 4. Prawdopodobnie lepiej byłoby nie żyć. Myśli samobójcze występują często, a samobójstwo jest rozważane jako możliwe rozwiązanie, ale bez dokładnych planów i zamiarów.
- ☐ 5.
- ☐ 6. Plany popełnienia samobójstwa, jeśli nadarzy się okazja. Aktywne przygotowania do popełniania samobójstwa.

SUMA PUNKTÓW:

INWENTARZ OBJAWÓW DEPRESYJNYCH BECKA (BDI)

Nazwisko i imię Data badania
Nr.....

INSTRUKCJA

Kwestionariusz ten zawiera grupy stwierdzeń (zdań). Przeczytaj każdą z tych grup stwierdzeń uważnie. Następnie wybierz jedno stwierdzenie z każdej grupy, które najbardziej trafnie opisuje Twoje odczucie w **mijającym tygodniu, łącznie z dniem dzisiejszym**. Zakreśl cyfrę przed tym stwierdzeniem, które wybrałeś. Jeżeli dwa lub więcej stwierdzeń w danej grupie wydają ci się równie prawdziwe, zakreśl je. Koniecznie przeczytaj wszystkie stwierdzenia w każdej grupie przed Twoim wyborem.

- I 0. Nie czuję się smutny
 1. Czuję się smutny
 2. Jestem smutny cały czas i nie mogę otrząsnąć się z tego
 3. Jestem tak smutny i nieszczęśliwy, że nie mogę tego wytrzymać

- II 0. Wobec przyszłości nie czuję się zniechęcony
 1. Czuję się zniechęcony wobec przyszłości
 2. Czuję, że niczego dobrego nie mogę się spodziewać
 3. Mam poczucie, że przyszłość wygląda beznadziejnie a moje położenie się nie zmienia

- III 0. Nie czuję się jak osoba pozbawiona zdolności
 1. Myślę, że mam więcej niepowodzeń niż przeciętni ludzie
 2. Jeżeli patrzę wstecz na moje życie widzę same niepowodzenia
 3. Czuję, że jestem zupełnie nieudany jako osoba

- IV 0. Mam tyle przyjemności z życia co zazwyczaj
 1. Nie cieszę się z życia tak jak to było dawniej
 2. Nie odczuwam przyjemności z czegokolwiek
 3. Nie odczuwam żadnej satysfakcji i nudzi mnie wszystko

- V 0. Nie czuję się szczególnie przybity
 1. Czuję się przybity nawet wówczas, gdy ogólnie mam niezłe samopoczucie
 2. Większość czasu czuję się przybity
 4. Czuję się przybity przez cały czas

- VI 0. Nie czuję, że jestem karany
 1. Czuję, że chyba jestem za coś karany
 2. Spodziewam się, że będę karany
 3. Mam poczucie, że jestem karany

- VII 0. Nie czuję się zawiedziony przez siebie samego
 1. Zawiodłem się na samym sobie
 2. Czuję do siebie obrzydzenie
 3. Nienawidzę siebie
- VIII 0. Nie czuję się gorszy od innych ludzi
 1. Jestem krytyczny w stosunku do swoich błędów i słabości
 2. Obwiniam siebie w przypadkach, jeżeli coś mi się nie uda
 3. Obwiniam siebie za wszystkie złe zdarzenia, które mi się przytrafiły
- IX 0. Nie mam takich myśli, aby zrobić sobie coś złego
 1. Niekiedy myślę, aby popełnić samobójstwo, ale wiem, że tego nie zrobię
 2. Chciałbym popełnić samobójstwo
 3. Popełnię samobójstwo, jak tylko będę miał okazję
- X 0. Nie jestem bardziej rozdrażniony i poirytowany niż zazwyczaj
 1. Stałem się bardziej rozdrażniony i poirytowany niż zazwyczaj
 2. Czuję się poirytowany przez cały czas
 3. Już nie jestem zdolny irytować się na wszystkie te rzeczy, które dawniej mnie irytowały
- XI 0. Nie płaczę częściej niż zazwyczaj
 1. Płaczę częściej niż zazwyczaj
 2. Teraz płaczę cały czas
 3. Chciałbym być zdolny do płaczu, lecz już tego nie potrafię
- XII 0. Nie straciłem zainteresowań innymi ludźmi
 1. Inni ludzie interesują mnie mniej niż zazwyczaj
 2. Straciłem większość zainteresowań innymi ludźmi
 3. Zupełnie nie interesuję się innymi ludźmi
- XIII 0. Podejmuję decyzje równie łatwo jak kiedyś
 1. Odkładam podjęcie decyzji częściej niż poprzednio
 2. Mam duże trudności w podejmowaniu decyzji, znacznie większe niż poprzednio
 3. Nie mogę zdecydować o czymkolwiek
- XIV 0. Nie wydaje mi się, abym wyglądał gorzej niż dawniej
 1. Obawiam się, że wyglądam bardziej poszarzałe i mniej atrakcyjnie
 2. Czuję, że wyglądam coraz gorzej i mniej atrakcyjnie
 3. Wierzę, że wyglądam okropnie
- XV 0. Mogę pracować tak dobrze jak poprzednio
 1. Muszę zdobywać się na więcej wysiłku, aby zacząć coś robić
 2. Muszę nakłaniać się bardzo mocno, aby zacząć cokolwiek
 3. Nie mogę zrobić cegokolwiek

- XVI

 0. Mogę spać tak dobrze jak dawniej
 1. Nie mogę spać tak dobrze jak dawniej
 2. Budzę się 1-2 godziny wcześniej i muszę zmuszać się, aby ponownie zasnąć
 3. Budzę się kilka godzin wcześniej niż zazwyczaj i nie mogę już zasnąć

XVII

 0. Nie męczę się szybciej niż zazwyczaj
 1. Męczę się szybciej niż zazwyczaj
 2. Odczuwam zmęczenie, kiedy rozpoczynam robić niektóre rzeczy
 3. Jestem zbyt zmęczony aby zrobić cokolwiek

XVIII

 0. Mam apetyt taki sam jak zwykle
 1. Mój apetyt nie jest tak dobry jak poprzednio
 2. Teraz mój apetyt jest o wiele gorszy
 3. Nie mam apetytu na cokolwiek

XIX

 0. Moja waga utrzymuje się w normie
 1. Ubyłem na wadze więcej niż 2 kg
 2. Ubyłem na wadze więcej niż 4 kg
 3. Ubyłem na wadze więcej niż 7 kg

XX

 0. Nie martwię się o swoje zdrowie bardziej niż zazwyczaj
 1. Martwią mnie takie dolegliwości jak: bóle, rozstrój żołądka czy zatwardzenie
 2. Moje problemy zdrowotne coraz bardziej zaprzatają moją uwagę
 3. Tak bardzo martwię się o stan swojego zdrowia, że nie mogę myśleć o czymkolwiek innym

XXI

 0. Nie zauważyłem ostatnio zmian w zainteresowaniu sprawami seksu
 1. Jestem zainteresowany sprawami seksualnymi mniej niż dawniej
 2. Moje zainteresowanie sprawami seksualnymi znacznie zmalało
 3. Straciłem wszelkie zainteresowanie dla spraw seksualnych

SUMA PUNKTÓW.....

OŚWIADCZENIE ZGODY PACJENTA - WERSJA DLA KOBIET

W badaniu: „*Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej*”

Badanie zostało mi wyjaśnione i miałam okazję do zadawania pytań, na które udzielono mi odpowiedzi. Wszystkie odpowiedzi na dotychczas zadane pytania są wyczerpujące. Wiem, że mogę w dalszym ciągu zadawać pytania, na które uzyskam odpowiedzi.

Zgadzam się zostać uczestnikiem badania.

Wiadomo mi, że wolno mi wycofać zgodę i zrezygnować z uczestnictwa w tym badaniu w każdym momencie i że nie wpłynie to w żaden sposób na rodzaj i jakość mojego przyszłego leczenia.

Poinformowano mnie, że „jeżeli” jestem w wieku rozrodczym i mogę zajść w ciążę, to należy wziąć pod uwagę możliwe, obecnie nieznane uboczne skutki działania leków na płód, które mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia i życia dziecka, gdyby doszło do ciąży.

Aby zapobiec temu zagrożeniu zalecono w czasie uczestnictwa w badaniu: Całkowite zaprzestanie stosunków seksualnych (jedyne pewny sposób zapobieganiu ciąży) lub stosowanie w porozumieniu z lekarzem przynajmniej dwóch określonych metod antykoncepcji, np. chemicznej (hormonalnej) i mechanicznej.

Przeczytałam i rozumiem zarówno formularz zgody jak i opis badania. Dobrowolnie podpisuję ten formularz, jako dowód mojej decyzji wzięcia udziału w badaniu.

Podpis pacjentki.....Data:.....

Podpis badacza:.....Data:.....

OŚWIADCZENIE ZGODY PACJENTA - WERSJA DLA MĘŻCZYZN

W badaniu: „*Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej*”

Badanie zostało mi wyjaśnione i miałem okazję do zadawania pytań, na które udzielono mi odpowiedzi. Wszystkie odpowiedzi na dotychczas zadane pytania są wyczerpujące. Wiem, że mogę w dalszym ciągu zadawać pytania, na które uzyskam odpowiedzi.

Zgadzam się zostać uczestnikiem badania.

Wiadomo mi, że wolno mi wycofać zgodę i zrezygnować z uczestnictwa w tym badaniu w każdym momencie i że nie wpłynie to w żaden sposób na rodzaj i jakość mojego przyszłego leczenia.

Przeczytałem i rozumiem zarówno formularz zgody jak i opis badania. Dobrowolnie podpisuję ten formularz, jako dowód mojej decyzji wzięcia udziału w badaniu.

Podpis pacjenta.....Data:.....

Podpis badacza:.....Data:.....

OŚWIADCZENIE ZGODY ZDROWEGO OCHOTNIKA

W badaniu: „*Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej*”

Badanie zostało mi wyjaśnione i miałem okazję do zadawania pytań, na które udzielono mi odpowiedzi. Wszystkie odpowiedzi na dotychczas zadane pytania są wyczerpujące. Wiem, że mogę w dalszym ciągu zadawać pytania, na które uzyskam odpowiedzi.

Zgadzam się zostać uczestnikiem badania w charakterze zdrowego ochotnika i w związku z tym wyrażam zgodę na jednokrotne pobranie krwi .

Dobrowolnie podpisuję ten formularz, jako dowód mojej decyzji wzięcia udziału w badaniu.

Podpis pacjenta.....Data:.....

Podpis badacza:.....Data:.....

FORMULARZ ŚWIADOMEJ ZGODY I INFORMACJI DLA PACJENTA - WERSJA DLA KOBIET

W badaniu: „Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej”

INFORMACJA DLA PACJENTKI:

W ocenie lekarza spełnia Pani kryteria włączenia do udziału w badaniu poświęconemu skojarzonemu leczeniu depresji przy zastosowaniu Imipraminy w połączeniu z preparatem cynku (Zincas Forte) lub niedziałającej substancji - placebo. Zanim zadecyduje Pani o chęci udziału proszę uważnie przeczytać poniższą informację. ***Udział w badaniu jest całkowicie dobrowolny. W każdym momencie istnieje możliwość wycofania się Pani z udziału w badaniu bez ponoszenia konsekwencji i wpływu na dalszą opiekę medyczną.***

CO JEST BADANYM LEKIEM:

W tym badaniu do tradycyjnego leku przeciwdepresyjnego – Imipraminy dodajemy jedną z dwóch substancji:

1. Cynk
2. Niedziałającą substancję – placebo.

DANE O SPODZIEWANYCH KORZYŚCIACH LECZNICZYCH I POZNAWCZYCH DLA OSÓB PODDANYCH BADANIU, A TAKŻE O RYZYKU WYNIKAJĄCYM Z UDZIAŁU W BADANIU

Dotychczasowe dane sugerują, iż połączenie imipraminy z cynkiem stwarza możliwość uzyskania wysokiej efektywności leczenia depresji przy jednoczesnym zachowaniu wysokiego stopnia bezpieczeństwa dla pacjenta. Podkreślić należy, że wszyscy pacjenci uczestniczący w badaniu otrzymają aktywne, skuteczne leczenie przeciwdepresyjne, należące do standardów współczesnej farmakoterapii (imipramina). Dużą korzyścią dla pacjentów, objętych łącznym leczeniem imipraminą i cynkiem, może być wcześniejsze wystąpienie efektu terapeutycznego i szybsze osiągnięcie stanu pełnej remisji.

W przypadku niezaobserwowania spodziewanej efektywności cynku jako preparatu wzmacniającego działanie przeciwdepresyjne imipraminy, pacjenci objęci takim leczeniem nie ponoszą dodatkowego ryzyka związanego z nieskutecznym leczeniem antydepresyjnym, jako że pozostają przez cały czas w leczeniu imipraminą. Wszelkie podejrzenia o nieskuteczność stosowanej w badaniu imipraminy i związane z tym pogarszanie się stanu psychicznego oraz pojawianie się ciężkich objawów jej nietolerancji będą wiązały się z wyłączeniem z badania i podjęciem u pacjenta innego adekwatnego leczenia przeciwdepresyjnego.

Imipramina jest lekiem stosowanym w farmakoterapii psychiatrycznej od ponad 40 lat – należy ona do najskuteczniejszych i najlepiej zbadanych leków przeciwdepresyjnych - jej skuteczność oraz bezpieczeństwo zostały sprawdzone i udowodnione w wielu badaniach klinicznych. W dniach wyznaczonych na spotkania kontrolne lekarz prowadzący badanie przeprowadzi dokładny wywiad dotyczący objawów ubocznych, jednak w przypadku pojawienia się jakichkolwiek niepokojących lub powodujących dyskomfort objawów proszę od niezwłoczny kontakt z lekarzem prowadzącym badanie (lek. med. Marcin Siwek, tel.606-364-514).

Zastosowanie preparatu cynku uzasadniają wyniki badań eksperymentalnych wskazujących, iż może on być środkiem wspomagającym leczenie depresji. Używany w badaniu preparat cynku jest zarejestrowany w Polsce, bezpiecznym i dobrze tolerowanym lekiem używanym w profilaktyce i leczeniu niedoborów tego pierwiastka. W przeprowadzonym w Klinice Psychiatrii Dorosłych pilotażowym badaniu łącznego podawania imipraminy oraz cynku – nie zaobserwowano objawów niepożądanych typowych dla nietolerancji cynku; połączenie imipraminy i cynku nie wiązało się również z nasileniem i zwiększeniem częstości pojawiania się objawów ubocznych typowych dla imipraminy.

Należy podkreślić, że przyjęcie dużej ilości tabletek zawierających cynk (np. przyjęcie omyłkowe lub w celach samobójczych) grozi zatruciem, do którego objawów należą: nudności, wymioty, bóle w okolicy brzucha, biegunka, bóle głowy, ból w jamie ustnej. W każdym przypadku przyjęcia większej niż zalecana ilości tabletek lub w przypadku pojawienia się wyżej wymienionych objawów należy niezwłocznie skontaktować się z lekarzem prowadzącym badanie lub lekażem dyżurnym Kliniki Psychiatrii Dorosłych (tel. 424-87-08)

Placebo jest substancją nie mającą ani pozytywnego, ani negatywnego wpływu na efekt leczenia imipraminą. Przyjmowanie placebo nie ma żadnego groźnego wpływu na życie lub zdrowie pacjenta.

SPOSÓB PRZEPROWADZANIA BADANIA:

Badanie poprzedzone będzie siedmiodniowym okresem podawania samych leków uspokajających, co umożliwi wygaśnięcie działania wcześniej stosowanych leków przeciwdepresyjnych. W dniu rozpoczęcia badania wprowadzone zostanie leczenie przeciwdepresyjne preparatem imipramina, podawanym doustnie. **Do imipraminy na drodze losowego wyboru zostanie na okres 12 tygodni dołączony preparat cynku lub nie działająca substancja – placebo.** Obydwie substancje – cynk i placebo – mają identyczny wygląd i będą nazywane „Preparatem badanym” i do końca obserwacji, zarówno lekarz prowadzący badanie jak i pacjent, nie wiedzą, która z dwóch wymienionych substancji przyjmowana jest przez pacjenta. Jednak w przypadku wystąpienia wszelkich niepokojących objawów oraz objawów zatrucia w każdym momencie ze względów bezpieczeństwa istnieje możliwość sprawdzenia, czy „badanym preparatem” jest cynk czy też placebo. W dniu włączenia do badania, po 2, 6 oraz 12 tygodniach od wprowadzenia leku przeciwdepresyjnego zostanie przeprowadzone pobranie krwi, umożliwiające pomiar morfologii krwi i poziomu cynku w surowicy.

ANTYKONCEPCJA: Jeżeli jest Pani w wieku rozrodczym i może zajść w ciążę, to należy wziąć pod uwagę możliwe, obecnie nieznane uboczne skutki działania leków na płód, które mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia i życia dziecka, gdyby doszło do ciąży. Aby zapobiec temu zagrożeniu zalecamy w czasie uczestnictwa w badaniu: całkowite zaprzestanie stosunków seksualnych (jedyne pewny sposób zapobieganiu ciąży) lub stosowanie w porozumieniu z lekarzem przynajmniej dwóch określonych metod antykoncepcji, np. chemicznej (hormonalnej) i mechanicznej

Poufność: Podczas badania i po jego zakończeniu Pani dokumentacja medyczna będzie dostępna wyłącznie zespołowi prowadzącemu badanie. Informacje będą traktowane jako ściśle poufne, a Pani nazwisko nie pojawi się w żadnej publikacji powstałej w wyniku badania.

FORMULARZ ŚWIADOMEJ ZGODY I INFORMACJI DLA PACJENTA - WERSJA DLA MĘŻCZYŹN

W badaniu: „*Rola cynku w terapii depresji jednobiegunowej*”

INFORMACJA DLA PACJENTA:

W ocenie lekarza spełnia Pan kryteria włączenia do udziału w badaniu poświęconemu skojarzonemu leczeniu depresji przy zastosowaniu Imipraminy w połączeniu z preparatem cynku (Zincas Forte) lub nie działającej substancji - placebo. Zanim zadecyduje Pan o chęci udziału, proszę uważnie przeczytać poniższą informację. ***Udział w badaniu jest całkowicie dobrowolny. W każdym momencie istnieje możliwość wycofania się Pana z udziału w badaniu bez ponoszenia konsekwencji i wpływu na dalszą opiekę medyczną***

CO JEST BADANYM LEKIEM:

W tym badaniu do tradycyjnego leku przeciwdepresyjnego – Imipraminy dodajemy „lek badany” będący jedną z dwóch substancji:

1. Cynk
2. Nie działającą substancję – placebo.

DANE O SPODZIEWANYCH KORZYŚCIACH LECZNICZYCH I POZNAWCZYCH DLA OSÓB
PODDANYCH BADANIU, A TAKŻE O RYZYKU WYNIKAJĄCYM Z UDZIAŁU W BADANIU.

Dotychczasowe dane sugerują, iż połączenie imipraminy z cynkiem stwarza możliwość uzyskania wysokiej efektywności leczenia depresji przy jednoczesnym zachowaniu wysokiego stopnia bezpieczeństwa dla pacjenta. Podkreślić należy, że wszyscy pacjenci uczestniczący w badaniu otrzymają aktywne, skuteczne leczenie przeciwdepresyjne, należące do standardów współczesnej farmakoterapii (imipramina). Dużą korzyścią dla pacjentów, objętych łącznym leczeniem imipraminą i cynkiem, może być wcześniejsze wystąpienie efektu terapeutycznego i szybsze osiągnięcie stanu pełnej remisji.

W przypadku niezaobserwowania spodziewanej efektywności cynku jako preparatu wzmacniającego działanie przeciwdepresyjne imipraminy, pacjenci objęci takim leczeniem nie ponoszą ryzyka związanego z nieskutecznym leczeniem antydepresyjnym, jako że pozostają przez cały czas w leczeniu imipraminą. Wszelkie podejrzenia o nieskuteczność stosowanej w badaniu imipraminy i związane z tym pogarszanie się stanu psychicznego oraz pojawianie się ciężkich objawów jej nietolerancji będą wiązały się z wyłączeniem z badania i podjęciem u pacjenta innego adekwatnego leczenia przeciwdepresyjnego.

Imipramina jest lekiem stosowanym w farmakoterapii psychiatrycznej od ponad 40 lat – należy ona do najskuteczniejszych i najlepiej zbadanych leków przeciwdepresyjnych - jej skuteczność oraz bezpieczeństwo zostały sprawdzone i udowodnione w wielu badaniach klinicznych. W dniach wyznaczonych na spotkania kontrolne lekarz prowadzący badanie przeprowadzi dokładny wywiad dotyczący objawów ubocznych, jednak w przypadku pojawienia się jakichkolwiek niepokojących lub powodujących dyskomfort objawów proszę od niezwłoczny kontakt z lekarzem prowadzącym badanie (lek. med. Marcin Siwek, tel.606-364-514).

Zastosowanie preparatu cynku uzasadniają wyniki badań eksperymentalnych wskazujących, iż może on być środkiem wspomagającym leczenie depresji. Używany w badaniu preparat cynku jest zarejestrowany w Polsce, bezpiecznym i dobrze tolerowanym lekiem używanym w profilaktyce i leczeniu niedoborów tego pierwiastka. W przeprowadzonym w Klinice Psychiatrii Dorosłych pilotażowym badaniu łącznego podawania imipraminy oraz cynku – nie zaobserwowano objawów niepożądanych typowych dla nietolerancji cynku; połączenie imipraminy i cynku nie wiązało się również z nasileniem i zwiększeniem częstości pojawiania się objawów ubocznych typowych dla imipraminy.

Należy podkreślić, że przyjęcie dużej ilości tabletek zawierających cynk (np. przyjęcie omyłkowe lub w celach samobójczych) grozi zatruciem, do którego objawów należą: nudności, wymioty, bóle w okolicy brzucha, biegunka, bóle głowy, ból w jamie ustnej. W każdym przypadku przyjęcia większej niż zalecana ilości tabletek lub w przypadku pojawienia się wyżej wymienionych objawów należy niezwłocznie skontaktować się z lekarzem prowadzącym badanie lub lekażem dyżurnym Kliniki Psychiatrii Dorosłych (tel. 424-87-08)

Placebo jest substancją nie mającą ani pozytywnego, ani negatywnego wpływu na efekt leczenia imipraminą. Przyjmowanie placebo nie ma żadnego groźnego wpływu na życie lub zdrowie pacjenta.

SPOSÓB PRZEPROWADZANIA BADANIA:

Badanie poprzedzone będzie siedmiodniowym okresem podawania samych leków uspokajających, co umożliwi wygaśnięcie działania wcześniej stosowanych leków przeciwdepresyjnych. W dniu rozpoczęcia badania wprowadzone zostanie leczenie przeciwdepresyjne preparatem imipramina, podawanym doustnie. **Do imipraminy na drodze losowego wyboru zostanie na okres 12 tygodni dołączony preparat cynku lub nie działająca substancja – placebo. Obydwie substancje – cynk i placebo – mają identyczny wygląd i będą nazywane „Preparatem badanym” i do końca obserwacji, zarówno lekarz prowadzący badanie jak i pacjent, nie wiedzą, która z dwóch wymienionych substancji przyjmowana jest przez pacjenta. Jednak w przypadku wystąpienia wszelkich niepokojących objawów oraz objawów zatrucia w każdym momencie ze względów bezpieczeństwa istnieje możliwość sprawdzenia czy „badany preparat” jest cynk czy też placebo.** W dniu włączenia do badania, po 2, 6 oraz 12 tygodniach od wprowadzenia leku przeciwdepresyjnego, zostanie przeprowadzone pobranie krwi umożliwiające pomiar morfologii krwi i poziomu cynku w surowicy.

POUFNOŚĆ: Podczas badania i po jego zakończeniu Pana dokumentacja medyczna będzie dostępna wyłącznie zespołowi prowadzącemu badanie. Informacje będą traktowane jako ściśle poufne, a Pana nazwisko nie pojawi się w żadnej publikacji powstałej w wyniku badania.