

VIII. Streszczenie

Wyniki badań epidemiologicznych wskazują na związek pomiędzy zmniejszeniem podaży cynku, a rozwojem depresji. Ograniczenie zawartości cynku w diecie zwierząt doświadczalnych powoduje behawioralne symptomy depresji. Te dane sugerują możliwość wykorzystania w badaniach przedklinicznych nowego modelu depresji – deficytu cynku. Model ten nie został do tej pory opisany w szczegółowy sposób, a jego charakterystyka była celem niniejszej pracy doktorskiej. Biorąc pod uwagę udział receptorów NMDA (aktywowanych przez kwas N-metylo-D-asparaginowy) w patofizjologii depresji, w niniejszej pracy zbadano czy dieta o zmniejszonej zawartości cynku wywołuje zachowanie przypominające depresję oraz zmiany w obrębie szlaku białek związanych z receptorem NMDA w strukturach mózgu powiązanych z etiopatogenezą depresji, a także wpływ chronicznych podań standardowego leku przeciwdepresyjnego na powstałe zmiany w zachowaniu i zmiany neurobiologiczne.

W pierwszej części doświadczeń szczury rasy Sprague Dawley otrzymywały paszę o prawidłowej zawartości cynku (ZnA, 50 mg Zn/kg) lub paszę o zmniejszonej zawartości cynku (ZnD, 3 mg Zn/kg) przez 4 lub 6 tygodni. Po 4 lub 6 tygodniach ich zachowanie było oceniane w testach: wymuszonego pływania, spożycia 1% roztworu sacharozy i interakcji socjalnych. Po 4 lub 6 tygodniach diety zbadano ekspresję (metodą Western blot) podjednostek GluN2A i GluN2B receptora NMDA oraz białek PSD-95, p-CREB, BDNF i p-TrkB w hipokampie (Hp) i korze przedczołowej (PFC). Ponadto, wykonano analizę składu pierwiastkowego metodami: fluorescencji rentgenowskiej z wykorzystaniem zjawiska całkowitego odbicia promieniowania X (TXRF) i płomieniowej spektroskopii absorpcyjnej (FAAS) hipokampa, kory przedczołowej i surowicy oraz oznaczono stężenie kortykosteronu w surowicy, a także stężenia cynku, żelaza i glutamianu w przestrzeni pozakomórkowej w PFC. Po 4 i 6 tygodniach ograniczenia podaży cynku zaobserwowano wydłużenie czasu bezruchu w teście wymuszonego pływania, zmniejszenie spożycia 1% roztworu sacharozy i osłabienie zachowania socjalnego oraz nasilenie ekspresji białek GluN2A i GluN2B w hipokampie, któremu towarzyszyło zmniejszenie ekspresji białek p-CREB i BDNF. Up-regulację podjednostki GluN2A zaobserwowano także w korze przedczołowej, ale tylko po 6 tygodniach ograniczenia podaży cynku. 4 lub 6 tygodni diety z niedoborem cynku spowodowały zmniejszenie stężenia cynku oraz wzrost stężeń żelaza i kortykosteronu

w surowicy szczurów. Po 4 tygodniach diety niskocynkowej zaobserwowano zmniejszenie poziomu cynku w korze przedczołowej i hipokampie oraz zmniejszenie poziomu żelaza w korze przedczołowej. Po 6 tygodniach diety poziom cynku nie różnił się w korze przedczołowej, ani w hipokampie, pomiędzy grupami deficytową a kontrolną, ale stężenie cynku w przestrzeni pozakomórkowej w PFC po depolaryzacji było zmniejszone w grupie deficytowej i towarzyszyło mu zwiększenie stężenia glutaminianu w tej przestrzeni. Po 6 tygodniach diety zaobserwowano także wzrost poziomu żelaza w korze przedczołowej i wzrost uwalniania żelaza do przestrzeni pozakomórkowej w PFC po depolaryzacji.

W drugiej części doświadczeń zwierzęta otrzymywały paszę o zmniejszonej zawartości cynku (ZnD) lub paszę kontrolną (ZnA) przez 4 tygodnie, a przez kolejne 2 tygodnie otrzymywały, oprócz diety, fluoksetynę (FLX) (10 mg/kg m.c./dzień, i.p) lub 0.9% NaCl. Po zakończeniu podań związków wykonano test wymuszonego pływania, a następnie pobrano tkanki do dalszych badań. W hipokampie oznaczono ekspresję białek: GluN1, GluN2A, GluN2B (podjednostki receptora NMDA), GluA1 (podjednostka receptora AMPA), p-CREB i BDNF (metodą Western blot). W surowicy oznaczono stężenie cynku (metodą TXRF). Chroniczne podania FLX znormalizowały wydłużony czasu bezruchu, wywołany niedoborem cynku, w teście wymuszonego pływania. Niedobór cynku spowodował zmniejszenie stężenia cynku w surowicy, a także zwiększenie ekspresji białek GluN1, GluN2A i GluN2B oraz zmniejszenie ekspresji białek pS485-GluA1, p-CREB i BDNF w hipokampie. Chroniczne podania FLX znormalizowały wywołane niedoborem cynku zmiany w poziomie cynku w surowicy oraz poziomie białek GluN1, GluN2A, GluN2B i p-CREB, ale nie BDNF lub pS845-GluA1 w hipokampie.

Ograniczenie podaży cynku powoduje u szczurów zmiany behawioralne naśladujące objawy depresji, którym towarzyszą zmiany w ekspresji białek szlaku receptora NMDA w strukturach mózgu ważnych dla etiopatogenezy depresji oraz redystrybucja pierwiastków powiązanych z funkcjonowaniem tego receptora. Uzyskane wyniki sugerują podobieństwo modelu deficytu cynku do depresji w zakresie objawów i neurobiologii. Obserwacje, że zachowanie przypominające depresję i zmiany biochemiczne wywołane niedoborem cynku są niwelowane poprzez chroniczne podania standardowego leku, fluoksetyny, sugerują potencjalną przydatność modelu do badania działania przeciwdepresyjnego związków.