

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAKLJUČNA NALOGA

POMEN PREHRANSKIH PREKURZORSKIH
AMINOKISLIN – TRIPTOFANA IN TIROZINA – TER
APLIKACIJA NA NEKATERA PSIHOLOŠKA STANJA

ZAKLJUČNA NALOGA

PATRIK ZLATIĆ

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Zaključna naloga

**Pomen prehranskih prekurzorskih aminokislin – triptofana in tirozina –
ter aplikacija na nekatera psihološka stanja**

(The importance of dietary precursor amino acids – tryptophan and tyrosine – and the
application to some psychological states)

Ime in priimek: Patrik Zlatič

Študijski program: Biopsihologija

Mentor: izr. prof. dr. Gorazd Drevenšek

Koper, september 2013

Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Patrik ZLATIČ

Naslov zaključne naloge: Pomembnost prehranskih prekurzorskih aminokislin – triptofana in tirozina – ter aplikacija na nekatera negativna psihološka stanja

Kraj: Koper

Leto: 2013

Število listov: 44

Število slik: 3

Število tabel: 2

Število prilog: 0

Število strani prilog: 0

Število referenc: 130

Mentor: izr. prof. dr. Gorazd Drevenšek

Somentor: /

UDK: /

Ključne besede: tirozin, triptofan, kateholamini, serotonin, prehranske beljakovine, ogljikovi hidrati

Izvleček:

V delu so predstavljeni izsledki raziskav s področja nutricionistike, psihofarmakologije, biologije in psihologije. V nalogi sem ovrednotil možnost vplivanja na sisteme živčnih prenašalcev preko prehrane, namesto z uporabo sintetičnih zdravil, pri odpravi ali ublažitvi nekliničnih psiholoških nelagodij. Serotonin in kateholamini so primarni monoamini v možganih sesalcev, sintetizirani iz aminokislinskih prekurzorjev triptofana in tirozina, v tem zaporedju. Prekurzorske aminokisliline izhajajo iz prehranskih beljakovin, zato jih je potrebno dobivati s hrano. V delu so podani namigi, kako s prehrano vplivati na povečanje dostopnosti prekurzorskih aminokislin v možganih ter tako povečati aktivnost serotonergičnega ali kateholaminergičnega sistema, obenem pa so predstavljene raziskave, ki so vodile do teh ugotovitev. Uživanje obrokov z večinskim deležem beljakovin deluje v prid kateholaminergičnemu sistemu zaradi visokih vsebnosti prekurzorjev kateholaminov tirozina in fenilalanina. Uživanje obrokov z večinskim deležem ogljikovih hidratov deluje v prid serotonergičnemu sistemu zaradi izločanja inzulina, ki povzroči privzem večine nevtralnih aminokislin, a ne triptofana. Za vstop v možgane je ključnega pomena razmerje zelene aminokisliline v razmerju proti seštevku ostalih tekmovalnih aminokislin. V zadnjem delu naloge so obravnavana opažena stanja in vedenja, ki se pojavijo kot posledica pomanjkanja posamezne aminokisliline.

Key words documentation

Name and SURNAME: Patrik ZLATIĆ

Title of the final project paper: The importance of dietary precursor amino acids – tryptophan and tyrosine – and the application to some psychological states.

Place: Koper

Year: 2013

Number of pages: 44

Number of figures: 3

Number of tables: 2

Number of appendix: 0

Number of appendix pages: 0

Number of references: 130

Mentor: Assoc. Prof. Gorazd Drevenšek, PhD.

Co-Mentor: /

UDK: /

Key words: tyrosine, tryptophan, catecholamines, serotonin, dietary proteins, carbohydrates

Abstract:

This work encompasses research findings in the field of nutritionism, psychopharmacology, biology and psychology. The research problem refers to the possibility on influencing neurotransmitter systems through a more natural way (with diet), instead of using synthetic drugs, with elimination or mitigation of non-clinical psychological discomfort. Serotonin and catecholamines are primary monoamines in the brain of mammals, synthesized from amino acid precursors tryptophan and tyrosine (in that order). Precursor amino acids derive from dietary proteins, therefore they must be obtained by food. In the work, one can find tips on how to increase the availability of precursor amino acid in the brain through diet and hence increase the activity of serotonergic and catecholaminergic system; at the same time, the studies of how these findings have come about are presented. Eating meals, which predominantly contain proteins, acts in favor of the catecholaminergic system due to high content of catecholamine precursors tyrosine and phenylalanine. Eating meals, which predominantly contain carbohydrates, acts in favor of the serotonergic system due to insulin secretion, which causes the uptake of the majority of neutral amino acids, but not tryptophan. The ratio of the desired amino acid in relation to the sum of other competing amino acids is crucial for the entry into the brain. Observed states and behavioral effects, which occur due to the shortage of specific precursor amino acid, are discussed in the last part of the work.

KAZALO VSEBINE

1 UVOD.....	1
1.1 Triptofan.....	4
1.1.1 Triptofanska hidroksilaza – encim, ki omejuje hitrost tvorbe serotonina (ang. <i>Rate-limiting enzyme</i>).....	7
1.2 Fenilalanin	7
1.3 Tirozin.....	8
1.3.1 Tirozinska hidroksilaza – encim, ki omejuje hitrost tvorbe kateholaminov (ang. <i>Rate-limiting enzyme</i>).....	9
1.4 Nadzor sinteze monoaminov preko koncentracije aminokislin v možganih	10
1.4.1 Prvotne študije triptofana v možganih in njegovega vpliva na sintezo serotonina	11
1.4.2 Prvotne študije tirozina v možganih in njegovega vpliva na sintezo kateholaminov	17
1.5 Študije prekursorjev živčnih prenašalcev v vlogi zdravila	18
1.5.1 Prekursorji serotonina kot zdravila: triptofan in 5-HTP	19
1.5.2 Prekursorji kateholaminov kot zdravila: fenilalanin in tirozin	21
1.6 Metoda namernega izpraznjenja prekursorjev	22
1.6.1 Študije namerno povzročene izpraznjenja triptofana	22
1.6.2 Študije namerno povzročene izpraznjenosti tirozina in/ali fenilalanina	24
2 SKLEPI.....	25
3 VIRI IN LITERATURA	28

KAZALO PREGLEDNIC

Tabela 1.01. *Nekaj živil z visoko vsebnostjo L-triptofana*.....5

Tabela 1.02. *Nekaj živil z visoko vsebnostjo L-tirozina*.....9

KAZALO SLIK

<i>Slika 1.01.</i> Biokemične poti sinteze kateholaminov (levo) in serotonina (desno) iz njihovih aminokislinskih prekurzorjev: tirozina in triptofana (Goridis in Rohrer, 2012, str. 532).....	3
<i>Slika 1.02.</i> Spremembe v možganskih in plazemskih koncentracijah triptofana po uživanju različne prehrane. Dve uri po hranjenju je nivo triptofana v plazmi močno povečan pri podganah, ki so uživale katerokoli od obeh prehran v primerjavi s kontrolno skupino, ki ni imela dostopa do hrane. Dve uri po hranjenju je nivo triptofana v možganih pomembno povečan v primerjavi s kontrolno skupino, ki ni imela dostopa do hrane, le pri podganah, ki so uživale prehrano, ki temelji na ogljikovih hidratih (ter maščobah v majhnem deležu). Oznaka CARBO predstavlja prehrano, ki temelji na ogljikovih hidratih (ter maščobah v manjšem deležu). Oznaka CHOW predstavlja prehrano, ki temelji tako na ogljikovih hidratih kot na beljakovinah (Povzeto po Wurtman in Fernstrom, 1975).....	13
<i>Slika 1.03.</i> Predlagani model, ki opisuje spremembe možganskih koncentracij serotonina pri podganah, povzročenih s prehrano – vpliv prehranskih beljakovin in vpliv prehranskih ogljikovih hidratov. Razmerje triptofana do seštevka ostalih tekmovalnih aminokislin v plazmi bi naj nadzorovalo nivo triptofana, ki preide v možgane (Wurtman, 1970). Oznaka Try predstavlja triptofan, medtem ko oznake T, P, L, I in V predstavljajo tekmovalne aminokisliline tirozin, fenilalanin, levcin, izolevcin in valin (Povzeto po Wurtman in Fernstrom, 1975).....	14

1 UVOD

Živimo v času, ko farmacevtska industrija ponuja vrsto pripravkov že za vsako »neklinično« nezadovoljstvo, ki ga človek lahko občuti, a učinki takih »zdravil« dostikrat niso klinično dokazani, ob čemer se pojavi vprašanje, ali si s takimi pristopi dejansko pomagamo ali povzročimo več škode kot koristi. S tem niso mišljena zdravila za hujše duševne bolezni kot so huda depresija, bipolarna motnja in psihotične duševne motnje, temveč za stanja kot so blagi stres ali tesnoba, depresivno razpoloženje in podobno – stanja, ki so sicer neprijetna za posameznika, vendar ne spadajo v kategorijo kliničnih motenj, posledično taka oseba ni upravičena do jemanja zdravil, ki imajo klinično potrjeno učinkovitost.

Prekursorska terapija predstavlja zdravljenje določenih duševnih in nevroloških motenj z uporabo neposrednih prekursorjev živčnih prenašalcev (npr. DOPA za kateholamine pri motnjah, za katere je značilen propad kateholaminergičnih nevronov ali nasploh pomanjkanje kateholaminov v možganih). Le-ti so narejeni sintetično (Meyer in Quenzer, 2005). Vsaka sintetična snov, ki jo vnesemo v telo ima določene neželene učinke oziroma posledice (Drevenšek, osebna komunikacija, november 2012). Prekursorji živčnih prenašalcev v hrani se nahajajo v naravni obliki kot prehranske beljakovine – natančneje kot gradniki teh prehranskih beljakovin, torej kot aminokislina (Worobey, Trepper in Kanarek, 2006). Iz tega razloga je namen zaključne naloge raziskati, kako lahko na naraven način - preko uživanja izbrane hrane - vplivamo na koncentracije živčnih prenašalcev v telesu (možganih) brez uživanja sintetičnih zdravil ter s tem podati namige naravne samopomoči pri izboljšanju počutja in kognicije ter ublažitvi nekliničnih psiholoških stanj z negativno valenco.

Možgani sesalcev uporabljajo kot živčne prenašalce tri primarne monoamine, sintetizirane preko aminokislin, tirozina in triptofana: tej so kateholamini dopamin, noradrenalin in adrenalin, ter indolamin serotonin (Wurtman in Fernstrom, 1975).

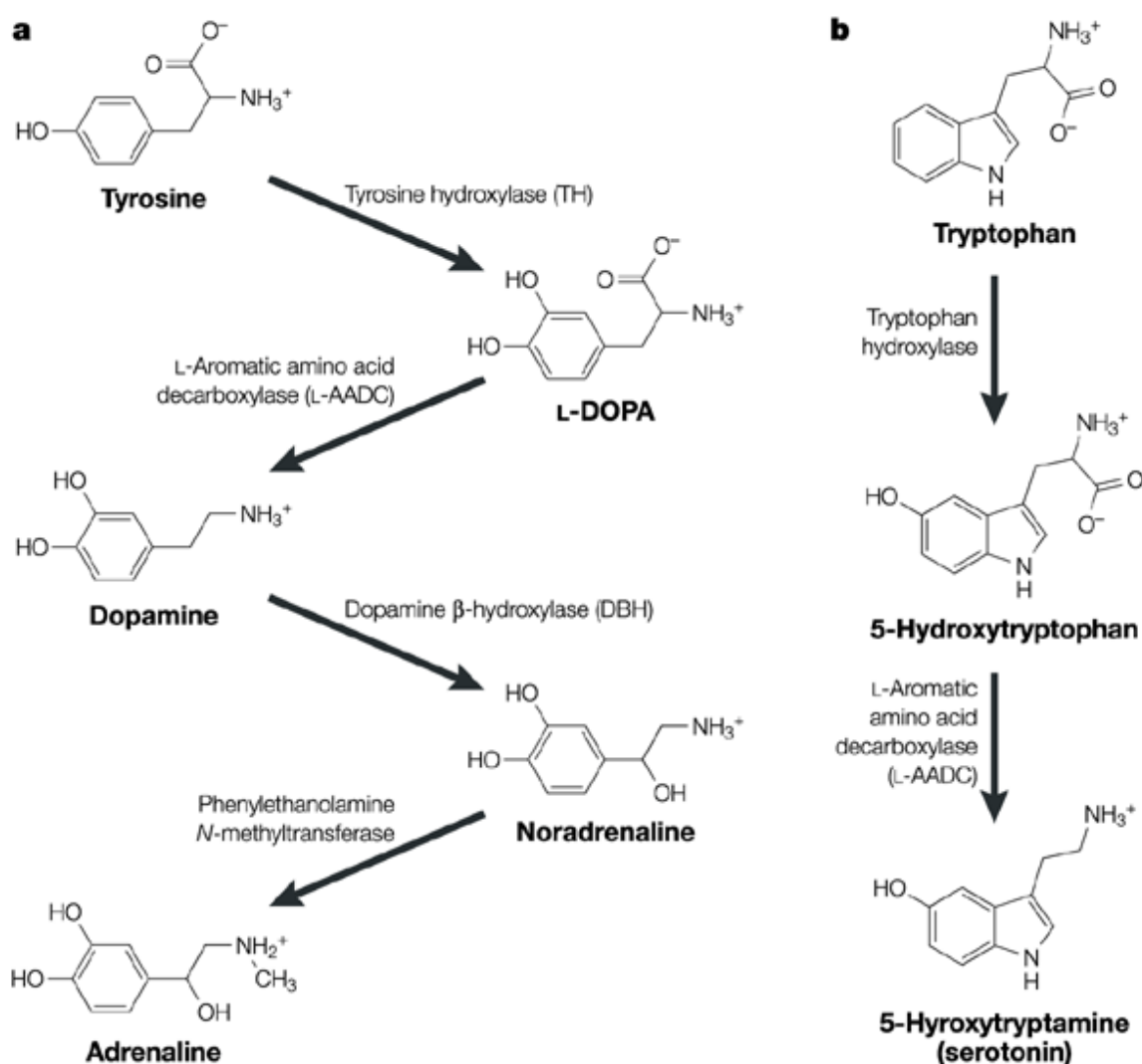
Biokemična pot sinteze kateholaminov začne z aminokislino tirozinom. Le-ta naravno izhaja iz prehranskih beljakovin in je prenesen iz krvnega obtoka v možgane. Vsak korak pri sintezi kateholaminov je odvisen od specifičnega encima, ki deluje kot katalizator za to stopnjo. Nevroni, ki uporabljajo dopamin kot svoj živčni prenašalec vsebujejo le prva dva encima, tirozinsko hidroksilazo, ki pretvori tirozin v L-dihidroksifenilalanin (L-DOPA) in aromatsko aminokislinsko dekarboksilazo, ki pretvori DOPO v dopamin, kjer se biokemična pot ustavi. Nevroni, ki uporabljajo (tudi) noradrenalin kot svoj živčni prenašalec posedujejo še tretji encim, dopaminsko β -hidroksilazo, ki pretvori dopamin v noradrenalin (Meyer in Quenzer, 2005), prav tako nevroni, ki uporabljajo adrenalin kot

svoj živčni prenašalec posedujejo še četrti encim, feniletanolaminsko N-metiltransferazo, ki pretvori noradrenalin v adrenalin. Velja omeniti, da vsi štirje encimi niso prisotni v vseh nevronih, ki sproščajo kateholamine, so pa vsi prisotni v celicah nadledvične žleze in v nevronih, ki sproščajo adrenalin. Toda nevroni, ki sintetizirajo noradrenalin, ne posedujejo encima feniletanolaminske N-metiltransferaze, prav tako nevroni, ki sproščajo (le) dopamin ne vsebujejo ne feniletanolaminske N-metiltransferaze, ne dopaminske β -hidroksilaze (Kandel, 2005).

Sinteza serotonina se začne pri aminokislini triptofan, ki v naravi izhaja iz prehranskih beljakovin. V tej biokemični poti sta dva koraka: prvi korak je kataliziran s strani triptofanske hidroksilaze, ki pretvori triptofan v 5-hidroksitriptofan (5-HTP). Le-ta je nato kataliziran s strani encima aromatske aminokislinske dekarboksilaze za tvorbo serotonina (5-HT). Tako kot prvotni korak sinteze kateholaminov (torej pretvorba tirozina v DOPO), ki velja za korak, ki omejuje hitrost sinteze (ang. *Rate-limiting step*), velja pretvorba triptofana v 5-HTP za korak, ki omejuje hitrost pri biokemični poti sinteze serotonina. Dodatno – kot je tirozinska hidroksilaza najdena le v nevronih, ki sintetizirajo kateholamine, je podobno triptofanska hidroksilaza specifični označevalec za nevrone, ki tvorijo serotonin (serotonergični nevroni). Drugi encim v biokemični poti, aromatična aminokislinska dekarboksilaza (ki pretvori 5-HTP v serotonin ter DOPO v dopamin), je isti za kateholamine in serotonin (Meyer in Quenzer, 2005). Produkcija serotonina in prenos triptofana iz krvnega obtoka v centralni živčni sistem je lahko ovirana s strani več dejavnikov, vključno s pomanjkanjem vitamina B6, presežkom kortizola, in povečanega nivoja presnovkov triptofana (Birdsall, 1998).

Mehanizem, ki nadzoruje pretok tirozina in triptofana med možgani in zunajcelično tekočino, se razlikuje od tistega, ki deluje v večini drugih tkiv, saj ta pretok ni primarno nadzorovan s strani neposrednih učinkov inzulina ali drugih hormonov, temveč preko tekmovanja z ostalimi nevtralnimi aminokislinami za vstop skozi možgansko pregrado (Oldendorf, 1971; Smith, 1963). Triptofan, tirozin, fenilalanin in ostale velike nevtralne aminokisliline tekmujejo med seboj za vstop v možgane, ker potrebujejo transportne molekule za prehod skozi možgansko pregrado in tako ena drugi omejuje vstop v možgane (Meyers, 2000). Plazemski kortizol (imenovan tudi stresni hormon), katerega nivo je povečan pri depresivnih bolnikih ter pri osebah, ki doživljajo velik stres (na primer zaradi pomembnih življenjskih dogodkov ali sprememb), zmanjša plazemske koncentracije tako prostega tirozina kot triptofana v plazmi (Serotonin-Metabolism, n.d.).

Osnovna ugotovitev, iz katere je možno začeti raziskovanje zastavljenega namena je ta, da koncentracije triptofana in tirozina v možganih preko uživanja hrane fiziološko nadzirajo stopnjo, s katero serotonergični in kateholaminergični nevroni proizvajajo svoje živčne prenašalce (Ardis idr., 2009; Biggio, Fadda, Fanni, Tagliamonte in Gessa, 1974; Biscup idr., 2012; Gibson in Wurtman, 1977; McTavish, Cowen in Sharp, 1999; Moja, Cipolla, Castoldi in Tofanetti, 1989; Schaechter in Wurtman, 1989; Venugopalan idr., 2011; Wurtman in Fernstrom, 1975; Wurtman, Larin, Mostafapour in Fernstrom, 1974).



Nature Reviews | Neuroscience

Slika 1.01. Biokemične poti sinteze kateholaminov (levo) in serotonina (desno) iz njihovih aminokislinskih prekurzorjev: tirozina in triptofana (Goridis in Rohrer, 2012, str. 532).

1.1 Triptofan

L-triptofan je esencialna aminokislina v prehrani ljudi, kar pomeni da je za organizem nepogrešljiva, saj je organizem ne more sintetizirati sam in jo mora zato dobivati s hrano (Slovenski medicinski slovar, 2012). Leta 1901 je Frederick Hopkins prvič poročal o izolaciji triptofana (Hopkins in Cole, 1901) preko hidrolize kazeina (glavne beljakovine kravjega mleka in sirov (Slovenski medicinski slovar, 2012)). Za številne organizme, vključno z ljudmi, triptofan predstavlja nujni sestavni del prehrane, ker ga v telesu nismo zmožni sintetizirati. Rastline in mikroorganizmi običajno sintetizirajo triptofan iz šikimske kisline ali antranilata (sol ali ester antranilne kisline) (Radwanski in Last, 1995). Triptofan se nahaja v treh oblikah: L-triptofan, D-triptofan in DL-triptofan. Aminokislina, vključno s triptofanom, imajo vlogo gradnikov pri tvorbi beljakovin v telesu («The Structures of life», n.d.), a pri tem velja omeniti, da je kot pri drugih aminokislinah, le L-stereoizomer (L-triptofan) uporabljen pri tvorbi beljakovin (Gandhi, 2009). Poleg vloge gradnikov ima tudi funkcijo kot biokemični prekurzor za naslednje snovi:

- Serotonin (živčni prenašalec), ki ga sintetizira triptofanska hidroksilaza (Schaechter in Wurtman, 1990). Serotonin se nadalje lahko pretvori v melatonin (nevrohormon), ki ga tvori N-acetiltransferaza in 5-hidroksiindol-O-metiltransferaza (Gant, n.d.).
- Niacin (imenovan tudi vitamin B3) nastane v jetrih iz triptofana, a je pri tem potrebna prisotnost vitamina B6, riboflavina in železa (Higdon, 2002).
- Avksini (rastlinski hormoni); najpomembnejši je beta indolocentna kislina (indol-3-ocetna kislina), ki pri višjih rastlinah nastaja iz triptofana (Gordon in Paleg, 1961).

L-Triptofan je pogosti sestavni del večine živil, ki vsebujejo prehranske beljakovine (Worobey idr., 2006). Najdemo ga v jajcih, mlečnih izdelkih, stročnicah, morskih algah (predvsem spirulina), siru, mesu, ribah, semenih in drugih živilih (tabela 1). Kljub temu, da je v nekaterih živilih relativno velik delež triptofana, velja upoštevati, da veliko živil ob pripravi (kuhanje, peka) zaradi visokih temperatur izgubi delež svojih hranilnih vrednosti, saj lahko visoke temperature denaturirajo beljakovine in uničijo nekatere občutljive aminokislina (Pursell in Walter, 1982) – na primer: nepripravljena, zmrznjena špinača ima na 100g povprečen delež triptofana 0,1g; špinača prekuhana v vreli vodi pa ima na 100g povprečen delež triptofana 0,04g, kar je dvainpolkrat manjši delež (USDA National Nutrient Database for Standard Reference, 2012).

Tabela 1.01

Nekaj živil z visoko vsebnostjo L-triptofana

Živilo (ali prehranska dopolnila)	Vsebnost beljakovin (g/100g živila)	Vsebnost triptofana (g/100g živila)
Spirulina (v prahu)	57,47	0,93
Sojina semena (surova)	36,49	0,59
Sir parmezan	37,90	0,56
Sezamova semena (surova)	17,00	0,37
Sir Cheddar	24,90	0,32
Orehi	24,10	0,32
Sončnična semena	17,20	0,30
Tuna z oljem (konzerva)	26,5	0,29
Puran	22,64	0,24
Piščanec	20,33	0,24
Jagnjetina	20,8	0,24
Arašidi (praženi)	23,70	0,23
Govedina	21,40	0,23
Oves	16,89	0,23
Mandlji	21,22	0,22
Svinjina	20,4	0,22
Losos	19,84	0,22
Atlantski ostrž	18,62	0,21
Ječmen (oluščen)	12,48	0,21
Čičerika (surova)	19,30	0,19
Jajca	12,58	0,17
Skuta (z 2 % maščob)	11,80	0,16
Bela pšenična moka	10,33	0,13
Jedilna čokolada	12,90	0,13
Špinača (nepripravljena)	3,6	0,1
Rjavi riž	7,9	0,1
Beli riž	7,13	0,08
Mleko (3,25 % maščobe)	3,15	0,04
Krompir	2,14	0,02
Banana	1,03	0,01

Opombe: prikazane so povprečne vrednosti surovih živil, kar pomeni, da lahko vrednosti izdelkov iz trgovine po pripravi nekoliko odstopajo. (USDA National Nutrient Database for Standard Reference, 2012).

Kljub temu, da ogljikovi hidrati v človeški prehrani predstavljajo glavni vir energije (Jequier, 1994), lahko obilni obroki na osnovi ogljikovih hidratov povzročijo nasprotni učinek zaradi vpletenosti možganskih živčnih prenašalcev in hormonov. Uživanje ogljikovih hidratov sprosti inzulin, ki spodbudi privzem večine nevtralnih aminokislin (Felig in Wahren, 1971), a ne triptofana, v mišice in tkiva, s čimer poveča razmerje triptofana proti tem tekmovalnim aminokislinam in omogoči večji privzem triptofana skozi možgansko pregrado v možganski likvor (Wurtman, 1970). V serotonergičnih nevronih se triptofan pretvori v serotonin, ta pa nadalje v melatonin (Gant, n.d.). Iz tega sledi, da veliki obroki na osnovi ogljikovih hidratov povečajo proizvodnjo melatonina, spodbujevalca spanja (Lyons in Truswell, 1988), kar razlaga pojav zaspanosti po obroku.

Slaba resorpcija fruktoze (Ledochowski, Widner, Murr, Sperner-Unterweger in Fuchs, 2001) in slaba resorpcija laktoze (Ledochowski, Sperner-Wunterweger in Fuchs, 1998) sta dve motnji, ki povzročita nepravilno absorpcijo triptofana v črevesju, kar vodi v zmanjšan nivo triptofana v krvi in posledično lahko vpliva na pojav depresije, zaradi vloge triptofana pri sintezi serotonina.

Za razliko od triptofana, 5-HTP, ki je eden od njegovih metabolitov, brez težav prehaja krvno-možgansko pregrado, kjer je hitro dekarboksiliran v serotonin (Hardebo in Owman, 1980). Serotonin v možganih ima relativno kratko razpolovno dobo, saj ga hitro metabolizira encim monoaminska oksidaza (Serotonin-Metabolism, n.d.). Ker se 5-HTP tudi v jetrih pretvori v serotonin, dolgoročna uporaba predstavlja veliko tveganje za bolezni srčnih zaklopk zaradi učinkov serotonina na srce (Gustafsson idr., 2005). Kinurenin, tudi metabolit triptofana, je produkt jetrnega encima triptofan dioksigenaze (Opitz idr., 2011). Leta 1912 je Felix Ehrlich pokazal, da kvasovke napadejo naravne aminokislino tako, da jih razcepijo na ogljikov dioksid in zamenjajo amino skupino s hidroksilno skupino. Na ta način, triptofan dobi še en metabolit in sicer triptofol (Jackson, 1930).

Jeseni, leta 1989 je bil v ZDA L-Triptofan odpoklican kot aminokislinsko prehransko dopolnilo s strani FDA (ameriški vladni urad za zdravila in prehrano) z razlago, da je povzročil redko in smrtonosno, gripi podoben sindrom Eozinofilija-Mialgija (EMS). Marca, leta 1990, je FDA popolnoma prepovedala javno prodajo L-Triptofana, kar velja še danes. Zanimivo je, da je 9. februarja, 1993, vlada ZDA izdala patent za uporabo L-triptofana, med drugim tudi za zdravljenje EMS, istega smrtonosnega, gripi podobnega stanja, ki naj bi ga povzročil L-triptofan in ki je spodbudil FDA, da je umaknila L-triptofan iz prodaje v letu 1989. Kljub javni prepovedi prodaje v ZDA, FDA dovoli uvoz triptofana iz Japonske, kjer ga nato prodajajo v lekarnah po ZDA. Tako je danes v ZDA dostopen ljudem kot zdravilo, sicer le z uporabo recepta, za katerega je potrebno odšteti pet-krat večjo ceno, kot če bi ga prodajali kot prehransko dopolnilo (Manders, 1995). To je razlog mnogih špekulacij o tem, ali je L-triptofan res nevaren, ali pa je v ozadju le dobiček

farmacevtskih lobijev. Nekaj raziskav je nakazalo, da L-triptofan ne povzroči omenjenega sindroma, ampak da so razlog za toksični učinek bile nečistosti v L-triptofanu, kot posledica specifičnih pogojev (slabe) izdelave, s strani Showa Denko K.K., takrat glavnega proizvajalca na Japonskem (Belongia idr., 1990; Hill idr., 1993; Slutsker idr., 1990).

1.1.1 Triptofanska hidroksilaza – encim, ki omejuje hitrost tvorbe serotonina (ang. *Rate-limiting enzyme*)

Triptofanska hidroksilaza je encim, ki je odgovoren za katalizacijo pretvorbe aminokislina L-triptofan v 5-HTP, ob čemer so potrebni molekularni kisik, železovi ioni in tetrahidrobiopterin, ki igrajo vlogo kofaktorjev (Fitzpatrick, 2003). Kofaktorji so tiste nebeljakovinske spojine, ki so vezane na beljakovino (v tem primeru encim) in so potrebni za biološko aktivnost te beljakovine - v tem primeru encima (Metzler, Metzler in Sauke, 2001). Omenjeni encim je običajno polovično (50 %) nasičen s triptofanom (Carlsson in Lindqvist, 1978), kar pomeni, da administracija triptofana lahko vodi v povečano sinaptično aktivnost (Gold in Pottash, 1986). Pretvorba triptofana v 5-HTP s strani triptofanske hidroksilaze nastopi počasneje, kot naknadne reakcije v biokemični poti serotonina, zato velja za encim, ki omejuje hitrost, s čimer določa skupni delež tvorbe serotonina (Cooper, Bloom in Roth, 2003). Visoke koncentracije serotonina imajo zaviralni učinek na aktivnost triptofanske hidroksilaze, s čimer služijo kot mehanizem negativne povratne zanke (Renson, 1973).

1.2 Fenilalanin

L-Fenilalanin je aminokislina in sicer velja za esencialno aminokislino v prehrani ljudi, kar pomeni da je za organizem nepogrešljiva, saj je organizem ne more sintetizirati sam in jo mora zato dobivati s hrano (Slovenski medicinski slovar, 2012). Po resorpciji v črevesju se v majhnih količinah vgrajuje v telesne beljakovine, preostali večji del se pa v jetrih pretvori v tirozin (Mardešić idr., 2003). Najdemo ga v treh oblikah: L-fenilalanin, D-fenilalanin in DL-fenilalanin. L-fenilalanin je naravna oblika, ki se nahaja v prehranskih beljakovinah (velja za esencialno aminokislino) in edina oblika, ki sodeluje pri sintezi beljakovin v telesu (Ehrlich, 2011). Preko delovanja encima fenilalaninske hidroksilaze se fenilalanin pretvori v tirozin (Caballero, Allen in Prentice, 2005). L-fenilalanin je neposredni prekurzor tirozina, tako sta oba prekurzorja kateholaminov - dopamina, noradrenalina in adrenalina (Caballero idr., 2005).

Fenilketonurija je redka avtosomna recesivna presnovna genetska motnja, ki jo označuje mutacija gena encima fenilne hidroksilaze, ki povzroči nefunkcionalnost encima (James, Berger in Elston, 2006). Encim je potreben za presnovo aminokislina fenilalanina v aminokislino tirozin. Ko je aktivnost omenjenega encima zmanjšana, se fenilalanin kopiči in je namesto v tirozin po drugih poteh pretvorjen v druge presnovke, ki se prav tako prekomerno nabirajo v telesu in izločajo v urinu (fenilpiruvat, fenilacetat). Tako se poruši presnovno ravnotežje med aminokislinami, obenem pa je okvarjeno nastajanje pomembnih živčnih prenašalcev v možganih – dopamina, posredno tudi noradrenalina in adrenalina (Lou, 1994). Nezdravljenje fenilketonurije lahko vodi v duševno zaostalost, epileptične napade in druge resne zdravstvene težave (Filliano, 2006). Najbolj pogosta oblika zdravljenja je stroga nizko-beljakovinska dieta z omejenim vnosom fenilalanina, pri čemer pa je kot esencialne aminokislina ne sme biti premalo ter uživanje prehranskih dopolnil z aminokislinami in drugimi hranili (Macleod in Ney, 2010).

1.3 Tirozin

Preko delovanja encima fenilalanin hidroksilaze, se fenilalanin pretvori v tirozin, ta pa nadalje služi kot prekurzor za kateholamine dopamin, noradrenalin in adrenalin ter pigment melanin (Caballero idr., 2005). Ker je tirozin naravno sintetiziran v organizmu iz fenilalanina, velja za ne-esencialno aminokislino. Beseda tirozin izhaja iz grške besede *tyri*, kar pomeni sir, saj ga je prvič odkril Justus von Liebig leta 1846 v beljakovini kazeinu, ki izhaja iz sira (Harper, 2001). Tirozin se prav tako nahaja v treh oblikah in sicer: L-tirozin, D-tirozin in DL-tirozin. Aminokislina, vključno s tirozinom, imajo vlogo gradnikov pri tvorbi proteinov v telesu («The Structures of life», n.d.), pri čemer velja omeniti, da le L-stereoizomer (L-tirozin) sodeluje pri tvorbi beljakovin (Gandhi, 2009). L-tirozin je pogosti sestavni del večine živil, ki vsebujejo prehranske beljakovine (Worobey idr., 2006). Najden je v živilih kot so jajca, mlečni izdelki, meso, ribe, razni oreščki, soja, morske alge (predvsem spirulina) in drugih živilih (tabela 2).

Tabela 1.02

Nekaj živil z visoko vsebnostjo L-tirozina

Živilo (ali prehranska dopolnila)	Vsebnost beljakovin (g/100g živila)	Vsebnost tirozina (g/100g živila)
Spirulina – morska alga (v prahu)	57,47	2,58
Sir parmezan	37,90	2,32
Sojina semena (surova)	36,49	1,54
Sir Cheddar	24,90	1,1
Divjačina (los)	29,3	1,08
Tuna z oljem (konzerva)	26,5	0,89
Jelen	23	0,81
Fazan	24,4	0,80
Svinjina	20,4	0,78
Zajec	21,8	0,78
Merjasec	21,5	0,77
Raca	19,8	0,76
Jagnjetina	20,8	0,70
Piščanec	20,33	0,69
Losos	19,84	0,67
Puran	22,64	0,67
Skuta (1 % maščob)	12,39	0,66
Jajca	12,58	0,50
Mandlji	21,22	0,45
Mleko (3,25 % maščobe)	3,15	0,16

Opombe: prikazane so povprečne vrednosti surovih živil, kar pomeni, da lahko vrednosti izdelkov iz trgovine po pripravi nekoliko odstopajo. Podatki so vzeti iz baze podatkov za hranilne vrednosti živil (USDA National Nutrient Database for Standard Reference, 2012).

1.3.1 Tirozinska hidroksilaza – encim, ki omejuje hitrost tvorbe kateholaminov (ang. *Rate-limiting enzyme*)

Tirozinska hidroksilaza je encim, ki je odgovoren za katalizacijo pretvorbe aminokislina L-tirozin v L-DOPO, ob čemer so kot pri triptofanski hidroksilazi potrebni molekularni kisiki, železovi ioni in tetrahidrobiopterin, ki igrajo vlogo kofaktorjev

(Fitzpatrick, 2003). Pri normalnih pogojih (v možganih podgan) je tirozinska hidroksilaza 75-odstotno nasičena s tirozinom (Young, 1996). Ker encim ni popolnoma nasičen, vnos tirozina lahko vodi v povečano sinaptično aktivnost, a manj učinkovito, kot pri encimu triptofanski hidroksilazi (Gold in Pottash, 1986). Ker sodeluje pri sintezi kateholaminov, so spremembe v njegovi aktivnosti prisotne pri motnjah, kjer so v ospredju vpletene motnje kateholaminičnega sistema, kot so Parkinsonova bolezen in shizofrenija (Goodwill idr., 1997; Thibaut idr., 1997). Pretvorba tirozina v DOPO s strani tirozinske hidroksilaze nastopi počasneje kot naknadne reakcije v biokemični poti. Posledično, tirozinska hidroksilaza velja za encim, ki omejuje hitrost, saj določa skupni delež tvorbe kateholaminov (Levitt, Spector, Sjerdsma in Udenfriend, 1965). Aktivnost encima je regulirana s strani veliko dejavnikov, vključno s količino kateholaminov, prisotnih v terminalu nevrona. Tako kateholamini kot DOPA lahko tekmujejo z omenjenim kofaktorjem za vezavno mesto na encimu tirozinska hidroksilaza, in lahko s tem zavrejo hidroksilacijo tirozina v DOPO in sicer po mehanizmu zaviranja s končnim produktom (ang. *End-product inhibition*) (Karobath, 1971). Visoke koncentracije kateholaminov ponavadi zavirajo aktivnost tirozin hidroksilaze, s čimer služijo kot mehanizem negativne povratke zanke. Še en pomemben dejavnik je stopnja proženja celic: nevrnalna aktivnost ima stimulativen učinek na tirozinsko hidroksilazo. Ti mehanizmi omogočijo dopaminičnim in noradrenergičnim nevronov, da nadzorujejo stopnjo tvorbe živčnih prenašalcev. Ko so koncentracije kateholaminov previsoke, se aktivnost tirozinske hidroksilaze zavre, posledično se upočasni sinteza živčnih prenašalcev. Ko so nevroni aktivirani in je stopnja proženja visoka, kot je to pri stresu, to stimulira tirozinsko hidroksilazo in pospeši sintezo kateholaminov, da lahko sistem dohaja povečano zahtevo po nastajanju kateholaminov (Meyer in Quenzer, 2005).

1.4 Nadzor sinteze monoaminov preko koncentracije aminokislin v možganih

Ugotovljeno je, da je stopnja s katerimi možganski nevroni sintetizirajo monoaminske živčne prenašalce, lahko nadzorovana z dejavnostjo hidroksilaznih encimov. Več dokazov potrjuje to ugotovitev. Kratkoročno povečanje fiziološke aktivnosti kateholaminičnih nevronov povzročeno preko električne stimulacije (Alousi in Weiner, 1966) ali preko sprememb v presinaptični aktivnosti povzročene s stresom ali zdravilno učinkovino (Dairman, Gordon, Spector, Sjoerdsma in Udenfriend, 1968, povzeto po Wurtman in Fernstrom, 1975) lahko pospeši pretvorbo označenega tirozina v kateholamin. Do tega pride najverjetneje z zmanjšanjem zaviranja s končnim produktom tirozinske hidroksilaze s strani vezanega noradrenalina (kateri sicer zavira delovanje tirozinske

hidroksilaze in s tem upočasnijo pretvorbo tirozina v kateholamine). Daljša obdobja povečanega presinaptičnega delovanja povečajo aktivnost tirozinske hidroksilaze (Mueller, Thoenen in Axelrod, 1969, povzeto po Wurtman in Fernstrom, 1975) in triptofanske hidroksilaze (Zivkovic, Guidotti in Costa, 1973, povzeto po Wurtman in Fernstrom, 1975) izmerjeno *in vitro*, ter lahko tudi poveča stopnjo tvorbe beljakovinskega encima tirozin hidroksilaze (Joh, Geghman in Reis, 1973).

Raziskovalce je zanimala tudi možnost, da je sinteza monoaminov odvisna ne le od količine ali aktivnosti encimov, ki omejujejo hitrost pretvorbe (tirozinske hidroksilaze in triptofanske hidroksilaze), ampak tudi od tkivnih koncentracij njihovih aminokislinskih prekurzorjev (tirozina in triptofana). Ugotovili so, da je glavni fiziološki faktor, ki običajno nadzoruje stopnjo, s katero serotonergični nevroni sintetizirajo svoje živčne prenašalce, razpoložljivost triptofana: v smislu, da prilagodijo sintezo serotonina količini triptofana v možganih. Naknadne raziskave nakazujejo, da količina tirozina v možganih prav tako vpliva na stopnjo sinteze kateholaminov s strani kateholaminergičnih nevronov. Raziskave so opisane na naslednjih straneh.

1.4.1 Prvotne študije triptofana v možganih in njegovega vpliva na sintezo serotonina

Prvotni poskusi avtorjev Wurtman in Fernstrom (1975) so bili zasnovani na podganah in sicer na način, da pokažejo, ali je možno povečati koncentracijo serotonina v možganih s povečanjem količine triptofana v možganih. Vnos L-triptofana intraperitonealno 12 mg/kg je povzročila povečanje količine serotonina v možganih za 20-30 % v eni uri po vnosu. Odmerki po 25 in 50 mg/kg so proporcionalno povzročili dodatno povečanje količine serotonina in triptofana v možganih. Večji odmerki triptofana (125 mg/kg), ki so povzročili povečanje koncentracije triptofana v možganih nad svojim fiziološkim razponom, pa niso povzročili dodatnih povečanj serotonina v možganih.

Majhno povečanje triptofana v plazmi je paralelno vplivalo na spremembe serotonina v možganih, zato je naslednji korak ugotavljanje, ali fiziološko zmanjšanje ravni aminokislina v plazmi vpliva na zmanjšanje sinteze serotonina v možganih. Uporabljene so bile podgane, podobne kot v prejšnjem poskusu. Le-te so bile brez dostopa do hrane čez noč in so zjutraj prejele odmerek inzulina, za katerega je znano, da zniža koncentracije glukoze in večine aminokislin v plazmi (Felig in Wahren, 1971). Ugotovili so, da hormon inzulin ni znižal nivo triptofana v plazmi, temveč ga je celo povečal za 30-40 %, ne glede na način administracije inzulina (Fernstrom in Wurtman, 1972a). Povzročil je padec nivoja glukoze v plazmi za 55 % ter močno znižal koncentracije večine ostalih aminokislin v plazmi, vključno z nevtralnimi aminokisljinami, za katere menijo, da

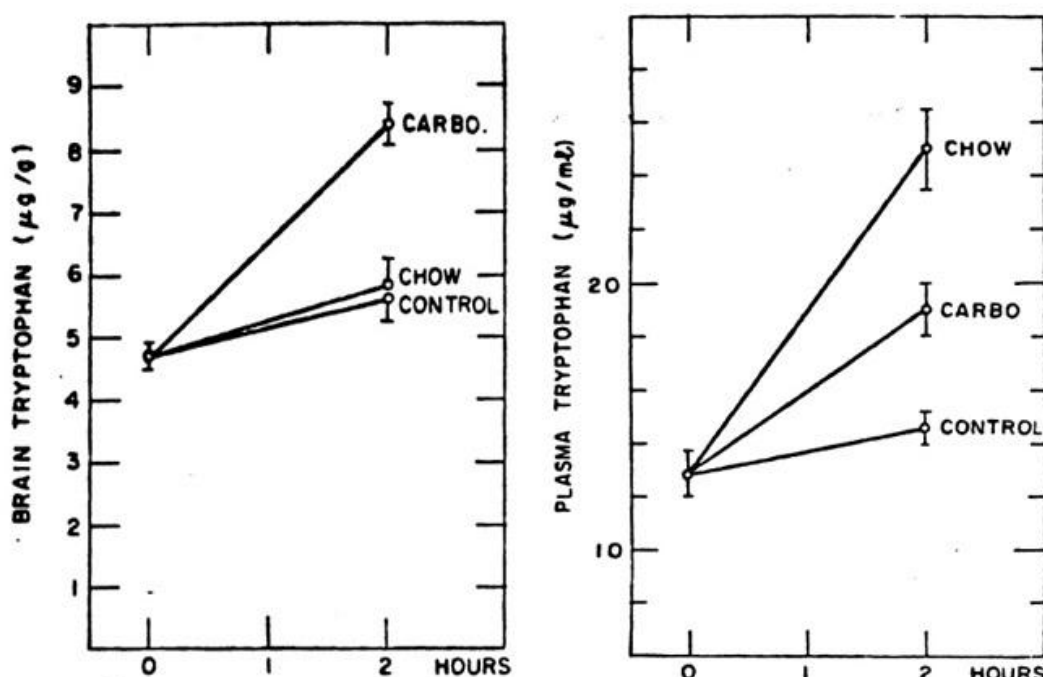
tekmujejo s triptofanom za privzem v možgane (Guroff in Udenfriend, 1962). Dve uri po vnosu inzulina, se je nivo triptofana v možganih podgan povečal za 36 % ter nivo serotonina v možganih za 28 % (Fernstrom in Wurtman, 1971).

Pri rezultatih se je avtorjem študije Fernstromu in Wurtmanu (1971) pojavil dvom, da povečan nivo serotonina opažen pri podganah, ki so prejele inzulin, ni bil posledica povečane razpoložljivosti substrata (triptofana), temveč kot posledica centralnih refleksov aktiviranih zaradi hipoglikemije (znižane koncentracije glukoze v krvi). Kot odgovor so naredili načrt poskusa, s katerim so preverili, ali fiziološko izločanje inzulina v podganah z normalnim nivojem glukoze v krvi tudi poveča nivo triptofana v plazmi in nivo triptofana ter serotonina v možganih. Podgane so bile brez hrane 15 ur, nato pa jim omogočili dostop do prehrane, temelječ na ogljikovih hidratih. Nivo triptofana v plazmi je bil statistično pomembno povečan 1, 2 in 3 ure po hranjenju, medtem ko se je nivo tirozina v plazmi zmanjšal v vseh treh časih merjenja. Nivo triptofana in serotonina v možganih je bil statistično pomembno povečan 2 in 3 ure po hranjenju (Fernstrom in Wurtman, 1971).

Ker uživanje ogljikovih hidratov povzroči sproščanje inzulina in s tem poveča nivo triptofana v plazmi pri podganah in v končni fazi tudi koncentracije triptofana in serotonina v možganih (Fernstrom in Wurtman, 1971), se pojavi vprašanje, ali uživanje uravnotežene prehrane, katera sestoji tako iz ogljikovih hidratov, kot iz beljakovin, povzroči še večji dvig nivoja serotonina v možganih. Poleg dviga nivoja triptofana v plazmi zaradi izločanja inzulina (Fernstrom in Wurtman, 1971), triptofan kot sestavni del prehranskih beljakovin neposredno prispeva h količini triptofana v plazmi, posledično bi se v skladu s tem nivo triptofana in serotonina v možganih povečal. Toda, ko so podgane bile brez hrane in jim je kasneje bil omogočen dostop do prehrane z naravno prisotnimi beljakovinami (18-24 % beljakovinskega deleža obroka), je bilo opaziti, da je triptofan v plazmi sicer narastel (za približno 60 %), a brez povečanja nivoja triptofana in serotonina v možganih (Slika 1.02) (Fernstrom, Larin in Wurtman, 1973).

Koncentracija triptofana v možganih se ni povečala po uživanju beljakovin, ker so se koncentracije ostalih aminokislin, ki tekmujejo skupaj s triptofanom za vstop v možgane, povečale še bolj kot triptofan (Guroff in Udenfriend, 1962). Kot dokaz za to trditev, sta avtorja Wurtman in Fernstrom (1975) izvedla poskus, kjer sta dovolila skupinam živali jesti ali sintetično prehrano, ki vsebuje ogljikove hidrate skupaj z vsemi aminokislinami v razmerjih, ki se sicer nahajajo v običajni prehrani, ali pa to isto prehrano brez petih aminokislin, katere si delijo isti transportni sistem v možganih kot triptofan (tirozin, fenilalanin, levcin, izolevcin in valin), s čimer tekmujejo z njim za privzem v možgane (Oldendorf, 1971; Smith, 1963). Rezultati so pokazali, da sta obe vrsti prehrane pomembno povečali nivo triptofana v plazmi, v primerjavi s kontrolno skupino, ki ni imela dostopa do hrane, toda velik porast triptofana, serotonina in 5-HIAA (serotoninskega presnovka v likvorju, ki je pokazatelj povečanega sproščanja serotonina v možganih

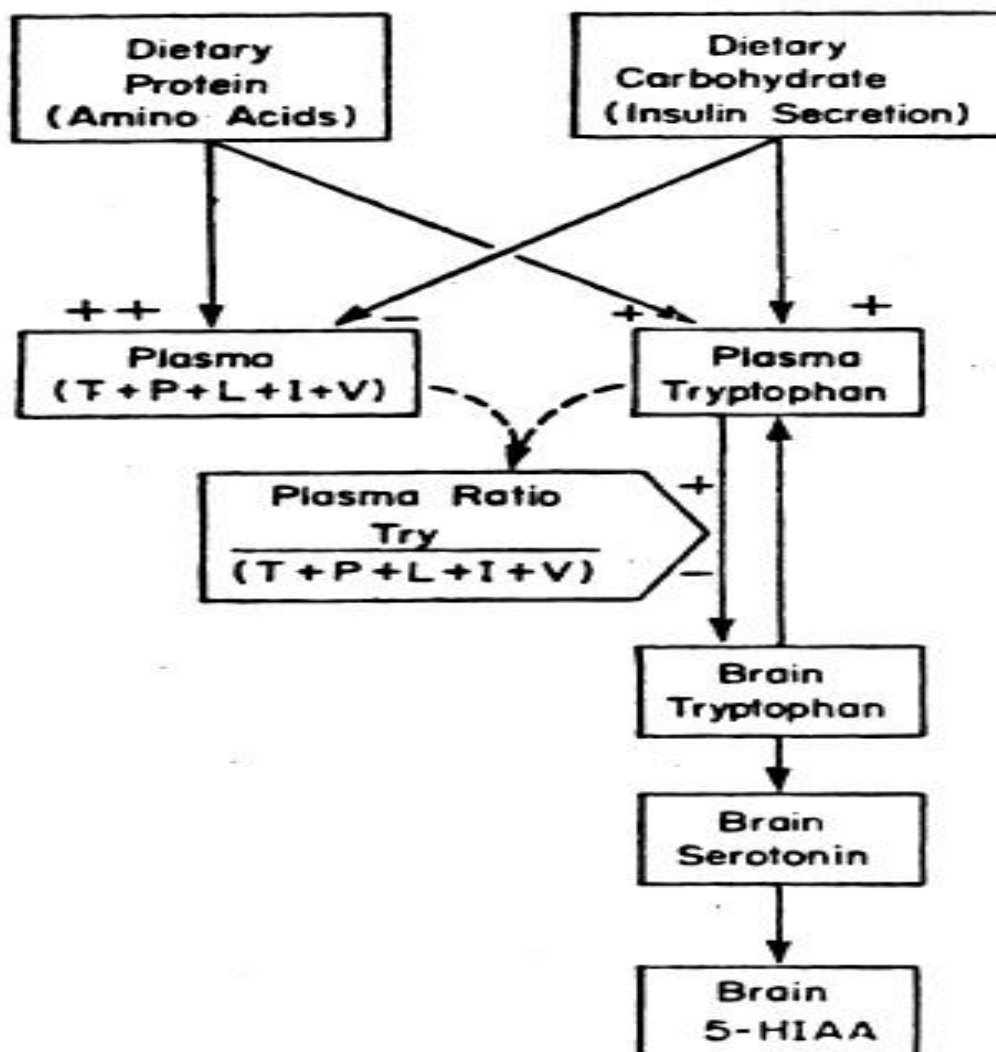
(Young in Gauthier, 1981) je bil opazen le pri prehrani, ki je imela odstranjene nevtralne aminokislino, ki tekmujejo s triptofanom za vstop skozi možgansko pregrado (Fernstrom in Wurtman, 1972b, povzeto po Wurtman in Fernstrom, 1975). Ko so ponovili poskus s prehrano, ki je namesto omenjenih petih nevtralnih aminokislin imela odstranjen aspartat in glutamat (dve kislinski aminokislini), je koncentracija triptofana v plazmi ponovno narasla za 70-80 % v primerjavi s kontrolno skupino živali, ki niso imele dostopa do hrane, koncentracije triptofana, serotonina in 5-HIAA v možganih pa so ostale nespremenjene (Wurtman in Fernstrom, 1975).



Slika 1.02. Spremembe v možganskih in plazemskih koncentracijah triptofana po uživanju različne prehrane. Dve uri po hranjenju je nivo triptofana v plazmi močno povečan pri podganah, ki so uživale katerokoli od obeh prehran v primerjavi s kontrolno skupino, ki ni imela dostopa do hrane. Dve uri po hranjenju je nivo triptofana v možganih pomembno povečan v primerjavi s kontrolno skupino, ki ni imela dostopa do hrane, le pri podganah, ki so uživale prehrano, ki temelji na ogljikovih hidratih (ter maščobah v majhnem deležu). Oznaka CARBO predstavlja prehrano, ki temelji na ogljikovih hidratih (ter maščobah v manjšem deležu). Oznaka CHOW predstavlja prehrano, ki temelji tako na ogljikovih hidratih kot na beljakovinah (Povzeto po Wurtman in Fernstrom, 1975).

Na podlagi teh opažanj so domnevali, da možganske koncentracije triptofana in serotonina ne odražajo zgolj nivo triptofana v plazmi, temveč so odvisne tudi od plazemskih koncentracij ostalih nevtralnih aminokislin. Fiziološke manipulacije, ki so bile uporabljene v poskusih (injiciranje triptofana, injiciranje inzulina, uživanje ogljikovih hidratov) so povečale števce plazemskega triptofana v razmerju do ostalih tekmovalnih

aminokislin, s tem, da so zmanjšale imenovalec (seštevek tekmovalnih aminokislin) ali ga pustile nedotaknjene. Le, ko so podgane uživale beljakovine sta se tako imenovalec kot števec povečala. Učinki prehrane na sintezo serotonina (in njegovega presnovka 5-HIAA) pri podganah je mogoče prikazati kot model (Slika 1.03) (Wurtman in Fernstrom, 1975).



Slika 1.03. Predlagani model, ki opisuje spremembe možganskih koncentracij serotonina pri podganah, povzročenih s prehrano – vpliv prehranskih beljakovin in vpliv prehranskih ogljikovih hidratov. Razmerje triptofana do seštevka ostalih tekmovalnih aminokislin v plazmi bi naj nadzorovalo nivo triptofana, ki preide v možgane (Wurtman, 1970). Oznaka Try predstavlja triptofan, medtem ko oznake T, P, L, I in V predstavljajo tekmovalne aminokislone tirozin, fenilalanin, levcin, izolevcin in valin (Povzeto po Wurtman in Fernstrom, 1975).

Pri ljudeh se nivo triptofana v serumu ne poveča po uživanju glukoze ali injiciranju inzulina, kot se to zgodi pri podganah (Lipsett, Madras, Wurtman in Munro, 1973), toda plazemske koncentracije ostalih tekmovalnih nevtralnih aminokislin močno upadejo

(Wurtman, 1970). Posledično se plazemsko razmerje triptofana v odnosu do seštevka ostalih tekmovalnih nevtralnih aminokislin poveča, kot pri podganah. Iz tega izhaja mnenje, da se pri ljudeh možganske koncentracije triptofana in serotonina po uživanju ogljikovih hidratov prav tako povečajo. Tega se direktno ne da dokazati, saj bi bilo potrebno ubiti človeka in nato preveriti možgane, kar pa je sporno tako etično, kot zakonsko.

Triptofan v plazmi je razdeljen: 10-20 % cirkulira v krvnem obtoku kot prosta aminokislina, preostanek pa je vezan na serumski albumin (McMenamy, Lund in Oncley, 1957). Nobena druga aminokislina se ne veže na plazemske beljakovine oziroma albumin v takem deležu. Ker vezava načeloma pomeni skladiščenje, je nekaj časa prevladovalo mnenje, da je prosti triptofan v plazmi ta, ki določa dostopnost triptofana v možganih in drugih tkivih (Knott in Curzon, 1972). Zato so raziskovalci (Madras idr., 1973) preverili omenjeni odnos *in vivo* s prehranjevanjem podgan na način, kjer se neesterske maščobne kisline vežejo na albumin in s tem zasedejo vezavno mesto triptofanu, ki bi se sicer vezal na albumin, posledično bi naj bilo več prostega triptofana in manj triptofana vezanega na albumine. Rezultati so pokazali, da spremembe v koncentracijah triptofana v možganih, povzročene s prehrano, ne korelirajo s tem, kar se zgodi s prostim triptofanom v serumu. Uživanje ogljikovih hidratov s strani podgan zmanjša koncentracijo prostega triptofana v serumu (najverjetneje zaradi sproščanja inzulina, ki povzroči, da se neesterske maščobne kisline ločijo od albumina in se privzamejo v tkiva, s čimer se sprostijo več vezavnih mest na albuminu za vezavo triptofana in dodatno povzroči privzem prostih aminokislin v krvnem obtoku – vključno z nevezanim/prostim triptofanom - v tkiva (Wurtman, 2004)), toda poveča koncentracije triptofana in serotonina v možganih. Iz tega izhaja, da vezava triptofana na albumin v serumu ne omejuje razpoložljivosti aminokislin v možganih. Fiziološka pomembnost vezave triptofana na albumin je torej, da omogoči, da se po izločanju inzulina razmerje (na albumin vezanega) triptofana proti ostalim tekmovalnim aminokislinam v serumu poveča v času, ko se serumske koncentracije ostalih prostih aminokislin, ki tekmujejo s triptofanom za privzem v možgane, začnejo zmanjševati. Vezava triptofana na albumin torej omogoči, da uživanje ogljikovih hidratov dvigne nivo triptofana v možganih in posledično poveča sintezo serotonina (Wurtman in Fernstrom, 1975).

Povečanje možganskih koncentracij serotonina, ne glede na to, ali je to povzročeno s prehrano ali katerim drugim načinom, bi bilo fiziološko pomembnejše, da se pojavi ustrezna sprememba pri količini živčnih prenašalcev, sproščenih v sinaptično špranjo. To pa je odvisno od dveh dejavnikov: število akcijskih potencialov, ki prehajajo serotonergične ali kateholaminergične nevrone, in število molekul živčnih prenašalcev, ki se sprostijo ob enem akcijskem potencialu. Toda v času omenjenih raziskav nobena znana metoda ni bila na voljo, s katero bi neposredno lahko izmerili število molekul sproščenih

živčnih prenašalcev v možganske sinapse; posledično ni bilo možno preveriti povezave med povečanim nivojem serotonina v možganih pri podganah, ki so prejele prehrano na osnovi ogljikovih hidratov, in količino sproščenih živčnih prenašalcev. Obstajajo pa posredne metode kot je npr. preučevanje sproščenih količin *in vitro* po električni stimulaciji rezin možganov (Wurtman in Fernstrom, 1975).

Obstajajo študije, kjer veliki odmerki triptofana sicer povzročijo velik porast koncentracije serotonina v možganih, a hkrati povzročijo zmanjšanje hitrosti proženja serotonergičnih nevronov (Trulson in Jacobs, 1976); ena od razlag je ta, da povečano sproščanje serotonina vpliva tudi na presinaptične serotoninske avtoreceptorje (Carlsson idr., 1972). Kljub temu pa manjkajo dokazi, da takšno fiziološko povečanje količine možganskega serotonina kot se pojavi s strani prehrane z ogljikovimi hidrati, vpliva na spremembe hitrosti proženja serotonergičnih nevronov. Avtorja Wurtman in Fernstrom (1975) zato špekulirata na podlagi svojih in tujih študij, da je znotraj biološko normalnega dinamičnega razpona, fiziološko povečanje količine nevrnskega serotonina povezano z ustreznim povečanjem stopnje, s katero je serotonin sproščen v sinapse. Ta špekulacija ima podporo v odkritju, da spremembe v možganskem povečanju serotonina, povzročene s prehrano, ponavadi spremlja paralelno povečanje možganskega 5-HIAA serotoninskega presnovka (Fernstrom in Wurtman, 1972b, povzeto po Wurtman in Fernstrom, 1975; Young, 1996).

Ko podganam vnesemo triciklični antidepresiv klorimipramin, zdravilno učinkovino, ki blokira presinaptični ponovni privzem serotonina, bi pričakovali ojačan postsinaptični učinek, a opažanja kažejo, da možganske koncentracije serotoninskega presnovka 5-HIAA upadejo (Collard, 1976). To razlagajo kot odraz zmanjšanja stopnje proženja serotoninskih nevronov, nadzorovan s strani presinaptičnih avtoreceptorjev, ki se odzovejo na povečane količine serotonina v sinaptični špranji (Carlsson, Kehr, Lindqvist, Magnusson in Atack, 1972). Drugje so pokazali, da hranjenje podgan s prehrano na osnovi ogljikovih hidratov, ki so jim predhodno dali klorimipramin, dvigne nivo možganskega serotonina in 5-HIAA presnovka. Povečanje možganskega serotonina in 5-HIAA po uživanju ogljikovih hidratov je podobno pri podganah, ki jim niso dali klorimipramina (Jacoby, Colmenares in Wurtman, 1974). Ta opažanja so dokaz, da »zunanji« nadzor povratnih zank fizioloških dejavnosti serotoninskih nevronov (v tem primeru delovanje antidepresiva, ki sam po sebi povzroči zmanjšanje stopnje proženja serotonergičnih nevronov na osnovi aktivacije presinaptičnih avtoreceptorjev zaradi povečane količine serotonina v sinaptični špranji) ne preglasi »notranje« fiziološke regulacije serotoninske sinteze (s strani prehrane in možganskega triptofana). Uživanje ogljikovih hidratov še nadalje poveča nivo možganskega serotonina pri živalih, ki so jim predhodno dali antidepresiv - zaviralec monoaminske oksidaze, in je opazno dvignil koncentracije možganskega serotonina (Jacoby idr., 1974). Te ugotovitve so dokaz, da znotrajnevrnske

serotoninske koncentracije običajno ne služijo kot nadzor povratne zanke nad serotoninsko sintezo, saj so v opisanem primeru bile koncentracije znotrajnevrnskega serotonina že povečane in bi po takem morala sinteza biti ustavljena s strani le-teh (Wurtman in Fernstrom, 1975).

1.4.2 Prvotne študije tirozina v možganih in njegovega vpliva na sintezo kateholaminov

Po raziskovanju možnosti povečanja možganskega serotonina s strani prehrane, je naslednji korak raziskovanje možnosti povečanja možganskih kateholaminov preko prehrane. Za raziskovanje teh možnosti je bil uporabljen pristop, ki ga je razvil Carlsson s sodelavci (1972) in sicer merjenje stopnje, s katero se DOPA kopiči v možganih živali, malo po vnosu farmakološkega zaviralca encima aromatske L-aminokislinske dekarboksilaze, učinkovine, ki zavira aktivnost encima, ki je zadolžen za pretvorbo DOPE v dopamin (Carlsson idr., 1972). Ko so povzročili spremembe v možganskem nivoju tirozina s strani injiciranja tirozina ali drugih nevtralnih aminokislin (ki zmanjšajo koncentracije možganskega tirozina s tem, da z njim tekmujejo za privzem iz zunajcelične tekočine (Oldendorf, 1971; Smith, 1963)), so bile najdene visoke korelacije s kopičenjem DOPE (Alonso, Agharanya in Wurtman, 1980; Wurtman, Larin, Mostafapour in Fernstrom, 1974). Korelacije so bile najdene tudi pri poskusu, kjer so merili sintezo kateholaminov v možganih živali in sicer posredno preko merjenja kopičenja dopamina in noradrenalina eno uro po vnosu zaviralca monoaminske oksidaze (učinkovina, ki zavre delovanje encima monoaminska oksidaza, ki sicer razgradi monoamine – v tem primeru dopamin in noradrenalin); vnos tirozina je pospešil, vnos valina ali triptofana (tekmovalnih nevtralnih aminokislin) pa upočasnila kopičenje kateholaminov (Wurtman, Larin, Mostafapour in Fernstrom, 1974). Te ugotovitve zagotavljajo prvotne dokaze, da tirozin v možganih lahko nadzoruje stopnjo sinteze kateholaminov. Da bi to lahko zagotovo trdili, bi bilo potrebno pokazati, da se koncentracije tirozina spreminjajo, in ko pride do sprememb, le-tem sledi tudi stopnja sinteze kateholaminov.

Avtorja Wurtman in Fernstrom (1975) povzameta svoje predhodne študije - podgane sta nahranila z obrokom z visoko vsebnostjo beljakovin (40 %) in opazila, da se je povečalo kopičenje tako tirozina kot dope v možganih (po vnosu zaviralca dekarboksilaze, saj bi le-ta sicer pretvoril DOPO v dopamin). Toda, kot je bilo razloženo, prehrana z visoko vsebnostjo beljakovin ne povzroči dviga, temveč nasprotno – lahko celo zmanjša koncentracije triptofana, ki preidejo v možgane in s tem zmanjša sintezo serotonina. Učinek take prehrane na nivo možganskega tirozina pa je najverjetneje rezultat tega, da je

v prehranskih beljakovinah relativno visok delež tirozina in fenilalanina (del katerega je v jetrih pretvorjen v tirozin). Na podlagi teh ugotovitev, avtorja Wurtman in Fernstrom (1975) menita, da uživanje prehrane brez prehranskih beljakovin ali uživanje prehrane z beljakovinami, selektivno ojača aktivnost ene nevrnske populacije ali druge t.j. serotonergičnih ali kateholaminergičnih nevronov, v tem zaporedju (in ne obeh hkrati).

Podobno nakazujejo poskusi, kjer administracija DOPA-e podganam zniža koncentracije 5-HTP (Hashiguti, Nakahara, Maruyama, Naoi in Ikeda, 1993) oziroma triptofana in serotoninina v možganih (Everett in Borcharding, 1970; Karobath, Diaz in Huttunen, 1971) ter zavira sintezo serotoninina (Goldstein in Frenkel, 1971), obratno pa vnos 5-HTP (po vnosu zaviralca aminokislinske dekarboksilaze, ki sicer DOPO in 5-HTP pretvori v dopamin oziroma serotonin) zniža koncentracije DOPE (Hashiguti, Nakahara, Maruyama, Naoi in Ikeda, 1993). Prav tako pa vnos triptofana - tekmovalne aminokislinske (po vnosu zaviralca monoaminske oksidaze) upočasnjuje kopičenje kateholaminov (Wurtman, Larin, Mostafapour in Fernstrom, 1974), kar nakazuje, da prekursorske aminokislinske za dopamin in serotonin obojestransko vplivajo ena na drugo in sicer na aktivnost kateholaminskega ali serotonininskega nevrnskega sistema, in ne obeh hkrati.

1.5 Študije prekursorjev živčnih prenašalcev v vlogi zdravila

Čeprav administracija prekursorjev povzroči povečano sintezo živčnih prenašalcev (Schaechter in Wurtman, 1989; Wurtman idr., 1974; Wurtman in Fernstrom, 1975), ni jasno, ali to vodi tudi do povečanega sproščanja živčnih prenašalcev. Študija na živalih je namreč odkrila, da vnos L-triptofana celo zmanjša frekvence proženja serotonergičnih nevronov (Trulson in Jacobs, 1976). Toda ob povzemanju rezultatov več študij na živalih je avtor Young (1996) zaključil, da vnos L-triptofana lahko poveča sproščanje serotoninina pod določenimi pogoji, in enako bi lahko veljalo tudi pri ljudeh. Do podobnih ugotovitev so v zgoraj opisanih primerih prišli tudi drugi raziskovalci in sicer ne le z vnosom izoliranega L-triptofana, ampak z dejanskim hranjenjem podgan (Fernstrom in Wurtman, 1972b, povzeto po Wurtman in Fernstrom, 1975; Jacoby idr., 1974; Wurtman in Fernstrom, 1975). Pri vnosu 5-HTP so prav tako opazili povečan nivo 5-HIAA v likvorju, kar je pokazatelj povečanega sproščanja serotoninina (Young in Gauthier, 1981).

Glavno vprašanje, ki se pri tem pojavlja je, ali povečano sproščanje živčnih prenašalcev vodi v stalno stimulacijo aktivnosti živčnih prenašalcev t.j. moč signalizacije. Slednja je odvisna ne le od količine živčnih prenašalcev, sproščenih iz presinaptičnega nevrna, ampak tudi od tega, kako dolgo živčni prenašalci ostajo v sinaptični špranji, in od dejavnikov, ki vplivajo na proženje postsinaptičnih nevronov. Sistemi živčnih prenašalcev imajo mehanizme povratnih informacij, ki pomagajo pri vzpostavljanju ravnovesja preko

regulacije aktivnosti živčnih prenašalcev. Spremenjeni pogoji na kratki rok, kot je povečana sinteza živčnih prenašalcev, se lahko uravnotežijo s prilagoditvami znotraj sistema (Meyers, 2000). Časovni zamik med pojavom želenih učinkov antidepresivnih zdravil nakazuje, da pozno razvijajoči dejavniki bolj doprinesejo h klinični učinkovitosti kot njihovi akutni učinki – na primer: imipramin (triciklični antidepresiv) lahko zavre ponovni privzem živčnih prenašalcev v roku nekaj ur, toda potrebnih je več tednov, preden se bolniki začnejo počutiti manj depresivne (Owens, 1996).

1.5.1 Prekursorji serotonina kot zdravila: triptofan in 5-HTP

Terapevtska uporaba 5-HTP zaobide pretvorbo L-triptofana v 5-HTP s strani encima triptofan hidroksilaze, ki šteje kot korak, ki omejuje hitrost pri sintezi serotonina. 5-HTP brez težav prehaja skozi krvno-možgansko pregrado, in za razliko od triptofana, ne potrebuje transportne molekule za vstop v centralni živčni sistem. Ti dejavniki bi lahko pripomogli k netočnim rezultatom študij uporabe L-triptofana pri zdravljenju depresije (Meyers, 2000).

L-triptofan kot prehransko dopolnilo oziroma zdravilo je pokazal učinkovitost pri krajšanju latence spanja (časa potrebnega za pričetek spanja) - vsaj pri osebah, ki trpijo za nespečnostjo (Hartmann in Spinweber, 1979; Spinweber, 1986), a obstajajo študije, kjer so rezultati drugačni in nekonsistentni pri zdravih preiskovancih (Brown, Horrom in Wagman, 1979). Prav tako je pokazal svoj potencial kot antidepresiv (Thomson idr., 1982) oziroma kot ojačevalec antidepresivnih zdravil (Thomson idr., 1982; Levitan idr., 2000). Za razliko od antidepresivov, ki preko mehanizma prilagoditve na osnovi nevroplastičnosti možganov ojačajo delovanje serotonergičnih sistemov, kar zahteva dolgoročni vnos, preden se pojavijo prvotni želeni učinki (Yildiz, Gonul in Tamam, 2012), triptofan kot prekursor serotonina neposredno vpliva na relativno takojšnjo večjo razpoložljivost serotonina v možganih (Wurtman in Fernstrom, 1975). Dvojno-slepa študija je primerjala L-triptofan z amitriptilinom (triciklični antidepresiv) tekom tri-mesečne dobe pri 115 bolnikih, ki so bili v preteklosti hospitalizirani, v času študije pa bili diagnosticirani z zmerno ali hudo depresivno motnjo. Glede na dosežke na Hamiltonovi lestvici depresivnosti in globalne ocene depresivnosti, je L-triptofan z odmerkom 3 grame na dan pokazal večjo učinkovitost kot placebo, enako učinkovitost kot amitriptilin, toda s pomembno manjšim številom stranskih učinkov (Thomson idr., 1982). V relativno obširni študiji z bolniki, ki so bili v preteklosti hospitalizirani zaradi depresije in so v času študije bili diagnosticirani z blago ali zmerno depresijo, so odkrili da je L-triptofan imel pomembno boljše učinke kot placebo (Poldinger idr., 1991). Študija je vredna omembe predvsem zato, ker so spremljali odzivnost bolnikov relativno dolgo dobo (tri mesece).

5-HTP, metabolit triptofana, bi naj imel nekatere pozitivne aspekte pri zdravljenju epilepsije (Kostowski idr., 1978) in depresije, toda rezultati kliničnih testiranj so pomankljivi (Turner, Loftis in Blackwell, 2006). Raziskovalna skupina v Evropi je v 1970ih in zgodnjih 1980ih izvedla raziskave s 5-HTP. Njihova prva študija je ugotovila zmanjšanje depresivnih simptomov v 60ih odstotkih bolnikov, medtem ko placebo skupina ni kazala izboljšanj (van Praag, Kord, Dols in Schut, 1972). Dvojno slepa študija je ugotovila, da je 5-HTP bolj učinkovit od placeba, skoraj tako kot triciklični antidepresiv klomipramin (van Praag, 1980). V sedmih študijah, ki so vključevale skupaj 350 oseb, se jih je 55 odstotkov odzvalo na 5-HTP (van Praag, 1981). Številne raziskave uporabe 5-HTP se bile izvedene tudi na Japonskem v 1970ih. V raziskavi s 100 bolniki, je bilo doseženo pomembno izboljšanje pri 69 %, brez pomembnih neželenih učinkov (Sano, 1972). Odzivnost se je pri večini pokazala pri dveh tednih ali manj, medtem ko antidepresivna zdravila potrebujejo tudi en mesec, preden kažejo zelene terapevtske učinke (Meyers, 2000). Leta 1975 je bil 5-HTP uporabljen pri 24ih hospitaliziranih depresivnih bolnikih. Po dveh tednih se je pokazalo pomembno izboljšanje pri sedmih bolnikih, 27 % (Takahashi, Kondo in Kato, 1975). V drugi Japonski raziskavi je sodelovalo 59 bolnikov in je bilo opaziti pomembno izboljšanje pri 13ih bolnikih (22 %) in zmerno izboljšanje pri 27ih (46 %), prav tako v roku dveh tednov (Nakajima, Kudo in Kaneko, 1978). Leta 1988 je bila izvedena študija s 25imi bolniki, kjer so odkrili, da je terapevtska uporabnost 5-HTP enaka konvencionalnim antidepresivom (Zmilacher, Battegay in Gastpar, 1988). Najboljši rezultati so bili doseženi pri osebah s tesnobočno-depresivnim sindromom in bolnikih endogene akutne depresije. Leta 1991 je Švicarska študija primerjala 5-HTP s fluvoksaminom (SSRI antidepresiv uporabljen pri depresiji in obsesivno-kompulzivni motnji). V dvojno-slepi študiji so 36 oseb ocenjevali šest tednov z uporabo štirih različnih diagnostičnih orodij. Obe skupini (tako 5-HTP kot SSRI) sta do konca šestega tedna pokazali skoraj enako izboljšanje in sicer obe skupini sta imeli približno enako število bolnikov, ki so kazali 50 % izboljšanje, izmerjeno s Hamiltonovo lestvico depresivnosti (Poldinger, Calanchini in Schwarz, 1991). V večini zgoraj omenjenih študij so bolniki bili diagnosticirani s hudo depresivno motnjo.

Kljub temu, da zgoraj omenjene raziskave nakazujejo na terapevtsko učinkovitost prekursorjev serotonina, so nekateri avtorji ob povzemanju več raziskav zaključili, da ni ustreznih dokazov za antidepresivne učinke 5-HTP in/ali triptofana (d'Elia, Hanson in Raotma, 1978). Prav tako menijo, da L-triptofan brez sočasne uporabe antidepresivov nima dovolj antidepresivnih učinkov pri zmerni in hudi endogeni depresiji, toda poudarili so, da bi lahko bil učinkovit pri zmernih disforičnih stanjih. Poudarili so tudi, da bi podskupina depresivnih bolnikov, pri katerih je osnova boleznih pomanjkljivost serotonina, lahko bila dovzetna za zdravljenje s 5-HTP (Beckmann in Kasper, 1983). Nekateri pa so zaključili, da rezultati nakazujejo, da 5-HTP poseduje antidepresivne lastnosti, ampak so za potrditev

potrebna nadaljnja testiranja (Byerley, Judd, Reimherr in Grosser, 1987). Kljub vsemu pa se v primerih blage ali zmerne depresije, zdi smiselno uporabiti prekurzorje živčnih prenašalcev, predvsem zaradi nizke stopnje neželenih učinkov in nizke cene (Meyers, 2000).

1.5.2 Prekurzorji kateholaminov kot zdravila: fenilalanin in tirozin

Če so študije na živalih verodostojni vodnik za delovanje na ljudeh, pa je manj možnosti za povečanje sinteze kateholaminov s strani nalaganja količine prekurzorjev, kot je to v primeru serotonina, saj je encim tirozinska hidroksilaza v normalnih pogojih 75 % nasičena s tirozinom (Young, 1996), medtem ko je encim triptofanska hidroksilaza le 50 % nasičen s triptofanom (Carlsson in Lindqvist, 1978), kar dopušča več manevrskega prostora za nalaganje prekurzorjev živčnih prenašalcev.

Obstaja občutno manj raziskav uporabe prekurzorjev kateholaminov za zdravljenje depresije, kot raziskav uporabe prekurzorjev serotonina. Dve študiji iz leta 1980 nakazujejo, da ima L-tirozin potencial kot antidepresiv, vendar sta obe študiji imeli majhen vzorec (Goldberg, 1980, povzeto po Meyers, 2000; Gelenberg idr., 1980). Kasneje v 1980ih je bilo izvedeno 4-tedensko klinično testiranje, kjer so obravnavali 65 bolnikov, ki so bili v preteklosti hospitalizirani zaradi hude depresije (v času študije so prav tako bili diagnosticirani z depresijo), v dvojno-slepi primerjavi L-tirozina, imipramina in placeba. Rezultati so pokazali, da ni bilo odkritih dokazov za antidepresivno delovanje L-tirozina (Gelenberg idr., 1990).

V dvojno-slepi študiji leta 1979, so vnesli DL-fenilalanin ali imipramin, sodelovalo pa je 40 depresivnih bolnikov (20 v vsaki skupini) in sicer en mesec. Najdenih ni bilo nobenih statistično pomembnih razlik med obema skupinama, izmerjeno preko Hamiltonove lestvice depresivnosti in samo-ocenjevalnega vprašalnika, iz česar so zaključili, da bi DL-fenilalanin naj imel antidepresivne lastnosti (Beckmann, Athen, Olteanu in Zimmer, 1979). V študiji leta 1980, je bilo 11 bolnikov s hudo depresivno motnjo zdravljenih z D-fenilalaninom in sicer štiri tedne. Najdenih ni bilo dokazov antidepresivnih učinkov, vendar so raziskovalci zaključili, da bi bilo potrebno ponovno izvesti študijo z višjimi odmerki (Mann, Peselow, Snyderman in Gershon, 1980). V kasnejši študiji, se je 31 od 40ih bolnikov odzvalo na velike odmerke (skoraj petkratne v primerjavi s prejšnjo študijo – do 14 gramov na dan) L-fenilalanina (Sabelli idr., 1986). Glede na pozitivne rezultate študije primerjave DL-fenilalanina z imipraminom, kjer je bil uporabljen relativno nizek odmerek DL-fenilalanina (150-200 mg/dan) in vseeno bil dosežen terapevtski učinek, bi verjetno večji odmerki lahko bili uporabni v primerih

depresije, kjer je vpletena nizka aktivnost noradrenalina (Meyers, 2000). Še ena možna razlaga je ta, da imajo različni stereoizomeri (D-, L- ali DL-fenilalanin) različne učinke.

Klinične raziskave ponujajo omejeno usmeritev glede izbire med serotonergičnimi ali kateholaminergičnimi prekurzorji. Študije, kjer so raziskovali razmerje med triptofanom v plazmi proti seštevku ostalih velikih nevtralnih aminokislin (levcin, izolevcin, valin, tirozin, fenilalanin) kažejo predvidljiv odziv na serotonergične ali kateholaminergične prekurzorje ali zdravila (Lucini, Lucca, Catalano in Smeraldi, 1996; Lucca idr., 1994; Azorin, Bovier, Widmer, Jeannigros in Tissot, 1990). Takšno testiranje bi lahko ponudilo način izbire med stimulacijo serotonina ali kateholaminov pri depresivnih bolnikih. Vredno je poudariti tudi, da vedno več posameznikov za boljše terapevtske rezultate združuje uporabo antidepresivov s prekurzorji živčnih prenašalcev (Meyers, 2000).

1.6 Metoda namernega izpraznjenja prekurzorjev

Novejše metode izpraznjenja prekurzorjev so priljubljene zaradi svoje varnosti, neinvazivnosti in relativne preprostosti, predvsem pa ker je iz teh razlogov omogočena aplikacija na človeka. Metoda temelji na oralnem vnosu napitka, ki je sestavljen iz zmesi aminokislin, a brez aminokislina, katere učinek pomanjkanja želimo preučevati. V placebo ali kontrolni skupini udeleženci zaužijejo zmes aminokislin vključno s preučevano aminokislino. Rezultat zaužitja vseh ostalih aminokislin, razen proučevane, je močno zmanjšano razmerje preučevane aminokislina proti seštevku ostalih tekmovalnih nevtralnih aminokislin, posledično ostale aminokislina zasedejo mesta za vstop skozi možgansko pregrado. Tako pride do pomanjkanja te aminokislina v možganih in posledično zmanjšane aktivnosti nevronskega sistema, katerega izpuščena aminokislina je prekurzor (Moore idr., 2000).

1.6.1 Študije namerno povzročene izpraznjenja triptofana

Preko študij, kjer so izpraznili zaloge triptofana v možganih in s tem posledično zavrli sintezo serotonina, so med drugim ugotovili tudi vlogo serotonina pri nadzoru razpoloženja in kognicije.

Več raziskovalcev (Ardis idr., 2009; Biggio idr., 1974; Biscup idr., 2012; Moja idr., 1989) je potrdilo, da ima izpraznenje nivoja triptofana, kar so dosegli z oralnim vnosom zmesi nevtralnih tekmovalnih aminokislin brez triptofana pri podganah ali miših, pomemben vpliv na zmanjšanje koncentracij triptofana v plazmi in možganih, zmanjšanje

koncentracij serotonina in 5-HIAA presnovka v možganih (kar je indikator zmanjšane aktivnosti serotonergičnih nevronov (Young in Gauthier, 1981)) ter zmanjšanje sinteze serotonina. Dopamin, noradrenalin sta skupaj z njunimi presnovki ostala nespremenjena. Opazanja nakazujejo, da triptofan igra ključno vlogo pri aktivnosti serotonergičnih nevronov ter da zmes aminokislin brez triptofana zavre aktivnost serotonergičnih nevronov. Podobne rezultate so dobili tudi pri preskusih na ljudeh (Moja idr., 1988).

Nekateri raziskovalci so preko izpraznjenja triptofana v možganih z metodo administracije zmesi aminokislin brez triptofana opazovali še spremembe v vedenju pri ljudeh, s tem pa izpostavili učinke pomanjkanja serotonina in njegovega aminokislinskega prehranskega prekursorja triptofana v možganih. Opazili so povečano impulzivnost pri zdravih testirancih (Walderhau idr., 2002) ter poslabšanje razpoloženja pri zdravih osebah - izmerjeno s samoocenjevalno lestvico depresivnosti (Young, Smith, Pihl in Ervin, 1985). Pri ljudeh z diagnosticirano panično motnjo so opazili močnejše tesnobsne reakcije ter povečano stopnjo paničnih napadov (Miller, Deakin in Anderson, 2000). V drugih raziskavah so opazili povečano agresivnost pri zdravih preiskovancih (Bjork, Dougherty, Moeller, Cherek in Swann, 1999), pri ženskah poslabšano prepoznavanje strahu iz obrazne mimike drugih oseb (Harmer, Rogers, Tunbridge, Cowen in Goodwin, 2003) ter oslABLJENO sposobnost čustvene prepoznave obrazne mimike, ko je oseba z obrazom obrnjena proti testni osebi (Williams, Perrett, Waite in Pechey, 2007). Pri osebah, ki so v preteklosti doživele vsaj eno hudo depresivno epizodo oziroma so imele diagnosticirano depresivno motnjo, a so si opomogle in zdravil več ne uporabljajo, so opazili močno poslabšanje razpoloženja, ki se lahko stopnjuje do relapsa kliničnih simptomov depresije (Moreno idr., 1999; Smith, Fairburn in Cowen, 1997). Drugi raziskovalci so opazili povečan občutek lakote ter večjo dovzetnost za občutek slabosti ob sprožilnih dražljajih – na primer ob vrtenju okoli svoje osi (Rieber idr., 2010), oslABLJENO konsolidacijo dolgoročnega spomina (Schmitt idr., 2000) – predvsem deklarativnega (Harrison idr., 2004), hkrati pa izboljšano sposobnost usmerjene pozornosti, najverjetneje zaradi zmanjšanega zaviralnega delovanja serotonergičnih nevronov v možganski skorji (Schmitt idr., 2000). Dodatno so pri poskusu na živalih opazili še povečano občutljivost na bolečino – hiperalgezijo¹ (Lytle, Messing, Fisher in Phebus, 1975) ter pojav tesnobsnega vedenja (Blokland, Lieben in Deutz, 2002).

¹ Poskus je bil izveden na podganah, saj bi bilo neetično izvesti poskus, kjer namerno povzročijo bolečino, na ljudeh.

1.6.2 Študije namerno povzročene izpraznjenosti tirozina in/ali fenilalanina

Novejše študije, kjer namerno izčrpajo zaloge tirozina in/ali fenilalanina v možganih temeljijo na oralnem vnosu zmesi aminokislin brez tirozina in/ali fenilalanina, kar zmanjša privzem prekurzorjev kateholaminov v možgane. Na ta način varno in hitro - vsaj delno- zavrejo sintezo in aktivnost kateholaminov (vsaj dopamina) v možganih (McTavish idr., 1999; Gibson in Wurtman, 1977; Venugopalan idr., 2011).

Raziskovalci so opazili, da ima izpraznjenost tirozina in fenilalanina v možganih pri ljudeh podobne, a nekoliko manj intenzivne učinke na poslabšanje razpoloženja, kot izpraznjenost triptofana v možganih, kar nakazuje, da nizke koncentracije serotonina in kateholaminov sodelujejo pri pojavu depresivnih stanj, še posebej po izpostavljenosti stresorju, vsaj pri ženskah (Leyton idr., 2000). Isti raziskovalci so pri preiskovanih ženskah opazili tudi povečan občutek dolgočasje. Drugi raziskovalci so opazili upad zadovoljstva in nastop stanja apatije pri zdravih osebah (McLean, Rubinsztein, Robbins in Sahakian, 2004), poslabšano delovanje določenih aspektov spomina (predvsem prostorski delovni spomin, prepoznavo in priklic informacij) pri zdravih osebah (Grevet idr., 2002; Harmer, McTavish, Clark, Goodwin in Cowen, 2001), povečano tesnoba in tendenco k občutkom sovraštva pri zdravih osebah (Grevet idr., 2002) ter zmanjšano subjektivno doživljanje ugodja oziroma nagrade s strani dopaminskega nagrajevalnega sistema pri osebah, ki imele v preteklosti diagnosticirano depresijo, a so si opomogle in zdravil več ne uporabljajo (Roiser idr., 2005).

2 SKLEPI

Cilj zaključne naloge je bilo ugotoviti, ali se da preko prehrane vplivati na koncentracije živčnih prenašalcev v možganih ljudi in podati konkretne namige pri regulaciji psiholoških stanj z negativno valenco, ob čemer velja omeniti, da se specifičnost usmeritve raziskovanja nanaša na serotonin oziroma njegov prekursor triptofan, in kateholamine dopamin, noradrenalin in adrenalin oziroma njihov prekursor tirozin.

Osnovna ugotovitev je ta, da serotonergični in kateholaminergični nevroni prilagodijo svojo sintezo živčnih prenašalcev glede na dostopnost njihovih prekursorskih aminokislin v možganih. Le-te pa moramo ljudje vnesti v telo preko prehrane, natančneje preko prehranskih beljakovin. Iz tega izhaja, da je možno vplivati na koncentracije živčnih prenašalcev tudi na drugačen način kot le z uporabo psihiatričnih zdravil.

Mehanizem, ki nadzoruje vstop tirozina in triptofana v možgane skozi možgansko pregrado je primarno nadzorovan preko tekmovanja nevtralnih aminokislin med seboj.

Triptofan, tirozin, fenilalanin in ostale nevtralne aminokislino tekmujejo med seboj za vstop v možgane, ker si delijo skupni transportni sistem – vsaka od teh aminokislin potrebuje iste transportne molekule za prehod skozi možgansko pregrado, s čimer ena drugi omejuje vstop v možgane. Ker si aminokislino delijo skupni transportni sistem, ob čemer tekmujejo ena z drugo za vstop v možgane, lahko povečamo vstop določene aminokislino v možgane iz plazme tako, da dvignemo razmerje želene aminokislino proti seštevku vseh ostalih tekmovalnih aminokislin.

Uživanje prehranskih beljakovin povzroči dvig vseh vsebovanih aminokislin v plazmi človeka, a s tem ne obrne razmerja v prid eni aminokislino proti ostalim. Dejstvo, da dve različni aminokislino (tirozin in fenilalanin) služita kot prekursor za isti (kateholaminergični) nevronske sistem delno pojasni, da uživanje prehranskih beljakovin služi povečanju sinteze kateholaminov in ojačanju aktivnosti kateholaminergičnega sistema bolj kot serotonergičnega. Dodatno velja omeniti, da kljub temu, da se prekursorske aminokislino naravno nahajajo v prehranskih beljakovinah, je delež triptofana v prehranskih beljakovinah občutno manjši kot posamezni delež tirozina in fenilalanina. Kot primer lahko izpostavim sir parmezan, ki je eno izmed živil tako z najvišjim deležem triptofana kot tirozina: na 100g vsebuje 0,56g triptofana in 2,32g tirozina, pri čemer ni zajeta tudi vsebnost fenilalanina, le-ta pa ima prav tako dosti višje deleže v prehranskih beljakovinah kot triptofan. Iz tega sledi, da je uživanje prehranskih beljakovin (oziroma obroka z visokim deležem beljakovin in majhnim ali ničelnim deležem ogljikovih hidratov) bolj naklonjeno ojačanju aktivnosti kateholaminergičnega sistema.

Uživanje ogljikovih hidratov po drugi strani, pa povzroči sproščanje inzulina, ki pri človeku spodbudi privzem večine plazemskih nevtralnih aminokislin v mišice in tkiva, a ne

triptofana. Posebnost triptofana je ta, da je edina aminokislina, ki se v pomembnem deležu veže na albumin v plazmi, s čimer je »zavarovan« pred učinki inzulina. Vezava na albumin torej omogoči, da se po izločanju inzulina plazemsko razmerje na albumin vezanega triptofana proti ostalim tekmovalnim aminokislinam poveča, sočasno, ko koncentracije ostalih tekmovalnih aminokislin padajo. Iz tega sledi, da uživanje ogljikovih hidratov (oziroma obroka z visokim deležem ogljikovih hidratov in majhnim ali ničelnim deležem beljakovin) dvigne nivo triptofana v plazmi, posledično več triptofana preide v možgane, kar povzroči povečano sintezo serotonina ter ojača aktivnost serotonergičnega sistema.

Uživanje hrane brez prehranskih beljakovin ali uživanje hrane s prehranskimi beljakovinami, tako selektivno ojača aktivnost serotonergičnih ali kateholaminergičnih nevronov in ne obeh hkrati. Glede na nelagodja, ki jih oseba doživlja, pa se lahko odloči za usmeritev v eno od obeh zvrsti prehrane.

Preko študij namernega izpraznjenja triptofana na ljudeh so ugotovili vedenjske učinke pomanjkanja triptofana. Iz tega je moč sklepati, da je za sledeča nelagodja odgovorno pomanjkanje serotonina oziroma premajhna aktivnost serotonergičnega sistema. Če to drži, bi lahko sprememba prehranjevalnih navad v smeri obrokov na osnovi ogljikovih hidratov in čim manj beljakovinami pomagala pri zmanjšanju impulzivnosti, izboljšanju razpoloženja, zmanjšanju občutkov tesnobe oziroma tesnobe reakcij, zmanjšanju agresivnosti, izboljšanju sposobnosti čustvene prepoznave obraznih mimik, zmanjšanju subjektivnega občutka lakote, zmanjšanju dovzetnosti za občutek slabosti, izboljšanju konsolidacije dolgoročnega spomina ter pri zmanjšanju preobčutljivosti na bolečino.

Podobno so preko študij namerne izčrpanosti tirozina in/ali fenilalanina na ljudeh ugotovili vedenjske učinke pomanjkanja tirozina. Prav tako je moč sklepati, da je za sledeča nelagodja odgovorno pomanjkanje kateholaminov oziroma premajhna aktivnost kateholaminergičnega sistema. Če to drži, bi lahko sprememba prehranjevalnih navad v smeri obrokov s čim večjim deležem beljakovin in čim manjšim deležem ogljikovih hidratov pomagala pri izboljšanju razpoloženja, povečanju zanimanja za okoljske dražljaje (oziroma pri zmanjšanju subjektivnega občutka dolgočasja) in vsaj delne odprave stanja apatičnosti, dvigu zadovoljstva, izboljšanju delovanja spomina, zmanjšanju občutkov tesnobe, zmanjšanju tendence k občutkom sovraštva ter ojačanju subjektivnega doživljanja ugodja. Najverjetneje obstaja še veliko neraziskanih učinkov izčrpanosti triptofana, tirozina in/ali fenilalanina, vendar zaradi različnih razlogov, kot je na primer neetičnost določenih poskusov na ljudeh (predvsem poskusov, kjer povzročijo in merijo bolečino), leti niso izvedeni. Izpostaviti je potrebno, da ima izpraznjenost tirozina in/ali fenilalanina v možganih podobne, a nekoliko manj intenzivne učinke na poslabšanje razpoloženja, kot izčrpanost triptofana, kar nakazuje, da pomanjkanje serotonergične in kateholaminergične

aktivnosti skupaj sodeluje pri pojavu depresivnih stanj. Prav tako je veliko študij nakazalo antidepressivne učinke vnosa triptofana, tirozina in fenilalanina pri osebah z depresijo. Iz tega je moč sklepati, da imata omenjeni prekurzorski aminokislini potencial pri odpravi depresivnih stanj tudi preko prehrane. Preko prehrane je količina prekurzorjev, ki preide v možgane občutno manjša, kot če vnašamo prekurzorje v izolirani obliki, a kljub temu ne velja zanemariti njun potencial, vsaj pri odpravi nekliničnih depresivnih stanj.

Človek deluje kot celota, zato zdravja ni možno ločiti na telesno in na duševno zdravje, saj vplivata vzajemno eden na drugega. Če je prisotna telesna okvara (na primer tetraplegija), bo ta negativno vplivala na duševno stanje osebe (na primer pojav depresije), in obratno, če je prisotna duševna motnja (na primer generalizirana tesnoba), bo ta negativno vplivala na telesno zdravje (na primer porušenje razmerja hormonov ali psihosomatska obolenja kot je čir na želodcu). Ravno to pa je pomankljivost te zaključne naloge kot tudi večine navedenih raziskav, ki so bile uporabljene kot reference. Večina raziskav se je osredotočala na možgane. Toda kot primer lahko izpostavim serotonin – tega je 90 % prisotnega in razporejenga v telesu in le 10 % v možganih (Drevenšek, osebna komunikacija, december 2012). Če z neko metodo vplivamo na povečanje triptofana, bo najverjetneje močnejše učinkovalo na preostale dele telesa, kot na možgane, glede na to, da se ga v možganih količinsko nahaja nekajkrat manj. Ugotovitev, da je s prehranskim prekurzorjem možno vplivati na povečano sintezo živčnega prenašalca v možganih je sicer vodilo številnih raziskav prekurzorskih aminokislin in njihovih potencialov v vlogi zdravljenja, vendar bi ob tem bilo potrebno opazovati tudi učinke na celotni organizem in se ne osredotočati le na možgane. Obstaja znan rek: »Vse je strup in nič ni neškodljivo, samo odmerek loči zdravilo od strupa« (Paracelsus, 1493-1541, po Drevenšek, osebna komunikacija, december 2012). Le odmerek je ta, ki loči zdravilo od strupa, zato vsaka snov v preveliki količini postane strupena. Enako bi veljalo v primeru, ko poskušamo vplivati na količinsko majhne spremembe povečanja prekurzorjev v možganih, s tem pa povzročimo dosti večje spremembe v preostalih delih telesa.

3 VIRI IN LITERATURA

- Alonso, R., Agharanya, J.C. in Wurtman, R.J. (1980). Tyrosine loading enhances catecholamine excretion by rats. *Journal of Neural Transmission*, 49, 31-43.
- Alousi, A. in Weiner, N. (1966). The regulation of norepinephrine synthesis in sympathetic nerves: effect of nerve stimulation, cocaine, and catecholamine-releasing agents. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 56(5), 1491-1496.
- Ardis, T.C., Cahir, M., Elliott, J.J., Bell, R., Reynolds, G.P. in Cooper, S.J. (2009). Effect of acute tryptophan depletion on noradrenaline and dopamine in the rat brain. *Journal of Psychopharmacology*, 23(1), 51-55.
- Azorin, J.M., Bovier, P., Widmer, J., Jeannigros, R. in Tissot, R. (1990). L-tyrosine and L-tryptophan membrane transport in erythrocytes and antidepressant drug choice. *Biological psychiatry*, 27(7), 723-734.
- Beckmann, H., Athen, D., Olteanu, M. in Zimmer, R. (1979). DL-phenylalanine versus imipramine: a double-blind study. *Archive für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, 227(1), 49-58.
- Beckmann, H. in Kasper, S. (1983). Serotonin precursors as antidepressive agents: A review. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie*, 51(5), 176-182.
- Belongia, E.A., Hedberg, C.W., Gleich, G.J., White, K.E., Mayeno, A.N., Loegering, D.A., Dunette, S.L., Pirie, P.L., MacDonald, K.L. in Osterholm, M.T. (1990). An investigation of the cause of the eorinophilia-myalgia syndrome associated with tryptophan use. *The New England Journal of Medicine*, 323(6), 357-365.
- Biggio, G., Fadda, F., Fanni, P., Tagliamonte, A. in Gessa, G.L. (1974). Rapid depletion of serum tryptophan, brain tryptophan, serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid by a tryptophan-free diet. *Life Sciences*, 14(7), 1321-1329.
- Biscup, C.S., Sanchez, C.L., Arrant, A., Van Swearingen, A.E.D., Kuhn, C. in Zepf, F.D. (2012). Effects of acute tryptophan depletion on brain serotonin function and concentrations of dopamine and norepinephrine in C57BL/6J and BALB/cJ mice. *PLOS ONE*, 7(5), e35916. doi:10.1371/journal.pone.0035916.
- Bjork, J.M., Dougherty, D.M., Moeller, F.G., Cherek, D.R. in Swann, A.C. (1999). The effects of tryptophan depletion and loading on laboratory aggression in men: time course and a food-restricted control. *Psychopharmacology*, 142(1), 24-30.
- Blokland, A., Lieben, C. in Deutz, N.E. (2002). Anxiogenic and depressive-like effects, but no cognitive deficits, after repeated moderate tryptophan depletion in the rat [Povzetek]. *Journal of Psychopharmacology*, 16(1), 39-49.

- Brown, C.C., Horrom, N.J. in Wagman, A.M. (1979). Effects of L-tryptophan on sleep onset insomniacs [Povzetek]. *Waking and Sleeping*, 3(2), 101-108.
- Byerley, W.F., Judd, L.L., Reimherr, F.W. in Grosser, B.I. (1987). 5-Hydroxytryptophan: a review of its antidepressant efficacy and adverse effects. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 7(3), 127-137.
- Caballero, B., Allen, L. in Prentice, A. (ur.). (2005). *Encyclopedia of human nutrition- four volume set: second edition*. Oxford: Elsevier Ltd.
- Carlsson, A. in Lindqvist, M. (1978). Dependence of 5-HT and catecholamine synthesis on concentrations of precursor amino-acids in rat brain [Povzetek]. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 303(2), 157-164.
- Carlsson, A., Kehr, W., Lindqvist, M., Magnusson, T. in Atack, C.V. (1972). Regulation of monoamine metabolism in the central nervous system [Povzetek]. *Pharmacological Reviews*, 24(2), 371-384.
- Collard, K.J. (1976). The effect of chronic lithium administration on stimulation-induced changes in forebrain 5-hydroxyindoles: modification by chlorimipramine. *British Journal of Pharmacology*, 57(3), 446-447.
- Cooper, J., Bloom, F., Roth, R. (2003). *The Biochemical Basis of Neuropharmacology, 8th edition*. New York: Oxford University Press.
- D'Elia, G., Hanson, L. in Raotma, H. (1978). L-tryptophan and 5-hydroxytryptophan in the treatment of depression: A review. *Acta psychiatrica Scandinavica*, 57(3), 239-352.
- Ehrlich, S.D. (2011). *Phenylalanine*. Pridobljeno 13.8.2013 s strani: <http://umm.edu/health/medical/altmed/supplement/phenylalanine>
- Everett, G.M. in Borcharding, J.W. (1970). L-dopa: effect on concentration of dopamine, norepinephrine, and serotonin in brains of mice. *Science*, 168(3933), 849-850.
- Felig, P. in Wahren, J. (1971). Influence of Endogenous Insulin Secretion on Splanchnic Glucose and Amino Acid Metabolism in Man. *The Journal of Clinical Investigation*, 50(8), 1702-1711.
- Fernstrom, J.D., Larin, F. in Wurtman, R.J. (1973). Correlations between brain tryptophan and plasma neutral amino acid levels following food consumption in rats [Povzetek]. *Life Sciences*, 13, 517-524.
- Fernstrom, J.D. in Wurtman, R. J. (1971). Brain serotonin content: increase following ingestion of carbohydrate diet. *Science*, 174(4013), 1023-1025.
- Fernstrom, J.D. in Wurtman, R.J. (1972). Elevation of plasma tryptophan by insulin in rat. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 21(4), 337-342.
- Filliano, J.J. (2006). Neurometabolic diseases in the newborn. *Clinics in perinatology*, 33(2), 411-479.

- Fitzpatrick, P.F. (2003). Mechanism of aromatic amino acid hydroxylation. *Biochemistry*, 42(48), 14083-14091.
- Gandhi, J.D. (2009). *Vascular effects of tryptophan*. Diplomsko delo, Saskatoon: University of Saskatchewan, College of Medicine.
- Gant, C. (n.d.). *The role of 5HTP as a precursor for serotonin and melatonin in the treatment of anxiety, panic disorder, sleep disorder, weight management, fibromyalgia, migraine and withdrawal from antidepressant medication*. Pridobljeno 4.8.2013, s strani: <http://www.charlesgantmd.com/articles/5HTP-as-precursor.pdf>
- Gastuffson, B.I., Tommeras, K., Nordrum, I., Loennechen, J.P., Brunsvik, A., Solligard, E., Fossmark, R., Bakke, I., Syversen, U. in Waldum, H. (2005). Long-term serotonin administration induces heart valve disease in rats. *Circulation*, 111(12), 1517-1522.
- Gelenberg, A.J., Wojcik, J.D., Falk, W.E., Baldessarini, R.J., Zeisel, S.H., Schoenfeld, D. in Mok, G.S. (1990). Tyrosine for depression: a double-blind trial. *Journal of Affective Disorders*, 19(2), 125-132.
- Gibson, C.J. in Wurtman, R.J. (1977). Physiological control of brain catechol synthesis by brain tyrosine concentration. *Biochemical Pharmacology*, 26(12), 1137-1142.
- Gold, M.S. in Pottash, A.L.C. (ur.). (1986). *Diagnostic and laboratory testing in psychiatry*. New York: Plenum Publishing Corporation.
- Goldberg, I.K. (1980). L-tyrosine in depression. *Lancet*, 2(8190), 364-365.
- Goldstein, M. in Frenkel, R. (1971). Inhibition of serotonin synthesis by dopa and other catechols. *Nature New Biology*, 223, 179-180. doi:10.1038/newbio233179a0.
- Goodwill, K.E., Sabatier, C., Marks, C., Raag, R., Fitzpatrick, P.F. in Stevens, R.C. (1997). Crystal structure of tyrosine hydroxylase at 2.3 Å and its implications for inherited neurodegenerative diseases. *Nature Structural Biology*, 4(7), 578-585.
- Gordon, S.A. in Paleg, L.G. (1961). Formation of auxin from tryptophan through action of polyphenols. *Plant Physiology*, 36(6), 838-845.
- Goridis, C. in Rohrer, H. (2012). Specification of catecholaminergic and serotonergic neurons. *Nature Reviews Neuroscience*, 3, 531-541.
- Grevet, E.H., Tietzmann, M.R., Shansis, F.M., Hastenpflugl, C., Santana, L.C., Forster, L., Kapczinski, F. in Izquierdo, I. (2002). Behavioural effects of acute phenylalanine and tyrosine depletion in healthy male volunteers. *Journal of Psychopharmacology*, 16(1), 51-55.
- Guroff, G. in Udenfriend, S. (1962). Studies on aromatic amino acid uptake by rat brain in vivo: Uptake of phenylalanine and of tryptophan; inhibition and stereoselectivity in the uptake of tyrosine by brain and muscle. *The Journal of Biological Chemistry*, 237 (3), 803-806.
- Hardebo, J.E. in Owman, C. (1980). Barrier mechanisms for neurotransmitter monoamines and their precursors at the blood-brain interface [Povzetek]. *Annals of Neurology*, 8(1), 1-31.

- Harmer, C.J., McTavish, S.F., Clark, L., Goodwin, G.M. in Cowen, P.J. (2001). Tyrosine depletion attenuates dopamine function in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berlin)*, 154(1), 105-111.
- Harmer, C.J., Rogers, R.D., Tunbridge, E., Cowen, P.J. in Goodwin, G.M. (2003). Tryptophan depletion decreases the recognition of fear in female volunteers. *Psychopharmacology*, 167(4), 411-417. doi:10.1007/s00213-003-1401-6.
- Harper, D. (Ur.). (2001). *Spletni etimološki slovar*. Pridobljeno 11.8.2013 s strani: <http://www.etymonline.com>
- Harrison, B.J., Olver, J.S., Norman, T.R., Burrows, G.D., Wesnes, K.A. in Nathan, P.J. (2004). Selective effects of acute serotonin and catecholamine depletion on memory in healthy women. *Journal of Psychopharmacology*, 18(1), 32-40.
- Hartmann, E. in Spinweber, C.L. (1979). Sleep induced by L-tryptophan: Effects of dosage within the normal dietary intake [Povzetek]. *The Journal of Nervous and Mental Disease*, 167(8), 497-499.
- Hashiguti, H., Nakahara, D., Maruyama, W., Naoi, M. in Ikeda, T. (1993). Simultaneous determination of in vivo hydroxylation of tyrosine and tryptophan in rat striatum by microdialysis-HPLC: relationship between dopamine and serotonin biosynthesis. *Journal of Neural Transmission*, 93(3), 213-223.
- Higdon, J. (2002). *Niacin*. Pridobljeno 5.8.2013, s strani: <http://ipi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins/niacin>
- Hill, R.H.Jr., Caudill, S.P., Philen, R.M., Bailey, S.L., Flanders, W.D., Driskell, W.J., Kamb, M.L., Needham, L.L. in Sampson, E.J. (1993). Contaminants in L-tryptophan associated with eosinophilia myalgia syndrome [Povzetek]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 25(1), 134-142.
- Hopkins, F.G. in Cole, S.W. (1901). A contribution to the chemistry of proteids: A preliminary study of hitherto undescribed product of tryptic digestion. *Journal of Physiology*, 27(4-5), 418-428.
- Jackson, R.W. (1930). A synthesis of tryptophol. *Journal of Biological Chemistry*, 88(3), 659-662.
- Jacoby, J.H., Colmenares, J.L. in Wurtman, R.J. (1975). Failure of decreased serotonin uptake or monoamine oxidase inhibition to block the acceleration in brain 5-hydroxyindole synthesis that follows food consumption [Povzetek]. *Journal of Neural Transmission*, 37(1), 25-32.
- James, W.D., Berger, T.G. in Elston, D.M. (2006). *Andrews' Diseases of the Skin: clinical Dermatology*. San Francisco: Saunders Elsevier.
- Joh, T.H., Geghman, C. in Reis, D. (1973). Immunochemical Demonstration of Increased Accumulation of Tyrosine Hydroxylase Protein in Sympathetic Ganglia and Adrenal Medulla Elicited by Reserpine. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 70(10), 2767-2771.

- Kandel, E.R. (2005). *Psychiatry, Psychoanalysis, and the New Biology of Mind*. Arlington: American Psychiatric Publishing.
- Karobath, M. (1971). Catecholamines and the hydroxylation of tyrosine in synaptosomes isolated from rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 68(10), 2370-2373.
- Karobath, M., Diaz, J.L. in Huttunen, M.O. (1971). The effect of L-dopa on the concentrations of tryptophan, tyrosine and serotonin in rat brain. *European Journal of Psychopharmacology*, 14(4), 393-396.
- Knott, P.J. in Curzon, G. (1972). Free tryptophan in plasma and brain tryptophan metabolism [Povzetek]. *Nature*, 239(5373), 452-453.
- Kostowski, W., Bidzinski, A., Hauptmann, M., Malinowski, J.E., Jerlics, M. in Dymecki, J. (1978). Brain serotonin and epileptic seizures in mice: a pharmacological and biochemical study. *Polish Journal of Pharmacology & Pharmacy*, 30(1), 41-47.
- Ledochowski, M., Sperner-Unterweger, B. in Fuchs, D. (1998). Lactose malabsorption is associated with early signs of mental depression in females: a preliminary report. *Digestive Diseases and Sciences*, 43(11), 2513-2517.
- Ledochowski, M., Widner, B., Murr, C., Sperner-Unterweger, B. in Fuchs, D. (2001). Fructose malabsorption is associated with decreased plasma tryptophan. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 36(4), 367-371.
- Levitan, R.D., Shen, J., Jindal, R., Driver, H.S., Kennedy, S.H in Shapiro, C.M. (2000). *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 25(4), 337-346.
- Levitt, M., Spector, S., Sjerdsma, A. in Udenfriend, S. (1965). Elucidation of the rate-limiting step in norepinephrine biosynthesis in the perfused guinea-pig heart [Povzetek]. *The Journal of Psychopharmacology and Experimental Therapeutics*, 148(1), 1-8.
- Leyton, M., Young, S.N., Pihl, R.O., Etezadi, S., Lauze, C., Blier, P., Baker, G.B. in Benkelfat, C. (2000). Effects on mood of acute phenylalanine/tyrosine depletion in healthy women. *Neuropsychopharmacology*, 22(1), 52-67. doi:10.1016/S0893-133X(99)00086-X.
- Lipsett, D., Madras, B.K., Wurtman, R.J. in Munro, H.N. (1973). Serum tryptophan level after carbohydrate ingestion - selective decline in non-albumin-bound tryptophan coincident with reduction in serum free fatty acids. *Life Sciences*, 12(2), 57-64.
- Lou, H.C. (1994). Dopamine precursors and brain function in phenylalanine hydroxylase deficiency. *Acta Paediatrica*, 407, 86-88.
- Lucca, A., Lucini, V., Catalano, M., Alfano, M. in Smeraldi, E. (1994). Plasma tryptophan to large neutral amino acids ratio and therapeutic response to a selective serotonin uptake inhibitor. *Neuropsychobiology*, 29(3), 108-111.
- Lucini, V., Lucca, A., Catalano, M. in Smeraldi, E. (1996). Predictive value of tryptophan/large neutral amino acids ratio to antidepressant response. *Journal of Affective Disorders*, 36(3-4), 129-133.

- Lyons, P.M. in Truswell, A.S. (1988). Serotonin precursor influenced by type of carbohydrate meal in healthy adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 47(3), 433-439.
- Lytle, L.D., Messing, R.B., Fisher, L. in Phebus, L. (1975). Effects of long-term corn consumption on brain serotonin and the response to electric shock. *Science*, 190(4215), 692-694.
- Macleod, E.L. in Ney, D.M. (2010). Nutritional management of phenylketonuria. *Annales Nestle [english edition]*, 68(2), 58-69.
- Madras, B.K., Cohen, E.L., Fernstrom, J.D., Larin, F., Munro, H.N. in Wurtman, R.J. (1973). Dietary carbohydrate increases brain tryptophan and decreases free plasma tryptophan. *Nature*, 244(5410), 34-35.
- Manders, D.W. (1995). The FDA ban of L-tryptophan: politics, profits and prozac. *Social Policy*, 26(2), 55-57.
- Mann, J., Peselow, E.D., Snyderman, S. in Gershon, S. (1980). D-phenylalanine in endogenous depression. *The American Journal of Psychiatry*, 137(12), 1611-1612.
- Mardešič, D. (2003). *Pedijatrija*. Zagreb: Školska knjiga.
- McLean, A., Rubinsztein, J.S., Robbins, T.W. in Sahakian, B.J. (2004). The effects of tyrosine depletion in normal healthy volunteers: implications for unipolar depression. *Psychopharmacology (Berlin)*, 171(3), 286-297.
- McMenamy, R.H., Lund, C.C. in Oncley, J.L. (1957). Unbound amino acid concentrations in human blood plasmas. *The Journal of Clinical Investigation*, 36(12), 1672-1679.
- McTavish, S.F., Cowen, P.J. in Sharp, T. (1999). Effect of a tyrosine-free amino acid mixture on regional brain catecholamine synthesis and release. *Psychopharmacology (Berlin)*, 141(2), 182-188.
- Metzler, D.E., Metzler, C.M. in Sauke, D.J. (2001). *Biochemistry: The Chemical Reactions of Living Cells (2nd edition)*. San Diego: Academic Press.
- Meyer, J.S. in Quenzer, L.F. (2005). *Psychopharmacology: Drugs, the Brain and Behavior*. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.
- Meyers, S. (2000). Use of neurotransmitter precursors for treatment of depression. *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic*, 5(1), 64-71.
- Miller, H.E.J., Deakin, J.F.W. in Anderson, I.M. (2000). Effects of acute tryptophan depletion on CO₂-induced anxiety in patients with panic disorder and normal volunteers. *British Journal of Psychiatry*, 176, 182-188.
- Moja, E.A., Cipolla, P., Castoldi, D. in Tofanetti, O. (1989). Dose-response decrease in plasma tryptophan and in brain tryptophan and serotonin after tryptophan-free amino acid mixtures in rats. *Life Sciences*, 44(14), 971-976.
- Montgomery, A.J., McTavish, S.F.B., Cowen, P.J. in Grasby, P.M. (2003). Reduction of brain dopamine concentration with dietary tyrosine plus phenylalanine depletion: and [11C]raclopride PET study. *The American Journal of Psychiatry*, 160(10), 1887-1889.

- Moore, P., Landholt, H.P., Seifritz, E., Clark, C., Bhatti, T., Kelsoe, J., Rapaport, M. in Gillin, J.C. (2000). Clinical and physiological consequences of rapid tryptophan depletion. *Neuropsychopharmacology*, 23(6), 601-622.
- Moreno, F.A., Gelenberg, A.J., Heninger, G.R., Potter, R.L., McKnight, K.M., Allen, J., Phillips, A.P. in Delgado, P.L. (1999). Tryptophan depletion and depressive vulnerability. *Society of Biological Psychiatry*, 46(4), 498-505.
- Nakajima, T., Kudo, Y. in Kaneko, Z. (1978). Clinical evaluation of 5-hydroxy-L-tryptophan as an antidepressant drug. *Folia Psychiatrica et Neurologica Japonica*, 32(2), 223-230.
- Oldendorf, W.H. (1971). Brain uptake of radiolabeled amino acids, amines, and hexoses after arteriral injection. *American Journal of Physiology*, 221(6), 1629-1639.
- Opitz, C.A., Litznerburger, U.M., Sahm, F., Ott, M., Tritschler, I., Trump, S., Schumacher, T., Jestaedt, L., Schrenk, D., Weller, M., Jugold, M., Guillemin, G.J., Miller, C.L., Lutz, C., Radlwimmer, B., Lehmann, I., von Deimling, A., Wich, W. in Platten, M. (2011). An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. *Nature*, 478(7368), 197-203.
- Owens, M.J. (1996). Molecular and cellular mechanisms of antidepressant drugs. *Depression and Anxiety*, 4(4), 153-159.
- Poldinger, W., Calanchini, B. in Schwarz, W. (1991). A functional-dimensional approach to depression: serotonin deficiency as a target syndrome in a comparison of 5-hydroxytryptophan and fluvoxamine. *Psychopathology*, 24(2), 53-81.
- Proteins are the Body's Worker Molecules. (n.d.). V *The Structures of Life*. Pridobljeno, 4.8.2013, s strani: <http://publications.nigms.nih.gov/structlife/chapter1.html>
- Purcell, A.E. in Walter, W.M.Jr. (1982). Stability of amino acids during cooking and processing of weet potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(3), 443-444.
- Radwanski, E.R. in Last, R.L. (1995). Tryptophan biosynthesis and metabolism: biochemical and molecular genetics. *The Plant Cell*, 7(7), 921-934.
- Renson, J. (1973). Assays and properties of tryptophan 5-hydroxylase. V J. Barchas in E. Usdin (ur.), *Serotonin and Behavior* (19-32). New York: Academic Press.
- Rieber, N., Mischler, D., Schumacher, V., Muth, E., Bischoff, S., Klosterhalfen, S., Zipfel, S. in Enck, P. (2010). Acute tryptophan depletion increases experimental nausea but also induces hunger in healthy female subjects. *Neurogastroenterol Motil*, 22(7), 752-757.
- Roiser, J.P., McLean, A., Ogilvie, A.D., Blackwell, A.D., Bamber, D.J., Goodyer, I., Jones, P.B. in Sahakian, B.J. (2005). The subjective and cognitive effects of acute phenylalanine and tyrosine depletion in patients recovered from depression [Povzetek]. *Neuropsychopharmacology*, 30(4), 776-785.

- Sabelli, H.C., Fawcet, J., Gusovsky, F., Javaid, J.I., Wynn, P., Edwards, J., Jeffriess, H. in Kravitz, H. (1986). Clinical studies on the phenylethylamine hypothesis of affective disorder: urine and blood phenylacetic acid and phenylalanine dietary supplements. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 47(2), 66-70.
- Sano, I. (1972). L-5-hydroxytryptophan (L-5-HTP) therapy. *Folia Psychiatrica et Neurologica Japonica*, 26(1), 7-17.
- Schaechter, J.D. in Wurtman, R.J. (1989). Tryptophan availability modulates serotonin release from rat hypothalamic slices [Povzetek]. *Journal of Neurochemistry*, 53(6), 1925-1933.
- Schaechter, J.D. in Wurtman, R.J. (1990). Serotonin release varies with brain tryptophan levels. *Brain Research*, 532(1-2), 203-210.
- Schmitt, J.A., Jorissen, B.L., Sobczak, S., van Boxtel, M.P., Hogervorst, E., Deutz, N.E. in Riedel, W.J. (2000). Tryptophan depletion impairs memory consolidation but improves focussed attention in healthy young volunteers [Povzetek]. *Journal of Psychopharmacology*, 14(1), 21-29.
- Serotonin-Metabolism. (n.d.). V *Pharmacoma: drug knowledge*. pridobljeno 8.8.2013, s strani: http://www.pharmacorama.com/en/Sections/Serotonin_2_1.php
- Slovenski medicinski slovar: 5. razširjena izdaja*. (2012). Univerza v Ljubljani: Medicinska fakulteta. Pridobljeno 3.8.2013, s strani: <http://www.termania.net>
- Slutsker, L., Hoesfly, F.C., Miller, L., Williams, L.P., Watson, J.C. in Fleming, D.W. (1990). Eosinophilia-myalgia syndrome associated with exposure to tryptophan from a single manufacturer [Povzetek]. *The Journal of the American Medical Association*, 264(2), 213-217.
- Smith, S.E. (1963). Uptake of 5-hydroxy[14C]tryptophan by rat and dog brain slices. *British Journal of Pharmacology*, 20, 178-189.
- Smith, K.A., Fairburn, C.G. in Cowen, P.J. (1997). Relapse of depression after rapid depletion of tryptophan [Povzetek]. *The Lancet*, 349(9056), 915-919.
- Spinweber, C.L. (1986). L-tryptophan administered to chronic sleep-onset insomniacs: late-appearing reduction of sleep latency [Povzetek]. *Psychopharmacology (Berlin)*, 90(2), 151-155.
- Takahashi, S., Kondo, H. in Kato, N. (1975). Effect of L-5-hydroxytryptophan on brain monoamine metabolism and evaluation of its clinical effect in depressed patients [Povzetek]. *Journal of Psychiatric Research*, 12(3), 177-187.
- Thibaut, F., Ribeyre, J.M., Dourmap, N., Meloni, R., Laurent, C., Champion, D., Menard, J.F., Dollfus, S., Mallet, J. in Petit, M. (1997). Association of DNA polymorphism in the first intron of the tyrosine hydroxylase gene with disturbances of the catecholaminergic system in schizophrenia [Povzetek]. *Schizophrenia research*, 23(3), 259-264.

- Thomson, J., Rankin, H., Ashcroft, G.W., Yates, C.M., McQueen, J.K. in Cummings, S.W. (1982). The treatment of depression in general practice: a comparison of L-tryptophan, amitriptyline, and a combination of L-tryptophan and amitriptyline with placebo [Povzetek]. *Psychological Medicine*, 12(4), 741-751.
- Trulson, M.E. in Jacobs, B.L. (1976). Dose-response relationships between systemically administered L-tryptophan or L-5-hydroxytryptophan and raphe unit activity in the rat [Povzetek]. *Neuropharmacology*, 15(6), 339-344.
- Turner, E.H., Loftis, J.M. in Blackwell, A.D. (2006). Serotonin a la carte: supplementation with the serotonin precursor 5-hydroxytryptophan [Povzetek]. *Pharmacology & Therapeutics*, 109(3), 325-338.
- USDA National Nutrient Database for Standard Reference, release 25. (2012). Pridobljeno 6.8.2013, s strani: <http://ndb.nal.usda.gov>
- van Praag, M.H. (1980). Central monoamine metabolism in depression II: Catecholamines and related compounds. *Comprehensive Psychiatry*, 21(1), 44-54.
- van Praag, H.M. (1984). In search of the mode of action of antidepressants: 5-HTP/tyrosine mixtures in depression [Povzetek]. *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, 39, 301-314.
- van Praag, H.M., Kord, J., Dols, L.C. in Schut, T. (1972). A pilot study of the predictive value of the probenecid test in application of 5-hydroxytryptophan as antidepressant [Povzetek]. *Psychopharmacologia*, 25(1), 14-21.
- Venugopalan, V.V., Casey, K.F., O'Hara, C., O'Loughlin, J., Benkelfat, C., Fellows, L.K. in Leyton, M. (2011). Acute phenylalanine/tyrosine depletion reduces motivation to smoke cigarettes across stages of addiction. *Neuropsychopharmacology*, 36(12), 2469-2476.
- Walderhaug, E., Lunde, H., Nordvik, J.E., Landro, N., Refsum, H. in Magnusson, A. (2002). Lowering of serotonin by rapid tryptophan depletion increases impulsiveness in normal individuals. *Psychopharmacology*, 164(4), 385-391.
- Williams, J.H.G., Perrett, D.I., Waiter, G.D. in Pechey, S. (2007). Differential effects of tryptophan depletion on emotion processing according to face direction. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 2(4), 264-273. Doi:10.1093/scan/nsm021.
- Worobey, J., Tepper, B.J. in Kanarek, R.B. (2006). *Nutrition and Behavior: A Multidisciplinary Approach*. Wallingford: CABI Publishing.
- Wurtman, R.J. (1970). Diurnal rhythms in mammalian protein metabolism. V H.N. Munro (ur.), *Mammalian Protein Metabolism: Volume 4* (445-479). New York: Academic press.
- Wurtman, R.J. (2004). *Tryptophan*. Pridobljeno 30.8.2013 s strani: <http://wurtmanlab.mit.edu/static/pdf/928.pdf>
- Wurtman, R.J. in Fernstrom, J.D. (1975). Control of brain monoamine synthesis by diet and plasma amino acids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 28, 638-647.

- Wurtman, R.J., Larin, F., Mostafapour, S. in Fernstrom, J.D. (1974). Brain catechol synthesis: control by brain tyrosine concentration. *Science*, 185(4146), 183-184.
- Yildiz, A., Gonul, A.S. in Tamam, L. (2012). Mechanism of actions of antidepressants: beyond the receptors. *Bulletin of Clinical Psychopharmacology*, 12(4), 194-200.
- Young, S.N. (1996). Behavioral effects of dietary neurotransmitter precursors: basic and clinical aspects. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 20(2), 313-323.
- Young, S.N. in Gauthier, A.M. (1981). Effects of tryptophan administration on tryptophan, 5-hydroxyindoleacetic acid and indoleacetic acid in human lumbar and cisternal cerebrospinal fluid [Povzetek]. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 44, 323-328.
- Young, S.N., Smith, S.E., Pihl, R.O. in Ervin, F.R. (1985). Tryptophan depletion causes a rapid lowering of mood in normal males [Povzetek]. *Psychopharmacology*, 87(2), 173-177.
- Zmilacher, K., Battegay, R. in Gastpar, M. (1988). L-5-hydroxytryptophan alone and in combination with a peripheral decarboxylase inhibitor in the treatment of depression [Povzetek]. *Neuropsychobiology*, 20(1), 28-35.