



lek. Jakub Przemysław Słupski

**Rola jonów miedzi w leczeniu lekoopornych zaburzeń
nastroju z zastosowaniem ketaminy**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: prof. dr hab. n. med. Wiesław Jerzy Cubała

Klinika Psychiatrii Dorosłych
Wdział Lekarski
Gdański Uniwersytet Medyczny

Gdańsk 2021

*Chcę serdecznie podziękować
Promotorowi, Panu prof. dr. hab. n. med.
Wiesławowi Jerzemu Cubale, za nieocenione
wsparcie merytoryczne i motywację do działania,
Koleżance Natalii Górskiej, za współpracę
w prowadzeniu projektu badawczego,
Koledze Adamowi Włodarczykowi, za życzliwą
pomoc w licznych aspektach pracy zawodowej,
Rodzicom – Maciejowi i Elżbiecie, za przykład
zaangażowania w lekarską misję,
Żonie Anicie, za codzienne bycie podporą
i wielką cierpliwość do mojej osoby.*

Spis treści

Wykaz stosowanych skrótów	4
Wykaz prac wchodzących w skład rozprawy	5
Wstęp, materiał i metody	6
Cele	7
Wyniki i wnioski	8
Podsumowanie	9
Streszczenie pracy w języku angielskim	10
Piśmiennictwo	14

Wykaz stosowanych skrótów

ADT	–	antidepressant
AMPA	–	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor
BBB	–	blood-brain barrier
BDNF	–	brain-derived neurotrophic factor
BMI	–	Body Mass Index
BP	–	bipolar disorder
CREB	–	cAMP response element-binding protein
CSF	–	cerebrospinal fluid
Ctrl	–	Cu transporter 1
DMT1	–	divalent metal transporter 1
DSM-5	–	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5 th edition
DTD	–	difficult-to-treat depression
EPSP	–	excitatory postsynaptic potential
HAM-D	–	Hamilton Depression Rating Scale
HNK	–	hydroxynorketamine
MADRS	–	Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale
MAO-A	–	monoamine oxidase type A
MAO-B	–	monoamine oxidase type B
MDD	–	major depressive disorder
MINI	–	Mini International Neuropsychiatric Interview
MoB	–	blotchy mutant mice
mPFC	–	medial prefrontal cortex
NMDA	–	<i>N</i> -metylo-D-asparaginy
NMDAR	–	<i>N</i> -methyl-D-aspartate receptor
PrP ^C	–	cellular prion protein
SHAPS	–	Snaith-Hamilton Anhedonia Pleasure Scale
SNRI	–	selective serotonin-noradrenaline reuptake inhibitor
SSRI	–	selective serotonin reuptake inhibitor
SOC	–	standard of care
TCA	–	tricyclic antidepressant
TRD	–	treatment-resistant depression
YMRS	–	Young Mania Rating Scale

Wykaz prac wchodzących w skład rozprawy

Rozprawa doktorska jest przedstawiona jako cykl czterech spójnych tematycznie prac opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych, znajdujących się na liście filadelfijskiej.

Słupski J, Cabała WJ, Górka N, Gałuszko-Węgielnik M, Wigłusz MS. Role of copper in depression. Relationship with ketamine treatment. *Med Hypotheses*. 2018; 119: 14-17. [IF **1.322**, MNiSW 40.000]

Słupski J, Słupska A, Szałach ŁP, Włodarczyk A, Górka N, Szarmach J, Jakuszkowiak-Wojten K, Gałuszko-Węgielnik M, Wilkowska A, Wigłusz MS, Cabała WJ. Role of copper and ketamine in major depressive disorder - an update. *Psychiatr Danub*. 2019; 31 (Suppl 3): 520-523. [IF **0.764**, MNiSW 40.000]

Słupski J, Cabała WJ, Górka N, Słupska A, Gałuszko-Węgielnik M. Copper Concentrations in Ketamine Therapy for Treatment-Resistant Depression. *Brain Sci*. 2020; 10(12): E971. [IF **3.332**, MNiSW 100.000]

Słupski J, Cabała WJ, Górka N, Słupska A, Gałuszko-Węgielnik M. Copper and anti-anhedonic effect of ketamine in treatment-resistant depression. *Med Hypotheses*. 2020; 144: 110268. [IF **1.375**, MNiSW 40.000]

Łączna punktacja cyklu publikacji:

Impact Factor: 6.793

MNiSW: 195.000

Wstęp

Miedź jest jednym z kluczowych mikroelementów w ludzkim organizmie¹. Funkcjonowanie ośrodkowego układu nerwowego jest w dużym stopniu zależne od stężeń jonów miedzi, biorących udział w procesach neuroprzekąźnictwa, poznawczych, neurogenezy i synaptogenezy^{2,3}. Rola miedzi w metabolizmie katecholamin, zwłaszcza dopaminy, wskazuje na powiązania z etiopatogenezą depresji, jakkolwiek wyniki badań dotyczących zawartości miedzi w surowicy pacjentów ze zdiagnozowaną depresją są niejednorodne⁴. Współczesne leczenie przeciwdepresyjne obejmuje zakres leków, o dość homogennym mechanizmie działania, związanym z przekąźnictwem monoaminergicznym⁵. Względnie niski odsetek remisji wśród pacjentów z depresją, a także liczne działania niepożądane i opóźniony początek działania, skłaniają do poszukiwań nowych rozwiązań terapeutycznych. Prace poświęcone układowi glutamatergicznemu zdominowały ostatnie badania nad neurobiologicznymi mechanizmami depresji.

Ketamina wpływa na przekąźnictwo glutamatergiczne poprzez antagonizm wobec receptora *N*-metylo-*D*-asparaginowego (NMDA), skutkując działaniem przeciwdepresyjnym⁶. Istnieją doniesienia wskazujące na antagonistyczne oddziaływanie jonów miedzi na receptor NMDA – zarówno bezpośrednio, jak za pośrednictwem białek prionowych^{7,8}. Synergistyczne oddziaływanie między farmakodynamiczną aktywnością miedzi i ketaminy może mieć szczególne znaczenie w zaburzeniach nastroju.

Material i metody

Badana populacja obejmowała pacjentów z naturalistycznego rejestru obserwacyjnego dla dożylnych wlewów ketaminy w farmakoterapii lekoopornych zaburzeniach nastroju. Diagnoza została ustalona przez lekarza-psychiatrę zgodnie z kryteriami Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5) i zweryfikowana za pomocą Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI). Wszyscy uczestnicy wykazywali oporność na leczenie w obecnym epizodzie depresyjnym. W okresie przesiewowym oraz w trakcie badania pacjenci byli oceniani przez klinicystę za pomocą skali Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale (MADRS), skali objawów maniakałnych Young Mania Rating Scale (YMRS) oraz za pomocą samooceny pacjenta skalą Snaith-Hamilton Pleasure Scale (SHAPS). Do badania włączono tylko osoby dorosłe w stabilnym stanie zdrowia, określanym na podstawie badania przedmiotowego, wywiadu medycznego, parametrów życiowych, testów laboratoryjnych i elektrokardiografii (EKG). Kryteria wykluczenia obejmowały ciążę, karmienie piersią, niestabilne lub źle kontrolowane choroby współistniejące oraz wcześniejsze zdarzenia niepożądane po ekspozycji na ketaminę.

Projekt badania obejmował podanie 8 wlewów dożylnych ketaminy w ciągu 4 tygodni u pacjentów z lekoopornymi zaburzeniami nastroju. Przyjęto definicję oporności na leczenie jako niewystarczająca odpowiedź na co najmniej dwie próby leczenia⁹. Ketaminę podawano w dawce 0,5 mg/kg na podstawie rzeczywistej masy ciała pacjenta i podawano we wlewie dożylnym przez 40 minut. Monitorowanie bezpieczeństwa odbywało się przed, w trakcie i po wlewie co 15 minut, do 90 minut po wlewie, obejmując okresową ocenę parametrów

życiowych. Ocenę psychometryczną za pomocą skal MADRS, YMRS, SHAPS przeprowadzano przed 1, 3, 5 i 7 infuzją oraz tydzień po ostatniej infuzji.

Uczestników definiowano jako odpowiadających na leczenie (ang. *responder*) w danym punkcie czasowym, jeśli procentowa poprawa całkowitego wyniku MADRS w stosunku do wartości wyjściowej wynosiła co najmniej 50%; pacjenci osiągnęli remisję (ang. *remitter*) gdy łączny wynik MADRS wynosił ≤ 10 punktów¹⁰.

Poziomy miedzi oceniano co tydzień, przed co drugim wlewem i tydzień po ostatniej infuzji ketaminy. Stężenia jonów miedzi w surowicy oznaczono metodą bezpośredniego pomiaru kolorymetrycznego.

Protokół badania został zatwierdzony przez Niezależną Komisję Bioetyczną (NKBBN/172-674/2019). Wszyscy uczestnicy wyrazili pisemną, świadomą zgodę po potwierdzeniu zrozumienia procedur badania.

Cele

“Role of copper in depression. Relationship with ketamine treatment”

Celem pracy przeglądowej było opisanie hipotetycznych mechanizmów działania ketaminy ze szczególnym uwzględnieniem funkcjonowania receptora NMDA oraz przybliżenie roli miedzi w pracy ośrodkowego układu nerwowego, a także postawienie hipotezy o potencjalnie istotnych interakcjach miedzi z ketaminą i receptorem NMDA.

“Role of copper and ketamine in major depressive disorder - an update”

Celem pracy przeglądowej było przedstawienie interakcji jonów miedzi i ketaminy, również w odniesieniu do niezależnych od receptora NMDA mechanizmów działania leku.

“Copper Concentrations in Ketamine Therapy for Treatment-Resistant Depression”

Celem pracy było zbadanie zależności między stężeniem miedzi w surowicy krwi, a pomiarami psychometrycznymi u pacjentów z depresją w przebiegu lekoopornych zaburzeń nastroju.

“Copper and anti-anhedonic effect of ketamine in treatment-resistant depression”

Celem pracy była weryfikacja hipotezy o związkach między stężeniami miedzi w surowicy krwi, a pomiarami psychometrycznymi ze szczególnym uwzględnieniem anhedonii mierzonej skalą Snaith-Hamilton Pleasure Scale (SHAPS), u pacjentów z depresją, w przebiegu lekoopornych zaburzeń nastroju.

Wyniki

“Copper Concentrations in Ketamine Therapy for Treatment-Resistant Depression”

Stężenie miedzi w surowicy przed leczeniem ketaminą było istotnie wyższe niż po piątym wlewie ($p = 0,016$), a stężenie w pomiarze po leczeniu było istotnie wyższe niż po piątej infuzji ($p = 0,048$). Różnice w poziomach miedzi w surowicy między innymi punktami czasowymi były nieistotne statystycznie. Stężenie miedzi nie zmieniło się istotnie w trakcie leczenia. Ponadto zmiana stężenia miedzi w stosunku do wyniku MADRS, a zatem odpowiedzi na leczenie, definiowanej jako: odpowiedź, remisja i brak odpowiedzi, okazała się nieistotna statystycznie. Nie stwierdzono istotnej korelacji między zmianami stężenia miedzi w surowicy a wynikami skali YMRS. Nie zaobserwowano zależności między stężeniem miedzi a towarzyszącymi chorobami somatycznymi, jakkolwiek stwierdziliśmy, że nadciśnienie tętnicze występowało istotnie częściej u pacjentów z odpowiedzią na leczenie (*responder*), podczas gdy cukrzyca występowała istotnie częściej w grupie osób z remisją objawową (*remitter*).

“Copper and anti-anhedonic effect of ketamine in treatment-resistant depression”

Nie wykazano związku między zmianami stężenia miedzi i wynikami w skali SHAPS ($r_s = -0,065$; $p = 0,686$) oraz między średniookresowym tempem zmian dla MADRS, SHAPS i stężeniem jonów. Analiza wykazała pozytywny i umiarkowany związek między tempem zmian SHAPS i MADRS - im wyższa zmiana wyniku SHAPS, tym wyższa zmiana wyniku MADRS. Wykazano działanie przeciwanhedoniczne ketaminy - punktacja SHAPS spadła we wszystkich grupach (*responder, remitter, non-responder*).

Wnioski

“Copper Concentrations in Ketamine Therapy for Treatment-Resistant Depression”

Badanie nie potwierdziło hipotezy o istotnych zmianach stężenia miedzi w dożylnym leczeniu ketaminą, wskazujących na możliwy związek między podaniem ketaminy, a stężeniem miedzi w aktywnej fazie leczenia.

“Copper and anti-anhedonic effect of ketamine in treatment-resistant depression”

Badanie nie potwierdziło hipotezy o powiązaniu stężenia jonów miedzi i zmian wyniku SHAPS w czasie podczas dożylnego leczenia ketaminą w opornych na leczenie zaburzeniach nastroju, pomimo obserwowanego przeciwanhedonicznego działania ketaminy.

Podsumowanie

Miedź może pełnić rolę w złożonej patofizjologii leżącej u podstaw lekoopornych zaburzeń nastroju, jakkolwiek trudno jednoznacznie ją uwidocznic w redukcjonistycznym mechanizmie odpowiedzi na ketaminę w przebiegu farmakoterapii depresji lekoopornej. Na wyniki opisywanego badania mogły mieć wpływ stadium choroby, jej charakterystyka, jak również specyficzne wykładniki typowe dla lekooporności. Dalsze badania nad wzajemnymi oddziaływaniami miedzi, mechanizmów działania ketaminy i ich miejsca w leczeniu depresji lekoopornej, w tej populacji pacjentów mogą skutkować ważnymi wnioskami, weryfikując kolejne hipotezy badawcze.

Streszczenie pracy w języku angielskim

Introduction

Copper is one of the key trace elements in the human body. The functioning of the central nervous system is largely dependent on the concentration of copper ions, which are involved in the processes of neurotransmission, cognition, neurogenesis and synaptogenesis. The role of copper in the metabolism of catecholamines, especially dopamine, indicates a relationship with the etiopathogenesis of depression, although the results of studies on copper content in the serum in patients diagnosed with depression are heterogeneous. Contemporary antidepressant treatment covers a range of drugs with a fairly homogeneous mechanism of action related to monoaminergic transmission. The relatively low remission rate among patients with depression, as well as numerous side effects and delayed onset of action, encourage the search for new therapeutic solutions. Work on the glutamatergic system has dominated recent research into the neurobiological mechanisms of depression.

Ketamine affects glutamatergic transmission as *N*-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) antagonist, resulting in an antidepressive effect. There are reports indicating the antagonistic effect of copper ions on the NMDAR - both directly and via prion proteins. The synergistic interaction between the pharmacodynamic activity of copper and ketamine may be of particular importance in mood disorders.

Material and methods

The study population included patients from the naturalistic observational registry for intravenous ketamine infusions in drug-resistant mood disorders. The diagnosis was established by a psychiatrist according to the criteria of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5) and verified using the Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI). All participants exhibited resistance to treatment in the current depressive episode. At screening period and during the study patients were evaluated by the clinician using the Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale (MADRS), the Young Mania Rating Scale (YMRS) and self-rated with Snaith-Hamilton Pleasure Scale (SHAPS). Only medically stable adults were enrolled in the study. Medical stability was based on physical examination, medical history, life factors, laboratory tests, and electrocardiography (ECG). Exclusion criteria included pregnancy, breastfeeding, an active history of uncontrolled diseases or previous adverse effects on ketamine.

Study followed observational design, all patients continued baseline psychotropic treatment, as well as necessary treatment of chronic somatic diseases during ketamine infusions. The therapeutic intervention studied consisted of 8 intravenous ketamine infusions over 4 weeks. Ketamine was administered at a dose of 0.5 mg/kg based on the patient's actual body weight and given as an intravenous infusion over 40 min.

The attending psychiatrist monitored safety before, during and after the infusion every 15 min to one and a half hours after the infusion, including periodic assessment of vital signs. Psychometric evaluation using MADRS and YMRS was assessed before the 1st, 3rd, 5th and

7th infusions and one week after the last infusion. Also, self-reported measures, SHAPS, were employed for the assessment of anhedonia along with depressive symptoms severity scale.

Subjects were defined as responders at a given time point if the percent improvement from baseline in MADRS total score was at least 50%, on the other hand subjects were defined as remitters at a given time point if the MADRS total score was ≤ 10 points.

The ECG and copper levels assessments were carried out weekly, before every second infusion and one week after last ketamine infusion. Serum copper ion concentrations were determined by a direct, colorimetric measurement method.

Study protocol was approved by the Institutional Review Board NKBBN/172-674/2019. All participants gave written informed consent after confirming their understanding of the study procedures.

Aims

“Role of copper in depression. Relationship with ketamine treatment”

The aim of the review paper was to describe the mechanisms of ketamine's action, with particular emphasis on the functioning of the NMDAR, and to present the role of copper in the functioning of the central nervous system, as well as to formulate a hypothesis about the potentially significant interactions of copper with ketamine and the NMDAR.

“Role of copper and ketamine in major depressive disorder - an update”

The aim of the review paper was to broaden the description of the interaction of copper ions and ketamine, with particular emphasis on the glutamatergic pathway, but also the NMDAR-independent mechanisms of ketamine action.

“Copper Concentrations in Ketamine Therapy for Treatment-Resistant Depression”

The aim of the study was to investigate the relationship between serum copper concentration and psychometric measurements in depressed patients with drug-resistant mood disorders.

“Copper and anti-anhedonic effect of ketamine in treatment-resistant depression”

The aim of the study was to verify the hypothesis on the relationship between serum copper concentrations and psychometric measurements, with particular emphasis on anhedonia measured by the Snaith-Hamilton Pleasure Scale (SHAPS), in depressed patients with drug-resistant mood disorders.

Results

“Copper Concentrations in Ketamine Therapy for Treatment-Resistant Depression”

The concentration of serum copper before treatment with ketamine was significantly higher than that after the fifth infusion ($p = 0.016$) and the concentration after treatment was significantly higher than that after the fifth infusion ($p = 0.048$). The differences in the serum copper levels between other measurements were non-significant. For treatment-resistant depression (TRD) in both, patients with major depressive disorder and bipolar disorder, the copper concentration did not significantly change during the treatment. In addition, the change in copper in relation to the MADRS score as well as the clinical response, defined as the responder, remitter, and non-responder, turned out to be non-significant during the course of treatment. There was no significant correlation between changes in the serum copper concentration and MADRS or YMRS scoring. The concentration of copper during the course of treatment was not associated with somatic comorbidities; however, we found that arterial hypertension was significantly more common in the group of responders, while diabetes mellitus occurred significantly more often in the group of remitters.

“Copper and anti-anhedonic effect of ketamine in treatment-resistant depression”

No relationship between changes in copper and SHAPS ($r_s = -0.065$; $p = 0.686$) and between the medium-term rate of change for MADRS, SHAPS and concentration ions.

The analysis showed a positive and moderate relationship between the SHAPS and MADRS rate of change – the higher the SHAPS change, the higher the MADRS score change. The relationship between changes in copper concentrations and SHAPS turned out to be insignificant. Anti-anhedonic effect of ketamine was demonstrated as the SHAPS score decreased in all groups.

Conclusions

“Copper Concentrations in Ketamine Therapy for Treatment-Resistant Depression”

The study does not support the hypothesis of significant changes in copper concentration in ketamine intravenous add-on treatment, signaling the possible interlink between ketamine administration and copper concentration in the active phase of treatment.

“Copper and anti-anhedonic effect of ketamine in treatment-resistant depression”

The study does not support the hypothesis of linking copper ion concentration and SHAPS score changes over time during intravenous add-on ketamine treatment in treatment-resistant mood disorders despite the observed anti-anhedonic effect of ketamine.

Summary

The complexity of pathophysiology underlying TRD appears to employ copper in the mechanism of response to ketamine. However, it does not fall into mechanistic unidirectional hypothesis and seems to act at multilevel model. This study results may account for the characteristics of the stage of the disease as well as its' specifiers. Further human research on copper compounds, ketamine and its effects on TRD is of interest as there is evidence to be verified.

Piśmiennictwo

- ¹ Grubman A, White AR. Copper as a key regulator of cell signalling pathways. *Expert Rev Mol Med* 2014; 16: 11.
- ² Maret W, Sandstead HH. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *J Trace Elem Med Biol* 2006; 20: 3–18.
- ³ Nowak G. Zinc, future mono/adjunctive therapy for depression: mechanisms of antidepressant action. *Pharmacol Rep* 2015; 67: 659–62.
- ⁴ Rahman MK, Rahman F, Rahman T, et al. Dopamine- β -hydroxylase (DBH), its co-factors and other biochemical parameters in the serum of neurological patients in Bangladesh. *Int J Biomed Sci* 2009; 5: 395–401.
- ⁵ McIntyre RS, Filteau M-J, Marin L, et al. Treatment-resistant depression: definitions, review of the evidence, and algorithmic approach. *J Affect Disord* 2014; 156: 1–7.
- ⁶ McGirr A, Berlim M, Bond D, et al. A systematic review and meta-analysis of randomized, double-blind, placebo-controlled trials of ketamine in the rapid treatment of major depressive episodes. *Psychol Med* 2014; 45: 693–704.
- ⁷ Peters C, Munoz B, Sepulveda FJ, et al. Biphasic effects of copper on neurotransmission in rat hippocampal neurons. *J Neurochem* 2011; 119: 78–88.
- ⁸ Wong BS, Li R, Sassoon J, et al. Mapping the antigenicity of copper-treated cellular prion protein with the scrapie isoform. *Cell Mol Life Sci* 2003; 60: 1224–34.
- ⁹ Voineskos, D, Daskalakis ZJ, Blumberger DM. Management of treatment-resistant depression: Challenges and strategies. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2020, 16, 221–234.
- ¹⁰ Trivedi MH, Corey-Lisle PK, Guo Z, et al. Remission, response without remission, and nonresponse in major depressive disorder: Impact on functioning. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 2009, 24, 133–138.