

Stimmungsaufhellendes Potential eines Vitamin- und Spurenelement-Konzentrates – Eine randomisierte, doppelt verblindete Placebo kontrollierte klinische Studie an gesunden Probanden

Claus Muss,MD,DVM,PhD¹, Wilhelm Mosgoeller MD², Thomas Endler MD³.

Übersetzung und Editierung des englischen Originals durch den Autor Wilhelm Mosgöller.

Original: Mood improving Potential of a Vitamin Trace Element Composition--A randomized, double blind, placebo controlled clinical study with healthy volunteers. Neuroendocrinol Lett 2016;37(1):18-28.

Englisches Original direkt beim Verlag:

www.nel.edu/archive_issues/o/37_1/37_1_Muss_18-28.pdf

1. Assoc. Prof. DDr. med. Claus MUSS, Internationale Gesellschaft für angewandte Präventionsmedizin i-gap, Währingerstrasse 63, A-1090 Wien und Gesundheitscampus St. Elisabeth Universität, Health and Social Sciences
2. Prof. Dr. Wilhelm MOSGOELLER, Inst. f. Krebsforschung, KIM-1, Medizinische Universität A-1090 Wien.
3. Primar Doz. Dr. med. Thomas ENDLER, Labor Endler, Währingerstrasse 63, A-1090 Wien

Korrespondenzadresse:

Assoc. Prof. DDr. med. C. Muss, Internationale Gesellschaft f. angewandte Präventiv-Medizin (i-gap), Währingerstrasse 63, A 1090 Wien. Associate Professor am Public Health Department, Gesundheitscampus St. Elisabeth Universität, Bratislava, SK

Schlüsselbegriffe:

Multivitamin Spurenelement Konzentrat, Serotonin Metabolismus, Kynurenin (KYN), Tryptophan (TRP), Vitamin B3 (Niacin), Vitamin B6 (Pyridoxin), Vitamin D3, Chrom, Zink, Kupfer.

Abstrakt

Die typischen Symptome von Depressionen, ebenso wie Stimmung, Aufmerksamkeit und Wachheit werden durch Neurotransmitter vermittelt. Medikamente, die den Stoffwechsel des Neurotransmitters Serotonin beeinflussen, können Stimmungsstörungen und Symptome der Depression mildern. Der physiologische Serotonin-Stoffwechsel ist ernährungsabhängig, die Blut-Spiegel sind eng an die gastrointestinale Aufnahme spezifischer Vorstufen und die Verfügbarkeit von antiinflammatorischen Nahrungsbestandteilen gebunden. Entzündungen und/oder Stoffwechselerkrankungen können die Bioverfügbarkeit von Serotonin-Vorstufen oder Serotonin selbst entscheidend beeinflussen.

Um die Bioverfügbarkeit spezifischer Inhaltsstoffe des Multivitamin-Präparates LaVita und das depressionslindernde Potential des Präparates zu untersuchen, realisierten wir eine randomisierte, kontrollierte Studie mit gesunden Probanden. Parallel zur Einnahme der Test- und Kontrollsubstanz wurden spezifische Parameter zu drei Zeitpunkten gemessen, 1.) vor der Einnahme, 2.) nach drei Monaten und 3.) nach 6 Monaten. Unter den gemessenen Labor-Parametern waren Serotonin und Vorläufersubstanzen [z.B. Tryptophan (TRP)], Chrom und Zink, sowie Vitamin D, Vitamin B3 (Niacin) und Vitamin B6 (Pyridoxin). Nach Einnahme über drei Monate wurde in der Verumgruppe ein leichter Anstieg von TRP ($p = 0.059$) und eine signifikante Erhöhung der Serotoninwerte ($p < 0,013$) beobachtet. Nach 6 Monaten zeigte die Verum-Gruppe eine hoch signifikante Zunahme von Niacin ($p < 0.001$) und von Co-Faktoren des Serotonin-Stoffwechsels, wie Pyridoxin ($p = 0,03$), Chrom P ($< 0,01$) und Zink ($p < 0.001$). Der Serotonin-Spiegel war nach 6 Monaten wieder gesenkt, was ein Risiko für eine Überdosierung nahezu ausschließt. Insgesamt zeigen die vergleichenden Messungen, dass eine kontinuierliche Einnahme von LaVita® die Versorgung des Organismus mit stimmungsaufhellenden Neurotransmittern verbessert, was ein präventives Potential bei regelmäßiger Prüfsubstanz-Einnahme begründet.

1 EINLEITUNG

Niedergelassene Ärzte sehen in ihren Praxen häufig subtile bis manifeste Anzeichen von Depressionen und Angststörungen. Typischerweise sind depressive Zustände mit Störungen des Serotonin- und insbesondere dem Tryptophan-(TRP) Stoffwechselweges (Metabolismus) assoziiert. Die Schweregrade der Depression korrelieren gut mit dem Serotonin-Metabolismus. Die proteinogene Aminosäure TRP dient als Vorstufe für die Synthese von Serotonin und für Kynurenin (Sainio et al. 1996). Ogawa et al. (2014) belegen in ihrer Meta-Analyse (24 Studien, 744 Patienten, 793 Kontrollen) bei untherapierten depressiven Patienten einen niedrigen Plasma-TRP Spiegel als konsistenten Befund.

Serotonin

Der Neurotransmitter Serotonin (oder 5-Hydroxytryptamin; 5-HT) ist ein hauptsächlich aus TRP synthetisiertes Monoamin. Hohe Konzentrationen finden sich im Gastrointestinaltrakt, in den Thrombozyten (Blutplättchen) und im zentralen Nervensystem. Etwa 90 % des gesamten Serotonins im menschlichen Körper wird von den enterochromaffinen Zellen in der Darmwand sezerniert, wo es peristaltische Darm-Bewegungen reguliert (Berger et al. 2009), bevor es in den Blutkreislauf eintritt. TRP und dessen Metabolit 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) können die Blut-Hirn-Schranke passieren. Der Anstieg beider Vorstufen im Serum bewirkt im Gehirn einen serotoninergen Effekt (Schaechter & Wurtman 1990).

Ein 5-HT Mangel kann depressive Verstimmungen kausal verursachen. Die meisten der wirksamen antidepressiven Therapien heben den extrazellulären 5-Hydroxytryptamin-Spiegel (Young 2007; Homan et al. 2015). Es gilt der Umkehrschluss, jede Maßnahme, die den 5-HT Serumspiegel hebt, ist für die Behandlung depressiver Verstimmungen und deren Prävention geeignet.

Im Gehirn entsteht Serotonin aus dem Vorläufer Molekül TRP (Abbildung 1). Das Verhältnis der beiden Substanzen ist stets proportional (Moha-

jeri et al. 2015). Die wiederholte Gabe von TRP mildert Symptome der Depression wie gestörtes Sozialverhalten und Reizbarkeit (Hogenelst et al. 2015). Eine experimentelle Herabsetzung der TRP-Werte senkt die Gehirn-Serotoninspiegel (Bell et al. 2001). Störungen des TRP-Metabolismus gelten daher als wichtiger ätiologischer Faktor der Depression (Lapin & Oxenkrug 1969).

Es gibt hinreichend Evidenz dafür, dass klinisch manifeste Depressionen mit der Prävalenz von Entzündungsparametern korrelieren. Sowohl psychologischer wie physiologischer Stress können pro-inflammatorische Mediatoren und Sauerstoffradikale (reactive oxygen species; ROS) induzieren und Störungen der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-hormonellen Achse bewirken. Sowohl pro-inflammatorische Faktoren wie auch freie Sauerstoffradikale (ROS), können in den TRP- und KYN-Stoffwechsel eingreifen, den so genannten neurotoxischen Arm aktivieren und Neurodegeneration bewirken. Ebenso kann chronisch gesteigertes Kortisol den TRP-Abbau beschleunigen und zu neurodegenerativen Veränderungen beitragen. Die Verschiebung des Kynurenin-Metabolismus vom neuroprotektiven zum neurotoxischen Arm wurde im Zusammenhang mit pharmakologisch induzierten neuropsychiatrischen Nebenwirkungen, wie beispielsweise bei der Interferon basierten Depressionsbehandlung gezeigt. Veränderungen in der Körperperipherie wirken auf das Zentralnervensystem. Während einige der derzeit verschriebenen Antidepressiva den pro-inflammatorischen Status depressiver Patienten positiv beeinflussen, konnten die gleichen Medikamente keine metabolischen und neurochemischen Veränderungen innerhalb der Zeit, in der man sich klinische Verbesserung erwarten darf, überzeugend verbessern (Myint et al. 2012).

Der Serotonin-Abbau wird hauptsächlich von zwei Enzymen betrieben [TRP 2,3-dioxygenase (TPO) und Indolamine 2,3-dioxygenase (IDO)], beide fungieren im Kynurenin-Metabolismus als Schrittmacher (Capuron et al. 2011). TPO ist hauptsächlich in der Leber vorhanden, das En-

zym wird durch TRP und metabolische Steroide induziert, es hat eine hohe Spezifität für das Substrat. Die IDO-Induktion erfolgt weniger substratabhängig durch pro-inflammatorische Zytokine, die bei unterschiedlichsten immunologischen Reaktionen auftreten (Yoshida et al. 1981; Ozkan et al. 2014).

Kynurenin (KYN)

Pro-inflammatorische Zytokine von aktivierten T-Zellen und anderen Leukozyten aktivieren die Produktion von reaktiven Sauerstoff- und Stickoxidradikalen (ROS und RNS) in Makrophagen und neutrophilen Granulozyten und rufen damit oxidativen Stress hervor (Nathan et al. 1983; Wichers et al. 2005). Das führt zu Veränderungen des KYN-Metabolismus. KYN wird erhöht und das 5-HT reduziert (Rubin 1967; Forrest et al. 2004; Anderson & Maes 2015).

Die Ernährung beeinflusst den redox-sensitiven und IDO-medierten TRP-Metabolismus und damit die Stimmungslage und depressive Phasen. Die Versorgung mit spezifischen Neurotransmittern ist sehr eng an die hinreichende Versorgung mit Antioxidantien gebunden (Himmerich & Erbguth 2014; Gostner et al. 2015). Klinische und experimentelle Daten, welche die altersassoziierte kognitive Beeinträchtigung und Demenz bei Vitaminunterversorgung beschreiben, stützen diese Hypothese (Seppala et al. 2014). Patienten mit Depression zeigten signifikant geringere Serum-Werte für antioxidative Vitamine verglichen mit einer gesunden Kontrollgruppe aus einer anderen Studie. Nach der diätetischen Verabreichung von Vitaminen über sechs Wochen, wurde eine signifikante Reduktion von Angstzuständen und Symptomen der Depression beobachtet (Gautam et al. 2012).

Vitamin B₃, Niacin

TRP ist im Kynurenin/Quinolinsäure-Syntheseweg ein Vorläufermolekül für Vitamin B₃ (Niacin). Bei Erwachsenen werden circa 3,3 Prozent des zugeführten TRPs in Niacin umgewandelt (Sainio et al. 1996). Die Synthese von 1mg Niacin erfordert ungefähr 60 mg zugeführtes TRP. Im Falle eines Niacinmangels ist TRP die bevor-

zugte Quelle für die Niacin-Synthese. Dadurch wird TRP von der Serotoninsynthese abgezogen. Niacinfreie Diäten führen zu niedrigen TRP Werten und reduzierten die (NAD⁺)-Konzentration in roten Blutkörperchen (Fu et al. 1989).

Niacinmangel kann zu Depressionssymptomen wie Schlaflosigkeit und Angst führen. Chronischer Niacinmangel kann unbehandelt Demenz oder Pellagra - eine schwerwiegende Erkrankung, welche an Schizophrenie erinnert - hervorrufen. Niacin wurde deshalb als antidepressiv wirkende Substanz eingestuft (Prakash et al. 2008).

Vitamin B₆ (Pyridoxin)

Die klinische Beobachtung von niedrigen Vitamin-B₆-Werten bei depressiven Patienten erklärt sich aus der Koenzym-Funktion für die TRP-Hydroxylase (Hvas et al. 2004). Die Aktivität der TRP-Hydroxylase ist ein Schrittmacher im Serotonin-Metabolismus. Unter physiologischen Bedingungen ist die Enzymkapazität lediglich zur Hälfte ausgeschöpft (Young & Gauthier 1981). Eine hohe Substratkonzentration (TRP) stimuliert die Aktivität dieses Enzymes, was zur Synthese von 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) im Zentralnervensystem entlang der Blut-Hirn-Schranke beiträgt (Heuther et al. 1992).

Vitamin D

Vitamin D (Vit D) wirkt auf die TRP-Hydroxylase 2 (TPH2), indem es die Expression des Gens im Gehirn fördert (Patrick & Ames 2014; Patrick & Ames 2015). Bei Ratten lies die Gabe von 1,25-Dihydroxyvitamin D (50ng/kg/Tag oder 100ng/kg/Tag) über 6 Wochen die Dichte von Vitamin-D-Rezeptoren im Gehirn ansteigen, ohne das Serumkalzium oder das Serumphosphat zu beeinträchtigen. Die Behandlung mit Calcitriol förderte die TPH2 Expression ohne den Serotonin-Status zu verändern, allerdings fanden sich hohe Werte für Serotonin-Metabolite (Jiang et al. 2014). Dazu stimmig sind Hinweise aus humanen TPH2-Untersuchungen, dass Vitamin D die Versorgung des Gehirnes mit Serotonin beeinflusst, was für psychiatrische

Erkrankungen relevant sein kann (Kaneko et al. 2015).

Chrom

Das Spurenelement Chrom kann den TRP-Metabolismus und die Serotonin-Aktivität unmittelbar beeinflussen (Attenburrow et al. 2002). Chrom steigert nämlich den TRP-Transport aus dem Blut – über die Blut-Hirn-Schranke – ins Hirngewebe, um über diesen Weg die 5-HT Synthese zu fördern (Fernstrom & Wurtman 1971) und Angst und Depression zu verbessern (Mlyniec et al. 2014a). In einer doppelt verblindeten, Placebo kontrollierten Crossover Human-Studie zeigte sich, dass die Zufuhr von Chrom Stimmungstörungen deutlich verbesserte (Brownley et al. 2013a). Bei der Behandlung von Fresssuchtattacken zeigte sich deutlich eine Dosis-Wirkungsbeziehung, hohe Dosen wirkten stärker als moderate (Brownley et al. 2013b). Chrom reduziert therapieresistente Befindlichkeitsstörungen, während Nebeneffekte selten und nur mild auftreten (McLeod & Golden 2000). In einer kleinen Placebo-kontrollierten, doppelt verblindeten Pilotstudie an 15 Patienten mit klinisch manifester Depression erhielten die Patienten 600 Mikrogramm Chrom für 8 Wochen, die Mehrheit der Patienten (n=12) sprach auf die Therapie an (Davidson et al. 2003). In einer doppelt verblindeten randomisierten, Placebo kontrollierten multi-center Studie fanden sich bei 113 Erwachsenen mit atypischer Depression signifikante Verbesserungen in der Chromgruppe (Docherty et al. 2005).

Zink und Kupfer

Zink ist ein wichtiger Bestandteil vieler Proteine und ein essentieller Cofaktor von vielen Enzymen für die Gehirnfunktion sowie Enzyme, die die Serotonin assoziierten antidepressiven Effekte vermitteln. Eine zinkfreie Diät bei Versuchstieren über 3 oder 6 Wochen führte zu depressivem und Angst-gesteuertem Verhalten (Tassabehji et al. 2008). Die durch die zinkfreie Diät hervorgerufenen Symptome können durch die Gabe typischer Antidepressiva gelindert werden (Mlyniec et al. 2013). Citalopram

– ein klassisches Antidepressivum – steigerte die Zink-Serum-Werte signifikant (Nowak et al. 2004). Die wiederholte Verabreichung von Zink vergrößerte den Vorrat von Zink in den Synapsen des Hippocampus (Szewczyk et al. 2006). Bei vor- und nach-geburtlicher Depression findet sich die Serum-Zink-Konzentration erniedrigt (Wojcik et al. 2006). Verglichen mit Placebo verbesserte die orale Zink-Gabe nach 6 und 12 Wochen die Depression signifikant (Nowak et al. 2003). Zink gilt als effektives Antidepressivum, welches gemeinsam mit klassischen pharmakologischen Therapien gegeben werden kann, um unerwünschte Medikamenten-Nebenwirkungen zu reduzieren (Mlyniec et al. 2014a). Die Einnahme von Zink über 6 Monate hinweg führte zur Anhebung der Serum-Zink-Werte und reduzierte die Symptome von Depression und Angstzuständen bei Kindern im Schulalter (DiGirolamo et al. 2010).

Verschiedenste neurowissenschaftliche Forschungsansätze klärten die Rolle von Kupfer und Zink für die neuronale Erregbarkeit (Aedo et al. 2007). Bei „Hyperaktivität Aufmerksamkeits-Defizit Störungen“, sowie sozialer Auffälligkeit und Depression wurden erhöhte Kupfer- und erniedrigte Zinkwerte gefunden (Faber et al. 2009; Mlyniec et al. 2015). Antidepressive Therapie führte zu einer Veränderung des Kupfer/Zink-Quotienten bei den behandelten Patienten (Mlyniec et al. 2014b).

Fragestellung

Bei gegebenener Komplexität der biochemischen Abläufe und des metabolischem Umfeldes von Serotonin untersuchten wir unter randomisierten Placebo-kontrollierten Bedingungen das antidepressive Potential eines Multivitamin- und Spurenelementkonzentrates in einer gesunden Population. Ein Untersuchungsschwerpunkt lag in der Analyse von 1.) Komponenten des Serotonin-, Kynuerin- und TRP-Syntheseweges (Metabolismus) und 2.) limitierenden Faktoren für die Bildung des Neurotransmitters. Ein zweiter Untersuchungsschwerpunkt lag in der Bestimmung der Bioverfügbarkeit von Schlüsselvitaminen und Spurenelementen aus der Testsubstanz heraus.

2 MATERIAL AND METHODE:

Studiendesign

Das detaillierte Studiendesign wurde bereits beschrieben (Muss et al. 2015a). In Kürze: 159 gesunde Freiwillige wurden durch niedergelassene Mediziner protokollgemäß rekrutiert. Freiwillige mit einer medizinischen Diagnose bzw. laufenden oder vor kurzem abgeschlossenen Behandlung, welche möglicherweise mit den Endpunkten der Studie interferieren, wurden von der Teilnahme ausgeschlossen. Die klinische Prüfung erfolgte randomisiert, prospektiv, doppelt-verblindet, placebo-kontrolliert, sie erfüllte die Voraussetzungen eines GCP (Good Clinical Practice) Forschungsdesigns. Wir untersuchten Blutparameter und subjektive Symptome zu 3 Zeitpunkten: 1.) vor Einnahmestart (Zeitpunkt: M0), 2.) nach 3 Monaten (Zeitpunkt: M3) und 3.) nach 6 Monaten (Zeitpunkt: M6). Die Verum Testsubstanz (LaVita®) – ein Vitamin- und Spurenelementkonzentrat aus Früchten, Gemüse und Kräutern, angereichert mit Mineralen und Spurenelementen, hat einen hohen Anteil an sogenannten sekundären Pflanzeninhaltsstoffen, Enzymen, Aminosäuren, Spurenelementen, Vitaminen und Halbvitaminen wie beispielsweise L-Carnitin, Coenzym Q10, und Omega-3-Fettsäuren. In beiden Gruppen (Verum und Placebo) wurden spezifische biochemische Parameter durch Standard-Labormethoden erhoben (Tabelle 2). Nach der Teilnahme wurden die Labordaten in eine Datenbank eingelesen. Zur Kontrolle wurden die Labordaten zweimal unabhängig übertragen, die beiden Einträge wurden voneinander subtrahiert, um die Prüfwerte „0“ zu erhalten. Übertragungsfehler wurden anhand der Originalbefunde korrigiert. Die Vollständigkeit des Datensatzes wurde mit der Dokumentation des Studienmonitors verglichen. Fehlende Laborprotokolle wurden nachgeholt, der geprüfte und komplette Datensatz kam zur statistischen Analyse.

Parameter

Die Vollblut- und Serumparameter wurden durch 2 zertifizierte medizinische Labors erhoben. Für

die Analyse von TRP und Kynuerin entschieden wir uns für die sogenannte Trockenblutanalysetechnik, die es erlaubt die Untersuchungsparameter in fixiertem Zustand zu bestimmen (Wagner et al. 2014). Manche Parameter wurden im Harn bestimmt. Wenn der gleiche Parameter mit der einen und anderen Methode bestimmt wurde, führen die Ergebnistabellen 2 Ergebnisse (Harn und Blut) an.

In der Analyse von Vitamin B3 fanden sich bei 2 Teilnehmern extrem hohe (bis zu 900g/L) Serumwerte, diese offensichtlichen Ausreißer wurden in die gesamtstatistische Analyse nicht miteinbezogen. Die Analyse von Vitamin D erfolgte an 30 Teilnehmern, die das Verum erhielten. Die ersten 15 Teilnehmer starteten die 6 monatige Periode im Frühjahr und die nächsten 15 Teilnehmer starteten die Einnahmeperiode im Herbst, um die Substanz über die Wintermonate einzunehmen. Die Detailanalyse erbrachte bemerkenswerte saisonale Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (Abbildung 3).

Statistische Analyse

Der zeitliche Rahmen für die Einnahme und die begleitenden Laboruntersuchungen überspannte alle 12 Monate des Jahres und somit alle Jahreszeiten. Wir setzten das Software Paket IBM-SPSS (Version 22) ein, um die Ergebnisse der Verum- und Placebogruppe zum Zeitpunkt 1 (vor dem Einnahmestart), nach 3 Monaten und nach 6 Monaten zu analysieren. Je nachdem wie bei den Tabellen und Abbildungen angegeben, erfolgte die Analyse mittels Students T-test für unabhängige Gruppen oder für gepaarte Werte. Zusätzlich wurden die Veränderungen innerhalb einer Gruppe durch Varianzanalyse untersucht, wobei die Parameter vor der Einnahme als Kovariablen dienten, um die natürlich gegebene Variabilität in einer gesunden Bevölkerung zu berücksichtigen und die Analysen auf die einnahmebedingten Parameterveränderungen zu fokussieren. Die Berechnungen der individuellen Parameter und deren Veränderungen während der ersten und zweiten 3-Monatsperiode, sowie die Änderungen über die gesamte Teilnahmezeit (6 Monate) finden sich in den Ergebnistabellen.

3 ERGEBNISSE

3.1 STUDIEN-TEILNEHMER

Aufgrund der vorgenommenen Randomisierung wurden 117 der rekrutierten Teilnehmer der Verumgruppe zugeordnet, darunter fanden sich 46 männliche Teilnehmer (mittleres Alter $40 \pm 16,5$ Jahre \pm Standardabweichung-Std); 71 Teilnehmer waren weiblich (mittleres Alter: $44 \pm 14,1$ Jahre \pm Std.). In der Placebogruppe befanden sich 11 männliche ($48 \pm 15,4$ Jahre) und 32 weibliche Teilnehmer ($45 \pm 15,6$ Jahre). Die Ausfallsrate nach 6 Monaten Teilnahmedauer lag bei 10,7 %. Von den 159 Probanden zu Teilnahmestart absolvierten 142 beide Studienphasen zu je 3 Monaten. Nach 6 Monaten war die Dropout Rate in der Verumgruppe 7,1 %, und 16,3 % in der Placebogruppe. Während der Teilnahme wurden die Probanden telefonisch betreut. Bei den telefonischen strukturierten Interviews ergaben sich keinerlei Hinweise auf unerwünschte Nebenwirkungen, weder in der Placebogruppe noch in der Verumgruppe. Keiner der Probanden berichtete über Symptome, die auf eine allergische Reaktion hinweisen könnten.

3.2 GRUPPENVERGLEICH

In der statistischen Analyse der Laborparameter fanden sich zum Teilnahmestart (Zeitpunkt M0) keine signifikanten Unterschiede zwischen Verum- und Placebogruppe. Insbesondere beobachteten wir keine signifikanten Unterschiede bei den Werten für TRP und Serotonin (Tabelle 3). Nach drei Monaten der Einnahme fanden sich bei der Varianzanalyse (ANCOVA) signifikant höhere Serumwerte bei Vitamin B3 in der Verumgruppe (Tabelle 4). Nach 6 Monaten war die Serotoninausscheidung im Harn deutlich erhöht (Abbildung 2), allerdings erreichte der Unterschied zwischen Placebo- und Verumgruppe nicht die statistische Signifikanz-Schwelle (Tabelle 5).

3.3 DYNAMIK UND VARIABILITÄT DER ERHOBENEN PARAMETER

Um die Dynamik und die Variabilität der analysierten Parameter zu untersuchen, bestimmten

wir die Werte in der Placebogruppe. In der Placebogruppe war keine der Veränderungen über den gesamten Beobachtungszeitraum statistisch signifikant (Tabelle 6).

Tabelle 7 zeigt die Mittelwerte und die Variabilität der Parameter und Tabelle 8 den Verlauf in der Verumgruppe. Während der ersten 3 Monate (1. Halbzeit) Beobachtung fanden sich mehrere Parameter signifikant erhöht, und senkten sich wieder während der zweiten Halbzeit (Tabelle 8). Allerdings waren nach sechs Monaten 7 der 15 ausgewählten Parameter signifikant erhöht, insbesondere die Werte für Vitamin B3 (Niacin) und Vitamin B6 (Tabelle 8). Der signifikante Anstieg von Kynuerin nach 3 Monaten ($p=0,041$) bildete sich bis zum Ende der Beobachtungszeit (nach 6 Monaten) wieder zurück, der Tryptophan/Kynuerin Quotient war signifikant herabgesetzt ($p=0,010$). Das Blutserotonin zeigte in den ersten 3 Monaten einen signifikanten Anstieg ($p=0,013$), um in der zweiten 3 Monats-Phase wiederum signifikant abzufallen ($p=0,011$).

Die für die Serotonin-Synthese essentiellen Spurenelemente erhöhten sich signifikant. Der Anstieg von Zink verlief langsam und führte zu statistisch signifikant verbesserten Werten nach der zweiten 3 Monatshälfte (Abbildung 4, Tabelle 8). Der Anstieg von Chrom verlief schneller – war bereits nach den ersten 3 Monaten signifikant (Tabelle 8), und verblieb auf hohem Niveau über die gesamte Beobachtungszeit (Abbildung 5).

Im Falle von Vitamin D zeigte die Analyse einen extremen Einfluss der Jahreszeiten (Abbildung 3).

4 DISKUSSION

Die Ernährung kann zur physiologischen und gesunden mentalen Funktion beitragen (Davison & Kaplan 2012). Somit unterstreichen unsere Ergebnisse das präventive Potential des untersuchten Multivitamin, Mineral- und Spurenelementkonzentrates. Die regelmäßige Einnahme hatte einen messbaren Einfluss auf den Serotonin-Metabolismus und veränderte die Kynuerin-Serotonin-Quotienten bei gesunden Studienteilnehmern. Auch wenn TRP nur in

geringen Mengen in der Studiensubstanz vorhanden war, zeigten die Laboreranalysen, dass die regelmäßige Einnahme insgesamt zu einer Steigerung der TRP-Werte führte. Der Anstieg ist bedeutsam, weil TRP im Gehirn eine Vorstufe der Serotonin-Synthese ist. Möglicherweise wird durch die Testsubstanz die TRP-Aufnahme aus der normalen Nahrung gesteigert.

Die gemessenen TRP-Werte im Serum korrelieren sehr gut mit der milden oder starken Ausprägung von Depression mit hinreichend guter Sensibilität und Spezifität (Liu et al. 2015). Der menschliche Organismus verfügt nicht über die notwendige Enzymausstattung, um TRP aus einfacheren Molekülen zu synthetisieren. Mit der Nahrung aufgenommenes TRP, welches nicht für die Proteinsynthese verwendet wird, wird in der Leber metabolisiert. Im Nervensystem und Magen-Darmtrakt dient TRP als Ausgangsmolekül für die Synthese von Serotonin. Im Corpus Pineale (Hirnanhangsdrüse) ist TRP das Schlüsselmolekül für die Synthese von Melatonin (Abbildung 1).

Da das Analyselabor während der Studienrealisation die Analyse-Methoden für TRP-, Serotonin- und Kynuerin umstellen musste und die Blutbestimmungen teilweise durch Harnanalysen ausgetauscht wurden, waren in dieser Studie nicht alle spezifischen Laborparameter direkt miteinander vergleichbar. Die Blutwerte für TRP waren in der Verumgruppe nach drei Monaten trotzdem erhöht, allerdings verfehlte der Anstieg statistische Signifikanz. Eine derartige Parametervariabilität kann mit den bekannten Umbauvorgängen innerhalb des TRP-Metabolismus erklärt werden, das metabolische Gleichgewicht von TRP steht hauptsächlich in Zusammenhang mit dem Kynuerin-Abbau.

Niacin wird allgemein als natürliches Antidepressivum aufgefasst, die Einnahme kann Angstzustände und Depression reduzieren (Prakash et al. 2008). Die in unserer Studie beobachtete Anstieg von Niacin und der signifikante Anstieg von Kynuerin unterstreichen die Hypothese, dass die Probanden in der Verumgruppe die TRP-Aufnahme (direkt aus dem Studienpräparat oder aus der sonstigen Nahrung) verbes-

sern konnten und in Folge deren Niacin-Werte signifikant nach 3 und 6 Monaten anstiegen (Tabelle 8).

Sowohl der bekannte Serotonin-(5-HT)-Kreislauf als auch die Biochemie rund um Kynuerin, die den TRP-Metabolismus beeinflusst, sind wesentlich für unser Verständnis von Depression (Kim et al. 2015). Mit Blickrichtung auf therapeutische Interventionen sind beide metabolische Kreisläufe relevant.

Der vermutlich überzeugendste Wirknachweis in unserer Studie war der signifikante Anstieg von Blut-Serotonin nach 3 Monaten in der Verumgruppe (Tabelle 8). Der Abstieg von Blut-Serotonin im weiteren Verlauf und die Zunahme der Serotonin Ausscheidung bis zum Ende der 6-monatigen Beobachtungszeit unterstreichen die Anwendungssicherheit der Studiensubstanz. Die regelmäßige Einnahme führte zu keinen Anzeichen von Überdosierung, selbst einzelner Komponenten nach einer längeren Periode der Einnahme.

Es ist wichtig zu berücksichtigen, dass diese essentielle Aminosäure selbst in proteinreicher Nahrung eher selten vorkommt und es ist allgemein bekannt, dass TRP-arme Diäten Depressionserscheinungen nach sich ziehen können. Eine TRP-reiche Diät ist – besonders für Patienten, die zu depressiver Verstimmung neigen - wichtig. Die Synthese von Serotonin im Zentralnervensystem unterliegt der Kontrolle der TRP-Aufnahme mit der täglichen Nahrung zusammen mit unterstützenden Cofaktoren wie Pyridoxin (Shabbir et al. 2013). Wir beobachteten den TRP-Anstieg, obwohl in der Prüfsubstanz der Anteil von TRP unbekannt, aber wohl eher gering war. Allerdings, die Verumgruppe erhielt 4 mg Vitamin B6 in 10 ml LaVita (Tabelle 1) über 6 Monate regelmäßig und zeigte zuerst keinen, allerdings nach 6 Monaten einen deutlichen Anstieg der Serotonin-Ausscheidung im Harn (Abbildung 2). Dazu stimmig verhielten sich die Vitamin-B6-Werte, sie stiegen signifikant bereits nach 3 Monaten ($p < 0,001$) und blieben hoch nach 6 Monaten ($p = 0,03$), während in der Verumgruppe die Blutserotonin-Werte nur nach 3 Monaten signifikant anstiegen (Ta-

belle 8, $p=0,013$).

Unsere Schlussfolgerungen werden auch durch den signifikanten Anstieg jener Spurenelemente gestützt, welche für die Serotonin-Synthese gebraucht werden. Die Zinkreserven im Organismus sind ein limitierender Cofaktor von Enzymen, welche im Zentralnervensystem für die Serotoninsynthese gebraucht werden, um den antidepressiven Effekt zu vermitteln (Tassabehji et al. 2008). Chrom fördert den TRP-Transport über die Blut-Hirn-Schranke und moduliert über diesen Mechanismus die 5-HT-Synthese (Fernstrom & Wurtman 1971) und gilt daher als effektives Nahrungsergänzungsmittel bei Angstzuständen und Depression (Mlyniec et al. 2014a).

Die Blutwerte für Chrom und Zink zeigten während der Studienteilnahme einen steten Anstieg, während sich der Zink/Kupfer-Quotient nach 3 und nach 6 Monaten der Verumeinnahme senkte. Aedo et al. (2007) beschrieb, dass Kupfer und Zink Modulatoren der neuronalen Erregbarkeit sind. Hohe Kupferwerte korrelieren mit dem Grad der Depression (Faber et al. 2009; Chang et al. 2014; Mlyniec et al. 2015).

Auch Vitamin D3 scheint einen Einfluss auf den Serotonin-Metabolismus zu haben. In unserer Studie erhielten die Teilnehmer in der Verumgruppe lediglich 5 µg Cholecalciferol (Vitamin D) pro Einnahme, was eine geringe und nicht signifikante Verbesserung der Vitamin-D3-Serumwerte nach 3 und 6 Monaten bedingte. Offensichtlich war die Vitamindosis zu niedrig, um während der Wintersaison die Serumwerte anzuheben (Abbildung 3). Die Analyse publizierter Befunde ergibt, dass täglich ca. 75 mg benötigt werden, um die Vitamin-D-Konzentrationen in 97,5 % gesunden Probanden um 50 nmol/L anzuheben. Für normalgewichtige, übergewichtige und fettleibige Probanden wurde sogar vorgeschlagen, die Vitamin-D-Dosis auf 75-175 mg täglich zu heben (Veugelers et al. 2015). Angesichts solcher Empfehlungen ist es nachvollziehbar, dass die geringe Vitamin-D-Dosis für eine Langzeiteinnahme unbedenklich ist. Abbildung 3 zeigt die Detailanalyse und die Abhängigkeit von der Jahreszeit, in der Vitamin D ein-

genommen wird. Jene Gruppe, die das Verum im März einzunehmen begann (Sommergruppe) unterschied sich deutlich von jener, die die Einnahme im Oktober begann (Wintergruppe), somit ist es primär der saisonale Unterschied, der die Winterergebnisse erklärt. Somit ist ein Studienergebnis, dass der Vitamin-D-Gehalt im Verum – zumindest in der Wintersaison – erhöht werden kann, ohne die Sicherheit bei Langzeiteinnahmen zu kompromittieren.

Einige Labormessungen zeigten keinen linearen Anstieg der Serumparmeter. Solches erklärt sich aus Umverteilungsvorgängen während der Monate, in der die Einnahme erfolgte. Substanzen, die ins Gewebe umverteilt werden, sind für Blutanalysen nicht weiter zugänglich (Muss et al. 2015b). Unsere Ergebnisse sind damit in Übereinstimmung mit anderen Studienergebnissen, wo die Blutuntersuchungen der zentralnervös wirkenden Vitamine nicht mit dem Schweregrad affektiver Syndrome zusammenhingen (Bell et al. 1991).

Unsere Ergebnisse insgesamt sind vergleichbar mit klinischen Beobachtungen, die günstige Wirkungen von bioverfügbaren Antioxidantien und spezifischen Nahrungsmitteln in der Prävention von mentalen Störungen beschreiben. Beipielsweise zeigte eine Querschnittstudie bei 97 erwachsenen Patienten mit bipolaren oder stark depressiven Störungen, welche 3 Tage lang die Nahrungsaufnahme protokollierten, positive Effekte der Kombination von Nahrung und Nahrungsergänzungsmitteln (Davison & Kaplan 2011).

5 SCHLUSSFOLGERUNGEN

Unsere Befunde zeigen, dass das untersuchte Multivitamin und Spurenelementkonzentrat LaVita® über das Potential verfügt, 1.) subklinische Neuroinflammation zu mildern und 2.) einen Beitrag leisten kann, um depressive Störungen und Stimmungsschwankungen zu verbessern. Daraus ergibt sich im Sinne der Prävention von Stimmungsstörungen, die Versorgung mit Mineralien und Vitaminen (Antioxidantien) innerhalb einer ausgewogenen Ernährung – idealerweise mit Ingredienzen aus natürlichen Quellen – zu empfehlen.

6 Abbildungen

6.1 Metabolismus rund um Serotonin

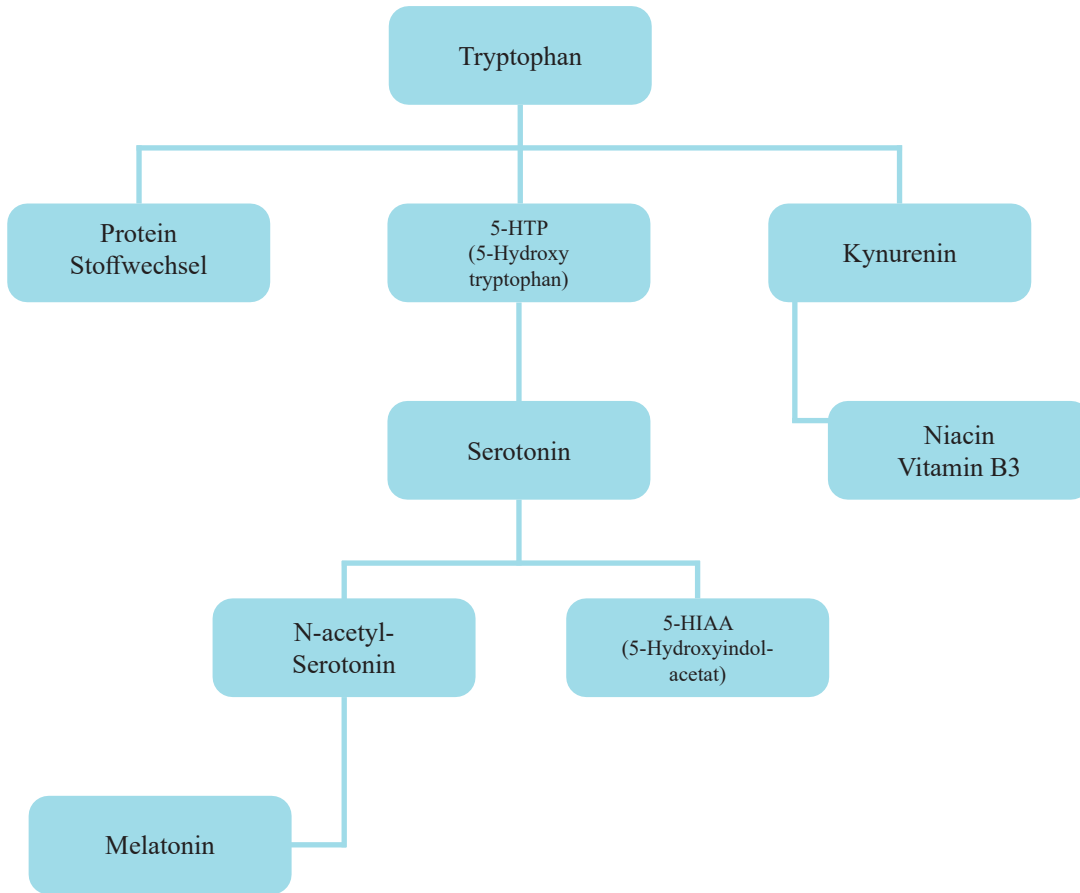


Abbildung 1, Serotonin Syntheseweg und metabolisches Umfeld

6.2 Serotonin-Ausscheidung

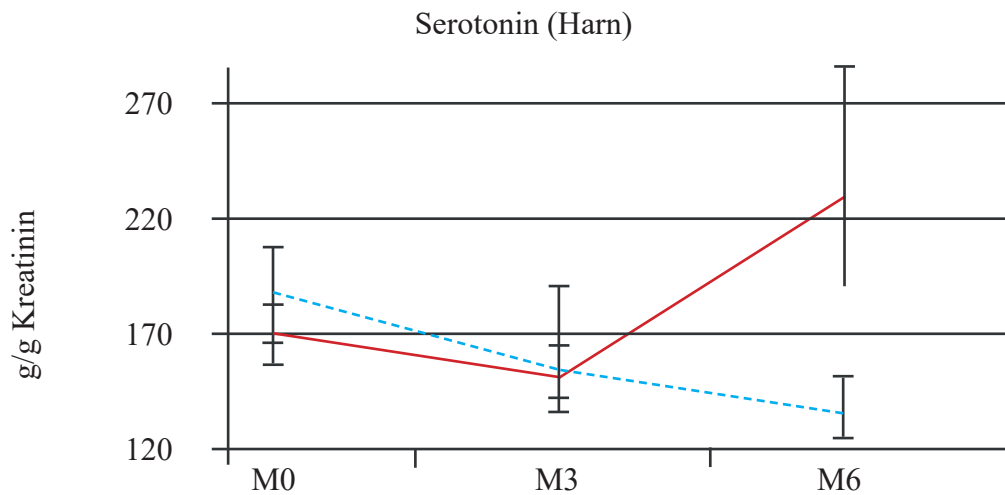


Abbildung 2, Serotonin (Harn) vor der Einnahme (M0), nach 3 Monaten (M3) und 6 Monaten (M6); erst nach 6 Monaten der Einnahme steigt die Harnkonzentration in der Verumgruppe (—) im Vergleich zu Placebo (----). Der Anstieg nach 3 Monaten erklärt sich aus dem Verlauf durch das Auffüllen von Gewebereservoirs bevor die renale Exkretion ansteigen kann.

6.3 Vitamin-D-Verlauf je nach Jahreszeit

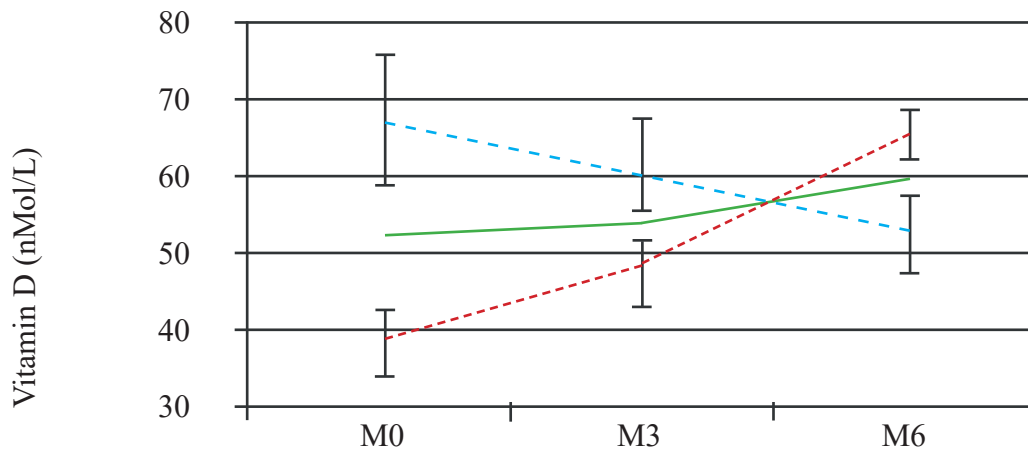


Abbildung 3, Saisonale Einflüsse auf den Vitamin D Gehalt im Serum. In der Verumgruppe, welche das Verum von März bis September einnahm (Sommergruppe ----), war der Serumvitamin D Anstieg hoch signifikant, in der Wintergruppe, welche die Verum Substanz von Oktober bis März einnahm (----), senkten sich die Vitamin D Serumspiegel trotz der Einnahme. Obwohl im Gesamt-Mittel (—) die Vitamin D Serumspiegel sich leicht erhöhten, zeigt der Abfall in der Wintergruppe, dass die Vitamin D Konzentration in der Prüfsubstanz erhöht werden sollte, wenigstens während der Wintermonate

6.4 Zink-Kupfer

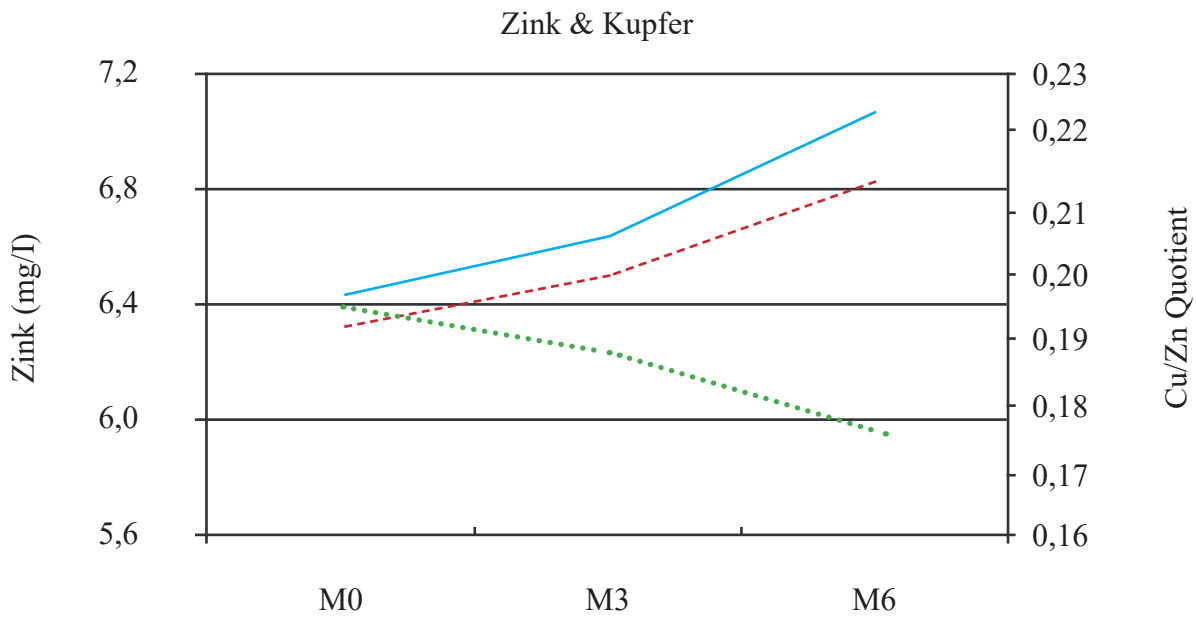


Abbildung 4, zelluläres Zink (—) und Zink im Vollblut (---) steigen während der LaVita® Einnahme, während der Kupfer/Zink Quotient (...) sinkt.

6.5 Chrom

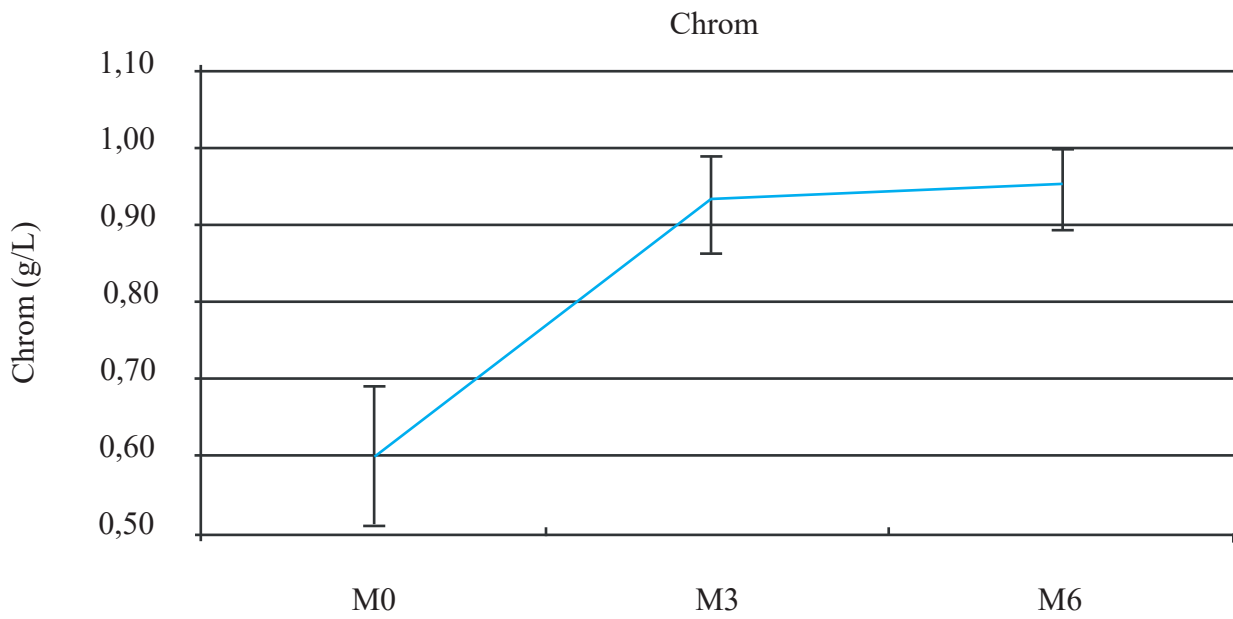


Abbildung 5, Chrom zeigt einen Anstieg in den ersten 3 Monaten der Substanzeinnahme, die Werte bleiben während der gesamten Einnahmephase hoch.

7 Tabellen

7.1 Verum-Inhaltstoffe

Tabelle 1, Inhaltsstoffe, 10 ml entspricht der empfohlenen Tagesdosis:

Ingredients	per 10 ml
β-Carotin	4000 µg
Vitamin B1	3 mg
Vitamin B2	2,5 mg
Viamine B3 (Niacin)	40 mg
Viamine B5	8 mg
Vitamin B6 (Pyridoxin)	4 mg
Vitamin B9 (Folsäure)	400 µg
Vitamin B12	5 µg
Vitamin C	300 mg
Vitamin D	5 µg
Vitamin E	30 mg
Vitamin K	30 µg
Vitamin H (Biotin)	70 µg
Coenzym Q10 (Qu10)	5 mg
Chrom	15 µg
Kupfer	25 mg
Jod	25 µg
Eisen	4 mg
Magnesium	30 mg
Mangan	1 mg
Molybdän	30 µg
Selen	35 µg
Zink	5 mg
L-Carnitin	30 mg
Tryptophan (TRP)	Nicht bekannt
Omega-3-Fettsäuren	30 mg

7.1 Laborbestimmungen

Tabelle 2, Laborparameter, welche in dieser Studie analysiert wurden:

Parameter	Labor ID	Analyse methode	Einheit	Normalbereich
Vitamin B3	VIT B3	LCMS	g/l	8,0- 52
Vitamin B6	VITB6E	HPLC	ng/ml	4,1-43,7
Vitamin D3	VITD25	ELISA	nmol/l	62,5-170
Kynurenin (Kyn)	KYNURDBS	ELISA	ng/ml	300-400
Tryptophan (TRP) (Blut)	TRYPDBSEX_ DBS	ELISA	mg/dl	8-14
Tryptophan (TRP) (Harn)	TRYPTOAS	LCMS	mg/dl	1,2-1,8
Quotient Kyn/ TRP	TRYPTKYNU- RENQRECH	Rechenwert	-	25-35
Serotonin (Blut)	SeroDBSEX		ng/ml	> 140
Serotonin (Harn)	SeroQU		g/g Crea	140-230
Chrom (Blut)	CRHBEX	ICP – MS	g/l	< 3,0
Zink (Blut)	ZinkHB	ICP – MS	mg/l	7,30-7,70
Zink (zellulär)	ZinkHK	Computational	mg/l	7,30-7,70
Kupfer (Blut)	CUHB	ICP – MS	mg/l	1,10-1,20
Kupfer (zellulär)	CUHK	ICP – MS	mg/l	1,10-1,20
Quotient Cu/Zn (zellulär)	QCuZnHK	Rechenwert	-	0,135-0,165

7.3 Gruppenvergleich zu Teilnahmebeginn (M0)

Tabelle 3, Homogenität der beiden Kohorten (Testgruppen); Laborparameter vor der rechtmäßigen Einnahme zu Teilnahmebeginn; die Laborparameter der Placebogruppe und Verumgruppe wurde mittels Students T-test für unabhängige Variablen verglichen; die beiden Gruppen unterschieden sich in keinem Parameter signifikant voneinander. Die Randomisierungsprozedur erzeugte zwei gut und fair vergleichbare Gruppen.

Besuch 1 (M0)	LabCode	Placebo			Verum			ANOVA
		MW	SEM	N	MW	SEM	N	P
Vit B3	B1vVITB3_200	11,78	1,83	39	9,41	0,92	111	0,212
TRP (Harn)	B1vTRYPTOAS	0,98	0,03	40	0,95	0,02	75	0,526
Serotonin (Harn)	B1vSEROQU	186,04	19,59	36	170,58	10,41	80	0,449

7.4 Gruppenvergleich nach 3 Monaten

Tabelle 4, Gruppenunterschiede zwischen und Verum- und Placebogruppe nach 3 Monaten regelmäßiger Einnahme, Varianzanalyse (ANCOVA) mit den jeweiligen Werten vor Beginn der Teilnahme (M0) als Kovariable.

Besuch 2 (M3)	Lab.ID	Placebo			Verum			ANOVA
		MW	SEM	N	MW	SEM	N	P
Vit B3	B2vVITB3_200	10,95	1,28	37	20,45	2,14	110	0,004
TRP (Harn)	B2vTRYOTOAS	0,99	0,03	39	0,99	0,03	73	0,516
Serotonin (Harn)	B2vSEROQU	163,43	17,62	39	160,06	8,63	77	0,972

7.5 Gruppenvergleich nach Ende der Teilnahme (nach 6 Monaten)

Tabelle 5, Gruppenunterschiede (Verum- und Placebo) nach 6 Monaten regelmäßiger Einnahme; Varianzanalyse (ANVOCA) mit den individuellen Ausgangswerten (Teilnahmebeginn, M0) als Kovariable.

Besuch 3 (M6)	Lab.ID	Placebo			Verum			ANOVA
		MW	SEM	N	MW	SEM	N	P
Vit B3	B3vVITB3_200	17,49	3,43	35	17,24	1,96	109	0,777
TRP (Harn)	B3vTRYPTOAS	1,02	0,04	35	0,97	0,02	77	0,314
Serotonin (Harn)	B3vSEROQU	142,76	10,16	32	229,62	45,15	74	0,218

7.6 Parameterverlauf in der Placebogruppe

Tabelle 6, Parameterverlauf in der Placebogruppe. Die Veränderungen der jeweiligen Laborparameter zwischen Laborbestimmung 1 (Teilnahmestart) und nach 3 Monaten Laborbestimmung 2 (1. Halbzeit), oder Labor 2 bis 3 (2. Halbzeit), oder zwischen Start bis Ende (6 Monate) wurden berechnet, und die Mittelwerte der Differenz (MW-Dif) und Standardfehler der Mittelwerte (SEM) zwischen den Zeitpunkten mittels Students T-test für gepaarte Parameter analysiert. In der Spalte P zeigen fettgedruckte Zahlen statistisch signifikant veränderte Parameter an ($p < 0,05$). Allerdings in der Placebogruppe veränderte sich kein einziger Parameter statistisch signifikant.

Placebo	Labor 1-2, 1. Halbzeit				Labor 2-3, 2.Halbzeit				Von Start bis Ende 6 Monate			
	MW-Dif	SEM	N	P	MW-Dif	SEM	N	P	MW-Dif	SEM	N	P
Vitamin B3	-1,22	1,84	36	,513	5,44	3,05	34	,084	4,91	3,12	35	,125
TRP (Harn)	,005	,026	39	,838	,045	,035	34	,204	,055	,032	35	,097
Serotonin Harn	-20,18	15,93	35	,214	-3,08	10,95	32	,780	-30,42	15,51	29	,060

7.7 Parameter in der Verumgruppe

Tabelle 7, Mittelwerte (MW) und Standardfehler (SEM) der Labor-Parameter in der Verumgruppe zu Teilnahmebeginn (Labor 1 Teilnahmestart, M0), nach 3 Monaten (Labor 2, M3) und nach 6 Monaten (Labor 3, M6)

Verum	Labor 1, zu Teilnahmestart			Labor 2, nach 3 Monaten			Labor 3, nach 6 Monaten		
	MW	SEM	N	MW	SEM	N	MW	SEM	N
Vitamin B6	28,74	4,28	30	70,58	6,90	30	61,37	8,86	29
Vitamin D3	52,49	4,81	30	54,34	3,61	30	59,96	3,06	29
Kynurein (Kyn)	291,70	17,41	30	361,70	24,79	30	266,00	37,86	15
TRP (Blut)	7,49	0,84	30	8,69	0,81	30	11,51	0,48	15
Qotient TRP/Kyn	47,72	3,77	30	59,91	7,91	30	22,72	2,58	15
Serotonin (Blut)	109,53	7,82	30	127,60	9,33	30	107,98	8,42	29
Selen (Blut)	93,97	4,95	30	108,80	7,65	30	100,24	6,26	29
Chrom (Blut)	0,60	0,09	30	0,93	0,07	30	0,94	0,06	29
Kupfer (Blut)	1,21	0,05	30	1,19	0,05	30	1,16	0,05	30
Kupfer (zellulär)	1,21	0,05	30	1,19	0,05	30	1,17	0,05	30
Zink (Blut)	6,43	0,17	30	6,60	0,18	30	7,06	0,19	29
Zink (zellulär)	6,34	0,15	30	6,46	0,16	30	6,82	0,15	29
Quotient Cu/Zn	0,19	0,01	30	0,19	0,01	30	0,18	0,01	29

7.8 Parameterverlauf in der Verumgruppe

Tabelle 8, Veränderungen der Parameter (Mittlere Differenzen) in der Verumgruppe. Die Unterschiede der Laborparameter zwischen Besuch 1 (M0) nach 3 Monaten zu Besuch 2 (M3) oder 6 Monaten zu Besuch 3 (M6) wurden berechnet und mittels Students T-test für gepaarte Parameter analysiert. In Spalte P zeigen fettgedruckte Ziffern statistisch signifikante Parameterveränderungen ($p < 0,05$) während der jeweiligen Teilnahmephasen an.

	Labor 1-2; 1. Halbzeit				Labor 2-3; 2 Halbzeit				Start bis Ende; 6 Monate			
	MW_Diff	SEM	N	P	MW_Diff	SEM	N	P	MW_Diff	SEM	N	P
Vitamin B3	11,25	2,12	109	,000	-3,56	2,83	108	,210	8,50	2,11	108	,000
Vitamin B6	41,84	7,98	30	,000	-10,93	8,84	29	,226	32,18	9,92	29	,003
Vitamin D3	1,85	3,87	30	,637	4,99	3,24	29	,134	7,51	5,69	29	,197
TRP (Harn)	0,06	0,03	67	,059	-0,02	0,02	71	,246	0,03	0,02	70	,249
Serotonin (Harn)	-10,85	12,03	76	,370	66,70	48,25	69	,171	62,00	48,57	72	,206
Kynurein (Blut)	70,00	32,70	30	,041	-3,87	48,43	15	,937	-67,40	41,35	15	,125
TRP (Blut)	1,20	0,64	30	,072	-1,14	0,85	15	,201	1,46	1,36	15	,301
Quotient TRP/Kyn	12,19	7,48	30	,114	1,40	3,19	15	,667	-17,86	5,97	15	,010
Serotonin (Blut)	18,07	6,83	30	,013	-23,71	8,73	29	,011	-4,84	8,09	29	,554
Chrom (Voll-Blut)	0,33	0,14	30	,029	0,03	0,08	29	,707	0,33	0,12	29	,010
Kupfer (Voll-Blut)	-0,02	0,02	30	,399	-0,01	0,02	29	,567	-0,03	0,02	29	,148
Kupfer (zellulär)	-0,02	0,02	30	,496	-0,01	0,02	29	,598	-0,03	0,02	29	,229
Zink (Voll-Blut)	0,18	0,11	30	,113	0,48	0,07	29	,000	0,63	0,12	29	,000
Zink (zellulär)	0,12	0,09	30	,187	0,41	0,06	29	,000	0,49	0,09	29	,000
Quotient Cu/Zn	-0,01	0,00	30	,158	-0,01	0,00	29	,006	-0,02	0,00	29	,000

8 References

1. Aedo F, Delgado R, Wolff D, Vergara C (2007). Copper and zinc as modulators of neuronal excitability in a physiologically significant concentration range. *Neurochem Int* 50:591-600.
2. Anderson G, Maes M (2015). Bipolar disorder: role of immune-inflammatory cytokines, oxidative and nitrosative stress and tryptophan catabolites. *Curr Psychiatry Rep* 17:8.
3. Attenburrow MJ, Odontiadis J, Murray BJ, Cowen PJ, Franklin M (2002). Chromium treatment decreases the sensitivity of 5-HT_{2A} receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 159:432-436.
4. Bell C, Abrams J, Nutt D (2001). Tryptophan depletion and its implications for psychiatry. *Br J Psychiatry* 178:399-405.
5. Bell IR, Edman JS, Morrow FD, Marby DW, Mirages S, Perrone G, Kayne HL, Cole JO (1991). B complex vitamin patterns in geriatric and young adult inpatients with major depression. *J Am Geriatr Soc* 39:252-257.
6. Berger M, Gray JA, Roth BL (2009). The expanded biology of serotonin. *Annu Rev Med* 60:355-366.
7. Brownley KA, Girdler SS, Stout AL, Mcleod MN (2013a). Chromium supplementation for menstrual cycle-related mood symptoms. *J Diet Suppl* 10:345-356.
8. Brownley KA, Von Holle A, Hamer RM, La Via M, Bulik CM (2013b). A double-blind, randomized pilot trial of chromium picolinate for binge eating disorder: results of the Binge Eating and Chromium (BEACH) study. *J Psychosom Res* 75:36-42.
9. Capuron L, Schroeksadel S, Feart C, Aubert A, Higuieret D, Barberger-Gateau P, Laye S, Fuchs D (2011). Chronic low-grade inflammation in elderly persons is associated with altered tryptophan and tyrosine metabolism: role in neuropsychiatric symptoms. *Biol Psychiatry* 70:175-182.
10. Chang MY, Tseng CH, Chiou YL (2014). The plasma concentration of copper and prevalence of depression were positively correlated in shift nurses. *Biol Res Nurs* 16:175-181.
11. Davidson JR, Abraham K, Connor KM, Mcleod MN (2003). Effectiveness of chromium in atypical depression: a placebo-controlled trial. *Biol Psychiatry* 53:261-264.
12. Davison KM, Kaplan BJ (2011). Vitamin and mineral intakes in adults with mood disorders: comparisons to nutrition standards and associations with sociodemographic and clinical variables. *J Am Coll Nutr* 30:547-558.
13. Davison KM, Kaplan BJ (2012). Nutrient intakes are correlated with overall psychiatric functioning in adults with mood disorders. *Can J Psychiatry* 57:85-92.
14. Digirolamo AM, Ramirez-Zea M, Wang M, Flores-Ayala R, Martorell R, Neufeld LM, Ramakrishnan U, Sellen D, et al. (2010). Randomized trial of the effect of zinc supplementation on the mental health of school-age children in Guatemala. *Am J Clin Nutr* 92:1241-1250.
15. Docherty JP, Sack DA, Roffman M, Finch M, Komorowski JR (2005). A double-blind, placebo-controlled, exploratory trial of chromium picolinate in atypical depression: effect on carbohydrate craving. *J Psychiatr Pract* 11:302-314.
16. Faber S, Zinn GM, Kern JC, 2nd, Kingston HM (2009). The plasma zinc/serum copper ratio as a biomarker in children with autism spectrum disorders. *Biomarkers* 14:171-180.
17. Fernstrom JD, Wurtman RJ (1971). Brain serotonin content: physiological dependence on plasma tryptophan levels. *Science* 173:149-152.
18. Forrest CM, Mackay GM, Stoy N, Egerton M, Christofides J, Stone TW, Darlington LG (2004). Tryptophan loading induces oxidative stress. *Free Radic Res* 38:1167-1171.
19. Fu CS, Swendseid ME, Jacob RA, Mckee RW (1989). Biochemical markers for assessment of niacin status in young men: levels of erythrocyte niacin coenzymes and plasma tryptophan. *J Nutr* 119:1949-1955.

20. Gautam M, Agrawal M, Gautam M, Sharma P, Gautam AS, Gautam S (2012). Role of antioxidants in generalised anxiety disorder and depression. *Indian J Psychiatry* 54:244-247.
21. Gostner JM, Becker K, Ueberall F, Fuchs D (2015). The good and bad of antioxidant foods: An immunological perspective. *Food Chem Toxicol* 80:72-79.
22. Heuther G, Hajak G, Reimer A, Poeggeler B, Blomer M, Rodenbeck A, Ruther E (1992). The metabolic fate of infused L-tryptophan in men: possible clinical implications of the accumulation of circulating tryptophan and tryptophan metabolites. *Psychopharmacology (Berl)* 109:422-432.
23. Himmerich H, Erbguth F (2014). Ernährung und Nahrungsergänzungsmittel bei psychiatrischen Erkrankungen. [Nutrition and dietary supplements in psychiatric diseases]. *Nervenarzt* 85:1512-1520.
24. Hogenelst K, Schoevers RA, Aan Het Rot M (2015). The Effects of Tryptophan on Everyday Interpersonal Encounters and Social Cognitions in Individuals with a Family History of Depression. *Int J Neuropsychopharmacol* 18.
25. Homan P, Neumeister A, Nugent AC, Charney DS, Drevets WC, Hasler G (2015). Serotonin versus catecholamine deficiency: behavioral and neural effects of experimental depletion in remitted depression. *Transl Psychiatry* 5:e532.
26. Hvas AM, Juul S, Bech P, Nexø E (2004). Vitamin B6 level is associated with symptoms of depression. *Psychother Psychosom* 73:340-343.
27. Jiang P, Zhang LH, Cai HL, Li HD, Liu YP, Tang MM, Dang RL, Zhu WY, et al. (2014). Neurochemical effects of chronic administration of calcitriol in rats. *Nutrients* 6:6048-6059.
28. Kaneko I, Sabir MS, Dussik CM, Whitfield GK, Karrys A, Hsieh JC, Haussler MR, Meyer MB, et al. (2015). 1,25-Dihydroxyvitamin D regulates expression of the tryptophan hydroxylase 2 and leptin genes: implication for behavioral influences of vitamin D. *Faseb j* 29:4023-4035.
29. Kim S, Miller BJ, Stefanek ME, Miller AH (2015). Inflammation-induced activation of the indoleamine 2,3-dioxygenase pathway: Relevance to cancer-related fatigue. *Cancer*.
30. Lapin IP, Oxenkrug GF (1969). Intensification of the central serotonergic processes as a possible determinant of the thymoleptic effect. *Lancet* 1:132-136.
31. Liu X, Zheng P, Zhao X, Zhang Y, Hu C, Li J, Zhao J, Zhou J, et al. (2015). Discovery and validation of plasma biomarkers for major depressive disorder classification based on liquid chromatography-mass spectrometry. *J Proteome Res* 14:2322-2330.
32. Mcleod MN, Golden RN (2000). Chromium treatment of depression. *Int J Neuropsychopharmacol* 3:311-314.
33. Mlyniec K, Budziszewska B, Reczynski W, Doboszewska U, Pilc A, Nowak G (2013). Zinc deficiency alters responsiveness to antidepressant drugs in mice. *Pharmacol Rep* 65:579-592.
34. Mlyniec K, Davies CL, De Agüero Sanchez IG, Pytka K, Budziszewska B, Nowak G (2014a). Essential elements in depression and anxiety. Part I. *Pharmacol Rep* 66:534-544.
35. Mlyniec K, Ostachowicz B, Krakowska A, Reczynski W, Opoka W, Nowak G (2014b). Chronic but not acute antidepressant treatment alters serum zinc/copper ratio under pathological/zinc-deficient conditions in mice. *J Physiol Pharmacol* 65:673-678.
36. Mlyniec K, Gawel M, Doboszewska U, Starowicz G, Pytka K, Davies CL, Budziszewska B (2015). Essential elements in depression and anxiety. Part II. *Pharmacol Rep* 67:187-194.
37. Mohajeri MH, Wittwer J, Vargas K, Hogan E, Holmes A, Rogers PJ, Goralczyk R, Gibson EL (2015). Chronic treatment with a tryptophan-rich protein hydrolysate improves emotional processing, mental energy levels and reaction time in middle-aged women. *Br J Nutr*:1-16.
38. Muss C, Mosgoeller W, Endler T (2015a). Bioavailability of a liquid Vitamin Trace Element Composition in healthy volunteers. *Neuro Endocrinol Lett* 36:337-347.
39. Muss C, Mosgoeller W, Endler T (2015b). Neuroprotective impact of a vitamin trace element composition - a randomized, double blind, placebo controlled clinical trial with healthy volunteers. *Neuro Endocrinol Lett* 36:31-40.

40. Myint AM, Schwarz MJ, Muller N (2012). The role of the kynurenine metabolism in major depression. *J Neural Transm (Vienna)* 119:245-251.
41. Nathan CF, Murray HW, Wiebe ME, Rubin BY (1983). Identification of interferon-gamma as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. *J Exp Med* 158:670-689.
42. Nowak G, Siwek M, Dudek D, Zieba A, Pilc A (2003). Effect of zinc supplementation on antidepressant therapy in unipolar depression: a preliminary placebo-controlled study. *Pol J Pharmacol* 55:1143-1147.
43. Nowak G, Legutko B, Szewczyk B, Papp M, Sanak M, Pilc A (2004). Zinc treatment induces cortical brain-derived neurotrophic factor gene expression. *Eur J Pharmacol* 492:57-59.
44. Ogawa S, Fujii T, Koga N, Hori H, Teraishi T, Hattori K, Noda T, Higuchi T, et al. (2014). Plasma L-tryptophan concentration in major depressive disorder: new data and meta-analysis. *J Clin Psychiatry* 75:e906-915.
45. Ozkan Y, Sukuroglu MK, Tulmac M, Kisa U, Simsek B (2014). Relation of kynurenine/tryptophan with immune and inflammatory markers in coronary artery disease. *Clin Lab* 60:391-396.
46. Patrick RP, Ames BN (2014). Vitamin D hormone regulates serotonin synthesis. Part 1: relevance for autism. *Faseb j* 28:2398-2413.
47. Patrick RP, Ames BN (2015). Vitamin D and the omega-3 fatty acids control serotonin synthesis and action, part 2: relevance for ADHD, bipolar disorder, schizophrenia, and impulsive behavior. *Faseb j* 29:2207-2222.
48. Prakash R, Gandotra S, Singh LK, Das B, Lakra A (2008). Rapid resolution of delusional parasitosis in pellagra with niacin augmentation therapy. *Gen Hosp Psychiatry* 30:581-584.
49. Rubin RT (1967). Adrenal cortical activity changes in manic-depressive illness. Influence on intermediary metabolism of tryptophan. *Arch Gen Psychiatry* 17:671-679.
50. Sainio EL, Pulkki K, Young SN (1996). L-Tryptophan: Biochemical, nutritional and pharmacological aspects. *Amino Acids* 10:21-47.
51. Schaechter JD, Wurtman RJ (1990). Serotonin release varies with brain tryptophan levels. *Brain Res* 532:203-210.
52. Seppala J, Kauppinen A, Kautiainen H, Vanhala M, Koponen H (2014). [Depression and diet]. *Duodecim* 130:902-909.
53. Shabbir F, Patel A, Mattison C, Bose S, Krishnamohan R, Sweeney E, Sandhu S, Nel W, et al. (2013). Effect of diet on serotonergic neurotransmission in depression. *Neurochem Int* 62:324-329
54. Szewczyk B, Sowa M, Czupryn A, Wieronska JM, Branski P, Sadlik K, Opoka W, Piekoszewski W, et al. (2006). Increase in synaptic hippocampal zinc concentration following chronic but not acute zinc treatment in rats. *Brain Res* 1090:69-75.
55. Tassabehji NM, Corniola RS, Alshingiti A, Levenson CW (2008). Zinc deficiency induces depression-like symptoms in adult rats. *Physiol Behav* 95:365-369.
56. Veugelers PJ, Pham TM, Ekwaru JP (2015). Optimal Vitamin D Supplementation Doses that Minimize the Risk for Both Low and High Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations in the General Population. *Nutrients* 7:10189-10208.
57. Wagner M, Tonoli D, Varesio E, Hopfgartner G (2014). The use of mass spectrometry to analyze dried blood spots. *Mass Spectrom Rev*:DOI: 10.1002/mas.21441.
58. Wichers MC, Koek GH, Robaey G, Verkerk R, Scharpe S, Maes M (2005). IDO and interferon-alpha-induced depressive symptoms: a shift in hypothesis from tryptophan depletion to neurotoxicity. *Mol Psychiatry* 10:538-544.
59. Wojcik J, Dudek D, Schlegel-Zawadzka M, Grabowska M, Marcinek A, Florek E, Piekoszewski W, Nowak RJ, et al. (2006). Antepartum/postpartum depressive symptoms and serum zinc and magnesium levels. *Pharmacol Rep* 58:571-576.

60. Yoshida R, Imanishi J, Oku T, Kishida T, Hayaishi O (1981). Induction of pulmonary indoleamine 2,3-dioxygenase by interferon. *Proc Natl Acad Sci U S A* 78:129-132.
61. Young SN, Gauthier S (1981). Tryptophan availability and the control of 5-hydroxytryptamine and tryptamine synthesis in human CNS. *Adv Exp Med Biol* 133:221-230.
62. Young SN (2007). How to increase serotonin in the human brain without drugs. *J Psychiatry Neurosci* 32:394-399.