

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Maja M. Lačković

**ANALIZA ANTIOKSIDATIVNOG STATUSA
KOD BOLESNIKA SA UNIPOLARNIM I
BIPOLARNIM AFEKTIVNIM POREMEĆAJEM**

Doktorska disertacija

Beograd, 2016.

UNIVERSITY OF BELGRADE

SCHOOL OF MEDICINE

Maja M. Lačković

**THE ANALYSIS OF ANTIOXIDATIVE STATUS
IN PATIENTS WITH MAJOR DEPRESSION AND
BIPOLAR DISORDER**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016.

PODACI O MENTORIMA I ČLANOVIMA KOMISIJE

Mentor: Prof. dr Aleksandar Damjanović, Klinika za psihijatriju Kliničkog centra Srbije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Komentor: Prof. dr Nataša Petronijević, Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

Akademik prof. dr Dušica Lečić Toševski, Institut za mentalno zdravlje, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Srpska akademija nauka i umetnosti

Prof. dr Tatjana Simić, Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Slavica Đukić Dejanović, Klinika za psihijatrijske bolesti „Dr Laza Lazarević“, Medicinski fakultet Univerziteta u Kragujevcu

Datum odbrane:

Zahvaljujem se:

Mentoru, prof. dr Aleksandru Damjanoviću na stručnoj i naučnoj saradnji, razumevanju i podršci koju mi pruža u svakodvenom radu.

Komentoru, prof. dr Nataši Petronijević čije mi je veliko naučno iskustvo u ovoj oblasti bilo od izuzetne pomoći tokom izrade ove doktorske disertacije i u čijoj laboratoriji su obavljena sva biohemijska istraživanja u okviru ove teze.

Članovima komisije, akademiku prof. dr Dušici Lečić Toševski, prof. dr Tatjani Simić i prof. dr Slavici Đukić Dejanović na stručnoj, naučnoj i prijateljskoj podršci, bodrednju i korisnim savetima koji su doprineli realizaciji ove doktorske disertacije.

Svojim dragim kolegama i saradnicima sa Klinike za psihijatriju, posebno ass. dr Bojani Dunjić Kostić i dr Maji Pantović koje su mi uvek nesebično pomagale u svim fazama izrade doktorske disertacije.

Svim saradnicima i kolegama koji su učestvovali u prikupljanju podataka i uzoraka tokom izrade doktorske disertacije.

Kolegama instituta za medicinsku i kliničku biohemiju, dr Milici Velimirović, dr Tatjani Nikolić i dr Tihomiru Stojkoviću koji su mi svojom predusretljivošću i angažovanju mnogo pomogli u izradi doktorske disertacije.

Članovima kolektiva Instituta za medicinsku statistiku i informatiku Medicinskog fakulteta u Beogradu, prof. dr Jeleni Marinković i dr Milanu Gajiću na njihovom entuzijazmu i stručnoj pomoći u svim prilikama.

Svojim roditeljima i sestri na pomoći od neprocenjive vrednosti i bezuslovnoj podršci u svemu.

ANALIZA ANTIOKSIDATIVNOG STATUSA KOD BOLESNIKA SA UNIPOLARNIM I BIPOLARNIM AFEKTIVNIM POREMEĆAJEM

REZIME

Uvod. Poremećaji raspoloženja obuhvataju veliku grupu psihijatrijskih oboljenja koja se karakterišu prisustvom patološkog raspoloženja kao ključnim elementom kliničke slike. U okviru ove grupe razlikuju se unipolarna depresija ili depresivni poremećaj koji se karakteriše prisustvom isključivo depresivnih epizoda, i bipolarni afektivni poremećaj kod koga postoji smenjivanje faza povišenog raspoloženja (manija ili hipomanija) sa fazama depresivnog raspoloženja.

Etiologija poremećaja raspoloženja je rezultat složenog međudelovanja brojnih bioloških, psiholoških i socijalnih faktora. Smatra se da u patogenezi značajnu ulogu imaju abnormalnosti neurotransmiterskih i neuroendokrinih funkcija sa vrlo izraženom genetskom komponentom. U skorije vreme pretpostavlja se da je oksidativni stres uključen u patogenezu poremećaja raspoloženja, kao i drugih psihijatrijskih oboljenja.

Oksidativni stres predstavlja poremećaj ravnoteže između stvaranja slobodnih radikala i mehanizama antioksidativne zaštite. U toku oksidativnog stresa dolazi do oštećenja molekula lipida, proteina ili DNK, čime se narušava njihova funkcija. Mozak je posebno osetljiv na dejstvo slobodnih radikala.

Uloga oksidativnog stresa u patogenezi unipolarne depresije i bipolarnog afektivnog poremećaja nije još uvek sasvim rasvetljena, iako postoje brojni dokazi o poremećenom oksidativnom statusu kod obolelih. Jedna od pretpostavki je da je redoks regulacija povezana sa regulacijom inflamatornih puteva i da povećani oksidativni stres može dovesti do inflamacije. Postoje brojni dokazi koji govore u prilog tzv. inflamatornoj hipotezi depresije. Takođe, narušena funkcija mitohondrija, koje su glavni izvor slobodnih radikala, može učestvovati u etiopatogenezi depresije.

Ciljevi istraživanja. U cilju utvrđivanja promena u antioksidativnom statusu u serumu obolelih od unipolarne depresije i bipolarnog afektivnog poremećaja određuju se različiti parametri oksidativnog stresa, i to biomarkeri oksidativnog oštećenja lipida (8-

izoprostan i malondialdehid – MDA) i DNK (8-hidroksi-2'-deoksiguanozin – 8-OHdG), kao i antioksidativni enzimi (superoksid dizmutaza –SOD, katalaza– CAT, glutation peroksidaza – GPx i glutation reduktaza –GR). Dodatno, upoređuju se nivoi parametara oksidativnog stresa u serumu obolelih od bipolarnog poremećaja i unipolarne depresije sa ciljem potencijalnog uspostavljanja diferencijacije između ovih oboljenja.

Ispitanici i metode. Studija je obuhvatila 64 ispitanika: 32 pacijenta sa dijagnozom unipolarne depresije i 32 pacijenta sa dijagnozom bipolarnog poremećaja, koji su hospitalizovani na Klinici za psihijatriju Kliničkog centra Srbije i ispunjavaju kriterijume za ove bolesti prema Dijagnostičko-statističkom priručniku – četvrta revizija. Za procenu težine i kvaliteta psihijatrijskih simptoma i njihovu objektivnu procenu korišćene su relevantne skale kliničke procene: skala za opšti klinički utisak (engl. *Clinical Global Impression* – CGI), Hamiltonova skala za procenu depresivnosti (engl. *Hamilton Depression Rating Scale* – HAMD) i Jangova skala za procenu manije (engl. *Young Manic Rating Scale* – YMRS). Od parametara oksidativnog stresa, merena je koncentracija 8-izoprostana, malondialdehida, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozina i aktivnost enzima SOD, CAT, GPx i GR u serumu pacijenata. Parametri su određivani imunohemijskim i spektrofotometrijskim metodama. Dobijeni rezultati su analizirani odgovarajućim statističkim metodama, a kao kriterijum statističke značajnosti razlike primenjivana je vrednost $p < 0,05$.

Rezultati. Oboleli od unipolarne depresije i bipolarnog afektivnog poremećaja se nisu značajno razlikovale po najvažnijim sociodemografskim podacima, uključujući pol, uzrast, stepen obrazovanja, zaposlenje i bračni status. Nisu pronađene razlike u biomarkerima oksidativnog oštećenja među grupama obolelih. Dodatno, razlika nije postajala ni u različitim vremenima merenja, odnosno na početku akutne epizode i nakon postizanja remisije. Slično je bilo sa izmerenom aktivnošću enzima oksidativnog stresa. Međutim, jedini parametar oksidativnog stresa koji se razlikovao među grupama je bio enzim glutation reduktaza ($F=10,727$; $p=0,02$), čija je aktivnost u serumu bila viša kod obolelih od bipolarnog poremećaja, kako u akutnoj fazi, tako i u fazi remisije.

Zaključak. Kod obolelih od unipolarne depresije i bipolarnog afektivnog poremećaja postoje slične promene u parametrima oksidativnog stresa u serumu, uključujući biomarkere oksidativnog oštećenja lipida i DNK i aktivnost antioksidativnih enzima.

Promene u parametrima oksidativnog stresa prisutne su u akutnoj fazi, odnosno tokom depresivne epizode, kao i nakon nastupanja remisije u obe grupe ispitanika. Među obolelim od unipolarne depresije i bipolarnog poremećaja postoji razlika u aktivnosti enzima glutacione reduktaze, čije je aktivnost viša u serumu obolelih od bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije.

KLJUČNE REČI: depresija, bipolarni poremećaj, oksidativni stres, biomarkeri

NAUČNA OBLAST: medicina

UŽA NAUČNA OBLAST: psihijatrija

THE ANALYSIS OF ANTIOXIDATIVE STATUS IN PATIENTS WITH MAJOR DEPRESSION AND BIPOLAR DISORDER

SUMMARY

Introduction. Mood disorders encompass a large group of psychiatric disorders characterized by the presence of pathological mood as a key element of the clinical picture. Within this group, there is distinction between unipolar depression or major depressive disorder characterized by the presence of only depressive episodes and bipolar disorder with alternation of elevated mood (mania or hypomania) and depressive mood.

The etiology of mood disorders is the result of a complex interaction between a number of biological, psychological and social factors. It is believed that abnormalities of neurotransmitter and neuroendocrine function play a significant role in their pathogenesis along with a very distinctive genetic component. Recently, it is assumed that oxidative stress is involved in the pathogenesis of mood disorders, as well as other psychiatric disorders.

Oxidative stress represents an imbalance between the production of free radicals and antioxidant defense mechanisms. Oxidative stress causes damage to the molecules of lipids, proteins or DNA, and as a result disrupts their function. The brain is particularly sensitive to the effects of free radicals.

The role of oxidative stress in the pathogenesis of unipolar depression and bipolar disorder is not yet completely understood, even though there is a lot of evidence of impaired oxidative status in patients. It is speculated that the redox regulation is associated with the regulation of inflammatory pathways and that increased oxidative stress can lead to inflammation. There is lots of evidence to so-called inflammatory hypothesis of depression. Also, impaired function of mitochondria, which are the main source of free radicals, may contribute to the etiopathogenesis of depression.

Aims. In order to determine changes in the antioxidative status in the serum of patients with unipolar depression and bipolar disorder various parameters of oxidative stress are measured, including biomarkers of oxidative damage to lipids (8-isoprostanes and

malondialdehyde – MDA) and DNA (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine – 8-OHdG), and antioxidative enzymes (superoxide dismutase – SOD, catalase – CAT, glutathione peroxidase – GPx, and glutathione reductase – GR). In addition, the levels of oxidative stress parameters in the serum of patients with bipolar disorder and unipolar depression are compared, with the purpose of potential establishing differentiation between these diseases.

Participants and methods. The study included 64 participants: 32 patients diagnosed with unipolar depression and 32 patients diagnosed with bipolar disorder who were hospitalized at the Clinic of Psychiatry, Clinical Centre of Serbia, and who met the criteria for these diseases according to the Diagnostic and Statistical Manual – the Fourth Revision. To assess the severity and quality of psychiatric symptoms and their objective evaluation we used relevant clinical assessment scales: Clinical Global Impression Scale - CGI, Hamilton Depression Rating Scale - HAMD and Young Manic Rating Scale – YMRS. The following parameters of oxidative stress are measured: concentration of 8-isoprostane, malondialdehyde, and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, and the activity of SOD, CAT, GPx and GR in the serum of patients. Parameters were determined by immunochemical and spectrophotometric methods. The results were analyzed by appropriate statistical methods and statistical significance of the difference was set at $p < 0.05$.

Results. Patients with unipolar depression and bipolar disorder did not differ significantly in the most important socio-demographic data, including gender, age, education, employment and marital status. There were no differences in biomarkers of oxidative damage between two groups of patients. Additionally, there was no difference in two moments of measurement, i.e. at the beginning of the acute episode and after the achievement of remission. Similarly, no difference in the activity of antioxidative enzymes were found. However, the only parameter of oxidative stress that showed difference between the groups was the enzyme glutathione reductase ($F = 10.727$, $p = 0.02$), whose activity levels were higher in patients with bipolar disorder, both in the acute phase and in remission phase.

Conclusion. In patients with unipolar depression and bipolar disorder there are similar changes in the parameters of oxidative stress in serum, including biomarkers of

oxidative damage to lipids and DNA and the activity of antioxidative enzymes. Alterations in the parameters of oxidative stress are present in the acute phase, i.e. during the depressive episode, as well as after remission in both groups. Among people diagnosed with unipolar depression or bipolar disorder there is a difference in the activity of glutathione reductase, whose activity is higher in the serum of patients with bipolar disorder, both in acute and remission phase.

KEY WORDS: depression, bipolar disorder, oxidative stress, biomarkers

ACADEMIC EXPERTISE: medicine

FIELD OF ACADEMIC EXPERTISE: psychiatry

SADRŽAJ

I. UVOD	1
1.1. POREMEĆAJI RASPOLOŽENJA	1
1.1.1. Uvod	1
1.1.2. Kliničke karakteristike poremećaja raspoloženja	2
1.1.3. Dijagnoza i klasifikacija poremećaja raspoloženja	6
1.1.4. Epidemiologija poremećaja raspoloženja	9
1.1.5. Etiopatogeneza poremećaja raspoloženja	10
1.2. SLOBODNI RADIKALI I ANTIOKSIDATIVNA ZAŠTITA.....	14
1.2.1. Slobodni radikali	15
1.2.2. Antioksidativna zaštita	18
1.2.3. Mehanizmi oštećenja biomolekula usled oksidativnog stresa.....	26
1.2.4. Oksidativni stres i centralni nervni sistem.....	30
II. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	33
III. ISPITANICI I METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA.....	34
3.1. DIZAJN STUDIJE	34
3.2. SELEKCIJA ISPITANIKA.....	34
3.3. INSTRUMENTI KLINIČKE PROCENE	35
3.3.1. Skala za opšti klinički utisak	35
3.3.2. Hamiltonova skala za procenu depresivnosti	36
3.3.3. Jangova skala za procenu manije.....	37
3.4. BIOHEMIJSKE METODE	37
3.4.1. Određivanje koncentracije 8-izoprostana	37
3.4.2. Određivanje ukupnog sadržaja lipidnih peroksida (MDA)	38
3.4.3. Određivanje koncentracije 8-hidroksi-2'-deoksiguanozina.....	38

3.4.4. Određivanje aktivnosti superoksid dizmutaze (SOD; EC 1.15.1.1) .	39
3.4.5. Određivanje aktivnosti katalaze (CAT; EC 1.11.1.6).....	39
3.4.6. Određivanje aktivnosti glutacione peroksidaze (GPx; EC 1.11.1.9) ..	40
3.4.7. Određivanje aktivnosti glutacione reduktaze (GR; EC 1.6.4.2)	41
3.5. Statistička obrada podataka i prikazivanje rezultata.....	41
IV. REZULTATI.....	42
4.1. DEMOGRAFSKI PODACI	42
4.1.1. Distribucija ispitanika po polu.....	42
4.1.2. Prosečna starost ispitanika.....	43
4.1.3. Stepen obrazovanja i zaposlenje ispitanika	44
4.1.4. Bračno stanje i broj dece ispitanika.....	45
4.1.5. Porodična anamneza.....	46
4.1.6. Prethodni pokušaj suicida.....	47
4.1.7. Karakteristike toka bolesti	48
4.1.8. Prisustvo psihotičnosti.....	50
4.2. REZULTATI SKALA KLINIČKE PROCENE.....	51
4.2.1. Skala za opšti klinički utisak	51
4.2.2. Hamiltonova skala za procenu depresivnosti	53
4.2.3. Jangova skala za procenu manije.....	54
4.3. REZULTATI BIOHEMIJSKIH ANALIZA	56
4.3.1. Koncentracija 8-izoprostana u serumu ispitanika.....	56
4.3.2. Koncentracija malondialdehida u serumu ispitanika.....	57
4.3.3. Koncentracija 8-hidroksi-2'-deoksiguanozina u serumu ispitanika .	58
4.3.4. Aktivnost superoksid dizmutaze u serumu ispitanika	59
4.3.5. Aktivnost katalaze u serumu ispitanika	60
4.3.6. Aktivnost glutacione peroksidaze u serumu ispitanika.....	61

4.3.7. Aktivnost glutation reduktaze u serumu ispitanika	62
4.4. KORELACIJE	63
V. DISKUSIJA	66
VI. ZAKLJUČCI	78
VII. LITERATURA	79
VIII. BIOGRAFIJA AUTORA	101

I. UVOD

1.1. POREMEĆAJI RASPOLOŽENJA

1.1.1. Uvod

Poremećaji raspoloženja predstavljaju značajnu grupu psihijatrijskih oboljenja koja se karakterišu prisustvom patološkog raspoloženja kao ključnim elementom kliničke slike. Ranije je ova grupa poremećaja označavana terminom "afektivni poremećaji", ali se danastermin "poremećaji raspoloženja" koristi češće kako bi se naglasilo da se ova oboljenja odnose na trajnija emocionalna stanja, a ne samo na afektivnu ekspresiju nekog prolaznog emocionalnog stanja (Akiskal, 2009; Sadock i sar., 2015). Patološko raspoloženje se može ispoljiti kao sniženo raspoloženje, odnosno depresija, ili povišenoraspoloženje, odnosno euforija, i uvek je praćeno pridruženim simptomima i znacima vegetativnih i psihomotornih poremećaja različitog stepena. Ove promene raspoloženja i prateći simptomi i znaci su relativno stabilni, održavaju se tokom perioda od nekoliko nedelja do više mesecitokom kojeg dovode do značajnih promena u opštem životnom funkcionisanju pacijenata (Akiskal, 2009). Kod zdravih osoba postoji čitav dijapazon različitih afektivnih ispoljavanja i varijacija u raspoloženju koje su manje ili više pod njihovom kontrolom, dok kod poremećaja raspoloženja postoji gubitak te kontrole i subjektivni doživljaj velike patnje.

Pacijenti mogu imati isključivo epizode sniženog, depresivnog raspoloženja, kada se govori o unipolarnoj depresiji ili depresivnom poremećaju. Pacijenti kod kojih se smenjuju faze povišenog raspoloženja (manija ili hipomanija) sa fazama depresivnog raspoloženja imaju bipolarni poremećaj, ranije označavan kaomanično-depresivna psihoza (Sadock i sar., 2015). Ukoliko se ovi poremećaji jave u blažim formama, koje su hroničnog toka, govori se o perzistentnim poremećajima raspoloženja koji obuhvataju distimiju – hronično depresivno raspoloženje i ciklotimiju – trajnu nestabilnost raspoloženja sa epizodama blage depresije i hipomanije. Iako se u psihijatriji već neko vreme unipolarna depresija i bipolarni poremećaj razmatraju kao odvojeni fenomeni, poslednjih godina se preispituje mogućnost da je bipolarni poremećaj zapravo teži oblik depresivnog poremećaja. Kod mnogih pacijenata sa

dijagnozom unipolarne depresije, pažljivijim intervjuom može se u prošlosti otkriti postojanje simptoma manije ili češće hipomanije, koji su ostali nezapaženi. Mnogi psihijatri koji su eksperti u ovoj oblasti danas su spremni da ove bolesti posmatraju kao kontinuum, govoreći o tzv. bipolarnom spektru (Sadock i sar., 2015).

1.1.2. Kliničke karakteristike poremećaja raspoloženja

1.1.2.1. Manična epizoda

Manična epizoda (manija) se karakteriše prisustvom povišenog raspoloženja koje je praćeno izraženim porastom telesne i mentalne aktivnosti (Sadock i sar., 2015). Označava promenu u odnosu na tipično raspoloženje i ponašanje osobe u periodu od najmanje nedelju dana tokom kojeg je ozbiljno narušeno funkcionisanje osobe (American Psychiatric Association, 2000). Povišeno raspoloženje se ispoljava kao bezrazložna radost ili euforija, praćena upadljivim ponašanjem i izgledom, smehom, živom gestikulacijom i pričljivošću. Ponekad, raspoloženje može da bude iritabilno uz hostilnost i nisku frustracionu toleranciju. Kod pacijenata je često prisutna emocionalna labilnost uz izmene dominirajućeg pozitivnog raspoloženja u razdražljivost, svadljivost ili ljutnju (Bech, 2003).

Važan deo kliničke slike manije je psihomotorno ubrzanje koje se karakteriše povećanjem fizičke aktivnosti i subjektivnim osećajem povećane energije i dobrog telesnog stanja i kondicije. Jedan od ključnih simptoma je nedostatak potrebe za spavanjem. Pacijenti često noću spavaju samo po nekoliko sati, a nekada nekoliko noći uzastopno i ne spavaju, pri tom nastavljajući sa povećanim aktivnostima uprkos fizičkoj iscrpljenosti.

Mišljenje je takođe poremećeno, u smislu ubrzanog misaonog toka sa brzim protokom ideja što dovodi do bega ideja ("fuga idearum") koji se prepoznaje kao gotovo neprekidno ubrzano govor sa iznenadnim prebacivanjem s teme na temu. Govor u maniji je tipično glasan, brz, sa igrama reči i zvučnim asocijacijama, i teško ga je prekinuti. U sadržaju mišljenja česte su ideje veličine i grandioznosti, praćene doživljajem preteranog samopouzdanja. Kod jednog broja pacijenata one dostižu nivo sumanutih ideja o posedovanju posebnih sposobnosti, talenata, odnosno moći. Ovi psihotični simptomi su saglasni sa povišenim raspoloženjem. Mnogo ređe, sumanute

ideje mogu biti bizarne i nesaglasne sa raspoloženjem (Akiskal, 2009; Sadock i sar., 2015).

Percepcija je uglavnom očuvana, iako se mogu javiti perceptivni poremećaji, kao npr. doživljavanje vrlo živih intenzivnih boja, zaokupljenost detaljima na površini i subjektivne hiperakuzije. Pažnja je karakteristično promenjena po tipu povišene vigilnosti praćene sniženim tenacitetom. Nemogućnost zadržavanja pažnje, odnosno rastresenost, čini da pacijenti tokom manične epizode pojačano zapažaju mnoštvo uglavnom nebitnih detalja iz okoline, dok istovremeno nisu u stanju da se usmere na jednu informaciju ili zadatak.

U toku manije karakteristično je da pacijenti ispoljavaju impulsivno, socijalno dezinhbirano, nametljivo ponašanje (Bech, 2003). Oni su intruzivni u povećanju socijalnih kontakata, često i sa slučajnim prolaznicima, što dovodi do teškoća u odnosima s porodicom, prijateljima i kolegama. Kod obolelih je prisutno povećano interesovanje za nove aktivnosti najčešće zasnovane na njihovim fantazijama i brojnim planovima koji su obično neutemeljeni, vođeni tek željom za užitkom i to najčešće bez moralnih i pravnih filtera. Usled nedostatka kritičnosti i loše objektivne procene socijalnih situacija, ove osobe se uključuju u različite aktivnosti sa potencijalnim rizikom za velike finansijske i interpersonalne neprilike, uključujući neumerenu i nepotrebnu kupovinu i trošenje novca, poklanjanje stvari, kockanje, ulazak u riskantne seksualne odnose i različite rizične poslovne poduhvate. Često je i prekomerno konzumiranje alkohola, kao i upotreba psihoaktivnih supstanci.

1.1.2.2. Hipomanija

Pod pojmom hipomanije se označavaju promene u raspoloženju i funkcionisanju osobe koje postoje kod manije, ali su blažeg intenziteta i kraćeg trajanja (najviše do 4 dana) (Sadock i sar., 2015). Ona se najčešće karakteriše povišenim optimizmom, povećanom energijom i aktivnošću uz subjektivni doživljaj dobre kondicije i fizičke i mentalne efikasnosti, intenzivnijim socijalnim interakcijama, povišenom seksualnom energijom i smanjenom potrebom za spavanjem. Simptomi hipomanije predstavljaju odstupanje od uobičajenog mentalnog stanja osobe, ali njihov intenzitet nije toliki da dovodi do značajnih oštećenja u profesionalnom, socijalnom i drugim važnim

područjima funkcionisanja. Takođe, ne postoji potreba za hospitalizacijom, niti su prisutni psihotični simptomi (Akiskal, 2009; Sadock i sar., 2015).

1.1.2.3. Depresivna epizoda

Depresivna epizoda (depresija) se karakteriše prisustvom sniženog, depresivnog raspoloženja i gubitkom interesovanja i zadovoljstva u životnim aktivnostima (Sadock i sar., 2015). Mada poremećaj emocija predstavlja suštinu depresije, celovitost kliničkog ispoljavanja posledica je uticaja patološkog raspoloženja na druge psihičke funkcije. Simptomi depresije ukazuju na jasnu promenu u odnosu na tipično raspoloženje i ponašanje osobe u periodu od najmanje dve nedelje tokom kojeg je ozbiljno narušeno funkcionisanje osobe (American Psychiatric Association, 2000). Depresivno raspoloženje koje je dominantni znak depresivne epizode opisuje se kao bezrazložna tuga, utučenost ili osećanje praznine, koje je praćeno karakteristično izmenjenim izgledom osobe: bolno zamišljeno lice, pognuto držanje i sklonost plaču. Većina pacijenata opisuje doživljaj depresije kao intezivan duševni bol i mučno osećanje koje se razlikuje od doživljaja normalne tuge ili žalosti. Ponekad se depresivno raspoloženje može javiti kao reakcija na neku realnu okolnost (ranije se ovaj tip depresije označavao pojmom reaktivna depresija), ali tada osećanje tuge svojim intenzitetom, trajanjem i potpunim odsustvom kontrole prevazilazi normalnu reakciju žaljenja. Depresivni doživljaj neki pacijenti opisuju i kao pojavu različitih telesnih manifestacija kao što su glavobolja, epigastični bol i druge gastrointestinalne smetnje, bolovi u mišićima i drugi nejasni bolovi. Ovo stanje koje je češće kod starijih osoba, ranije je često nazivano „maskirana depresija“ zbog česte pojave da bolesnici negiraju ili umanjuju depresivno raspoloženje, naglašavajući pri tom telesne smetnje. Neki pacijenti se tokom depresivne epizode takođe mogu više žaliti na neraspoloženje, razdražljivost i napetost. Anksioznost se javlja kod 60–90% pacijenata (Lam, 2012).

Karakterističan simptom prisutan u depresiji je anhedonija, odnosno gubitak sposobnosti da se uživa u stvarima koje inače pričinjavaju zadovoljstvo (Bech, 2003). U blažim formama se može ispoljiti kao osećanje dosade, dok kod teških depresija pacijenti gube interesovanje za druge, porodicu, sopstvenu decu. Za depresiju je karakteristična psihomotorna retardacija, usporenost motornih radnji, mada je mogućai psihomotorna agitacija. Kod obolelih su gotovo redovno prisutni osećanje umora i nedostatka energije. Pacijenti su inertni i nesposobni za fizičke i mentalne aktivnosti.

Povremeno, u teškim slučajevima, nedostatak energije je toliko izražen da nema obavljanja svakodnevnih aktivnosti (kuvanje, čišćenje, održavanje lične higijene, nekada čak i ustajanje iz kreveta).

U depresiji su tipično promenjeni apetit i spavanje (Sadock i sar., 2015). Gubitak apetita i smanjenje želje za hranom su česti simptomidepresivne epizode i uglavnom su praćeni gubitkom telesne težine. Ipak, određeni broj pacijenata oseća povećanu potrebu za hranom, naročito ugljenim hidratima, što može voditi u prejedanje i porast telesne težine. Gotovo svi pacijenti imaju neki oblik poremećaja spavanja. Klasična klinička prezentacija uključuje rano jutarnje buđenje i nemogućnost da se san nastavi (terminalna insomnija), ali su česti i isprekidani san i učestala buđenja tokom noći (intermitentna insomnija). Teškoće u uspavlivanju pri odlasku u krevet (inicijalna insomnija) su prisutni kod pacijenata kod kojih postoji anksioznost. Nasuprot ovome, prekomerno spavanje ili hipersomnija može biti simptom depresije, naročito kod mlađih osoba.

Mišljenje tokom depresivne epizode je oštećeno i po formi i po sadržaju. Misaoni tok je usporen, govor je uglavnom tih, jedva čujan, sa dugim pauzama. Odgovori na postavljena pitanja su spori, sa produženom vremenskom latencom i uglavnom kratki i šturi. U sadržaju mišljenja dominiraju ideje bespomoćnosti, beznadežnosti, niskog samopoštovanja i krivice. Osećanje bezvrednosti i krivice su tipičan simptom depresivne epizode i doprinose karakterističnoj negativnoj predstavi koju depresivni pacijenti imaju o sebi, svetu oko sebe i budućnosti. Depresivni pacijenti mogu pogrešno tumačiti trivijalne svakodnevne događaje i preuzimati odgovornost za negativni ishod događaja koji su van njihove kontrole, što može dostići nivo sumanutih ideja krivice. Druge sumanute ideje koje se javljaju povezane su sa temama zdravlja, finansijskog stanja, moralnih vrednosti i odnosima sa drugima i tipično su saglasne sa depresivnim raspoloženjem. U ovim situacijama govori se o depresivnom poremećaju sa psihotičnim simptomima (Akiskal, 2009; Sadock i sar., 2015).

Jedan od simptoma depresije je problem sa koncentracijom. Osobe se žale na teškoće upamćivanja, zaboravnost i nedostatak koncentracije. Pažnja je poremećena u smislu povišenog tenaciteta i smanjene vigilanosti. Pacijenti su neprestano okupirani

određenim temama (bolest, gubitak ili smrt) i imaju teškoće u preusmeravanju fokusa na sadržaje koji su van sfere njihovih preokupacija.

Kod većine obolelih se tokom depresivne epizode javlja suicidalnost, koja se kreće od suicidalnih ideja, odnosno razmišljanja o bezvrednosti života, preko razmišljanja o samoubistvu kao načinu prekida patnji, do suicidalnih planova. I pored prisustva suicidalnosti, depresivni pacijenti obično nemaju energije da pokušaju suicid. Ipak, samoubistvo ostaje značajan problem tokom depresije, jer 10–15% hospitalizovanih depresivnih pacijenata izvrši samoubistvo u nekom trenutku (Lam, 2012). Rizičan period za suicid je inicijalni period lečenja, kada se simptomi nedostatka energije i motivacije poboljšavaju, dok ostaju kognitivni simptomi (npr. doživaljaj bezvrednost, beznadežnosti).

Tipično, klinička prezentacija depresivne epizode tokom unipolarne depresije i bipolarnog poremećaja nema značajne razlike (Yatham i Malhi, 2011). Ipak, postoje određene karakteristike depresivne epizode koje mogu ukazati da se pre radi o bipolarnom poremećaju. Takođe, neka dodatna obeležja toka bolesti mogu napraviti distinkciju između ova dva poremećaja (tabela 1). Dodatno, nasledna komponenta je izraženija kod bipolarnog poremećaja.

Tabela 1. Karakteristike depresivne epizode koje ukazuju na veću verovatnoću bipolarne u odnosu na unipolarnu depresiju (Yatham i Malhi, 2011).

Simptomi i znaci:	Iritabilnost Melanholija Psihoteični simptomi tokom epizode Psihomotorne promene Atipični simptomi poput hipersomnije ili hiperfagije
Tok bolesti:	Rani početak bolesti Rekurentne kratke epizode Veći broj epizoda

1.1.3. Dijagnoza i klasifikacija poremećaja raspoloženja

U psihijatriji se ravnopravno koriste dva klasifikaciona sistema mentalnih poremećaja: 10. revizija Međunarodne klasifikacije bolesti Svetske zdravstvene organizacije – MKB-10 (World Health Organisation, 1992) i četvrta revizija

klasifikacije Američke psihijatrijske asocijacije – DSM-IV (American Psychiatric Association, 2000). Klasifikacija kategorije poremećaja raspoloženja donekle se razlikuju u ova dva sistema.

MKB-10 predstavlja službenu klasifikaciju koja se koristi u Republici Srbiji. Publikovana je od strane SZO 1992. godine i u upotrebi je u većini evropskih zemalja. Psihijatrijske dijagnoze nalaze se u poglavlju V, koje je označeno slovom F i sačinjene su od 99 dijagnostičkih kategorija, pri čemu su poremećaji raspoloženja grupisani od F30 do F39. Unipolarna depresija je u sistemu MKB-10 svrstana u dve dijagnoze: depresivna epizoda (tabela 2) i rekurentni depresivni poremećaj (tabela 3). Dodatno, postoji tipizacija depresivnih epizoda (bilo da se javljaju pojedinačno ili se radi o rekurentnom depresivnom poremećaju) u odnosu na intenzitet, prisustvo/odsustvo somatskih simptoma i postojanje psihotičnih karakteristika. Bipolarni poremećaj se u MKB-10 označava dijagnozom bipolarni afektivni poremećaj (tabela 4). MKB-10 predviđa označavanje sadašnje epizode (hipomanična/manična/depresivna/mešovita) i tipizaciju epizoda slično kao kod unipolarne depresije (World Health Organisation, 1992).

Tabela 2. Klasifikacija depresivne epizode prema MKB-10.

F32	DEPRESIVNA EPIZODA
F32.0	Blaga depresivna epizoda
	F32.00 Blaga depresivna epizoda bez somatskih simptoma
	F32.01 Blaga depresivna epizoda sa somatskim simptomima
F32.1	Umerena depresivna epizoda
	F32.10 Umerena depresivna epizoda bez somatskih simptoma
	F32.11 Umerena depresivna epizoda sa somatskim simptomima
F32.2	Teška depresivna epizoda bez psihotičnih simptoma
F32.3	Teška depresivna epizoda sa psihotičnim simptomima
F32.8	Druge depresivne epizode
F32.9	Depresivna epizoda, nespecificovana

Tabela 3. Klasifikacija rekurentnog depresivnog poremećaja prema MKB-10.

F33	REKURENTNI DEPRESIVNI POREMEĆAJ
F33.0	Rekurentni depresivni poremećaj, sadašnja epizoda blaga
	F33.00 Rekurentni depresivni poremećaj, sadašnja epizoda blaga bez somatskih simptoma
	F33.01 Rekurentni depresivni poremećaj, sadašnja epizoda blaga sa somatskim simptomima
F33.1	Rekurentni depresivni poremećaj, sadašnja epizoda umerena
	F33.10 Rekurentni depresivni poremećaj, sadašnja epizoda umerena bez somatskih simptoma
	F33.11 Rekurentni depresivni poremećaj, sadašnja epizoda umerena sa somatskim simptomima
F33.2	Rekurentni depresivni poremećaj, sadašnja epizoda teška bez psihotičnih simptoma
F33.3	Rekurentni depresivni poremećaj, sadašnja epizoda teška sa psihotičnim simptomima
F33.4	Rekurentni depresivni poremećaja, sada u remisiji
F33.8	Drugi rekurentni depresivni poremećaji
F33.9	Rekurentni depresivni poremećaj, nespecificovan

Tabela 4. Klasifikacija bipolarnog poremećaja prema MKB-10.

F31	BIPOLARNI AFEKTIVNI POREMEĆAJ
F31.0	Bipolarni afektivni poremećaj, sadašnja epizoda hipomanična
F31.1	Bipolarni afektivni poremećaj, sadašnja epizoda manična bez psihotičnih simptoma
F31.2	Bipolarni afektivni poremećaj, sadašnja epizoda manična sa psihotičnim simptomima
F31.3	Bipolarni afektivni poremećaj, sadašnja epizoda blaga ili umerena depresivna
	F31.30 Bipolarni afektivni poremećaj, sadašnja epizoda blaga ili umerena depresivna bez somatskih simptoma
	F31.31 Bipolarni afektivni poremećaj, sadašnja epizoda blaga ili umerena depresivna sa somatskim simptomima
F31.4	Bipolarni afektivni poremećaj, sadašnja epizoda teška depresivna bez psihotičnih simptoma
F31.5	Bipolarni afektivni poremećaj, sadašnja epizoda teška depresivna sa psihotičnim simptomima
F31.6	Bipolarni afektivni poremećaj, sadašnja epizoda mešovita
F31.7	Bipolarni afektivni poremećaj, sada u remisiji
F31.8	Drugi bipolarni afektivni poremećaji
F31.9	Bipolarni afektivni poremećaj, nespecificovan

DSM je razvijena od strane Američkog psihijatrijskog udruženja (APA), a četvrta revizija (DSM-IV) je u upotrebi od 1994. godine. Zbog svoje jednostavnosti, danas je ovaj klasifikacioni sistem prihvaćen širom sveta, naročito u istraživačke svrhe. Klasifikacija poremećaji raspoloženja prema DSM-IV prikazana je na tabeli 5 (American Psychiatric Association, 2000).

Tabela 5. Klasifikacija poremećaja raspoloženja prema DSM-IV.

Veliki depresivni poremećaj	Najmanje jedna depresivna epizoda
Distimija	Dugotrajni depresivni simptomi
Biporani poremećaj tip I	Najmanje jedna manična epizoda +/- depresivna epizoda
Bipolarni poremećaj tip II	Najmanje jedna hipomanična epizoda + depresivna epizoda
Ciklotimija	Dugotrajni depresivni simptomi + hipomanija

1.1.4. Epidemiologija poremećaja raspoloženja

Poremećaji raspoloženja spadaju u najčešća psihijatrijska oboljenja širom sveta. Podaci o stopama oboljevanja donekle se razlikuju u zavisnosti od vrste studije i dela sveta. Životna prevalenca poremećaja raspoloženja iznosi do 20% (Rihmer i Angst, 2009), pri tome oko 17% čini prevalenca unipolarne depresije, dok 1–3% prevalenca bipolarnog poremećaja.

Depresivni poremećaj se javlja 1,6–3,1 puta češće kod žena, nego kod muškaraca, s tim što je razlika veća u zemaljama Zapadne Evrope i Sjedinjenim državama. Razlika se neznatno smanjuje u starijoj populaciji, odnosno nakon menopauze. Ova razlika među polovima se delimično objašnjava hormonskim razlikama, psihosocijalnim faktorima i materinstvom (Lam, 2012). Bipolarni poremećaj se, međutim, javlja gotovo podjednako kod oba pola. Ovo se naročito odnosi na bipolarni poremećaj tip I, prema DSM-u, dok se bipolarni poremećaj tip II i specifični oblik bipolarnog poremećaja sa brzim smenjivanjem epizoda češće javljaju kod žena (Yatham i Malhi, 2011).

Godine starosti u kojima se prvi put javlja depresivni poremećaj su između 24. i 35. U poslednje vreme, postoji trend sve mlađeg uzrasta na početku bolesti. Tako, 40% obolelih od depresije ispolji svoju prvu epizodu pre dvadesete godine, 50% između 20. i

50. godine, a ostalih 10% prvu epizodu doživi posle pedesete godine života. Depresivni simptomi, takođe, donekle variraju sa godinama starosti (Lam, 2012). Početak bipolarnog poremećaja je tipično u mlađem životnom dobu u odnosu na unipolarnu depresiju, tako da većina ispoljava simptome između 12. i 20. godine. Kod većine pacijenata sa bipolarnim poremećajem prva epizoda je depresivna (Yatham i Malhi, 2011).

1.1.5. Etiopatogeneza poremećaja raspoloženja

Tačni uzroci i patogeneza poremećaja raspoloženja, kao i za većinu psihijatrijskih oboljenja, nisu u potpunosti poznati. Ipak, učešće bioloških faktora u patogenezi ove grupe bolesti je nedvosmisleno potvrđeno nalazima brojnih genetičkih studija, rezultatima neurobiohemijskih i neuroendokrinoloških ispitivanja, kao i efektima psihofarmakoterapije (Cleare i Rane, 2013; Macritchie i Blackwood; 2013; Paunović i Babinski, 1995). Savremeno tumačenje etiopatogeneze poremećaja raspoloženja podrazumeva multifaktorski koncept, koji pretpostavlja sadejstvo genetskih, neurobioloških i psihosocijalnih faktora.

1.1.6.1. Neurobiohemijski faktori

Brojni neurotransmiterski sistemi uključeni su u patofiziologiju poremećaja raspoloženja. Prve hipoteze o biološkim uzrocima nastanka depresije tokom sredine prošlog veka zasnivale su se na poremećaju neurotransmisije, što i dalje predstavlja osnov farmakološkog pristupa ovoj bolesti. Dalja istraživanja u ovoj oblasti dala su brojne dokaze o važnoj ulozi serotonina, noradrenalina, dopamina, acetilholina i drugih neurotransmitera u razvoju depresivnog i bipolarnog poremećaja (Mann i sar., 2012).

Noradrenergički sistem. Najraniji dokazi o povezanosti noradrenergičkog sistema u patogenezi depresije datiraju iz pedesetih godina prošlog veka, kada je primećeno da pacijenti koji su koristili alkaloid rezerpin u terapiji hipertenzije razvijaju depresivne simptome (Muller i sar., 1955). Ustanovljeno je da rezerpin prazni depoe monoamina u centralnom i perifernom nervnom sistemu, što je dovelo do tzv. "monoaminske teorije" depresije prema kojoj depresija nastaje u uslovima smanjenja monoamina na određenim funkcionalno važnim mestima u mozgu. Ova najranija teorija depresije je osamdesetih godina dobila potporu razvojem tricikličnih antidepresiva, poput imipramina, koji svoje dejstvo ostvaruju povećavajući raspoloživost

noradrenalina, na taj način što sprečavaju njegovo ponovno preuzimanje iz sinaptičke pukotine u presinaptičke završetke (Nestler i sar., 2002). Međutim, ova teorija nije objašnjavala zašto postoji odloženo terapijsko dejstvo antidepressivnih lekova za dve do tri nedelje budući da navedeni lekovi deluju trenutno na povećanje monoamina u sinapsi. Danas se zna da antidepressivi dovode do molekularnih promena nizvodno od njihovog direktnog dejstva na monoaminske sisteme što se smatra zaslužnim za njihov terapijski učinak (Krishnan i Nestler, 2008; Pittenger i Duman, 2008).

Ispitivanje noradrenergičke neurotransmije obuhvata merenje glavnog metabolita noradrenalina 3-metoksi-4-hidroksifenilglikola (MHPG) u plazmi, urinu i likvoru. Rana ispitivanja urinarnog MHPG pokazala su snižene nivoe tokom depresivne epizode u poređenju sa zdravom kontrolom, kao i povišene vrednosti MHPG u maničnoj epizodi kod bipolarnih pacijenata. Ipak, dalja istraživanja pokazala su značajnu varijabilnost u nivoima urinarnog MHPG kod obolelih od depresije. Ovakvi nekonzistentni rezultati mogu se delom objasniti malim doprinosom centralnih kateholamina nivoima urinarnog MHPG (Mann i sar., 2012). Ipak, rezultati merenja nivoa MHPG u cerebrospinalnoj tečnosti koji sa većom preciznošću odražavaju nivoe noradrenalina u mozgu, takođe pokazuju značajnu heterogenost. Istraživanja češće pokazuju snižene vrednosti MHPG u likvoru kod obolelih od depresije, naročito unipolarne, ali jedan broj studija ne pronalazi razliku u nivoima MHPG kod obolelih i zdravih (Mann i sar., 2012).

Jedan od važnih dokaza o značaju noradrenergičkog sistema u depresiji jeste promenjena osetljivost noradrenergičkih receptora kod obolelih od depresije. Kod depresivnih pacijenata je ustanovljeno postojanje povišene senzitivnosti presinaptičkih α_2 -adrenergičkih receptora, a smanjenje senzitivnosti i nishodna regulacija postsinaptičkih α_2 i β_1 -adrenergičkih receptora (Dubovsky i Ruzan, 1999). Smanjenje senzitivnosti postsinaptičkih α_2 -adrenergičkih receptora ogleda se u smanjenom odgovoru hormona rasta na stimulaciju klonidinom, koji predstavlja α_2 -adrenergičkog agonistu (Siever i sar., 1992).

Serotonergički sistem. Serotonin (5-hidroksitriptamin – 5-HT) je pored noradrenalina, jedan od najznačajnijih neurotransmitera koji se povezuje sa etiopatogenezom depresije. Serotonin igra ulogu u mnogim fiziološkim funkcijama koje

učestvuju u regulaciji raspoloženja. Serotoninski receptori, pre svega 5-HT_{1A} široko su rasprostranjeni u prefrontalnom korteksu, ali i u amigdalama, hipokampusu i hipotalamičkim jedrima (Strakowski i Nelson, 2015). Najznačajniji dokaz o učešću serotonergičkog sistema u depresiji je činjenica da lekovi, selektivni inhibitori preuzimanja serotonina (SSRI), koji su efikasni antidepresivi, deluju preko transportera za serotonin i na taj način blokiraju ponovno preuzimanja serotonina iz sinaptičke pukotine. Postoje i antidepresivi, poput buspirona, koji deluju kao direktni 5-HT_{1A} agonisti.

Dodatni nalazi koji govore u prilog umešanosti 5-HT u etiopatogenezi poremećaja raspoloženja su sledeći: smanjenje metabolita 5-HT (pre svega 5-hidroksi-indolsirćetne kiseline – 5-HIAA) u cerebrospinalnoj tečnosti kod obolelih od depresije, a naročito onih sa suicidalnim ponašanjem; javljanje depresivnih simptoma usled deplecije triptofana (koji predstavlja prekursor sinteze serotonina) kod osoba sa depresijom koje su prethodno ušle u remisiju; abnormalnosti u funkciji transportera za serotonin; i smanjena ekspresija 5-HT_{1A} receptora kod obolelih (Strakowski i Nelson, 2015; Mann i sar., 2012; Paunović i Babinski, 1995). Takođe, kod obolelih od bipolarnog poremećaja primećeno je sniženo preuzimanje serotonina u trombocite u toku depresivne faze, dok se u maničnoj fazi ono povećava ili ostaje na nivou kontrolnih vrednosti.

Dopaminergički sistem. Iako se dva druga monoamina, noradrenalin i serotonin, mnogo češće povezuju sa depresijom, postoje dokazi i o povezanosti dopamina i ovog oboljenja. Pacijenti sa poremećajem raspoloženja imaju niže nivoe metabolita dopamina, homovanilinske kiseline (HVA) u cerebrospinalnoj tečnosti u poređenju sa zdravom populacijom, pri tom su najniži nivoi zabeleženi kod najtežih depresija i onih koje su praćene značajnom psihomotorom retardacijom (Kapur i Mann, 1992; Goodwin i sar., 1973). Drugi pristup ispitivanju dopaminergičke transmisije pokazao je da postoje niži serumski nivoi aktivnosti dopamin β-hidroksilaze i više koncentracije dopamina i HVA kod pacijenata obolelih od depresija sa psihotičnim simptomima u poređenju sa depresivnim pacijentima koji nisu psihotični (Devanand i sar., 1985).

Dodatna potvrda o značaju dopamina u nastanku poremećaja raspoloženja je farmakološka i proizlazi iz podataka da lekovi poput metilfenidata i dekstroamfetamina,

koji povećavaju oslobađanje dopamina, dovode do poboljšanja raspoloženja i mogu imati određena antidepresivna svojstva (Mann i sar., 2012).

Drugi neurotransmiterski sistemi. Ulogu acetilholina u etiopatogenezi poremećaja raspoloženja potvrđuju različite kliničke i eksperimentalne studije. Holinergički neuroni su raspoređeni difuzno po cerebralnom korteksu i u vrlo su intenzivnom kontaktu sa ostalim neurotransmiterskim sistemima. Holinergički agonisti mogu pogoršati depresivne simptome kod obolelih, a ublažiti simptome manije. Pojedini antidepresivi imaju određena antiholinergička svojstva. Dodatno, holinergička neurotransmisija dovodi do smanjenja REM latentnog perioda, što se inače karakteristično javlja u toku depresivnog poremećaja (Mann i sar., 2012).

Glutamat je najvažniji ekscitatorni neurotransmiter, pri čemu se na oko 85% svih sinapsi u mozgu odvija glutamatergička neurotransmisija (Sanacora i sar., 2012). Antidepresivni efekat ketamina zasniva se upravo na blokadi glutamatskih N-metil-D-aspartat (NMDA) receptora. NMDA receptori su inače prisutni u vrlo velikom nivou u hipokampusu. Dalje, kod obolelih od depresije postoji smanjenje preuzimanja glukoze u dorzolateralnom prefrontalnom korteksu, što je potvrđeno PET imidžing studijama, što može da ukazuje na smanjen obrt glutamata i glutamina kao rezultat smanjene glutamatergičke aktivnosti u korteksu (Kegeles i sar., 2003).

γ -aminobuterna kiselina (GABA) ispoljava inhibitorni efekat na uzlazne monoaminske puteve, naročito mezokortikalni i mezolimbčki sistem. Smanjena GABAergička aktivnost može igrati određenu ulogu u depresiji. Kod depresivnih pacijenata, studije magnetne rezonantne spektroskopije pokazale su niže nivoe GABA u okcipitalnom korteksu, dok su takođe objavljeni rezultati nižih koncentracija GABA u plazmi i u cerebrospinalnoj tečnosti (Petty i Schlessler, 1981). Lamotrigin deluje tako što povećava GABAergičku aktivnost i na taj način ispoljava antidepresivni efekat kao i preventivni efekat na pojavu rekurentnih depresivnih epizoda kod bipolarnih pacijenata (Bowden, 2001). Dodatno, mnogi antidepresivi vrše ushodnu regulacije GABAergičkih receptora u mozgu.

1.2. SLOBODNI RADIKALI I ANTIOKSIDATIVNA ZAŠTITA

Prisustvo slobodnih radikala u biološkim sistemima otkriveno je pre pedeset godina (Commoner i sar., 1954). Nekoliko godina nakon prvih dokaza o njihovom prisustvu u biološkom materijalu, 1956. godine Denam Harman razmatra značaj slobodnih radikala kao sporednih proizvoda različitih enzimskih reakcija *in vivo* i predlaže slobodno-radikalnu teoriju starenja (Harman, 1956). Njegov naučni rad pokreće veliko interesovanje za ovu oblast, te u godinama koje slede dolazi do ekspanzije radova u ovom polju. Nakon otkrića superoksid dizmutaze (McCord i Fridovich, 1969) postaje nedvosmisleno jasno da slobodni radikali igraju važnu ulogu u živim sistemima i da zbog svoje visoke reaktivnosti predstavljaju opasnost za brojne molekule. Novu eru u istraživanjima slobodnih radikala označavaju dokazi koje su 1977. objavili Mital i Murad o tome da hidrosil radikal, $\bullet\text{OH}$, stimuliše aktivaciju guanilat ciklaze i formiranje sekundarnog glasnika cikličnog guanozin monofosfata (cGMP) (Mittal i Murad, 1977). Danas je opšte prihvaćeno da se živi sistemi nisu samo prilagodili na zajednički život sa potencijalno štetnim slobodnim radikalima, već su razvili različite mehanizme kako bi ih upotreбили u korisne svrhe (Dröge, 2002).

Slobodni radikali se produkuju tokom normalnog ćelijskog metabolizma. U zavisnosti od okolnosti i količine u kojima su stvoreni mogu ispoljiti i korisne i štetne efekte, predstavljajući na taj način dvostruke igrače u ćelijama (Valko i sar., 2007). U malim i umerenim koncentracijama i kontrolisanom stvaranju ispoljavaju niz fizioloških uloga, kao što su odbrana od infekcija, regulacija vaskularnog tonusa, signalna transmisija, indukcija mitogenog odgovora, imunoregulacija i druge uloge (Dröge, 2002). Štetni efekti slobodnih radikala podrazumevaju biološka oštećenja u uslovima oksidativnog stresa. Oksidativni stres predstavlja poremećaj ravnoteže između stvaranja slobodnih radikala i mehanizama antioksidativne zaštite. Ovo stanje nastaje u biološkim sistemima kada postoji prekomerna produkcija slobodnih radikala sa jedne strane ili nedostatak adekvatne enzimske ili ne-enzimske antioksidativne zaštite sa druge strane. Slobodni radikali u višku oštećuju molekule lipida, proteina ili DNK, čime narušavaju njihovu funkciju. Iz tog razloga, oksidativni stres se dovodi u vezu sa etiopatogenezom velikog broja bolesti (Valko i sar., 2007; Đorđević i sar., 2008). Delikatna ravnoteža između korisnih i štetnih efekata slobodnih radikala je važan aspekt aerobnih organizama, a ostvaruje se mehanizmom koji se označava kao redoks regulacija. Ovim

procesom organizam se štiti od nekontrolisanog i povećanog stvaranja slobodnih radikala, odnosno kontroliše redoks status *in vivo* doprinoseći održavanju redoks homeostaze (Dröge, 2002; Valko i sar., 2007).

1.2.1. Slobodni radikali

Slobodni radikali su atomi, joni ili molekuli koji u spoljašnjoj orbitali sadrže jedan ili više nesparenih elektrona (Halliwell i Gutteridge, 2007). Prisustvo ovih elektrona čini ih veoma reaktivnim hemijskim vrstama. Iako su sposobni za nezavisno postojanje, slobodni radikali imaju veoma kratak život i reakcije u kojima učestvuju odigravaju se gotovo isključivo u neposrednoj blizini njihovog nastanka. Najvažniji i najzastupljeniji u biološkim sistemima su kiseonični slobodni radikali. Međutim, nakon otkrića azot monoksida (Ignarro i sar., 1987) značaj su dobili i azotni slobodni radikali. I kiseonik i azot mogu da grade veoma reaktivne molekule koji nemaju nesparene elektrone, te ne zadovoljavaju definiciju slobodnih radikala. Iz tog razloga u literaturi se danas pojam kiseoničnih i azotnih slobodnih radikala zamenjuje širim terminima reaktivne vrste kiseonika (ROS, engl. *reactive oxygen species*) i azota (RNS, engl. *reactive nitrogen species*), koji obuhvataju i slobodne radikale i njihove derivate neradikalske prirode.

1.2.1.1. Reaktivne vrste kiseonika

Reaktivne vrste kiseonika (ROS) su atomi, joni i molekuli koji su derivati kiseonika i pripadaju grupi najreaktivnijih hemijskih vrsta u organizmu. Sam molekul kiseonika (O_2) zbog svoje jedinstvene elektronske konfiguracije sa dva nesparena elektrona u spoljašnjoj orbitali predstavlja slobodni radikal.

Superoksidni anjon radikal ($\bullet O_2^-$), nastaje jedoelektronskom redukcijom O_2 i označava se kao primarni ROS, koji u reakciji sa drugim molekulima daje sekundarne ROS. U ćelijama se najveća količina $\bullet O_2^-$ produkuje u mitohondrijama (Cadenas i Davies, 2000). Tokom prenosa elektrona kroz respiratorni lanac na unutrašnjoj membrani mitohondrija u toku sinteze ATP-a, 1–3% elektrona "beže" sa respiratornog lanca, najčešće sa kompleksa I i III, direktno na O_2 , stvarajući $\bullet O_2^-$, umesto da doprinesu potpunoj redukciji O_2 do H_2O (Bolisetty i Jaimes, 2013). Pri tome se $\bullet O_2^-$ nastao na kompleksu I isključivo prenosi u mitohondrijalnom matriksu, dok se sa kompleksa III deo $\bullet O_2^-$ oslobađa van mitohondrija (Muller i sar., 2004). Zanimljivo je da se kapacitet

produkcije $\bullet\text{O}_2^-$ ova dva kompleksa razlikuje u različitim tkivima, kao i u određenim patološkim stanjima. Kompleks I je odgovoran za najveći deo produkcije superoksidnih anjona u mozgu (Turrens, 2003). Određena količina $\bullet\text{O}_2^-$ u ćelijama nastaje enzimskom aktivnošću različitih oksidaza, uključujući NAD(P)H oksidazu i ksantin oksidazu. NAD(P)H oksidaza (Nox) je najbolje opisana u neutrofilima i drugim profesionalnim fagocitima gde je odgovorna za produkciju $\bullet\text{O}_2^-$ koji dovodi do respiratornog praska neophodnog za destrukciju fagocitovanih mikroorganizma (Decoursey i Ligeti, 2005). Nox je složeni enzimski kompleks koji se sastoji od dve membranske subjedinice, gp91^{phox} i p22^{phox}, koje se spajaju sa aktiviranim citosolnim subjedinicama, koje uključuju p47^{phox}, p67^{phox}, p40^{phox} i proteine, Rac i Rap1A, čime se formira aktivan enzimski kompleks. Do sada je opisano sedam Nox izoformi, uključujući Nox1 do Nox5 i Duox1 i Duox2, od kojih se svaka karakteriše jedinstvenom celularnom lokalizacijom, regulacijom aktivnosti i funkcijom (Lambeth, 2004). Nefagocitne Nox proizvode $\bullet\text{O}_2^-$ u količini koja odgovara 1–10% nivoa koji se stvara u fagocitima i pretpostavlja se da je njena osnovna funkcija prenos signala.

Sam $\bullet\text{O}_2^-$ se brzo konvertuje u vodonik peroksid (H_2O_2) u reakciji koju katališe enzim superoksid dizmutaza (Fridovich, 1978). U ćelijama je, naročito u kiselj sredini, moguća i spontana dismutacija $\bullet\text{O}_2^-$ u H_2O_2 . Najveća količina H_2O_2 u fiziološkim uslovima se proizvodi u peroksidomima (Valko i sar., 2007). Ove organele takođe sadrže enzim katalazu koja razlaže H_2O_2 do H_2O , čime se sprečava njegovo nakupljanje. U slučaju oštećenja peroksidoma ili nakupljanju H_2O_2 usled nishodne regulacije enzima koji ga troše, H_2O_2 se oslobađa u citosol gde značajno doprinosi razvoju oksidativnog stresa.

Najreaktivniji kiseonični radikal koji može nastati u ćelijama jeste hidroksil radikal – $\bullet\text{OH}$. Karakteriše se veoma kratkim poluživotom in vivo od 10^{-9} s, što znači da reaguje praktično sa prvim biomolekulom u svom okruženju, zbog čega je vrlo toksičan (Valko i sar., 2007). $\bullet\text{OH}$ nastaje od H_2O_2 u prisustvu redukovanih formi prelaznih metala (npr. gvožđa i bakra) u tzv. Fentonovoj reakciji ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \bullet\text{OH} + \text{OH}^-$) (Chance i sar., 1979). Superoksidni anjon doprinosi stvaranju $\bullet\text{OH}$ na taj način što redukuje Fe^{3+} ($\bullet\text{O}_2^- + \text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2$) ili direktno učestvujući u Haber-Vajsovoj reakciji ($\bullet\text{O}_2^- + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + \bullet\text{OH} + \text{OH}^-$). Iz navedenog se izvodi zaključak da je redoks status ćelije i eventualno stvaranje $\bullet\text{OH}$ u direktnoj vezi sa redoks parom gvožđa

(i bakra) u ćeliji. U normalnim uslovima redoks par $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ je strogo kontrolisan i smatra se da ne postoji intracelularno slobodno gvožđe. Međutim, u uslovima oksidativnog stresa, stvoreni $\bullet\text{O}_2^-$ oslobađa Fe iz molekula koji ga sadrže, kao što su enzimi koji poseduju (4Fe-4S) klastere (Liochev i Fridovich, 1994), koje onda može ući u Fentonovu reakciju.

Posebna grupa kiseoničnih slobodnih radikala koji mogu biti formirani u živim sistemima jesu peroksil radikali ($\text{ROO}\bullet$) (Valko i sar., 2007). Najjednostavniji peroksil radikal je $\text{HOO}\bullet$, koji predstavlja protonizovani oblik $\bullet\text{O}_2^-$ (konjugovana kiselina; $\text{pK}_a \approx 4,8$) i obično se naziva hidroperoksil radikal ili perhidroksil radikal. S obzirom na vrednost pK_a , samo oko 0,3% superoksidnog anjona se nalazi u protonizovanoj formi u citosolu ćelija (De Grey, 2002). Pokazano je da je $\text{HOO}\bullet$ značajan za otpočinjanje procesa lipidne peroksidacije (Aikens i Dix, 1991).

1.2.1.2. Reaktivne vrste azota

Najznačajniji azotni slobodni radikal je azot monoksid $\text{NO}\bullet$. $\text{NO}\bullet$ radikal nastaje oksidacijom jednog od azotovih atoma u terminalnoj gvanidino grupi arginina (Palmer i sar., 1988), u reakciji koju katališe enzim azot monoksid sintaza (NOS) (Ghafourifar i Cadenas, 2005), koji se eksprimira u tri izoforme, dve konstitutivne i jednoj inducibilnoj. $\text{NO}\bullet$ je široko zastupljen u organizmu i učestvuje u brojnim i raznovrsnim fiziološkim procesima, uključujući neurotransmisiju, sinaptičku plastičnost, regulaciju relaksacije glatkih mišića, imunoregulaciju i druge procese (Bergendi i sar., 1999). Ima poluživot od svega nekoliko sekundi, naročito u vodenoj sredini, dok mu stabilnost raste u okruženju sa malom količinom kiseonika. $\text{NO}\bullet$ je rastvorljiv i u vodenoj i u hidrofobnoj sredini, te lako difunduje kroz membrane i različite ćelijske odeljke (Chiueh, 1999).

U zavisnosti od okolnosti sredine, $\text{NO}\bullet$ se može prevesti u druge reaktivne vrste azota, uključujući nitrozonijum katjon (NO^+), nitroksilni anjon (NO^-) i peroksinitritni anjon (ONOO^-) (Stamler i sar., 1992). Štetno dejstvo $\text{NO}\bullet$ u najvećoj meri je povezano sa njegovom sposobnošću da reaguje sa superoksidnim anjonom ($\text{NO}\bullet + \bullet\text{O}_2^- \rightarrow \text{ONOO}^-$), pri čemu nastali ONOO^- ima izraženija oksidativna svojstva i može dovesti do fragmentacije DNK i oštećenja lipida (Carr i sar., 2000). Stanja koja su praćena povećanom produkcijom azotnih slobodnih radikala dovode do nitrozativnog stresa

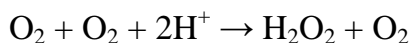
(Ridnour i sar., 2004). Kao jedna od posledica nitrozativnog stresa može se javiti nitrozilacija proteina i posledični gubitak njihove funkcije.

1.2.2. Antioksidativna zaštita

Sve ćelije poseduju zaštitne mehanizme koji ih štite od toksičnih dejstava slobodnih radikala. Složeni antioksidativni mehanizmi razvili su se kako bi sprečili, ograničili ili otklonili štetno dejstvo slobodnih radikala i oštećenja molekula nastala tokom oksidativnog stresa (Cadenas, 1997). Enzimsku antioksidativnu odbranu čine superoksid dizmutaza (SOD), katalaza (CAT) i glutacion peroksidaza (GPx). Neenzimski antioksidansi su velika grupa jedinjenja koja uključuju glutation (GSH), askorbinsku kiselinu (vitamin C), α -tokoferol (vitamin E), karotenoide, flavonoide, koenzim Q i mnoge druge. Pod normalnim okolnostima, postoji ravnoteža između aktivnosti i intracelularnih nivoa različitih antioksidanasa, koja je esencijalna za opstanak i život svake ćelije u organizmu.

1.2.2.1. Superoksid dizmutaza

Superoksid dizmutaza (SOD; superoksid:superoksid oksidoreduktaza, EC 1.15.1.1) katalizuje reakciju dizmutacije superoksidnog anjona u vodonik peroksid i molekularni kiseonik, pri čemu se jedan molekul $\cdot\text{O}_2^-$ oksiduje u O_2 , a drugi redukuje u H_2O_2 (Fridovich, 1995):



Kod čoveka su prisutne tri izoenzimske forme SOD: citosolna bakar,cink-zavisna SOD (CuZnSOD), mitohondrijalna mangan-zavisna SOD (MnSOD) i ekstracelularna SOD (EC-SOD) (Zelko i sar., 2002). Ovi multipli oblici enzima označavaju se i kao SOD1, SOD2 i SOD3, redom, i međusobno se razlikuju po primarnoj strukturi, kinetičkim karakteristikama, lokalizaciji i distribuciji.

CuZnSOD (SOD1) je enzim koji je prvi put opisan 1969. godine, kada su McCord i Fridovich (1969) pokazali da protein eritrokuprein ima sposobnost da neutrališe superoksidni anjon radikal. CuZnSOD je prevashodno citosolni enzim (Crapo i sar., 1992), mada je u malim količinama prisutan i u lizozomima, međumembranskom prostoru u mitohondrijama i peroksidomima (Keller i sar., 1991; Okado-Matsumoto i Fridovich, 2001). Široko je rasprostranjen u različitim tkivima, a posebno visoku

aktivnost pokazuje u mozgu, nadbubrežnim žlezdama, jetri, srcu i bubrezima (Kurobe i sar., 1990).

CuZnSOD pripada proteinima koji su pretrpeli mali broj promena tokom evolucije (Landis i Tower, 2005) što uzrokuje veoma sličnu strukturu među različitim vrstama. Humani enzim ima molekulsku masu od oko 32 kDa i predstavlja homodimer sastavljan iz dve subjedinice, od kojih je svaka sastavljena od 153 aminokiseline i sadrži po jedan jon bakra i cinka (Hartz i Deutsch, 1972). Aktivni centar enzima čine joni bakra koji su za apoenzim vezani preko azota imidazolove grupe histidina. Katalitička aktivnost enzima vezana je za Cu^{2+} , dok Zn^{2+} stabilizuje konformaciju enzima (Rotilio i sar., 1972). Bakar koji ulazi u aktivni centar enzima odgovoran je za reakciju dimutacije, pri čemu ovaj metal u toku katalizovane reakcije menja svoju valencu, odnosno dolazi do uzastopnih reakcija redukcije i oksidacije:

Gubitak katalitičke aktivnosti nastaje pri odvajanju bakra od apoenzima i ponovo se uspostavlja dodatkom bakra, ali ne i drugih katjona. Sa druge strane, jone Zn^{2+} mogu zameniti joni kobalta, žive ili kadmijuma u održavanju stabilnosti enzima (Forman i Fridovich, 1973).

Gen za SOD1 se kod ljudi nalazi na hromozomu 21 (Levanon i sar., 1985). Kod osoba sa Daunovim sindromom, trizomijom hromozoma 21, postoji značajan porast aktivnosti SOD1, mada uloga ovog enzima u patološkim promenama koje prate ovo stanje nije dovoljno poznata (De La Torre i sar., 1996). Sa druge strane, opisano je preko 90 različitih mutacija gena za SOD1 koje se javljaju kod obolelih od familijarne amiotrofične lateralne skleroze (Liochev i Fridovich, 2003).

Druga izoenzimska forma SOD je mangan-zavisna SOD (MnSOD ili SOD2) i nalazi se gotovo isključivo u matriksu mitohondrija (Weisiger i Fridovich, 1973). Relativni odnos između količine CuZnSOD i MnSOD zavisi od tkiva i zastupljenosti mitohondrija. SOD2 predstavlja homotetramer koji je sastavljen od subjedinica molekulske mase od oko 23 kDa koje sadrže 196 aminokiselina i nemaju sličnost u sekvenci sa subjedinicama SOD1 (Barro i sar., 1984). Gen za sintezu MnSOD smešten je na hromozomu 6 (Creagan i sar., 1973). Za katalitičku aktivnost enzima neophodno je prisustvo jona mangana koji u toku reakcije dizmutacije menja svoju valencu, slično kao bakar u CuZnSOD.

SOD2 ima važnu ulogu u uklanjanju $\bullet\text{O}_2^-$ koji nastaje u mitohondrijama, koje predstavljaju značajan izvor slododnih radikala. Takođe, pokazano je da SOD2 ima ulogu u ćelijskoj diferencijaciji (St Clair i sar., 1994) i protektivnu ulogu u pulmonarnom oštećenju uzrokovanim kiseonikom (Wispe i sar., 1992).

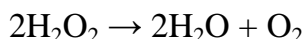
Ekstracelularna SOD (EC-SOD ili SOD3) je poslednji otkriveni član ove enzimske familije. Ovaj enzim je prisutan u ekstracelularnoj tečnosti, uključujući plazmu, limfu, cerebrospinalnu tečnost i ascites (Marklund i sar., 1982). Za razliku od SOD1 i SOD2 koji se eksprimiraju u gotovo svim tkivima, ekspresija SOD3 je ograničena na manji broj tipova ćelija. Visok nivo ekspresije prisutan je u alveolarnim ćelijama tip II, proksimalnim tubulocitima, glatkim mišićnim ćelijama krvnih sudova, plućnim makrofagima i fibroblastima (Zelko i sar., 2002).

Gen humane EC-SOD nalazi se na hromozomu 4 (Hendrickson i sar., 1990). SOD3 je relativno veliki protein sa molekulskom masom od oko 135 kDa i predstavlja homotetramerni glikoprotein, pri čemu svaka subjedinica sadrži po jedan jon bakra i cinka, kao i SOD1 (Marklund, 1982). Enzim pokazuje veliki afinitet za kisele glikozaminoglikane, pre svega heparin (Karlsson i Marklund, 1987), za koji se vezuje ekstracelularno. U odnosu na afinitet za heparin, razlikuju se tri frakcije (izoforme) EC-SOD.

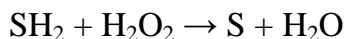
Ekstracelularna SOD ima važnu ulogu u smanjenju interakcije između $\bullet\text{O}_2^-$ i $\text{NO}\bullet$ i posledičnom nastanku ONOO^- , naročito u situacijama poput hipertenzije u kojima je vaskularna produkcija $\bullet\text{O}_2^-$ povećana. Time se, osim što se sprečava oksidativno oštećenje koje uzrokuje peroksinitrat, omogućava veća biološka raspoloživost $\text{NO}\bullet$, odnosno prolongira delovanje $\text{NO}\bullet$ kao posrednika u relaksaciji glatkih mišića krvnih sudova (Jung i sar., 2003). Postoje dokazi da EC-SOD ima zaštitnu ulogu u značajnom broju kardiovaskularnih i pulmonalnih oboljenja, smanjenju ishemijsko-reperfuzionog oštećenja mozga i produkciji eritropoetina u hipoksičnom oštećenju bubrega (Nozik-Grayck i sar., 2005).

1.2.2.2.Katalaza

Katalaza (CAT; vodonik-peroksid:vodonik-peroksid oksidoreduktaza, EC 1.11.1.6) je enzim koji katalizuje reakciju razgradnje vodonik-peroksida do vode i molekuskog kiseonika (Chance i sar., 1979):



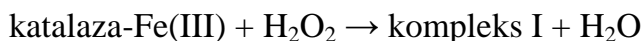
Ona pripada jednom od dva tipa enzima kojima se H_2O_2 može ukloniti in vivo. Drugi tip enzima predstavljaju peroksidaze koje katališu reakciju uklanjanja H_2O_2 pri kojoj dolazi do oksidacije drugog supstrata (S):



Katalaza je prisutna u gotovo svim humanim ćelijama, a naročito visokom aktivnošću se odlikuju hepatociti i eritrociti. Manja aktivnost katalaze prisutna je u mozgu, srčanom i skeletnim mišićima (Marklund i sar., 1982). U ćelijama je ovaj enzim pretežno lokalizovan u peroksizomima (Chance i sar, 1979), gde čini preko 40% svih proteina peroksizoma i može biti prisutna u dva oblika: kao rastvorljiva i kao forma vezana za membranu peroksizoma (Masters i Holmes, 1977). Mala aktivnost CAT prisutna je i u mitohondrijama, makar u mišićnim ćelijama i hepatocitima (Chance i sar, 1979; Antunes i sar, 2002).

Po strukturi, katalaza pripada hem-proteinima. Predstavlja homotetramer, sastavljen iz četiri subjedinice, ukupne molekulske mase od oko 240 kDa (Putnam i sar, 2000). Svaka subjedinica ima Fe(III)-hem u aktivnom mestu, koji je vezan za polipeptidni lanac preko Tyr357, His74 i Asp147 (Reid i sar., 1981). Dodatno, svaka subjedinica sadrži i jedan molekul NADPH. Disocijacija enzima na subjedinice, koja se često dešava u toku čuvanja enzima na niskim temperaturama ili izlaganju kiselinama i bazama, uzrokuje gubitak enzimske aktivnosti (Sichak i Dounce, 1987).

CAT, slično kao SOD, katalizuje reakciju dizmutacije, pri kojoj se jedan molekul H_2O_2 redukuje do H_2O a drugi oksiduje do O_2 . U reakciji dolazi do formiranja prolaznog kompleksa između katalaze i molekula vodonik-peroksida (kompleks I) (Chance i sar., 1979):

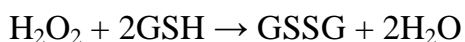


Aktivnost katalaze je inhibirana azidom, cijanidom i hipohloritom koji deluju nespecifično, kao i specifičnim inhibitorom aminotriazolom (3-amino-1,2,4-triazol) koji obrazuje kovalentnu vezu sa enzimom u okviru kompleksa I (Darr i Fridovich, 1986).

Gen za humanu CAT nalazi se na hromozomu 11.(Quan i sar., 1986). Mutacije ovog gena dovode do stanja koje se označava kao akatalazemija. U originalnom opisu ovog stanja u Japanu, tzv. Takahara bolest, postojao je značajan deficit aktivnosti CAT koji je pratila blaga klinička slika kojom dominira oboljenje gingiva (Ogata, 1991; Hirono i sar., 1995). Transgeni miševi kojima nedostaje gen za katalazu ispoljavaju normalan rast i razvoj, ali su osetljiviji na toksičnost H₂O₂ i ishemijsko-reperfuziono oštećenje, a moguć je i raniji nastanak kancera (Ho i sar, 2004).

1.2.2.3. Glutation peroksidaza

Glutation peroksidaza (GPx; glutathione peroxidase, EC 1.11.1.9.) katalizuje reakciju redukcije vodonik-peroksida uz oksidaciju redukovane glutathiona (GSH), tripeptida koji sadrži tiol-grupu (slika) (Arthur, 2000):



GPx je prvi put otkrivena 1957. godine u eritrocitima kao enzim koji učestvuje u zaštiti hemoglobina od oksidativnog oštećenja (Mills, 1957). Enzim je široko zastupljen u različitim tkivima, pri čemu je najveća aktivnost prisutna u jetri i eritrocitima, umerena aktivnost u srčanom mišiću, mozgu i plućima i niska aktivnost u skeletnim mišićima (Mills, 1960). GPx je specifična za GSH kao donora redukcionih ekvivalenta, koji je prisutan u većini ćelija u milimolarnim koncentracijama. Međutim, osim na H₂O₂ enzim takođe deluje na organske perokside, pri čemu nastaju alkoholi:

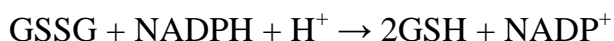


Familiju glutathione peroksidaza čine najmanje četiri različita enzima: klasična GPx (cGPx), gastrointestinalna GPx (GI-GPx), GPx plazme (PGPx) i fosfolipid-hidroperoksid-zavisna GPx (PHGPx) (Brigelius-Flohé, 1999). Klasična ili citosolna GPx (cGPx ili GPx1) je prvi opisan član familije i predstavlja najzastupljeniji izoenzim. Gastrointestinalna GPx (GI-GPx ili GPx2) je najbližnja GPx1, ali se nalazi gotovo isključivo u epitelnim ćelijama gastrointestinalnog trakta (Chu i sar., 1993). Pretpostavlja se da ima funkciju u metabolizmu hidroperoksida poreklom iz lipida hrane ili različitih ksenobiotika. GPx plazme (PGPx ili GPx3) je glikoprotein koji se nalazi u ekstracelularnoj tečnosti, uključujući plazmu, mleko, semenu tečnost, amnijsku tečnost, očnu vodu i dr, a najveća ekspresija je prisutna u bubrezima, cilijarnom telu i placenti. Ne zna se sigurno da li GPx3 ima funkciju u plazmi zbog veoma niskih

koncentracija GSH u plazmi: nivoi GSH su mikromolarni, dok je K_m za enzim u milimolarnom opsegu (Takahashi i sar., 1987). Četvrti član je fosfolipid-hidroperoksid-zavisna GPx (PHGPx ili GPx4) koji je otkriven 1982. godine (Ursini i sar, 1982) i poseduje jedinstvenu osobinu da redukuje ne samo H_2O_2 i slobodne organske hidroperokside, već i hidroperokside masnih kiselina i holesterola koji su u esterifikovanom obliku, tj. fosfolipidne hidroperokside (Sattler i sar., 1994). Dodatno, GPx4 je manje specifična za GSH nego drugi izoenzimi peroksidaze. U tkivima je aktivnost GPx4 manja nego GPx1, osim u testisima, koji se karakterišu visokom aktivnošću ovog enzima koji je neophodan za maturaciju spermatozoida (Maiorino i sar., 2005).

Svi izoenzimi GPx pripadaju selenoproteinima (Brigelius-Flohé, 1999). GPx1, GPx2 i GPx3 su homotetrameri, koji sadrže četiri subjedinice od kojih svaka ima jedan atom selena, dok je GPx4 monomer i poseduje jedan Se. Selen se nalazi u aktivnom mestu enzima u obliku aminokiseline selenocisteina, modifikovanog cisteina kod koga je atom sumpora zamenjen selenom, i neophodan je za katalitičku aktivnost enzima (Flohe i sar, 1973). Se pripada oligoelementima koji se unose ishranom i naročito je važan za funkciju nervnog sistema. Međutim, Se u sastavu GPx čini samo mali deo ukupne količine Se u mozgu (Prohaska i Ganther, 1976).

Za održavanje visokog odnosa redukovanog prema oksidovanom glutationu, koji je neophodan za funkciju GPx, potrebno je prisutvo enzima glutation reduktaze (GR). Glutation reduktaza je enzim koji katališe reakciju redukcije GSSG u GSH:



GR je dimer sa molekulskom masom od oko 104,8 kDa i koji sadrži dve subjedinice od kojih svaka ima FAD u aktivnom mestu (Thieme i sar., 1981). NADPH redukuje FAD koja onda prenosi elektrone na disulfidnu vezu koja se raskida. Glavni izvor NADPH u tkivima je pentozofosfatni put. Ćelijska lokalizacija GR je slična kao i za glutation peroksidazu (Chance i sar, 1979).

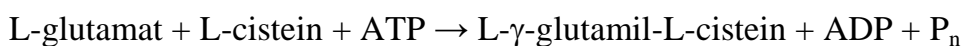
1.2.2.4. Glutation

Glutation je po strukturi tripeptid (L- γ -glutamil-L-cisteinil-glicin) i predstavlja niskomolarno tiolno jedinjenje, koje je široko zastupljeno u humanim tkivima (Forman i sar., 2009). U većini tkiva koncentracija glutaciona iznos 1–10 mM (Meister, 1988). U

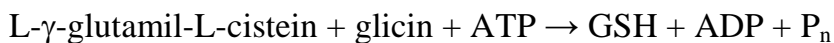
ćelijama se glutation najvećim delom nalazi kao tiol, u redukovanom obliku (GSH), a manje kao disulfid, u oksidovanom obliku (GSSG) (slika). Sulfhidrilna grupa (–SH) cisteina uključena je u reakcije redukcije i konjugacije koje su najvažnije za funkciju ovog molekula. Ove reakcije su osnova za ulogu GSH u uklanjanju slobodnih radikala i detoksikaciji ksenobiotika, ali GSH učestvuje i u brojnim drugim procesima, uključujući ćelijsku signalizaciju, regulaciju ćelijskog ciklusa, međućelijsku komunikaciju i dr. (Meister, 1992; Barhoumi i sar., 1993).

Antioksidativna uloga GSH je dvostruka. Ovaj molekul je kofaktor enzima glutation peroksidaze (Brigelius-Flohé, 1999) i tako učestvuje u uklanjanju H₂O₂. Međutim, *in vitro* je pokazano je da GSH ima sposobnost da samostalno reaguje sa slobodnim radikalima poput, •OH, HOCl, ONOO[•], ROO•, ali ne i •O₂[•]. S obzirom na milimolarne koncentracije GSH u ćelijama pretpostavlja se da se ove reakcije dešavaju i *in vivo* (Halliwell i Gutteridge, 2007). U reakciji sa slobodnim radikalima često nastaje tiol (GS) radikal, a zatim i •O₂[•], koji se može ukloniti pomoću SOD, dok se GSSG prevodi u GSH posredstvom reakcije koju katalizuje glutation reduktaza uz učešće NADPH, kako je već ranije navedeno. Reakcija GSH sa ONOO[•] dovodi do produkcije nitrozotiola (GSNO) koji se može spontano razgraditi do NO•. Na taj način, GSH u određenoj meri učestvuje u obnavljanju nivoa NO• iz peroksnitrita (Villa i sar., 1994). Dodatno, GSH vezuje jone bakra i tako smanjuje njihovu sposobnost da stvaraju •OH iz H₂O₂ (Hanna i Mason, 1992).

Homeostatski mehanizmi u ćeliji održavaju količinu glutationa i odnos između redukovanog i oksidovanog oblika relativno stalnim. GSH se sintetiše u citosolu gotovo svih ćelija, pri čemu su hepatociti najaktivniji. Mitohondrije poseduju oko 10–20% ukupnog ćelijskog glutationa, ali kako nemaju sposobnost da ga samostalno sintetišu, unose GSH iz citosola pomoću specifičnih transportera na unutrašnjoj mitohondrijalnoj membrani (Fernandez-Checa i Kaplowitz, 2005). Sinteza GSH se odvija u dva koraka. Prvi korak u *de novo* sintezi GSH je regulatorni i uključuje stvaranje γ -glutamilcisteina iz aminokiselina cisteina i glutamata pri čemu se vrši hidroliza ATP-a (Forman i sar., 2009). Enzim koji katalizuje ovu reakciju je glutamat-cistein ligaza (označava se i kao γ -glutamilcistein sintetaza) (EC 6.3.2.2):



U sledećoj reakciji enzim glutation sintetaza (EC 6.3.2.3) dodaje aminokiselinu glicin na prethodno formirani dipeptid uz hidrolizu ATP-a:



GSH se može transportovati iz ćelije. Ovo je posebno važno u jetri, koja sekretuje GSH u plazmu i predstavlja glavni izvor GSH u cirkulaciji (Anderson i sar., 1980). GSH u plazmi se održava na niskom nivou zahvaljujući njegovom metabolizmu u perifernim tkivima. Ćelije na periferiji ne mogu da prezimaju GSH iz cirkulacije, već dolazi do odvajanja glutamata dejstvom enzima γ -glutamiltranseptidaze (označava se i kao γ -glutamiltranferaza, γ -GGT), pristnim na ćelijskoj membrani, i prenosa na drugu aminokiselinu, pri čemu od GSH nastaje cisteinilglicin (Kozak i Tate, 1982). Ovaj dipeptid se razgrađuje pod dejstvom dipeptidaza na cistein i glicin, aminokiseline koje se, slično kao i nastala γ -glutamil-aminokiselina, pomoću transportera unose u ćeliju gde se mogu iskoristiti za *de novo* sintezu GSH (Meister, 1991).

Bubrezi imaju naročito visoku aktivnost γ -GGT (Lash i Jones, 1984).

1.2.2.5. Vitamin C

Askorbinska kiselina (vitamin C) je hidrosolubilni vitamin koji pokazuje značajna antioksidativna svojstva. Dok biljke i brojne životinjske vrste mogu da sintetišu askorbinsku kiselinu iz glukoze, kod ljudi nije prisutan poslednji enzim u sintezi – gulonolakton-oksidaža (Nishikimi i Yagi, 1996). Vitamin C je prisutan kao kofaktor u najmanje osam enzima, od kojih su najpoznatiji prolil i lizil hidroksilaze uključene u biosintezu kolagena, dopamin-b-hidroksilaza koja prevodi dopamin u noradrenalin, kao i dva enzima potrebna za sintezu karnitina (Halliwell i Gutteridge, 2007).

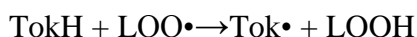
Vitamin C poseduje dve hidroksilne grupe koje su sposobne da opuštaju i primaju elektrone. Askorbinska kiselina može da se oksiduje u dehidroaskorbinsku kiselinu, koja ima sposobnost ponovo da se redukuje u enolski oblik askorbinske kiseline. Ova reverzibilna reakcija formira redoks sistem vitamina C (Padayatty i sar, 2003). Antioksidativna aktivnost vitamina C bazirana je na njegovim sposobnostima da neutrališe mnoge intermedijere i produkte slobodno-radikalnih procesa. Neki od antioksidativnih efekata su sledeći: uklanjanje $\bullet\text{O}_2^-$, $\bullet\text{OH}$, $\text{ROO}\bullet$, HOCl i drugih,

neutralizacija singletnog kiseonika, prevencija lipidne peroksidacije u tkivima i u lipoproteinima plazme, regeneracija vitamina E i drugi efekti (Halliwell i Gutteridge, 2007).

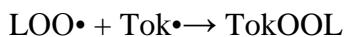
1.2.2.6. Vitamin E

Vitamin E je liposolubilni antioksidans i jedan je od najznačajnijih *in vivo* inhibitora lipidne peroksidacije (Kaikkonen i sar., 2001). Vitamin E ne označava specifično hemijsko jedinjenje, već obuhvata osam jedinjenja zastupljenih u prirodi, koja predstavljaju strukturne izomere tokoferola i tokotrienola. Najveću aktivnost ima d- α -tokoferol, koji je ujedno i najzastupljeniji oblik vitamina E u hrani (Horwitt, 1991).

Tokoferoli i tokotrienoli zaustavljaju lipidnu peroksidaciju zahvaljujući sposobnosti da uklone lipidne peroksil radikale (LOO•) pre nego što oni reaguju sa susednim molekulima (Mukai i sar., 2003):



Ne postoji značajna razlika u antioksidativnim svojstvima među različitim tokoferolima i tokotrienolima *in vitro* (Yoshida i sar., 2003). Nastali tokoferil-radikal (Tok•) ima sposobnost da reaguje sa novim peroksil radikalnom, pri čemu nastaje neradikalsko jedinjenje:



Značajno je da tokoferil-radikal može da se u prisustvu vitamina C redukuje nazad u vitamin E. Na taj način, ova dva vitamina ispoljavaju sinergiju u zaštiti od slobodnih radikala i oštećenja uzrokovanih oksidativnim stresom.

1.2.3. Mehanizmi oštećenja biomolekula usled oksidativnog stresa

1.2.3.1. Oštećenje DNK

Direktno oštećenje molekula DNK usled dejstva slobodnih radikala na nivou purinskih i pirimidinskih baza ili deoksiriboze. Najveća oštećenja uzrokuje •OH, dok je većina ostalih radikala, uključujući •O₂•, NO• i H₂O₂ i ROO•, slabo reaktivna sa DNK, ali zato reaguje sa radikalima koji nastaju od DNK molekula u reakcijama sa agresivnijim slobodnim radikalima, poput •OH, na taj način doprinoseći ukupnom oksidativnom oštećenju (Evans i sar., 2004). Dejstvom •OH na molekul DNK nastaju brojni produkti. Na primer, •OH reaguje sa purinskim bazama, adeninom i guaninom,

tako što dolazi do adicije •OH na ugljenik na pozicijama 4,5 ili 8 u purinskom prstenu. Adicijom na C-8 guanina, nastaje C-8-OH radikal, koji zatim može biti redukovano do 8-hidroksi-7,8-dihidroksiguanina, oksidovan do 8-hidroksiguanina ili dolazi do otvaranja prstena i redukcije do 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidina (FAPyG) (šema). Pirimidini takođe reaguju sa •OH, pri čemu od timina mogu nastati timin-glikoli (5,6-dihidroksi-6-hidrotimini), 5-hidroksi-5-metilhidantoin, 5-formiluracil i 5-(hidroksimetil)uracil, dok od citozina mogu nastati citozin-glikoli i 5,6-dihidroksicitozin. Deoksiriboza koja ulazi u sastav DNK se pod dejstvom •OH fragmentira pri čemu nastaju proizvodi koji mogu ostati u sastavu molekula DNK, mogu dovesti do prekida lanca DNK ili se odvajaju od lanca (Halliwell i Gutteridge, 2007).

Oksidativna oštećenja DNK narušavaju normalnu strukturu i funkciju DNK i ukoliko mehanizmi popravke DNK ne deluju efikasno, dolazi do promena u replikaciji DNK i transkripciji određenih gena sa različitim posledicama po ćelija (Neeley i Essigmann, 2006). Posledice mogu biti akutne ili se mogu ispoljiti tek u narednim generacijama ćelija, kada su odložene i govori se o tzv. „genomskoj nestabilnosti“ (Mothersill i Seymour, 1998).

Osim nuklearne DNK, mitohondrijalna DNK takođe je izložena oštećenju usled oksidativnog stresa, pri čemu su oksidativne promene u DNK mitohondrija češće s obzirom na to da su one veliki generator slobodnih radikala (Beckman i Ames, 1999).

Pojedini produkti oksidativnog oštećenja DNK mogu se koristiti kao biomarkeri oksidativnog stresa, odnosno njihovim merenjem stiče se uvid o oštećenju koje nastaje usled slobodnih radikala i o efektima antioksidativne zaštite. Ovakav pristup se često označava kao "*fingerprinting*", jer se ne mere direktno slobodni radikali, već trag (engl. *fingerprint*) koji oni ostavljaju na biomolekulima u ćeliji (Halliwell, 1999). Kao biomarker oksidativnog oštećenja DNK najčešće se koriste modifikovane azotne baze, pre svega nukleozid – 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) (Kasai, 1997). Ovo jedinjenje ispoljava keto-enol tautomerizam, pri čemu je ravnoteža pomerena ka 6,8-diketo obliku, te se ponekad u literaturi 8-OHdG označava i kao 8-okso-7-hidro-2'-deoksiguanozin ili 8oxodG. Nivoi 8-OHdG se ne mogu koristiti kao kvantitativni marker oštećenja DNK iz više razloga. Prvo, ovo jedinjenje je samo jedan od brojnih

produkata koji nastaju kada slododni radikali reaguju sa DNK. Druga, dejstvom $\bullet\text{OH}$ na guanin nastaje i FAPyG, a ravnoteža između ova dva jedinjenja je uslovljena redoks stanjem u ćeliji, a zavisi i od prisustva jona prelaznih metala.

Drugim rečima, ista količina slobodnih radikala, odnosno isti stepen oksidativnog stresa, može dovesti do različitih nivoa 8-OHdG u zavisnosti od sredine. Zbog toga je pri ispitivanju oksidativnog oštećenja radi veće pouzdanosti potrebno istovremeno pratiti više biomarkera oksidativnog stresa (Halliwell i Gutteridge, 2007).

1.2.3.2. Oštećenje lipida: lipidna peroksidacija

Lipidna peroksidacija predstavlja oksidativno oštećenje lipida, prvenstveno polinezasićenih masnih kiselina u sastavu ćelijskih membrana i lipoproteina (Halliwell i Gutteridge, 2007). Polinezasićene masne kiseline sadrže dve ili više dvostrukih veza između C-atoma i predstavljaju glavno mesto napada slobodnih radikala tokom oksidativnog stresa. Najveća količina polinezasićenih masnih kiselina nalazi se u membranama ćelije i različitih organela, gde ulaze u sastav lipidnog dvosloja. Važne su za održavanje fluidnosti membrane, koja je u uslovima njihovog oštećenja značajno smanjena (Zamaria, 2004).

Lipidna peroksidacija se dešava u nekoliko faza (Gardner, 1989). Prva faza je faza inicijacije i podrazumeva prvi napad slobodnih radikala na molekul masne kiseline. U hemijskom smislu uključuje adiciju slobodnog radikala (npr. $\bullet\text{OH}$) ili, češće, oduzimanje vodonika iz metilenske grupe ($-\text{CH}_2-$) od strane radikala. Na taj način nastaje nestabilni lipidni (ugljenični) radikal ($\text{L}\bullet$). U cilju dalje stabilizacije dolazi do intramolekulskog preraspoređivanja dvostrukih veza i produkcije konjugovanih diena, koji se u prisustvu O_2 prevode u peroksi radikale ($\text{ROO}\bullet$ ili $\text{LOO}\bullet$). Sledeća faza u toku lipidne peroksidacije označava propagaciju i podrazumeva sposobnost produkovanih $\text{LOO}\bullet$ da dalje iniciraju oduzimanje vodonika sa susednih molekula lipida i produkciju novih lipidnih, a potom i peroksi radikala, pri čemu nastaju lipidni hidroperoksidi (ROOH) ili kraće lipidni peroksidi. Na ovaj način uspostavlja se lančana reakcija koja ima veliki potencijal za oštećenjem lipida membrana i drugog porekla, usled činjenice da od jednog inicijalnog napada slobodnog radikala nastaje mnoštvo lipidnih peroksida. Faza terminacije nastupiće kada dođe do reakcije između samih $\text{LOO}\bullet$, odnosno kada se ovi reaktivni molekuli uklone (Halliwell i Gutteridge, 2007).

Posledice lipidne peroksidacije membranskih lipida su smanjenje fluidnosti membrane, što olakšava proces razmene fosfolipida između dva sloja lipidnog dvosloja i povećava propustljivost membrane za jednovalentne i dvovalentne jone (Richter, 1987), kao i oštećenje membranskih proteina, inaktivacija enzima i jonskih kanala (Duprat i sar., 1995). Takođe, u toku lipidne peroksidacije nastaju brojni intermedijeri, koji pokazuju manju ili veću stabilnost i mogu se koristiti kao markeri lipidne peroksidacije.

Izoprostani. Izoprostani (IP) su važni produkti lipidne peroksidacije i njihovo određivanje verovatno predstavlja trenutno najpouzdaniji marker lipidne peroksidacije (Fam i Morrow, 2003). To su jedinjenja slična prostaglandinima, koja nastaju od nezasićenih masnih kiselina sa najmanje tri dvostruke veze, uključujući linoleinsku kiselinu, arahidonsku kiselinu (F2-izoprostani), EPA (F3-izoprostani) i DHA (F4-izoprostani ili neuroprostani). Postoji 64 izomera F2-IP. Takođe, postoje D- i E-prstenasti IP nastali od cikličnih peroksidnih prekursora (Roberts i Fessel, 2004). IP nastaju *in vivo* tokom peroksidacije fosfolipida i većina se nalazi u esterifikovanoj formi u sklopu fosfolipida u tkivima i plazmi. Mogu se javiti u slobodnom obliku, čiji je poluživot u plazmi kratak i iznosi manje od 20 minuta. Pojedini IP pokazuju biološku aktivnost, odnosno imaju vazokonstriktorno dejstvo (Moore, 2004).

Najčešće ispitivani izoprostani su F2-izoprostani koji nastaju od arahidonske kiseline. Najpreciznije metode za određivanje IP su gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom, ali se mogu koristiti i imunoeseji za detekciju F2-IP u plazmi i urinu (Lee i sar, 2004). U ovim testovima uglavnom se određuje izomer 8-izo-PGF α ili kraće 8-izoprostan. Povećani nivoi IP u plazmi i urinu su potvrđeni u brojnim stanjima povezanim sa oksidativnim stresom, uključujući hipertenziju, dijabetes, neurodegenerativne bolesti, različita bubrežna i plućna oboljenja (Milne i sar., 2005).

Malondialdehid. Malondialdehid (MDA) predstavlja jedan od najčešće određivanih pokazatelja lipidne peroksidacije već dugi niz godina. Nastaje najvećim delom od polinezasićenih masnih kiselina sa više od dve dvostruke veze, ali i tokom metabolizma eikosanoida (Esterbauer i sar., 1991). Postoji u više oblika koji zavise od pH sredine. Pri fiziološkom pH dominantan je enolni anjonski oblik koji ne pokazuje veliku reaktivnost. MDA se brzo metaboliše u većini tkiva. Sam MDA može reagovati

sa DNK i ispoljiti mutageno dejstvo, pri čemu je najčešća meta guanin (Marnett, 2000). Ostaje nedovoljno jasno koliki je pravi doprinos MDA *in vivo* mutacijama.

Za merenje količine MDA je najčešće u upotrebi spektrofotometrijsko određivanje produkata koji nastaju u reakciji sa tiobarbiturnom kiselinom (TBA) (Gutteridge i Quinlan, 1983). Ova metoda ima dosta ograničenja, te se veća pouzdanost postiže korišćenjem hromatografskih metoda (Moore i Roberts, 1998).

4-Hidroksi-2-trans-nonenal. 4-Hidroksi-2-trans-nonenal (HNE) je jedinjenje koje nastaje tokom peroksidacije omega-6 nezasićenih masnih kiselina, poput linoleinske i arahidonske kiseline (Schneider i sar., 2001). Predstavlja jedan od nekoliko nesaturisanih aldehida koji nastaju pri lipidnoj peroksidaciji, zajedno sa dekadienalom i trans-4-hidroksi-2-hekenalom (HHE), koji pokazuje naročito toksično dejstvo za mitohondrije (Kristal i sar., 1996). Često se meri u cilju procene lipidne peroksidacije.

1.2.3.3. Oštećenje proteina

Oksidativno oštećenje proteina nastaje direktno pod uticajem slobodnih radikala ili sekundarno, usled dejstva toksičnih produkata lipidne peroksidacije. Neka oštećenja su reverzibilna, npr. formiranje metionin-sulfoksida, dok su pojedina ireverzibilna i zahvaćeni protein mora biti zamenjen (Halliwell i Gutteridge, 2007). Slobodni radikali uzrokuju različite transformacije aminokiselina u sastvu proteina i dovode do stvaranja brojnih produkata. Dodatno, peptidna veza može biti mesto oksidativnog napada, pre svega •OH (Davies, 2005).

Oksidativno oštećenje proteina obično dovodi do posledičnog oštećenja drugih molekula u ćeliji, npr. posredstvom povećanja nivoa jona Ca^{2+} ili aktivacijom nukleaza. Oksidativno izmenjeni proteini mogu biti prepoznati kao strani imunom sistemom, te dovesti do aktivacije sinteze antitela i eventualne autoimunosti (Peng i sar., 1997).

1.2.4. Oksidativni stres i centralni nervni sistem

Mozak je posebno osetljiv na dejstvo oksidativnog stresa (Halliwell, 2006), naročito neuroni koji su osetljiviji u odnosu na druge ćelije u nervnom sistemu. Jedan od osnovnih razloga za to je visoka potrošnja kiseonika; iako mozak iznosi svega nekoliko procenata telesne težine, on troši oko 20% bazalne količine kiseonika. Dakle, prosečan neuron se susreće sa velikom količinom O_2 u svakom trenutku.

Osim ove činjenice, postoji nekoliko drugih razloga kojima se može objasniti visoka osetljivost na oksidativno oštećenje u CNS-u. Neuronske ćelijske membrane sadrže veliku količinu polinezasićenih masnih kiselina, naročito DHA, koje lako mogu postati meta slobodnim radikalima sa posledičnom lipidnom peroksidacijom (Zaleska i Floyd, 1985). Dalje, mnogi neurotransmiteri (dopamin, serotonin, noradrenalin) mogu se u kontaktu sa O₂ oksidovati, pri čemu kao proizvodi nastaju •O₂⁻, H₂O₂, kao i hinoni i semihinoni koji mogu da reaguju sa GSH smanjujući njegove rezerve u mozgu ili sa –SH grupama proteina, narušavajući time njihovu funkciju (Wrona i Dryhurst, 1998). Autooksidacija neurotransmitera je naročito favorizovana u prisustvu jona prelaznih metala, poput mangana ili gvožđa. Gvožđe je, inače, široko rasprostranjeno u mozgu. Ulazi u sastav važnih proteina, a njegova količina je posebno visoka u *substantia nigra*, kaudatnom jedru, putamenu i *globus pallidus*-u (Schenk i Zimmerman, 2004). Dodatno, metabolički procesi u mozgu generišu veliku količinu H₂O₂ u reakcijama koje katalizuju različiti enzimi (Sinet, 1980), npr. enzimi monoamin oksidaze (MAO-A i MAO-B) koji su uključeni u metabolizam određenih neurotransmitera.

Važan izvor slobodnih radikala u mozgu je mikroglija, glijalne ćelije koje vode poreklo od monocita, a koje su u toku embrionalnog razvoja dospele do mozga. Normalno, one uklanjaju ćelijski debris, uključujući ćelije u apoptozi i štite neurone (Nimmerjahn i sar, 2005). Međutim, mikroglijalne ćelije mogu proizvoditi značajne količine •O₂⁻, H₂O₂ i citokina, poput interleukina-1 (IL-1), IL-6 i faktora nekroze tumora alfa (TNF-α) koji dodatno povećavaju produkciju slobodnih radikala i aktiviraju iNOS i stvaranje NO•. Ovo predstavlja važan deo inflamatornih procesa u mozgu.

Antioksidativna zaštita u centralnom nervnom sistemu je skromna. Posebno su niski nivoi aktivnosti katalaze u mozgu. Nešto veća aktivnost katalaze postoji u hipotalamusu i *substantia nigra* (Halliwell i Gutteridge, 2007). U neuronima su prisutna oba izoenzima SOD. Pri tome, MnSOD je esencijalna; miševi kojima je uklonjen gen za ovaj enzim razvijaju neurodegeneraciju neposredno nakon rođenja, postoji značajna ćelijska smrt, naročito neurona korteks i moždanog stabla, i teški motorni poremećaji (Melov i sar., 1998). Ovakve promene nisu zapažene kod miševa bez CuZnSOD, a prekomerna ekspresija CuZnSOD dovodi do veće otpornosti prema ishemijsko-reperfuzionoj povredi i određenim neurotoksinima (Igarashi i sar., 2001). Nivoi GSH su

viši u gliji, nego u neuronima. Značajno smanjenje zaliha GSH u neuronima dovodi do njihovog oštećenja, naročito mitohondrijalne funkcije, što govori u prilog značaja koji ima mitohondrijalni „pool“ GSH (Meister, 1995).

II. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Utvrđivanje postojanja oksidativnog stresa kod obolelih od bipolarnog poremećaja i unipolarne depresije u akutnoj fazi i fazi remisije određivanjem:

- stepena lipidne peroksidacije kvantifikacijom malondialdehida(MDA) i 8-izoprostana u serumu,
- pokazatelja oksidativnog oštećenja DNK merenjem 8-hidroksi-2'-deoksiguanozina (8-OHdG) u serumu,
- aktivnosti antioksidativnih enzima – superoksid dizmutaze (SOD), katalaze (CAT), glutacion peroksidaze (GPx) i glutacion reduktaze (GR) u serumu.

2. Poređenje parametara oksidativnog stresa u serumu obolelih od bipolarnog poremećaja i unipolarne depresije sa potencijalnim uspostavljanjem diferencijacije između ova dva oboljenja.

III. ISPITANICI I METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA

3.1. DIZAJN STUDIJE

Ova prospektivna studija je obuhvatila pacijente obolele od unipolarne depresije i bipolarnog afektivnog poremećaja, koji su tokom akutne depresivne epizode hospitalizovani na Klinici za psihijatriju Kliničkog Centra Srbije tokom 2013. i 2014. godine. Studija je realizovana na Klinici za psihijatriju Kliničkog Centra Srbije i Institutu za medicinsku i kliničku biohemiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

3.2. SELEKCIJA ISPITANIKA

Istraživanje je obuhvatilo 64 bolesnika sa potvrđenom dijagnozom unipolarne depresije (32 bolesnika) i bipolarnog poremećaja (32 bolesnika). Kriterijumi za uključivanje u studiju bili su:

- dijagnostički kriterijumi za postavljanje dijagnoze unipolarne depresije i bipolarnog poremećaja prema DSM-IV i
- godine starosti od 18 do 65 godina.

Ispitanici oboleli od depresije ili bipolarnog poremećaja bili su posmatrani u periodu hospitalizacije, sve do postizanja faze remisije bolesti. Kao kriterijum za remisiju služila je klinička procena istraživača i/ili ordinirajućeg lekara.

Kriterijumi za isključivanje zajednički za sve ispitanike bili su:

– komorbiditet sa zapaljenjskim, neurodegenerativnim, malignim bolestima, srčanim dekompenzovanim oboljenjima, infektivnim bolestima, zavisnost od psihoaktivnih supstanci i druga teža dekompenzovana stanja;

- pušenje (više od 20 cigareta dnevno);
- gojaznost (indeks telesne mase ≥ 25) i
- trudnoća ili laktacija.

Studija je planirana u skladu sa etičkim standardima datim u revidiranoj verziji Helsinške deklaracije iz 1983. godine i u skladu sa pravilima Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu. Svaki učesnik studije dao je pismenu saglasnost o

tome da je obavešten o ciljevima i iščekivanim ishodima istraživanja. Takođe, svaki ispitanik je imao pravo da u svakom trenutku bude isključen iz studije, ako to iz bilo kog razloga poželi.

3.3. INSTRUMENTI KLINIČKE PROCENE

Za procenu težine i kvaliteta psihijatrijskih simptoma i njihove objektivne procene korišćeni su instrumenti kliničke procene, odnosno relevantne skale kliničke procene. Pored intervjua i anamnestičkih podataka, primenom skala se postiže usaglašavanje i standardizacija kliničkih dijagnostičkih kriterijuma, kao i objektivnije praćenje rezultata terapijskih procedura (Timotijević i Paunović, 2010).

U istraživanju su korišćene sledeće skale kliničke procene: skala za opšti klinički utisak (engl. *Clinical Global Impression – CGI*), Hamiltonova skala za procenu depresivnosti (engl. *Hamilton Depression Rating Scale – HAMD*) i Jangova skala za procenu manije (engl. *Young Manic Rating Scale – YMRS*).

3.3.1. Skala za opšti klinički utisak

Skala za opšti klinički utisak (engl. *Clinical Global Impression – CGI*) pripada grupi skala opšte procene kojima se numerički uobličava opšti klinički utisak lekara i vrlo su dragocene, jer proizlaze iz kliničkog posmatranja, jednostavno opisuju stanje pacijenta i kvalifikuju težinu bolesti u celosti (Guy, 1976). Kroz CGI se procenjuje i prati poboljšanje stanja u toku lečenja ili primene nekog leka, a skala uključuje i eventualno postojanje neželjenih dejstava leka.

Upitnik CGI se sastoji iz tri dela. Prva dva dela su težina bolesti i ukupno poboljšanje, koji se procenjuju na sedmostepenoj skali od nije bolestan (1) do krajnje teško bolestan (7), odnosno od izrazito poboljšano (1) do izrazito pogoršano (7). Treći deo skale predstavlja indeks efikasnosti koji se formira kombinacijom terapijskog efekta i neželjenog dejstva leka na posebno konstruisanoj tabeli.

Upitnik CGI je popunjavao psihijatar odmah po završetku intervjua sa pacijentom u akutnoj fazi bolesti, kada je ocenjivan samo prvi deo skale o težini bolesti. Nakon završenog lečenja, u fazi remisije, upitnik je popunjavao isti psihijatar, sa ocenama za svaki deo skale.

3.3.2. Hamiltonova skala za procenu depresivnosti

Hamiltonova skala za procenu depresivnosti (engl. *Hamilton Depression Rating Scale* – HAMD) konstruisana je 1960. godine (Hamilton, 1960). Skala je konstruisana zbog potrebe standardizovanja fenomenologije depresivnog sindroma i procene izraženosti depresivnog poremećaja. Otkako je uvedena u psihijatrijsku praksu, HAMD se primenjuje vrlo često i postala je nezaobilazni instrument u kliničkim i farmakološkim ispitivanjima. Skala je pouzdana i validna. HAMD ne postavlja dijagnozu depresije, već se primenjuje kod dijagnostikovanih pacijenata čiji je intezitet simptoma potrebno kvantifikovati.

Skala se koristi u dve verzije, jedna ima 17 ajtema, a druga 21 ajtem. U našem istraživanju korišćena je verzija sa 21 ajtemom, koji se skoruju na sledeći način: depresivno raspoloženje (skorovi 0–4), osećanje krivice (0–4), suicid (0–4), rana insomnija (0–2), teškoće prosnivanja (0–2), kasna insomnija (0–2), rad i aktivnost (0–4), retardacija (0–4), agitacija (0–4), anksioznost (0–4), telesna anksioznost(0–4), telesni gastrointestinalni simptomi (0–2), opšti telesni simptomi (0–2), genitalni simptomi (0–2), hipohondrijaza (0–4), gubitak telesne težine (0–2), uvid u bolest (0–2), dnevna varijacija raspoloženja (0–2), depersonalizacija i derealizacija (0–4), paranoidnost (0–4) i opsesivnost i kompulsivnost (0–2). Ovom verzijom HAMD težina depresivnosti se izražava na sledeći način:

- 0–7, depresivnost nije prisutna;
- 8–16, blaga depresivnost;
- 17–24, umerena depresivnost, lečenje u vanbolničkim uslovima;
- preko 24, teška depresivnost, lečenje zahteva hospitalizaciju.

Odsustvo depresivnosti može se proceniti i ako je ukupni skor na kraju lečenja za 50% niži od početnog.

Upitnik popunjava psihijatar prema datim uputstvima kojim je definisan način vođenja intervjua, pitanja iz skale i bodovanje pojedinih odgovora. HAMD je primenjivana u toku akutne faze i u fazi remisije obe grupe ispitanika od strane istog ispitivača.

3.3.3. Jangova skala za procenu manije

Jangova skala za procenu manije (engl. *Young Manic Rating Scale* – YMRS) je razvijena kao instrument za kliničku upotrebu 1978. godine (Young, 1978) u cilju procene inteziteta simptoma povezanih sa manijom. Temelji se na kliničkom intervjuu, dužine od 15 do 30 minuta, koji uzima u obzir subjektivne ocene pacijenta kao i opservacije ispitivača. Da bi se poboljšala pouzdanost među ispitivačima, treba koristiti uputstva za vođenje intervjuja i ocenjivanje.

YMRS se sastoji od 11 pitanja kojima se meri povišeno raspoloženje (skorovi 0–4), povišena motorna aktivnost – energija (0–4), seksualni interes (0–4), spavanje (0–4), razdražljivost (0–8), govor – tempo i količina (0–8), govor – poremećaj mišljenja (0–4), sadržaj (0–8), agresivno ponašanje (0–8), izgled (0–4) i uvid u bolest (0–4).

Upitnik je popunjavao psihijatar u toku akutne faze bolesti i faze remisije obe grupe ispitanika.

3.4. BIOHEMIJSKE METODE

Za analizu biohemijskih parametara oksidativnog stresa od svih ispitanika su uzeti uzorci pune krvi (3mL) u toku akutne epizode i nakon postignute remisije. Uzorci krvi su transportovani na ledu do Instituta za medicinsku i kliničku biohemiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Serum se izdvaja nakon 20–30 minuta pošto je došlo do spontane koagulacije krvi, koja se zatim centrifugira na 3000 obrtaja/min u trajanju od 15 minuta u centrifugi sa hlađenjem na +4°C. Izdvojeni serumi su čuvani na –80°C do daljih analiza.

3.4.1. Određivanje koncentracije 8-izoprostana

Za određivanje koncentracije 8-izoprostana u serumu korišćena je imunohemijska metoda upotrebom komercijalnog ELISA testa (ab175819, Abcam, United Kingdom). U komercijalnu mikrotitarsku ploču koja je prethodno obložena vezujućim antitelima za 8-izoprostane, dodaje se 100 µL uzorka ili standarda, pri čemu dolazi do vezivanja 8-izoprostana iz standarda i uzoraka za vezujuća antitela ploče. Potom se u sve bunariće ploče dodaje 100 µL HRP-konjugata, odnosno detekciona biotinizirana antitela za koja je vezan enzim peroksidaza rena (HRP, engl. *horseradish*

peroxidase). Nakon inkubacije dva sata na sobnoj temperaturi i ispiranja sa 400 μL pufera za ispiranje tri puta, dodaje se 200 μL tetrametilbenzidina (TMB). TMB predstavlja hromogeni supstrat za peroksidazu koja katalizuje reakciju stvaranja jedinjenja plave boje. Reakcija se prekida promenom pH dodavanjem 50 μL stop rastvora (2 N sumporna kiselina) pri čemu dolazi do promene plave boje u žutu, čija je apsorbanca proporcionalna koncentraciji 8-izoprostana i koja se očitava na talasnoj dužini od 450 nm.

Na osnovu apsorbanca standardnih rastvora konstruiše se standardna kriva koja se koristi za izračunavanje koncentracije 8-izoprostana u uzorcima. Koncentracija 8-izoprostana se izražava u ng/mL seruma.

3.4.2. Određivanje ukupnog sadržaja lipidnih peroksida (MDA)

U toku lipidne peroksidacije iz polinezasićenih masnih kiselina nastaje produkt malondialdehid (MDA). MDA se određuje u reakciji sa tiobarbiturnom kiselinom (TBA) u kojoj nastaje obojeni konjugat MDA–TBA, čija se količina meri spektrofotometrijski (Okhawa i sar., 1979). Iako TBA može reagovati nespecifično sa drugim aldehydima i nekim šećerima pod određenim uslovima, opisana reakcija je prihvaćena za merenje proizvoda lipidne peroksidacije.

Uzorku seruma (1mL) dodato je po 0,5 mL 28% trihlorsirćetne kiseline (TCA). Nakon mešanja na hladnom, uzorci su centrifugirani 4 minuta na 15000 obrtaja/min. Zatim je u epruvete preneto po 0,8 mL supernatanta i 0,2 mL 1% TBA u 0,05N NaOH. Epruvete su stavljane u ključalo vodeno kupatilo (100°C) u toku 15 minuta. Nakon hlađenja pročitana je apsorbanca na 535 nm.

Iz većeg broja serija standardnih kriva malondialdehid bis(dietilacetata) u rasponu od 100 nmol/L do 100 $\mu\text{mol/L}$ određen je molarni ekstinkcioni koeficijent za MDA od $1,56 \times 10^5$ mol/L. Nivo lipidne peroksidacije je izražavan u nmol/mL seruma.

3.4.3. Određivanje koncentracije 8-hidroksi-2'-deoksiguanozina

Za određivanje koncentracije 8-izoprostana u serumu korišćena je imunohemijska metoda upotrebom komercijalnog ELISA testa (ab101245, Abcam, United Kingdom). U komercijalnu mikrotitarsku ploču koja je prethodno obložena

vezujućim poliklonalnim anti-mišjimantitelima dodaje se 50 μ L uzoraka. Potom se u sve bunariće ploče dodaje 50 μ L 8-OHdG-AChE konjugat (AChE, acetilholin esteraza) i 50 μ L antitela koja se vezuju za 8-OHdG iz uzoraka i 8-OHdG iz konjugata, a kompleks antitelo-8-OHdG se vezuje za vezujuća antitela na ploči. Nakon inkubacije dva sata na sobnoj temperaturi i ispiranja sa 400 μ L pufera za ispiranje tri puta, dodaje se 200 μ L Elmanovog reagensa. Elmanov reagens predstavlja hromogeni supstrat AChE koja katalizuje reakciju stvaranja jedinjenja žute boje čija se apsorbance očitava na talasnoj dužini od 412 nm.

Na osnovu apsorbanci standardnih rastvora konstruiše se standardna kriva koja se koristi za izračunavanje koncentracije 8-OHdG u uzorcima. Koncentracije 8-OHdG se izražavaju u ng/ml seruma.

3.4.4. Određivanje aktivnosti superoksid dizmutaze (SOD; EC 1.15.1.1)

Aktivnost superoksid dizmutaze u serumu određivana je kao procenat inhibicije autooksidacije adrenalina u baznoj sredini (Sun i Zigman, 1978). SOD katalizuje reakciju u kojoj se uklanja superoksidni anjon, čime se inhibira autooksidacija adrenalina. Step en inhibicije srazmeran je aktivnosti enzima.

Reakciona smeša za određivanje aktivnosti SOD sadržala je 1,3 mL natrijum bikarbonatnog pufera (50 mmol/L, pH=10,2) i 0,1 mL seruma. Reakcija započinje dodavanjem 0,1 mL adrenalina. Promena apsorbance je praćena u toku 4 minuta na talasnoj dužini od 480 nm (linearnost je postizana posle 0,5–1 minuta nakon dodavanja adrenalina).

Kao vrednost u odnosu na koju je računata inhibicija, korišćena je promena apsorbance iste reakcione smeše kojoj je umesto uzorka dodat 0,1 mL vode. Aktivnost SOD je izražavana u U/mL serumu, pri čemu jedinica aktivnosti enzima (U) odgovara aktivnosti enzima koja dovodi do 50% inhibicije spontane autooksidacije adrenalina.

3.4.5. Određivanje aktivnosti katalaze (CAT; EC 1.11.1.6)

Određivanje aktivnosti katalaze u serumu vršeno je po metodi Góth-a (1991). Aktivnost CAT je proporcionalna količini utrošenog vodonik-peroksida i izračunava se iz razlike u sadržaju vodonik-peroksida u inkubacionoj mešavini pre i posle dodavanja

enzima. Koncentracija vodonik-peroksida se određuje spektrofotometrijski pomoću amonijum-molibdata, sa kojim gradi žuto bojeno kompleksno jedinjenje sa maksimalnom apsorbcijom na talasnoj dužini od 505 nm.

Aktivnost CAT je određivana tako što je u 1 mL sveže pripremljenog radnog rastvora vodonik-peroksida (65 mmol/L) dodavano 0,1 mL seruma. Uzorci su zatim promešani na vorteksu i inkubirani u vodenom kupatilu na 37°C jedan minut. Reakcija je prekidana dodavanjem 1 mL 32,4 mmol/L amonijum-molibdata. Apsorbancija nastalog žuto obojenog kompleksa čitana je na 405 nm nakon 20 minuta.

Aktivnosti CAT je izražavana u U/mL serumu, pri čemu je jedinica aktivnosti enzima (U) definisana kao količina enzima koja katalizuje reakciju u kojoj se razlaže jedan mikromol vodonik-peroksida u jedinici vremena u datim uslovima.

3.4.6. Određivanje aktivnosti glutation peroksidaze (GPx; EC 1.11.1.9)

Aktivnost glutation peroksidaze u serumu je određivana po metodi koja se zasniva na oksidaciji redukovanog glutationa (GSH) sa iskorišćavanjem NADPH u reakciji koju katališe enzim glutation reduktaza (GR) (Günzler i sar., 1974). Smanjenje apsorbanice pri talasnoj dužini od 340 nm kao posledica potrošnje NADPH predstavlja meru aktivnosti GPx.

Reakciona smeša za određivanje GPx sadržala je 0,1 mL seruma, 0,5 mL HEPES-a (0,2 mol/L, pH=7,4; Na-N-2-hidroksietil-piperazin-N'-2-etansulfonska kiselina), 0,02 mL GSH (100 mmol/L), 0,02 mL NADPH (8 mmol/L u 10 mmol/L TRIS-HCl puferu, pH=7,4) i 0,02 mL t-BOOH (30 mmol/L; tert-butilhidroperoksid). Reakcija je započinjana dodavanjem 0,1 mL GR (1 U/mL). Promena apsorbanice je praćena na 340 nm u toku 2 minuta.

Aktivnost GPx je izražavana u U/mL serumu, pri čemu jedinica aktivnosti enzima (U) odgovara aktivnosti enzima koja dovodi do utroška 1 nmol NADPH po minutu.

3.4.7. Određivanje aktivnosti glutation reduktaze (GR; EC 1.6.4.2)

Određivanje aktivnosti glutation reduktaze vršeno je po metodi Glatzle i sar. (1974). Metoda se zasniva na praćenju promene absorance NADPH, koji se troši u reakciji redukcije glutationa koju katališe GR.

Reakciona smeša za svaki uzorak je sadržala 0,4 mL destilovane vode, 0,5 mL 0,2 mol/L kalijum-fosfatnog pufera, pH=7,0, 0,05 mL rastvora 20 mmol/L GSSG (oksidovani glutation) i 0,05 mL rastvora 2 mmol/L NADPH.

Posle preinkubacije na 37°C u toku 30 minuta, u pripremljenu reakcionu smešu dodatno je po 0,1 mL seruma i promena apsorbance je praćena na 340 nm u toku 3 minuta. Kao standard je korišćen 1 mmol/L rastvor NADP koji je korišćen umesto uzorka.

Aktivnost GR je izražavana u U/mL serumu, pri čemu jedinica aktivnosti enzima (U) odgovara aktivnosti enzima koja dovodi do utroška 1 nmol NADPH po minutu.

3.5. Statistička obrada podataka i prikazivanje rezultata

Dobijeni podaci statistički su predstavljeni odgovarajućim merama centralne tendencije i merama varijabiliteta (aritmetička sredina – \bar{x} , medijana – med, standardna devijacija – SD i dr.) u zavisnosti od skale merenja i raspodele dobijenih vrednosti. Značajnost razlike između pojedinih eksperimentalnih grupa procenjivana je odgovarajućim parametarskim i neparametarskim testovima, uključujući Studentov t test, Pirsonov χ^2 test i Man–Vitnijev test sume rangova.

Za procenu postojanja razlike između ponovljenih merenja korišćena je analiza varijanse za ponovljena merenja. Povezanost između odabranih obeležja testirana je logističkom regresionom analizom. Kao kriterijum statističke značajnosti razlike primenjivana je vrednost $p < 0,05$.

Statistička obrada podataka i grafički prikaz rezultata urađeni su pomoću programa „IBM SPSS Statistics, ver. 23”.

IV. REZULTATI

4.1. DEMOGRAFSKI PODACI

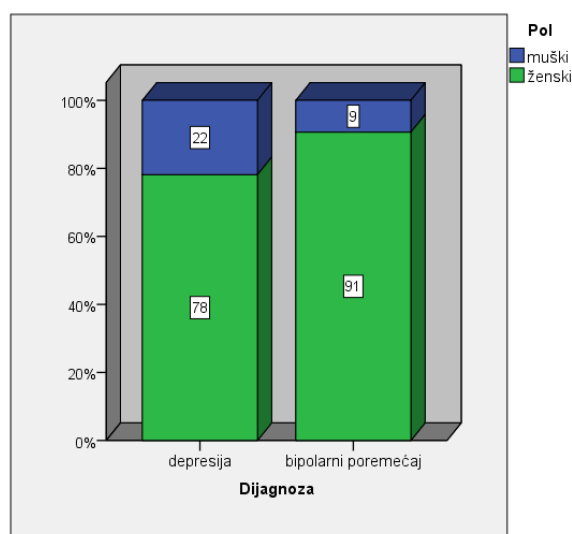
U istraživanje je bilo uključeno ukupno 64 pacijenta, od kojih je 32 bilo sa dijagnozom unipolarne depresije (prva grupa) i 32 pacijenta sa dijagnozom bipolarnog afektivnog poremećaja (druga grupa).

4.1.1. Distribucija ispitanika po polu

U prvoj grupi 7 ispitanika (21,9%) je bilo muškog, a 25 ispitanika (78,1%) ženskog pola. U drugoj grupi 3 ispitanika (9,4%) je bilo muškog, dok je 29 ispitanika (90,6%) bilo ženskog pola (tabela 6). Grupe ispitanika nisu se statistički značajno razlikovale u odnosu na distribuciju polova (χ^2 test 1,896; $p=0,169$) (grafikon 1).

Tabela 6. Distribucija ispitanika po polu

			Pol		Ukupno
			muški	ženski	
Dijagnoza	Depresija	N %	7 21.9%	25 78.1%	32 100.0%
	Bipolarni poremećaj	N %	3 9.4%	29 90.6%	32 100.0%
Svega		N %	10 15.6%	54 84.4%	64 100.0%



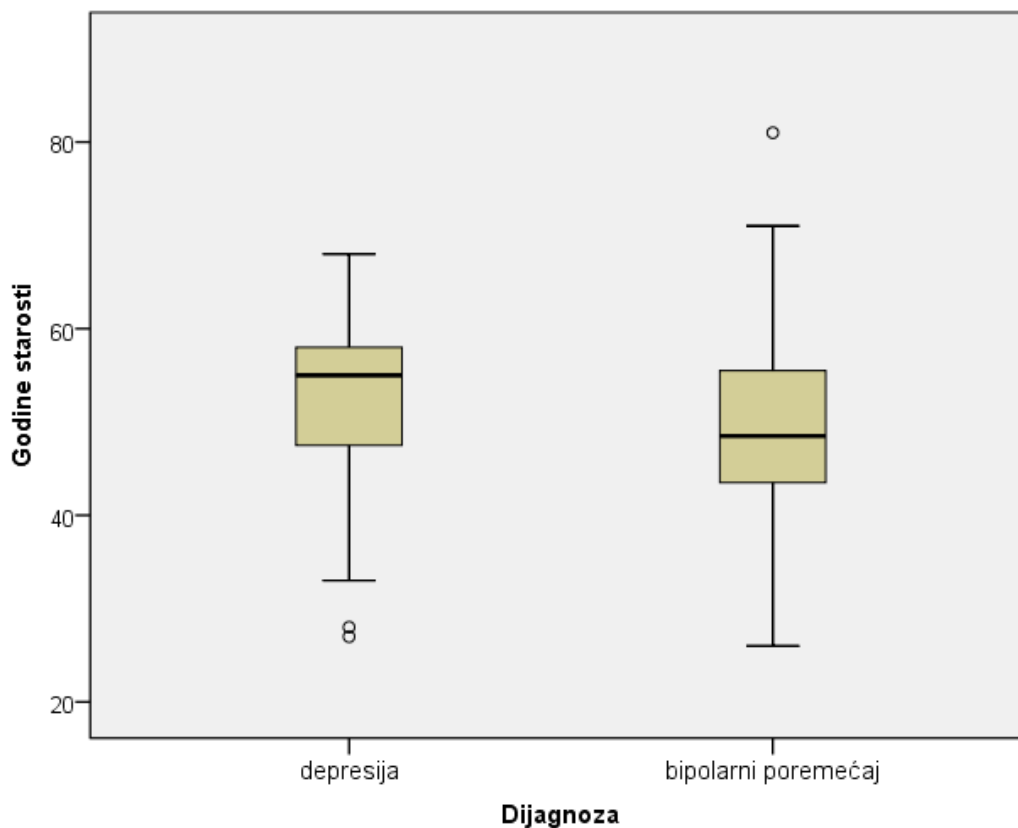
Grafikon 1. Distribucija ispitanika po polu.

4.1.2. Prosečna starost ispitanika

Prosečna starost ispitanika sa dijagnozom unipolarne depresije je bila ($\bar{x}\pm SD$) 52,16 \pm 9,92 godina (tabela 7). Najmlađi pacijent je imao 27 godina, dok je najstariji imao 68 godina. U drugoj grupi pacijenata prosečne godine starostisu bile ($\bar{x}\pm SD$) 50,25 \pm 11,05. U ovoj grupi najmlađi pacijent je imao 26, a najstariji 81 godinu. Između dve grupe nije postojala statistički značajna razlika u odnosu na godine starosti (t test 0,726; p=0,471) (grafikon 2).

Tabela 7. Prosečna starost ispitanika

		Godine starosti					
		N	\bar{x}	SD	Med	Min	Maks
Dijagnoza	Depresija	32	52,16	9,92	55,00	27,00	68,00
	Bipolarni poremećaj	32	50,25	11,05	48,50	26,00	81,00
	Ukupno	64	51,20	10,46	52,00	26,00	81,00



Grafikon 2. Prosečna starost ispitanika.

4.1.3. Stepen obrazovanja i zaposlenje ispitanika

U obe grupe ispitanika najveći procenat ispitanika imao je završenu srednju školu: 19 ispitanika (59,4%) u prvoj grupi i 22 ispitanika (68,8%) u drugoj grupi (tabela 8). Mann-Whitney-jevim testom nije pokazana statistički značajna razlika među grupama u odnosu na stepen obrazovanja ($Z = -0,638$; $p = 0,524$).

Tabela 8. Stepen obrazovanja ispitanika

			Obrazovanje				Ukupno
			osnovna škola	srednja škola	viša škola	fakultet	
Dijagnoza	Depresija	N	8	19	1	4	32
		%	25,0%	59,4%	3,1%	12,5%	100,0%
	Bipolarni poremećaj	N	5	22	1	4	32
		%	15,6%	68,8%	3,1%	12,5%	100,0%
Svega		N	13	41	2	8	64
		%	20,3%	64,1%	3,1%	12,5%	100,0%

U grupi pacijenata sa dijagnozom unipolarne depresije 13 ispitanika (40,6%) nije bilo zaposleno, 11 ispitanika (34,4%) je bilo zaposleno, a 8 ispitanika (25,0%) je bilo u penziji (tabela 9). U grupi pacijenata sa bipolarnom depresijom 8 ispitanika (25,0%) nije imalo zaposlenje, 9 ispitanika (28,1%) je imalo zaposlenje, dok je 15 ispitanika (46,9%) bilo u penziji. Grupe se nisu statistički značajno razlikovale u odnosu na zaposlenje (t test 3,521; $p = 0,172$).

Tabela 9. Zaposlenje ispitanika

			Zaposlenje			Ukupno
			nema	ima	penzioner/ka	
Dijagnoza	Depresija	N	13	11	8	32
		%	40,6%	34,4%	25,0%	100,0%
	Bipolarni poremećaj	N	8	9	15	32
		%	25,0%	28,1%	46,9%	100,0%
Svega		N	21	20	23	64
		%	32,8%	31,3%	35,9%	100,0%

4.1.4. Bračno stanje i broj dece ispitanika

U prvoj grupi ispitanika 21 ispitanik (65,6%) je živeo u bračnoj zajednici, dok je u drugoj grupi 18 ispitanika (56,3%) bilo u braku (tabela 10). U obe grupe bilo je po 3 ispitanika (9,4%) koji nikada nisu živeli u bračnoj zajednici, dok su ostali ispitanici bili razvedeni ili udovci/udovice. Grupe ispitanika se nisu značajno razlikovale u odnosu na bračni status (χ^2 test 1,707; $p=0,635$).

Tabela 10. Bračno stanje ispitanika

			Bračno stanje				Ukupno
			neoženjen/neudata	oženjen/udata	razveden/a	udovac/udovica	
Dijagnoza	Depresija	N	3	21	4	4	32
		%	9,4%	65,6%	12,5%	12,5%	100,0%
	Bipolarni poremećaj	N	3	18	8	3	32
		%	9,4%	56,3%	25,0%	9,4%	100,0%
Svega		N	6	39	12	7	64
		%	9,4%	60,9%	18,8%	10,9%	100,0%

U odnosu na broj dece između grupa ispitanika je Mann–Whitney-jevim testom pokazana statistički visokoznačajna razlika ($Z= -3,747$; $p<0,001$). U grupi pacijenata obolelih od depresije najveći broj ispitanika – 24 (75,0%) – imao je jedno dete, dok su ispitanici sa dijagnozom bipolarnog poremećaja češće imali veći broj dece, njih 15 (46,9%) dvoje, a 5 ispitanika (15,6%) troje dece (tabela 11).

Tabela 11. Broj dece ispitanika

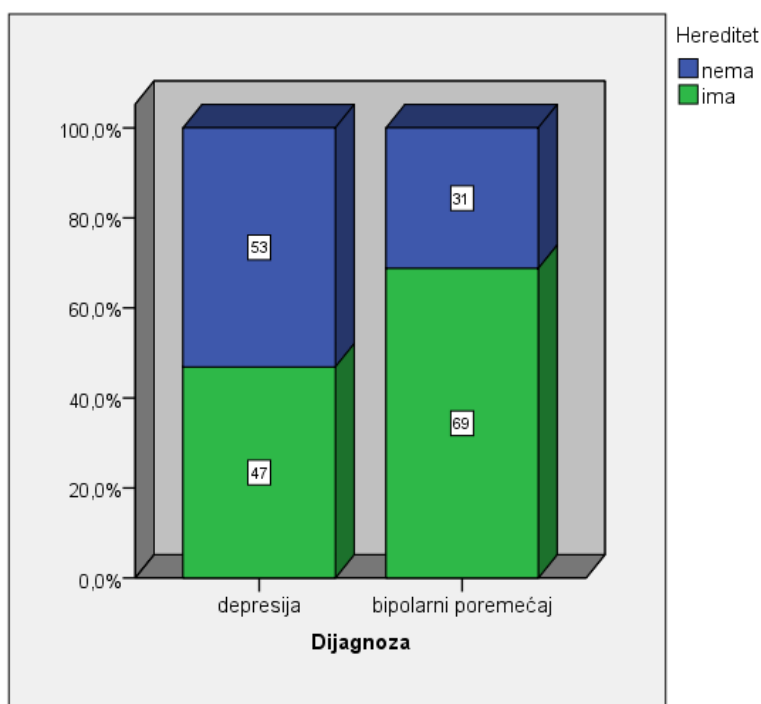
			Broj dece				Ukupno
			0	1	2	3	
Dijagnoza	Depresija	N	5	24	2	1	32
		%	15,6%	75,0%	6,3%	3,1%	100,0%
	Bipolarni poremećaj	N	3	9	15	5	32
		%	9,4%	28,1%	46,9%	15,6%	100,0%
Svega		N	8	33	17	6	64
		%	12,5%	51,6%	26,6%	9,4%	100,0%

4.1.5. Porodična anamneza

Uzimajući u obzir značaj herediteta za nastanak poremećaja raspoloženja, naročito bipolarnog poremećaja, ispitivana je porodična anamneza ispitanika, odnosno prisustvo poremećaja raspoloženja kod najbližih srodnika. U prvoj grupi 15 ispitanika (46,9%) je imalo pozitivnu porodičnu anamnezu, dok je u drugoj grupi 22 ispitanika (68,8%) imalo pozitivnu porodičnu anamnezu (tabela 12). Iako je u grupi obolelih od bipolarnog poremećaja nešto češće bio prisutan pozitivan hereditet, razlika među grupama nije dostigla statističku značajnost (χ^2 test 3,139; $p=0,076$) (grafikon 3).

Tabela 12. Porodična anamneza ispitanika

			Hereditet		Ukupno
			nema	ima	
Dijagnoza	Depresija	N	17	15	32
		%	53,1%	46,9%	100,0%
Dijagnoza	Bipolarni poremećaj	N	10	22	32
		%	31,3%	68,8%	100,0%
Svega		N	27	37	64
Svega		%	42,2%	57,8%	100,0%



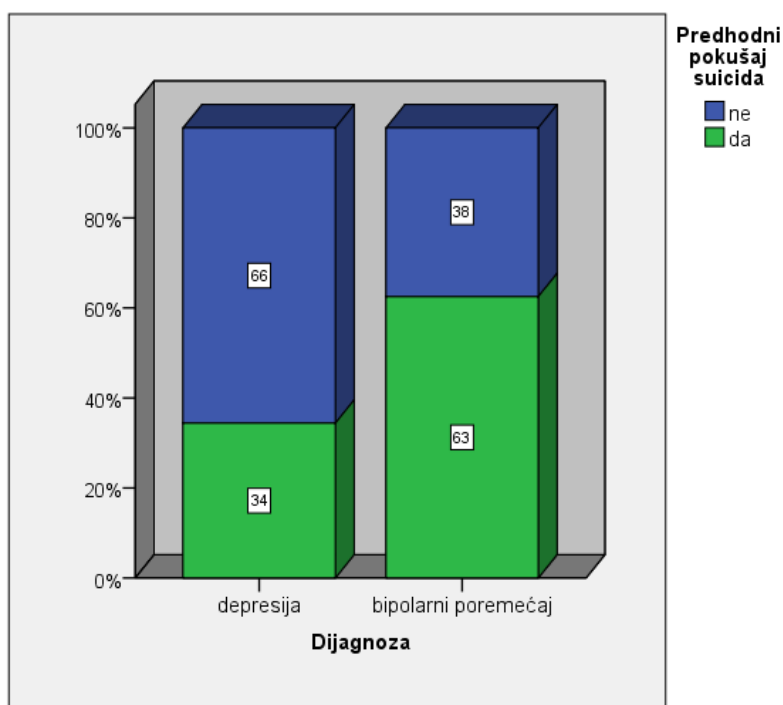
Grafikon 3. Porodična anamneza ispitanika.

4.1.6. Prethodni pokušaj suicida

Kod ispitanika u obe grupe ispitivano je pristustvo pokušaja suicida. U grupi obolelih od depresije 11 ispitanika (34,4%) je imalo raniji pokušaj suicida, dok je među obolelima od bipolarnog poremećaja čak 20 ispitanika (62,5%) imalo bar jedan pokušaj suicida (tabela 13). Ova razlika među grupama je statistički značajna (χ^2 test 5,067; $p=0,024$) (grafikon 4).

Tabela 13. Prethodni pokušaj suicida

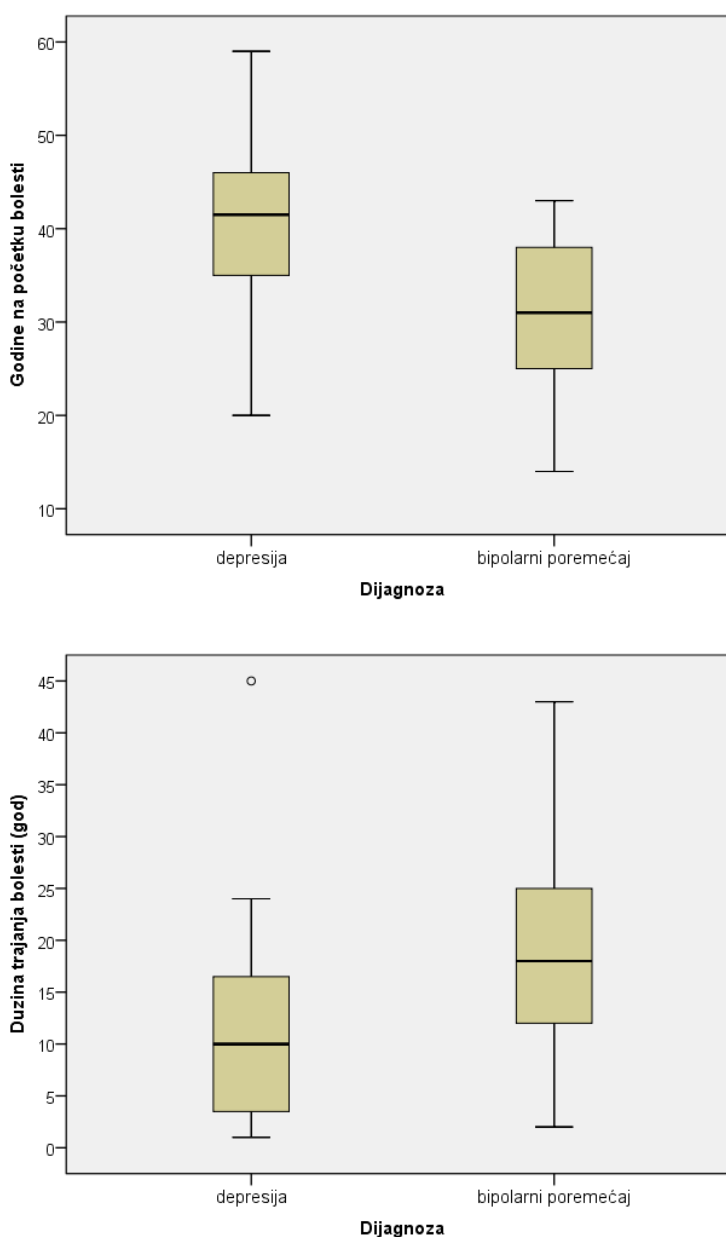
			Prethodni pokušaj suicida		Ukupno
			ne	da	
Dijagnoza	Depresija	N	21	11	32
		%	65,6%	34,4%	100,0%
	Bipolarni poremećaj	N	12	20	32
		%	37,5%	62,5%	100,0%
Svega		N	33	31	64
		%	51,6%	48,4%	100,0%



Grafikon 4. Prethodni pokušaj suicida.

4.1.7. Karakteristike toka bolesti

Pacijenti sa dijagnozom unipolarne depresije su na početku bolesti imali $40,25 \pm 10,45$ godina starosti, a dužina trajanja bolesti iznosi ($\bar{x} \pm SD$) $11,44 \pm 9,22$ godina. Za razliku od njih, pacijenti sa dijagnozom bipolarnog poremećaja su značajno mlađi na početku bolesti, prosečno ($\bar{x} \pm SD$) $30,17 \pm 8,94$ godina, a dužina trajanja bolesti iznosi ($\bar{x} \pm SD$) $19,10 \pm 10,93$ godina. Među ispitivanim grupama postoji statistički značajna razlika u odnosu na godine starosti na početku bolesti (t test 4,026; $p < 0,001$) i dužinu trajanja bolesti (t test $-2,970$; $p = 0,04$) (grafikon 5).



Grafikon 5. Godine na početku bolesti i dužina trajanja bolesti.

U toku bipolarnog poremećaja dolazi do smenjivanja depresivnih i maničnih (hipomaničnih) epizoda, dok se kod obolelih od unipolarne depresije javljaju samo depresivne epizode. U grupi ispitanika obolelih od depresije, ukupan broj depresivnih epizoda i epizoda uopšte iznosi ($\bar{x}\pm SD$) $5,66\pm 3,72$, sa rasponom od najmanje 1 do najviše 17 epizoda (tabela 14). U grupi obolelih od bipolarnog poremećaja broj depresivnih epizoda iznosi je ($\bar{x}\pm SD$) $7,45\pm 5,47$, sa rasponom od najmanje 2 epizode do najviše 22 epizode. U ovoj grupi ukupan broj epizoda iznosi ($\bar{x}\pm SD$) $11,31\pm 8,10$, sa rasponom od minimalno 3 do maksimalno 33 epizode. Među grupama nije postojala statistički značajna razlika u odnosu na broj depresivnih epizoda ($p=0,223$), ali je statistički značajna razlika prisutna u odnosu na ukupan broj epizoda ($p=0,001$).

Tabela 14. Broj depresivnih, maničnih i svih epizoda tokom bolesti

			Broj depresivnih epizoda	Broj maničnih epizoda	Ukupan broj epizoda
Dijagnoza	Depresija	N	32	32	32
		\bar{x}	5,66	0,00	5,66
		SD	3,72	0,00	3,72
		Med	4,00	0,00	4,00
		Min	1,00	0,00	1,00
		Maks	17,00	0,00	17,00
	Bipolarni poremećaj	N	29	29	29
		\bar{x}	7,45	2,21	11,31
		SD	5,47	2,27	8,10
		Med	5,00	2,00	9,00
		Min	2,00	0,00	3,00
		Maks	22,00	8,00	33,00

U prvoj grupi ispitanika ukupan broj hospitalizacija iznosi ($\bar{x}\pm SD$) $4,78\pm 4,07$, dok je kod druge grupe ispitanika broj hospitalizacija ($\bar{x}\pm SD$) $9,45\pm 8,61$ (tabela 15). Između grupa postoji statistički značajna razlika ($Z= -2,680$; $p=0,007$).

Tabela 15. Broj hospitalizacija tokom bolesti

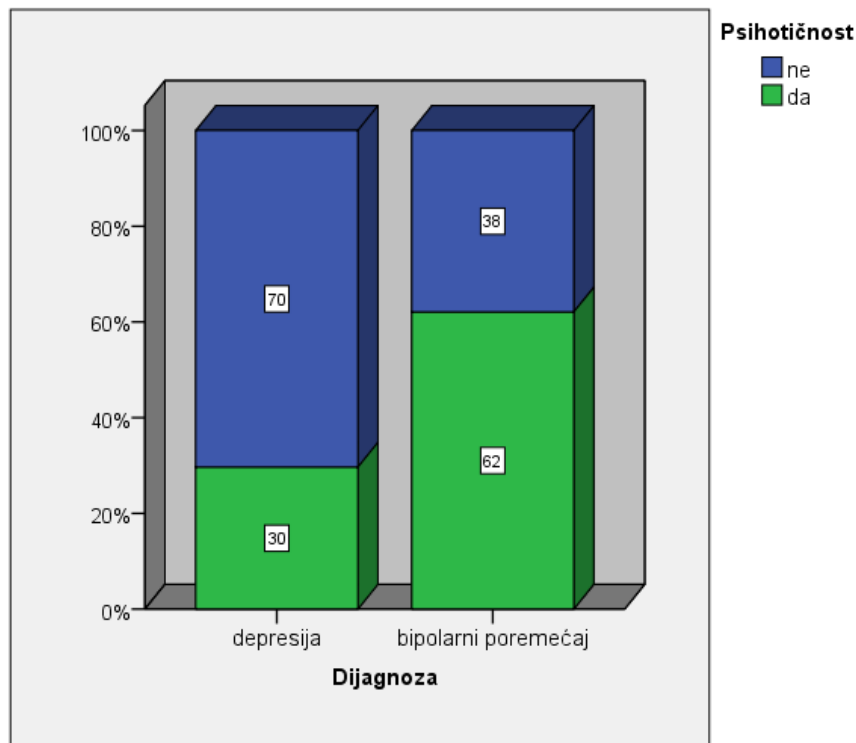
		Broj hospitalizacija					
		N	\bar{x}	SD	Med	Min	Maks
Dijagnoza	Depresija	32	4,78	4,07	3,50	1,00	14,00
	Bipolarni poremećaj	29	9,45	8,61	8,00	1,00	36,00

4.1.8. Prisustvo psihotičnosti

U grupi pacijenata sa dijagnozom depresije 8 ispitanika (29,6%) je imalo psihotične simptome, dok je u grupi pacijenata sa bipolarnim poremećajem čak 18 ispitanika (62,1%) imalo psihotične simptome (tabela 16). Ova razlika među grupama je statistički značajna (χ^2 test 5,916; p=0,015) (grafikon 6).

Tabela 16. Prisustvo psihotičnosti

			Psihotičnost		Ukupno
			ne	da	
Dijagnoza	Depresija	N	19	8	27
		%	70,4%	29,6%	100,0%
	Bipolarni poremećaj	N	11	18	29
		%	37,9%	62,1%	100,0%
Svega		N	30	26	56
		%	53,6%	46,4%	100,0%



Grafikon 6. Prisustvo psihotičnosti tokom bolesti.

4.2. REZULTATI SKALA KLINIČKE PROCENE

4.2.1. Skala za opšti klinički utisak

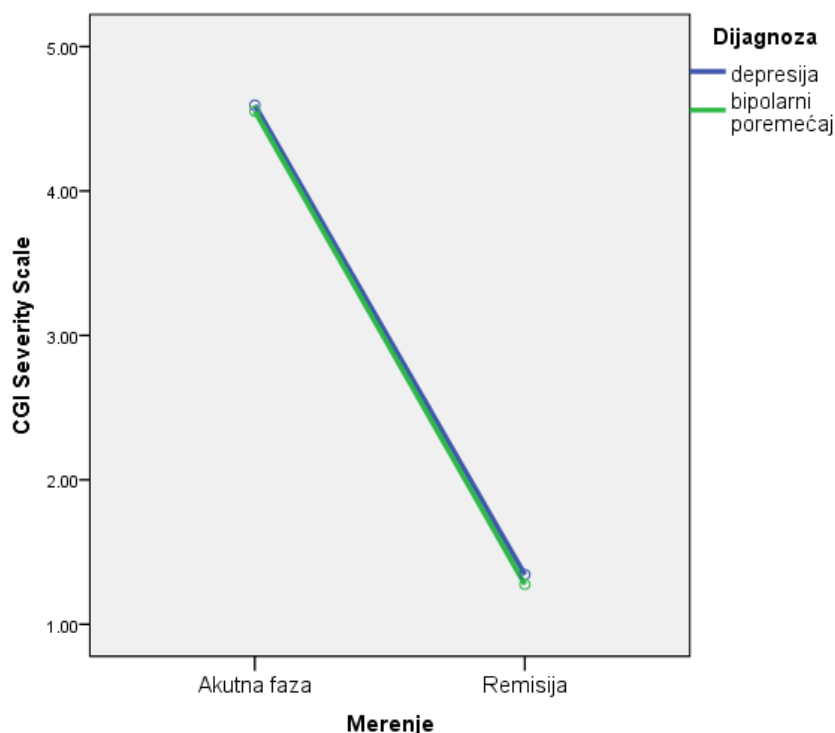
Skala za opšti klinički utisak se sastoji od tri dela: težina bolesti, ukupno poboljšanje i indeks efikasnosti. Rezultati za težinu bolesti pokazuju da je skor težine bolesti u akutnoj fazi u grupi obolelih od depresije iznosio($\bar{x}\pm SD$) 4,59 \pm 0,83, dok je u grupi obolelih od bipolarnog poremećaja iznosio($\bar{x}\pm SD$) 4,59 \pm 0,67 (tabela 17). U remisiji, u prvoj grupi skor težine bolesti je bio($\bar{x}\pm SD$) 1,34 \pm 0,48, a u drugoj grupi($\bar{x}\pm SD$) 1,26 \pm 0,48 (tabela 18). Analizom varijanse za ponovljena merenja dobijena je statistički značajna razlika po faktoru merenje ($F=1202,3$; $p<0,001$) dok po faktoru dijagnoza ($F=0,181$; $p=0,672$) i u interakciji oba faktora ($F=0,019$; $p=0,891$) nije dobijena statistički značajna razlika (grafikon 7).

Tabela 17. Rezultati skale za opšti klinički utisak – težina bolesti u akutnoj fazi

		Opšti klinički utisak (CGI) – Težina bolesti (akutna faza)					
		N	\bar{x}	SD	Med	Min	Maks
Dijagnoza	Depresija	32	4,59	0,67	4,50	4,00	6,00
	Bipolarni poremećaj	29	4,55	0,83	4,00	4,00	7,00
	Ukupno	61	4,57	0,74	4,00	4,00	7,00

Tabela 18. Rezultati skale za opšti klinički utisak – težina bolesti u remisiji

		Opšti klinički utisak (CGI) – Težina bolesti (remisija)					
		N	\bar{x}	SD	Med	Min	Maks
Dijagnoza	Depresija	32	1,34	0,48	1,00	1,00	2,00
	Bipolarni poremećaj	29	1,28	0,45	1,00	1,00	2,00
	Ukupno	61	1,31	0,47	1,00	1,00	2,00



Grafikon 7. Rezultati skale za opšti klinički utisak (CGI) – težina bolesti u akutnoj fazi i fazi remisije.

U fazi remisije, u grupi ispitanika sa dijagnozom depresije skor ukupno poboljšanje iznosio je ($\bar{x} \pm SD$) $1,28 \pm 0,52$, a grupi ispitanika sa dijagnozom bipolarnog poremećaja ($\bar{x} \pm SD$) $1,76 \pm 0,58$ (tabela 19). Upotrebom Mann-Whitney-jevog testa pokazana je statistički značajna razlika između grupa ($Z = -3,318$; $p = 0,01$).

Tabela 19. Rezultati skale za opšti klinički utisak ukupno poboljšanje u remisiji

		Opšti klinički utisak (CGI) – Ukupno poboljšanje (remisija)					
		N	\bar{x}	SD	Med	Min	Maks
Dijagnoza	Depresija	32	1,28	0,52	1,00	1,00	3,00
	Bipolarni poremećaj	29	1,76	0,58	2,00	1,00	3,00
	Ukupno	61	1,51	0,60	1,00	1,00	3,00

U fazi remisije, u prvoj grupi skor indeks efikasnosti iznosio je ($\bar{x} \pm SD$) $3,84 \pm 1,65$, a u drugoj grupi ($\bar{x} \pm SD$) $4,31 \pm 2,39$ (tabela 20). Upotrebom Mann-Whitney-jevog testa nije pokazana statistički značajna razlika između grupa ($Z = -0,997$; $p = 0,319$).

Tabela20. Rezultati skale za opšti klinički utisak – indeks efikasnosti u remisiji

		Opšti klinički utisak (CGI) – Indeks efikasnosti (remisija)					
		N	\bar{x}	SD	Med	Min	Maks
Dijagnoza	Depresija	32	3,84	1,65	4,00	1,00	6,00
	Bipolarni poremećaj	29	4,31	2,39	5,00	1,00	10,00
	Ukupno	61	4,07	2,03	5,00	1,00	10,00

4.2.2. Hamiltonova skala za procenu depresivnosti

Za procenu depresivnosti korišćena je Hamiltonova skala depresivnosti. Dobijeni rezultati pokazuju da je u akutnoj fazi u grupi obolelih od depresije prosečan skor depresivnosti iznosio ($\bar{x} \pm SD$) 27,41 \pm 5,19, a u grupi obolelih od bipolarnog poremećaja ($\bar{x} \pm SD$) 27,41 \pm 10,56 (tabela 21). Dodatno, analiza stepena težine depresivnih simptoma pokazala je da u grupi pacijenata sa depresijom nije bilo ispitanika sa blagom depresivnošću, bilo je 2 (6,3%) ispitanika sa umerenom depresivnošću i 30 (93,7%) sa teškom depresivnošću (tabela 22). U grupi sa bipolarnim poremećajem 1 (3,4%) ispitanik je imao blagu depresivnost, 5 (17,2%) umerenu i 23 (79,3%) tešku depresivnost. Statističkom analizom nije pokazana statistička značajnost u distribuciji pacijenata prema stepenu depresivnosti između grupa (χ^2 test 3,681; p=296).

Tabela21. Rezultati Hamiltonove skale za procenu depresivnosti u akutnoj fazi

		Hamiltonova skala depresivnosti (akutna faza)					
		N	\bar{x}	SD	Med	Min	Maks
Dijagnoza	Depresija	32	27,41	5,19	28,00	17,00	36,00
	Bipolarni poremećaj	29	27,41	10,56	26,00	13,00	46,00
	Ukupno	61	27,41	8,12	28,00	13,00	46,00

Tabela22. Distribucija pacijenata prema težini depresivnosti u akutnoj fazi

Stepen depresivnosti (akutna faza)		N	Dijagnoza		Ukupno
			Depresija	Bipolarni poremećaj	
	blaga	N	0	1	1
		%	0,0%	3,4%	1,6%
	umerena	N	2	5	7
	%	6,3%	17,2%	11,5%	
teška	N	30	23	7	
	%	93,7%	79,3%	11,5%	

U remisiji prosečan skor depresivnosti u grupi pacijenata sa depresijom bio je ($\bar{x}\pm SD$) 8,47 \pm 2,12, dok je u grupi ispitanika sa bipolarnim poremećajem bio ($\bar{x}\pm SD$) 6,97 \pm 5,94 (tabela 23). Analiza stepena težine depresivnih simptoma pokazala je da je u prvoj grupi bilo 13 (40,6%) ispitanika bez depresivnosti, 18 (56,3%) ispitanika sa blagom depresivnošću i 1 (3,1%) sa umerenom depresivnošću. U drugoj grupi 18 (62,1%) ispitanika je bilo bez depresivnosti, 8 (27,6%) sa blagom depresivnošću, 1 (3,4%) sa umerenom depresivnošću i 2 (6,9%) sa teškom depresivnošću (tabela 24). Grupe se nisu statistički značajno razlikovale u odnosu na stepen depresivnosti (χ^2 test 6,521; p=0,089).

Tabela 23. Rezultati Hamiltonove skale za procenu depresivnosti u remisiji

		Hamiltonova skala depresivnosti (remisija)					
		N	\bar{x}	SD	Med	Min	Maks
Dijagnoza	Depresija	32	8,47	2,12	8,00	4,00	14,00
	Bipolarni poremećaj	29	6,97	5,94	6,00	0,00	25,00
	Ukupno	61	7,75	4,40	7,00	0,00	25,00

Tabela 24. Distribucija pacijenata prema težini depresivnosti u remisiji

			Dijagnoza		Ukupno
			Depresija	Bipolarni poremećaj	
Stepen depresivnosti (remisija)	nema	N	13	18	31
		%	40,6%	62,1%	50,8%
	blaga	N	18	8	26
		%	56,3%	27,6%	42,6%
umerena	N	1	1	2	
	%	3,1%	3,4%	3,3%	
teška	N	0	2	2	
	%	0,0%	6,9%	3,3%	

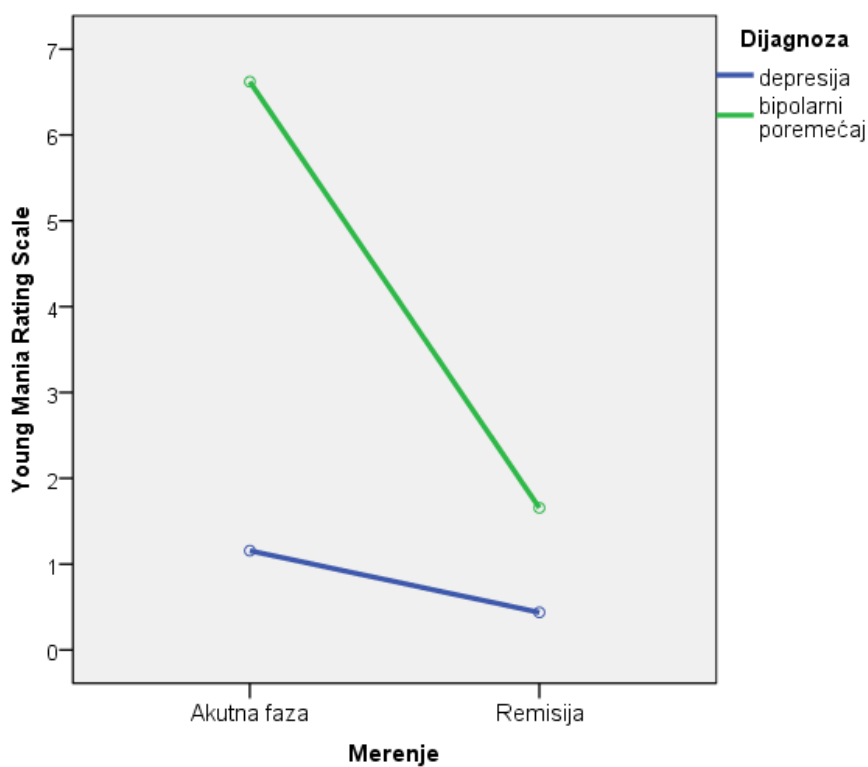
4.2.3. Jangova skala za procenu manije

Za procenu manije korišćena je Jangova skala manije. U akitnoj fazi, u prvoj grupi ispitanika prosečan skor Jangove skale iznosio je ($\bar{x}\pm SD$) 1,16 \pm 0,57, dok je u drugoj grupi iznosio ($\bar{x}\pm SD$) 6,62 \pm 4,75 (tabela 25). U remisiji, u prvoj grupi ispitanika prosečan skor Jangove skale iznosio je ($\bar{x}\pm SD$) 0,44 \pm 0,62, dok je u drugoj grupi iznosio ($\bar{x}\pm SD$) 1,66 \pm 2,21. Analizom varijanse za ponovljena merenja dobijena je visoko statistički značajna razlika po faktoru merenje (F=96,211; p<0,001), po faktoru

dijagnoza ($F=31,371$; $p<0,001$) i u interakciji oba faktora ($F=53,702$; $p<0,001$) (grafikon 8).

Tabela 25. Rezultati Janogve skale za procenu manije u akutnoj fazi i remisiji

	Dijagnoza	\bar{x}	SD	N
Jangova skala manije (akutna faza)	Depresija	1,16	0,57	32
	Bipolarni poremećaj	6,62	4,75	29
	Ukupno	3,75	4,27	61
Jangova skala manije (remisija)	Depresija	0,44	0,62	32
	Bipolarni poremećaj	1,66	2,21	29
	Ukupno	1,02	1,69	61

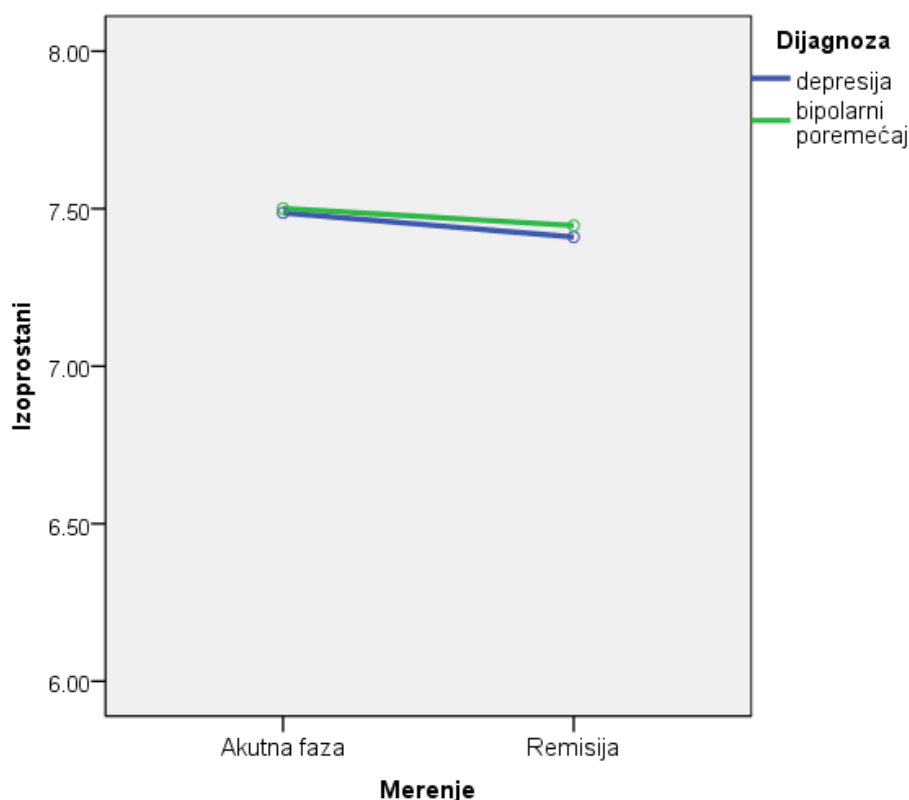


Grafikon 8. Rezultati Jangove skale manije u akutnoj fazi i fazi remisije.

4.3. REZULTATI BIOHEMIJSKIH ANALIZA

4.3.1. Koncentracija 8-izoprostana u serumu ispitanika

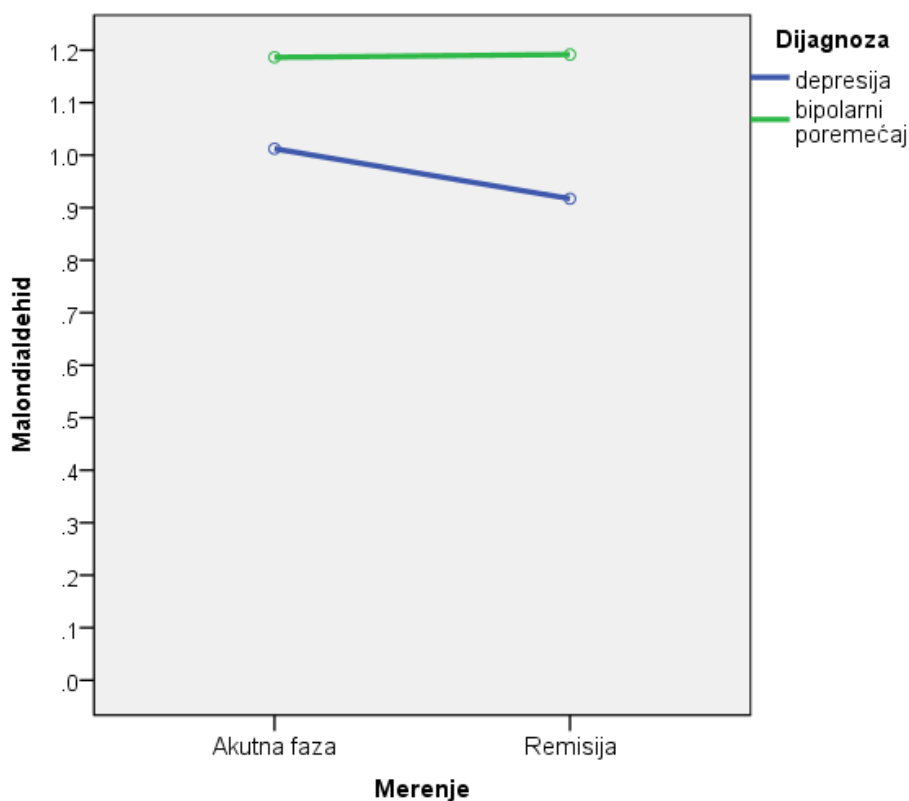
Koncentracija 8-izoprostana određivana je u serumu ispitanika obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije. U akutnoj fazi, u grupi pacijenata obolelih od depresije koncentracija je bila ($\bar{x}\pm SD$) $7,49\pm 0,36$ nmol/ml, a u grupi pacijenata sa dijagnozom bipolarnog poremećaja ($\bar{x}\pm SD$) $7,50\pm 0,25$ nmol/ml. U remisiji, u prvoj grupi pacijenata koncentracije je iznosila ($\bar{x}\pm SD$) $7,41\pm 0,38$ nmol/ml, a u drugoj grupi ($\bar{x}\pm SD$) $7,45\pm 0,30$ nmol/ml (grafikon 9). Analizom varijanse za ponovljena merenja nije dobijena statistički značajna razlika po faktoru merenje ($F=1,317$; $p=0,256$) i po faktoru dijagnoza ($F=0,160$; $p=0,691$), niti u interakciji oba faktora ($F=0,038$; $p=0,847$).



Grafikon 9. Koncentracija 8-izoprostana u serumu pacijenata obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije.

4.3.2. Koncentracija malondialdehida u serumu ispitanika

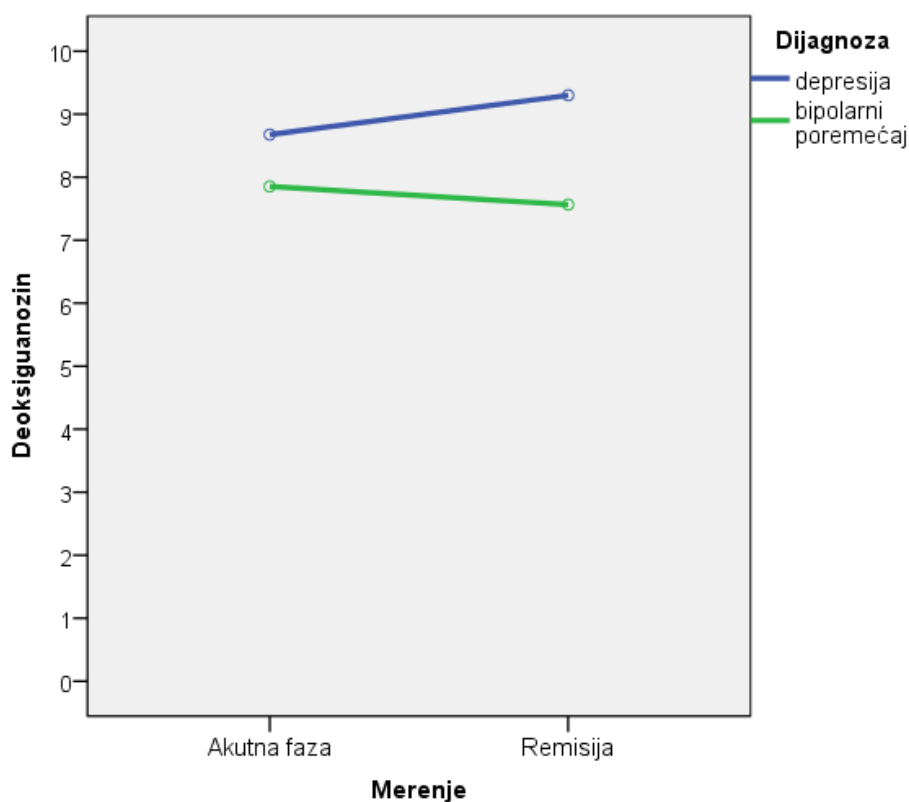
Koncentracija malondialdehida (MDA) određivana je u serumu ispitanika obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije. U akutnoj fazi, u prvoj grupi pacijenata koncentracija je bila ($\bar{x}\pm SD$) $1,01\pm 1,05$ nmol/ml, a u drugoj grupi ($\bar{x}\pm SD$) $1,19\pm 0,44$ nmol/ml. U remisiji, u grupi pacijenata sa depresijom koncentracije je iznosila ($\bar{x}\pm SD$) $0,92\pm 0,88$ nmol/ml, a u grupi pacijenata sa bipolarnim poremećajem ($\bar{x}\pm SD$) $1,19\pm 0,53$ nmol/ml (grafikon 10). Analizom varijanse za ponovljena merenja nije dobijena statistički značajna razlika po faktoru merenje ($F=0,287$; $p=0,596$) i po faktoru dijagnoza ($F=0,743$; $p=0,395$), niti u interakciji oba faktora ($F=0,359$; $p=0,553$).



Grafikon 10. Koncentracija malondialdehida (MDA) u serumu pacijenata obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije.

4.3.3. Koncentracija 8-hidroksi-2'-deoksiguanozina u serumu ispitanika

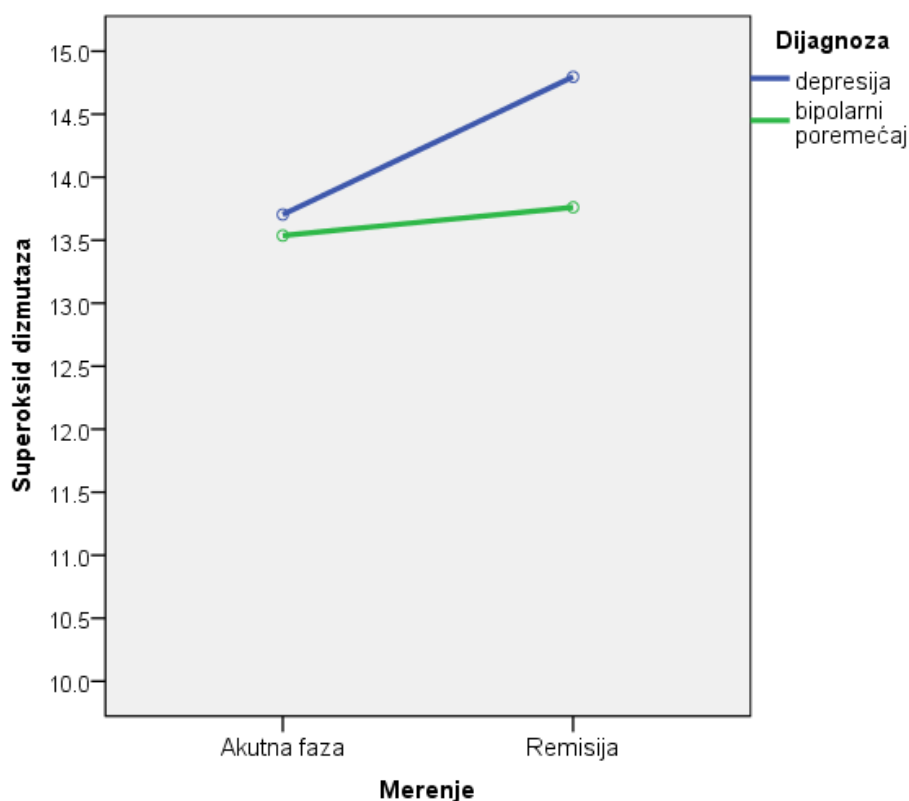
Koncentracija 8-hidroksi-2'-deoksiguanozina (8-OHdG) određivana je u serumu ispitanika obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije. U akutnoj fazi, u grupi pacijenata obolelih od depresije koncentracija je iznosila ($\bar{x}\pm SD$) $8,68\pm 4,15$ nmol/ml, a u grupi pacijenata sa dijagnozom bipolarnog poremećaja ($\bar{x}\pm SD$) $7,85\pm 1,55$ nmol/ml. U remisiji, u prvoj grupi pacijenata koncentracije 8-OHdG je bila ($\bar{x}\pm SD$) $9,30\pm 4,00$ nmol/ml, a u drugoj grupi ($\bar{x}\pm SD$) $7,55\pm 1,63$ nmol/ml (grafikon 11). Analizom varijanse za ponovljena merenja nije dobijena statistički značajna razlika po faktoru merenje ($F=0,107$; $p=0,745$) i po faktoru dijagnoza ($F=2,339$; $p=0,133$), niti u interakciji oba faktora ($F=0,788$; $p=0,379$).



Grafikon 11. Koncentracija 8-hidroksi-2'-deoksiguanozina (8-OHdG) u serumu pacijenata obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije.

4.3.4. Aktivnost superoksid dizmutaze u serumu ispitanika

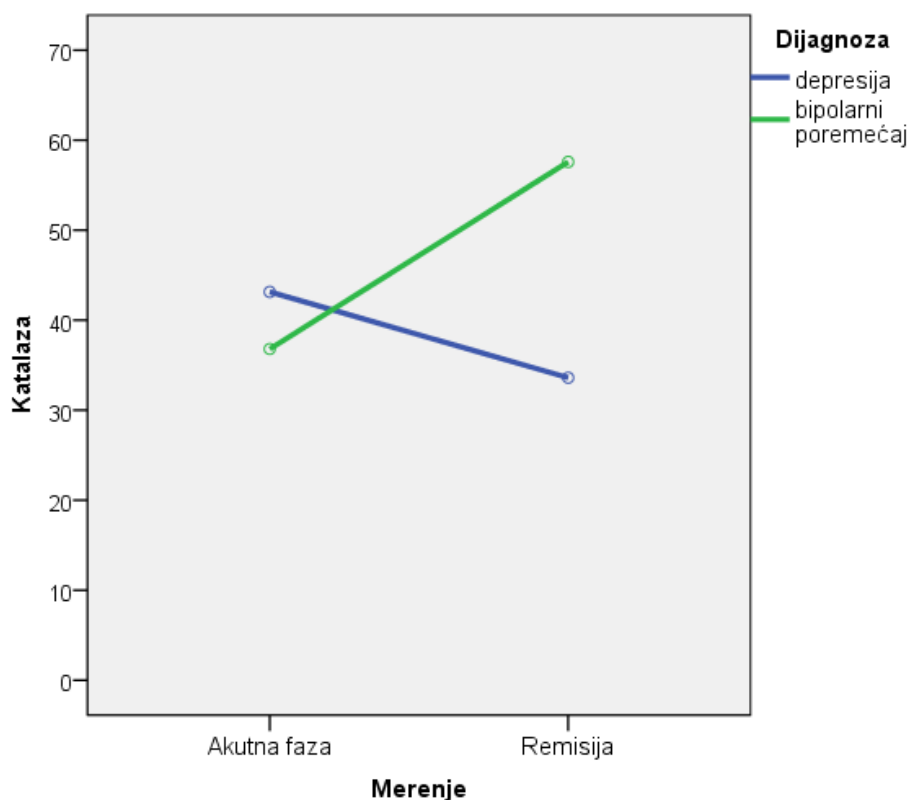
Aktivnost superoksid dizmutaze (SOD) merena je u serumu ispitanika obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije. U akutnoj fazi, u prvoj grupi pacijenata aktivnost SOD je bila ($\bar{x}\pm SD$) $13,70\pm 5,24$ U/ml, a u drugoj grupi ($\bar{x}\pm SD$) $13,54\pm 5,14$ U/ml. U remisiji, u grupi pacijenata sa depresijom aktivnost enzima je bila ($\bar{x}\pm SD$) $14,80\pm 5,22$ U/ml, a u grupi pacijenata sa bipolarnim poremećajem ($\bar{x}\pm SD$) $13,76\pm 5,53$ U/ml (grafikon 12). Analizom varijanse za ponovljena merenja nije dobijena statistički značajna razlika po faktoru merenje ($F=1,763$; $p=0,190$) i po faktoru dijagnoza ($F=0,207$; $p=0,651$), niti u interakciji oba faktora ($F=0,767$; $p=0,385$).



Grafikon 12. Aktivnost superoksid dizmutaze (SOD) u serumu pacijenata obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije.

4.3.5. Aktivnost katalaze u serumu ispitanika

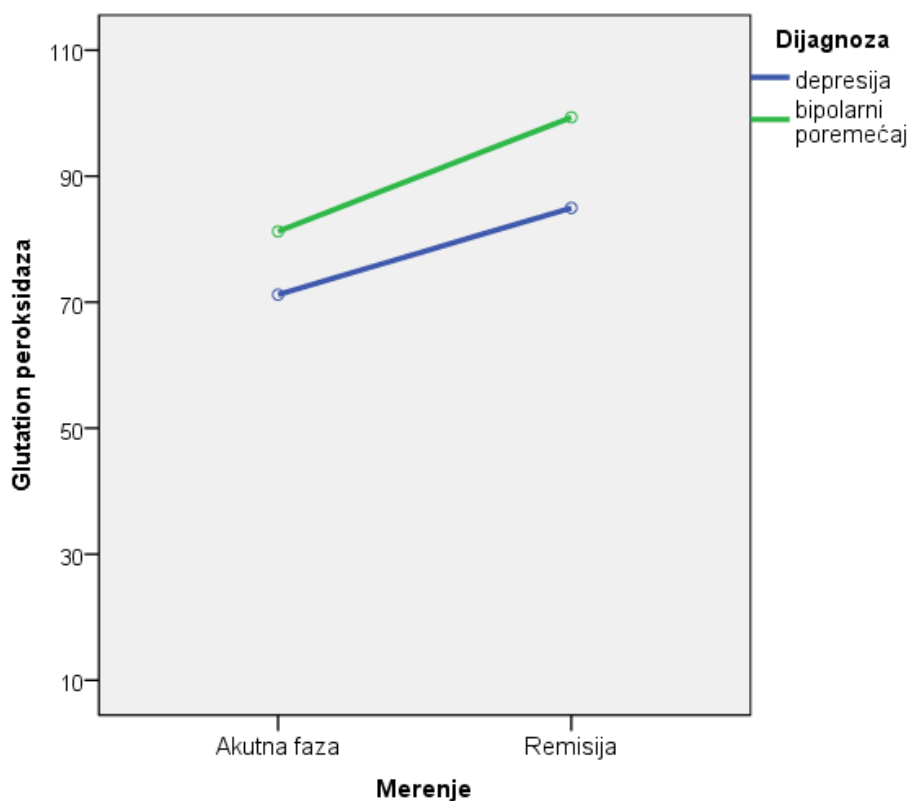
Aktivnost katalaze (CAT) merena je u serumu ispitanika obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije. U akutnoj fazi, u grupi pacijenata sa dijagnozom unipolarne depresije aktivnost CAT je bila ($\bar{x}\pm SD$) 43,14 \pm 35,40 U/ml, a u grupi pacijenata sa dijagnozom bipolarnog poremećaja ($\bar{x}\pm SD$) 36,80 \pm 39,58 U/ml. U remisiji, u serumu pacijenata sa depresijom aktivnost CAT je bila ($\bar{x}\pm SD$) 33,60 \pm 26,63 U/ml, a u serumu pacijenata sa bipolarnim poremećajem ($\bar{x}\pm SD$) 57,59 \pm 68,88 U/ml (grafikon 13). Analizom varijanse za ponovljena merenja nije dobijena statistički značajna razlika po faktoru merenje ($F=0,366$; $p=0,549$) i po faktoru dijagnoza ($F=0,642$; $p=0,428$), niti u interakciji oba faktora ($F=2,662$; $p=0,112$).



Grafikon 13. Aktivnost katalaze (CAT) u serumu pacijenata obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije.

4.3.6. Aktivnost glutacion peroksidaze u serumu ispitanika

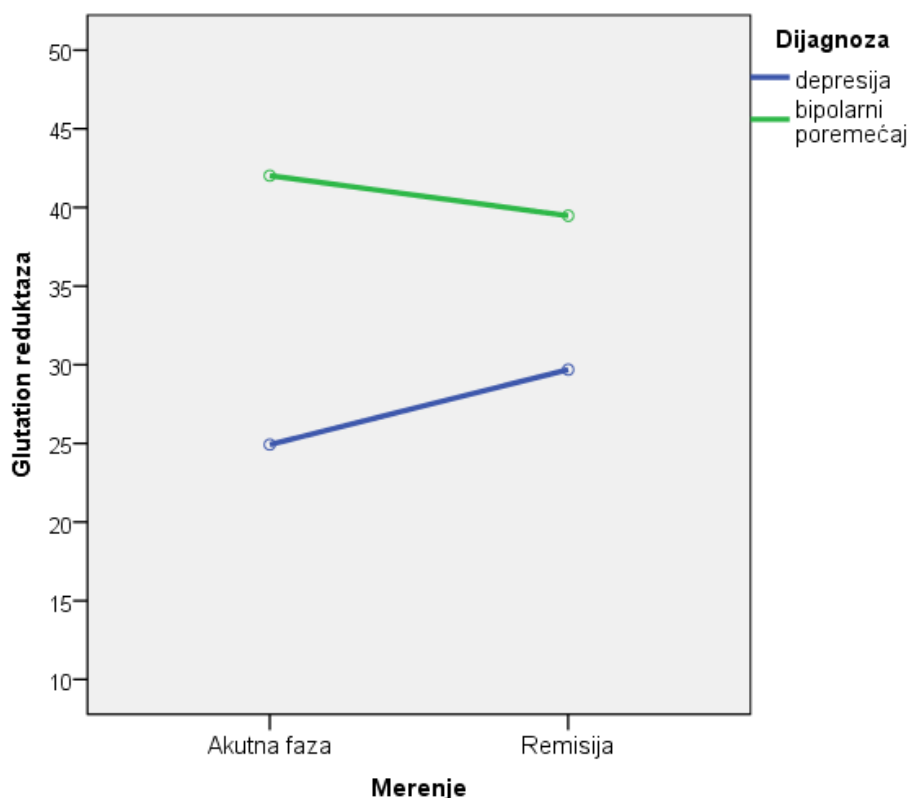
Aktivnost glutacion peroksidaze (GPx) određivana je u serumu ispitanika obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije. U akutnoj fazi, u prvoj grupi ispitanika aktivnost enzima je bila ($\bar{x}\pm SD$) $71,20\pm 47,51$ U/ml, a u drugoj grupi ($\bar{x}\pm SD$) $81,24\pm 46,85$ U/ml. U remisiji, u prvoj grupi pacijenata aktivnost enzima je iznosila ($\bar{x}\pm SD$) $84,96\pm 52,20$ U/ml, a u drugoj grupi ($\bar{x}\pm SD$) $99,35\pm 64,44$ U/ml (grafikon 14). Analizom varijanse za ponovljena merenja nije dobijena statistički značajna razlika po faktoru merenje ($F=2,090$; $p=0,156$) i po faktoru dijagnoza ($F=0,967$; $p=0,331$), niti u interakciji oba faktora ($F=0,039$; $p=0,845$).



Grafikon 14. Aktivnost glutacion peroksidaze (GPx) u serumu pacijenata obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije.

4.3.7. Aktivnost glutation reduktaze u serumu ispitanika

Aktivnost glutation reduktaze (GR) merena je u serumu ispitanika obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije. U akutnoj fazi, u grupi pacijenata sa dijagnozom depresije aktivnost GR je iznosila ($\bar{x}\pm SD$) $24,93\pm 10,53$ U/ml, a u grupi pacijenata sa dijagnozom bipolarnog poremećaja ($\bar{x}\pm SD$) $42,02\pm 25,16$ U/ml. U remisiji, u serumu pacijenata sa depresijom aktivnost GR je bila ($\bar{x}\pm SD$) $29,69\pm 12,29$ U/ml, a u serumu pacijenata sa bipolarnim poremećajem ($\bar{x}\pm SD$) $39,47\pm 23,73$ U/ml (grafikon 15). Analizom varijanse za ponovljena merenja dobijena je statistički značajna razlika po faktoru dijagnoza ($F=10,727$; $p=0,02$), dok po faktoru merenje ($F=0,072$; $p=0,790$) i u interakciji oba faktora ($F=0,779$; $p=0,383$) nije dobijena statistički značajna razlika.



Grafikon 15. Aktivnost glutation reduktaze (GR) u serumu pacijenata obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije.

4.4. KORELACIJE

U cilju boljeg sagledavanja promena u parametrima oksidativnog stresa i povezanosti tih promena sa kliničkom slikom i tokom bolesti ispitivali smo povezanost parametara oksidativnog stresa sa brojem epizoda i dužinom trajanja bolesti (tabela) i sa rezultatima skale za procenu depresivnosti (tabela), i to kod svih pacijenata zajedno i u obe grupe pojedinačno.

Tabela 26. Korelacija parametara oksidativnog stresa sa ukupnim brojem epizoda i dužinom trajanja bolesti kod svih pacijenata

	Ukupan broj epizoda			Dužina trajanja bolesti (god)		
	Spearman-ov rho koeficijent	p	N	Spearman-ov rho koeficijent	p	N
Izoprostani u akutnoj fazi	-0,088	0,507	59	-0,118	0,374	59
Izoprostani u remisiji	0,182	0,169	59	0,105	0,428	59
8-OHdG u akutnoj fazi	0,049	0,731	52	0,007	0,960	52
8-OHdG u remisiji	0,001	0,995	49	0,075	0,606	49
MDA u akutnoj fazi	0,391*	0,018	36	0,263	0,121	36
MDA u remisiji	0,114	0,510	36	0,129	0,452	36
SOD u akutnoj fazi	0,062	0,656	54	0,140	0,313	54
SOD u remisiji	-0,111	0,430	53	-0,074	0,601	53
CAT u akutnoj fazi	0,017	0,919	40	-0,220	0,173	40
CAT u remisiji	0,032	0,833	47	-0,188	0,206	47
GPx u akutnoj fazi	0,013	0,934	46	0,055	0,716	46
GPx u remisiji	-0,021	0,891	43	-0,174	0,265	43
GR u akutnoj fazi	-0,114	0,489	39	-0,163	0,320	39
GR u remisiji	0,008	0,960	39	-0,022	0,894	39

Tabela 27. Korelacija parametara oksidativnog stresa sa ukupnim brojem epizoda i dužinom trajanja bolesti kod obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja

	Ukupan broj epizoda			Dužina trajanja bolesti (god)		
	Spearman-ov rho koeficijent	p	N	Spearman-ov rho koeficijent	p	N
Depresija						
Izoprostani u akutnoj fazi	-0,306	0,100	30	-0,271	0,148	30
Izoprostani u remisiji	0,086	0,651	30	-0,214	0,255	30
8-OHdG u akutnoj fazi	0,072	0,704	30	-0,054	0,778	30
8-OHdG u remisiji	0,121	0,523	30	0,134	0,480	30
MDA u akutnoj fazi	0,415	0,061	21	0,123	0,595	21
MDA u remisiji	0,308	0,175	21	0,317	0,161	21
SOD u akutnoj fazi	0,015	0,939	29	0,297	0,118	29
SOD u remisiji	0,066	0,734	29	0,274	0,150	29
CAT u akutnoj fazi	0,183	0,405	23	-0,158	0,472	23
CAT u remisiji	0,005	0,980	28	-0,127	0,519	28
GPx u akutnoj fazi	0,266	0,198	25	0,208	0,319	25
GPx u remisiji	-0,132	0,559	22	-0,231	0,300	22
GR u akutnoj fazi	-0,316	0,152	22	-0,213	0,341	22
GR u remisiji	0,017	0,941	22	0,143	0,527	22
Bipolarni poremećaj						
Izoprostani u akutnoj fazi	0,129	.504	29	0,052	0,787	29
Izoprostani u remisiji	0,235	.221	29	0,383*	0,040	29
8-OHdG u akutnoj fazi	0,126	.576	22	0,160	0,477	22
8-OHdG u remisiji	0,344	.150	19	0,429	0,067	19
MDA u akutnoj fazi	-0,244	.380	15	-0,161	0,567	15
MDA u remisiji	-0,538*	.038	15	-0,550*	0,034	15
SOD u akutnoj fazi	0,142	.500	25	0,012	0,956	25
SOD u remisiji	-0,234	.272	24	-0,398	0,054	24
CAT u akutnoj fazi	-0,106	.686	17	-0,235	0,364	17
CAT u remisiji	-0,099	.688	19	-0,341	0,153	19
GPx u akutnoj fazi	-0,246	.283	21	-0,099	0,669	21
GPx u remisiji	-0,008	.971	21	-0,201	0,382	21
GR u akutnoj fazi	-0,353	.165	17	-0,538*	0,026	17
GR u remisiji	-0,020	.938	17	-0,181	0,487	17

Tabela 28. Korelacija parametara oksidativnog stresa sa skorovima na Hamiltonovoj skali za procenu depresivnosti kod svih pacijenata

	Hamiltonova skala depresivnosti		
	Spearman-ov rho koeficijent	p	N
Izoprostani u akutnoj fazi	-0,059	0,659	59
Izoprostani u remisiji	0,265*	0,043	59
8-OHdG u akutnoj fazi	-0,157	0,266	52
8-OHdG u remisiji	-0,015	0,921	49
MDA u akutnoj fazi	0,015	0,929	36
MDA u remisiji	-0,166	0,333	36
SOD u akutnoj fazi	0,072	0,606	54
SOD u remisiji	-0,073	0,602	53
CAT u akutnoj fazi	0,221	0,171	40
CAT u remisiji	0,087	0,559	47
GPx u akutnoj fazi	-0,223	0,136	46
GPx u remisiji	-0,109	0,488	43
GR u akutnoj fazi	-0,014	0,930	39
GR u remisiji	-0,192	0,242	39

Tabela 29. Korelacija parametara oksidativnog stresa sa skorovima na Hamiltonovoj skali za procenu depresivnosti kod obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja

	HAMD (depresija)			HAMD (bipolarni poremećaj)		
	Spearman-ov rho koeficijent	p	N	Spearman-ov rho koeficijent	p	N
Izoprostani u akutnoj fazi	-0,052	0,783	30	-0,096	0,622	29
Izoprostani u remisiji	0,549	0,002	30	0,102	0,598	29
8-OHdG u akutnoj fazi	0,045	0,812	30	-0,387	0,075	22
8-OHdG u remisiji	-0,203	0,282	30	0,037	0,880	22
MDA u akutnoj fazi	0,003	0,989	21	0,042	0,882	15
MDA u remisiji	0,086	0,712	21	-0,208	0,457	15
SOD u akutnoj fazi	0,271	0,156	29	-0,104	0,621	25
SOD u remisiji	-0,123	0,525	29	-0,214	0,316	25
CAT u akutnoj fazi	0,270	0,213	23	0,153	0,556	17
CAT u remisiji	-0,035	0,859	28	0,257	0,289	17
GPx u akutnoj fazi	-0,147	0,482	25	-0,328	0,146	21
GPx u remisiji	-0,157	0,486	22	-0,069	0,765	21
GR u akutnoj fazi	0,126	0,576	22	-0,111	0,672	17
GR u remisiji	-0,243	0,277	22	0,011	0,968	17

V. DISKUSIJA

Ova studija obuhvatila je dve grupe pacijenata, obolele od unipolarne depresije i bipolarnog afektivnog poremećaja, sa ciljem procene parametara oksidativnog stresa u toku akutne, depresivne epizode i nakon nastanka remisije. Grupe su činili ispitanici koji su tokom akutne epizode hospitalizovani na Klinici za psihijatriju Kliničkog Centra Srbije. Grupe se nisu značajno razlikovale po najvažnijim sociodemografskim podacima, uključujući pol, uzrast, stepen obrazovanja, zaposlenje i bračni status. Oboleli od bipolarnog poremećaja su, međutim, češće u odnosu na obolele od depresije imali veći broj dece. Pozitivan hereditet je bio nešto češće prisutan kod obolelih od bipolarnog poremećaja, iako ta razlika nije pokazala statističku značajnost. Pokušaj suicida je, takođe, češće bio prisutan kod obolelih od bipolarnog poremećaja. U odnosu na tok bolesti, karakteristično je da je kod obolelih od bipolarnog poremećaja početak bolesti nastupao ranije, nekih desetak godina pre u odnosu na obolele od depresije. Takođe, u grupi ispitanika sa dijagnozom bipolarnog poremećaja bio je prisutan veći broj epizoda, kao i češće hospitalizacije, što odgovara i podacima iz literature (Bauer i Pfennig, 2005).

U skladu sa ciljevima istraživanja vršena je procena oksidativnog stresa kod ispitanika merenjem biomarkera oksidativnog oštećenja lipida (8-izoprostani i malondialdehid) i DNK (8-hidroksi-2'-deoksiguanozina), kao i antioksidativnih enzima (superoksid dizmutaze, katalaze, glutation peroksidaze i glutation reduktaze) u serumu obolelih. Jedan od glavnih ciljeva studije je bio utvrđivanje razlike u parametrima oksidativnog stresa između unipolarne i bipolarne depresije. Nakon pažljive evaluacije i statističke analize izmerenih obeležja, nisu pronađene razlike u biomarkerima oksidativnog oštećenja među grupama obolelih. Dodatno, razlika nije postajala ni u različitim vremenima merenja, odnosno na početku akutne epizode i nakon postizanja remisije. Slično je bilo sa izmerenom aktivnošću enzima oksidativnog stresa. Međutim, jedini parametar oksidativnog stresa koji se razlikovao među grupama je bio enzim glutation reduktaza, čija je aktivnost u serumu bila viša kod obolelih od bipolarnog poremećaja, kako u akutnoj fazi, tako i u fazi remisije. Ukoliko se zanemari ovaj izuzetak, može se zaključiti da se među obolelima od unipolarne i bipolarne depresije

javlja veoma sličan obrazac promene parametara oksidativnog stresa u akutnoj depresivnoj epizodi, ali i po postizanju remisije. Dodatno, naša studija nije utvrdila razlike u nivou oksidativnog stresa u akutnoj epizodi i u remisije u obe grupe obolelih. Ovakvi rezultati se mogu tumačiti na više načina. Moguće je da su promene u oksidativnom statusu kod pacijenata obolelih od depresije i bipolarnog poremećaja stalne, odnosno ne zavise od epizode, pa se ne mogu se koristiti kao markeri stanja (engl. *state marker*), odnosno aktivne bolesti. Sa druge strane, postoji mogućnost da su promene u parametrima oksidativnog stresa sporije u odnosu na kliničke parametre remisije, te bi merenje u nekom drugom periodu, a ne neposredno nakon postizanja remisije, dala drugačije rezultate.

Postoji veliki broj dokaza o smanjenoj antioksidativnoj zaštiti kod pacijenata obolelih od depresije. Maes i sar. (2000) su ispitivali koncentraciju vitamina E u plazmi kod depresije i pokazali značajno niže nivoe vitamina E kod pacijenata u odnosu na zdravu kontrolu. Ove rezultate su potvrdili Owen i sar. (2005) i pokazali da depresivni pacijenti imaju značajno manje vitamina E u plazmi u odnosu na prethodno objavljene vrednosti kod zdravih Australijanaca. Takođe, našli su da vitamin E u plazmi značajno negativno korelira sa težinom depresije procenjenom Bekovom skalom. Dodatni podatak iz ove studije odnosi se na to da nije pronađena korelacija između unosa vitamina E hranom i vrednosti u plazmi kod pacijenta, pri čemu je 89% ispitanika dostiglo ili premašilo preporučeni unos vitamina E.

U drugoj studiji, ispitivani su bili odrasli starosti preko 60 godina (Tiemeier i sar., 2002). Vitamin E je bio značajno smanjen kod muškaraca sa depresivnim simptomima u odnosu na one bez simptoma, dok kod žena ta razlika nije pronađena. Međutim, nakon uzimanja u obzir i drugih bioloških faktora kod ove grupe ispitanika, pronađena razlika kod muškaraca je ipak značajno umanjena.

Jedan od radova navodi da su nivoi askorbinske kiseline sniženi kod pacijenata sa unipolarnom depresijom u poređenju sa kontrolnom grupom (Khanzode i sar., 2003).

Glutation je važan antioksidans čiji se sadržaj u različitim tkivima i plazmi često ispituje kod velikog broja oboljenja. Najraniji dokazi o smanjenju GSH u krvi kod obolelih od psihijatrijskih oboljenja potiču iz 1934. godine (Looney i Childs, 1934). Skorije, pronađeno je da depresivne žene imaju značajno niže koncentracije GSH u krvi

(Kodydkova i sar., 2009). Dodatno, rezultati nekih *post-mortem* studija pokazuju niže nivoe GSH, kao i enzima uključenih u metabolizam GSH, uključujući GR, GPx i glutamil-cistein ligazu (GCL), u prefrontalnom korteksu obolelih od depresije (Gawryluk i sar., 2011).

Poslednjih godina, pokazano je smanjenje koncentracije koenzima Q10 u plazmi obolelih od depresije. Maes i sar. (2009) su našli da 51,4% pacijenata obolelih od unipolarne depresije im niže vrednosti koncentracije koenzima Q10 od najniže vrednosti izmerene kod zdravih kontrola. Ovi rezultate ukazuju na povezanost depresije sa tzv. sindromom niskog koenzima Q10.

Snižene koncentracije antioksidanasa u krvi, uključujući vitamin E, vitamin C, koenzim Q10 i glutation, doprinose smanjenju ukupnog antioksidativnog kapaciteta krvi (TAC, eng. total antioxidative capacity). Rezultati koje su objavili Cumurucu i sar. (2009) potvrđuju da je TAC značajno niži kod obolelih od depresije u poređenju sa zdravima. Dodatno, pokazana je negativna korelacija između TAC i težine depresije procenjivane Montgomeri-Ašbergovom skalom. Takođe, TAC ne pokazuje normalizaciju u fazi remisije i nakon terapije antidepresivima (Gałecki i sar., 2009).

Aktivnost antioksidativnih enzima je često promenjena u toku depresije. Kodydkova i sar. (2009) su objavili niže aktivnosti GPx u krvi žena obolelih od depresije. Pre toga, Ozcan i sar. (2004) su pokazali značajno nižu aktivnost GPx kod obolelih od poremećaja raspoloženja. Ipak, pojedini autori nisu pronašli smanjenje aktivnosti GPx u plazmi ili leukocitima kod obolelih od unipolarne depresije (Srivastava i sar., 2002; Gałecki i sar., 2009). Rezultati Srivastava i sar. (2002) odnose na GPX aktivnost u leukocitima, a ne u punoj krvi ili plazmi, što može objasniti razlike u rezultatima. Kod obolelih od bipolarnog poremećaja, osim značajnog smanjenja aktivnosti GPx (Ozcan i sar., 2004), pojedini autori nisu pronašli značajnu razliku među obolelima i zdravima (Ranjekar i sar., 2003; Kuloglu i sar., 2002)

U nekoliko studija, određivana je aktivnost katalaze kod obolelih od depresije (Gałecki i sar., 2009, Szuster-Cielsieska i sar., 2008). Aktivnost katalaze u krvi je značajno viša kod obolelih, što ukazuje na određene kompenzatorne mehanizme koje oksidativni stres pokreće. S druge strane, kod obolelih od bipolarnog poremećaja rezultati pokazuju i povišene vrednosti aktivnosti u krvi (Machado-Vieira i sar., 2007),

ali češće snižene (Andreazza i sar., 2007; Ozcan i sar., 2004; Ranjekar i sar., 2003), što može ukazivati na različite antioksidativne mehanizme kod unipolarne i bipolarne depresije.

SOD spada u antioksidativne enzime čija aktivnost pokazuje najveću raznolikost kod obolelih od unipolarne i bipolarne depresije u zavisnosti od studije. SOD može imati nižu aktivnost kod obolelih od depresije (Selek i sar., 2008; Herken i sar., 2007; Szuster –Cielsieska i sar., 2008). Međutim, Sarandol i sar. (2007) pokazali su povećanje aktivnosti SOD koje je u korelaciji sa težinom bolesti. Takođe, Andreazza i sar. (2009) su našli višu aktivnost SOD i povećan odnos SOD / GSH plus katalaza, kod obolelih od depresije. Dodatno, tokom akutne faze bolesti, oboleli od depresije imaju više vrednosti aktivnosti SOD1 nego zdravi, a nakon terapije antidepresivima vrednost aktivnosti se vraća na nivoe kod zdravih ljudi (Galecki i sar., 2009).

Postoje i dokazi iz *post-mortem* studija o povećanoj aktivnosti SOD u prefrontalnom korteksu obolelih od depresije (Michel i sar., 2007). Slični kontradiktorni rezultati o promeni SOD aktivnosti u krvi su dokumentovani i kod obolelih od bipolarnog poremećaja (Andreazza i sar., 2007; Machado-Vieira i sar., 2007; Gargerlioglu i sar., 2007; Selek i sar., 2008; Savas i sar., 2006; Ozcan i sar., 2004; Ranjekar i sar., 2003; Kuloglu i sar., 2002).

Narušena ravnoteža između stvaranja slobodnih kiseoničnih i azotnih radikala i mehanizama antioksidativne zaštite dovodi do oksidativnih promena ćelijskih molekula, uključujući lipide, proteine i nukleinske kiseline. Prema tome, oksidativni i nitrozativni stres u ćeliji može značajno poremetiti strukturu i funkciju ćelijske membrane, funkciju različitih ćelijskih proteina, kao i genetski materijal ćelije.

Prvi dokazi o tome da depresija može biti praćena oksidativnim oštećenjem masnih kiselina potiču iz studija koje su pokazale smanjenje frakcije omega-3 masnih kiselina kod obolelih (Edwards i sar., 1998; Maes i sar., 1999). Edward i sar. (1998) pokazali su postojanje oksidativnog oštećenja membrane eritrocita ukazujući na procese peroksidacije masnih kiselina u sastavu fosfolipida membrana.

Jedan od najčešće korišćenih biomarkera oksidativnog stresa, odnosno oksidativnog oštećenja lipida, malondialdehid (MDA), takođe je često promenjen u

depresiji. Khanzode i sar. (2003) su pokazali više nivoe MDA u serumu kod obolelih od unipolarne depresije. Slično, Gałecky i sar. (2009) navode povišene vrednosti MDA u krvi obolelih od depresije u poređenju sa zdravom kontrolom. Dodatno, ova studija pokazala je terapija antidepresivima, npr. fluoksetinom, dovodi do smanjenja MDA. Ozcan i sar. (2004) su merili MDA kod obolelih od poremećaja raspoloženja i takođe pronašli više koncentracije MDA, ukazujući na sličnosti u oksidativnom lipidnom oštećenju kod unipolarne i bipolarne depresije.

U istraživanjima u kojima je koncentracija MDA izražavana preko TBARS (eng. thiobarbituric acid reactive species), nađen je sličan trend promene (Gałecky i sar., 2007). Postoje dokazi da su nivoi TBARS povišeni kod obolelih od bipolarnog poremećaja bez obzira na fazu bolesti (Andreazza i sar., 2007).

Dodatni dokazi o oštećenju lipida prouzrokovanom oksidativnim stresom potiču iz istraživanja koja kao biomarker koriste 8-izoprostane. U jednoj od studija, Dimopoulos i sar. (2008), pokazali su više nivoe 8-izoprostana u plazmi kod starijih pacijenata obolelih od depresije u odnosu na kontrolu zdravih. Takođe, isti autori su ukazali na pozitivnu korelaciju između nivoa 8-izoprostana i težine bolesti. U nedavnoj meta-analizi, Black i sar. (2014) potvrdili su više koncentracije 8-izoprostana kod obolelih od depresije, bez obzira na tip depresije, korišćenu vrstu biološkog uzorka ili laboratorijsku metodu.

Slobodni radikali mogu uzrokovati oštećenje jedarne i mitohondijalne DNK, dovodeći do brojnih mutagenih lezija. Jedan od važnih biomarkera oštećenja DNK je 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), završni produkt hidroksilacije guanina. U literaturi se mogu naći podaci o povećanim koncentracijama 8-OHdG kod obolelih od depresije. Serumski nivoi 8-OHdG su značajno povišeni u depresiji i viši su kod pacijenata koji su imali veći broj epizoda (Forlenza i Millers, 2006). Irie i sar. (2005) ukazali su na više koncentracije 8-OHdG u leukocitima iz periferne krvi kod obolelih od depresije. Dodatno, Wei i sar. (2009) pokazali su da pacijenti sa kolorektalnim karcinom koji imaju depresiju, imaju povišen 8-OHdG u serumu u odnosu na one bez depresije. U ranije pomenutoj meta-analizi, Black i sar (2014) su našli da je 8-OHdG povišen kod obolelih od depresije, ukazujući pri tome na jaču povezanost ovog biomarkera i depresije u studijama u kojima je kao uzorak korišćena plazma ili serum u

odnosu na urin i ukoliko je merenje vršeno imuno-esejem u odnosu na hromatografiju-masenu spektrometriju.

Osim promena makromolekula i direktnog oštećenja ćelija koje one prouzrokuju, oksidativni stres može izazvati oštećenja ćelija i pokretanjem autoimunog odgovora. Naime, promene hemijske strukture različitih makromolekula u toku oksidativnog oštećenja dovodi do stvaranja novih, modifikovanih epitopa (neoepitopa) koji mogu biti veoma imunogeni. Na primer, u toku nitrozativnog oštećenja proteina dolazi do stvaranja nitrotirozina (NO-tirozin) koji predstavlja snažan imunogeni neoepitop i uzrokuje jaku autoimunu reakciju (Ohmori i Kanayama, 2005). Danas ima sve više dokaza o autoimunom odgovoru u toku depresije, do koga dolazi usled modifikovanih masnih kiselina i proteina zbog oksidativnog oštećenja.

U toku lipidne peroksidacije lipida u sastavu LDL (engl. *low density lipoproteins*) nastaju neoepitopi koju su snažni imunogeni što za posledicu ima autoimuni odgovor i povećano stvaranje IgG i IgM (Mandal i sar., 2005). Povećanje antitela na oksidativno izmenjene LDL (oxLDL) je detektovano u mnogim oboljenima i nedvosmisleno se povezuje sa nastankom ateroskleroze (Gounopoulos i sar., 2007). Nedavno, primećeno je da se kod depresivnih pacijenata mogu naći povišeni nivoi serumskih antitela na oxLDL u poređenju sa kontrolom (Maes i sar., 2010a). Ovi rezultati ukazuju da je depresija praćena povećanom lipidnom peroksidacijom u serumu, i propratnim autoimunim odgovorom. Ovakvi rezultati, takođe, ukazuju na to da je rizik za nastanak ateroskleroze i udruženih kardiovaskularnih oboljenja veći kod obolelih od depresije (Maes i sar., 2010c).

Lipidna peroksidacija se dešava i na membranskim lipida u sastavu ćelijskih membrana. Nastanak neoepitopa je pristuan, ne samo zbog hemijski izmenjenih masnih kiselina koje nastaju prilikom peroksidacije, već i zbog otkrivanja epitopa koji su pre oštećenja ćelijske membrane bili skriveni od imunog sistema. Jedan od primera je autoimuni odgovor na fosfatidil-inozitol. U depresiji, značajan je porast IgM-posredovanog autoimunog odgovora na fosfatidil-inozitol u odnosu na zdravu kontrolu (Maes i sar., 2007). Dodatno, u ovoj studiji titar IgM antitela pozitivno je korelirao sa simptomima kao što su tuga i osećaj zamora. S obzirom na to da metabolizmom

fosfatidil-inozitola nastaju važni sekundatni glasnici, diacilglicerol i inozitol-trifosfat, može se pretpostaviti da će promene u ovom molekulu koje se javljaju tokom depresije, a verovatna su posledica oksidativnog stresa, dovesti i do promena u različitim ćelijskim procesima koji zavise od navedenih sekundarnih glasnika, npr. promene u metabolizmu serotonina (Akin i sar.,2004).

Važno je pomenuti da se farmakološko dejstvo litijuma upravo povezuje sa fosfatidil-inozitolskim signalnim putem, zbog dokaza da litijum smanjuje aktivnost protein kinaze C i ekspresiju pojedinih subjednica ovog enzima u korteksu i hipokampusu (Manji i Lenox, 2000).

Ostali autoantigeni poreklom iz oštećene ćelijske membrane, a koji se od nedavno povezuju sa depresijom, jesu modifikovana miristinska, palmitinska i oleinska kiselina (Maes i sar., 2008). Inače je od ranije poznato da su IgM antitela na ove komponente ćelijske membrane pristuna u bolestima koja imaju jasnu autoimunu patogenezu, kao što je slučaj sa multiplom sklerozom (Boullerne i sar., 1996). S obzirom na to da su ove masne kiseline značajna strukturna komponenta mijelina, ostaje otvoreno pitanje kolika je uloga oštećenja mijelina i u patogenezi depresije.

Što se tiče neoepitopa poreklom od oksidativno i nitrozativno modifikovanih proteina, najznačajni su oni poreklom od nitrozativno promenjenih aminokiselina koje ulaze u sastav proteina, uključujući NO-tirozin, NO-triptofan i NO-arginin (Lin i sar., 2000). Pokazano je značajno povećanje IgM antitela usmerenih ka NO-albuminu, NO-tirozinu, NO-triptofanu i NO-argininu u serumu obolelih od depresije u poređenju sa zdravom kontrolom (Maes i sar., 2008). Ovo oštećenje je posledica delovanja NO na proteine i autori smataju da ovaj pristup detekciji slobodnih radikala i posledica njihovog dejstva pruža bolji uvid u patofiziologiju depresije, nego direktnog merenje samih slobodnih radikala koji obično imaju veoma kratak poluživot i mogu samo prolazno biti povećani.

Prisustvo polimorfizama u određenim genima od značaja za oksidativni stres je, takođe pokazano u depresiji. Postoji značajna povezanost depresije sa genima za ciklooksigenazu 2 (COX-2), SOD i mijeloperoksidazu (MPO). COX-2 je uključen u patogenetske mehanizme različitih inflamatornih oboljenja (Dubois i sar., 1998). COX-

2 aktiviraju proinflamatorni citokini i lipopolisaharid (Dubois i sar., 1998), a značajan je za sintezu prostaglandina, poput PGE2 (Smith i sar., 2000). Povećana aktivnost ovog enzima rezultuje u stvaranju slobodnih radikala (Madrigal i sar., 2003). Kada se primene kao adjuvanta terapija u depresiji, inhibitori COX-2 dovode do smanjenja depresivnih simptoma (Müller i sar., 2006) i smanjenja oksidativnog stresa (Galecki i sar., 2009). Pronađen je polimorfizam u genu za COX-2 (G-756C) koji dovodi do veće aktivnosti ovog enzima i kod obolelih od depresije je opisana značajno veća frekvencija tog polimorfizma (Galecki i sar., 2010). Dodatno, polimorfizam u ovom genu povećava rizik i za nastanak neurodegenerativnih oboljenja, kao i moždanog udara (Cipollone i sar., 2014).

Shimoda-Matsubayashi i sar. (1996) su ispitivali ulogu funkcionalnog SNP (engl. *single nucleotide polymorphism*) Ala-9Val, koji dovodi do promene u konformaciji SOD2. Ispitivanjem ovog polimorfizma kod obolelih od depresije, zapažena je njegova povezanost kod pacijentkinja obolelih od depresije (Galecki i sar., 2010). Ipak, ranija studija Pae i sar. (2006) nije pokazala takvu povezanost, pa se ovakvi kontradiktorni rezultati mogu objasniti različitim populacijama na kojima su studije rađene.

MPO je enzim koji se specifično eksprimira u neutrofilima, monocitima i mikorglijalnim ćelijama (Yap i sar., 2007), kao i hipokampalnim neuronima (Green i sar., 2004). MPO produkuje slobodne radikale (Spickett i sar., 2000) i dovodi do produkcije proinflamatornih citokina (Lefkowitz i Lefkowitz, 2008). Nedavna istraživanja su pokazala da je polimorfizam u ovom genu povezan sa većim rizikom od oboljevanja od depresije (Galecki i sar., 2010), ali i od Alchajmerove bolesti (Crawford i sar., 2001).

Uzevši u obzir gore navedene dokaze iz različitih studija, može se sumirati da se povezanost depresije sa oksidativnim stresom ispoljava na sledeće načine:

a) smanjenjem antioksidansa, poput vitamina E i C, glutationa i koenzima Q10 i antioksidativnih enzima, poput GPx;

b) povećanjem slobodnih radikala, npr. povećani nivoi peroksida ili aktivnost ksantin oksidaze;

c) oksidativnim oštećenjem različitih molekula, uključujući povećanje količine MDA, izoprostana i 4-HNE, kao i NO-tirozina;

d) produkcijom IgG kao deo autoimunog odgovora na neoepitope nastale oksidativnim oštećenjem lipida i proteina;

e) polimorfizam u važnim genima povezanim sa oksidativnim stresom.

Deo dokaza o prisutnom oksidativnom stresu u depresiji potiče iz studija na animalnim modelima depresije. Tako, u modelu depresije izazvane hroničnim stresom blagog inteziteta kod glodara, izmerene su niže koncentracije glutaciona u mozgu (Pal i Dandiya, 1994), kao i smanjena aktivnost GPx u korteksu (Eren i sar., 2007). U drugačijem animalnom modelu, kod pacova kod kojih je odstranjen olfaktorni bulbus, takođe je izmerena smanjena aktivnost GPx (Song i sar., 1994). Dodatno, opisano je i smanjenje aktivnost SOD i CAT u drugim animalnim modelima (Lucca i sar., 2009; Zhang i sar., 2009).

Animalni modeli depresije praćeni su i povećanim nivoima oksidativnog oštećenja lipida i proteina. Tako, Lucca i sar (2009) pokazali su povećanu lipidnu peroksidaciju u cerebelumu i strijatumu pacova, kao i povećano oksidativno oštećenje proteina u prefrontalnom korteksu, hipokampusu i strijatumu. Pronađeni su i viši nivoi MDA (Zhang i sar, 2009).

Novije teorije o nastanku depresije značajnu ulogu pripisuju inflamaciji. U skladu sa rezultatima i prikupljenim dokazima iz različitih studija o ulozi inflamatornih procesa u razvoju depresije, ova teorija se povremeno označava kao monocitno-T-limfocitna hipoteza depresije, citokinska teorija depresije ili inflamatorna hipoteza depresije (Maes,1993; Maes,1995; Maes, 1999; Maes, 2008; Shiepers i sar., 2005). Takođe, postoje dokazi o neurodegeneraciji kao karakterističnom nalazu u depresiji (Campbell i MacQueen, 2006; Stockmeier i sar., 2004; Duman, 2002), pa se u poslednje vreme govori o tzv. „inflamatorno-neurodegenerativnoj hipotezi“ depresije (Maes i sar., 2009). U oba procesa, inflamaciji i neurodegeneraciji, oksidativni stres i produkcija slobodnih radikala zauzimaju važno mesto.

Veliki broj dokaza podržava ulogu centralnih i perifernih imunskih i inflamatornih procesa u patogenezi depresije u sklopu depresivnog i bipolarnog poremećaja. Depresija je povezana sa ćelijskim imunskim odgovorom, povećanom aktivnošću monocita i aktivacijom T helper (Th-1 i Th-17) limfocita (Leonard i Maes, 2012). Takođe, nedavne meta-analize pokazuju da pacijenti sa depresijom imaju značajno više nivoe proinflamatornih citokina u serumu, uključujući interleukin (IL)-1, IL-6 i faktor nekroze tumora alfa (TNF α) (Dowlati i sar., 2010; Howren i sar., 2009).

U prilog značaju citokina kod depresije ide činjenica da kod pacijenata kod kojih se primenjuje imunoterapija sa IL-2 ili interferonom (INF)- α dolazi do pojave depresivnih simptoma (Dutcher i sar., 2000).

U depresiji su takođe prisutni povišeni nivoi proteina akutne faze, poput C-reaktivnog proteina (CRP) i haptoglobina, zatim hemokina, adhezionih molekula i komponenti komplementa (Berk i sar., 1997; Maes i sar., 1997; Pasco i sar., 2010). U skorašnjoj meta-analizi Valkanova i sar. (2013) su objavili da se viši nivoi CRP-a povezuju i sa rizikom od oboljevanja od depresije. Naročito je značajno što novije studije, koje koriste visokosenzitivnu formu CRP-a (hs-CRP) koji je osetljiviji marker inflamacije od konvencionalnog CRP-a, takođe pronalaze vezu između ovog biomarkera inflamacije i depresije (Luukinen i sar., 2010; Pasco i sar., 2010).

Savremene studije su pokazale veće vrednosti sedimentacije kod obolelih od depresije u odnosu na zdravu kontrolu (Chavda i sar., 2011), kao i kod obolelih od depresije koji su pušači u odnosu na zdravu populaciju nepušača (Vargas i sar., 2013).

Aktiviranje inflamatornih mehanizama i imunskog odgovora usko je povezano sa mehanizmima redoks regulacije. Pokazano je da aktivirani fagociti i M1 makrofagi proizvode slobodne radikale (kiseonične i azotne) u ogromnim količinama (Wolfs i sar., 2011). Povećani nivoi TNF α mogu da dovedu do ushodne regulacije ekspresije iNOS preko translokacije nuklearnog faktora kapa B (NF- κ B), dok INF γ povećava produkciju NO u makrofagima. Takođe, u različitim ćelijama, pre svega makrofagima, neutrofilima, mikroglijiji i epitelnim ćelijama, citokini IL-1, TNF α i INF γ aktiviraju NADPH oksidazu i povećavaju produkciju superoksidnog anjona. S druge strane, slobodni radikali mogu povećati NF- κ B aktivator protein-1 i mitogen-aktivirane protein

kinaze (MAPK), time povećavajući produkciju inflamatornih medijatora, kao što su citokini i hemokini (Maes i sar., 2012).

U toku inflamacije dolazi do promena u antioksidativnoj zaštiti ćelije. Slobodni radikali u ćeliji dovode do povećanja antioksidativne zaštite preko aktivacije nuklearnog faktora Nrf2 (Maes i sar., 2012). Jednom aktiviran Nrf2 povećava ekspresiju brojnih endogenih antioksidanasa. S druge strane, inflamacija, koja je praćena povećanom produkcijom slobodnih radikala, dovodi do povećane potrošnje tkivne antioksidativne zaštite i time maskira povećanje nivoa antioksidanasa, odnosno pomera ravnotežu između slobodnih radikala i antioksidanasa u pravcu nastanka oksidativnog stresa (Blau i sar., 2000). Istovremeno, neenzimski antioksidansi, npr. koenzim Q10, glutation i cink, imaju antiinflamatorno dejstvo, te njihovi sniženi nivoi koji su opisani u depresiji, dovode do pojačanog inflamatornog odgovora.

Složeni međuodnosi između inflamacije i antioksidanasa smatraju se veoma važnim u depresiji i sumirani su na šemi. Jedan od primera kako smanjenje antioksidativne zaštite povećava nivo inflamacije u toku depresije su rezultati do kojih su došli Haddad i sar. (2000). Ova grupa autora je pokazala da je transkripcija proinflamatornih citokina kao što su IL-1b, IL-6 i TNFa regulisana redoks stanjem ćelije i da deplecija nivoa GSH u ćeliji dovodi do povećane transkripcije navedenih citokina.

Jedna od posledica aktivacije inflamatornih procesa i prisustva narušene redoks regulacije u depresiji jesu promene u katabolizmu triptofana (Maes i sar., 2011; Muller i Schwarz, 2007). Pokazano je da u toku depresije dolazi do smanjenja nivoa triptofana (Maes i sar., 1993), povećanja aktivnosti enzima indolamin 2,3- dioksigenaze (IDO) i istovremenog smanjenja protektivnog intermedijera katabolizma triptofana – kinureninske kiseline, čime se katabolizam triptofana usmerava u pravcu stvaranja neurotoksične hinolinske kiseline (Lopresti i sar., 2014). IDO je enzim koji u svom sastavu sadrži hem, dominantno se nalazi u mikrogliji u CNS-u (Alberati-Giani and Cesura, 1998). Pokazano je da je aktivnost ovog enzima povišena u prisustvu proinflamatornih citokina, naročito INFg, ali i IL-1, IL-6, IL-18 i TNFa (Maes i sar., 2011).

Dodatno, redoks status ćelije utiče na aktivnost enzima i supstrate za reakciju koju katalizuje, na taj način što menja redoks formu jona Fe u sastavu hema, što za

posledicu ima upotrebu molekuskog kiseonika ukoliko je fero oblik prisutan ili superoksidnog anjona ukoliko je feri oblik gvožđa u hemu (Werner i Werner-Felmayer, 2007). Posledica povećane aktivnostiIDO, usled inflamacije i/ili oksidativnog stresa, jeste da se katabolizam triptofana usmerava u pravcu sinteze kinureninskih intermedijera, a udaljava od sinteze serotonina (Miura i sar., 2008). Neki kinureninski intermedijeri su naročito štetni za CNS, pre svega hinolinska kiselina koja je ekscitotoksična i deluje na N-metil D-aspartat (NMDA) receptore što vodi u oštećenje neurona posredstvom NO (Braidy i sar., 2009). Na taj način objašnjeno je kako promene u katabolizmu triptofana uzrokovane oksidativnim i inflamatornim procesima u ćelijama, mogu dovesti do neurodegenerativnih promena u toku depresije.

Dokazi o povezanosti neurodegeneracije i smanjene antioksidativne zaštite, odnosno poremećene redoks regulacije, danas su veoma brojni i nisu isključivo povezani sa inflamatornim procesima, iako se često ovi procesi međusobno prepliću. Jedan od najznačajnijih antioksidanasa u ćelijama, vitamin E, nedvosmisleno ima neuroprotektivno dejstvo, naročito tokotrienoli (Sen i sar., 2006). Tako, nedostatak vitamina E dovodi do neurodegenerativnih promena određenih delova CNS-a, npr. cerebelarne degeneracije (Cuddihy i sar., 2008). Postoje dokazi o efikasnosti vitamina E u prevenciji Alchajmerove bolesti (Frank i Gupta, 2005). U eksperimentalnom modelu globalne hipoperfuzije mozga, vitamin E je ispoljio neuroprotektivni efekat (Annaházi i sar, 2007).

Takođe, utvrđeno je neuroprotektivno dejstvo koenzima Q10, što objašnjava potencijalni benefit koji bi njegova upotreba imala u neurodegenerativnim oboljenjima (Somayajulu i sar., 2005). Što se tiče antioksidativnih enzima, najjači dokazi o njihovoj povezanosti sa neurodegeneracijom postoje u slučaju SOD (Hayashi i sar., 2005), najviše zbog značaja koje mutacije u genu za SOD1 imaju u razvoju amiotrofične lateralne skleroze.

VI. ZAKLJUČCI

1. Kod obolelih od unipolarne depresije i bipolarnog afektivnog poremećaja postoje promene u parametrima oksidativnog stresa u serumu, uključujući biomarkere oksidativnog oštećenja lipida (8-izoprostani i malondialdehid) i DNK (8-hidroksi-2'-deoksiguanozina).

2. Kod obolelih od unipolarne depresije i bipolarnog afektivnog poremećaja postoje promene u aktivnosti enzima antioksidativne zaštite (superoksid dizmutaze, katalaze, glutation peroksidaze i glutation reduktaze).

3. Promene u parametrima oksidativnog stresa su prisutne u akutnoj fazi, odnosno tokom depresivne epizode, kao i nakon nastupanja remisije u obe grupe ispitanika.

4. Među obolelim od unipolarne depresije i bipolarnog poremećaja postoji razlika u aktivnosti enzima glutation reduktaze, čije je aktivnost viša u serumu obolelih od bipolarnog poremećaja u akutnoj fazi i u fazi remisije.

5. Među obolelim od unipolarne depresije i bipolarnog poremećaja nema značajnih razlika u ostalim parametrima oksidativnog stresa, kako u akutnoj fazi, tako i u fazi remisije.

VII. LITERATURA

1. Aikens J, Dix TA. Perohydroxyl radical (HOO•) Initiated lipid-peroxidation—The role of fatty-acid hydroperoxides. *J Biol Chem.* 1991;266:15091–98.
2. Akin D, Manier DH, Sanders-Bush E, Shelton RC. Decreased serotonin 5-HT_{2A} receptor stimulated phosphoinositide signaling in fibroblasts from melancholic depressed patients. *Neuropsychopharmacol.* 2004;29:2081–7.
3. Alberati-Giani D, Cesura AM. Expression of the kynurenine enzymes in macrophages and microglial cells: regulation by immune modulators. *Amino Acids.* 1998;14:251–5.
4. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual for mental disorders. 4th ed, text revision (DSM-IV-TR). Washington DC: American Psychiatric Association; 2000.
5. Anderson ME, Bridges RJ, Meister A. Direct evidence for inter-organ transport of glutathione and that the non-filtration renal mechanism for glutathione utilization involves gamma-glutamyl transpeptidase. *Biochem Biophys Res Commun.* 1980;96:848–53.
6. Andreazza AC, Cassini C, Rosa AR, Leite MC, de Almeida LM, Nardin P, Cunha AB, Cereser KM, Santin A, Gottfried C, Salvador M, Kapczinski F, Gonçalves CA. Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients. *J Psychiatr Res.* 2007;41:523–29.
7. Andreazza AC, Frey BN, Erdtmann B, Salvador M, Rombaldi F, Santin A, Gonçalves CA, Kapczinski F. DNA damage in bipolar disorder. *Psychiatry Res.* 2007; 153:27–32.
8. Annaházi A, Mracskó E, Süle Z, Karg E, Penke B, Bari F, Farkas E. Pre-treatment and post-treatment with alpha-tocopherol attenuates hippocampal neuronal damage in experimental cerebral hypoperfusion. *Eur J Pharmacol.* 2007;571:120–8.
9. Antunes F, Han D, Cadenas E. Relative contributions of heart mitochondria glutathione peroxidase and catalase to H₂O₂ detoxification in in vivo conditions. *Free Radic Biol Med.* 2002;33:1260–7.
10. Arthur JR. The glutathione peroxidases. *Cell Mol Life Sci.* 2000;57:1825–35.

11. Akiskal HS. Mood disorders: historical introduction and conceptual overview. In: Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P, editors. Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
12. Akiskal HS. Mood disorders: clinical features. In: Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P, editors. Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
13. Barhoumi R, Bowen JA, Stein LS, Echols J, Burghardt RC. Concurrent analysis of intracellular glutathione content and gap junctional intercellular communication. *Cytometry*. 1993;14:747–56.
14. Barra D, Schinina ME, Simmaco M, Bannister JV, Bannister WH, Rotilio G, Bossa F. The primary structure of human liver manganese superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 1984;259:12595–601.
15. Bauer M, Pfennig A. Epidemiology of bipolar disorders. *Epilepsia*. 2005;46 Suppl 4:8–13.
16. Bech P. Clinical features of mood disorders and mania. In: Gelder MG, Lopez-Ibor JJ, Andreasen N, editors. *New Oxford textbook of psychiatry*. 1st ed. Oxford: Oxford University Press; 2003.
17. Beckman KB, Ames BN. Endogenous oxidative damage of mtDNA. *Mutat Res*. 1999;424:51–8.
18. Bergendi L, Benes L, Duracková Z, Ferencik M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sci*. 1999;65:1865–74.
19. Berk M, Wade .A, Kuschke RH, O'Neill-Kerr A. Acute phase proteins in major depression. *J. Psychosom. Res*. 1997;43:529–34.
20. Blau S, Kohen R, Bass P, Rubinstein A. Relation between colonic inflammation severity and total low-molecular-weight antioxidant profiles in experimental colitis. *Dig Dis Sci*. 2000;45:1180–7.
21. Bolisetty S, Jaimes EA. Mitochondria and reactive oxygen species: physiology and pathophysiology. *Int J Mol Sci*. 2013;14:6306–44.
22. Boullerne A, Petry KG, Geffard M. Circulating antibodies directed against conjugated fatty acids in sera of patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 1996;65:75–81.

23. Bowden CL. Novel treatments for bipolar disorder. *Expert Opin Investig Drugs*. 2001;10:661–71.
24. Braidy N, Grant R, Adams S, Brew BJ, Guillemin GJ. Mechanism for quinolinic acid cytotoxicity in human astrocytes and neurons. *Neurotox Res*. 2009;16:77–86.
25. Brigelius-Flohé R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med*. 1999;27:951–65.
26. Cadenas E. Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*. 1997; 6:391–7.
27. Cadenas E, Davies KJ. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med*. 2000;29:222–30.
28. Campbell S, MacQueen G. An update on regional brain volume differences associated with mood disorders. *Curr Opin Psychiatry*. 2006;19:25–33.
29. Carr AC, McCall MR, Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1716–23.
30. Cipollone F, Toniato E, Martinotti S, Fazia M, Iezzi A, Cucurullo C, Pini B, Ursi S, Vitullo G, Averna M, Arca M, Montali A, Campagna F, Uchino S, Spigonardo F, Taddei S, Viridis A, Ciabattini G, Notarbartolo A, Cucurullo F, Mezzetti A; Identification of New Elements of Plaque Stability (INES) Study Group. A polymorphism in the cyclooxygenase 2 gene as an inherited protective factor against myocardial infarction and stroke. *JAMA*. 2004;291:2221–8.
31. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev*. 1979; 59:527–605.
32. Chavda N, Kantharia ND, Jaykaran. Effects of fluoxetine and escitalopram on C-reactive protein in patients of depression. *J Pharmacol Pharmacother*. 2011;2:11–6.
33. Chiueh CC. Neuroprotective properties of nitric oxide. *Ann NY Acad Sci*. 1999;890:301–11.
34. Chu FF, Doroshov JH, Esworthy RS. Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. *J Biol Chem*. 1993;268:2571–6.
35. Commoner B, Townsend J, Pake GE. Free radicals in biological materials. *Nature*. 1954; 174:689–91.

36. Crapo JD, Oury T, Rabouille C, Slot JW, Chang LY. Copper,zinc superoxide dismutase is primarily a cytosolic protein in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:10405–9.
37. Crawford FC, Freeman MJ, Schinka JA, Morris MD, Abdullah LI, Richards D, Sevush S, Duara R, Mullan MJ. Association between Alzheimer's disease and a functional polymorphism in the Myeloperoxidase gene. *Exp Neurol*. 2001;167:456–9.
38. Creagan R, Tischfield J, Ricciuti F, Ruddle FH. Chromosome assignments of genes in man using mouse-human somatic cell hybrids: mitochondrial superoxide dismutase (indophenol oxidase-B, tetrameric) to chromosome 6. *Humangenetik*. 1973;20:203–9.
39. Cuddihy SL, Ali SS, Musiek ES, Lucero J, Kopp SJ, Morrow JD, Dugan LL. Prolonged alpha-tocopherol deficiency decreases oxidative stress and unmasks alpha-tocopherol-dependent regulation of mitochondrial function in the brain. *J Biol Chem*. 2008;283:6915–24.
40. Cumurcu BE, Ozyurt H, Etikan I, Demir S, Karlidag R. Total antioxidant capacity and total oxidant status in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2009;63:639–45.
41. Darr D, Fridovich I. Irreversible inactivation of catalase by 3-amino-1,2,4-triazole. *Biochem Pharmacol*. 1986;35:3642.
42. Davies MJ. The oxidative environment and protein damage. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1703:93-109.
43. Dimopoulos N, Piperi C, Psarra V, Lea RW, Kalofoutis A. Increased plasma levels of 8-iso-PGF2alpha and IL-6 in an elderly population with depression. *Psychiatry Res*. 2008;161:59–66.
44. Decoursey TE, Ligeti E. Regulation and termination of NADPH oxidase activity. *Cell Mol Life Sci*. 2005;62:2173–93.
45. De Grey AD. HO2*: the forgotten radical. *DNA Cell Biol*. 2002;21:251–7.
46. De La Torre R, Casado A, López-Fernández E, Carrascosa D, Ramírez V, Sáez J. Overexpression of copper-zinc superoxide dismutase in trisomy 21. *Experientia*. 1996;52:871–3.

47. Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim, EK, Lanctot, K.L. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol. Psychiatry*. 2010;67:446–57.
48. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002; 82:47–95.
49. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, Van De Putte LB, Lipsky PE. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J*. 1998;12:1063–73.
50. Dubovsky SL, Ruzan R. Mood disorders. In: Hales RE, Yudofsky SC, Talbott JA, editors. *The American Psychiatric Press textbook of psychiatry*. 3rd ed. Washington: American Psychiatric Press; 1999.
51. Duman RS. Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity. *Eur Psychiatry*. 2002;17:306–10.
52. Duprat F, Guillemare E, Romey G, Fink M, Lesage F, Lazdunski M, Honore E. Susceptibility of cloned K⁺ channels to reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995;92:11796-800.
53. Dutcher JP, Logan T, Gordon M, Sosman J, Weiss G, Margolin K, Plasse T, Mier J, Lotze M, Clark J, Atkins M. Phase II trial of interleukin 2, interferon alpha, and 5-fluorouracil in metastatic renal cell cancer: a cytokine working group study. *Clin. Cancer Res*. 2000;6:3442–50.
54. Đorđević VB, Zvezdanović L, Ćosić V. Oxidative stress in human diseases. *Srp Arh Celok Lek*. 2008;136 Suppl 2:158–65.
55. Edwards R, Peet M, Shay J, Horrobin D. Omega-3 polyunsaturated fatty acid levels in the diet and in red blood cell membranes of depressed patients. *J Affect Disord*. 1998;48:149–55.
56. Eren I, Naziroğlu M, Demirdağ A. Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochem Res*. 2007;32:1188–95.
57. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*. 1991;11:81–128.
58. Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res*. 2004;567:1–61.

59. Fam SS, Morrow JD. The isoprostanes: unique products of arachidonic acid oxidation-a review. *Curr Med Chem.* 2003;10:1723–40.
60. Fernandez-Checa JC, Kaplowitz N. Hepatic mitochondrial glutathione: transport and role in disease and toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005;204:263–73.
61. Flohe L, Günzler WA, Schock HH. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS Lett.* 1973;32:132–4.
62. Forlenza MJ, Miller GE. Increased serum levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in clinical depression. *Psychosom Med.* 2006;68:1–7.
63. Forman HJ, Fridovich I. On the stability of bovine superoxide dismutase. The effects of metals. *J Biol Chem.* 1973;248:2645–9.
64. Forman HJ, Zhang H, Rinna A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol Aspects Med.* 2009;30:1–12.
65. Frank B, Gupta S. A review of antioxidants and Alzheimer's disease. *Ann Clin Psychiatry.* 2005;17:269–86.
66. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science.* 1978;201:875–80.
67. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem.* 1995;64:97–112.
68. Gałeczki P, Florkowski A, Bieńkiewicz M, Szemraj J. Functional polymorphism of cyclooxygenase-2 gene (G-765C) in depressive patients. *Neuropsychobiology.* 2010;62:116–20.
69. Gałeczki P, Florkowski A, Bobińska K, Śmigielski J, Bieńkiewicz M, Szemraj J. Functional polymorphism of the myeloperoxidase gene (G-463A) in depressive patients. *Acta Neuropsychiatrica.* 2010;22:218–22.
70. Gałeczki P, Szemraj J, Bieńkiewicz M, Zboralski K, Gałeczka E. Oxidative stress parameters after combined fluoxetine and acetylsalicylic acid therapy in depressive patients. *Hum Psychopharmacol.* 2009;24:277–86.
71. Gardner HW. Oxygen radical chemistry of polyunsaturated fatty acids. *Free Radic Biol Med.* 1989;7:65-86.
72. Gawryluk JW, Wang JF, Andreazza, AC, Shao L, Young LT.. Decreased levels of glutathione, the major brainantioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patientswith psychiatric disorders. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2011;14:123–30.

73. Ghafourifar P, Cadenas E. Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol Sci.* 2005; 26:190–5.
74. Glatzle D, Vuilleumier JP, Weber F, Decker K. Glutathione reductase test with whole blood, a convenient procedure for the assessment of the riboflavin status in humans. *Experientia.* 1974;30:665–7.
75. Góth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta.* 1991;196:143–51.
76. Gounopoulos P, Merki E, Hansen LF, Choi SH, Tsimikas S. Antibodies to oxidized low density lipoprotein: epidemiological studies and potential clinical applications in cardiovascular disease. *Minerva Cardioangiol.* 2007;55:821–37.
77. Green PS, Mendez AJ, Jacob JS, Crowley JR, Growdon W, Hyman BT, Heinecke JW. Neuronal expression of myeloperoxidase is increased in Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 2004;90:724–33.
78. Günzler WA, Kremers H, Flohé L. An improved coupled test procedure for glutathione peroxidase (EC 1-11-1-9) in blood. *Z Klin Chem Klin Biochem.* 1974;12:444–8.
79. Gutteridge JM, Quinlan GJ. Malondialdehyde formation from lipid peroxides in the thiobarbituric acid test: the role of lipid radicals, iron salts, and metal chelators. *J Appl Biochem.* 1983;5:293-9.
80. Guy W, urednik. *ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology.* Rockville: U.S. Department of Health, Education, and Welfare; 1976.
81. Haddad JJ. Glutathione depletion is associated with augmenting a proinflammatory signal: evidence for an antioxidant/pro-oxidant mechanism regulating cytokines in the alveolar epithelium. *Cytokines Cell Mol Ther.* 2000;6:177–87.
82. Halliwell B. Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: the biomarker concept. *Nutr Rev.* 1999;57:104–13.
83. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem.* 2006;97:1634-58.
84. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine.* 4th ed. Oxford: Oxford University Press; 2007.
85. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1960;23:56–62.

86. Hanna PM, Mason RP. Direct evidence for inhibition of free radical formation from Cu(I) and hydrogen peroxide by glutathione and other potential ligands using the EPR spin-trapping technique. *Arch Biochem Biophys.* 1992;295:205–13.
87. Harman, D. Aging—A theory based on free-radical and radiation-chemistry. *J. Gerontol.* 1956;11:298–300.
88. Hartz JW, Deutsch HF. Subunit structure of human superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972;247:7043–50.
89. Hayashi M, Araki S, Kohyama J, Shioda K, Fukatsu R. Oxidative nucleotide damage and superoxide dismutase expression in the brains of xeroderma pigmentosum group A and Cockayne syndrome. *Brain Dev.* 2005;27:34–8.
90. Hendrickson DJ, Fisher JH, Jones C, Ho YS. Regional localization of human extracellular superoxide dismutase gene to 4pter-q21. *Genomics.* 1990;8:736–8.
91. Herken H, Gurel A, Selek S, Armutcu F, Ozen ME, Bulut M, Kap O, Yumru M, Savas HA, Akyol O. Adenosine deaminase, nitric oxide, superoxide dismutase, and xanthine oxidase in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. *Arch Med Res.* 2007;38:247–52.
92. Hirono A, Sasaya-Hamada F, Kanno H, Fujii H, Yoshida T, Miwa S. A novel human catalase mutation (358 T→del) causing Japanese-type acatalasemia. *Blood Cells Mol Dis.* 1995;21:232–4.
93. Ho YS, Xiong Y, Ma W, Spector A, Ho DS. Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury. *J Biol Chem.* 2004;279:32804–12.
94. Horwitt MK. The term alpha-tocopherol should not be used without clarification. *Am J Clin Nutr.* 1991;54:760.
95. Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. *Psychosom Med.* 2009;71:171–86.
96. Huang CS, Chang LS, Anderson ME, Meister A. Catalytic and regulatory properties of the heavy subunit of rat kidney gamma-glutamylcysteine synthetase. *J Biol Chem.* 1993;268:19675–80.

97. Igarashi T, Huang TT, Noble LJ. Regional vulnerability after traumatic brain injury: gender differences in mice that overexpress human copper, zinc superoxide dismutase. *Exp Neurol*. 2001;172:332–41.
98. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987;84:9265–9.
99. Irie M, Miyata M, Kasai H. Depression and possible cancer risk due to oxidative DNA damage. *J Psychiatr Res*. 2005;39:553–60.
100. Jung O, Marklund SL, Geiger H, Pedrazzini T, Busse R, Brandes RP. Extracellular superoxide dismutase is a major determinant of nitric oxide bioavailability: in vivo and ex vivo evidence from ecSOD-deficient mice. *Circ Res*. 2003;93:622–9.
101. Kaikkonen J, Porkkala-Sarataho E, Morrow JD, Roberts LJ 2nd, Nyssönen K, Salonen R, Tuomainen TP, Ristonmaa U, Poulsen HE, Salonen JT. Supplementation with vitamin E but not with vitamin C lowers lipid peroxidation in vivo in mildly hypercholesterolemic men. *Free Radic Res*. 2001;35:967–78.
102. Karlsson K, Marklund SL. Heparin-induced release of extracellular superoxide dismutase to human blood plasma. *Biochem J*. 1987;242:55–9.
103. Kasai H. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutat Res*. 1997;387:147–63.
104. Kegeles LS, Malone KM, Slifstein M, Ellis SP, Xanthopoulos E, Keilp JG, Campbell C, Oquendo M, Van Heertum RL, Mann JJ. Response of cortical metabolic deficits to serotonergic challenge in familial mood disorders. *Am J Psychiatry*. 2003;160:76–82.
105. Keller GA, Warner TG, Steimer KS, Hallewell RA. Cu,Zn superoxide dismutase is a peroxisomal enzyme in human fibroblasts and hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:7381–5.
106. Khanzode SD, Dakhale GN, Khanzode SS, Saoji A, Palasodkar R. Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. *Redox Rep*. 2003;8:365–70.

107. Kodydková J, Vávrová L, Zeman M, Jiráček R, Macásek J, Stanková B, Tvrzická E, Zák A. Antioxidative enzymes and increased oxidative stress in depressive women. *Clin Biochem*. 2009;42:1368–74.
108. Kozak EM, Tate SS. Glutathione-degrading enzymes of microvillus membranes. *J Biol Chem*. 1982;257:6322–7.
109. Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature*. 2008;455:894–902.
110. Kristal BS, Park BK, Yu BP. 4-Hydroxyhexenal is a potent inducer of the mitochondrial permeability transition. *J Biol Chem*. 1996;27:6033–8.
111. Kuloglu M, Ustundag B, Atmaca M, Canatan H, Tezcan AE, Cinkilinc N. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Cell Biochem Funct*. 2002;20:171–5.
112. Kurobe N, Suzuki F, Okajima K, Kato K. Sensitive enzyme immunoassay for human Cu/Zn superoxide dismutase. *Clin Chim Acta*. 1990;187:11–20.
113. Lam RW. *Depression*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press; 2012.
114. Lambeth JD. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nat Rev Immunol*. 2004;4:181–9.
115. Landis GN, Tower J. Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mech Ageing Dev*. 2005;126:365–79.
116. Lash LH, Jones DP. Renal glutathione transport. Characteristics of the sodium-dependent system in the basal-lateral membrane. *J Biol Chem*. 1984;259:14508–14.
117. Lee CY, Jenner AM, Halliwell B. Rapid preparation of human urine and plasma samples for analysis of F2-isoprostanes by gas chromatography-mass spectrometry. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;320:696–702.
118. Lefkowitz DL, Lefkowitz SS. Microglia and myeloperoxidase: a deadly partnership in neurodegenerative disease. *Free Radic Biol Med*. 2008;45:726–31.
119. Levanon D, Lieman-Hurwitz J, Dafni N, Wigderson M, Sherman L, Bernstein Y, Laver-Rudich Z, Danciger E, Stein O, Groner Y. Architecture and anatomy of the chromosomal locus in human chromosome 21 encoding the Cu/Zn superoxide dismutase. *EMBO J*. 1985;4:77–84.

120. Lin JK, Chen KJ, Liu GY, Chu YR, Lin-Shiau SY. Nitration and hydroxylation of aromatic amino acid and guanine by the air pollutant peroxyacetyl nitrate. *Chem Biol Interact.* 2000;127:219–36.
121. Liochev SI, Fridovich I. The role of O₂⁻ in the production of HO₂·: in vitro and in vivo. *Free Radic Biol Med.* 1994;16:29–33.
122. Liochev SI, Fridovich I. Mutant Cu,Zn superoxide dismutases and familial amyotrophic lateral sclerosis: evaluation of oxidative hypotheses. *Free Radic Biol Med.* 2003;34:1383–9.
123. Looney JM, Childs HM. The lactic acid and glutathione content of the blood of schizophrenic patients. *J Clin Invest.* 1934;13:963–8.
124. Lopresti AL, Maker GL, Hood SD, Drummond PD. A review of peripheral biomarkers in major depression: the potential of inflammatory and oxidative stress biomarkers. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2014;48:102–11.
125. Lucca G, Comim CM, Valvassori SS, Réus GZ, Vuolo F, Petronilho F, Dal-Pizzol F, Gavioli EC, Quevedo J. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain. *Neurochem Int.* 2009;54:358–62.
126. Luukinen H, Jokelainen J, Hedberg P. The relationships between high-sensitivity C-reactive protein and incident depressed mood among older adults. *Scand J Clin Lab Invest.* 2010;70:75–9.
127. Machado-Vieira R, Andreazza AC, Viale CI, Zanatto V, Cereser V, da Silva Vargas R, Kapczinski F, Portela LV, Souza DO, Salvador M, Gentil V. Oxidative stress parameters in unmedicated and treated bipolar subjects during initial manic episode: a possible role for lithium antioxidant effects. *Neurosci Lett.* 2007;421:33–6.
128. Madrigal JL, Moro MA, Lizasoain I, Lorenzo P, Fernández AP, Rodrigo J, Boscá L, Leza JC. Induction of cyclooxygenase-2 accounts for restraint stress-induced oxidative status in rat brain. *Neuropsychopharmacology.* 2003;28:1579–88.
129. Maes M. A review on the acute phase response in major depression. *Rev Neurosci.* 1993;4:407–16.
130. Maes M. Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 1995;19:11–38.

131. Maes M. Major depression and activation of the inflammatory response system. *Adv Exp Med Biol* 1999;461:25–46.
132. Maes M. The cytokine hypothesis of depression: inflammation, oxidative & nitrosative stress (IO&NS) and leaky gut as new targets for adjunctive treatments in depression. *Neuro Endocrinol Lett* 2008;29:287–91.
133. Maes M, De Vos N, Pioli R, Demedts P, Wauters A, Neels H, Christophe A. Lower serum vitamin E concentrations in major depression. Another marker of lowered antioxidant defenses in that illness. *J Affect Disord.* 2000;58:241–6.
134. Maes M, Fišar Z, Medina M, Scapagnini G, Nowak G, Berk M. New drug targets in depression: inflammatory, cell-mediated immune, oxidative and nitrosative stress, mitochondrial, antioxidant, and neuroprogressive pathways. And new drug candidates—Nrf2 activators and GSK-3 inhibitors. *Inflammopharmacology.* 2012;20:127–50.
135. Maes M, Leonard BE, Myint AM, Kubera M, Verkerk R. The new '5-HT' hypothesis of depression: cell-mediated immune activation induces indoleamine 2,3-dioxygenase, which leads to lower plasma tryptophan and an increased synthesis of detrimental tryptophan catabolites (TRYCATs), both of which contribute to the onset of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2011;35:702–21.
136. Maes M, Meltzer HY, Scharpé S, Bosmans E, Suy E, De Meester I, Calabrese J, Cosyns P. Relationships between lower plasma L-tryptophan levels and immune-inflammatory variables in depression. *Psychiatry Res.* 1993;49:151–65.
137. Maes M, Mihaylova I, Kubera M, Uytterhoeven M, Vrydags N, Bosmans E. Increased plasma peroxides and serum oxidized low density lipoprotein antibodies in major depression: markers that further explain the higher incidence of neurodegeneration and coronary artery disease. *J Affect Disord.* 2010;125:287–94.
138. Maes M, Mihaylova I, Leunis JC. Increased serum IgM antibodies directed against phosphatidyl inositol (Pi) in chronic fatigue syndrome (CFS) and major depression: evidence that an IgM-mediated immune response against Pi is one factor underpinning the comorbidity between both CFS and depression. *Neuro Endocrinol Lett.* 2007;28:861–7.

139. Maes M, Ruckoanich P, Chang YS, Mahanonda N, Berk M. Multiple aberrations in shared inflammatory and oxidative & nitrosative stress (IO&NS) pathways explain the co-association of depression and cardiovascular disorder (CVD), and the increased risk for CVD and due mortality in depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;35:769–83.
140. Maes M, Yirmiya R, Noraberg J, Brene S, Hibbeln J, Perini G, Kubera M, Bob P, Lerer B, Maj M. The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: leads for future research and new drug developments in depression. *Metab Brain Dis*. 2009;24:27–53.
141. Maiorino M, Roveri A, Benazzi L, Bosello V, Mauri P, Toppo S, Tosatto SC, Ursini F. Functional interaction of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase with sperm mitochondrion-associated cysteine-rich protein discloses the adjacent cysteine motif as a new substrate of the selenoperoxidase. *J Biol Chem*. 2005;280:38395–402.
142. Mandal K, Jahangiri M, Xu Q. Autoimmune mechanisms of atherosclerosis. *Handb Exp Pharmacol*. 2005;170:723–43.
143. Manji HK, Lenox RH. Signaling: cellular insights into the pathophysiology of bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2000;48:518–30.
144. Marklund SL. Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982;79:7634–8.
145. Marklund SL, Holme E, Hellner L. Superoxide dismutase in extracellular fluids. *Clin Chim Acta*. 1982;126:41–51.
146. Marklund SL, Westman NG, Lundgren E, Roos G. Copper- and zinc-containing superoxide dismutase, manganese-containing superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in normal and neoplastic human cell lines and normal human tissues. *Cancer Res*. 1982;42:1955–61.
147. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*. 2000;21:361-70.
148. Masters C, Holmes R. Peroxisomes: new aspects of cell physiology and biochemistry. *Physiol Rev*. 1977;57:816–82.
149. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem*. 1969;244:6049–55.

150. Meister A. Glutathione metabolism and its selective modification. *J Biol Chem.* 1988;263:17205–8.
151. Meister A. Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal; applications in research and therapy. *Pharmacol Ther.* 1991;51:155–94.
152. Meister A. Biosynthesis and functions of glutathione, an essential biofactor. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 1992;Spec No:1–6.
153. Meister A. Mitochondrial changes associated with glutathione deficiency. *Biochim Biophys Acta.* 1995;1271:35–42.
154. Melov S, Schneider JA, Day BJ, Hinerfeld D, Coskun P, Mirra SS, Crapo JD, Wallace DC. A novel neurological phenotype in mice lacking mitochondrial manganese superoxide dismutase. *Nat Genet.* 1998;18:159–63.
155. Michel TM, Frangou S, Thiemeyer D, Camara S, Jecel J, Nara K, et al. Evidence for oxidative stress in the frontal cortex in patients with recurrent depressive disorder—a postmortem study. *Psychiatry Res.* 2007;151:145–50.
156. Milne GL, Musiek ES, Morrow JD. F2-isoprostanes as markers of oxidative stress in vivo: an overview. *Biomarkers.* 2005;10 Suppl 1:S10–23.
157. Mills GC. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J Biol Chem.* 1957;229:189–97.
158. Mills GC. Glutathione peroxidase and the destruction of hydrogen peroxide in animal tissues. *Arch Biochem Biophys.* 1960;86:1–5.
159. Mittal CK, Murad F. Activation of guanylate cyclase by superoxide dismutase and hydroxyl radical: a physiological regulator of guanosine 3',5'-monophosphate formation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1977; 74:4360–4.
160. Miura H, Ozaki N, Sawada M, Isobe K, Ohta T, Nagatsu T. A link between stress and depression: shifts in the balance between the kynurenine and serotonin pathways of tryptophan metabolism and the etiology and pathophysiology of depression. *Stress.* 2008;11:198–209.
161. Moore K. Isoprostanes and the liver. *Chem Phys Lipids.* 2004;128:125-33.
162. Moore K, Roberts LJ 2nd. Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res.* 1998;28:659-71.

163. Mothersill C, Seymour CB. Mechanisms and implications of genomic instability and other delayed effects of ionizing radiation exposure. *Mutagenesis*. 1998;13:421-6.
164. Mukai K, Morimoto H, Okauchi Y, Nagaoka S. Kinetic study of reactions between tocopheroxyl radicals and fatty acids. *Lipids*. 1993;28:753-6.
165. Muller FL, Liu Y, Van Remmen H. Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane. *J Biol Chem*. 2004;279:49064-73.
166. Muller JC, Pryor WW, Gibbons JE, Orgain ES. Depression and anxiety occurring during Rauwolfia therapy. *J Am Med Assoc*. 1955;159:836-9.
167. Müller N, Schwarz MJ. The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: towards an integrated view of depression. *Mol Psychiatry*. 2007;12:988-1000.
168. Müller N, Schwarz MJ, Dehning S, Douhe A, Cerovecki A, Goldstein-Müller B, Spellmann I, Hetzel G, Maino K, Kleindienst N, Möller HJ, Arolt V, Riedel M. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib has therapeutic effects in major depression: results of a double-blind, randomized, placebo controlled, add-on pilot study to reboxetine. *Mol Psychiatry*. 2006;11:680-4.
169. Neeley WL, Essigmann JM. Mechanisms of formation, genotoxicity, and mutation of guanine oxidation products. *Chem Res Toxicol*. 2006;19:491-505.
170. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron*. 2002;34:13-25.
171. Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*. 2005;308:1314-8.
172. Nishikimi M, Yagi K. Biochemistry and molecular biology of ascorbic acid biosynthesis. *Subcell Biochem*. 1996;25:17-39.
173. Nozik-Grayck E, Suliman HB, Piantadosi CA. Extracellular superoxide dismutase. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005;37:2466-71.
174. Ogata M. Acatalasemia. *Hum Genet*. 1991;86:331-40.
175. Ohmori H, Kanayama N. Immunogenicity of an inflammation-associated product, tyrosine nitrated self-proteins. *Autoimmun Rev*. 2005;4:224-9.

176. Okado-Matsumoto A, Fridovich I. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu,Zn-SOD in mitochondria. *J Biol Chem.* 2001;276:38388–93.
177. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979;95:351–8.
178. Owen AJ, Batterham MJ, Probst YC, Grenyer BF, Tapsell LC. Low plasma vitamin E levels in major depression: diet or disease? *Eur J Clin Nutr.* 2005;59:304–6.
179. Ozcan ME, Gulec M, Ozerol E, Polat R, Akyol O. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. *Int Clin Psychopharmacol.* 2004;19:89–95.
180. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, Chen S, Corpe C, Dutta A, Dutta SK, Levine M. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr.* 2003;22:18–35.
181. Pae CU, Yoon SJ, Patkar A, Kim JJ, Jun TY, Lee C, Paik IH. Manganese superoxide dismutase (MnSOD: Ala-9Val) gene polymorphism and mood disorders: a preliminary study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2006;30:1326–9.
182. Pal SN, Dandiya PC. Glutathione as a cerebral substrate in depressive behavior. *Pharmacol Biochem Behav.* 1994;48:845–51.
183. Palmer RM, Rees DD, Ashton DS, Moncada S. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun.* 1988;153:1251–6.
184. Pasco JA, Nicholson GC, Williams LJ, Jacka FN, Henry MJ, Kotowicz MA, Schneider HG, Leonard BE, Berk M. Association of high-sensitivity C-reactive protein with de novo major depression. *Br J Psychiatry.* 2010;197:372–7.
185. Paunović VR, Babinski T. *Biološka psihijatrija 1. Molekularna osnova mentalnih procesa.* 1. izd. Beograd: Medicinski fakultet; 1995.
186. Peng SL, Fatenejad S, Craft J. Scleroderma: a disease related to damaged proteins? *Nat Med.* 1997;3:276-8.
187. Petty F, Schlessler MA. Plasma GABA in affective illness. A preliminary investigation. *J Affect Disord.* 1981;3:339–43.

188. Pittenger C, Duman RS. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology*. 2008;33:88–109.
189. Prohaska JR, Ganther HE. Selenium and glutathione peroxidase in developing rat brain. *J Neurochem*. 1976;27:1379–87.
190. Putnam CD, Arvai AS, Bourne Y, Tainer JA. Active and inhibited human catalase structures: ligand and NADPH binding and catalytic mechanism. *J Mol Biol*. 2000;296:295–309.
191. Quan F, Korneluk RG, Tropak MB, Gravel RA. Isolation and characterization of the human catalase gene. *Nucleic Acids Res*. 1986;14:5321–35.
192. Ranjekar PK, Hinge A, Hegde MV, Ghate M, Kale A, Sitasawad S, Wagh UV, Debsikdar Vb, Mahadik SP. Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. *Psychiatry Res*. 2003;121:109–22.
193. Reid TJ 3rd, Murthy MR, Sicignano A, Tanaka N, Musick WD, Rossmann MG. Structure and heme environment of beef liver catalase at 2.5 Å resolution. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981;78:4767–71.
194. Richter C. Biophysical consequences of lipid peroxidation in membranes. *Chem Phys Lipids*. 1987;44:175–89.
195. Ridnour LA, Thomas DD, Mancardi D, Espey MG, Miranda KM, Paolocci N, Feelisch M, Fukuto J, Wink DA. The chemistry of nitrosative stress induced by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. Putting perspective on stressful biological situations. *Biol Chem*. 2004;385:1–10.
196. Rihmer Z, Angst J. Mood disorders: epidemiology. In: Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P, editors. *Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry*. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
197. Roberts LJ 2nd, Fessel JP. The biochemistry of the isoprostane, neuroprostane, and isofuran pathways of lipid peroxidation. *Chem Phys Lipids*. 2004;128:173–86.
198. Rotilio G, Calabrese L, Bossa F, Barra D, Agrò AF, Mondovì B. Properties of the apoprotein and role of copper and zinc in protein conformation and enzyme activity of bovine superoxide dismutase. *Biochemistry*. 1972;11:2182–7.

199. Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P, editors. Synopsis of psychiatry: behavioral sciences/clinical psychiatry. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
200. Sanacora G, Treccani G, Popoli M. Towards a glutamate hypothesis of depression: an emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders. *Neuropharmacology*. 2012;62:63–77.
201. Sarandol A, Sarandol E, Eker SS, Erdinc S, Vatansever E, Kirli S. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative systems. *Hum Psychopharmacol*. 2007;22:67–73.
202. Sattler W, Maiorino M, Stocker R. Reduction of HDL- and LDL-associated cholesterylester and phospholipid hydroperoxides by phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase and Ebselen (PZ 51). *Arch Biochem Biophys*. 1994;309:214–21.
203. Savas HA, Gergerlioglu HS, Armutcu F. Elevated serum nitric oxide and superoxide dismutase in euthymic bipolar patients: impact of past episodes. *World J Biol Psychiatry*. 2006; 7:51–5.
204. Schenck JF, Zimmerman EA. High-field magnetic resonance imaging of brain iron: birth of a biomarker? *NMR Biomed*. 2004;17:433–45.
205. Schiepers OJ, Wichers MC, Maes M. Cytokines and major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005;29:201–17.
206. Schneider C, Tallman KA, Porter NA, Brash AR. Two distinct pathways of formation of 4-hydroxynonenal. Mechanisms of nonenzymatic transformation of the 9- and 13-hydroperoxides of linoleic acid to 4-hydroxyalkenals. *J Biol Chem*. 2001;276:20831-8.
207. Selek S, Savas HA, Gergerlioglu HS, Bulbul F, Uz E, Yumru M. The course of nitric oxide and superoxide dismutase during treatment of bipolar depressive episode. *J Affect Disord*. 2008;107:89–94.
208. Sen CK, Khanna S, Roy S. Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. *Life Sci*. 2006;78:2088–98.

209. Shimoda-Matsubayashi S, Matsumine H, Kobayashi T. Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. *Biochem Biophys Res Comm.* 1996;226:561–5.
210. Sichak SP, Dounce AL. A study of the catalase monomer produced by lyophilization. *Biochim Biophys Acta.* 1987;925:282–9.
211. Siever LJ, Trestman RL, Coccaro EF, Bernstein D, Gabriel SM, Owen K, Moran M, Lawrence T, Rosenthal J, Horvath TB. The growth hormone response to clonidine in acute and remitted depressed male patients. *Neuropsychopharm.* 1992;6:165–77.
212. Sinet PM, Heikkila RE, Cohen G. Hydrogen peroxide production by rat brain in vivo. *J Neurochem.* 1980;34:1421–8.
213. Smith JA, Davis CL, Burgess GM. Prostaglandin E2-induced sensitization of bradykinin-evoked responses in rat dorsal root ganglion neurons is mediated by cAMP-dependent protein kinase A. *Eur J Neurosci.* 2000;12:3250–8.
214. Somayajulu M, McCarthy S, Hung M, Sikorska M, Borowy-Borowski H, Pandey S. Role of mitochondria in neuronal cell death induced by oxidative stress; neuroprotection by coenzyme Q10. *Neurobiol Dis.* 2005;18:618–27.
215. Song C, Killeen AA, Leonard BE. Catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in neutrophils of sham-operated and olfactory-bulbectomised rats following chronic treatment with desipramine and lithium chloride. *Neuropsychobiology.* 1994;30:24–8.
216. Spickett CM, Jerlich A, Panasenko OM, Arnhold J, Pitt AR, Stelmaszyńska T, Schaur RJ. The reactions of hypochlorous acid, the reactive oxygen species produced by myeloperoxidase, with lipids. *Acta Biochim Pol.* 2000;47:889–99.
217. Srivastava N, Barthwal MK, Dalal PK, Agarwal AK, Nag D, Seth PK, Srimal RC, Dikshit M. A study on nitric oxide, beta-adrenergic receptors and antioxidant status in the polymorphonuclear leukocytes from the patients of depression. *J Affect Disord.* 2002;72:45–52.
218. Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science.* 1992;258:1898–902.

219. St Clair DK, Oberley TD, Muse KE, St Clair WH. Expression of manganese superoxide dismutase promotes cellular differentiation. *Free Radic Biol Med.* 1994;16:275–82.
220. Stockmeier CA, Mahajan GJ, Konick LC, Overholser JC, Jurjus GJ, Meltzer HY, Uylings HB, Friedman L, Rajkowska G. Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression. *Biol Psychiatry.* 2004;56:640–50.
221. Sun M, Zigman S. An improved spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on epinephrine autoxidation. *Anal Biochem.* 1978; 90:81–9.
222. Szuster-Ciesielska A, Słotwińska M, Stachura A, Marmurowska-Michałowska H, Dubas-Slemp H, Bojarska-Junak A, Kandefer-Szerszeń M. Accelerated apoptosis of blood leukocytes and oxidative stress in blood of patients with major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008;32:686–94.
223. Takahashi K, Avissar N, Whitin J, Cohen H. Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: a selenoglycoprotein distinct from the known cellular enzyme. *Arch Biochem Biophys.* 1987;256:677–86.
224. Tiemeier H, Hofman A, Kiliaan AJ, Meijer J, Breteler MM. Vitamin E and depressive symptoms are not related. The Rotterdam Study. *J Affect Disord.* 2002;72:79–83.
225. Timotijević I, Paunović VR. Instrumenti kliničke procene u psihijatriji. 3. izd. Beograd: Naša knjiga; 2010.
226. Thieme R, Pai EF, Schirmer RH, Schulz GE. Three-dimensional structure of glutathione reductase at 2 Å resolution. *J Mol Biol.* 1981;152:763–82.
227. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol.* 2003;552:335–44.
228. Ursini F, Maiorino M, Valente M, Ferri L, Gregolin C. Purification from pig liver of a protein which protects liposomes and biomembranes from peroxidative degradation and exhibits glutathione peroxidase activity on phosphatidylcholine hydroperoxides. *Biochim Biophys Acta.* 1982;710:197–211.
229. Valkanova V, Ebmeier KP, Allan CL. CRP, IL-6 and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Affect Disord.* 2013;150:736–44.

230. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39:44–84.
231. Vargas HO, Nunes SO, de Castro MR, Vargas MM, Barbosa DS, Bortolasci CC, Venugopal K, Dodd S, Berk M. Oxidative stress and inflammatory markers are associated with depression and nicotine dependence. *Neurosci Lett.* 2013;544:136–40.
232. Villa LM, Salas E, Darley-USmar VM, Radomski MW, Moncada S. Peroxynitrite induces both vasodilatation and impaired vascular relaxation in the isolated perfused rat heart. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91:12383–7.
233. Wei YC, Zhou FL, He DL, Bai JR, Hui LY, Wang XY, Nan KJ. The level of oxidative stress and the expression of genes involved in DNA-damage signaling pathways in depressive patients with colorectal carcinoma. *J Psychosom Res.* 2009;66:259–66.
234. Weisiger RA, Fridovich I. Mitochondrial superoxide simutase. Site of synthesis and intramitochondrial localization. *J Biol Chem.* 1973;248:4793–6.
235. Werner ER, Werner-Felmayer G. Substrate and cofactor requirements of indoleamine 2,3-dioxygenase in interferon-gamma-treated cells: utilization of oxygen rather than superoxide. *Curr Drug Metab.* 2007;8:201–3.
236. Wispé JR, Warner BB, Clark JC, Dey CR, Neuman J, Glasser SW, Crapo JD, Chang LY, Whitsett JA. Human Mn-superoxide dismutase in pulmonary epithelial cells of transgenic mice confers protection from oxygen injury. *J Biol Chem.* 1992;267:23937–41.
237. Wolfs IM, Donners MM, de Winther MP. Differentiation factors and cytokines in the atherosclerotic plaque micro-environment as a trigger for macrophage polarisation. *Thromb Haemost.* 2011;106:763–71.
238. World Health Organisation. The ICD-10 classification of mental and behavioral disorders: clinical description and diagnostic guidelines. Geneva: WHO; 1992.
239. Wrona MZ, Dryhurst G. Oxidation of serotonin by superoxide radical: implications to neurodegenerative brain disorders. *Chem Res Toxicol.* 1998;11:639–50.
240. Yap YW, Whiteman M, Cheung NS. Chlorinative stress: an under appreciated mediator of neurodegeneration? *Cell Signal.* 2007;19:219–28.

241. Yatham LN, Malhi GS. Bipolar disorder. 1st ed. Oxford: Oxford University Press; 2011.
242. Yoshida Y, Niki E, Noguchi N. Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidant: chemical and physical effects. *Chem Phys Lipids*.2003;123:63–75.
243. Young RC, Biggs JT, Ziegler VE, Meyer DA. A rating scale for mania: reliability, validity and sensitivity. *Br J Psychiatry*. 1978;133:429–35.
244. Zaleska MM, Floyd RA. Regional lipid peroxidation in rat brain in vitro: possible role of endogenous iron. *Neurochem Res*. 1985;10:397–410.
245. Zamaria N. Alteration of polyunsaturated fatty acid status and metabolism in health and disease. *Reprod Nutr Dev*. 2004;44:273–82.
246. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med*. 2002;33:337–49.
247. Zhang D, Wen XS, Wang XY, Shi M, Zhao Y. Antidepressant effect of Shudihuang on mice exposed to unpredictable chronic mild stress. *J Ethnopharmacol*. 2009;123:55–60.

VIII. BIOGRAFIJA AUTORA

Maja M. Lačković je rođena 22.12.1975 u Beogradu. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 1994/95. godine, a diplomirala 2000. godine sa prosečnom ocenom 9,80. Za vreme studija bila je član, sekretar i zamenik urednika redakcije stručno-naučnog časopisa studenata Medicinskog fakulteta u Beogradu „Medicinski podmladak“. Takođe je bila demonstrator na nastavi na engleskom jeziku na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu od školske 1996/97. do 1999/2000. godine.

Od 2000. godine zaposlena je na Klinici za psihijatriju Kliničkog centra Srbije.

Specijalistički ispit iz psihijatrije položila je 2006. godine sa odličnim uspehom.

Magistrski rad pod nazivom: „Psihijatrijski poremećaji kod bolesnika sa naslednim bolestima malih krvnih sudova mozga“ odbranila je 2010. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

2011. godine izabrana je za kliničkog asistenta za užu naučnu oblast Psihijatrija na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, a u isto zvanje reizabrana je 2014. godine. Učestvuje u izvođenju praktične nastave, izborne nastave katedre za naučnu oblast psihijatrija, kao i nastave na engleskom jeziku na Medicinskom fakultetu u Univerziteta u Beogradu.

Bila je mentor u 2 studentska rada. Dobila je „Zahvalnicu za izuzetan doprinos u radu Centra za stručni i naučno-istraživački rad studenata i za doprinos u razvoju stručnog i naučno-istraživačkog rada studenata Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu u školskoj 2011/2012“.

Učestvovala je u 2 naučno-istraživačka projekta koje finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Vlade Republike Srbije od 2006 – 2010. godine i od 2011 – 2015. godine u kojima je proučavala psihijatrijske manifestacije i kognitivne poremećaje kod bolesti malih krvnih sudova mozga.

Objavila je 52 naučna rada od kojih 17 *in extenso* u časopisima sa JCR liste.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Maja M. Lačković

broj upisa

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom:

ANALIZA ANTIOKSIDATIVNOG STATUSA KOD BOLESNIKA SA UNIPOLARNIM I BIPOLARNIM AFEKTIVNIM POREMEĆAJEM

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/a autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 12. 02. 2016.

Lačković Maja

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora : Maja M. Lačković

broj upisa

Naslov rada: ANALIZA ANTIOKSIDATIVNOG STATUSA KOD BOLESNIKA SA UNIPOLARNIM I BIPOLARNIM AFEKTIVNIM POREMEĆAJEM

Mentor: Prof. dr Aleksandar Damjanović
Komentor: Prof. dr Nataša Petronijević

Potpisani: Maja M. Lačković

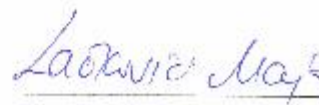
izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 12. 02. 2016.



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Naslov rada: ANALIZA ANTIOKSIDATIVNOG STATUSA KOD BOLESNIKA SA UNIPOLARNIM I BIPOLARNIM AFEKTIVNIM POREMEĆAJEM

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na polednjoj listi).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 12. 02. 2016.

