

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Ana M. Opanković

POVEZANOST NIVOVA JONIZOVANOG
MAGNEZIJUMA, POKAZATELJA
OKSIDATIVNOG STRESA I SPECIFIČNIH
MEDIJATORA ZAPALJENJA KOD
PACIJENATA SA ANKSIOZNIM I
DEPRESIVNIM POREMEĆAJIMA

doktorska disertacija

Beograd, 2023

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Ana M. Opanković

CORELATION OF IONIZED MAGNESIUM
LEVELS, OXIDATIVE STRESS INDICATORS
AND SPECIFIC INFLAMMATION
MEDIATORS IN PATIENTS WITH ANXIETY
AND DEPRESSIVE DISORDERS

doctoral dissertation

Belgrade, 2023

Mentor doktorske disertacije:

Prof. dr Srđan Milovanović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Komentor doktorske disertacije:

Prof. dr Katarina Savić Vujović, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

Doc. dr Čeda Miljević, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Doc. dr Branislava Medić, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Dušan Đurić, vanredni profesor Univerziteta u Kragujevcu, Fakultet medicinskih nauka,
Integrirane akademske studije farmacije

ZAHVALNICA

Tokom rada na istraživanju i pisanju disertacije velika pomoć su mi bile moje drage kolege, prijatelji i mentori kojima imam potrebu da se barem delom odužim na ovom mestu.

Na samom početku želim da se zahvalim pacijentima Klinike za psihijatriju, ali i svim mojim prijateljima i kolegama koji su prihvatili da kao ispitanici učestvuju u istraživanju.

Neizmernu zahvalnost dugujem mojim dragim kolegama, glavnoj medicinskoj sestri Radi Tešić, glavnom tehničaru Miliši Kunarcu, medicinskim sestrama Radici Đurić i Brankici Ružić na pomoći, podršci i angažovanju, uloženom vremenu i trudu kojim su mi značajno pomogli u prikupljanju uzoraka za analizu.

Posebu zahvalnost dugujem Profesoru Branimiru Radosavljeviću čija mi je pomoć u pripremi i analizi uzoraka jonizovanog magnezijuma bila od neprocenjivog značaja.

Veliku zahvalnost dugujem i dr Irini Besu Žižak i dr Mileni Čavić naučnim saradnicama koje su svojim trudom i angažovanjem pomogle u analizi uzoraka i izradi rezultata oksidativnog stresa i interleukina.

Veliko hvala Prof. Milanu Latasu na pomoći u prikupljanju uzorka. U uslovima pandemije i izmenjenog režima rada, odabir pacijenata za uključenje u istraživanje bio je značajno otežan, pa mi je pomoć Prof. Latasa bila od neprocenjivog značaja.

Doc.dr Zoran Bukumirić je divan čovek, kolega i pedagog, koji je svojom stručnošću i nesebičnom pomoći, počev od osmišljavanja metodološkog koncepta do obrade i tumačenja rezultata, bio uz mene i pomogao da ovo istraživanje uspešno privedem kraju i na tome sam mu beskrajno zahvalna.

Zahvaljujem se svim mojim dragim prijateljima koji su mi pružali kontinuiranu podršku tokom izrade i pisanja rada. Posebno hvala Ana Jotić, Jasni Atanasijević, Milici Rogić, Mariji Pešić i Darku Blažiću, na pomoći, lekturi i prevodu. Hvala mom dragom kolegi Stefanu Jerotiću na pomoći u rešavanju nekih nedoumica i njegovoj iskrenoj podršci.

Ne mogu da ne spomenem ženu čiji su mi stručni saveti i prijateljska pomoć bili od neprocenjivog značaja i ovog puta tokom izrade doktorata kao i tokom svih dosadašnjih istraživačkih, stručnih, ali i životnih nedoumica. Hvala Prof. dr Tatjani Atanasijević, koja je bila moj prvi mentor još tokom studentskih dana, koja je verovala u mene, podržavala od prvog dana kada smo se upoznale, bodrila kada pokleknem ali i uspešno “vraćala na zemlju” kada prerano “poletim”.

Hvala i članovima komisije: Prof. dr Čedi Miljeviću, Doc. dr Branislavi Medić i Prof. dr Dušanu Djuriću na sugestijama, podršci i pomoći u realizaciji disertacije.

I na kraju najveće Hvala mojim mentorima. Bez njihove stručne pomoći ne bi bilo ni ovog doktorata.

Veliko hvala mom komentoru Profesorki Katarini Savić Vujović. Profesorka Katarina Savić Vujović je bila moja koleginica sa godine, moj prijatelj, a kasnije je postala i moj komentor. Zahvaljujući njenom znanju, posvećenosti, sposobnostima, strpljenju, pomoći i podršci koju mi je pružala moj doktorat je uspešno priveden kraju. Draga Katarina, hvala što si me nebrojano puta ohrabrila da ne odustajem i pomogla da prevaziđem sve prepreke.

Neizmernu zahvalnost posvećujem i mom dragom šefu i mentoru, Profesoru dr Srđanu Milovanoviću. Profesor Milovanović je najzaslužniji što sam ja danas deo tima Klinike za psihijatriju. Njegova pomoć, prijateljski saveti i bezrezervna podrška su mi bili od neprocenjive važnosti, od trenutka kada sam upisala doktorske studije, preko prvih pomalo nespretnih veštačenja, do danas kada se timski borimo sa svim tekućim poslovnim izazovima. Njegovim angažovanjem rodila se ideja za moje istraživanje. U svakoj etapi bio je moralna podrška, uspevao je da umiri moje strahove, pomagao kada posustanem.

Dragi mentori HVALA vam na svim sugestijama, korekcijama, poklonjenom vremenu i neizmernoj podršci.

Na kraju, zahvaljujem svojoj porodici i rodbini koja je verovala u mene i podržavala me u mojim planovima.

Takođe se zahvaljujem koautorima radova koji su proizašli kao rezultat istraživanja u okviru ove doktorske teze jer su učestvovali u:

1. Kreiranju koncepta teze: Prof. dr Katarina Savić Vujović, Prof dr Srđan Milovanović;
2. Prikupljanju podataka: Prof dr Milan Latas, Doc dr Branislava Medić, Doc.dr Dragana Srebro
3. Formalnoj analizi: prof dr Zoran Bokumirić;
4. Merenju i analizi ispitivanih parametara: Prof dr Branimir Radosavljevi, dr Irina Besu Žižak, dr Milena Čavić;
5. Metodologiji: prof dr Katarina Savić Vujović, Prof dr Srđan Milovanović, prof dr Zoran Bokumirić, Prof.dr Sonja Vučković,
6. Pisanju- recenzija i uređivanje: Prof dr Srđan Milovanović, Prof dr Katarina Savić Vujović,

SAŽETAK

Anksioznost i depresija su najčešći psihijatrijski poremećaji u svetu. Traganjem za novim etiopatogenetskim mehanizmima, a u svetlu savremenog pristupa sagledavanja značaja nezdravog načina života, nedostaci određenih hranljivih materija (vitamina i minerala) bi mogli biti potencijalni biomarkeri ovih poremećaja. Magnezijum kao prirodni antagonist kalcijuma i blokator NMDA receptora ima značajnu ulogu u funkcionisanju centralnog nervnog sistema. Jonizovani magnezijum predstavlja biološki aktivnu formu.

Jedan od glavnih ciljeva ovog istraživanja bio je da se utvrdi koncentracija jonizovanog magnezijuma u krvi kod obolelih od anksioznih i depresivnog poremećaja, kao i korelacija jonizovanog magnezijuma sa pokazateljima oksidativnog stresa i medijatorima zapaljenja.

U istraživanje je uključeno 93 ispitanika podeljenih u tri grupe. Kontrolnu grupu činilo je 18 ispitanika. Ispitivane grupe su bile: pacijenati sa anksioznim poremećajem (36) i depresivnim poremećajem (39 pacijenata). Klinička dijagnoza zasnovana je na MKB 10 kriterijumima. Svi ispitivani biomarkeri (krvna slika i biohemijski parametri, nivo jonizovanog magnezijuma, pokazatelji oksidativnog stresa i medijatora zapaljenja) određivani su iz uzoraka periferene krvi. Za obradu i analizu podataka korišćen je program IBM SPSS Statistics 22.

Utvdili smo da postoji statistički značajna razlika u koncentraciji jonizovanog magnezijuma između zdravih dobrovoljaca i pacijenata sa dijagnozama depresije i anksioznosti. Pokazatelji oksidativnog stresa su bili u korelaciji sa jonizovanim magnezijumom.

Koncentracija jonizovanog magnezijuma može biti značajan pokazatelj anksioznosti i depresije. Oksidativni stres je potencijalni mehanizam kojim se može objasniti povezanost između nedostatka magnezijuma i ispitivanih psihijatrijskih poremećaja.

KLJUČNE REČI: magnezijum, jonizovani magnezijum, oksidativni stres, zapaljenje, anksioznost, depresivnost

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Neuronauke

UDK broj: _____

ABSTRACT

Anxiety and depression are the most common psychiatric disorders in the world. By searching for new etiopathogenetic mechanisms, and in light of the modern approach to understanding the importance of an unhealthy lifestyle, deficiencies of certain nutrients (vitamins and minerals) could be potential biomarkers of these disorders. Magnesium as a natural calcium antagonist and NMDA receptor blocker plays a significant role in the functioning of the central nervous system. Ionized magnesium represents biologically active form.

One of the main goals of this research was to determine the concentration of ionized magnesium in the blood of patients with anxiety and depressive disorders, as well as the correlation of ionized magnesium with indicators of oxidative stress and inflammatory mediators.

The research included 93 respondents divided into three groups. The control group consisted of 18 subjects. The investigated groups were: patients with anxiety disorder (36) and depressive disorder (39 patients). Clinical diagnosis is based on MKB10 criteria. All investigated biomarkers (blood count and biochemical parameters, level of ionized magnesium, indicators of oxidative stress and inflammatory mediators) were determined from peripheral blood samples. The IBM SPSS Statistics 22 program was used for data processing and analysis.

We found that there is a statistically significant difference in the concentration of ionized magnesium between healthy volunteers and patients diagnosed with depression and anxiety. Indicators of oxidative stress were correlated with ionized magnesium.

The concentration of ionized magnesium can be a significant indicator of anxiety and depression. Oxidative stress is a potential mechanism that can explain the association between magnesium deficiency and the investigated psychiatric disorders.

KEY WORDS: Anxiety, depression, magnesium, ionized magnesium, oxidative stress, inflammation

Scientific field: Medicine

The branch of scientific field: Neuroscience

UDK number: _____

SADRŽAJ

SADRŽAJ	1
1. UVOD	3
1.1. ANKSIOZNI POREMEĆAJI	3
1.1.1. Epidemiologija	4
1.1.2. Klasifikacija i klinička slika	4
1.1.3. Etiopatogeneza	6
1.1.3.1. Neuroendokrina osnova poremećaja	7
1.1.3.2. Neurohemijska osnova poremećaja	8
1.2. DEPRESIJA	10
1.2.1. Epidemiologija	10
1.2.2. Klasifikacija i klinička slika	10
1.2.3. Etiopatogeneza	11
1.2.3.1. Neurohemijska osnova poremećaja	12
1.2.3.2. Neuroendokrina osnova poremećaja	13
1.2.3.3. Neurodegenerativna hipoteza	14
1.2.3.4. Genetska hipoteza	14
1.2.3.5. Neurofiziološka osnova poremećaja	14
1.2.3.6. Neuroinflamacija i oksidativni stres	14
1.3. MAGNEZIJUM	15
1.3.1. Određivanje koncentracije magnezijuma u telu	16
1.3.2. Hipomagnezijemija	18
1.3.3. Simptomi hipomagnezijemije	19
1.3.4. Uloga magnezijuma u organizmu	19
1.3.5. Značaj nedostatka magnezijuma u nastanku bolesti	21
1.4. OKSIDATIVNI STRES	22
1.4.1. Slobodni radikali	23
1.4.2. Antioksidativna zastita	24
1.4.2.1. Antioksidativni enzimi	25
1.4.2.2. Neenzimski antioksidansi	26
1.4.3. Merenje oksidativnog stresa	26
1.4.4. Oksidativni stres u anksioznim i depresivnim poremećajima	26
1.5. INFLAMACIJA	28
1.5.1. Proinflamatorni citokini	29
1.5.1.1. Interleukin šest (IL-6)	30

1.5.1.2.	Tumor nekroza faktor-alfa (TNF- α).....	30
1.5.2.	Bela krvna zrnca-leukociti (WBC) i leukocitarna formula	31
1.5.3.	C-reaktivni protein (CRP).....	32
1.5.4.	Zapaljenski faktori u vezi sa trombocitima i drugim parametrima krvne slike.....	32
1.5.5.	Uloga inflamacije u bolestima CNS.....	33
2.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	34
3.	ISPITANICI I METODE.....	35
3.1.	Ispitanici.....	35
3.1.1.	Kriterijumi za uključivanje/isključivanje	35
3.1.1.1.	Uključujući kriterijumi za studijske grupe:.....	35
3.1.1.2.	Isključujući kriterijumi za studijske grupe:.....	35
3.1.1.3.	Uključujući kriterijumi za ispitanike u kontrolnoj grupi:.....	36
3.1.1.4.	Isključujući kriterijumi za ispitanike u kontrolnoj grupi:.....	36
3.2.	Dizajn studije	36
3.3.	Metode	37
3.3.1.	Pregled psihijatra.....	37
3.3.2.	Upitnici za samoprocenu.....	37
3.3.2.1.	Skala depresije, anksioznosti i stresa (DASS 21)	38
3.3.2.2.	Bekova skala depresivnosti (BDI)	38
3.3.3.	Određivanje parametara iz krvi ispitanika	39
3.3.3.1.	Određivanje krvne slike i biokemijskih parametara	39
3.3.3.2.	Određivanje nivoa jonizovanog magnezijuma.....	40
3.3.3.3.	Određivanje pokazatelja oksidativnog stresa i markera zapaljenja.....	40
3.4.	Statistička analiza.....	40
4.	REZULTATI.....	42
4.1.	Sociodemografske i kliničke karakteristika ispitanika.....	42
4.2.	Analiza biokemijskih parametara krvi, pokazatelja oksidativnog stresa i specifičnih medijatora zapaljenja	47
4.3.	Jonizovani magnezijum i korelacije jonizovanog magnezijuma sa drugim parametrima....	52
5.	DISKUSIJA	56
6.	ZAKLJUČCI.....	81
7.	LITERATURA	83

1. UVOD

Oko milijardu ljudi širom sveta ima neki psihički poremećaj (Rehm i Shield, 2019). U periodu od 1990. do 2017. godine prevalenca mentalnih poremećaja je porasla za 50% (Liu i sar., 2020). U periodu od 2020. godine do danas prema, podacima svetske zdravstvene organizacije, došlo je do dodatnog porasta anksioznosti, depresije i zloupotrebe supstanci u populaciji, kao posledice pandemije COVID-19. Psihičke bolesti negativno utiču na kvalitet života i na životni vek. Ekonomski troškovi koji nastaju u vezi sa invaliditetom i lečenjem ovih bolesti se procenjuju na oko 4 % BDP-a širom sveta.

Interakcija brojnih fizičkih i socijalno psiholoških faktora sa genetskom predispozicijom dovodi do razvoja bolesti. Depresija i anksioznost imaju neka zajednička klinička obeležja i patofiziološke mehanizme. Prema trenutno raspoloživoj svetskoj statistici samo jedna petina obolelih dobije odgovarajuću terapiju, odnosno blagovremeno započne tretman. Raspoložive farmakoterapijske metode ne ostvaruju kod svih pacijenata poboljšanje. Zbog neželjenih efekata terapije i time uslovljene nekomplijantnosti postoji rizik od progresije simptoma, razvoja drugih bolesti i smrtnih ishoda usled komplikacija. Traganjem za novim etiopatogenetskim mehanizmima, a u svetlu savremenog pristupa sagledavanja značaja nezdravog načina života (nedovoljno fizičke aktivnosti, loš san, dugotrajan stres i poremećaj ishrane), nedostaci određenih hranljivih materija (vitamina i minerala) bi mogli biti potencijalni biomarkeri predikcije, prognoze i lečenja. Magnezijum kao prirodni antagonist kalcijuma i blokator N-metil-D-aspartat (NMDA) receptora ima značajnu ulogu u funkcionisanju centralnog nervnog sistema. Do danas su sprovedene brojne studije kako bi se procenili efekti nedostataka magnezijuma na psihičko zdravlje. Raznolikost dobijenih nalaza i metodoloških pristupa otvara mogućnosti za dalja istraživanja.

1.1. ANKSIOZNI POREMEĆAJI

Anksiozni poremećaji predstavljaju skup nepsihotičnih poremećaja kojima je anksioznost jedini ili dominantni simptom. Karakteristika anksioznih poremećaja je patološki strah, koji stvara ozbiljnu neprijatnost i narušava funkcionalnost i kvalitet života. Strah je urođen i predstavlja emocionalni i telesni odgovor na opaženu opasnost. Anksioznost je strah, nervoza ili nelagoda, koja nastaje bez jasno vidljivog uzroka. Praćena je telesnim promenama i izmenama ponašanja. Može se pojaviti pre realne opasnosti i može trajati duže od same

opasnosti. Anksioznost se može definisati i kao strah, koji je jači od očekivanog, na dati stimulus. Strah se može javiti i bez prisustva stvarne opasnosti.

Anksioznost je čest simptom kod neuroloških oboljenja, hipovitaminoze, poremećaja funkcije endokrinih žlezda, poremećaja srčanog ritma, hronične opstruktivne plućne bolesti (HOPB), oboljenja digestivnog trakta, autoimunih i infektivnih bolesti. Može biti izazvana uzimanjem ili obustavom uzimanja nekih lekova ili psihoaktivnih supstanci.

Umerena anksioznost je uobičajeno ljudsko iskustvo. Ukoliko je jakog intenziteta ili predugog trajanja i ukoliko utiče na funkcionalnost onda je patološka.

1.1.1. Epidemiologija

Sa prevalencom od 3,8 %, anksiozni poremećaji su najčešći psihijatrijski poremećaji u populaciji (<https://ourworldindata.org/mental-health>) Osobe obolele od anksioznih poremećaja uglavnom kasno potraže stručnu pomoć, kada se stanje komplikuje ili je već u komorbiditetu sa drugim poremećajima. Procene su da je zastupljenost poremećaja veća od zvanične statistike. Poremećaji beleže porast u vreme i nakon pandemije korona virusom. Anksiozni poremećaji se češće javljaju kod žena (McLean i sar., 2011). Poremećaji imaju tendencu recidiva (Bruce i sar., 2005). Prevalenca poremećaja se razlikuje u odnosu na rasnu i etničku pripadnost (Fernandes i sar., 2018; Asnaani i sar., 2011). Stresni životni događaji i niži socioekonomski status su prediktori razvoja anksioznosti (Somers i sar., 2006).

1.1.2. Klasifikacija i klinička slika

U skladu sa specifičnim karakteristikama u pogledu načina ispoljavanja, toka i početka bolesti, anksiozni poremećaji su podeljeni na zasebne entitete. Prema desetoj reviziji međunarodne klasifikacije bolesti (MKB 10) svi anksiozni poremećaji nalaze se u širem spektru neurotskih stresogenih i telesno manifestnih poremećaja. U užem smislu anksiozni poremećaji obuhvataju dijagnostičke podkategorije: fobijski anksiozni poremećaj (F40) i drugi anksiozni poremećaji (F41).

Pri postavljanju dijagnoze, prvi kriterijum je prisustvo anksioznosti koja ne sme biti deo druge kliničke slike ili prateći simptom neke druge bolesti. Pored anksioznosti oboleli od anksioznih poremećaja ispoljavaju i druge simptome:

Fizički simptomi: drhtanje, grčenje, osećaj treperenja, tremor, bolovi u leđima, glavobolja, mišićna napetost, kratak dah, hiperventilacija, umor, parestezije, teškoće gutanja.

Simptomi nadražaja vegetativnog nervnog sistema: crvenjenje i bledilo, tahikardija, palpitacije, znojenje, hladne ruke, dijareja, mučnina, bol u epigastrijumu, suva usta, učestalo mokrenje.

Simptomi povezani sa mentalnim stanjem: osećaj straha, napetost, strepnja otežana koncentracija, nesanica, smanjen libido, “knedla u grlu“ i trema praćena osećajem nelagode u stomaku.

Za preciznu dijagnozu neophodno je uzeti u obzir broj simptoma, intenzitet, situacije u kojima se simptomi javljaju, trajanje poremećaja i eventualno postojanje stresnog događaja koji prethodi poremećaju i njihovu uzročno-posledičnu povezanost.

Generalizovani anksiozni poremećaj karakteriše uporni, preterani, iracionalni strah i napetost koji prati i poremećaj koncentracije pažnje, razdražljivost, psihički i fizički zamor, neosnovana briga, nesanica, osećaj bliske nesreće. Simptomi su stalno prisutni u trajanju od najmanje šest meseci. Anksioznost nije vezana za specifične situacije, kao kod fobije, ne nastaje naglo kao kod paničnog poremećaja. Generalizovana anksioznost može biti provocirana stresnim okolnostima, ali nije u bliskoj vezi i direktno uzročno posledično povezana sa stresnim životnim događajima kao kod dijagnostikovanja reakcije na stres i poremećaja prilagođavanja (Latas, 2022).

Socijalni anksiozni poremećaj karakteriše intenzivan preplavljujući strah u socijalnim situacijama, koji vodi u ponašanje izbegavanja i disfunkcionalnost. Osoba koja doživljava anksioznost u socijalnim situacijama je potpuno svesna neprimerenog intenziteta nelagode i iracionalnosti. Često se komplikuje drugim anksioznim i/ ili depresivnim poremećajem i poremećajem upotrebe supstanci (Ruscio i sar., 2008; Craske i Stein, 2016).

Fobije karakteriše anksioznost odnosno intenzivan strah u tačno određenim situacijama i za tačno određene objekte. Strah prevazilazi uzrok koji ga je izazvao i prati ga ponašanje izbegavanja. Oboleli je svestan neracionalnosti svog ponašanja.

Agorafobija predstavlja anksiozni poremećaj koji karakteriše: anksioznost u situaciji javnih mesta, prisustva mase ljudi i izlazak iz kuće sa ponašanjem izbegavanja takvih situacija. Često se u situacijama koje su neprijatne javlja panični napad.

Panični poremećaj Bitna karakteristika paničnog poremećaja su ponavljani napadi izrazite anksioznosti (panike). Panični strah nastaje naglo sa utiskom bliske smrti i brojnim kognitivnim i somatskim simptomima i nije ograničen na posebnu situaciju, pa je stoga

neočekivan i nepredvidiv. Panična anksioznost se javlja u situacijama gde ne postoji objektivna opasnost. Za postavljanje dijagnoze paničnog poremećaja potrebno je da osoba doživi nekoliko ozbiljnih napada iznenadne anksioznosti u toku jednog meseca. Između napada perzistira strah od sledećeg napada, što sve može voditi u ponašanje izbegavanja i rizik od komplikovanja poremećaja i razvoja agorafobije (Latas, 2022).

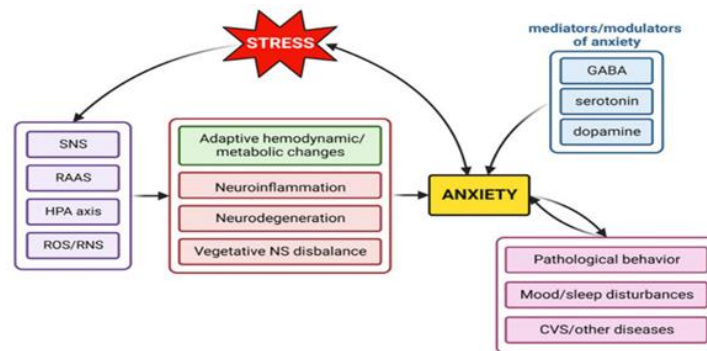
Mešoviti anksiozno depresivni poremećaj predstavlja poremećaj koji karakteriše istovremeno prisustvo i anksioznih i depresivnih simptoma, ali tako da nisu ispunjeni kriterijumi za postavljanje dijagnoze nekog od ovih poremećaja pojedinačno.

1.1.3. Etiopatogeneza

Složenost utvrđivanja etiopatogenetskog mehanizama nastanka anksioznosti i anksioznih poremećaja sastoji se u činjenici da anksioznost može biti simptom brojnih drugih psihičkih i telesnih poremećaja. Anksiozni poremećaji se mogu javiti u komorbiditetu sa drugim poremećajima, pa su im i biološki mehanizmi zajednički. U osnovi mehanizma nastanka anksioznosti je stres. Stres predstavlja svako opažanje opasnosti bez obzira da li je ona fizička ili psihološka, da li smo svesni opasnosti ili automatski reagujemo. Stres predstavlja i umišljaj opasnosti koja realno ne postoji. Kao reakciju na opaženi stres organizam uključuje brojne biološke mehanizme koji procenjuju opasnost i pripremaju organizam za ponovno uspostavljane homeostaze. Kako će neka osoba reagovati na stres uslovljeno je individualnim karakteristikama, genetskom predispozicijom, specifičnostima neurotransmiterskih i molekularnih puteva uz sadejstvo faktora sredine. Od vrste stresora zavisi koji će moždani regioni biti prvi aktivirani, ali kasnije tokom odgovora na stres, bez obzira da li je reč o fizičkom ili psihološkom stresoru, aktiviraju se zajednički neurohumoralni i neurohemijski procesi i dovode do sličnih ili istih bihevioralnih odgovora. Povećanje aktivnosti simpatičkog nervnog sistema na telesnom planu ubrzava rad srca, dovodi do skoka pritiska i povećava potrošnju glukoze. Parasimpatički odgovor deluje antagonistički na efekte simpatikusa, ali ostvaruje i nezavisno dejstvo. Aktivacija hipotalamo – hipofizno - adrenalne osovine (HPA), povezuje neuroendokrinu funkciju mozga sa ostatkom tela. Ne manje važnu ulogu u nastanku anksioznosti ima i sistem renin – angiotenzin - aldosteron (RAAS). Pojačano oslobađanje slobodnih radikala i aktivacija imunološkog sistema, uz brojne druge posledične promene, dovode do kaskade metaboličkih promena i oštećenja na bazi kojih se javlja anksioznost i drugi psihički poremećaji. Anksioznost povratno deluje na efekat stresa, a može progredirati i u

relativno trajne izmene raspoložena ili dovesti do razvoja nekih sistemskih poremećaja, što dodatno može pojačati anksioznost. (Godoi i sar., 2018).

Shematski prikaz bioloških mehanizama uključenih u odbranu od stresa ilustrovan je slikom br.1



Slika 1. Biološki mahanizmi kojima stres dovodi do nastanka anksioznosti. Slika je preuzeta iz (Repova i sar., 2022).

1.1.3.1. Neuroendokrina osnova poremećaja

Disregulacija autonomnog nervnog sistema je mehanizam koji predstavlja pokretač gotovo svih anksioznih poremećaja. Pojačana vegetativna aktivnost povećava tonus simpatikusa, dovodi do povećanog otpuštanja kateholamina, povećanja metabolita noradrenalina, poremećaja spavanja, uz pad nivoa γ - amino-buterne kiseline (GABA) što dalje vodi do hiperaktivnosti centralnog nervnog sistema. Povećava se nivo serotonina u određenim proanksiogenim regijama mozga. Pod uticajem stresa prvo dolazi do povećanja lučenja epinefrina iz nadbubrežnih žlezda. Istovremeno se pod dejstvom simpatikusa povećava i lučenje pljuvačnih žlezda, pa su odnosi alfa amilaze i kortizola značajni indikatori anksioznih poremećaja. (Nater i Rohleder, 2009; Reeves i sar., 2016). Merenje α amilaze u pljuvački bi, zbog njene uloge u imunom odgovoru, odgovoru na stres, mogao biti biomarker anksioznih poremećaja (Takai i sar., 2004; Veen i sar., 2008; van Veen i sar., 2008). Istraživanja su pokazala da su vrednosti koncentracije norepinefrina u plazmi, više kod obolelih od generalizovanog anksioznog poremećaja. Prisustvo norepinefrina u urinu zapaženo je samo kod obolelih žena (Hughes i sar., 2004; Holwerda i sar., 2018).

Nakon inicijalne aktivacije epinefrina, stres pojačava i lučenje kortikotropnog rilizing faktora što posredstvom HPA osovine povećava lučenje hormona nadbubrega (Juruena i sar. 2020). Aktivacijom glukokortikoidnih i mineralokortikoidnih receptora dolazi do brojnih

sistemskih, metaboličkih i bihevioralnih promena (Godoi i sar., 2018). Kratkoročna izlaganja povišenom kortizolu imaju zaštitnu adaptacionu funkciju. Povišen kortizol mehanizmom negativne povratne sprege dovodi do smanjenja sopstvene produkcije. Ispravnost i brzina aktivacije negativne povratne sprege su ključni u zaštiti od stresa. Kod hroničnog stresa usled zamora autoregulacionih mehanizama, HPA osa u dužem periodu biva povišeno aktivna, što rezultuje razvojem bolesti. Pacijenti koji već boluju od anksioznosti pokazuju kvalitativno drugačiji odgovor na stres u odnosu na zdrave, zbog poremećene regulacije autonomnog nervnog sistema (Repova i sar., 2022). U stresu se luči i dehidroepiandrosteron (DHEA) koji ima efekte suprotne kortizolu u mozgu (Dubrovsky, 2005).

Aktivacijom RAAS osovine pojačava se odgovor na stres. Angiotenzin dovodi do dodatne aktivacije simpatičkog nervnog sistema i utiče na povećanje aktivnosti HPA osovine. Postoji povezanost aktivacije ovog sistema i razvoja anksioznosti. Tome u prilog ide i činjenica da blokatori RAAS kod određenih poremećaja imaju anksiolitički efekat (Bali i Jaggi, 2013). Ovaj efekat ostvaruju regulacijom receptora, smanjenjem aktivnosti simpatikusa, uticajem na HPA osovinu i antiinflamatornim svojstvima (Salmani i sar., 2020; Kumar i sar., 2015; Genaro, 2017).

1.1.3.2. Neurohemijska osnova poremećaja

Pod uticajem stresa i u situacijama hronične anksioznosti dolazi do izmena funkcionisanja neurotransmiterskih sistema i odgovarajućih moždanih regiona koji učestvuju u generisanju odgovora na stres. Tri glavna neurotransmitera u vezi sa anksioznim poremećajima su gama-amino-buterna kiselina (GABA), noradrenalin (NA) i 5-hidroksi-triptamin (5-HT, serotonin).

Serotonin može imati i anksiolitički i proanksiogeni efekat u zavisnosti u kojim moždanim regionima i posredstvom kojih receptora deluje. Stimulacija 5HT_{2C} receptora amigdale pojačava strah i anksioznost, dok se posredstvom 5HT_{1A} ostvaruje anksiolitički efekat. Pored regulacije anksioznosti serotonin reguliše raspoloženje, ciklus budnosti i spavanja, apetit i posreduje u regulaciji bola (Campbell i sar., 2003; Bauer, 2015).

Patološka anksioznost nastaje zbog poremećene ravnoteže između inhibitornih GABA i ekscitatornih neurotransmitera acetilholina (ACh) i glutamata. GABA je glavni inhibitorni neurotransmiter u nervnom sistemu (Kalueff i Nutt, 2007). Smanjena osetljivost GABA_A receptora igra značajnu ulogu u nastanku anksioznosti. Agonisti GABA receptora imaju anksiolitički efekat (Green i sar., 2020). Kako svi neurotransmiterski sistemi imaju višestruke

recipročne veze međusobno, tako i 5HT neuroni određenih moždanih regija dobijaju GABA signalizaciju.

Treći važan neurotransmitter u odgovoru na stres i razvoju anksioznosti je noradrenalin (NA). Oslobađa se pod uticajem stresa iz locus ceruleusa, a stimuliše prefrontalni korteks, hipokampus, amigdale i nucleus acumbens koji su uključeni u emocionalno ponašanje. Pojačana aktivnost ovog sistema dovodi do anksioznosti, uključujući i telesne simptome poput tahikardije, tremora, preznojavanja i proširenja zenica. Smanjena reaktivnost locus ceruleusa mogla bi da poveća otpornost na stres. Postoje dva glavna podtipa adrenergičkih receptora alfa i beta. Blokada simpatičkog nervnog sistema može da smanji anksioznost, pa se beta blokatori uspešno koriste u rešavanju tegoba (Liu i sar., 1991; Falloon i sar., 1981; Giustino i sar., 2016).

Dopamin ima signalnu funkciju u smanjivanju straha. Promene na nivou dopaminergičke transmisije posredstvom glutamatergičke transmisije u medijalnom prefrontalanom korteksu utiču na anksioznost (Zarrindast i Khakpai, 2015). D₁ i D₂ dopaminski receptori uključeni su u modulaciju anksioznosti. Blokada D₁ receptora u području amigdaloidnog jedra dovodi do anksiolize (Perez de la Mora i sar., 2012).

Neki neuropeptidi i oksitocin imaju anksiolitičke efekte. Vazopresin, supstanca P, holecistokinin i neuropeptidi koje oslobađa kortikotropin deluju proanksiogeno (Kornhuber, 2020). Ravnoteža neuropeptida i kortikotropnih hormona tokom stresa je odgovorna za otpornost organizma. Grelin je neuropeptid koji se primarno vezuje za regulaciju unosa hrane, ali on reguliše i raspoloženje i anksioznost. Povećanje lučenja grelina u stresu, utiče na raspoloženje, između ostalog i posredstvom HPA ose (Spencer i sar., 2012).

Neurotrofični faktori imaju udela u razvoju određenih anksioznih poremećaja. Otkriveni su niži nivoi neurotrofnog faktora rasta dobijenog iz mozga (BNDF - eng. brain-derived neurotrophic factor) kod paničnih poremećaja i generalizovane anksioznosti. BDNF podstiče funkcionisanje hipokamusa odraslih. Stres smanjuje ekspresiju BDNF u hipokampusu, dok hronična primena antidepresiva poništava ovaj efekat (Duman i sar., 1999; Duman i Monteggia., 2006).

Inflamacija može posredovati u razvoju psihičkih poremećaja. Porast zapaljenskih markera registrovan je kod obolelih od anksioznih poremećaja (Bankier i sar., 2008; Tofani i sar., 2015). U uzorku pljuvačke obolelih od anksioznih poremećaja zabeležene su smanjene vrednosti imunoglobulina IgA koji je odgovoran za adekvatan imunitet (Engeland i sar., 2016). Jedan od potencijalnih mehanizama kojim periferna inflamacija dovodi do nastanka psihičkih

izmena manifestuje se kroz izmene na nivou bazalnih ganglija, promene u kortikalnom sistemu nagrade i motivacije, kao i moždanim regionima odgovornim za anksioznost (amigdala, insula i prednji cingularni girus) i izmene neurotransmisije glutamata i monoamina (Felger, 2018). Oštećenje nukleinskih kiselina, proteina i neuronske lipidne membrane pod uticajem slobodnih radikala dovodi do niza patoloških promena koje posreduju u nastanku psihičkih poremećaja (Bouayed i sar., 2009; Kumar i Chanana, 2017). Povišeni ROS (eng. reactive oxygen species) u neuronima i glijalnim ćeljama hipokampusa, cerebralnom korteksu i perifernoj krvi, uz istovremeno ispoljavanje ponašanja sličnog anksioznosti zabeleženo je kod eksperimentalnih životinja (Rammal i sar., 2008).

Neurobiološka osnova različitih manifestacija anksioznih poremećaja je kompleksna i još uvek nedovoljno ispitana, što ostavlja prostora za dalja istraživanja novih biomarkera.

1.2. DEPRESIJA

Depresija je mentalni poremećaj koji karakteriše perzistentno osećanje tuge u periodu od najmanje dve nedelje, praćeno gubitkom interesovanja za aktivnosti u kojima je osoba prethodno uživala i kompromitovanim svakodnevnim funkcionisanjem i aktivnostima. Pored pomenutih simptoma kod obolelih od depresije javlja se i gubitak energije, promene u apetitu, promene u spavanju, anksioznost, smanjena koncentracija, uznemirenost, osećanje bezvrednosti, ideje krivice i beznadežnosti, kao i misli o samopovređivanju ili suicidu. Depresija dovodi do radne i profesionalne disfunkcionalnosti i razvoja brojnih drugih komorbiditetnih bolesti i stanja. (health/management/depression/en/)

1.2.1. Epidemiologija

Prema podacima svetske zdravstvene organizacije između 2 i 6 % populacije pati od depresivnih poremećaja. Broj obolelih varira u zavisnosti od podneblja, starosne dobi i pola (<https://ourworldindata.org/mental-health>). Češće se javlja u starijoj životnoj dobi i češće kod žena. Do 15% depresivnih pacijenta svoj život završi suicidom (Andreasen, 2001). Prema podacima SZO oko 800.000 osoba godišnje izvrši samoubistvo (Ruderfer i sar., 2020). Procenjuje se da će do 2030. godine depresija biti na drugom mestu po ukupnom udelu u svim bolestima (Roohi i sar., 2021; Mathers i Loncar, 2006).

1.2.2. Klasifikacija i klinička slika

Depresija se prema MKB-10 klasifikaciji svrstava u poremećaje raspoloženja. Depresija u užem smislu se klasifikuje kao depresivna epizoda i rekurentni depresivni poremećaj.

Rekurentni depresivni poremećaj za razliku od depresivne epizode karakteriše ponajavljanje depresivnih epizoda (najmanje dve depresivne epizode) sa intervalom bez simptoma između epizoda u najkraćem trajanju od dva meseca. U dve trećine slučajeva depresija biva rekurentna (Kennedy i sar., 2004).

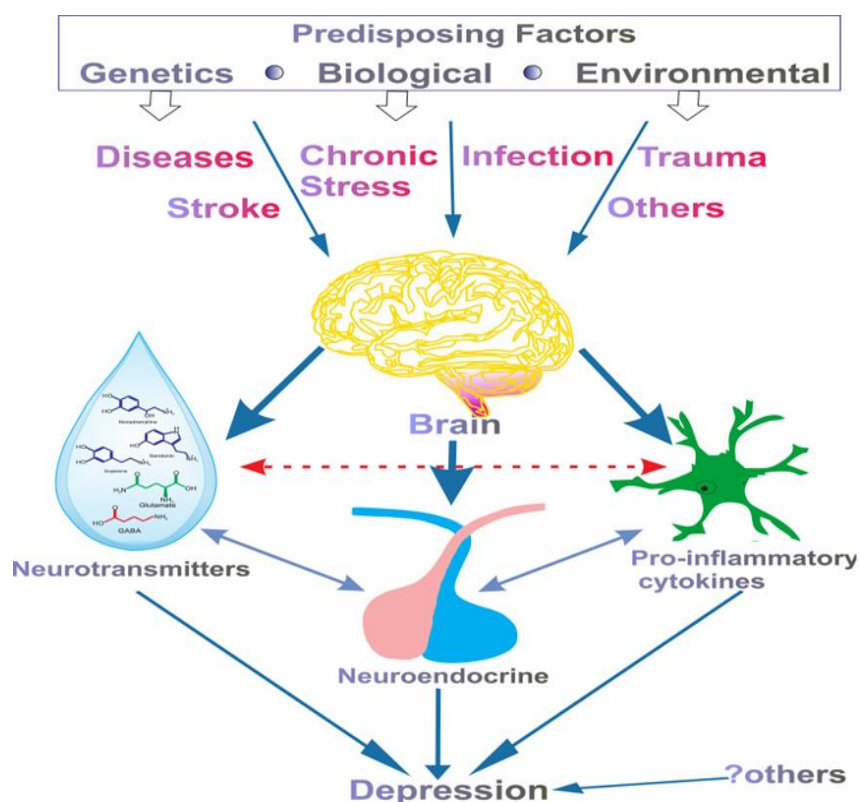
Depresivna epizoda može biti različitog intenziteta i kvaliteta. Prema težini simptoma deli se na blagu, umerenu i tešku. Težina epizode se određuje na osnovu prisustva tačno određenog broja simptoma koji su visoko specifični za depresiju: depresivno raspoloženje, gubitak interesovanja i uživanja, povećanu zamorljivost, uz određeni broj simptoma koji često prate depresiju: oštećena koncentracija i pažnja, smanjeno samopouzdanje i samopoštovanje, osećanje krivice i bezvrednosti, sumoran i pesimističan pogled na budućnost, ideje o samopovređivanju ili suicidu, poremećen san, snižen apetit (Kaličanin, 2002). Kvalitativno depresija može biti sa psihotičnim simptomima ili sa somatskim simptomima. Teška depresivna epizoda sa psihotičnim simptomima obuhvata uz opšte MKB-kriterijume veći stepen anksioznosti, pojavu ili depresivnog stupora ili sumanutih ideja i/ili slušnih iluzija i halucinacija, pri čemu bolesnik "čuje" da i drugi o njemu govore kao o grešnom čoveku. Često je praćena psihomotornom agitacijom. (Jašović Gašić i Lečić Toševski, 2007). Prevalenca psihotične depresije tokom života varira od 0,35% do 1%, sa višim stopama u starijoj dobi (Jääskeläinen i sar., 2018). Pored depresivne epizode i rekurentnog depresivnog poremećaja klasifikacija obuhvata i distimiju - perzistentni depresivni poremećaj. Distimija može biti komplikovana depresivnim epizodama, kada se naziva "dupla depresija".

Depresija doprinosi skraćenju životnog veka, zbog podložnosti razvoja hroničnih bolesti kao što su kardiovaskularna oboljenja, autoimune bolesti, dijabetes, karcinomi i mnoge druge.

1.2.3. Etiopatogeneza

Uticao hroničnog stresa i nepovoljnih životnih okolnosti na nastanak i razvoj depresije bio je predmet brojnih istraživanja. Kao i za većinu drugih psihičkih poremećaja, važi pravilo da sredinski i razvojni faktori dovode do razvoja poremećaja na bazi genetske odnosno biološke vulnerabilnosti. Stresori koji dovode do nastanka depresije kroz aktivaciju imunoinflamatornih mehanizama doprinose istovremeno i razvoju brojnih drugih bolesti. Depresija se komorbidno javlja u brojnim drugim bolestima ili stanjima. Rizik od depresije nosi i fiziološki proces starenja (Oni i sar., 2018).

Shematski prikaz etiopatogenetskih mehanizama koji se nalaze u osnovi depresivnog poremećaja (slika 2) najbolje ilustruje složenost i međusobnu povezanost faktora.



Slika 2. Etiopatogenetski mehanizmi nastanka depresije. Slika je preuzeta iz (Ekong i Iniodu 2021.)

1.2.3.1. Neurohemijska osnova poremećaja

Među brojnim etiopatogenetskim mehanizmima nastanka depresije najznačajnije su svakako hipoteze o neurohemijskoj osnovi poremećaja, odnosno poremećaju funkcionisanja važnih neurotransmiterskih sistema (serotonin, noradrenalin, acetilholin i dopamin) (Delgado i Moreno, 2000; Hirschfeld, 2000, Kraus i sar., 2017) . "Kateholaminska teorija" nastanka depresije datira još iz 1965. godine i jedna je od prvih etiopatogenetskih teorija.

Noradrenalin je neurotransmiter koji između ostalog moduliše adaptaciju na stres i bol, a vezuje se i za agresivno ponašanje. Prolongirana aktivacija locus ceruleusa (mesto najveće koncentracije noradrenalina u CNS-u) dovodi se u vezu sa ponašanjem tipa "naučene bespomoćnosti" koje se vezuje za depresiju. Oboleli od depresije imaju snižene koncentracije metabolita noradrenalina u serumu i likvoru.

Serotonin utiče na cirkardijalni ritam, raspoloženje, termoregulaciju, modulaciju bola, seksualno ponašanje, kontroliše apetit. Najveća koncentracija serotonergičkih neurona

nalazi se u nuclei raphe, čije su projekcije u bliskoj vezi sa limbičkim sistemom. Prema indolaminskoj hipotezi kod pacijenata sa depresijom snižena je aktivnost serotonergičkog sistema. Hipotezu potvrđuju nalazi sniženih koncentracija metabolita serotonina u likvoru.

Poremećaj funkcije dopamina na nivou mezolimbicko - mezokortikalnog puta koji koordinira u ispoljavanju emocija, doživljaju zadovoljstva i utiče na proces učenja, odgovoran je za kognitivne probleme i gubitak osećaja zadovoljstva. Lekovi koji povećavaju nivo dopamina smanjuju simptome depresije (Dailly i sar., 2004).

Mnogobrojne studije ukazuju i na sniženje u koncentracijama acetilholina (ACh) i GABA kao i njihovih metabolita u likvoru i plazmi kod osoba sa depresijom, kao i promene u koncentraciji glutamata i glicina (Mineur i Picciotto, 2010; Möhler, 2012; Jaso i sar., 2017).

Molekularne i ćelijske hipoteze veći značaj pridaju transdukciji signala, jer upravo su sekundarni glasnici ti koji povezuju više neurotransmiterskih sistema. Kod depresivnih pacijenata promene se beleže na nivou G proteina, cAMP i proteinkinaza (Coull i sar., 2000; Duman i sar., 1999).

Neuroendokrina osnova poremećaja

Jedna od najviše ispitivanih hipoteza kada su u pitanju hormonski regulatorni mehanizmi je povišena aktivnost HPA osovine (Checkley, 1996). Kod obolelih od depresije nađene su više vrednosti kortizola u krvi, uz poremećaje uobičajenog ritma lučenja kortizola i visoke koncentracije metabolita u urinu. Deksametazonski test supresije se može koristiti kao marker depresije. Sve više pažnje se poklanja ulozi aktivacije RAAS sistema, koja kroz indukciju neuroinflamacije, oksidativnog stresa i drugih mehanizama odgovora na stres, dovodi do razvoja anksioznih i depresivnih poremećaja. Blokatori ovog sistema se razmatraju kao potencijalna terapija budućnosti (Gong i Deng, 2023).

Tiroidna disfunkcija je pokazana kod 5 do 10% ispitanika sa depresijom. Test opterećenja tireotropnim rilizing faktorom (TRH) pokazuje sniženu produkciju tireostimulirajućeg hormona (TSH) kod pacijenata sa teškom depresijom (Brigitta, 2002). Promene osovine hipotalamus-hipofiza-gonada (HPG) se takođe sreće kod određene grupe depresivnih pacijenata (Troubat i sar., 2021). Pored pomenutih hormonskih disbalansa u depresiji su nađene i promene u koncentraciji nivoa hormona rasta, leptina, grelina kao i

neuropeptida Y (Lang i Borgwardt, 2013). Tačno utvrđen mehanizam nastanka i hijerarhija promena još uvek nije precizno definisana (Kunugi i sar., 2010).

1.2.3.2. Neurodegenerativna hipoteza

Metodama vizualizacije CNS-a uočeno je smanjenje hipokampusa kod depresivnih pacijenata. Povećana aktivnost subkortikalnih zona mozga, smanjen metabolizam prefrontalnog korteksa i strukturne promene amigdala i nucleusa raphe kod depresivnih pacijenata ukazuju na značaj ovih moždanih regiona u nastanku poremećaja. Ovi nalazi se između ostalog povezuju sa smanjenom koncentracijom neurotrofnog faktora rasta dobijenog iz mozga (BDNF), potom hiperkortizolemijom i povećanom reaktivnošću HPA osovine. U depresiji se beleži i smanjenje eritropoetina, faktora rasta (Zhang i sar., 2018).

1.2.3.3. Genetska hipoteza

Stopa nasleđivanja depresije se prema procenama nekih studija kreće u rasponu od 31 do 42 % (Tian i sar., 2020). Genetska hipoteza dopunjava ispitivanja bioloških osnova depresije. Najveći broj ispitivanih gena je odgovoran za transkripciju proteina odgovornih za sintezu i funkciju monoamina, HPA osovine i funkcionisanje imunološkog sistema. Najviše su istraživani geni za COMT (catechol-O-metil-transverazu) i SERT (serotoninski transporter). Ovi geni predstavljaju i osnovu monoaminske hipoteze. Epigenetski faktori uglavnom uključuju metilaciju DNK (Meaney i sar., 2005).

1.2.3.4. Neurofiziološka osnova poremećaja

Uočeno je da nedostatak svetlosti izaziva ponašanja nalik depresiji i utiče na smanjenje neurogeneze. Svetlost utiče i na lučenje melatonina. Izlaganje dnevnom svetlu povećava lučenje melatonina tokom noći, povećava i vrednosti 5HT u trombocitima, sintezu vitamin D, i lučenje kortizola, što sve predstavlja faktore odgovorne za nastanak depresije (Repova i sar., 2022). Poremećaji spavanja predstavljaju jedan od osnovnih simptoma depresije.

1.2.3.5. Neuroinflamacija i oksidativni stres

Čest komorbiditet depresije i zapljenskih bolesti ukazuje i na potencijalni zajednički patofiziološki mehanizam nastanka i/ ili perizistiranja depresije (Gialluisi i sar., 2020b). Postoje značajni dokazi da inflamatorni procesi utiču na razvoj i težinu depresivnosti, kao i da antiinflamatorni lekovi mogu povoljno delovati na smanjenje simptoma. Kod depresivnih pacijenata se često beleže povišene koncentracije proinflamatornih citokina i drugih markera

zapaljenja u uzorcima likvora i krvi. Sistemska inflamacija sa ili bez kliničkih pokazatelja je često izazvana oksidativnim stresom, što opet povećava rizik za nastanak depresije (Chavez-Castillo, 2019).

U novije vreme sve veći značaj se pridaje ispitivanju uticaja nedostataka hranljivih materija i vitamina i mikroelemenata u etiologiji depresije. U tom kontekstu depresija može biti komorbidno stanje ili posledica organskih uzroka nastanka deficita ili smanjenog unosa u sklopu drugih bolesti. Tačni mehanizmi koji povezuju uticaj nutricije na razvoj depresije nisu utvrđeni, ali je do sada pokazana veza poremećaja raspoloženja sa nedostatkom selena, folne kiseline, vitamin A, C, E, B6 i B12. Aminokiseline su prekursori neurotransmitera pa njihov nedostatak dovodi do smanjenja važnih neurotransmitera. Minerali kao što su natrijum, kalijum, magnezijum, kalcijum fosfor, gvožđe, cink, bakar i mangan se takođe dovode u vezu sa depresijom (Li i sar., 2018b; Mrug i sar., 2019; Nakamura i sar., 2019).

1.3. MAGNEZIJUM

Magnezijum je zemno alkalni metal, osmi mineral po zastupljenosti u prirodi, a četvrti u ljudskom organizmu. Najveći procenat magnezijuma u prirodi nalazi se vidu soli karbonata u sastavu ruda dolomit i magnezit. Magnezijum iz okeana i reka je jedini prirodni bioiskoristivi rezervoar. Najveća koncentracija magnezijuma u prirodi je u Mrtvom moru 198mm/L. (Bodaker i sar., 2010). Ukupan sadržaj magnezijuma u telu iznosi 20 mmol/kg telesne težine bez telesnih masti, pa je prosečna vrednost magnezijuma kod odraslog čoveka između 20-28 grama (de Baaij i sar., 2015). Preko 60% magnezijuma je u kostima, a preostali deo je u skeletnim mišićima i mekim tkivima. Svega 1-3% ukupnog magnezijuma se nalazi izvan ćelije. Unutarćelijski magnezijum je uglavnom raspoređen u ćelijske organele (mitohondrije, sarkoplazmatski retikulum i ćelijsko jedro). U citoplazmi je najvećim delom vezan za proteine, negativno naelektrisane jone i ATP, a samo 1-5% je jonizovano (slobodno) (Jahnen-Dechent i Ketteler, 2012). Koncentracija slobodnog magnezijuma u citosolu je 0,5-1mmol/l. Gradijent magnezijuma se menja sa promenom homeostaze. Vreme koje je potrebno da se promeni gradijent razlikuje se u zavisnosti od tkiva. U masnim ćelijama gradijent se promeni za sat vremena, dok se u limfocitima gradijent održava po par dana (Romani, 2007). Koncentracija magnezijuma u serumu je 0,76-1,15mmol/L (Touyz, 2004).

Najveća resorpcija magnezijuma se odvija u crevima. Apsorbuje se od 24-76% od ukupno unete količine. Pri nižem unosu veća je relativna apsorpcija. Najveći procenat unetog magnezijuma se apsorbuje u tankom crevu paraćelijskim transportom ili preko receptorskih

kanala koje koristi i kalcijum, a znatno manji deo u debelom crevu (Alexander i sar., 2008; Van der Wijst i sar., 2014; Jahnen-Dechent i Ketteler, 2012). Osobe koje imaju mutaciju receptorskih gena TRPM7 i TRPM6 (receptori debelog creva i distalnog uvijenog tubula nefrona), imaju hipomagnezijemiju teško podložnu parenteralnoj supstituciji (Nadler i sar., 2001; Schlingmann i sar., 2002). Višak unetog magnezijuma se izlučuje fecesom (Saris i sar., 2000). Apsorbovani magnezijum se filtrira u bubrežima i izlučuje urinom. Dnevno se filtrira oko 100 mmol/L (Jahnen-Dechent i Ketteler, 2012). Na izlučivanje utiču brojni faktori. Pokazano je da supstitucija estrogenom kod žena u postmenopauzi smanjuje izlučivanje magnezijuma. Oslobođanje paratiroidnog hormona povećava resorpciju magnezijuma u bubrežima i u crevima i oslobođanje iz kostiju (Jeroen i sar., 2012; Anast, 1976; Zofkova i Kancheva, 1995; Groenestege, 2006). Insulin zavisno od doze povećava koncentraciju magnezijuma u izolovanim tkivima. Ovaj efekat insulina na koncentracije magnezijuma se može primeniti u lečenju ishemijske bolesti srca (Amano i sar., 2000). Nedostatak magnezijuma uglavnom prati i nedostatak kalijuma (Jeroen i sar., 2012). Kako organizam pomenutim mehanizmima teži da održi homeostazu magnezijuma, to se koncentracije magnezijuma u serumu uprkos njegovom nedostatku dugo vremena održavaju stabilnim. U slučaju nedostatka povlače se rezerve iz ćelija.

Po preporukama Nacionalnog inštituta za zdravlje referentni dnevni unos Mg se razlikuje prema uzrastu. Za muškarce i žene uzrasta od 9 do 13 godina je približno isti i iznosi 240 mg/dan. Kod odraslih muškaraca preporučeni dnevni unos 420 mg/dan za starost od 31-70 godina. Za žene iste starosne dobi je preporučeni unos 320 mg /dan (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545442/table/appJ_tab3/?report=objectonly).

Najviše magnezijuma ima u zelenom povrću, orašastim plodovima, semenkama i celom zrnju žitarica. Sa malim udelom ima ga i u mlečnim proizvodima (Institute of Medicine (US), 1997; Marx i Neutra, 1997).

1.3.1. Određivanje koncentracije magnezijuma u telu

Krv i urin predstavljaju najdostupnije uzorke za analizu. Zbog uticaja promena funkcije bubrega, hormona, lekova i drugih metaboličkih produkata, nivo magnezijuma u urinu ne može biti pouzdan pokazatelj statusa magnezijuma u organizmu. Jedina korišćena metoda za procenu magnezijuma u urinu je merenje njegove koncentracije u 24-oročasnog uzorku (Witkowski i sar., 2011).

Za merenje magnezijuma u krvi mogu se koristiti: puna krv i njene frakcije (serum i plazma), kao i ćelije krvi (eritrociti, mononuklearne ćelije periferne krvi i trombociti) (Workinger i sar., 2018).

Najbrži i najjednostavniji metod procene je, određivanje koncentracije magnezijuma u serumu. Samo 1% Mg-a se nalazi izvan ćelija, a samo oko 0,3% u serumu, zbog čega ovako izmerena koncentracija ne održava preciznu procenu količine magnezijuma u celom telu (Gröber i sar., 2015; Jahnen-Dechent i Ketteler, 2012; Touiz, 2004; Elin 2010). Koncentracija magnezijuma u serumu se kreće u rasponu od 0,76 do 1,15 mmol/L. Termin hipomagnezijemija se uobičajeno odnosi na koncentraciju magnezijuma u serumu ispod 0,76 mmol/L (Ismail i Ismail 2010; VonEhrlich i sar., 2014; Vormann, 2014; Witkowski i sar., 2011). Kada je koncentracija magnezijuma u krvi niska aktivacijom homeostatskih mehanizama se magnezijum povlači iz crvenih krvnih zrnaca, čime se održava relativno konstantna vrednost serumskog magnezijuma.

Zbog toga je precizniji pokazatelj statusa magnezijuma merenje nivoa ovog katjona u crvenim krvnim zrnima (RBC). Prilikom ovog načina merenja neophodna je obustava vitaminske suplementacije sedam dana pre uzimanja uzorka. Referentni opseg magnezijuma u eritrocitima je od 4,2 do 6,8 mg/dL.

Određivanje magnezijuma u tkivima je pouzdaniji i daleko invazivniji metod procene, zbog čega se retko primenjuje. Retko se primenjuje i tkivni test neinvazivne intracelularne mineralno - elektrolitne analize (EKSA) (Razzaque, 2018).

Testom za analizu minerala kose, koji nije usko specifičan za magnezijum, otkriva se i prisustvo teških metala i toksina.

Testovi opterećenja sa većom preciznošću određuju nedostatak magnezijuma. Test opterećenja sa *per os* primenom većih koncentracija preparata magnezijuma nosi rizik od neželjenih gastrointestinalnih tegoba. Češće se primenjuje intravenska aplikacija magnezijuma. Kod zdravih osoba, zadržavanje magnezijuma prilikom pareneteralne primene iznosi oko 2-8% (Fawcett i sar., 1999; Speich i sar., 1981). U slučaju hipomagnezijemije zadržava se više od 27 % aplikovanog magnezijuma (Fawcett i sar., 1999; Walser, 1961).

Količnik magnezijuma i kalcijuma u serumu se smatra osetljivijim indikatorom kako samog statusa tako i promena koncentracije magnezijuma. Optimalna vrednost ovog količnika je 0,4 (Rosanoff i Wolf, 2016).

Merenje jonizovanog magnezijuma je jedna od najnovijih i najpreciznijih metoda koja određuje koncentracije bioaktivne forme magnezijuma. Omogućava brzu identifikaciju osoba sa hipo- ili hipermagnezijemijom. Jonizovani magnezijum se može meriti u punoj krvi i u pojedinačnim frakcijama. Referentni opseg zavisi od vrste aparata koji se koristi. Prema podacima jedne grupe istraživača fiziološki opseg koncentracija jonizovanog magnezijuma se kreće u rasponu od 0,54 do 0,67 mmol/l (Swaminathan, 2003; Saris i sar., 2000). Prema podacima Scarpati i saradnika koncentracije jonizovanog magnezijuma se kreću u referentnom rasponu od 0,45 do 0,60 mmol/l (Scarpati i sar., 2020).

Spektroskopija magnetne rezonance fosfora i protonska nuklearna magnetna rezonanca (NMR) mišića i plazme predstavljaju savremene metode vizualizacije tkiva i organa mogu poslužiti za detekciju bioraspodjelivosti magnezijuma u ciljnim tkivima, ali se uglavnom iz ekonomskih razloga ređe koriste (Meyerspeer i sar., 2020; Reyngoudt i sar., 2019; Schutten i sar., 2019).

1.3.2. Hipomagnezijemija

Nedostatak magnezijuma može biti uslovljen lošom ishranom, hormonskom neravnotežom i elektrolitnim disbalansom. Hipovitaminoza D vitamina smanjuje apsorpciju magnezijuma u crevima (Zittermann, 2013; Deng i sar., 2013). Trovanja ili upotreba nekih lekova takođe mogu izazvati poremećaj koncentracije magnezijuma. Nedostatak magnezijuma se javlja i kao posledica korišćenja nekih lekova (antibiotici, antimikrobni lekovi, antifungicidi, antivirolici, beta adrenergički agonisti, bisfosfonati, hemioterapija, imunosupresivi, monoklonska antitela, diuretici i inhibitori protonske pumpe). Rizik od nedostatka magnezijuma se sreće i kod oboljenja digestivnog trakta koje se manifestuju čestim dijarejama ili smanjenom apsorpcijom (Chronova bolest, celijakija, enteritisi, resekcija tankog creva) i kod bubrežnih oboljenja praćenih poliurijom. Usled hroničnog alkoholizma (posledičnog oštećenja crevne flore, funkcije pankreasa i jetre, poremećaja metabolizma fosfata) takođe dolazi do pada koncentracije magnezijuma (Palmer i Clegg, 2015). Dok sa jedne strane pad koncentracije magnezijuma utiče na nastanak insulin nezavisnog dijabetesa, sa druge strane dijabetes dovodi do gubitka magnezijuma. Neki od potencijalnih mehanizama nastanka hipomagnezijemije u dijabetesu su: poremećaj ishrane praćen smanjenim unosom adekvatnih namirnica, povećan gubitak preko bubrega ili usled dijareje koja nastaje kao posledica autonomne neuropatije.

Sa fiziološkom starošću smanjuje se crevna apsorpcija i povećava izlučivanje, što uz prisustvo drugih organskih bolesti i upotrebu farmakoterapije može rezultovati padom koncentracije magnezijuma.

1.3.3. Simptomi hipomagnezijemije

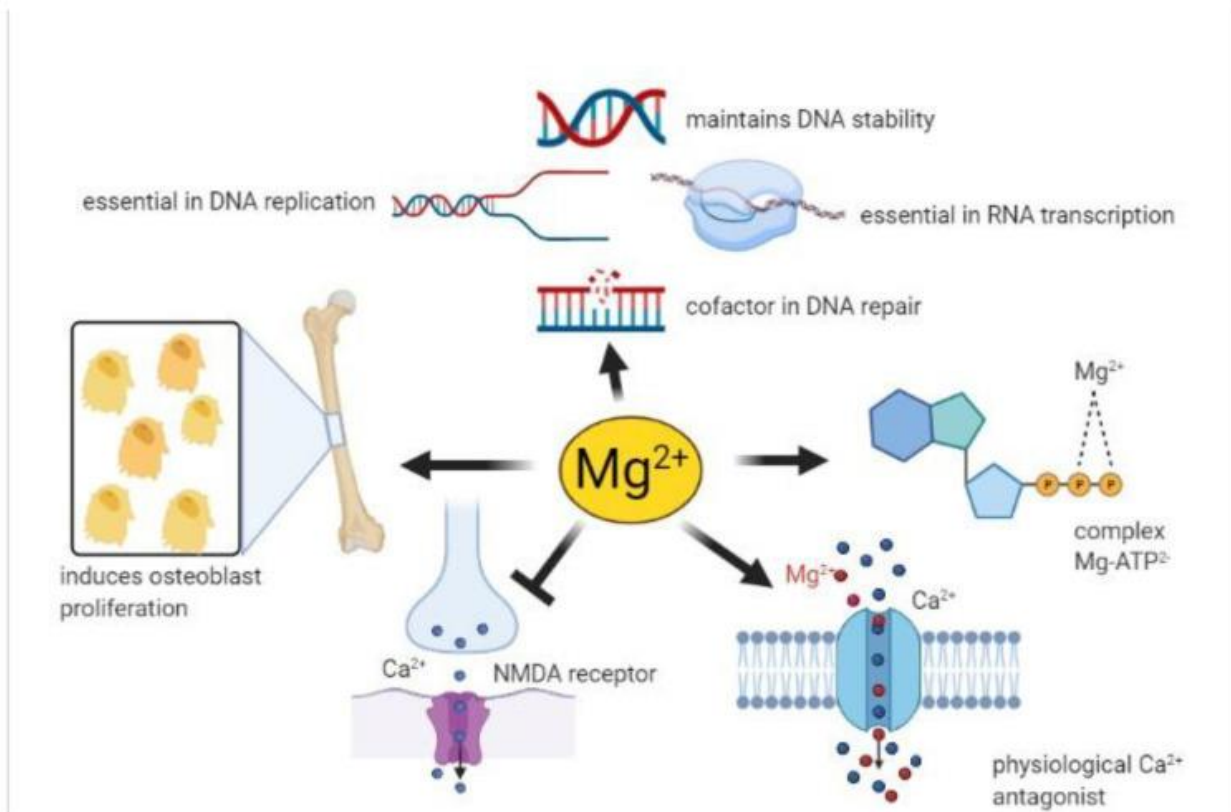
Da li će se nedostatak magnezijuma klinički manifestovati, zavisi od brzine kojom je došlo do njegovog gubitka i od težine nedostataka. U situacijama postepenog nastanka hipomagnezijemije ili hroničnih bolesti čak i težak deficit može proći bez vidljivih znakova.

U većini slučajeva nedostatak magnezijuma počinje sa tegobama u vidu mučnine i osećajem umora. Ukoliko progredira deficit, pojačavaju se i tegobe pa se javlja utrnulost, mišićne kontrakcije, generalizovani toničko - klonički napadi, iznenadne promene ponašanja, aritmije. Nedostatak magnezijuma često prate i gubici drugih važnih jona, pa se klinički simptomi komplikuju (Elin, 2010; Saris i sar., 2000; de Baaij i sar., 2012).

Rizik od hipermagnezijemije kod zdravih osoba je minimalan, pošto se višak unetog magnezijuma uglavnom izbacuje iz organizma putem fecesa i urina. Doze preko 2500 mg *per os* se mogu smatrati toksičnim.

1.3.4. Uloga magnezijuma u organizmu

Shematski prikaz funkcija u kojima magnezijum posreduje (slika 3) ukazuje na značaj ovog dvovalentnog katjona u organizmu.



Slika br. 3 Uloga magnezijuma u ljudskom organizmu. Preuzeto iz (Fiorentini i sar. 2021).

Kao kofaktor magnezijum je uključen u preko 600 enzimskih reakcija (Caspi i sar., 2012). Supstrat je u svim reakcijama zavisnim od ATP-aze i GTP-aze, Kinaze B, Heksokinaze, kreatin kinaze, protein kinaze, Na^+/K^+ atepaze, Ca^{2+} atepaze i adenilat ciklaze.

Homeostaza magnezijuma je neophodna za optimalan metabolizam ugljenih hidrata. Aktivira fosfofruktokinazu, kreatin kinazu, fosforibozil – pirofosfat sintetazu, adenilat ciklazu, učestvuje u proizvodnji energije posredstvom ATP-a. Učestvuje u procesima glikolize, fosforilacije respiratornog lanca. Kao kofaktor kreatin kinaze obezbeđuje funkcionisanje srca, obezbeđujući energiju i proizvodnju kreatina iz kreatin fosfata i ADP-a (Fiorentini i sar., 2021).

Magnezijum utiče na funkcionisanje membrane (obezbeđuje adheziju ćelija, transmembranski prenos elektrolita, oslobađanje neurotransmitera, provođenje akcionog potencijala), pomaže u kontrakciji i opuštanju mišića. Posredstvom kontrole transporta kalcijuma i kalijuma kroz ćelijsku membranu učestvuje u regulaciji tonusa vaskularnih mišića i reguliše srčani ritam. Antagonizuje oslobađanje acetilholina zavisno od kalcijuma, na motoneuronima, te utiče na provođenje akcionog potencijala i neuromišićnih impulsa

(Buri, 1990). Magnezijum utiče na kontrolu aktivnosti jonskih kanala promenom površinskog naelektrisanja ili posredstvom enzima i G proteina. Blokadom NMDA receptora smanjuje efekte ekscitatornih neurotransmitera i omogućava neuronsku stabilnost što prevenira oboljenja CNS-a.

Pozitivno utiče na aktivnost DNK i RNK polimeraze i time održava strukturu proteina, pomaže popravke nukleinskih kiselina i posreduje u mehanizmima ćelijske proliferacije (Swaminathan, 2003). Održava strukturu i prirodnu konformaciju dvostruke spirale DNK (Anastassopoulou i Theophanides, 2002; Zhu i sar., 2016). Uključen je u transkripciju RNK. Posreduje u ribozomalnim aktivnostima i pravilnom prepoznavanju kodona na transportnoj RNK (Fandilolu i sar., 2019). Povezan je sa nastankom oksidativnog stresa i inflamacije (Nielsen, 2018). Doprinosi strukturnom razvoju kostiju i formiranju osteoblasta (Lu i sar., 2017). Neophodan je u procesu koji omogućava bioiskoristivost vitamina D i tiamina (B₁) i glutationa u čijoj sintezi učestvuje.

1.3.5. Značaj nedostatka magnezijuma u nastanku bolesti

Nedostatak magnezijuma se na osnovu dosadašnjih istraživanja povezuje sa većinom hroničnih bolesti (kardiovaskularne bolesti, dislipidemija, dijabetes tipa 2, bolesti bubrega, PMS, bolesti centralnog nervnog sistema uključujući i zavisnost od alkohola, crevne bolesti, endokrine bolesti). Najčešće se njegov nedostatak povezuje sa kardiovaskularnim oboljenjima. Promene magnezijuma su obrnuto korelirane u odnosu na sintezu aldosterona posredovanu angiotenzinom II, proizvodnju tromboksana i vazokonstriktornih prostaglandina, što doprinosi razvoju hipertenzije. Nedostatak magnezijuma povećava rizik od peroksidacije lipida i razvoja dislipidemije. Nedostatak magnezijuma je u negativnoj korelaciji sa pojavom metaboličkog sindroma (Sarrafzadegan i sar., 2016) i dijabetesom tipa 2. Magnezijum je prirodni antagonist kalcijuma i utiče na vazomotorni tonus, krvni pritisak, periferni protok krvi i smanjuje agregaciju trombocita. Nedostatak magnezijuma se vezuje za koronarnu bolest srca. Poremećaj krvnog protoka i promene koje mogu nastati na krvnim sudovima u centralnom nervnom sistemu, mogu uzrokovati tranzitorne ishemijske atake (TIA) i cerebrovaskularni insult (CVI) (Grober i sar., 2015; VonEhrlich i sar., 2014; Saris i sar., 2000; Vierling i sar., 2013; Spätling i sar., 2000).

Poremećaj funkcije bubrega sa jedne strane dovodi do hipomagnezijemije, a sa druge strane nedostatak magnezijuma utiče na oštećenje funkcionisanja ovih organa i povećava rizik od nastanka kamena u bubregu (Riley, 2013). Kod teraporezistentnih formi astme je uočen

pozitivan efekat primene magnezijum sulfata. Nedostatak magnezijuma se povezuje još i sa dismenorejom i predmenstrualnom disforijom (Benassi i sar., 1992; Ebrahimi i sar., 2012), sindromom hroničnog umora (Alraek i sar., 2011), fibromialgijom (Bagis i sar., 2013), gubitkom sluha i tinitusom (Choi i sar., 2014; Cevette i sar., 2011), osteoporozom (Astiglioni i sar., 2013) i migrenama (Domitrz i Cegielska, 2022). Nedostatak magnezijuma može biti uzrok preeklampsije i eklampsije tokom trudnoće, što dodatak magnezijum sulfata prevenira (Altman i sar., 2002).

Magnezijum, kao kofaktor enzimskih funkcija i neurotransmisije, uz učešće u izgradnji membranskih fosfolipida i ulogu u procesu mijelinizacije, obezbeđuje moždane funkcije (Seyama i sar., 2018; Stangherlin i O'Neill, 2018; Spasov i sar., 2009). Prevencijom prekomerne neuronske ekscitacije i ćelijske ekscitotoksičnosti prevenira i brojne poremećaje CNS- a (Kirkland i sar., 2018). U novije vreme razmatra se i uloga magnezijuma u nastanku i razvoju ADHD poremećaja (Mousain-Bosc i sar., 2006). Tačna uloga magnezijuma u patogenezi demencija nije utvrđena, ali je kod osoba koje boluju od demencije pronađen niži nivo magnezijuma (Barbagallo i sar., 2011; Bardgett i sar., 2005; Li i sar., 2013). Glavobolje koreliraju sa nedostatkom magnezijuma. Ulozi magnezijuma u nastanku i lečenju migrene se u novijim istraživanjima pridaje veliki značaj. Pojedini istraživači navode da magnezijum sulfat ima bolji efekat na lečenje migrene od kombinacije deksametazona/metoklopramida (Shahrami i sar., 2015). Epilepsija, moždani udari i psihičke posledice u sklopu moždanih psihosindroma koreliraju sa nedostatkom magnezijuma. Istraživanja novijeg datuma utvrđuju vezu anksioznosti, depresije i shizofrenije sa poremećajem koncentracije magnezijuma (Cuciureanu i Vink, 2011; Serita i sar., 2019; Odoux i sar., 2022; Camardese i sar., 2012; Baj i sar., 2020).

1.4. OKSIDATIVNI STRES

Oksidativni stres predstavlja poremećaj ravnoteže prooksidativnog i antioksidativnog sistema. Nedostatak antioksidativne odbrane može biti posledica nedostatka antioksidanata ili samo smanjenja aktivnosti antioksidativnih enzima. Produkcija reaktivih vrsta kiseonika nastaje u mitochondrijama. Na ovaj proces mogu uticati kako unutrašnji metabolički procesi tako i spoljašnji agensi kao što je zračenje i dejstvo nekih lekova.

1.4.1. Slobodni radikali

Slobodni radikali su visoko reaktivna jedinjenja sa kratkim poluživotom. Zbog prisustva nesparenih elektrona u svom omotaču, koji ih čini nestabilnim, teže da uđu u interakcije sa susednim molekulima, što rezultuje promenama na molekulskom i ćelijskom nivou. Produkcija slobodnih radikala je deo fiziološkog procesa oksidacije u mitohondrijskom lancu (Bolisetty i Jaimes, 2013). Vodonik peroksid (H_2O_2) i azot monoksid (NO) imaju funkciju glasnika. Azot monoksid (NO) u CNS-u učestvuje u neurotransmisiji, neuromodulaciji u patogenezi bola, reguliše unos hrane, termoregulaciju, mikrocirkulaciju i medijator je imunog odgovora. Slobodni radikali posreduju u ćelijskoj proliferaciji i apoptozi, aktiviraju transkripcione faktore za ekspresiju gena i učestvuju u zaštiti od infekcija. Nizak nivo ROS učestvuje u adaptacionim procesima, pa preterana upotreba antioksidanata može da bude štetna (Napolitano, 2022; Fridovich, 2013). Kada koncentracija slobodnih radikala prevaziđe fiziološke okvire, dolazi do lipidne peroksidacije, fragmentacije proteina i mutacija DNK.

Lipidna peroksidacija predstavlja interakciju slobodnih radikala sa polinezasićenim masnim kiselinama iz membrane ćelija, što menja njihovu propustljivost, koncentracioni gradijent i dovodi do upale. Od inicijalnog lipidnog radikala lančanim radikalskim reakcijama kao završni proizvod nastaje malondialdehid (MDA) i četiri hidroksi nonenal (4-HNE). MDA može dodatno da ošteti ćelije tako što ulazi u reakciju sa nukleinskim kiselinama i aminogrupama proteina. 4-HNE inhibira rast ćelija, utiče na razvoj ateroskleroze i utiče na metabolizam lipoproteina (Aikens i Dix, 1991).

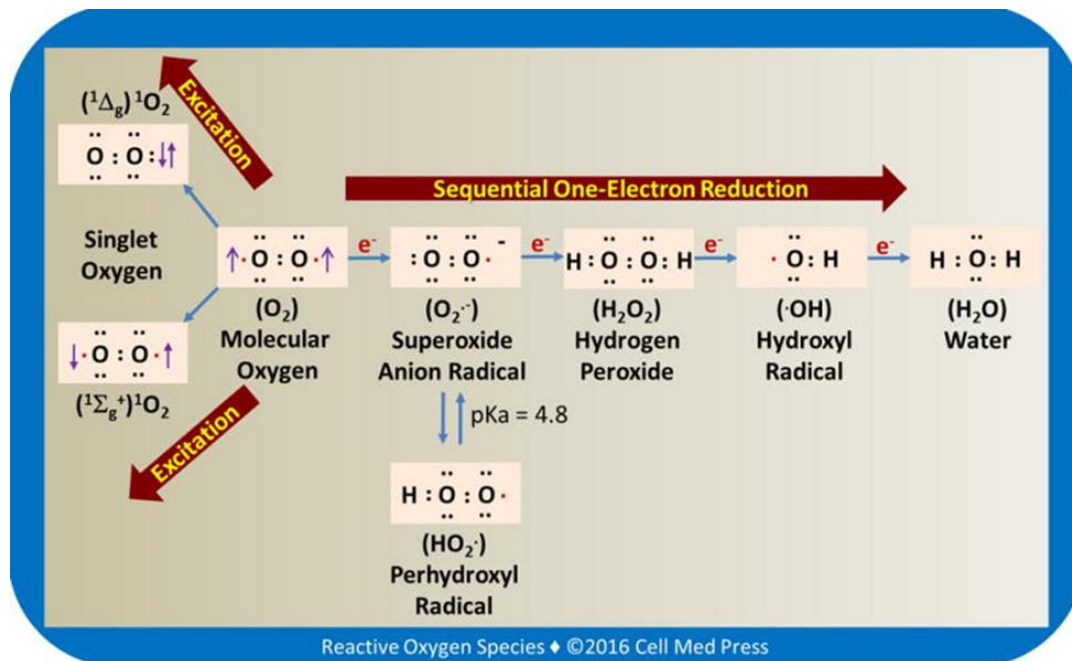
Fragmentacija proteina, proteoliza i inhibicija enzima su efekti dejstva oksidativnog stresa na proteine.

Posredstvom uticaja na nukleinske kiseline oksidativni stres dovodi do mutacija, koje za posledicu imaju razvoj malignih bolesti i starenja.

Biološki najznačajniji slobodni radikali u živim sistemima su: reaktivne vrste kiseonika (ROS engl. reactive oxygen species), reaktivne vrste azota (RNS eng. reactive nitrogen species) i reaktivna jedinjenja hlora.

Kako i reaktivna hlorna jedinjenja (hipohlorna kiselina) i reaktivna jedinjenja azota (azot monoksid, azot dioksidni radikal i neradikalske azotne vrste sadrže kisonik u medicini se kvalifikuju kao reaktivne vrste koje sadrže kiseonik ROS (Li., 2016).

U procesu ćelijskog disanja u mitohondrijama dolazi do redukcije molekulskog kisonika O_2 u vodu H_2O uz oslobađanje energije (slika 4). Enzimi koji prenose elektrone u procesu četvorovalentne redukcije kisonika grade slabe veze sa elektronima zbog čega elektroni lako napuštaju ove komplekse i stvaraju reaktivne kiseonične vrste (superoksid, hidroksil, peroksil i alkoksil radikale). Oko 1-5 % kiseonika se pretvara u superoksidni anjon, vodonik peroksid i hidroksilni radikal. Vodonik peroksid, singlet kiseonik i ozon su reaktivne vrste koja ne sadrže slobodne elektrone (Finaud, 2006).

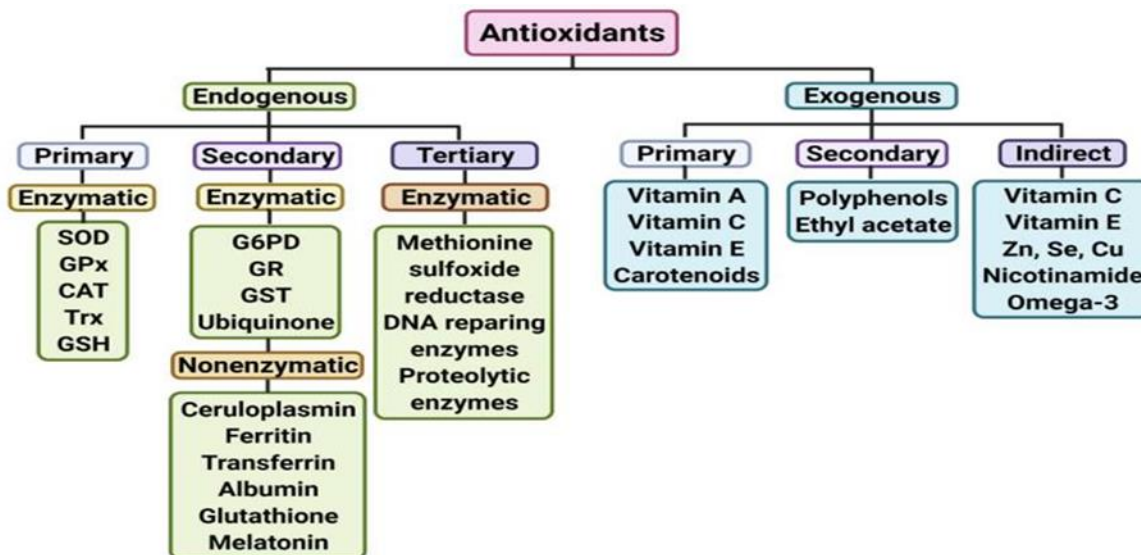


Slika 4. Shematski prikaz redukcije kiseonika i stvaranja ROS. Slika je preuzeta iz (Li., 2016).

1.4.2. Antioksidativna zaštita

U sistem antioksidativne zaštite ulazi svaka supstanca koja može da predupredi, umanjuje ili popravi oštećenja koja ROS proizvode. Ovaj sistem uključuje: enzime, neenzimske proteine i supstance koje dobijamo ingestijom iz dijetetskih izvora. Antioksidanti mogu delovati direktno na ROS i uklanjati ih, mogu delovati na sprečavanje njihovog nastanka i na reparaciju oštećenja nastalih dejstvom ROS (Li, 2016). Shematski prikaz antioksidativne zaštite prikazan je na slici 5.

Tokom procesa starenja efekti oksidativnog stresa rastu zbog oštećenja na svim nivoima, počev od povećane produkcije slobodnih radikala, preko slabljenja odbrambenih snaga organizma i/ ili smanjene resorpcije egzogenih antioksidanata.



Slika 5. Shematski prikaz egzogene i endogene antioksidativne zaštite. Preuzeto iz (Riveros, 2022)

1.4.2.1. Antioksidativni enzimi

Produkti organizma koji deluju na prevenciju nastanka i eliminaciju ROS nazivaju se antioksidativnim enzimima.

Superoksid dismutaza (SOD) prevodi superoksidni anjon u manje reaktivni vodonik peroksid. Kod ljudi postoje tri forme SOD1 (zavisna od bakra i zinka), SOD2 (zavisna od mangana), SOD 3 (ekstracelularna).

Glutation peroksidaza (GPX 1) je selenoprotein koji redukuje niske koncentracije vodonik peroksida i produkata lipidne peroksidacije do alkohola i vode. Postoje četiri vrste GPX obeležene brojevima od 1 do 4. Najzastupljeniji je GPX1. Aktivnost GPX je povezana sa oksidacijom glutationa (Sousa, 2012).

Katalaza (CAT) deluje pri niskim koncentracijama vodonik peroksida i razlaže ga na vodu i kiseonik.

Paraoksigenza PON 1, PON 2 i PON 3 deluje na razlaganje lipidnih produkata metabolizma i polinezasićenih masnih kiselina.

Glutation reduktaza (GR) posreduje u redukciji oksidovanog glutationa (Peng i sar., 2014).

Glutation- S- transferaza (GST) je enzim druge faze biotransformacije.

Peroksiredoksini (Prx) i **Tireodoksin reduktaza (TRxR)** učestvuju u održavanju redoks potencijala (Reddy i sar., 2001).

1.4.2.2. Neenzimski antioksidansi

Neki produkti metabolizma mogu imati svoju ulogu u procesu antioksidativne zaštite. I neke supstance koje unosimo u organizam putem hrane mogu imati antioksidativnu funkciju. Endogeni antioksidansi su polipeptidi, albumin, transferin, haptoglobin, ceruloplazmin, glutation, bilirubin, mokraćna kiselina i koenzim q 10. Egzogeni antioksidansi su: vit E, Vit C, beta karoten, flavonoidi i minerali (selen i zink, koji nemaju direktno antioksidativno delovanje, ali ulaze u satav velikog broja enzima). Gvožđe i bakar su kofaktori u brojnim enzimskim reakcijama organizma učestvuju u transportu kiseonika i antioksidativnoj zaštiti. (Alamdari i sar., 2007; Choi i sar., 2014; Peng i sar., 2014; Riveros i sar., 2022).

1.4.3. Merenje oksidativnog stresa

Merenje svih faktora u lancu nastanka oksidativnog stresa može biti pokazatelj rizika od oksidativnih oštećenja. Direktno merenje slobodnih radikala se može sprovesti direktnom elektron-spin rezonantnom spektroskopijom, ali se zbog njihove male koncentracije, kratkog poluživota i visoke reaktivnosti za procenu oksidativnog stresa koristimo indirektnim metodama.

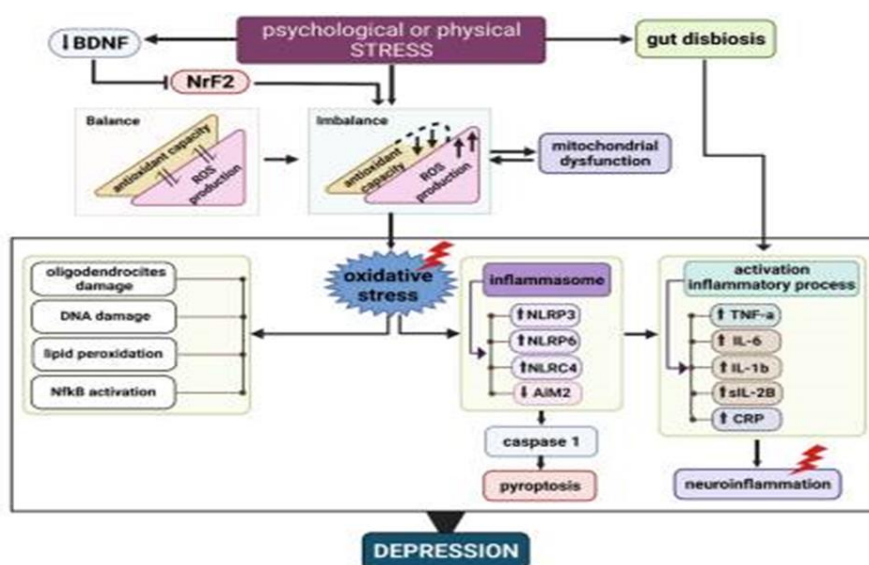
Najčešće korišćene indirektno metode su: određivanje koncentracije oksidovanih produkata i aktivnosti parametara antioksidativne zaštite. Za procenu lipidne peroksidacije najčešće se koristi MDA. Procena endogene antioksidativne zaštite vrši se merenjem aktivnosti enzima SOD, GPX i CAT i određivanjem koncentracije vitamina (Alamdari, 2007).

1.4.4. Oksidativni stres u anksioznim i depresivnim poremećajima

Pokazano je da povećani nivoi ROS učestvuju u razvoju bolesti CNS-a (Dasuri i sar., 2013, Miljević i sar., 2018). Molekularni mehanizmi povezani sa oksidativnim stresom se mogu smatrati zajedničkim etiološkim faktorom anksioznosti i depresije.

Mozak sadrži veliki procenat nezasićenih masnih kiselina, nema sopstveni anstioksidativni sistem, a istovremeno troši veliku količinu kiseonika po jedinici težine, što dovodi do veće produkcije slobodnih radikala. Sve prethodno navedeno ga čini posebno osetljivim na uticaj slobodnih radikala. Oštećenja nastala pod dejstvom slobodnih radikala koja rezultuju poremećajem mitohondrijalne funkcije, promenama neuronske signalizacije i inhibicijom neurogeneze, leže u osnovi nastanka bolesti centralnog nervnog sistema (Hovatta i sar., 2010). Mozak takođe poseduje i velike količine jona gvožđa i bakra koji učestvuju u katalizaciji slobodnih radikala. Gvožđe ulazi u sastav hemoglobina, citohroma, non-hem

proteina u respiratornom lancu kao i tirozin i triptofan hidroksilaza. Krvno moždana barijera je propusna za gvožđe iz transferina. Čak i neki neurotransmiteri imaju reaktivni potencijal (Finkel, 2000).



Slika br.6. Efekti oksidativnog stresa preuzeto iz Riveros i sar., 2022.

Kao posledica iscrpljenosti antioksidativnih kapaciteta usled dejstva stresnih faktora dolazi do nastanka oksidativnog stresa i zapaljenskih reakcija, menjaju se brojne fiziološke funkcije i ubrzava proces ćelijske smrti. Jedan od mehanizama dejstva oksidativnog stresa na nastanak oboljenja CNS-a je skraćenje DNK proteinskih kompleksa na krajevima hromozama (Kiecolt-Glaser, 2011). Kako se ovi proteinski kompleksi DNK skraćuju i fiziološki tokom deoba u procesu starenja, to je granica između patoloških nalaza (amiliodini plakovi, levijeva tela, sinaptička distrofija, gubitak neurona i smanjen volumen mozga) i fizioloških oštećenja nastalih tokom procesa starenja još uvek nejasno definisana. Promene bele moždane mase nastale usled oštećenja DNK oligodendrocita, jedan je od mehanizama nastanka depresije (Szebeni, 2017). Ekscitotoksičnost leži u osnovi brojnih neuroloških i psihijatrijskih bolesti. Mozak sadrži veliki procenat arahidonske i dokozaheksaenske kiseline koje su osetljive na delovanje slobodnih radikala. Prema nedavnoj meta analizi dvostruko slepih, randomizovanih, placebo kontrolisanih studija (Liao i sar., 2019), unos omega 3 polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) kao antioksidativne i neuroinflamacione zaštite dovodi do redukcije simptoma depresije (Joffre i sar., 2019). Produkti lipidne peroksidacije MDA i 4-HNE ulaze u interakcije sa nukleinskim kiselinama i aminogrupama proteina, dovode do inaktivacije glutamatnog transporta, inhibiraju rast ćelija, utiču na razvoj ateroskleroze čime posredno oštećuje

neurone. Pojedina istraživanja ukazuju na značaj stimulacije NMDA receptora posredstvom slobodnih radikala i posledičnim promenama prozvodnje i ekspresije neurotransmitera koji dalje učestvuju u nastanku oboljenja CNS- a (Coyle, 1993).

Oksidativni stres i neuroinflamacija međusobno utiču jedni na druge. ROS može da aktivira proteinske komplekse uključujući i protein receptore, koji dalje aktiviraju sisteme kaspaze i intreleukina, što sve zajedno dovodi do reakcije imunog odgovora. Istovremeno se može pokrenuti programirana ćelijska smrt (Li, 2021).

1.5. INFLAMACIJA

Zapaljenje igra ključnu ulogu u etiopatogenezi brojnih organskih bolesti. Inicijalno su se istraživanja bazirala na potrazi za uzročno posledičnom povezanošću između kardiovaskularnih oboljenja i sistemske inflamacije. Psihoneuroimunologija se razvila sedamdesetih godina dvadesetog veka i bazirala se na proučavanje interakcija CNS-a, endokrinologije, imunologije i bihejvioralnih manifestacija (Wang i sar., 2022). Krajem prošlog veka u stručnoj literaturi se pojavljuju istraživanja na temu povezanosti zapaljenja i psihijatrijskih bolesti. Značaj citokina u depresiji prvi put je opisan devedesetih godina prošlog veka (Smit, 1991). Dosadašnja literatura ukazuje na značaj upale u gotovo svim psihijatrijskim oboljenjima od poremećaja ličnosti do psihoza (Osimo i sar., 2018). Od 2015. godine izdvaja se posebna naučna disciplina (imunopsihijatrija) koja se bavi interakcijom imunskog sistema i CNS-a (Khandaker i sar., 2015).

Prilikom utvrđivanja uloge inflamacije u bolestima CNS-a, najčešće su istraživane koncentracije proinflamatornih citokina, proteina akutne faze, broj leukocita i svih pojedinačnih ćelija leukocitarne formule. Poslednjih godina sve češće se koriste izvedeni parametri inflamacije dobijeni računskim operacijama iz izmerenih ćelijskih parametara zapaljenja iz krvi. NRL neutrofililimfociti, PLR trombocitilimfociti, GLR granulocitilimfociti i drugi. (Tang i sar., 2020; Hu i sar., 2021.) Ovi parametri su lako dostupni, senzitivni i već se pokazala njihova dijagnostička vrednost kod kardioloških bolesti, maligniteta i nekih oboljenja CNS-a (Chen i sar., 2018.). Sve više značaja u istraživanju pridaje se i pokazateljima sistemske inflamacije koji su u vezi sa trombocitima, eritrocitima kao i albuminima (Maes, 1999; Danner i sar., 2003; Raison i sar., 2006; Pinto i sar., 2017; Wang i sar., 2022).

Za rastvorljive zapaljenske biomarkere ne postoji opšte prihvaćen opseg koncentracija koji se smatra fiziološkim, dok ćelije bele krvne loze imaju definisan referentni opseg. Svi markeri upale rastu u okviru fiziološkog procesa starenja. Sistemska upala se može javiti i usled izmena životnih navika (ishrana, odsustvo fizičke aktivnosti, promena higijenskih navika) (Myint, 2012; Osimo, 2020; Howren i sar., 2009).

1.5.1. Proinflamatorni citokini

Citokini su molekuli iz porodice glikoproteina. Njihova funkcija u organizmu se prvenstveno ogleda u imunološkim reakcijama. Sve faze imunskog odgovora su posredovane citokinima, a utiču i na jačinu imunske reakcije i njenu dužinu trajanja. Deluju preko receptora na ćelijskoj membrani (kao i neurotransmiteri) ili posredstvom unutraćelijskih receptora (kao hormoni). Citokini se u najvećoj meri sintetišu u limfocitima i makrofazima. Stvaraju ih i astrociti, ćelije mikroglije, neuroni i endotelne ćelije.

Prema ulozi u imunskoj reakciji, ili tipu ćelije koja ih stvara citokini su podeljeni u nekoliko grupa: inetrleukini (IL), hemokini, faktori nekroze tumora (TNF, skraćeno od engl. „tumor necrosis factor”), ineterferoni (INF) i faktori transformacije rasta (TGF, skraćeno od engl. „transforming growth factor”). Danas je poznato 36 vrsta interleukina, koji se obeležavaju brojevima od IL-1 do IL-36 (Brocker i sar., 2010).

Citokini mogu da ostvaruju različite funkcije u zavisnosti od tipa ćelija za koje se vezuju. Posreduju u upali, proliferaciji i diferencijaciji ćelija. Međusobno imaju različitu hijerarhiju.

Najčešće deluju na ćelije koje su ih proizvele, ili na ćelije najbliže mestu gde su nastali. Moguć je transport citokina do udaljenih tkiva i organa. Kada se vežu za receptore dovode do strukturnih i funkcionalnih promena ćelije u smislu aktivacije, diferencijacije, hemotakse i proliferacije (Nobis i sar., 2020).

Sve citokine možemo podeliti u dve klase: proinflamatorni (IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, TNF α , TNF β , interferon gama (IFN γ), interferon alfa (IFN α)). Anti-inflamatorni (IL- 4, IL-10, IL-13). IL-8 istovremeno može biti i pro i anti inflamatorni (Harsanyi i sar., 2022).

Produkcija perifernih citokina regulisana je posredstvom HPA osovine. Kada je nivo kortizola nizak, produkcija proinflamatornih citokina raste, dok visoke koncentracije kortizola inhibiraju sintezu perifernih proinflamatornih citokina. Neurotransmiteri delujući na kortizol posredno deluju i na proinflamatorne citokine. Acetilholin (Ach), dopamin (DA) i noradrenalin

(NA) promovišu lučenje kortikotropnog oslobađajućeg hormona (CRH) u hipotalamusu, dok serotonin (5-HT) inhibira njegovu sekreciju. (Miller i sar., 2013).

Autonomni nervni sistem takođe utiče na produkciju perifernih citokina. Parasimpatikus direktno inhibira produkciju citokina preko vagusne i ACh transmisije, dok simpatikus indirektno to ostvaruje preko NA stimulacije perifernih simpatičkih gangliona (Calogero i sar., 1988; Tracey, 2002).

Citokini sintetisani van CNS-a u fiziološkim uslovima nemaju mogućnost prolaska kroz krvno moždanu i krvno likvornu barijeru. U slučaju patoloških promena na krvno moždanoj barijeri ona postaje propusna i ovi hidrofilni molekuli dospevaju u CNS (Dantzer i sar., 2008; Gądek-Michalska i sar., 2013).

1.5.1.1. Interleukin šest (IL-6)

IL-6 oslobađaju makrofagi, monociti, T i B limfociti. U centralnom nervnom sistemu proizvode ga astrociti i ćelije mikroglije. Na njegovu produkciju utiču i TNF- α , a u centralnom nervnom sistemu noradrenalin (NA) i kolonijalni faktor stimulacije granulocita G-CSF. Vezuje se za receptor na membrani i transmembranski glikoprotein što dovodi do fosforilacije i aktivacije enzima što dalje rezultuje izmenama transkripcije i genske ekspresije. Utiče na rad endokrinih žlezda. Povećava produkciju hormona HPA osovine (adrenokortikotropnog hormona (ACTH) i glikokortikoida). Stimuliše oslobađanje hormona rasta u talamusu, kao i tireostimulirajućeg hormona (TSH). Utiče na sekreciju prolaktina, hormona rasta i luteinizirajućeg hormona. Nivo ovog proinflamatornog citokina u mozgu je u fiziološkim uslovima nizak. U situacijama stresa ili bolesti endotelijalne, glijalne ćelije i neuroni proizvode povećane količine ovog interleukina. Unutar nervnog sistema on može delovati i kao faktor rasta neurona (podstiče razvoj neurita i regeneriše nerve). Rastvorljivi receptor za IL-6 je jedini tip receptora za ovaj molekul koji se nalazi u astrocitima i neuronima (García-Juárez, 2022). U glijalnim ćelijama utiče na proliferaciju astrocita, astroglioze. IL-6 može delovati i kao faktor nekroze. Posredstvom NMDA receptora dovodi do povećanja koncentracije intracelularnog Ca, što rezultuje citotoksičnošću.

1.5.1.2. Tumor nekroza faktor-alfa (TNF- α)

U CNS- u ga ima u neuronima, astrocitima i ćelijama glije. Prvo je nazvan kao tumor nekroza faktor jer je na miševima pokazano da izaziva nekrozu neoplazmi. Kasnije preimenovan u alfa. Sa otkrićem limfotoksina i njegovom sličnošću sa TNF α više puta mu je

menjano ime. Prvo je preimenovan u TNF β . Kasnije otkriće sličnog faktora i njegovo označavanje kao limfotoksin β primoralo je istraživače da promene ime TNF β u limfotoksin α . Tako je ostao samo α te je 1998. godine njegovo ime preinačeno u TNF (Harsany i sar., 2022.). Biološki aktivni TNF deluje preko dva poznata receptora TNFR-1 i TNFR-2. Prvi signalni put kojim ovaj citokin deluje je NF κ B (nuklearni faktor κ B) i tim putem reguliše preživljavanje ćelija indukuje sintezu anti-apoptopskih faktora, učestvuje u proliferaciji i inflamatornom odgovoru. Drugi signalni put je c-Jun-N-terminalna kinaza (JNK) i odgovoran je za diferencijaciju, proliferaciju i ima proapoptotsku ulogu. Treći signalni put je odgovoran za programiranu ćelijsku smrt.

U CNS-u utiče na neurotransmisiju i podstiče demijelinizaciju u sklopu nekih bolesti. Utiče na kogniciju i na regulaciju HPA osovine. U inicijalnoj fazi TNF podstiče povećanje lučenja hormona HPA osovine, a u situaciji hronične indukcije potpuno zaustavlja (Soliven i Albert, 1992). Depresija u kojoj vidimo povećanje nivoa citokina ima hiperaktivnost i poremećenu funkciju negativne povratne sprege HPA ose, što vodi u povećano oslobađanje proinflamatornih citokina (Schiepers i sar., 2005).

1.5.2. Bela krvna zrnca-leukociti (WBC) i leukocitarna formula

Sistemska upala niskog stepena se sreće u brojnim psihijatrijskim dijagnozama (Osimo i sar., 2018; Najjar i sar., 2013). Za procenu upale niskog stepana korišćeni su C-reaktivni protein, fibrinogen, ćelije bele krvne loze sa diferencijalnom formulom. Odnedavno je utvrđeno i proinflamatorno dejstvo krvnih pločica, tromobocita (PLT) (Barbarseko i sar., 2013; Bonaccio i sar., 2017).

Broj belih krvnih zrnaca je jedan od najduže poznatih i najbolje istraženih prediktora upale. Poluživot ovih krvnih ćelija je 5-6 dana (Danesh i sar., 2004). Manje su osetljivi pokazatelji toka inflamacije od CRP-a (Arcari i sar., 2008). Kako hemodinamičku fazu infekcije karakteriše proinflamatorno stanje posredovano neutrofilima to je i povišen NRL, kao i povišeni neutrofili dobar pokazatelj inflamacije. Lako je dostupan i merljiv, jeftin, brzo reagujući i visoko osetljiv nespecifični marker brojnih poremećaja. Odnos neutrofila i limfocita (NLR) se koristi za precizniju detekciju ranog inflamatornog odgovora (Brinn et Stone, 2020; Bonaccio i sar., 2017). Odnos granulocita i limfocita (GLR) je prema nalazima dosadašnjih istraživanja, pokazao bolju prediktivnu specifičnost u odnosu na NLR (Gialluisi i sar., 2020b).

1.5.3. C-reaktivni protein (CRP)

CRP prvi opisani marker akutne faze zapaljenja. Pripada grupi proteina koji su zovu pentraksin. Kratki pentraksin sintetiše jetra, dok pentraksin 3 (PTKS3) luče makrofagi i endotelne ćelije. Glavni induktori CRP gena su intreleukini IL-6, IL1 β i TNF (Pepys i Hirschfield., 2003). Koristi se i kao marker zapaljenja u psihijatrijskim bolestima. Studije su pokazale da je srednja vrednost CRP-a i interleukina veća kod depresivnih pacijenata u odnosu na kontrole (Dowlati i sar., 2010; Goldsmitx i sar., 2016).

1.5.4. Zapaljenski faktori u vezi sa trombocitima i drugim parametrima krvne slike

Trombociti se proizvode iz megakariocita kostne srži. Sa neuronima dele mnoge funkcionalne sličnosti. Preuzimanje i oslobađanje serotonina kao jednog od glavnih neurotransmitera u vezi sa afektivnim i anksioznim poremećajima, je takođe i funkcija trombocita (Canobbio, 2019). Čak se nedostatak 5-HT receptora u trombocitima smatrao pokazateljem nedostatka istih receptora u CNS-u (Izzi i sar., 2020). Hematološki parametri trombocita koji uključuju volumen trombocita (MPV), širinu distribucije trombocita (PDW), indeks sistemske imunoinflamacije (SII), odnos trombocita /limfocit (PLR), odnos trombocita/Albumin (PAR) su jednostavni i lako dostupni markeri koji mogu ukazati na brojne sistemske bolesti, ali i na psihičke poremećaje.

Širina distribucije crvenih krvnih zrnaca (RDW) je značajan prognostički faktor za većinu organskih bolesti, a sve češće se koristi i količnik RDW/albumin kao prediktor određenih bolesti i stanja (Atak i sar., 2018). Svaki psihijatrijski entitetet ima različite varijacije u koncentracijama ovih parametara (Wei i sar., 2022).

Indeks sistemske imuno-inflamacije (SII) izračunava se na osnovu broja perifernih trombocita, neutrofila i limfocita. Značajan je biomarkeru predikcije određenih malignih i sistemskih bolesti, kao i CVI (Hou i sar., 2021; Rosca i sar., 2022).

Albumin je neenzimski antioksidant. Pad vrednosti albumina ukazuje na akutnu inflamaciju (Balcioglu i Kirlioglu, 2020). Kod depresivnih pacijenata je zabeležen niži nivo albumina. Kao odgovor na anidepresivnu terapiju dolazi do porasta i nivoa albumina. Odnos CRP i albumina je jedan od pokazatelja parkinsonove bolesti (Yazar i sar., 2019; Liu i sar. 2015).

1.5.5. Uloga inflamacije u bolestima CNS

Klinička slika klasične zapaljenske bolesti i simptoma depresije su u mnogome podudarne (slabost, poremećaj sna, gubitak apetita). Sistemske bolesti u čijoj osnovi se nalazi inflamacija (sistemski lupus ili reumatoidni artritis) često komorbidno prate demencije i depresija (Mason i sar., 2018). Veliki broj nalaza dosadašnjih istraživanja ukazuje na značaj inflamacije u nastanku depresije (Beurel i sar., 2020; Gilman i sar., 2017). Pretpostavljeni put kojim stres učestvuje u nastanku poremećaja raspoloženja ogleda se između ostalog i u aktivaciji imunoloških mehanizama. Aktivacija inflamatornih puteva, posredstvom aktivacije kostne srži i povećanja monocita u cirkulaciji, manifestuje se kroz povećanu produkciju proinflamatornih citokina naročito interleukina 6 (IL-6), interleukina 1 beta (IL-1 β) i faktora nekroze tumora alfa (TNF- α). Citokini dalje mogu uticati na metabolizam neuritransmitera, neuroendokrine izmene ili na oksidativni stres. Depresija se sve češće sagledava i kao bolest mikroglije. Citokini utiču na aktivaciju astrocita i mikroglijalnih ćelija i narušavaju kinureninski (QUIN) metabolizam. Aktivacijom enzima koji razlaže triptofan do kinurenina, posredstvom citokina smanjuje se koncentracija serotonina. QUIN je agonista NMDA receptora, a u zapaljenju se njegova produkcija povećava, što ima i direktne efekte na promene u vidu neraspoloženja i anksioznosti (Arteaga-Henriquez i sar., 2021). Mikroglija posredstvom BDNF faktora utiče na neurogenezu ili neurodegeneraciju (Kobayashi i sar., 2005; Zhang i sar., 2016; Zhang i sar., 2021b). Promene u ispoljavanju osećaja zadovoljstva i pojačavanju anksioznosti mogu biti posledica i izmena dopaminske funkcije posredovane uticajem citokina. Dopaminergički neuroni ventralnog strijatuma i ventromedijalnog prefrontalnog korteksa su odgovorni za anhedoniju koja je vodeći simptom depresije. Primećeno je da pacijenti koji imaju povišene proinflamatorne markere bolje reaguju na antideprive koji imaju dopaminergičko dejstvo (Lucido i sar., 2021). Pod uticajem zapaljenja dolazi i do poremećaja HPA ose i izmena transmisije glutamata i GABA-e. Pod uticajem zapaljenja povećava se izvansinaptička dostupnost glutamata. Astrociti prevode glutamat u glutamin. Vezivanjem glutamata za mikroglijalne ćelije, dolazi do oslobađanja proinflamatornih citokina. Višak glutamata se vezuje za NMDA receptore što pojačava ekscitabilnost ćelija i dovodi do ćelijske smrti.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Odrediti i uporediti koncentracije ukupnog i jonizovanog magnezijuma kod pacijenta sa dijagnozom iz spektra neurotskih, stresogenih i telesno-manifestnih poremećaja, pacijenata sa dijagnozom depresivnog poremećaja i zdravih kontrola.
2. Odrediti i uporediti aktivnost antioksidativnih enzima: glutation peroksidaze 1 (GPX1), superoksidadismutaze 1 (SOD1) i koncentraciju malondialdehida (MDA) u serumu pacijenta sa dijagnozom iz spektra neurotskih, stresogenih i telesno-manifestnih poremećaja, pacijenata sa dijagnozom depresivnog poremećaja i zdravih kontrola.
3. Odrediti i uporediti koncentracije medijatora zapaljenja interleukina 6 (IL-6) i faktora nekroze tumora alfa (TNF- α) u serumu pacijenta sa dijagnozom iz spektra neurotskih, stresogenih i telesno-manifestnih poremećaja, pacijenata sa dijagnozom depresivnog poremećaja i zdravih kontrola.
4. Ispitati povezanost koncentracije jonizovanog magnezijuma sa nivoima pokazatelja oksidativnog stresa i inflamacije kod pacijenta sa poremećajima iz spektra neurotskih, stresogenih i telesno-manifestnih poremećaja, pacijenata sa dijagnozom depresivnog poremećaja i zdravih kontrola.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ispitanici

U istraživanje nivoa jonizovanog magnezijuma, pokazatelja oksidativnog stresa i specifičnih medijatora zapaljenja uključeno je ukupno 93 ispitanika oba pola, starosti između 18 i 65 godina. Studijska populacija obuhvatila je pacijente sa poremećajem raspoloženja, pacijente sa anksioznošću i zdrave dobrovoljce.

Pacijenti su na prvi psihijatrijski pregled u Univerzitetski klinički centar Srbije (UKCS) Kliniku za psihijatriju došli sa uputom iz nadležnog doma zdravlja zbog psihičkih tegoba. Ovo je bio prvi psihijatrijski pregled zbog pomenutih tegoba. U trenutku pregleda kao i u peroidu od godinu dana koji prethodi istraživanju nisu uzimali psihofarmakoterapiju. U trenutku istraživanja pacijenti nisu bili hospitalizovani niti je težina kliničke slike zahtevala hospitalizaciju. Pacijentima je pri prvom psihijatrijskom pregledu na osnovu MKB 10 kriterijuma postavljena dijagnoza. U studiju su uključeni pacijenti kojima je kao osnovna dijagnoza dijagnostikovana F41 (drugi anksiozni poremećaj) i to (F41.0 - Panični poremećaj i F41.1 – generalizovani anksiozni poremećaj) i F32.2 (teška depresivna epizoda bez psihotičnih simptoma).

3.1.1. Kriterijumi za uključivanje/isključivanje

3.1.1.1. Uključujući kriterijumi za studijske grupe:

- Potpisana izjava o dobrovoljnom učestvovanju u ispitivanju
- Specifični uključujući kriterijumi za grupu pacijenata koji su već implicitno sadržani pri samom postavljanju dijagnoze i podrazumevaju kriterijume MKB-10 za postavljanje dijagnoze iz spektra neurotskih, stresogenih i telesno-manifestnih poremećaja (F40 i F41) ili depresije (F32)
- Godine starosti od 18 do 65 godina

3.1.1.2. Isključujući kriterijumi za studijske grupe:

- Mlađi od 18 godina i stariji od 65 godina.
- Zloupotreba alkohola i/ili psihoaktivnih supstanci
- Psihofarmakološki tretman antidepresivima, antipsihoticima ili psihostabilizatorima u trenutku ispitivanja i godinu dana pre istraživanja.

- Dijagnoza mentalne retardacije
- Postojanje organske osnove bolesti (potvrđeno na osnovu prethodne komplementarne dijagnostike) ili sumnje na organsku osnovu bolesti (na osnovu metoda kliničke procene)
- Komorbiditetna organska oboljenja (autoimmune bolesti, inflamatorne bolesti, dijabetes mellitus, endokrinološka oboljenja, teska bubrežna oboljenja, epilepsija)
- Trudnoća ili laktacija

3.1.1.3. Uključujući kriterijumi za ispitanike u kontrolnoj grupi:

- Potpisana izjava o dobrovoljnom učestvovanju u ispitivanju
- Godine starosti od 18 do 65 godina

3.1.1.4. Isključujući kriterijumi za ispitanike u kontrolnoj grupi:

- Postojanje duševnog oboljenja prema kriterijumima MKB-10
- Uzimanje bilo kakvih medikamenata, psihoaktivnih supstanci i suplemenata u periodu od 4 nedelje neposredno pre vađenja krvi za analize predviđene ispitivanjem
- Postojanje zapaljenskih, neurodegenerativnih, malignih bolesti, srčanih dekompenzovanih oboljenja, infektivnih bolesti i drugih težih dekompenzovanih stanja
- Trudnoća ili laktacija

Uzrast i pol ispitanika kontrolne grupe usklađen je sa istim obeležjima studijske grupe.

3.2. Dizajn studije

Istraživanje je sprovedeno kao neintervencijska studija preseka. Pre uključivanja u studiju svim ispitanicima su detaljno objašnjeni ciljevi i metode istraživanja. Svi ispitanici su potpisali pristanak za dobrovoljno učešće u studiji. Istraživanje je sprovedeno u skladu sa etičkim standardima datim u Helsinškoj deklaraciji.

Ispitivanje je odobreno od strane Etičkog komiteta Kliničkog centra Srbije (N°505/15) uz prethodno dobijenu saglasnost rukovodioca Kinike za psihijatriju, kao i Etičke komisije Medicinskog fakulteta u Beogradu.

Svi ispitanici su podeljeni u tri grupe. Prvu grupu činilo je 36 pacijenata kojima je pri prvom ambulatnom psihijatrijskom pregledu na Klinici za Psihijatriju Univerzitetskog Kliničkog Centra Srbije, na osnovu MKB 10 kriterijuma, postavljena je dijagnoza iz spektra neurotskih, stresogenih i telesno-manifestnih poremećaja i to: F40 (fobijski anksiozni poremećaj), F41(drugi anksiozni poremećaj). Troje od ukupno 36 pacijenata sa anksioznim poremećajem imalo je pored osnovne dijagnoze anksioznog poremećaja i prateću dijagnozu u opservaciji sve iz istog spektra neurotskih stresogenih i telesno-manifestnih poremećaja. Kao prateće dijagnoze “in obs.” bile su F44 (disocijativni (konverzivni) poremećaj, F45 (telesni psihogeni poremećaji i F40.1(socijalna fobija))

Drugu grupu činilo je 39 pacijenata kojima je pri prvom psihijatrijskom pregledu na Klinici za Psihijatriju Univerzitetskog Kliničkog Centra Srbije, na osnovu MKB 10 kriterijuma, postavljena je dijagnoza F32.2 (teška depresivna epizoda bez psihotičnih simptoma). Depresivni pacijenti nisu bili suicidalni. Kontrolna grupa je obuhvatala 18 zdravih dobrovoljaca oba pola, sa teritorije Republike Srbije koji su izdvojeni iz populacije metodom prigodnog uzorka. Ispitanici kontrolne grupe su bili bez klinički evidentnih oboljenja, sposobni da razumeju svrhu istraživanja, a u odnosu na studijske grupe bili su usklađeni po polu i starosti.

3.3. Metode

3.3.1. Pregled psihijatra

Svim pacijentima su urađene uobičajene dijagnostičke procedure, prikupljanje anamnestičkih podataka neophodnih za dijagnostikovanje psihijatrijskog poremećaja (opšte informacije, lična i porodična medicinska istorija, sociodemografske karakteristike). Klinička dijagnoza je postavljena na osnovu kriterijuma Međunarodne klasifikacije bolesti (MKB 10).

Od pacijenata su anamnestički dobijeni i podaci o visini (vrednost izražena u Cm) i težini (vrednost izražena u kg) i podaci o navikama koje uključuju i upražnjavanje fizičke aktivnosti kao i podaci o unosu suplemenata. Na osnovu vrednosti visine i težine, a kao parametar za procenu uhranjenosti korišćen je bodi mass indeks (BMI) koji je izračunat kao količnik telesne mase u kilogramima i kvadrata telesne visine izraženog u metrima $BMI = TM(kg)/TV(m^2)$

3.3.2. Upitnici za samoprocenu

Ispitanici su nakon završenog pregleda popunili upitnik za samoocenjivanje stresa, anksioznosti i depresije (Depression, Anxiety and Stress Scale - DASS 21) i Bekovu skalu

depresivnosti (Beck's Depression Inventory - BDI). Obe skale validirane su na našoj populaciji (Jovanović i sar., 2014; Novović i sar., 2011).

3.3.2.1. Skala depresije, anksioznosti i stresa (DASS 21)

DASS 21 je koncipiran kao upitnik zatvorenog tipa za samoocenu. Sadrži 21 pitanje. Dostupne opcije za odgovor bile su 0, 1, 2 i 3.

Podskalu depresije čine pitanja 3, 5, 10, 13, 16, 17 i 21. Ova podskala meri: neraspoloženje, osećaj beznadežnosti i besmislenosti života, samo-omalovažavanje, nezainteresovanost, anhedonju i bezvoljnost. Ukupan skor (0–9) ukazuje na odsustvo depresije, blagu depresiju karakteriše skor (10–12), umerenu skor (13–20), tešku depresiju skor (21–27) i ekstremno teška depresija se kreće u rasponu skora (28–42).

Pitanja 2, 4, 7, 9, 15, 19 i 20 formiraju skalu za merenje anksioznosti koja procenjuje: znake aktiviranja simpatičkog nervnog sistema, efekte na skeletnim mišićima, situacionu anksioznost i subjektivni doživljaj anksioznog afekta. Ukupan skor na subskali anksioznosti sa vrednostima od (0–6) se vrednuje kao odustvo anksioznosti, blaga anksioznost ima vrednosti (7–9), umerena anksioznost (10–14), teška anksioznost (15–19) i ekstremno teška (20–42). Pitanja 1, 6, 8, 11, 12, 14 i 18 formiraju subskalu koja meri stres (stepen hroničnog nespecifičnog uzbuđenja: teškoću opuštanja, nervozu, uznemirenost, razdražljivost i nestrpljivost). Skor od (0–10) se opisuje kao normalan, blag ima vrednosti (11–18), umeren stres (19–26), težak karakterišu vrednosti (27–34) i ekstremno težak stres (35–42). Ovaj upitnik pogodan je za merenje negativnih emotivnih stanja kako u zdravoj populaciji, tako i u kliničkim istraživanjima (Lovibond i Lovibond, 1995., Crawford i Henry, 2003). Rezultati su prikazivani kategorijalno i dimenzionalno. Na jednom polu dimenzionalno prikazanih skorova nalazi se odsustvo poremećaja, na drugom ekstremna težina poremećaja.

3.3.2.2. Bekova skala depresivnosti (BDI)

Bekova skala depresivnosti BDI skala (Beck's Depression Inventory) zasnovana je na Bekovoj kognitivnoj teoriji depresije i sastoji se od 21 pitanja. Svako pitanje ima set od četiri moguća odgovora, rangirana prema intenzitetu (0-3) veće vrednosti označavaju veći intenzitet simptoma. Procena depresije se vrši u odnosu na stanje pacijenta u poslednje dve nedelje. Maksimalni broj bodova je 63. Rezultati 0-13 ukazuju na minimalnu depresivnost; 14-19 blagu depresivnost; 20-28 umerenu depresivnost; i više od 29 ukazuje na ozbiljnu depresivnost. U ovom istraživanju depresivnost je procenjivana kategorijalno za deskripciju analiziranog

uzorka. Za korelacione analize depresivnost je procenjivana dimenzionalno. Svi skorovi su smatrani tačkom na kontinuumu na čijem je jednom polu odsustvo depresivnosti i minimalna depresivnost, a na drugom ozbiljna depresivnost.

3.3.3. Određivanje parametara iz krvi ispitanika

Nakon pregleda pacijentima je istog dana ili prvog narednog jutra izvađena krv. Krv je uzeta za standardne laboratorijske analize kompletna krvna slika (KKS) i biohemijske analize krvi, kao i krv za analizu parametara oksidativnog stresa, medijatora zapaljenja i jonizovanog magnezijuma.

Uzorak krvi uzet je pre početka uzimanja preporučene terapije koja se uobičajeno propisuje za odgovarajuće poremećaje.

3.3.3.1. Određivanje krvne slike i biohemijskih parametara

Standardne laboratorijske analize uključivale su:

- kompletnu krvnu sliku sa leukocitarnom formulom (KKS). Analiza je rađena metodom protočne citometrije na hematološkom brojaču Sysmex XN-1000 (Sysmex corporation, Japan)
- sedimentaciju (SE) – rađena metodom po Westergreen-u
- biohemijske analize (glukoza, urea, kreatinin, mokraćna kiselina, bilirubin ukupan, bilirubin direktan, proteini ukupni, albumini, kreatin kinaza (CK), gvožđe, feritin, transferin, natrijum, kalijum, magnezijum - standardne spektrofotometrijske metode
- holesterol ukupan, holesterol HDL, holesterol LDL, trigliceridi- rađene standardnom enzimskom metodom
- aspartat aminotransferaza (AST), alanin aminotransferaza (ALT), alkalna fosfataza (ALP) gama-glutamilttransferaza (GGT) - rađene pomoću standardne IFCC spektrofotometrijske metode
- hemostaza: protrombinsko vreme PT-s, INR, D dimer.
- srčani markeri: C-reaktivni protein (CRP) – korišćena imunoturbidimetrijska metoda

Analize su rađene na biohemijskom analizatoru Alinity c (Abbott Laboratories, SAD)

- Imunohemijske analize: status štitne žlezde tireostimulirajući hormon (TSH), slobodni tiroksin (FT4), slobodni trijodtironin (FT3), antitela na tireoidnu peroksidazu (anti TPO), nivo vitamina D (25(OH)vit D, prolaktin, kortizol, parathormon (PTH), nivo

vitamina B₁₂, folne kiseline, homocistein, osteoklacin - rađene su metodom hemiluminiscentnog imunoodređivanja sa paramagnetnim mikročesticama (chemiluminescent microparticle immunoassay, CMIA)

Krv za analize uzorkovana je u jutarnjim časovima, 12 sati od poslednjeg obroka ispitanika.

Analize su urađene u akreditovanoj laboratoriji Univerzitetskog kliničkog centra Srbije (UKCS) u Centru za medicinsku biohemiju (Služba za kliničku laboratorijsku dijagnostiku) prema standardnoj proceduri.

3.3.3.2. Određivanje nivoa jonizovanog magnezijuma

Za određivanje nivoa jonizovanog Mg uzeta je venska krv (4 mL) standardnim anaerobnim postupkom venepunkcije kubitalne vene u heparinizirane vakum epruvete. Analiza uzoraka pune krvi je obavljena u roku od 6 sati. Do analize uzorak je čuvan u frižideru. Uzorci su analizirani na Insitutu za hemiju u medicini, Medicinskog fakulteta na analizatoru za gasove u krvi (Blood Gas Stat profile Prime Plus Analyzer, proizvođač je Nova Biomedical Corporation, Waltham, USA) Ovaj uređaj je registrovan u našoj zemlji od strane Agencije za lekove i medicinska sredstva, broj rešenja 515-02-01758-18-001 od 19.11.2018. godine.

3.3.3.3. Određivanje pokazatelja oksidativnog stresa i markera zapaljenja

Za određivanje specifičnih pokazatelja oksidativnog stresa i markera zapaljenja krv je uzeta u epruvete bez antikoagulansa. Nakon koagulisanja krvi, epruvete su centrifugirane na 3000 obrtaja u toku 10 minuta na 4° Celzijusa. Po završenom centrifugiranju serum je bio alikvotiran i čuvan u frižiderima na -80°C do dalje analize. Koncentracije, glutation peroksidaze 1 (GPKS1), superoksidadismutaze 1 (SOD1), malondialdehida (MDA), interleukina 6 (IL-6) i faktora nekroze tumora alfa (TNF-α) su određivane u serumu ispitanika enzim-kuplovanim imunosorbentnim testom (Enzyme linked immunosorbent assay - ELISA kit), prema uputstvima proizvođača Elabscience, USA).

3.4. Statistička analiza

Normalnost raspodele podataka je proveravana upotrebom Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Wilk testa.

Zavisno od tipa varijabli i normalnosti raspodele, deskripcija podataka je prikazana kao

- brojčane vrednosti i procenti (n /%) za nominalne varijable,

- aritmetička sredina \pm standardna devijacija ($as \pm sd$) za numeričke varijable sa normalnom raspodelom i bez ekstremnih vrednosti
- medijana (min-max) za numeričke varijable čija raspodela odstupa od normalnosti ili kada postoje ekstremne vrednosti (Trajković i Bukumirić, 2020).

Statističke hipoteze su testirane korišćenjem ANOVA, Kruskal-Vallis testa, hi-kvadrat, Fisherov test tačne verovatnoće, Mann-Whitney test.

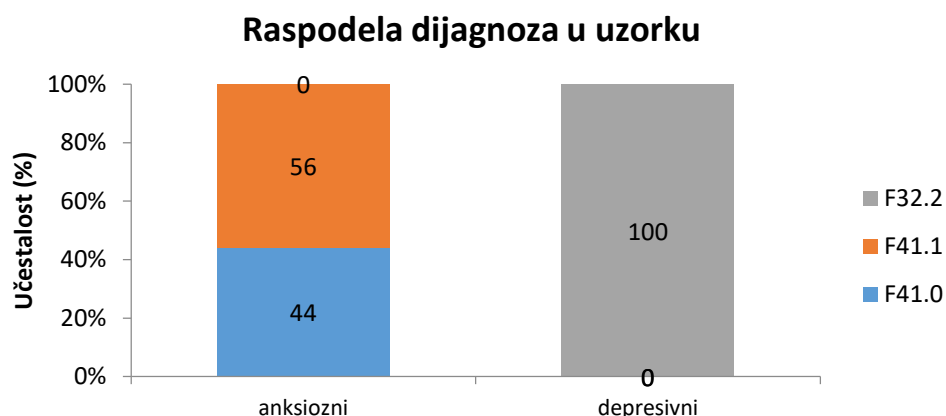
Povezanost između varijabli procenjena je primenom Pearsonovog koeficijenta linearne korelacije ili Spearmanovog koeficijenta korelacije rangova. Statističke hipoteze su analizirane na nivou značajnosti od 0,05 (p - nivo značajnosti $\leq 0,05$)

Za obradu i analizu podataka korišćen je program IBM SPSS Statistics 22 (IBM Corporation, Armonk, NY, SAD).

4. REZULTATI

4.1. Sociodemografske i kliničke karakteristika ispitanika

Studija je obuhvatila 93 ispitanika: 75 bolesnih i 18 zdravih dobrovoljaca. Svi ispitanici su podeljeni u tri grupe. Prvu grupu činilo je 36 pacijeneta sa dijagnozom anksioznog poremećaja. U drugoj grupi bilo je 39 osoba obolelih od depresije. Treću grupu činilo je 18 zdravih osoba. U grupi pacijenata sa dijagnostikovanom anksioznošću, njih troje imalo je kao prateću dijagnozu u opservaciji jedan od poremećaja iz iste dijagnostičke grupe i to socijalna fobija (F40.1 in obs.), disocijativni (konverzivni) poremećaj (F44 in obs.) i telesni psihogeni poremećaji (F45 in obs.). Svi ispitanici u grupi anksioznih su kao prvu dijagnozu imali “drugi anksiozni poremećaj” (F41). U grupi depresivnih svi ispitanici su bili dijagnostikovani kao teška depresija bez psihotičnih simptoma (F32.2). Rezultati su prikazani grafikonom 1.



Grafikon 1. Kliničke dijagnoze među dijagnostikovanim poremećajima

F41.0 Panični poremećaj, F41.1 Generalizovani anksiozni poremećaj, F32.2 teška depresivna epizoda bez psihotičnih simptoma

Prosečna starost ispitanika u kontrolnoj grupi iznosila je $42,5 \pm 7,1$, u grupi anksioznih $39,5 \pm 9,5$ i u grupi depresivnih $49,5 \pm 11,8$. Postojala je statistički značajna razlika u pogledu starosti među ispitivanim grupama (ANOVA test) ($p < 0,01$). Testom multiplih komparacija utvrdili smo da su depresivni pacijenti bili stariji od druge dve ispitivane grupe (anksioznih i zdravih dobrovoljaca).

Grupe su bile konzistentne u pogledu odnosa polova, sa većim udelom žena nego muškaraca. Bračni status, zaposlenje i raniji psihijatrijski poremećaji, nisu se statistički značajno razlikovali među grupama ($p>0,05$). Kod ispitanika u grupi depresivnih pozitivno psihijatrijsko nasleđe imalo je (15,4%), za razliku od grupe anksioznih i kontrolne grupe, koje su bile bez psihijatrijskog herediteta (Tabela 1).

Tabela 1. Sociodemografske karakteristike ispitivanog uzorka

Parametri	Kontrolna grupa (n=18)	Grupa anksioznih (n=36)	Grupa depresivnih (n=39)	p-vrednost
Starost, srednja vr. \pm SD	42,5 \pm 7,1	39,5 \pm 9,5	49,5 \pm 11,8	p<0,001
Pol, n (%)				
F	13 (72,2%)	23 (63,9%)	32 (82,1%)	0,214
M	5 (27,8%)	13 (36,1%)	7 (17,9%)	
Bračni status				0,481
neoženjen	4 (22,2%)	13 (36,1%)	9 (23,1%)	
oženjen	12 (66,7%)	19 (52,8%)	20 (51,3%)	
razveden	2 (11,1%)	4 (11,1%)	7 (17,9%)	
udovac	0 (0,0%)	0 (0,0%)	3 (7,7%)	
Zaposlenje	18 (100,0%)	33 (91,7%)	30 (76,9%)	0,037
Da				
Pozitivan psihijatrijski hereditet	0 (0,0%)	0 (0,0%)	6 (15,4%)	0,013

Kontinuirani podaci su predstavljani kao srednje vrednosti \pm SD. Kategorički podaci su predstavljani kao apsolutni brojevi (frekvence). Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina \pm SD ili medijana (opseg). Statistička analiza je koristila Hi kvadrat test, Fisherov test i ANOVA. Multiple komparacije su rađene za parametre koji su pokazali značajnost razlike $P<0,05$.

U ispitivanom uzorku, rizični faktori, među kojima su pušenje, druge bolesti, indeks telesne mase i specifične navike u ishrani, nisu se statistički razlikovali među grupama ($p > 0,05$). Vitaminska suplementacija je sa približnom istom zastupljenošću korišćena kod ispitanika iz sve tri grupe. Najmanje fizički aktivni su bili ispitanici iz kontrolne grupe. Njih 38,9% je upražnjavalo redovnu fizičku aktivnost, nasuprot 72,2% fizički aktivnih u grupi anksioznih i 51,3% u grupi depresivnih. Rezultati su prikazani u tabeli 2.

Tabela 2. Životne navike od značaja za razvoj i prevenciju bolesti

Parametar	Kontrolna grupa (n=18)	Grupa anksioznih (n=36)	Grupa depresivnih (n=39)	p-value
Pušači	5 (27,8%)	8 (22,2%)	16 (41,0%)	0,201
Druge bolesti	5 (27,8%)	4 (11,1%)	8 (20,5%)	0,321
BMI \pm SD(mean \pm SD)	25,12 \pm 3,57	23,71 \pm 3,22	24,72 \pm 4,52	0,370
Navike u ishrani				
Vegan	0 (0,0%)	1 (2,8%)	1 (2,6%)	1,000
Vegetarijanac	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,6%)	
Fizička aktivnost	7 (38,9%)	26 (72,2%)	20 (51,3%)	0,042
Suplementacija (vitamin C and D)	8 (44,4%)	7 (29,2%)	10 (38,5%)	0,565

Kontinuirani podaci su predstavljeni kao srednje vrednosti \pm SD. Kategorički podaci su predstavljeni kao apsolutni brojevi (frekvence). Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina \pm SD ili medijana (opseg). Statistička analiza je koristila Hi kvadrat test, Fisherov test i ANOVA. Multiple komparacije su rađene za parametre koji su pokazali značajnost razlike $P < 0,05$. BMI – body mass index.

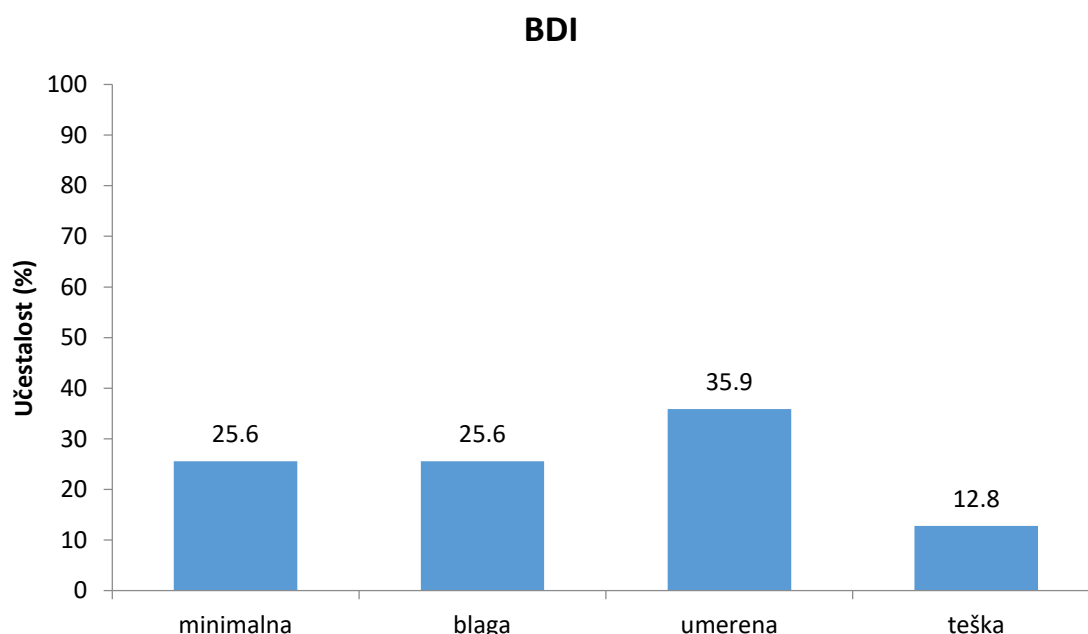
Klinički uzorak depresivnih činili su 39 ispitanika koji su dijagnostikovani pod dijagnozom teške depresije bez psihotičnih simptoma. U grupi anksioznih bilo je 36 ispitanika sa dijagnozama paničnog poremećaja, generalizovane anksioznosti i drugi neoznačeni anksiozni poremećaji. Procena težine sresa, anksioznosti i depresije kod ispitivanih grupa merena upitnicima za samoocenu prikazana je u tabeli 3.

Tabela 3. Karakteristike ispitivanog uzorka merene skalama za procenu težine ispitivanih poremećaja

Visina skora na upitnicima	Kontrolna grupa (n=18)	Grupa anksioznih (n=36)	Grupa depresivnih (n=39)
DASS-S (mean±sd)	9,00 (0-16)	14,00 (2-42)	16,00 (2-34)
DASS-A (mean±sd)	2,00 (0-8)	12,00 (0-38)	14,00 (0-32)
DASS-D (mean±sd)	2,00 (0-14)	3,00 (0-30)	18,00 (2-38)
BDI (mean±sd)	2,50 (0-17)	6,00 (0-32)	18,00 (0-39)

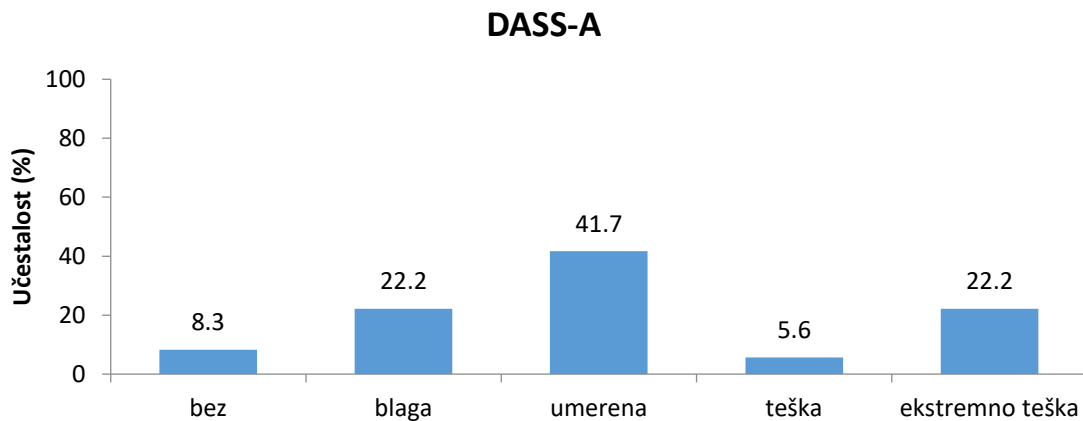
Upitnik za samoocenjivanje stresa, anksioznosti i depresije (engl. Depression, Anxiety and Stress Scale) - podskala stresa - (DASS-S), podskala anksioznosti (DASS-A), podskala depresivnosti (DASS-D) i Bekovu skalu depresivnosti (engl. Beck's Depression Inventory) - (BDI).

Prema kriterijumima BDI skale depresivnosti, 10 pacijenata imalo je minimalno izražene simptome depresije. Njih 10 bilo je blago depresivno, 14 umereno depresivnih i 5 pacijenta sa teškim simptomima. Grafikon 2 prikazuje da je najveći procenat depresivnih pacijenata (35,9%) imalo umerenu depresivnost.



Grafikon 2. Težina depresije kvalifikovana BDI upitnikom. Težina je kvalifikovana u četiri kategorije. Izražena procentualno.

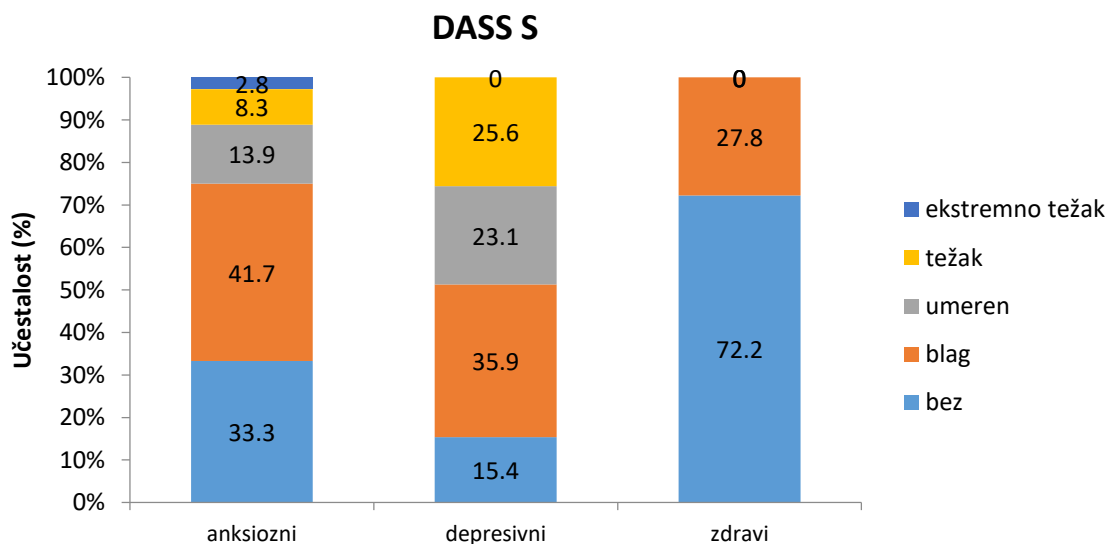
Anksioznost je procenjivana subskalom anksioznosti DASS 21 upitnika. U grupi ispitanika sa anksioznim poremećajima najveći broj pacijenata 15 (41,7%) je imao umereno težak poremećaj. Rezultati su prikazani na grafikonu 3.



Grafikon 3. Težina anksioznosti prema DASS 21 upitniku - subskala anksioznosti.

Težina je kvalifikovana u pet kategorija, a učestalost izražena u procentima

Nivo stresa meren DASS-S podskalom prikazan je na grafikonu 4. Najveći procenat ispitanika imao je simptome blagog stresa. U grupi anksioznih 41,7% ispitanika doživljavao simptome blagog stresa. U grupi depresivnih 35,6% je imalo stres blagog intenziteta. U grupi zdravih blag stres se registruje kod 27,8% ispitanika.



Grafikon 4. Nivo stresa meren DASS-S skalom

4.2. Analiza biohemijskih parametara krvi, pokazatelja oksidativnog stresa i specifičnih medijatora zapaljenja

Vrednosti pokazatelja lipidnog statusa: holesterol, LDL-H (mmol/L), HDL-H (mmol/L), TG (mmol/L), kao i koncentracija glukoze prikazani su u tabeli 4. Koncentracije glukoze bile su u referentnom opsegu normalne glikemije i ne pokazuju značajnu razliku među ispitivanim grupama. Vrednosti holesterola su pokazale značajnu razliku među grupama ($p < 0,05$). Testom multiple komparacije statistička značajnost se beleži u pogledu razlike među grupama anksioznih i depresivnih, bez razlike u odnosu na zdrave kontrole. Drugi analizirani pokazatelji lipidnog statusa ne pokazuju značajnu razliku među ispitivanim grupama.

Tabela 4. Koncentracije glukoze i parametri lipidnog statusa ispitanika

Parametar	Kontrolna grupa (n=18)	Grupa anksioznih (n=36)	Grupa depresivnih (n=39)	p-value
Glukoza (mmol/L)	4,65 ± 0,52	4,58 ± 0,56	4,9 ± 0,95	0,156
Holesterol (mmol/L)	5,26 ± 1,07	5,24 ± 1,25	5,98 ± 1,24	0,019
LDL-H (mmol/L)	1,56 ± 0,24	1,54 ± 0,38	1,58 ± 0,38	0,881
HDL-H (mmol/L)	3,28 ± 0,86	3,21 ± 1,15	3,71 ± 1,20	0,133
TG (mmol/L)	1,09 (0,56–2,23)	0,87 (0,42–2,73)	1,10 (0,55–3,20)	0,156

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina±SD ili medijana (opseg). Statistička analiza je koristila Kruskal-Wallis test i ANOVA. Multiple komparacije su rađene za parametre koji su pokazali značajnost razlike $P < 0,05$. Holesterol, lipoproteini male gustine–holesterol (LDL-H), lipoproteini velike gustine–holesterol (HDL-H), trigliceridi (TG), glukoza.

Sistemske parametre upale kao što su trombociti/limfociti (PLR), neutrofili/limfociti (NLR), monociti/limfociti (MLR), neutrofili/WBC – limfociti (DNLR), širina distribucije crvenih krvnih zrnaca (RDW) i odnos trombocita (RPR), indeks sistemske inflamacije (SII), PLT/albumin (PAR), nisu se značajno razlikovali među ispitivanim grupama. Protein akutne faze - C reaktivni protein (CRP) je imao vrednosti ispod granice koja ukazuje na zapaljenje (≤ 5 mg/L), bez razlike među ispitivanim grupama. Proinflamatorni citokini: interleukin 6 (IL-6) i faktor nekroze tumora alfa (TNF- α) nisu se značajno statistički razlikovali među grupama anksioznih, depresivnih i grupe zdravih kontrola. Rezultati analize prikazani su u tabeli 5.

Tabela 5. Parametri sistemske inflamacije i specifični medijatori zapaljenja

parametri	Kontrolna grupa (n=18)	Grupa anksioznih (n=36)	Grupa depresivnih (n=39)	p-value
Median (min-max)				
WBC	6,09 \pm 1,47	5,74 \pm 1,20	6,44 \pm 1,86	0,157
PLR	127,50 (63,64-203,33)	117,78 (61,54-353,85)	117,04 (51,67-250,00)	0,864
NLR	1,42 (0,79-3,33)	3,33 (1,00-3,33)	1,65 (0,94-5,50)	0,243
MLR	0,18 (0,12-0,50)	0,21 (0,07-0,51)	0,23 (0,10-0,83)	0,149
DNLR	0,39 (0,25-0,69)	0,46 (0,25-0,84)	0,40 (0,22-1,45)	0,266
RPR	0,05 (0,04-0,08)	0,05 (0,00-0,08)	0,05 (0,00-0,08)	0,293
SII	340,34 (190,91-817,80)	345,81 (178,46-1450,77)	400,69 (175,67-775,50)	0,293
PAR	5,26 (3,18-6,51)	4,94 (3,29-10,00)	4,98 (3,20-8,28)	0,309
CRP (mg/L)	0,00 (0-3,8)	0,00 (0-3,1)	0,00 (0-5,8)	0,060
IL-6 (pg/mL)	0,00 (0,00-74,21)	0,00 (0,00-123,54)	1,49 (0,00-148,56)	0,085
TNF- α (pg/mL)	0,00 (0,00-40,38)	1,47 (0,00-87,26)	0,00 (0,00-140,46)	0,081

Statistička analiza je koristila Kruskal-Wallis test i ANOVA test; multiple komparacije nisu rađene pošto ovaj test nije pokazao postojanje razlike među grupama ($p < 0,05$).
 PLR=Trombociti/limfociti, NLR= neutrofili/limfociti, MLR= monociti/limfociti, DNLR= neutrofili/WBC – limfociti, RDW= širina distribucije crvenih krvnih zrnaca i RPR= odnos trombocita, SII- indeks sistemske inflamacije, PAR=PLT/albumin, CRP- C reaktivni protein, IL-6-interleukin 6, TNF- α - tumor necrosis factor alfa

Pokazatelji oksidativnog stresa SOD1 i MDA nisu se statistički značajno razlikovali među ispitivanim grupama. GPX se statistički značajno razlikovao među kontrolnom grupom, grupom anksioznih i grupom depresivnih ($p < 0,005$) (Kruskal-Wallisov test) (Tabela 6), a postojala je statistički značajnost između kontrole grupe i grupe anksioznih ($p = 0,004$ i $p < 0,05$, respektivno) i između kontrolne grupe i grupe depresivnih ($p = 0,017$ i $p < 0,05$, respektivno) (poređenja u parovima, Bonferonijeva korekcija). Nije bilo statističke značajnosti između anksioznih i depresivnih grupa.

Tabela 6. Pokazatelji oksidativnog stresa poređeni među ispitivanim grupama

parametri Median (min- max)	Kontrolna grupa (n=18)	Grupa anksioznih (n=36)	Grupa depresivnih (n=39)	p-value
GPX1 (pg/mL)	1336,99 (438,51- >2001,00)	>2001,00 (356,81- >2083,75)	>2001,00 (441,64- >2001,00)	0,013
SOD1 (pg/mL)	>4001,00 (2896,84- >4001,00)	>4001,00 (2555,12- >4001,00)	>4001,00 (2291,02- >4001,00)	0,718
MDA (ng/mL)	88,62 (54,64- 178,89)	86,76 (43,73-209,69)	85,21 (60,14- 848,99)	0,485

Statistička analiza je koristila Kruskal-Wallis test. Multiple komparacije su rađene za parametre koji su pokazali značajnost razlike $P < 0,05$. GPX1- Glutation peroksidaza, SOD1- Superoksid dismutaza, MDA- Malonil dialdehid.

Hormon prolaktin je pokazao statistički značajnu razliku između grupa ($p < 0,005$) (Kruskal-Wallisov test), a bio je statistički različit između grupa zdravih i depresivnih ($p < 0,05$) (poređenja u paru, Bonferoni korekcija). Drugi ispitivani hormoni nisu se razlikovali među grupama. Rezultati su prikazani u tabeli 7.

Tabela 7. Poređenje hormona među ispitivanim grupama.

Hormoni	Kontrolna grupa (n=18)	Grupa anksioznih (n=36)	Grupa depresivnih (n=39)	p-value
Kortizol (nmol/L)	400,50 (155-552)	404,50 (129-693)	387,00 (157-569)	0,663
Prolaktin (mIU/L)	263,50 (115-1256)	245,00 (35-726)	192,00 (45-459)	0,047
Parathormon	57,00 (29-79)	55,00 (24-123)	54,00 (32-109)	0,627
TSH (mIU/L)	2,02 (0,65-3,90)	2,00 (0,58-3,66)	1,85 (0,83-4,46)	0,589
FT3 (pmol/L)	3,9561±0,57664	4,3820± 0,71220 (35)	4,2390 ±0,73572	0,116
T4 (nmol/L)	101,500 ±14,8665	102,688 ±13,2584	100,990 ±19,0266	0,904
Anti TPO (IU/ml)	0,00 (0,00-18,30)	0,80 (0,00-173,70)	0,80 (0,00-22,40)	0,419

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina±SD ili medijana (opseg). Statistička analiza je koristila Kruskal-Wallis test i ANOVA. Multiple komparacije su rađene za parametre koji su pokazali značajnost razlike $P < 0,05$. Značajnost TSH - tireostimulirajući hormon, FT3- slobodan trijodtironin, T4- tiroksin ukupan, anti TPO - antitela na tereoidnu peroksidazu

Vrednosti homocisteina su se značajno razlikovale među ispitivanim grupama ($p < 0,05$) (Kruskal-Wallisov test). Poređenjem u paru bio je statistički različit između grupa anksioznih i zdravih ($p < 0,05$) i između grupa depresivnih i zdravih ($p < 0,05$).

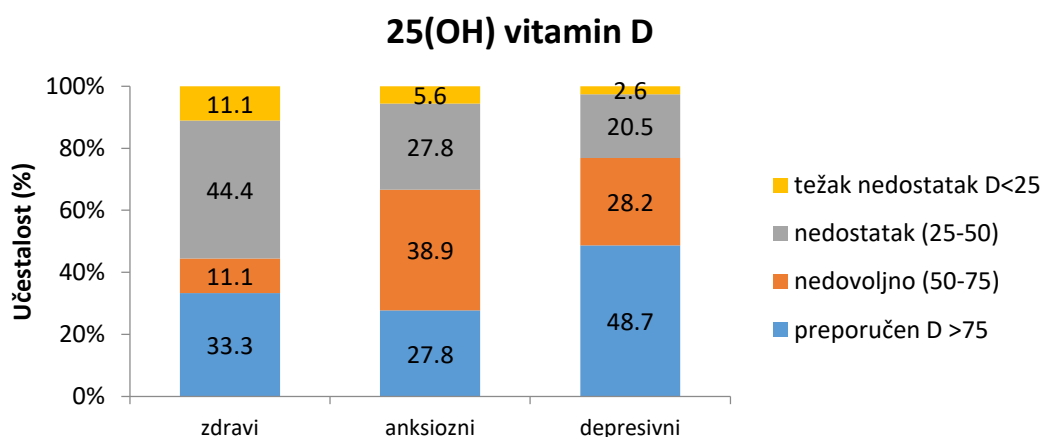
Vitamin D se značajno razlikuje među ispitivanim grupama ($p < 0,05$) (Kruskal-Wallisov test) Depresivni pacijenti imaju statistički značajno različite vrednosti vitamina D u odnosu na zdrave dobrovoljce ($p < 0,05$) (poređenja u parovima, Bonferonijeva korekcija) Rezultati su prikazani u tabeli 8.

Tabela 8. Poređenje vitamina, minerala i važnih biomolekula

Parametri	Kontrolna grupa (n=18)	Grupa anksioznih (n=36)	Grupa depresivnih (n=39)	p-value
Vitamin B12 (ng/L)	370,50 (148-758)	371,50 (148-667)	385,00 (170-2000)	0.669
Folan (ng/L)	8,30 (3,4-19,2)	6,90 (2,5-16,1)	7,60 (2,2-14,6)	0.127
25 (OH) vitamin D (nmol/L)	41,50 (22,0-94,0)	57,50 (21,0-111,9)	57,50 (21,0-111,9)	0.01
Fosfor (nmol/L)	1,05 (0,91-1,23)	1,02 (0,48-1,40)	1,02 (0,80-1,33)	0.428
Gvožđe (nmol/L)	18,30 (9,90- 25,70)	17,05 (2,60-39,80)	18,10 (5,30-28,80)	0.977
Homocistein (nmol/L)	9,47± 1,77	12,23± 3,15	11,44± 2,81	0,006

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina±SD ili medijana (opseg). Statistička analiza je koristila Kruskal-Wallis test i ANOVA. Multiple komparacije su rađene za parametre koji su pokazali značajnost razlike $P < 0,05$.

U grupi depresivnih 48,9% je imalo preporučeni nivo vitamina D - (25(OH) vitamin D) (kategorisan prema laboratorijskim referentnim vrednostima – preporučeni $D > 75$). U grupi anksioznih najveći procenat ispitanika je imao nedovoljno (nedovoljno - D od 50-75). Nedostatak D vitamina (nedostatak - D od 25-50) imalo je 44,4% psihički zdravih ispitanika. Težak nedostatak (težak nedostatak - $D < 25$) imalo je 5,5 % anksioznih i 2,6% depresivnih. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.



Grafikon 5. Nivo 25 (OH) vitamin D (izražen kategorijalno) poreden između ispitivanih grupa.

4.3. Jonizovani magnezijum i korelacije jonizovanog magnezijuma sa drugim parametrima

U ispitivanom uzorku vrednosti jonizovanog magnezijuma su se kretale u rasponu od 0.44 do 0.75 mmol/L. Vrednosti jonizovanog magnezijuma pokazale statistički značajnu razliku među grupama ispitanika ($p < 0,01$). Jonizovani magnezijum se razlikovao u grupi anksioznih naspram zdravih kontrola ($p < 0,05$) i u grupi depresivnih naspram zdravih kontrola ($p < 0,01$). Grupe anksioznih i depresivnih se nisu međusobno razlikovale po vrednostima koncentracije jonizovanog magnezijuma ($p = 0,558$). Nije bilo statistički značajne razlike između zdravih dobrovoljaca i pacijenata (anksioznost/depresija) u vrednostima jonizovanog kalcijuma ($p = 0,057$). Ukupni magnezijum u serumu se nije razlikovao između kontrolne i grupa anksioznih/ depresivnih ($p = 0,14$) (Tabela 9).

Tabela 9. Korelacija jonizovanog magnezijuma, jonizovanog kalcijuma i ukupnog serumskog magnezijuma među ispitivanim grupama.

Variable (mean±SD)	Kontrolna grupa (n=18)	Grupa anksioznih (n=36)	Grupa depresivnih (n=39)	p-vrednost
iCa (mmol/L)	1,199±0,022	1,219±0,032	1,204±0,040	0,057
iMg (mmol/L)	0,629±0,045	0,586±0,059	0,572±0,056	0,003
TotalMg (mmol/L)	0,903±0,089	0,862±0,061	0,875±0,056	0,140

Statistička analiza: ANOVA; multiple komparacije; srednje vrednosti se razlikuju na nivou značajnosti $p < 0,05$. Total Mg – ukupni serumski magnezijum; iMg – jonizovani magnezijum; iCa – jonizovani kalcijum

Korelacijom koncentracije jonizovanog magnezijuma i BDI/DASS-A skale u grupi anksioznih otkrivena je statistički značajna negativna osrednja povezanost između koncentracije jonizovanog Mg i DASS-A skora ($r = -0,311$, $p = 0,002$). Niže vrednosti jonizovanog magnezijuma su u korelaciji sa višim vrednostima anksioznosti. Postoji statistički značajna slaba negativna povezanost jonizovanog magnezijuma i DASS-D ($\rho = -0,265$; $p = 0,010$). Niže vrednosti jonizovanog magnezijuma povezane su sa višim vrednostima depresivnosti. Rezultati su prikazani u tabeli 10.

Tabela 10. Korelacija između ukupnog magnezijuma, jonizovanog magnezijuma i jonizovanog kalcijuma sa težinom poremećaja iskazanom ukupnim testovnim skorovima.

Ukupni skorovi na upitnicima	Spirmanov koeficijent	Ukupni Mg (mmol/L)	Jonizovani Mg (mmol/L)	Jonizovani Ca (mmol/L)
BDI	Rho	-0,15	-0,19	0,09
	<i>P</i>	0,224	0,067	0,402
DASS-S	Rho	-0,21	-0,17	0,09
	<i>P</i>	0,088	0,094	0,358
DASS-A	Rho	-0,01	-0,31	0,14
	<i>P</i>	0,901	0,002	0,174
DASS-D	Rho	-0,18	-0,265	0,05
	<i>P</i>	0,148	0,010	0,638

Izraženo kao Spirmanov r (rho); korelacija je značajna na nivou 0,01 (2-tailed). Bekov upitnik za depresiju (BDI), Skala za procenu depresije, anksioznosti i stresa (DASS-21); (DASS–S podskala stresa; DASS-A – podskala anksioznosti; DASS-D – podskala depresije)

Proinflamatorni citokini nisu bili u korelaciji sa jonizovanim magnezijumom ($p > 0,05$). Jedan od ispitivanih pokazatelja oksidativnog stresa MDA je bio u osrednjoj pozitivnoj korelaciji sa jonizovanim Mg kod anksioznih ($\rho = 0,47$, $p = 0,003$) i depresivnih pacijenata ($\rho = 0,48$, $p = 0,002$). Veće vrednosti jonizovanog magnezijuma koreliraju sa većim vrednostima MDA. GPX1 je imao negativnu osrednju korelaciju sa koncentracijom jonizovanog Mg kod depresivnih ($\rho = -0,38$, $p = 0,017$). U grupi depresivnih veće koncentracije GPX1 bile su korelaciji sa nižim jonizovanim magnezijumom (Tabela 11).

Tabela 11. Korelacija jonizovanog magnezijuma sa pokazateljima oksidativnog stresa (GPX, SOD1, MDA) i proinflamatornim citokinima (IL-6 and TNF- α)

Spearman's ρ (rho)		Kontrolna grupa (n=18)	Grupa anksioznih (n=36)	Grupa depresivnih (n=39)
GPX1	rho	-0,38	-0,28	-0,38
	<i>p</i>	0,120	0,104	0,017
SOD1	rho	0,06	0,07	0,17
	<i>p</i>	0,819	0,672	0,298
MDA	rho	0,38	0,47	0,48
	<i>p</i>	0,119	0,003	0,002
IL-6	rho	0,09	0,13	-0,082
	<i>p</i>	0,724	0,450	0,621
TNF- α	rho	0,07	-0,09	0,12
	<i>p</i>	0,768	0,595	0,449

Izraženo kao Spirmanov r (rho); korelacija je značajna na nivou 0,01(2-tailed) GPX1- glutation peroksidaza 1, SOD1-superoksid dismutaza 1, MDA- malonidialdehid, IL-6 interleukin 6, TNF- α faktor nekroze tumora alfa

Hormon štitne žlezde fT3 pokazuje osrednju pozitivnu povezanost sa jonizovanim magnezijumom u grupama anksioznih i depresivnih (rho=0,44, p<0,01). T4 pokazuje slabu negativnu povezanost sa jonizovanim magnezijumom u grupi anksioznih (rho= -0,42, p=0,01), i negativnu osrednju povezanost u grupi depresivnih (rho=-0,50, P<0,01) i nivo TSH pokazuje značajnu negativnu osrednju povezanost sa jonizovanim magnezijumom u grupi anksioznih (rho= -0,55, p<0,01). Vitamin D pokazuje osrednju negativnu povezanost u grupi depresivnih (rho = -0,42, p<0,01). Rezultati su prikazani u tabeli 12.

Tabela 12. Korelacija jonizovanog magnezijuma sa hormonima i homocisteinom

Parametri korelacije	Spirmanov koeficijent	Kontrolna grupa (n=18)	Grupa anksioznih (n=36)	Grupa depresivnih (n=39)
Homocistein	rho	-0,26	-0,33	0,338*
	<i>p</i>	0,31	0,06	0,04
Parthormon	rho	0,49	0,397*	0,23
	<i>p</i>	0,06	0,04	0,23
Kortizol	rho	0,13	-0,312	-0,21
	<i>p</i>	0,59	0,06	0,192
Prolaktin	rho	0,11	-0,12	0,06
	<i>p</i>	0,65	0,49	0,71
fT3	rho	-0,54*	-0,44**	-0,44**
	<i>p</i>	0,02	$p < 0,01$	$P < 0,01$
T4	rho	-0,41	-0,42*	-0,50**
	<i>p</i>	0,09	0,01	$p < 0,01$
TSH	rho	0,37	-0,55**	0,05
	<i>p</i>	0,13	0,001	0,759
Vitamin D	rho	-0,19	-0,29	-0,42**
	<i>p</i>	0,45	0,09	0,01

Izraženo kao Spirmanovo r (rho); korelacija je značajna na nivou 0,01 (2-tailed)

5. DISKUSIJA

Rezultati ovog istraživanja razvrstani su u tri kategorije. Prva kategorija obuhvata analizu sociodemografskih i kliničko-testovnih parametara ispitivanog uzorka. U drugom delu smo sagledavali da li postoji razlika, odnosno povezanost između kliničkih i biohemijskih parametara sa posebnim osvrtom na proinflamatorne citokine, parametre sistemske inflamacije i pokazatelje oksidativnog stresa. Upoređivali smo ove parametre između ispitivanih grupa i u odnosu na zdrave kontrole.

Na kraju smo analizirali i utvrđivali korelaciju jonizovanog i ukupnog magnezijuma, njihovu povezanost sa pokazateljima oksidativnog stresa i medijatorima zapaljenja. Proveravali smo i povezanost drugih važnih biohemjskih markera, za koje je dosadašnjim nalazima utvrđen značaj za nastanak i ispoljavanje anksioznih i depresivnih poremećaja, sa koncentracijom jonizovanog magnezijuma.

U ovo istraživanje uključeno je ukupno 93 ispitanika. Prvu grupu činilo je 39 ispitanika kod kojih je dijagnostikovana depresija. U drugoj grupi bilo je 36 pacijenata kod kojih je dijagnostikovana anksiozni poremećaj. Preostalih 18 učesnika ispitivanja bili su zdravi dobrovoljci. Kako bismo smanjili rizik preklapanja simptoma i dijagnoza, što je često za ova dva tipa poremećaja, u grupu depresivnih uključili smo samo pacijente sa teškom depresivnom epizodom, a u grupu anksioznih pacijenata samo pacijente kojima je kao osnovna dijagnoza postavljena dijagnoza anksioznog poremećaja u užem smislu. Troje pacijenata u grupi anksioznih imalo je kao prateću dijagnozu u opservaciji jedan od poremećaja iz iste dijagnostičke grupe i to socijalnu fobiju, disocijativni (konverzivni) poremećaj i telesni psihogeni poremećaj. Kako bismo izbegli rizik preklapanja simptoma između dve ispitivane kategorije poremećaja u studiju nisu bili uključivani pacijenti sa mešovitim anksiozno depresivnim poremećajem, niti poremećaji prilagođavanja koje karakterišu istovremeni simptomi i anksioznosti i depresivnosti. Ova studija se bavila ispitivanjem dve srodne i u mnogo čemu podudarne kategorije psihičkih poremećaja, koji su već decenijama unazad bili svaki zasebno predmet brojnih naučnih radova. Prema našim saznanjima mali je broj uporednih analiza među ovim poremećajima do sada rađen.

Anksiozni i depresivni poremećaji su najrasprostranjeniji psihijatrijski poremećaji u populaciji. Prema podacima World Health Organization (WHO) 970 miliona ljudi u svetu je tokom 2019. godine živelo sa nekim mentalnim poremećajem. Anksiozni poremećaji su najčešći mentalni poremećaji u populaciji. Depresija je na drugom mestu po zastupljenosti

među psihijatrijskim poremećajima. Prve procene nakon pandemije pokazuju da je za skoro trećinu porastao broj obolelih od anksioznih i depresivnih poremećaja (Daly i Robinson, 2022). Ovi poremećaji značajno utiču na ekonomsko blagostanje (Sobocki i sar., 2006).

Anksiozni i depresivni poremećaji su često komorbidna stanja, za dosta zajedničkih kliničkih karakteristika, ali i zajedničkim etiopatogenetskim mehanizmima (Arzoz-Fabregas i sar., 2013). Podaci iz literature pokazuju da 50-70% depresivnih bolesnika pokazuje anksioznost ili opsesivno razmišljanje. Depresivni pacijenti koji kao prateći simptom imaju anksioznost najčešće iziskuju duži oporavak i imaju veću sklonost recidivu (Andreescu i sar., 2007). Verovatnoća da se nakon depresivne epizode razvije neki anksiozni poremećaj je 47-58%. Kod skoro trećine primarno anksioznih pacijenata se istovremeno dijagnostikuju i simptomi depresije. Oko 50% anksioznih pacijenata vremenom razvije i depresiju. Dijagnoza anksioznog poremećaja je u svega 11,8% slučajeva postavljena nezavisno od depresivnog poremećaja. (Olfson i sar., 2017. Frewen i sar., 2013; Chojnowska i sar., 2021). Anksioznost i depresija negativno utiču na kvalitet života, dovode do pogoršanja opšteg zdravstvenog stanja, skraćuju životni vek, zbog čega predstavljaju i veliki teret na ekonomije širom sveta. Poremećaji se češće javljaju kod žena. Niži socioekonomski status i stresni životni događaji su faktori koji doprinose nastanku poremećaja. Anksiozni poremećaji se uobičajeno javljaju u trećoj i četvrtoj deceniji života. Depresivni poremećaji se mogu javiti u svim uzrastima, ali sa većom verovatnoćom u kasnijoj životnoj dobi (Snowdon, 2001).

Uzimajući u obzir dosadašnja raspoloživa saznanja i uz ozbiljnu selekciju ispitanika za uzorak kako bismo napravili što je moguće jasniju distinkciju između dve grupe poremećaja, detaljno smo pristupili testovnoj potvrdi kliničke dijagnoze i analizi sociodemografskih parametara našeg uzorka. Analizom smo utvrdili da su grupe zdravih, anksioznih i depresivnih bile usklađene po svim razmatranim sociodemografskim parametrima izuzev starosti. U ispitivanoj populaciji su prevladavale osobe ženskog pola. Prosečna starost depresivnih pacijenta je bila veća nego u grupi anksioznih i zdravih ispitanika. Depresija se uobičajeno češće javlja u starijoj populaciji, a naša studija sprovedena je u realnim kliničkim okolnostima, te je prioritet bio prikupiti relevantne podatke i uzorke za analizu, od pacijenata koji su se javljali na pregled zbog pomenutih tegoba. Među ispitivanim grupama nije bilo značajne razlike u obrazovanju, zaposlenju i bračnom statusu. Najveći procenat nezaposlenosti bio je u grupi depresivnih ali bez

statistički značajane razlike u odnosu na ostale dve ispitivane grupe. Osobe bez zaposlenja uobičajeno su i lošijeg materijalnog statusa što može biti dodatni faktor za nastanak psihičkih poremećaja. Materijalni status ovim istraživanjem nismo utvrđivali. Pozitivan psihijatrijski hereditet je prema anamnestičkim podacima dobijenim od naših ispitanika zabeležen kod 15,4% depresivnih pacijenta, dok među anksioznim pacijentima nije bilo bolesnih srodnika.

Raspoloživi epidemiološki podaci iz literature ukazuju da rođaci depresivnih pacijeneta češće boluju od depresije, zbog zajedničkih genetskih i sredinskih faktora koji doprinose nastanku poremećaja (Lamers i sar., 2016) i kod anksioznih poremećaja je zabeležena veća učestalost poremećaja među članovima porodice (Latas, 2022). Sistemske bolesti i oboljenja drugih organa izvan CNS-a posredstvom zajedničkih mehanizama ili dejstvom nusprodukata metabolizma na CNS učestvuju u nastanku depresije i anksioznosti. Često se kod obolelih od kardiovaskularnih, hroničnih pulmoloških, zapaljenskih i degenerativnih oboljenja dijagnostikuju komorbidno i pomenuti psihijatrijski poremećaji.

Naši ispitanici koji su pri prvom pregledu, dali podatak da boluju od nekog drugog somatskog oboljenja ili im je kliničkim pregledom postavljena sumnja na komorbidno oboljenje (autoimune i inflamatorne bolesti, dijabetes melitus, endokrinološka oboljenja, teška bubrežna oboljenja i epilepsiju) nisu bili uključeni u ispitivani uzorak. Kod jednog broja naših ispitanika su postojale određene bolesti i stanja (alergijski rinitis, povremene neuralgije, ovarijalne ciste, diskopatija). Pacijenti zbog pomenutih stanja nisu bili na farmakološkoj terapiji. Ove bolesti, prema našoj proceni, a na osnovu raspoloživog znanja, nisu mogle imati značajan uticaj na ispitivane parametre. Pomenute bolesti nisu bile definisane isključujućim kriterijumima.

Interes za pronalaženjem uzročno posledične povezanosti ishrane sa starenjem i razvojem bolesti sve više raste. U novije vreme se zbog promena životnih navika (sedentarnog načina života, prekomernog unosa nezdrave hrane i posledične gojaznosti), uz istovremeni porast prevalence anksioznosti i depresije, neadekvatan unos hranljivih materija i nedovoljno fizičke aktivnosti smatraju se važnim faktorima rizika za nastanak psihijatrijskih oboljenja.

Ishrana može dovesti do nastanka depresije ili anksioznosti direktnim dejstvom na neurotransmitterske sisteme. Aminokiseline su prekursori neurotransmitera. Triptofan i tirozin su prekursori serotoninina, dopamina i noradrenalina. Izvori ovih prekursora su

namirnice životinjskog porekla (mleko, sir, jaja, meso, riba) i biljke (pasulj, orasi i cele zitarice). Glutamat se dobija putem hrane, ali se i proizvodi u telu iz glukoze preko alfa-ketoglutarata u ciklusu trikarboksilne kiseline (German i sar., 2011.; Kaner i sar., 2015.; Hayward i sar., 2016; Sinclair i sar., 2016). Smanjen unos proteina izaziva deficite neurotransmitera i izmene kognicije (Sato i sar., 2020). Za očuvanje mentalnog zdravlja su značajne i polinezasićene masne kiseline kojih ima u orasima, sojinom i repinom ulju i morskim plodovima (Lim i sar., 2016). Promene u navikama vezanim za ishranu uz nedostatak fizičke aktivnosti mogu imati ulogu u nastanku, održavanju i lečenju poremećaja raspoloženja posredstvom i drugih indirektnih mehanizama (Hayward i sar., 2016). Dosadašnja ispitivanja uticaja fičke aktivnosti na mentalno zdravlje, pokazala su da redovna sportska aktivnost kod depresivnih dovodi do redukcije simptoma bolesti i uvećanja zapremine hipokampusa (Gorham i sar., 2019). Visok BMI (engl. body mass index) spada u riziko faktore za nastanak metaboličkih i sistemskih bolesti, zapaljenskih sindroma i brojnih drugih poremećaja u organizmu, a depresija se češće javlja zajedno sa metaboličkim bolestima. Stručna literatura ukazuje na povećan rizik od nastanka dijabetesa kod depresivnih, dok se sa druge strane i depresija može razviti kod obolelih od dijabetesa (Bouwman i sar., 2010). Povezanost leptina i depresivnog raspoloženja ogleda se izmenama nastalim na nivou hipokampusa i smanjenju bazalne sekrecije dopamina u strijatumu. Oboljenja digestivnog trakta su takođe u bliskoj vezi sa depresijom i anksioznim poremećajima. Brojne hronične crevne bolesti prati anksioznost, a neretko se simptomi anksioznosti ispoljavaju kroz poremećaj funkcije creva. Oko 50 % obolelih od sindroma iritabilnog creva ima simptome anksioznosti i depresije (Li i sar., 2018).

Analizom životnog stila i rizičnih faktora za nastanak bolesti uopšte i preventivnih mera koje su ispitanici sporvodili pokušali smo da sagledamo njihov mogući uticaj na razvoj bolesti, ali i uticaj na druge ispitivane parametre i potencijalne biomarkere.

Prilikom psihijatrijskog pregleda od ispitanika smo prikupili podatke o telesnoj težini i visini na osnovu čega smo izračunali BMI. Ispitanici su dali podatak i o vrsti fizičke aktivnosti i frekvenci vežbanja. Analizom dobijenih varijabli utvrdili smo da su ispitanici našeg uzorka upražnjavali umerenu fizičku aktivnost uobičajeno 2-3 puta sedmično, bez razlike među ispitivanim grupama. Najveći procenat ispitanika je imao uobičajene navike u ishrani vezano za vrstu hrane koju konzumira. Sa dva vegana i jednim vegetarijancem u ukupnom uzorku grupe su bile konzistentne po navikama u ishrani. Prosečna vrednost BMI

u svim ispitivanim grupama bez međusobne razlike je bila u referentnom opsegu normalne uhranjenosti. Nepostojanje razlike u pomenutim riziko-faktorima među obolelim od anksioznih i depresivnog poremećaja u poređenju sa zdravim kontrolama isključuje se uticaj ishrane, sedentarnog načina života i povišenih vrednosti BMI na nastanak i ispoljavanje bolesti.

Pušenje je još uvek široko rasprostranjeno na našem podneblju, te je relativno veliki broj ispitanika bio uživatelj duvanskog dima. Broj pušača je bio ravnomerno zastupljen među ispitivanim grupama.

Kako je ovo istraživanje rađeno u periodu pandemije COVID 19, a globalne preporuke vezane za prevenciju ove virusne infekcije odnosile su se između ostalog i na povećan unos vitaminske suplementacije, ispitanici našeg uzorka, kao i veliki procenat naše populacije uopšte, koristili su vitamine, prevashodno vitamin C i vitamin D. Podaci o dozi korišćenih vitamina nisu bili dostupni. Ne možemo isključiti i verovatnoću povremene upotrebe polivitaminskih suplemenata, ali prema anamnestičkim podacima u periodu od dve nedelje pre pregleda kod nas, druge vrste supstancije nije bilo. Oko trećine ispitanika iz grupa anksioznih i depresivnih pacijenata je koristilo vitamin C i vitamin D. U grupi zdravih njih 44% je uzimalo ove vitamine. Nije bilo statistički značajne razlike u upotrebi vitaminskih suplemenata među ispitivanim grupama. Uzorci krvi su vađeni našte, 12 h nakon poslednjeg obroka, te je obezbeđen odgovarajući vremenski razmak između uzimanja uzorka za analizu i suplemenatacije.

Pacijenti koji su zadovoljavali kriterijume uključenja u ovo istraživanje, a dijagnostikovani su pod dijagnozom depresije, nisu imali psihotičnih simptoma i prema MKB 10 kriterijumima bili su označeni su kao teška depresivna epizoda bez psihotičnih simptoma. Bekov upitnik za depresiju, koji su pacijenti popunjavali, poslužio je kako bi procena stručnog ispitivača bila upoređena sa samoprocenom pacijenta. Bekovim upitnikom, na osnovu samovrednovanja težine simptoma ocenom od 0-3 i sabiranjem dobijenih skorova, kvalifikovana je težina depresije. Srednje vrednosti ukupnog skora na Bekovoj skali depresivnosti pokazuju da je većina naših pacijenata u momentu ispitivanja imala umerenu depresivnu epizodu. Depresivni pacijenti koji su činili naš uzorak ispitanika nisu bili suicidalni i nisu imali indikacije za hitnim hospitalnim tretmanom što umanjuje i vrednost ocene pojedinih simptoma, a samim tim i ukupnog skora skale pa možemo reći da je Bekov upitnik je u skladu sa kliničkom dijagnozom. Upitnik samoprocene DASS 21 smo

prvenstveno davali za procenu simptoma anksioznosti i stresa, ali kako upitnik kvalifikuje i depresivnost, dobijene ocene depresivnosti na ovoj skali smo uporedili sa težinom kliničke slike dobijene Bekovom skalom. Težina depresije merena DASS - D upitnikom je bila u saglasnosti sa rezultatima Bekove skale. Srednje vrednosti na skali anksioznosti kod anksioznih pacijenata ukazuju na umerenu anksioznost. Zanimljivo je da je i kod pacijenata kojima je dijagnostikovana depresija, subjektivna ocena anksioznosti (procenjeno testovno) imala kvalitet umereno teške. Ovaj nalaz potvrđuje dosadašnja saznanja o viskoj stopi javljanja anksioznosti u sklopu depresije i preklapanju simotoma između ove dve kategorije poremećaja. Kategorisanjem težine poremećaja prema testovnom rang, pokazalo se da je najveći broj ispitanika prema oceni merne skale imao umerenu anksioznost, dok je po 8 ispitanika zadovoljavalo kriterijum blage i ekstremno teške anksioznosti. Subjektivni doživljaj kvaliteta anksioznosti je specifičan i vrlo često teško uporediv sa objektivnim spoljašnjim manifestacijama. U obe grupe pacijenata (anksiozni i depresivni) registruju se srednje vrednosti kvalifikovanih simptoma stresa na nivou blagog, što ukazuje na značaj stresa u nastanku ovih poremećaja. Kod zdravih dobrovoljaca ukupna srednja vrednost stresa je u nivou normalnog. Jedna trećina ispitanika u grupi zdravih ima blag stres, sto je u skladu sa globalnim životnim okolnostima koje karakterišu i vreme istraživanja.

Nesumnjiv je značaj stresa u nastanku psihičkih poremećaja. Ukoliko je stres, odnosno neko traumatsko iskusstvo u bliskoj uzročno posledičnoj vezi sa nastankom psihičkog poremećaja onda se taj nastali poremećaj dijagnostikuje kao reakcija na stres i poremećaj prilagođavanja. U svim drugim psihičkim poremećajima stres predstavlja pokretač daljeg mehanizma nastanka poremećaja.

Ovom analizom obuhvatili smo važne biomolekule koji se, na osnovu trenutno raspoloživih saznanja, mogu dovesti u vezu sa anksioznošću i depresijom. Svi ispitivani biomarkeri dobijeni su uzoraka periferne krvi.

Prema dosadašnjim saznanjima kod obolelih od mentalnih poremećaja, znatno češće se pronalazi metabolički sindrom koji podrazumeva poremećaj više funkcija organizma istovremeno, a manifestuje se gojaznošću, hipertenzijom, dislipidemijom i poremećajem regulacije nivoa šećera u krvi (Chae i sar., 2022; Guerrero-Romero i Rodriguez-Moran, 2006). Stres može predstavljati istovremeni okidač za nastanak metaboličkog sindroma, dijabetesa i psihičkih bolesti. Dijabetes i metabolički sindrom često prati depresija kao

komorbidno oboljenje. Grelin i leptin koji učestvuju u kontroli unosa hrane i gojaznosti sa jedne strane utiču i na promene raspoloženja. Hronični stres podiže nivo grelina aktivacijom simpatikusa, a grelin ima anksiolitički i antidepresivni efekat u stresnim okolnostima. Leptin učestvuje u neuroplastičnosti hipokampusa. (Lutter i Nestler, 2009). Ponovljeni stres povećava i lučenje kortikalnog holecistokinina (odgovornog za regulaciju apetita), dok antidepresivi deluju na njegovo smanjenje (Becker i sar., 2008). Peptid koji oslobađa gastrin takođe utiče na modulaciju raspoloženja preko efekta na hipokampus i amigdale. Neuropeptid galanin, čija je jedna od funkcija i regulacija ishrane, utiče i na modulaciju neurotransmisije (Kozlovsky i sar. , 2009), Neuropeptidi utiču i na regulaciju cirkardijalnog ritma, apetit i smanjenje anksioznosti (Wu i sar., 2011). Promene lipidnog statusa uz istovremeno povišene markere inflamacije, dosadašnja istraživanja beleže kod pacijenata koji imaju problem sa prepoznavanjem i ispoljavanjem emocija. Posebno se ističe značaj HDL frakcije u razvoju aleksitimije (de Berardis i sar., 2017). Kao zajednički marker upale kod depresije i kardiovaskularnih bolesti pored IL-6 izdvajaju se i trigliceridi (Khandaker i sar., 2020).

Zbog dokazane višestruke povezanosti dijabetesa sa poremećajima u vezi sa emocijama i zbog potencijalne veze dijabetesa i metaboličkog sindroma sa nivoom magnezijuma u organizmu, pacijente kod kojih je dijagnostikovao dijabetes ili je postavljena sumnja na oboljenje nismo uključivali u istraživanje. Standardnim laboratorijskim analizama koje su rađene pri prvom pregledu a u sklopu redovne dijagnostike našim pacijentima određivan je nivo glukoze i lipidni status (holesterol, HDL-holesterol, LDL- holesterol i trigliceridi). Vrednosti glikemije u sve tri grupe ispitivanog uzorka su imale vrednosti u granici referentnih. Holesterol je bio povišen u grupi depresivnih pacijenata, bez razlike u drugim lipidnim parametrima. Sve vrednosti ispitivanih markera lipidnog statusa bile su u referentnom opsegu. Uz prethodno opisane karakteristike uzorka koje su uključivale procenu vrednosti glukoze i BMI možemo zaključiti da našem uzorku nije bilo ispitanika sa metaboličkim sindromom što je značajno za analizu drugih ispitivanih parametara.

Jedan od osnovnih ciljeva našeg istraživanja je bio da se ispita povezanost medijatora zapaljenja IL-6 i TNF α , sa anksioznim i depresivnim poremećajima. U grupi depresivnih se beleže srednje vrednosti IL-6 od 1,49 pg/mL dok je TNF α sa vrednošću od 1,47 pg/mL, neznatno povišen u grupi anksioznih. Vrednosti proinflamatornih citokina dobijene analizom uzoraka periferne krvi za najveći broj njih su bile ispod apsolutnog nultog

standarda. Nije bilo razlike među ispitivanim proinflamatornim citokinima u grupama obolelih od anksioznih i depresivnog poremećaja u odnosu na zdrave volontere.

Na osnovu dosašnjih istraživanja kod pacijenata sa depresijom je za 50% veća verovatnoća da budu povišeni zapljenski markeri u odnosu na zdrave kontrole (Osimo i sar., 2019). Kroz jedan broj istraživanja potvrđena je povezanost povišenih interleukina i oboljevanja od depresije (Zhang i sar., 2018; Dowlati i sar., 2010). Nasuprot nalazima pozitivne korelacije zapaljenskih markera kod poremećaja raspoloženja, postoje i istraživanja u kojima nije nađena povezanost, što ukazuje da medijatori zapaljenja nisu pouzdani dijagnostički markeri i zapljenski mehanizam nije jedini sigurni mehanizam nastanka depresije i anksioznosti (Haapakoski i sar., 2015). Inflamatorni biomarkeri mogu biti promenljivi u odnosu na posebne navike u ishrani, pušenje ili ekstremne vrednosti BMI (Jones i sar., 2020). U studiji koja se bavila istraživanjem povezanosti inflamacije i mediteranske ishrane, utvrđeno je da zdrave navike u ishrani mogu doprineti smanjenju parametara inflamacije uz prevenciju i poboljšanje simptoma drugih bolesti (Bonaccio i sar., 2017).

Istraživanja u vezi značaja inflamacije u razvoju bolesti, inicijalno su se bazirala na proučavanje kardiovaskularnih oboljenja, dejabetesa, sistemskih i reumatskih bolesti. Kako promene raspoloženja i anksioznost prate većinu sistemskih inflamatornih bolesti i bolnih sindroma, pokrenuta su istraživanja ispitivanja povezanosti zapaljenja sa psihijatrijskim oboljenjima (Nicholson i sar., 2006). Od početka istraživanja inflamacije kao uzročnika nastanka psihičkih poremećaja postoje oprečna stanovišta. Sa jedne strane istraživanja ukazuju na imunosupresiju praćenu sniženjem odbrambenih snaga (Schleifer i sar., 1984; Irwin i Gillin, 1987), dok sa druge strane noviji nalazi govore o pojačanoj aktivnosti imunog sistema u brojnim psihijatrijskim oboljenjima, od shizofrenije, preko neurotskih poremećaja, do poremećaja ličnosti (Nobis i sar., 2020; Osimo i sar., 2018; Najjar i sar., 2013). Koji je to stepen upale i koliko dugo ona treba da traje da bi izazvala psihičke izmene do danas nije poznato. Nalazi koji idu u prilog inflamatornoj etiologiji depresije navode da su depresija i inflamacija dvostruko povezane, sa jedne strane inflamacija se smatra etiološkim faktorom depresije, dok sa druge strane depresija podstiče inflamaciju (Beurel i sar., 2020; Raison i Miller, 2011). Tačan mehanizam kojim upala utiče na depresiju još uvek nije precizno određen (Roohi i sar., 2021). Upala koja se sreće u depresiji može biti uzrok depresije ali može biti i uzrokovana depresijom, odnosno faktorima kao što su poremećaji ishrane (malnutricija ili gojaznost), nedostatak fizičke aktivnosti i poremećaj

elektrolitnog i mineralanog statusa (Berk i sar., 2013). Sa druge strane jedan broj istraživača navodi da depresija nije inflamotorni poremećaj sam po sebi, pa se pokazatelji inflamacije ne nalaze kod svih depresivnih pacijenata. Upala se češće javlja kod depresivnih pacijenata koji su gojazni, imaju neka druga sistemska oboljenja i kod kojih u kliničkoj slici depresije imaju simptome poremećaja voljno-nagonskih dinamizama. Povišeni upalni markeri kod depresivnih pacijenata su lošiji prognostički znak u smislu težine kliničke slike, slabijeg odgovora na terapiju i povećane verovatnoće smrtnog ishoda (Gilman i sar., 2017). Pacijenti koji pokazuju slabiji odgovor na SSRI antidepressive imaju veći stepen upale (Miller i sar., 2017; Suneson i sar., 2021).

Pretpostavljeni mehanizam po kome od stresa, posredstvom upale dolazi do razvoja psihičkih bolesti ogleda se u sledećem; stres dovodi do aktivacije simpatičkog nervnog sistema i posledičnog oslobađanja kateholamina, pod čijem uticajem stimulirana koštana srž oslobađa veću količinu monocita u cirkulaciju. Oslobođeni monociti proizvode citokine (Wang i sar., 2011; Miler i Raison, 2016). Oslobođeni proinflamatorni citokini dovode do promena na nivou neurotransmitera. Promene serotoninske transmisije ogledaju se u izmenama ponovnog preuzimanja serotonina i aktivacije indolamin 2,3-dehidrogenaze koja dalje razlaže triptofan u kinurenin i posledično dovodi do iscrpljivanja serotonina. Put kinurenina remeti između ostalog i glutamatergičku transmisiju i smanjuje BDNF (Myint, 2012). Efekat citokina na dopamin rezultuje emotivnim izmenama u smislu izostanka osećaja zadovoljstva i povećanja anksioznosti (Jones i sar., 2020; Lucido i sar., 2021). Zapaljenje posredstvom aktivacije HPA i uticajem na neurotransmitere odgovorne za anksioznost, prvenstveno glutamat i GABA-u, dovodi do nastanka anksioznosti. Sistemska upala, posredstvom inflamatornih ćelija sa periferije, može aktivirati mikrogliju ili dovesti do direktnog oštećenja moždanog parenhima. S obzirom da mikroglija ima odbrambenu ulogu u mozgu, to nakon povrede određenog regiona dolazi do nagle proliferacije mikroglijalnih ćelija. Mikroglijalne ćelije eksprimuju TLR4, što imlikuje uplane procese (Yang i sar., 2020). Aktivacijom mikroglijalne ćelije luče IL-1 β , TNF i IL-6, azot oksid i ROS. Lučenje proteaza čija je uloga borba sa patogenom dovodi istovremeno do oštećenja sopstvenih molekula, zbog njihove neselektivnosti. Astrociti su najbrojnije ćelije gliste u CNS-u. oni imaju višestruke funkcije, počev od neurotransmisije i kontrole sinapsi, do regulacije krvno moždane barijere (Andersen i sar. 2021). Mikroglija posredstvom IL-1 α i TNF reguliše funkciju astrocita (Naumovs i sar. 2022). Nelečeni pacijenti koji pate od depresije imaju povišene vredosti IL- β u likvoru, ali se ne zna

pouzđano da li je povećanje ovog parametra posledica depresije ili stresnih okolnosti. Studije na životinjama su pokazale da se koncentracije IL-1 β povećavaju ukoliko su životinje izložene akutnom stresu (Nguyen i sar., 1998). Kod obolelih od depresije nađene su promene u području hipokampusa i prefrontalnog korteksa, koje su posledica kompromitovane neurogeneze i neuroplastičnosti uslovljene zapaljenjem (Cao i sar., 2021; Wang i sar., 2019).

Kako IL-6 predstavlja ključnu kariku u podsticanju i regulaciji akutne faze inflamatornog odgovora (reguliše dalju produkciju TNF α i IL 1- β), a indukuje i sintezu proteina u jetri uključenih u akutnu fazu inflamacije (Richard and Galudie, 1995), ispitivali smo uticaj koncentracije CRP - a (najšire korišćenog i najdostupnijeg pokazatelja zapaljenja u perifernoj krvi). CRP je proizvod nespecifičnog imunskog odgovora, učestvuje kao proinflamatorni medijator (Pepys i Hirschfield, 2003). Njegove vrednosti se povećavaju u akutnoj fazi bilo kog zapaljenja ali za razliku od sedimentacije i viskoziteta plazme, precizniji je pokazatelj infekcije. Na njega ne utiče ishrana, i fizička aktivnost, i ne pokazuje dnevne oscilacije pa je pogodan za merenje u bilo koje doba dana. Vezuje se za ostatake fosfoholina, modifikovane lipoproteine plazme, defekte na ćelijskim membranama, fosofilipide i apoptoične ćelije. Na osnovu meta analize koju su sproveli Osimo i saradnici veće koncentracije CRP-a zajedno sa većim koncentracijama drugih zapaljenskih markera su registrovane kod depresivnih pacijenata u poređenju sa zdravim kontrolama (Osimo i sar., 2019) CRP i intreleukini beleže značajno više vrednosti kod obolelih od anksioznih poremećaja (Vogelzangs i sar., 2013; Goldsmith, 2016). Kao i za druge pokazatelje zapaljenja nije uvek potvrđena povezanost CRP-a sa ispoljavanjem i ishodom oporavka od depresije (Gialluisi i sar., 2020).

Ovim našim ispitivanjem nije nađena značajna razlika u vrednostima proteina akutne faze između grupa dijagnostikovanih poremećaja u odnosu na zdrave kontrole. U celokupnom uzorku vrednosti CRP-a bile su ispod granice koja ukazuje na akutno zapaljenje.

Na tragu dosadašnjih nalaza, koji ukazuju na značaj određivanja zapaljenskih markera periferne krvi dobijenih analizom broja krvnih ćelija, upoređivali smo vrednosti leukocitarnih, trombocitnih i eritrocitnih parametara kod obolelih od anksioznosti i depresije u odnosu na zdrave kontrole. Uglavnom su se svi dosadašnji nalazi bazirali na poređenju vrednosti ovih parametara između grupa bolesnih i zdravih dobrovoljaca. Mali broj istraživanja se bavio poređenjem ovih parametara između različitih psihijatrijskih

enetiteta. Određivanje ovih markera iz krvi je jednostavan brz, neinvazivan, jeftin metod koji može biti dobar pokazatelj predviđanja rizika od razvoja sistemskih i psihičkih bolesti. Naši nalazi su, kao i prethodne analize medijatora zapaljenja, potvrdili da kod ispitivanih poremećaja nije bilo inflamacije. Srednje vrednosti markera zapaljenja, za koje je definisan referentni opseg ili određena gornja granica, nisu bile povišene.

Prethodne studije pokazale su veće vrednosti neutrofila kod maničnih pacijenata u odnosu na depresivne, bez razlike u broju limfocita (Fusar-poli i sar. 2021). Neutrofili su prva linija ćelijske odbrane i ključne ćelije u urođenom imunološkom sistemu. Oni imaju fagocitnu i apopotoičku funkciju (Mazza i sar., 2019). Proinflamatorni citokini povećavaju apsolutni broj neutrofila i smanjuju apsolutni broj limfocita (Đorđević i sar., 2018). Mazza i saradnici su poredili vrednosti NRL faktora kod obolelih od BAP i depresije i utvrdili da između depresivne faze BAP i depresije nema značajne razlike (Gialluisi i sar., 2022). NLR je neinvazivan i dosta pogodan marker koji se koristi u proceni sistemske upale u kliničkom radu, a pokazuje oscilacije u vezi sa psihičkim poremećajima. Povišene vrednosti NLR su zabeležene kod depresivnih pacijenata (Demircan i sar., 2016). GLR (Granulocitno limfocitni količnik) je prema nalazima dosadašnjih istraživanja, pokazao bolju prediktivnu specifičnost u odnosu na NLR (Gialluisi i sar., 2020b) Grupa italijanskih istraživača je na osnovu takozvanog INFLA skora, koji koristi lako dostupne i merljive zapaljesne parametre krvi (PLT, WBC, GLR, i CRP) utvrdila, da je zapaljenje u vezi i sa brojem rehospitalizacija psihijatrijskih pacijenata i sa mortalitetom usled komplikacija (Gialluisi i sar., 2022). Kako dostupnost neurotransmitera u sinaptičkoj pukotini između ostalog zavisi i od funkcije transportera, a transportni sistem 5-HT imamo i u trombocitima, to ne čudi značaj utvrđivanja broja trombocita u poremećajima zavisnim od funkcije serotonina (Owens i Nemeroff, 1994., Malison i sar., 1998). Neurotrofni faktor mozga koji je uključen i u etiopatogenezu depresije akumulira se u trombocitima (Canobbio, 2019). Mali broj analiza je svojim rezultatima ukazao na sličnost u koncentracijama među različitim dijagnostičkim grupama što ide u prilog postojanju zajedničkog etiopatogenetskog mehanizma za većinu psihičkih poremećaja (Brinn i Stone, 2020). Trombociti se smatraju sponom između inflamatornog odgovora organizma i psihičkih bolesti (Izzi i sar., 2020). Stres kao uobičajeni pokretač brojnih sistemskih odgovora utiče i na aktivaciju imunomodulatornog kapaciteta trombocita (Koudouovoh-Tripp, 2012). Zapaljenski markeri iz periferne krvi povezani sa trombocitima uključuju: MPV, PDW, PCT, SII, PLR, PAR, RPR, i RDW. Neki od ovih parametara pokazuju specifičnost za pol i godine starosti.

Odnos trombocita i albumina je prvobitno proučavan kod karcinoma i smatra se značajnim inflamatornim markerom (Guo i sar., 2021). Albumin je neenzimski antioksidant. Njegove vrednosti u akutnoj inflamaciji su niže od uobičajenih, pa je njegovo smanjenje indikator infekcije (Balcioğlu i Kirlioglu, 2020). Nivo albumina je niži kod depresivnih pacijenata i pokazuje povećanje nakon lečenja antidepresivima (Liu i sar. 2015). Visok MPV i niski albumin i PDW su su zabeleženi kod depresivnih pacijenata (Wei i sar., 2022). MPV je povezan sa reaktivnošću trombocita. Pokazalo se da je kod depresije vrednost MPV bila dosta povišena pre terapije. Nakon povlačenja simptoma depresije i MPV se vratio na referentnu vrednost (Ataoglu i Canan, 2009). MDW i PCT ukazuju na aktivaciju trombocita i uglavnom su prema podacima iz literature niži kod depresivnih pacijenata. PLR i RPR su povišeni kod depresivnih pacijenata u odnosu na zdrave kontrole, a vrednosti SII niže su nego kod zdravih (Zhang i sar., 2021; Chen i sar., 2018). Nedavno je PLR predložen i kao marker suicida (Aguglia i sar., 2021). NLR i PLR su bili povećani i ukazivali su na lošiju prognozu kod moždanih udara sa afektivnim izmenama (Chen i sar., 2018; Li i sar., 2021). Marker trombocita (MPV i PLT) i RBC su manje proučavani kod anksioznih poremećaja, ali se zbog značaja u serotonergičkoj transmisiji smatraju korisnim pokazateljima anksioznosti. Istraživanje Ransinga i saradnika pokazuje vezu ovih parametara sa paničnim poremećajem (Ransing i sar., 2017). Visok indeks inflamacije SII je pronađen kod osoba obolelih od generalizovanog anksioznog poremećaja (Wang i sar., 2022). Jedan broj studija navodi da nema razlike u broju trombocita i faktora povezanih sa trombocitima kod pacijenata sa simptomima depresije (Inanli i sar. 2019; Mazza i sar. 2019; Aleksovski i sar., 2018.; Cai i sar. 2017; Yu i sar. 2020).

U skladu sa ciljevima ovog istraživanja analizirali smo sve raspoložive pokazatelje zapaljenja i utvrdili da zapaljenski mehanizam nije imao značajnu ulogu u nastanku i ispoljavanju ispitivanih poremećaja, depresije i anksioznosti u ispitivanom uzorku. Svi izmereni i analizirani merkeri inflamacije nisu pokazali razlike kod bolesnih u odnosu na zdrave. Moguće da je odsustvo zapaljenja bilo u vezi sa preventivnim merama (dezinfekcija, vitaminska suplementacija) i specifičnim načinom života (izolacija uz redukciju socijalnih kontakata), koji je karakterisao pandemiju COVID 19 i vreme u kom je rađeno naše istraživanje. Znamo da su svi ispitanici kao i veći deo populacije naše zemlje uzimali suplemente vitamina. Za vitamin C je iz dosadašnjih istraživanja poznato da je zbog svoje antioksidativne funkcije značajan u prevenciji bolesti uopšte, ali se eksperimentalno pokazao i faktor koji doprinosi redukciji anksioznosti (de Oliveira i sar., 2015, Moritz i

sar., 2020). Vitamin D učestvuje između ostalog u imunitetu i održavanju psihičke ravnoteže (Escobedo-Monge i sar., 2022).

Dejstvo stresa na organizam odražava se između ostalog i na funkcionisanje endokrinih žlezda. Promene koje nastaju u funkciji osovine hipotalamus - hipofiza - žlezde, pokazuju se kroz promene nivoa hormona u krvi. Promene hormonske ravnoteže odražavaju se na brojne organske funkcije i posreduju u nastanku psihijatrijskih oboljenja. Poremećaj funkcije HPA osovine jedan je od etiopatogenetskih mehanizama nastanka anksioznosti i depresije. Povišene vrednosti kortizola u mozgu dovode do strukturnih i funkcionalnih oštećenja na nivou hipokampusa i amigdale struktura koje učestvuju u emocijama (Feder i sar., 2009). Porast kortizola posredovan je složenim mehanizmom koji je u sadejstvu sa psihološkim faktorima. Nalazi u literaturi pokazuju nedosledne rezultate kada je reč o izmerenim vrednostima kortizola kod određenih anksioznih poremećaja i depresije. Cosci i Mansueto su zabeležili povišene vrednosti kortizola kod pacijenata sa paničnim napadima (Cosci et Mansueto, 2019). Sa druge strane u nekim studijama, pokazano je da se nivoi kortizola nisu razlikovali kod anksioznih pacijenata u odnosu na zdrave kontrole (Ising i sar., 2012; Faraveli i sar., 2012). Na osnovu podataka iz literature komorbiditet oboljenja štitne žlezde sa depresijom i anksioznošću se relativno često sreće u kliničkom radu. Svaki deseti depresivni pacijent ima poremećaj funkcije štitne žlezde (Brigitta, 2002). Grupa istraživača iz Kine je ukazala da se depresivni simptomi mogu povezati sa nižim vrednostima sva tri hormona štitne žlezde, ali nisu utvrdili vezu između kliničkih pokazatelja disfunkcije štitne žlezde sa velikim depresivnim poremećajem (Zhou i sar., 2021). Upotreba tireoidnih hormona uz antidepresive se koristi za lečenje depresije (Bode i sar., 2022).

U našoj studiji potvrđeno oboljenje štitne žlezde bilo je definisano kao kriterijum isključenja. Proverom laboratorijskih vrednosti hormona, koji ukazuju na ispravnost funkcionisanja štitne žlezde, kod naših ispitanika nije bilo razlike u vrednostima FT3, T4 i TSH među ispitivanim grupama. Srednje vrednosti hormona u sve tri ispitivane grupe su bile u referentnom opsegu normalnih vrednosti. Nivo antitela na štitnu žlezdu je kod jednog broja ispitanika imao vrednosti iznad gornje granice, ali bez promene u nivou hormona. Nivo kortizola kod pacijenata uključenih u ovo istraživanje nije pokazao značajne razlike među ispitivanim grupama. Vrednosti prolaktina u gupi depresivnih je pokazao značajno veće vrednosti u odnosu na zdrave kontrole, ali se nije značajno razlikovao među anksioznim i depresivnim pacijentima.

Značaj prolaktina u psihičkom zdravlju ogleda se u modulaciji odgovara na stres, razvoju i kontroli anksioznosti i nastanku ponašanja sličnog depresiji (Torner, 2016). Prema nalazima dosadašnjih istraživanja zabeležene su više vrednosti prolaktina u plazmi kod depresivnih u odnosu na zdrave kontrole. Njegove povišene vrednosti koreliraju sa anksioznošću, hostilnošću i somatizacijama (Elgellaie i sar., 2021).

Nedostatak paratireoidnog hormona se dovodi u vezu sa oboljenjima prevashodno koštano zglobnog sistema, ali određeni broj radova ukazuje na ulogu parathormona u nastanku psihičkih izmena. Paratireoidni hormon između ostalog reguliše nivo kalcijuma i fosfora. Fosfor je nophodan za strukturu kostiju i zuba (Taylor, 2021). Učestvuje u sintezi ATP-a, odgovoran je za fosforilaciju proteina i stabilnost ćelijske membrane. Prema podacima dosadašnjih istraživanja nivo fosfora je u vezi sa simptomima depresije (Jamilijan, 2020). Zbog potencijalnog uticaja paratireoidnog hormona i nivoa fosfora na nastanak i ispoljavanje simptoma ispitivanih poremećaja i mogućeg uticaja na nivo jonizovanog magnezijuma, merili smo i analizirali njihove koncentracije u prifernoj krvi kod ispitanika uključenih u istraživanje.

Vrednosti fosfora kod ispitanika našeg uzorka su nisu pokazale razlike između grupa bolesnih u odnosu na grupu zdravih. Koncentracija fosfora nije uticala na nastanak anksioznosti i depresije. Kod određenog broja ispitanika našli smo vrednosti parathormona iznad gornje granice određene za referentni nivo, ali nije bilo razlike među ispitivanim grupama. Nivo vitamina D međutim pokazao je nespecifične rezultate. Depresivni pacijenti su imali značajno više vrednosti vitamin D u odnosu na druge dve grupe. Suplementacija vitaminom D je anamnestički potvrđena i bila je u skladu sa preporukama za lečenje Covid infekcije. Verovatno da su u ispitanici sa simptomima depresije, zbog osećaja slabosti, opšte iscrpljenosti i pojačane brige za zdravlje, koja je karakteristična za depresiju, bili revnosniji u uzimanju i većih doza ovog vitamina.

Vitamin B12 je neophodan u procesu razgradnje homocisteina i metionina izgradnji proteina, fosfolipida, neurotransmitera i DNK. Pokazano je da kod depresivnih pacijenata postoji nedostatak folne kiseline (Reynolds, 2002; Mischoulon i Raab, 2007). Vitamini B12, B6 kao enzimski kofaktori posreduju u raspoloženju (Mischoulon i Raab, 2007; Almeida i sar., 2010). U našem uzorku nisu zabeleženi nedostaci folne kiseline i nivoa B12 i nije bilo razlike u ovim parametrima među ispitivanim grupama.

Homocistein je aminokiselina nastala metabolizmom aminokiseline metionina, koji posreduje u energetsom metabolizmu i sintezi neuritransmitera. Stoga se i homocistein dovodi u vezu sa poremećajima koji nastaju usled poremećene neurotransmitterske funkcije. Viši nivoi homocisteina se često nalaze kod obolelih od depresije, naročito među starijom populacijom i pretstavljaju faktor rizika za oštećenje kognitivnih funkcija (Ford i sar., 2013; De Berardis i sar., 2020). Povišen homocistein može biti posledica nedostatka pomenutih vitamina, starenjena, bolesti bubrega, ili genskih mutacija. Povećan homocistein može dovesti do upale, oksidativnog stresa i dodatnih oštećenja DNK. Povećan homocistein se detektuje kod ljudi sa poremećajem sna. Nekoliko studija je pronašlo vezu između povišenog homocisteina, nedostatka folata, vitamina B12 i depresije (Bremner i sar., 2021). Naše istraživanje je pokazalo da su vrednosti homocisteina bile značajno više kod anksioznih i depresivnih u odnosu na zdrave kontrole. Srednje vrednosti homocisteina nisu se razlikovale među anksioznim i depresivnim ispitanicima.

Jedan od ključnih ciljeva našeg istraživanja bazirao se na analizi pokazatelja oksidativnog stresa i njegove povezanosti sa ispoljavanjem anksioznih i depresivnih tegoba.

Reaktivne vrste ROS su produkti fizioloških procesa u organizmu. Tek kada se njihova koncentracija, iz razloga povećane proizvodnje ili smanjenog antioksidativnog kapaciteta, uveća nastaju štetni efekti po organizam. Štetne efekte pokušavaju da poprave reparatorni mehanizmi. Kada efekat reparatornih mehanizama izostane dolazi do razvoja bolesti. Uloga oksidativnog stresa u poremećaju funkcionisanja CNS-a i posledičnom razvoju psihijatrijskih oboljenja, potvrđena je brojnim istraživanjima. Oksidativni stres zajedno sa inflamacijom sa kojom je u bliskoj kauzalnoj povezanosti se smatra jednim od najznačajnijih etioloških faktora nastanka poremećaja raspoloženja (van Horssen i sar., 2019). Kako je distinkcija nekih anksioznih poremećaja u odnosu na poremećaje raspoloženja nekada značajno otežana, što zbog sličnih ili istih simptoma ispoljavanja, što zbog zajedničkih patogenetskih mehanizama, to se i biomerkeri ovih stanja u mnogome poklapaju. Biomarkeri oksidativnog stresa u perifernoj cirkulaciji pokazuju izmene i kod depresivnih i kod anksioznih poremećaja. Smanjenje antioksidativnih vitamina A, C i E uz povećanje parametara oksidativnog stresa i inflamacije nađeno je kod poremećaja generalizovane anksioznosti (Islam i sar., 2014; Michopoulos i sar., 2017). Suplementacija vitaminom C kod miševa smanjuje anksioznost (Koizumi i sar. 2016). Povećani nivoi antioksidativnih enzima i MDA nađeni su kod obolelih od opsesivno kompulzivnog

poremećaja i paničnog poremećaja (Kuloglu i sar., 2002). Omega tri masne kiseline smanjuju efekte oksidativnog stresa i utiču na prevenciju bolesti (Martins i sar., 2012).

Naši rezultati pokazatelja oksidativnog stresa nisu u skladu sa očekivanjima koja proizilaze iz dosadašnjih nalaza iz literature. Analizom antioksidativnih enzima SOD1, GPX i pokazatelja lipidne peroksidacije MDA, u našem uroku, utvrdili smo da se vrednosti SOD1 i MDA nisu statistički značajno razlikovale među ispitivanim grupama. U obe grupe ispitanika (anksiozni i depresivni) vrednosti GPX1 su bile statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu. Vrednosti ovog antioksidativnog enzima se nisu razlikovale između anksioznih i depresivnih pacijenata što ukazuje da je u patogenetski mehanizam, nastanka oba ispitivana poremećaja, bio isti. Povećanje koncentracije antioksidativnog enzima, uprkos uobičajenim nalazima njegove snižene aktivnosti kod poremećaja raspoloženja, možemo da objasnimo kao moguće reaktivno inicijalno povećanje na hiperprodukciju slobodnih radikala u početnoj fazi nastanka oboljenja. Svi naši ispitanici su prvi put bili na pregledu zbog pomenutih tegoba.

Većina obolelih od mentalnih poremećaja širom sveta još uvek nema pristup efikasnoj nezi. Anksioznost i depresija su najbrojniji psihijatrijski poremećaji pa je i ekonomski teret bolesti veliki. Depresija je jedan od vodećih uzroka invaliditeta širom sveta. Ekonomski teret koji bolest nosi je izuzetno veliki. Dijagnostikovanje poremećaja je značajno prolongirano kako zbog stigme koju psihijatrijske bolesti sobom nose, tako i zbog nedostatka preciznih dijagnostičkih biomarkera. Dijagnostički kriterijumi se uglavnom zasnivaju na kliničkom pregledu i anamnestičkim podacima o simptomima. Lečenje psihijatrijskih poremećaja se uglavnom zasniva, kada je reč o biološkoj terapiji, na regulaciji poremećaja neurotransmitera. Gotovo svi dostupni antidepresivi na tržištu se baziraju na monoaminskoj hipotezi depresije, izuzev ketamina. Farmakoterapijski anksiolitički efekat uglavnom se ostvaruje posredstvom GABA receptora. Sva raspoloživa farmakoterapijska sredstva imaju i dosta pratećih neželjenih efekata zbog čega se dodatno pojačava stigma i otežava proces blagovremene dijagnostike i lečenja (Evans-Lacko i sar., 2018). Prema podacima jednog istraživanja iz 2006. godine čak 50% obolelih od anksioznih poremećaja ostaje neprepoznato (Eack et al, 2006). Veliki procenat pacijenata uprkos terapiji ne postigne zadovoljavajuću remisiju. Na osnovu epidemioloških podataka manje od četvrtine depresivnih dobije adekvatnu terapiju, a čak 40% njih ne pokaže zadovoljavajući odgovor na primenjenu terapiju (Lang i Borgwardt, 2013).

Zbog svega navedenog pokrenuta su brojna istraživanja za potencijalno novim uzrocima nastanka poremećaja, što otvara i mogućnosti za nove pristupe lečenju. Neuronutricija zauzima sve značajnije mesto u proceni rizika od razvoja određenih psihičkih poremećaja. Najznačajniji nutrijenti koji se dovode u vezu sa psihičkim poremećajima su vitamini, antioksidativne supstance i mikroelementi, među kojima se izdvajaju selen, cink, magnezijum (Vidović i sar., 2013). Sve više pažnje istraživača privlači ispitivanje uloge nedostatka magnezijuma na razvoj bolesti uopšte. Tokom 2018. godine objavljeno je istraživanje koje navodi da subklinički nedostatak magnezijuma povećava rizik od kardiovaskularnih oboljenja, čime značajno ekonomski opterećuje zdravstvene sisteme širom planete i vodi u krizu javnog zdravlja (DiNicolantonio i sar., 2018).

Podaci dosadašnjih studija o uticaju magnezijuma na ispoljavanje psihičkih bolesti ukazuju na njegov značaj u održavanju ispravnog funkcionisanja centralnog nervnog sistema. Precizna uloga magnezijuma u prevenciji i lečenju psihičkih poremećaja još uvek nije utvrđena.

Naše telo magnezijum dobija iz hrane kao što su cela zrna žitarica, orasi, zeleno povrće, i u minimalnim količinama iz mlečnih proizvoda. Nedostatak magnezijuma može nastati usled smanjenog unosa, poremećaja resorpcije usled bolesti bubrega ili crevnih oboljenja, ili usled upotrebe nekih lekova i supstanci koji ometaju metabolizam magnezijuma. Najveći procenat magnezijuma se nalazi intracelularno u kostima i mišićima. Svega 1-3% magnezijuma je u plazmi. Plazmatski magnezijum je najvećim procentom jonizovan, oko trećina je vezana za albumin (Fawcett i sar. 1999). Kofaktor je u brojnim enzimskim reakcijama. Posredstvom uticaja na ATP i molekule koji su zavisni od ATP-a (glukoza, masti, proteini, nukleinske kiseline i koenzimi) magnezijum utiče i na procese koji su odgovorni za sintezu i metabolizam ovih molekula. Vaskularni tonus, kontrakcije i opuštanja mišića, neurološke funkcije i neurotransmisija su posredovani jonima magnezijuma (Vink i Nechifor, 2011). Nizak nivo magnezijuma je u vezi sa inflamacijom (Long i Romani, 2014). Magnezijum aktivira HPA osu i dovodi do promena metabolizma. U CNS-u menja propustljivost membrane, izaziva upalu, posreduje u antioksidativnoj zaštiti i menja funkcije neurotransmitera, prvenstveno učestvujući u glutamatergičkoj transmisiji. Magnezijum kao prirodni antagonist kalcijuma prevenira ćelijsku smrt (Orrenius i sar. 2003; Reynolds i sar. 2004). Glutamat reguliše sinaptički prenos i neuronsku plastičnost

preko AMPA i NMDA jonotropnih i metabotropnih glutamatnih receptora. Iz sinaptičke pukotine biva uklonjen pomoću transportera. U ćelijama glije biva konvertovan u glutamin posredstvom glutamin sintetaze, a u neuronima se hidrolizuje posredstvom glutaminaze (Erecinska i Silver, 1990). Defekt sinteze, razlaganja, transporta ili bilo koje druge tačke glutamatnog puta rezultuje povećanjem koncentracije ovog transmitera što se klinički može manifestovati kroz povećanje anksioznosti i/ili padom raspoloženja. Kao posledica niskog magnezijuma dolazi do disregulacije funkcija glutamata i porasta anksioznosti (Derom i sar., 2012). Pri normalnom membranskom potencijalu magnezijum blokira NMDA receptore, dozvoljavajući glutamatu da se veže samo za AMP receptore. U nedostatku magnezijuma manje je zasićenje NMDA receptora, što povećava ekcitabilnost neurona (Barragán-Rodríguez i sar., 2008). Uz istovremeno narušenu regulaciju inhibitornih GABA receptora, pojačava se oksidativni stres i dolazi do smrti ćelija (De Baij i sar., 2015) Direktnim dejstvom na inhibiciju N-metil-D-aspartatnih receptora (NMDA) i aktivacijom γ -aminobuterne kiselne receptora A ($GABA_A$) magnezijum ostvaruje anksiolitički efekat (Poleszak et al., 2008, Zhu et al, 2001; Schwartz et al., 1994). Nedostatak magnezijuma, po podacima iz eksperimentalnih studija na životinjama, doveo je do problema sa sećanjem, straha, prostornog i društvenog prepoznavanja. Za ove funkcije odgovoran je hipokampus. Nedostatak magnezijuma nije izazvao morfološke promene hipokampusa već samo funkcionalne izmene. Pamćenje neprijatnosti ukusa i emocionalno ponašanje koje je u vezi sa amigadaloidnim jezgrom i korteksom je bilo oćivano uprkos hipomagnezijemiji. Na životinjskim modelima naćen je i negativan uticaj hipomagnezijemije na limbićke moćdane strukture koje su direktno odgovorne za raspoloženje. (Serita i sar., 2019; Slutski i sar., 2004).

Nedoslednost u metodoloćkim pristupima odrećivanju koncentracije magnezijuma, nemogućnost preciznog odrećivanja njegove bioraspoloćive forme, uz brojna druga ogranićenja dovode do oprećnih nalaza i umanjuju verodostojnost dobijenih zakljućaka o znaćaju magnezijuma u prevenciji, ispoljavanju i lećenju psihićkih poremećaja.

Do skoro je najćešće korišćeni i najlakše primenljiv metod merenja magnezijuma bio metod odrećivanja koncentracije serumskog magnezijuma. Rezultati istraćivanja su pokazali da serumski magnezijum moće imati vrednosti u normalnom-referentnom opsegu, a da ispitanici manifestuju simptome koji ukazuju na njegov nedostatak (Elin, 2010). Biloćki

aktivna forma magnezijuma je najteže merljiva i pod kontrolom je brojnih faktora organizma i produkata metabolizma.

S obzirom da je mali broj raspoloživih radova o uticaju koncentracije jonizovanog magnezijuma, merenog direktno iz pune krvi, na psihičke bolesti, značaj naših nalaza o povezanosti koncentracije jonizovanog magnezijuma sa anksioznim i depresivnim poremećajima predstavlja veliki doprinos u utvrđivanju značaja ovog mikroelementa u funkcionisanju CNS-a. Po prvi put je, ovim istraživanjem, ispitivana korelacija vrednosti jonizovanog magnezijuma dobijenog direktnim merenjem, sa vrednostima ukupnog serumskog magnezijuma. Na osnovu naših saznanja, nema zabeleženih istraživanja povezanosti koncentracije jonizovanog magnezijuma između anksioznih i depresivnih poremećaja međusobno. Za potrebe istraživanja koristili smo analizator za gasove u krvi (Blood Gas Stat profile Prime Plus Analyzer, proizvođač je Nova Biomedical Corporation, Waltham, USA)

Raspon izmerenih vrednosti jonizovanog magnezijuma kod učesnika u ovom istraživanju kretao se od 0,44 do 0,75mmol/L. Poređenjem koncentracije jonizovanog magnezijuma kod anksioznih i depresivnih pacijenata u odnosu na zdrave kontrole utvrđeno je da postoji značajna razlika. Značajno niže vrednosti jonizovanog magnezijuma zabeležene su kod obolelih u odnosu na zdrave kontrole. Vrednosti jonizovanog magnezijuma nisu se razlikovale u odnosu na tip poremećaja. Niže vrednosti jonizovanog magnezijuma su bile negativno povezane sa težinom kliničke slike. Veći skorovi na skalama depresivnosti kod depresivnih i skalom anksioznosti kod anksioznih, bili su u korelaciji sa nižim vrednostima izmerene koncentracije jonizovanog magnezijuma što sve ukazuje na značaj magnezijuma u psihičkoj homeostazi. Takođe nepostojanje razlike u koncentraciji, između ispitanika sa anksioznim poremećajima u odnosu na depresivne, ukazuje na fenomenološku i parametarsku podudarnost između ove dve grupe srodnih poremećaja. Vrednosti ukupnog serumskog magnezijuma nisu se statistički značajno razlikovale kod obolelih u odnosu na zdrave ispitanike i nisu korelirale sa težinom ispoljenih simptoma. Ovaj nalaz potvrđuje dosadašnje pretpostavke da serumski magnezijum nije precizan pokatelj bioraspoloživosti magnezijuma i nije pouzdan biološki marker psihičkih poremećaja.

U aktuelnom istraživanju, pokušali smo da na sistematičan način razmotrimo uticaj svih potencijalnih faktora (kao što su starost, ishrana, indeks telesne mase), koji se mogu dovesti u vezu sa nedostatkom magnezijuma.

Shodno dosadašnjim znanjima o uticaju prevashodno biljne ishrane na povećanje serumskog magnezijuma ili smanjenju serumskog magnezijuma usled napornog fizičkog treninga (Geiger i Wanner, 2012), u ranijem toku istraživanja smo utvrdili da se ispitivani uzorak nije međusobno razlikovao u pogledu ishrane i fizičke aktivnosti, pa smo isključili uticaj ovih parametara na promene nivoa izmerenog magnezijuma.

Određeni lekovi mogu uticati na pad koncentracije serumskog magnezijuma (antibiotici, diuretici, citosataici i blokatori protonske pumpe) (de Baaij i sar. 2012). Naši ispitanici nisu uzimali farmakoterapiju koja bi mogla imati uticaj na koncentracije ovog mikroelementa.

Nedostatak magnezijuma povezuje se sa osećajem hroničnog umora, glavoboljama, fibromialgijama, i svim drugim fizičkim simptomima stresa (Cuciureanu i Vink, 2011). Prema našim rezultatima stres nije bio u korelaciji sa jonizovanim magnezijum.

Zbog značaja kalcijuma u sinaptičkoj tansmisiji i njegovoj ulozi u homeostazi magnezijuma analizirali smo vrednosti koncentracije jonizovanog kalcijuma dobijene merenjem na istom gasnom analizatoru i utvrdili da homeostaza kalcijuma nije u isključivoj vezi sa homeostazom magnezijuma. Jonizovani kalcijum nije se značajno razlikovao među ispitivanim grupama, za razliku od koncetracije jonizovanog magnezijuma.

Kalcijum je važan za kontrakciju mišića, zgrušavanje krvi, formiranje kostiju i zuba. U nervnom sistemu odgovoran je za sinaptičku transmisiju, regulaciju rada srca i ravnotežu tečnosti (Pravina i sar., 2013). Dok pojedini autori ukazuju na vezu nedostataka kalcijuma i depersije (Bae i Kim, 2012), drugi ne nalaze povezanost (Jamilian, 2020). Kalcijum, magnezijum, fofor i vitamin D su esencijalni sastojci neophodni za izgradnju kostiju. Važna funkcija ovih elemenata je i učešće u energetskom metabolizmu ćelije, čime utiču na optimizaciju funkcije svih drugih tkiva i organa. (Escobedo-Monge i sar., 2022). Homeostaza kalcijuma zavisi od homeostaze D vitamina i funkcije paratireoidne žlezde (Jamilijan, 2020). Nedostatak magnezijuma povezan je i sa poremećajem funkcije paratireoidnog hormona (PTH) (Jeroen i sar., 2012; fiorentini i sar., 2021). U fiziološkim uslovima se PTH povećava kao odgovor na hipokalcemiju, ali u slučaju nedostataka magnezijuma odgovor PTH je snižen. Sa druge strane oslobađanje paratireoidnog hormona podstiče održavanje nivoa Mg tako što deluje na njegovu reapsorpciju u bubrežima, oslobađanje iz kostiju i absorpciju u crevima. Hiperkalcemija ima negativan efekat na ovaj mehanizam regulacije magnezijuma (Jeroen i sar., 2012; Zofkova i Kancheva, 1995). Kako

je i metabolizam fosfora regulisan parthormonom, a zavistan od metabolizma kalcijuma, to se i nivoi fosfora dovode u vezu sa koncentracijama magnezijuma i nastankom psihičkih poremećaja. Istraživanjem rahitisa kod dece, utvrđena je uloga magnezijuma u metabolizmu vitamina D (Anast, 1967; Medalle, 1976). D vitamin utiče na apsorpciju magnezijuma. Sa druge strane magnezijum utiče na mineralizaciju kostiju posredstvom uticaja na sintezu D vitamina (Risco i Traba, 1994). Nadoknada magnezijuma nekada može da nadoknadi i nedostatak D vitamina, tako što potpomaže prevođenje njegove neaktivne u aktivnu formu (Uwitonze i Razzaque, 2018; Medalle i sar., 1976)

U svetlu svih dosadašnjih znanja o mogućim interakcijama i međusobnoj povezanosti vitamina, minerala i nivoa hormona sa jonizovanim magnezijumom uzevši u razmatranje i neke neočekivane rezultate povezanost magnezijuma i vitamina D, koja je utvrđena sagledali smo kao slučajnost uslovljenu remetilačkim uticajem vitaminske suplementacije. Naime našom analizom je utvrđeno da jonizovani magnezijum korelira sa nivoom vitamina D, ali kako su i same vrednosti vitamina D bile značajno više u grupi depresivnih, to i jonizovani magnezijum pokazuje korelaciju sa D vitaminom u grupi depresivnih i to tako da se niže vrednosti magnezijuma povezuju sa višim vrednostima D vitamina. Zabeležili smo niže vrednosti magnezijuma u grupi depresivnih, uz istovremeno više vrednosti D vitamina kod istih ispitanika.

Ipak postoje podaci u literature da višak kalcijuma, fosfora i vitamina D može uticati na povećani gubitak magnezijuma (DiNicolantonio i sar., 2018b)

Magnezijum igra važnu ulogu u ciklusu folat-metionin-neurotransmitter učestvujući kao kofaktor u enzimskim reakcijama. Neophodan je za konverziju 5,10-metilen tetrahidrofolata u 5-formil tetrahidrofolat koji se koristi za sintezu neurotransmitera. Magnezijum može da pojača lučenje melatonina i time pomogne u uspavlivanju. Nivo magnezijuma je niži kod poremećaja sna. Veza nedostatka magnezijuma i povišenog homocisteina je zapažena kod osoba sa poremećajem sna. I vitamin B12 i folat imaju uticaj na spavanje. Vitamin B12 doprinosi sekreciji melatonina i time prevenira poremećaje spavanja. Folat i B6 su uključeni u pretvaranje triptofana u serotonin (Dhillon i sar., 2023).

Iako je sam homocistein u ovoj našoj studiji, bio značajno povišen kod anksioznih i depresivnih u odnosu na zdrave kontrole, jonizovani magnezijum nije pokazao značajnu korelaciju sa homocisteinom kod pomenutih grupa poremećaja. S obzirom da je rezultat na

granici značajnosti pretpostavljamo da bi povećanje veličine uzorka obezbedilo preciznije rezultate, što daje prostor za buduća istraživanja.

Dok je ulazak magnezijuma u ćeliju zavisao od jonskih kanala ili mehanizama sličnih kanalima, izlazak magnezijuma je povezan sa natrijumom zavisnim amilorid–inhibiranim mehanizmom ekstruzije, uslovljene proizvodnjom cikličnog adenozin monofosfata (CAMP) unutar ćelija. Ekstruzija magnezijuma se povezuje sa kateholaminima ili hormonima koji povećavaju ćelijski nivo CAMP-a. Ekstruzija preko N/Mg izmenjivača je funkcionalno povezana sa transportom i korišćenjem glukoze. Primećeno je da neki hormoni koji izazivaju izlazak magnezijuma takođe izazivaju i izlazak glukoze iz hepatocita. Koncentracija magnezijuma kod naših ispitanika nije bila u korelaciji sa koncentracijom glukoze i nije bila povezana sa nivoom kortizola.

Pored obezbeđivanja ispravnosti enzimskih funkcija i uticaja na hormonsku homeostazu, magnezijum utiče na CNS i direktnim dejstvom na neurotransmiterske sisteme. Primećen je i uticaj magnezijuma na efekte antidepresivne terapije. Za sada nije utvrđeno da li antidepresivi poboljšavaju status magnezijuma ili poboljšanje statusa magnezijuma doprinosi antidepresivnom efektu (Nechifor, 2009; Camardese i sar., 2012). Magnezium posreduje u nastanku sistemske inflamacije (Barbagallo i sar., 2009), a inflamacija je jedan od potencijalnih patogenetskih mehanizama nastanka depresije (Chacko et al. 2011) Eksperimentalna istraživanja na životinjskim modelima su pokazala da nedostatak magnezijuma dovodi do aktivacije leukocita i makrofaga, sinteze inflamatornih citokina i proteina akutne faze i da povećava proizvodnju slobodnih radikala (Nettleton i sar., 2006; de Oliveira Otto i sar., 2011). Upala sama po sebi indukuje hiperlipidemiju i promene u metabolizmu lipoproteina. Pošto gojaznost često prati upala niskog stepena preporuke istraživača su da gojazni ljudi treba da uzimaju veće količine magnezijuma (Nielsen, 2018). Meta analiza pokazala je da suplementacija magnezijumom može da smanji markere upale samo ako su oni prethodno bili povećani (Simental-Mendia i sar., 2017).

Nasuprot istraživanjima koja dovode u vezu zapaljenje i nedostatak magnezijuma, rezultati studije novijeg datuma, koja analizira uticaj unosa vitamina E, magnezijuma i gvožđa na povećanje fibrinogena, nisu našli vezu nedostatka ovih parametara sa zapaljenjem (Padron-Monedero i sar., 2021). Studija koju su sproveli Gurerrero-Romero i Rodriguez-Moran ukazuje na međusobnu povezanost upale i oksidativnog stresa u

nastanku metaboličkog sindroma, dok je hipomagenijemija bila faktor koji je delovao nezavisno od ova dva mehanizma (Guerrero-Romero i Rodriguez-Moran, 2006)

Niže vrednosti jonizovanog magnezijuma kod naših ispitanika kao i u pomenutom istraživanju Guerrero-Romero i Rodriguez-Moran imao je nezavistan uticaj od inflamacije na nastanak analiziranih psihičkih poremećaja. Kod ispitanika našeg uzorka nisu zabeleženi povišeni markeri zapaljenja u krvi. Ni proinflamatorni citokini nisu bili povećani u grupama bolesnih u odnosu na zdrave. Koncentracija jonizovanog magnezijuma nije bila u korelaciji sa medijatorima zapaljenja, pa je zaključak da povezanost hipomagnezijemije i ispitivanih psihičkih poremećaja nije ostvaren posredstvom zapaljenskog mehanizma.

Kako je magnezijum neophodan kofaktor u brojim enzimskim reakcijama u telu njegov optimalni nivo obezbeđuje održavanje funkcije ćelijskog ciklusa, proliferacije i diferencijacije ćelija. Visoka potrošnja kiseonika uz skromni kapacitet za antioksidativnu odbranu, stvara uslove da mozak generiše reaktivne vrste kiseonika, dok prekomerno stvaranje azot oksida doprinosi stvaranju reaktivnih vrsta azota. Oksidativni stres i nedostatak magnezijuma povećavaju koncentraciju ROS. Oštećenje biomolekula moždanog parenhima pod dejstvom oksidativnog stresa leži u osnovi neurodegenerativnih i neuropsihijatrijskih bolesti (Kumar i Chanana, 2017; Hovatta i sar., 2005; Marcolongo-Pereira i sar., 2022).

Magnezijum učestvuje u smanjenju oksidativnog stresa i prevenciji posledica. Jedan od pretpostavljenih mehanizama kojim hipomagnezijemija utiče na razvoj oksidativnog stresa, je posredstvom uticaja na homeostazu intracelularnog kalcijuma, koja dalje utiče na HPA i RAAS endokrine osovine, posredstvom inflamacije i direktnim dejstvom na mitohondrije (Rayssiguier i sar., 2010; Song i sar., 2007; Zheltova 2016). Između ostalog magnezijum je odgovoran je sa sintezu glutaciona posredstvom ATP-a, a glutation je jedan od značajnijih antioksidanasa. Dosadašnje studije su ukazivale na vezu između nivoa Mg i pokazatelja oksidativnog stresa (najčešće merenih nivoima superoksid anjona, enzima (GPX i SOD) i produktima lipidne peroksidacije (MDA)), kod osoba izloženih hroničnom emocionalnom stresu, anksioznih i depresivnih. Kod depresivnih pacijenata se beleže povišene vrednosti MDA i niže vrednosti antioksidativnih enzima GPX (Sarandol i sar., 2007; Ozcan i sar., 2004). Nedostatak magnezijuma prati dvostruko smanjenje redukovano glutaciona u eritrocitima kao posledica povećane aktivnosti glutation transferase (Zheltova i sar., 2016). Studije na životinjama su pokazale vezu između smanjenja Mg, povećanja MDA i smanjenja antioksidativnih markera (Hans i sar., 2002).

U našoj studiji, uočena je statistički značajna razlika u nivou GPX1 između kontrolne grupe i grupe anksioznih/depresivnih pacijenata i to tako da je GPX1 bio viši kod bolesnih. Anksiozni i depresivni pacijenti nisu ispoljili značajnu razliku u koncentraciji GPX1 međusobno. U grupi obolelih od depresije magnezijum je bio u obrnutoj korelaciji sa GPX1, niže koncentracije magnezijuma su korelirale sa višim koncentracijama GPX. Da li su se efekti vitaminske suplementacije odrazili na koncentracije merenih parametara oksidativnog stresa ili je kod poremećaja u početnoj fazi, kao inicijalna odbrana od hiperprodukcije slobodnih radikala i nedostatka jonizovanog magnezijuma, došlo do reaktivnog povećanja antioksidativnih enzima ne možemo pouzdano utvrditi. Smer kauzalnosti između nedostatka magnezijuma i mehanizma oksidativnog stresa ovim istraživanjem nije utvrđivan. Ono što je utvrđeno je da je magnezijum bio u korelaciji sa pokazateljima oksidativnog stresa. Kako se sam MDA nije razlikovao među ispitivanim grupama, povezanost jonizovanog magnezijuma i MDA nije utvrđena u našem istraživanju.

U raspoloživoj literaturi, a na osnovu dosadašnjih istraživanja zabeleženo je da su tokom akutnih depresivnih epizoda, pacijenti imali značajno veće nivoe aktivnosti antioksidativnih enzima, kao što su bakar-cink superoksid dismutaza (SOD1) i katalaza (CAT), u poređenju sa zdravim kontrolama. Koncentracije malondialdehida (MDA) su bile više. Nivoi aktivnosti glutation peroksidaze (GPX) nisu se značajno razlikovali između pacijenata sa depresijom i zdravih kontrolnih ispitanika (Gałecki i sar., 2009). Povećanjem veličine uzorka bila bi i veća pouzdanost dobijenih rezultata.

Naše istraživanje ima nekoliko ograničenja. Početak istraživanja preklapa se sa pandemijom COVID 19 i svim otežavajućim okolnostima koje su nastupile (izmenjen režim rada lekara i zdravstvenih institucija, ograničenje kretanja i socijalnih kontakata, efekti i komplikacije same infekcije, primena preventivnih suplemenata). Dizajn studije podrazumevao je uključivanje pacijenata koji zadovoljavaju uključujuće kriterijume, a dolaze prvi put zbog pomenutih tegoba na pregled. Prilagođavajući istraživanje novoutvrđenim činjenicama vezanim za dejstvo virusa na CNS i vezu psihijatrijskih oboljenja sa virozom i pandemijom, procenili smo da bi uključivanje pacijenta čije su psihičke tegobe u bliskoj uzročno posledičnoj vezi sa korona virusnom infekcijom, značajno uticalo na rezultate, što je dodatno redukovalo broj ispitanika i prolongiralo planirani vremenski okvir istraživanja. Uz sav oprez pri izboru kandidata za učešće u istraživanju ne možemo isključiti posredni uticaj efekata globalnih okolnosti i preventivnih

mera uključujući i izolaciju, na dobijene rezultate, kao i direktni uticaj posredstvom kontinuirane vitaminske suplementacije.

Neujednačenost starosne dobi među ispitanicima kontrolne grupe u odnosu na grupu depresivnih mogao bi da ima značajan uticaj ne neke od koreliranih markera, naročito onih za koje se zna da su podložni promenama u procesu fiziološkog starenja. Činjenica da je grupa anksioznih prema starosnoj dobi bila usklađena sa grupom zdravih i da su istovremeno bile registrovane korelacije analiziranih biomarkera u obe grupe pacijenata, bez međusobnih razlika - pre ukazuje na uobičajenu epidemiološku razliku u uzrastu obolelih od ovih poremećaja, nego što se može smatrati faktorom uticaja na aktuelno istraživanje.

Ovo istraživanje se nije bavilo ispitivanjem uticaja suplementacije magnezijumom. Na osnovu trenutnih pokazatelja u literaturi najveći procenat oko 30 % dnevnih potreba za magnezijumom može se obezbediti iz vode za piće. Iz malog broja kliničkih istraživanja rađenih na temu suplementacije magnezijumom poznato je da bioiskoristivost zavisi od primenjene formulacije magnezijuma, od prethodnog elektrolitnog statusa osobe i od frekvence unosa magnezijuma. Istraživanja navode da je veća iskoristivost ukoliko se dnevni unos rasporedi u više pojedinačnih doza (Schuchardt i Hahn, 2017). Organske soli magnezijuma imaju veću bioiskoristivost (Bangratz i sar., 2016). Suplementacija magnezijumom redukuje simptome anksioznosti kod poremećaja povezanih sa stresom i prilagođavanjem i poremećaje generalizovane anksioznosti (Oddoux i sar., 2022; Tarleton et al. 2017).

Veza magnezijuma sa anksioznošću i depresijom koju smo utvrdili predstavlja izazov za nova istraživanja, koja bi potencijalno ukazala da li suplementacija može da nadoknadi deficit i da li ima kliničkih efekata suplementacije.

Prema našem saznanju istraživanje koje smo sproveli je po prvi put koristilo određivanje koncentracije jonizovanog magnezijuma direktnom metodom na populaciji bolesnih od poremećaja anksioznosti i depresije. Uprkos pridruženim efektima pandemije Covid 19 i njenih uticaja, kao i efektima korišćene suplementacije koje su se očigledno odrazili na dobijene rezultate inflamatornih parametara i pokazatelja oksidativnog stresa, jonizovani magnezijum je nesumnjivo bio u korelaciji sa ispoljavanjem i depresije i anksioznosti.

6. ZAKLJUČCI

U skladu sa postavljenim ciljevima studije, na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti:

- ❖ Određivanje koncentracije jonizovanog magnezijuma je specifičniji i senzitivniji pokazatelj nedostataka biološki funkcionalnog jona magnezijuma u odnosu na koncentraciju ukupnog serumskog magnezijuma.
- ❖ Kod ispitanika sa dijagnozom iz grupe neurotskih, telesno manifestnih i sa stresom povezanih poremećaja kao i depresije, koncentracije jonizovanog magnezijuma su bile značajno niže u odnosu na zdrave kontrole.
- ❖ Koncentracije jonizovanog magnezijuma nisu se statistički značajno razlikovale između grupe obolelih od depresije i grupe pacijenata sa anksioznim poremećajem.
- ❖ Težina ispoljenih simptoma anksioznosti i depresije obrnuto je proporcionalna koncentraciji jonizovanog magnezijuma.
- ❖ Specifični medijatori zapaljenja se nisu razlikovali među ispitivanim grupama i nisu bili u korelaciji sa koncentracijom jonizovanog magnezijuma kod ispitivanih poremećaja.
- ❖ Nivo homocisteina je bio statistički značajno viši kod anksioznih i depresivnih pacijenata u odnosu na zdrave kontrole.
- ❖ Koncentracije homocisteina nisu se statistički značajno razlikovale između grupe obolelih od depresije i grupe pacijenata sa anksioznim poremećajem.
- ❖ Koncentracija jonizovanog magnezijuma nije bila u korelaciji sa homocisteinom.
- ❖ Koncentracije Glutation peroksidaze GPX su bile statistički značajno više kod pacijenata sa dijagnozom anksioznog poremećaja i depresije u odnosu na zdrave kontrole. Anksiozni i depresivni pacijenti nisu ispoljili značajnu razliku u koncentraciji GPX međusobno.
- ❖ Niže koncentracije magnezijuma su korelirale sa višim koncentracijama GPX.

- ❖ Oksidativni stres je jedan od potencijalnih mehanizama koji povezuje nedostatak magnezijuma i psihijatrijskih poremećaja iz grupe neurotskih, telesno manifestnih i sa stresom povezanih poremećaja kao i depresije.

7. LITERATURA

1. (https://www.who.int/mental_health/management/depression/en/ 82: 839-846.
2. Aguglia A, Amerio A, Asaro P, Caprino M, Conigliaro C, Giacomini G, Parisi VM, Trabucco A, Amore M, Serafini G. High-lethality of suicide attempts associated with platelet to lymphocyte ratio and mean platelet volume in psychiatric inpatient setting. *World J Biol Psychiatry*. 2021; 22(2): 119–127
3. Aikens J, Dix TA. Perhydroxyl radical (HOO.) initiated lipid peroxidation. The role of fatty acid hydroperoxides. *J Biol Chem*. 1991; 266(23): 15091-8. PMID: 1869544.
4. Alamdari DH, Paletas K, Pegiou T, Sarigianni M, Befani C, Koliakos G. A novel assay for the evaluation of the prooxidant-antioxidant balance, before and after antioxidant vitamin administration in type II diabetes patients. *Clin Biochem*. 2007; 40(3-4): 248-54.
5. Aleksovski B, Neceva V, Vujovic V, Manusheva N, Rendevski V, Novotni A, Filipce A, Spasovska A, Sofijanova A, Aleksovski V, et al. SSRI-reduced platelet reactivity in non-responding patients with life-long Recurrent Depressive Disorder: Detection and involved mechanisms. *THROMB RES*. 2018; 165: 24–32
6. Alexander RT, Hoenderop JG, Bindels RJ. Molecular determinants of magnesium homeostasis: insight from human disease. *J Am Soc Nephrol*. 2008; 19: 1451–8.
7. Al-Fadhel SZ, Al-Hakeim HK, Al-Dujaili AH, Maes M. IL-10 is associated with increased mu-opioid receptor levels in major depressive disorder. *Eur Psychiatry*. 2019; 57: 46-51. .
8. Alfrey AC, Miller NL, Trow R. Effect of Age and Magnesium Depletion on Bone Magnesium Pools in Rats. *J. Clin. Investig.*1974; 54: 1074–1081.

9. Almeida OP, Marsh K, Alfonso H, Flicker L, Davis TM, Hankey GJ: B-vitamins reduce the long-term risk of depression after stroke: The VITATOPS-DEP trial. *Ann Neurol* 2010; 68: 503-510.
10. Alraek T, Lee M.S, Choi T.Y, Cao H, Liu J. Complementary and alternative medicine for patients with chronic fatigue syndrome: A systematic review. *BMC Complement. Altern. Med.* 2011; 11: 87
11. Altman D, Carroli G, Duley L, Farrell B, Moodley J, Neilson J, Smith D. Magpie Trial Collaboration Group. Do women with pre-eclampsia, and their babies, benefit from magnesium sulphate? The Magpie Trial: A randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2002; 359: 1877–1890
12. Amano T, Matsubara T, Watanabe J, Nakayama S, Hotta N. Insulin modulation of intracellular free magnesium in heart: involvement of protein kinase C. *Brit J Pharmacol.* 2000; 130: 731–8.
13. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-IV-TR). 4th revised edition. Washington, DC: American Psychiatric Association, 2000.
14. Anast C.S. Magnesium studies in relation to vitamin D-resistant rickets. *Pediatrics.* 1967; 40: 425–435.
15. Anastassopoulou J, Theophanides T. Magnesium-DNA interactions and the possible relation of magnesium to carcinogenesis. Irradiation and free radicals. *Crit. Rev. Oncol.* 2002; 42: 79–91.
16. Andersen J.V, Markussen K.H, Jakobsen E, Schousboe A, Waagepetersen H.S, Rosenberg P.A, Aldana B.I. Glutamate Metabolism and Recycling at the Excitatory Synapse in Health and Neurodegeneration. *Neuropharmacology.* 2021; 196: 108719.
17. Andreasen NC, Black DW. Introductory textbook of psychiatry, 3rd edition. American psychiatric Publishing, Inc, 2001.
18. Andreescu, C, Lenze, E. J, Dew, M. A, Begley, A. E, Mulsant, B. H, Dombrovski, A. Y, Pollock, B. G, Stack, J, Miller, M. D, & Reynolds, C. F. Effect of comorbid anxiety on

- treatment response and relapse risk in late-life depression: Controlled study. *The British Journal of Psychiatry*, 2007. 190(4), 344– 349.
19. Arcari A, Zito F, Di Castelnuovo A, De Curtis A, Dirckx C, Arnout J, Cappuccio FP, van Dongen MC, De Lorgeril M, Krogh V, Siani A, Donati MB, de Gaetano G, Iacoviello L, European Collaborative Group of Immidiet Project . C reactive protein and its determinants in healthy men and women from European regions at different risk of coronary disease: the IMMIDIET Project. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 436–43.
 20. Arteaga-Henriquez G, Burger B, Weidinger E, et al. Activation and deactivation steps in the tryptophan breakdown pathway in major depressive disorder: a link to the monocyte inflammatory state of patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2021; 107: 110226.
 21. Arzoz-Fabregas M, Ibarz-Servio L, Fernández-Castro J, Valiente-Malmagro M, Roca-Antonio J, Edo-Izquierdo S, Buisan-Rueda O. Chronic stress and calcium oxalate stone disease: Influence on blood cortisol and urine composition. *Urology*. 2013; 826: 1246–1252.
 22. Asnaani A, Richey JA, Dimaite R, Hinton DE, Hofmann SG. A cross-ethnic comparison of lifetime prevalence rates of anxiety disorders. *J Nerv Ment Dis*. 2010; 198(8): 551-5.
 23. Astiglioni S, Cazzaniga A, Albisetti W, Maier J.A. Magnesium and osteoporosis: Current state of knowledge and future research directions. *Nutrients*. 2013; 5: 3022–3033.
 24. Ataoglu A, Canan F. Mean platelet volume in patients with major depression: effect of escitalopram treatment. *J Clin Psychopharmacol*. 2009; 29(4): 368–371.
 25. Bae Y.-J, Kim S.-K. Low dietary calcium is associated with self-rated depression in middle-aged Korean women. *Nutr. Res. Pract*. 2012; 6(6): 527–533
 26. Bagis S, Karabiber M, As I, Tamer L, Erdogan C, Atalay A. Is magnesium citrate treatment effective on pain, clinical parameters and functional status in patients with fibromyalgia? *Rheumatol. Int*. 2013; 33: 167–172

27. Baj J, Forma A, Sitarz E, Karakuła K, Flieger W, Sitarz M, Grochowski C, Maciejewski R, Karakula-Juchnowicz H. Beyond the Mind-Serum Trace Element Levels in Schizophrenic Patients: A Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(24): 9566.
28. Balcioğlu YH, Kirlioglu SS. C-Reactive Protein/Albumin and Neutrophil/Albumin Ratios as Novel Inflammatory Markers in Patients with Schizophrenia. *Psychiatry Investig.* 2020; 17(9): 902–910.
29. Bali A, Jaggi A.S. Angiotensin as stress mediator: Role of its receptor and interrelationships among other stress mediators and receptors. *Pharmacol. Res.* 2013; 76: 49–57.
30. Bangratz M, Guinobert I, Dubourdeaux M, Guilbot A. Higher Absorption and Lower Urinary Elimination of a New Magnesium Rice Complex Compared to Two Other Organic Forms of Magnesium: A Pilot Study in Rats. *Gavin J. Food Nutrit. Sci.* 2016; 1: 23–27.
31. Bankier B, Barajas J, Martinez-Rumayor A, Januzzi JL. Association between C-reactive protein and generalized anxiety disorder in stable coronary heart disease patients. *Eur Heart J.* 2008; 29(18): 2212-7.
32. Barbagallo M, Belvedere M, Di Bella G, Dominguez L.J. Altered ionized magnesium levels in mild-to-moderate Alzheimer’s disease. *Magnes. Res.* 2011; 24: S115–S121
33. Barbagallo M, Belvedere M, Dominguez L.J. Magnesium homeostasis and aging. *Magnes. Res.* 2009; 22: 235–246.
34. Barbagallo M, Veronese N, Dominguez L.J. Magnesium in Aging, Health and Diseases. *Nutrients.* 2021; 13: 463.
35. Barbaresko J, Koch M, Schulze MB, Nöthlings U. Dietary pattern analysis and biomarkers of low-grade inflammation: a systematic literature review. *Nutr Rev* 2013; 71: 511–27
36. Bardgett M.E, Schultheis P.J, McGill D.L, Richmond R.E, Wagge J.R. Magnesium deficiency impairs fear conditioning in mice. *Brain Res.* 2005; 1038: 100–106.

37. Barragán-Rodríguez L, Rodríguez-Morán M, Guerrero-Romero F: Efficacy and safety of oral magnesium supplementation in the treatment of depression in the elderly with type 2 diabetes: a randomized, equivalent trial. *Magnes Res* 2008; 21: 218-223.
38. Bauer E.P. Serotonin in fear conditioning processes. *Behav. Brain Res.* 2015; 277: 68–77.
39. Becker C, Zeau B, Rivat C, Blugeot A, Hamon M, Benoliel JJ: Repeated social defeat-induced depression-like behavioral and biological alterations in rats: involvement of cholecystinin. *Mol Psychiatry* 2008; 13: 1079-1092.
40. Benassi L, Barletta F.P, Baroncini L, Bertani D, Filippini F, Beski L, Nani A, Tesauri P, Tridenti G. Effectiveness of magnesium pidolate in the prophylactic treatment of primary dysmenorrhea. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* 1992; 19: 176–179.
41. Berk M, Williams LJ, Jacka FN, O'Neil A, Pasco JA, Moylan S, Allen NB, Stuart AL, Hayley AC, Byrne ML, Maes M. So depression is an inflammatory disease, but where does the inflammation come from? *BMC Med.* 2013; 11:200.
42. Beurel E, Toups M, Nemeroff CB. The bidirectional relationship of depression and inflammation: double trouble. *Neuron.* 2020; 107: 234–56.
43. Bodaker I, Sharon I, Suzuki MT, Feingersch R, Shmoish M, Andreishcheva E, Béja O. Comparative community genomics in the Dead Sea: an increasingly extreme environment. *The ISME journal.* 2010; 4(3), 399-407.
44. Bode H, Ivens B, Bschor T, Schwarzer G, Henssler J, Baethge C. Hyperthyroidism and clinical depression: a systematic review and meta-analysis. *Transl Psychiatry.* 2022; 12(1): 362.
45. Bolisetty S, Jaimes EA. Mitochondria and reactive oxygen species: physiology and pathophysiology. *Int J Mol Sci.* 2013; 14(3): 6306-44
46. Bonaccio M, Pounis G, Cerletti C, Donati MB, Iacoviello L, de Gaetano G; MOLI-SANI Study Investigators. Mediterranean diet, dietary polyphenols and low grade inflammation: results from the MOLI-SANI study. *Br J Clin Pharmacol.* 2017; 83(1): 107-113.

47. Bouayed J, Rammal H, Soulimani R. Oxidative stress and anxiety: Relationship and cellular pathways. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2009; 2: 63–67.
48. Bouillon-Minois JB, Khaled L, Vitte F, Miraillet L, Eschalier R, Jabaudon M, Sapin V, Derault L, Kahouadji S, Brailova M, Durif J, Schmidt J, Moustafa F, Pereira B, Futier E, Bouvier D. Ionized Magnesium: Interpretation and Interest in Atrial Fibrillation. *Nutrients.* 202; 15(1): 236.
49. Bouwman V, Adriaanse MC, van 't Riet E, Snoek FJ, Dekker JM, Nijpels G: Depression, anxiety and glucose metabolism in the general dutch population: the new Hoorn study. *PLoS One* 2010; 5: e9971.
50. Bradbury MW, Stubbs J, Hughes IE, Parker P. The Distribution of Potassium, Sodium, Chloride and Urea between Lumbar Cerebrospinal Fluid and Blood Serum in Human Subjects. *Clin Sci.* 1963; 25:97–105.
51. Brebner K, Hayley S, Zacharko R, Merali Z, Anisman H. Synergistic effects of interleukin-1beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha: central monoamine, corticosterone, and behavioral variations. *Neuropsychopharmacology.* 2000; 22(6): 566-80.
52. Bremner JD, Goldberg J, Vaccarino V. Plasma homocysteine concentrations and depression: A twin study. *J Affect Disord Rep.* 2021; 4: 100087
53. Brigitta B. Pathophysiology of depression and mechanisms of treatment. *Dialogues Clin Neurosci.* 2002; 4(1): 7-20.
54. Brinn A, Stone J. Neutrophil-lymphocyte ratio across psychiatric diagnoses: a cross-sectional study using electronic health records. *BMJ Open.* 2020; 10(7): e036859.
55. Brocker C, Thompson D, Matsumoto A, Nebert DW, Vasiliou V. Evolutionary divergence and functions of the human interleukin (IL) gene family. *Hum Genomics.* 2010; 5(1):30-55.
56. Buri A, McGuigan JA. Intracellular free magnesium and its regulation, studied in isolated ferret ventricular muscle with ion-selective microelectrodes. *Exp Physiol.* 1990; 75(6): 751-61.

57. Cai L, Xu L, Wei L, Chen W. Relationship of mean platelet volume to MDD: a retrospective study. *Shanghai Arch Psychiatry*. 2017; 29(1): 21–29
58. Calogero AE, Gallucci WT, Chrousos GP, Gold PW. Catecholamine effects upon rat
59. Calogero AE, Gallucci WT, Chrousos GP, Gold PW. Catecholamine effects upon rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion in vitro. *J Clin Invest*. 1988; 82(3):839-46.
60. Camardese G, Risio LD, Pizi G, Mattioli B, Buccelletti F, Serrani R, et al. Plasma magnesium levels and treatment outcome in depressed patients. *Nutr Neurosci*. 2012; 15(2): 78–84.
61. Campbell B.M, Merchant K.M. Serotonin 2C receptors within the basolateral amygdala induce acute fear-like responses in an open-field environment. *Brain Res*. 2003; 993: 1–9.
62. Canobbio I. Blood platelets: circulating mirrors of neurons? *Res Pract Thromb Haemost*. 2019; 3(4): 564–565.
63. Cao P, Chen C, Liu A, Shan Q, Zhu X, Jia C, et al. Early-life inflammation promotes depressive symptoms in adolescence via microglial engulfment of dendritic spines. *Neuron*. 2021; 109(16): 2573–2589
64. Caspi R, Altman T, Dreher K, Fulcher C.A, Subhraveti P, Keseler I.M, Kothari A, Krummenacker M, Latendresse M, Mueller L.A, et al. The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of pathway/genome databases. *Nucleic Acids Res*. 2012; 40: D742–D753.
65. Cevette M.J, Barrs D.M, Patel A, Conroy K.P, Sydlowski S, Noble B.N, Nelson G.A, Stepanek J. Phase 2 study examining magnesium-dependent tinnitus. *Int. Tinnitus J*. 2011; 16: 168–173.148
66. Chacko SA, Sul J, Song Y, Li X, LeBlanc J, You Y, et al. Magnesium supplementation, metabolic and inflammatory markers, and global genomic and proteomic profiling: a randomized, double-blind, controlled, crossover trial in overweight individuals. *Am J Clin Nutr*. 2011; 93(2): 463–73.

67. Chae WR, Nübel J, Baumert J, Gold SM, Otte C. Association of depression and obesity with C-reactive protein in Germany: A large nationally representative study. *Brain Behav Immun.* 2022; 103: 223-231.
68. Chávez-Castillo M, Núñez V, Nava M, Ortega Á, Rojas M, Bermúdez V, Rojas-Quintero J. Depression as a Neuroendocrine Disorder: Emerging Neuropsychopharmacological Approaches beyond Monoamines. *Adv Pharmacol Sci.* 2019; 2019: 7943481.
69. Checkley S. The neuroendocrinology of depression and chronic stress. *Br Med Bull.* 1996; 52(3): 597-617.
70. Chen H, Luan X, Zhao K, Qiu H, Liu Y, Tu X, Tang W, He J. The association between neutrophil-to-lymphocyte ratio and post-stroke depression. *Clin Chim Acta.* 2018; 486:298-302.
71. Choi YH, Miller JM, Tucker KL, Hu H, Park SK. Antioxidant vitamins and magnesium and the risk of hearing loss in the US general population. *Am. J. Clin. Nutr.* 2014; 99: 148–155.
72. Chojnowska S, Ptaszyńska-Sarosiek I, Kępką A, Knaś M, Waszkiewicz N. Salivary biomarkers of stress, anxiety and depression. *J. Clin. Med.* 2021; 10: 517.
73. Cosci F, Mansueto G. Biological and clinical markers in panic disorder. *Psychiatry Investig.* 2019; 16: 27–36.
74. Coull MA, Lowther S, Katona CL, Horton RW. Altered brain protein kinase C in depression: a post-mortem study. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2000; 10: 283–288.
75. Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science.* 1993; 262(5134): 689-95.
76. Craske MG, Stein MB. Anxiety. *Lancet.* 2016; 388: 3048–3059.
77. Crawford JR, Henry JD. The Depression Anxiety Stress Scales (DASS): normative data and latent structure in a large non-clinical sample. *Br J Clin Psychol.* 2003; 42(Pt 2): 111-31

78. Cuciureanu MD, Vink R. Magnesium and stress. In: Vink R, Nechifor M, editors. *Magnesium in the Central Nervous System* [Internet]. Adelaide (AU): University of Adelaide Press; 2011. PMID: 29920004.
79. Dailly E, Chenu F, Renard, CE, Bourin M. Dopamine, depression and antidepressants. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2004; 18(6), 601-607.
80. Daly M, Robinson E. Depression and anxiety during COVID-19. *Lancet*. 2022; 399(10324): 518.
81. Danner M, Kasl SV, Abramson JL, Vaccarino V. Association between depression and elevated C-reactive protein. *Psychosom Med*. 2003; 65(3): 347-56.
82. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*. 2008; 9(1): 46-56.
83. Dasuri K, Zhang L, Keller JN. Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis. *Free Radic Biol Med*. 2013; 62: 170-185.
84. de Baaij JH, Hoenderop JG, Bindels RJ. Magnesium in man: implications for health and disease. *Physiol Rev*. 2015; 95(1): 1-46.
85. de Baaij JHF, Hoenderop JGJ, Bindels RJM. Regulation of magnesium balance: lessons learned from human genetic disease. *Clin Kidney J*. 2012; 5(Suppl 1): i15–i24.
86. De Berardis D, Serroni N, Campanella D, Marini S, Rapini G, Valchera A, Iasevoli F, Mazza M, Fornaro M, Perna G, et al. Alexithymia, Suicide Ideation, C-Reactive Protein, and Serum Lipid Levels Among Outpatients with Generalized Anxiety Disorder. *Arch. Suicide Res*. 2017; 21: 100–112.
87. De Berardis D, Vellante F, Fornaro M, Anastasia A, Olivieri L, Rapini G, Serroni N, Orsolini L, Valchera A, Carano A, et al. Alexithymia, suicide ideation, affective temperaments and homocysteine levels in drug naïve patients with post-traumatic stress disorder: An exploratory study in the everyday ‘real world’ clinical practice. *Int. J. Psychiatry Clin. Pract*. 2020; 24: 83–87.

88. de Oliveira I.J.L, de Souza V.V, Motta V, Da-Silva S.L. Effects of oral vitamin C supplementation on anxiety in students: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Pak J. Biol. Sci.* 2015; 18: 11–18.
89. de Oliveira Otto MC, Alonso A, Lee DH, Delclos GL, Jenny NS, Jiang R, Lima JA, Symanski E, Jacobs DR Jr, Nettleton JA. Dietary micronutrient intakes are associated with markers of inflammation but not with markers of subclinical atherosclerosis. *J Nutr.* 2011; 141(8): 1508-15.
90. Delgado PL, Moreno FA. Role of norepinephrine in depression. *J Clin Psychiatry.* 2000; 61 Suppl 1: 5-12
91. Demircan F, Gözel N, Kılınç F, Ulu R, Atmaca M. The impact of red blood cell distribution width and neutrophil/lymphocyte ratio on the diagnosis of major depressive disorder. *Neurol Ther.* 2016; 5: 27–33.
92. Deng X, Song Y, Manson JE, Signorello LB, Zhang SM, Shrubsole MJ, Ness RM, Seidner DL, Dai Q. Magnesium, vitamin D status and mortality: results from US National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001 to 2006 and NHANES III. *BMC Med.* 2013; 11: 187.
93. Derom ML, Martinez-Gonzalez MA, Sayon-Orea Mdel C, Bes-Rastrollo M, Beunza JJ, Sanchez-Villegas A. Magnesium intake is not related to depression risk in Spanish university graduates. *J Nutrition.* 2012; 142(6): 1053–9.
94. Dhillon VS, Deo P, Thomas P, Fenech M. Low Magnesium in Conjunction with High Homocysteine and Less Sleep Accelerates Telomere Attrition in Healthy Elderly Australian. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(2): 982.
95. Diagnostic and statistical manual of mental disorders 5th edition: DSM-5. Arlington, VA Washington, D.C: American Psychiatric Association. 2013. p. 189–195. ISBN 978-0-89042-555-8. OCLC 830807378
96. DiNicolantonio JJ, Liu J, O’Keefe JH. Magnesium for the prevention and treatment of cardiovascular disease. *Open Heart.* 2018; 5: e000775.

97. DiNicolantonio JJ, O’Keefe JH, Wilson W Subclinical magnesium deficiency: a principal driver of cardiovascular disease and a public health crisis. *Open Heart* 2018b; 5: e000668.
98. Domitrz I, Cegielska J. Magnesium as an Important Factor in the Pathogenesis and Treatment of Migraine-From Theory to Practice. *Nutrients*. 2022; 14(5): 1089.
99. Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim EK, Lanctôt KL. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry*. 2010; 67(5): 446-57.
100. Dubrovsky BO. Steroids, neuroactive steroids and neurosteroids in psychopathology. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2005; 29: 169–192
101. Duman RS, Malberg J, Thome J. Neural plasticity to stress and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry*. 1999; 46: 1181–1191
102. Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol. Psychiatry*. 2006; 59: 1116–112
103. Đordjevic D, Rondovic G, Surbatovic M, Stanojevic I, Udovicic I, Andjelic T, Zeba S, Milosavljevic S, Stankovic N, Abazovic D, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio, Monocyte-to-Lymphocyte Ratio, Platelet-to-Lymphocyte Ratio, and Mean Platelet Volume-to-Platelet Count Ratio as Biomarkers in Critically Ill and Injured Patients: Which Ratio to Choose to Predict Outcome and Nature of Bacteremia? *Mediators Inflamm*. 2018; 3(7): 58–68
104. Eack S.M, Greeno C.G, Lee B.J. Limitations of the patient health questionnaire in identifying anxiety and depression in community mental health: Many cases are undetected. *Res. Soc. Work Pract*. 2006; 16: 625–631.
105. Ebrahimi E, Khayati Motlagh S, Nemati S, Tavakoli Z. Effects of magnesium and vitamin B6 on the severity of premenstrual syndrome symptoms. *J. Caring Sci*. 2012; 1: 183–189,
106. Ekong MB, Iniodu CF. Nutritional therapy can reduce the burden of depression management in low income countries: A review. *IBRO Neurosci Rep*. 2021; 11: 15-28.

107. Elgellaie A, Larkin T, Kaelle J, Mills J, Thomas S. Plasma prolactin is higher in major depressive disorder and females, and associated with anxiety, hostility, somatization, psychotic symptoms and heart rate. *Compr Psychoneuroendocrinol*. 2021; 6: 100049.
108. Elin RJ. Assessment of magnesium status for diagnosis and therapy. *Magnes Res*. 2010; 23(4): S194-8.
109. Engeland CG, Hugo FN, Hilgert JB, Nascimento GG, Junges R, Lim HJ, Marucha PT, Bosch JA. Psychological distress and salivary secretory immunity. *Brain. Behav. Immun*. 2016; 52: 11–17.
110. Erecinska M, Silver IA: Metabolism and role of glutamate in mammalian brain. *Prog Neurobiol*. 1990; 35: 245-296
111. Escobedo-Monge MF, Barrado E, Parodi-Román J, Escobedo-Monge MA, Torres-Hinojal MC, Marugán-Miguelsanz JM. Magnesium Status and Ca/Mg Ratios in a Series of Children and Adolescents with Chronic Diseases. *Nutrients*. 2022; 14 (14): 2941
112. Evans-Lacko S, Aguilar-Gaxiola S, Al-Hamzawi A, Alonso J, Benjet C, Bruffaerts R, Chiu WT, Florescu S, de Girolamo G, Gureje O, Haro JM, He Y, Hu C, Karam EG, Kawakami N, Lee S, Lund C, Kovess-Masfety V, Levinson D, Navarro-Mateu F, Pennell BE, Sampson NA, Scott KM, Tachimori H, Ten Have M, Viana MC, Williams DR, Wojtyniak BJ, Zarkov Z, Kessler RC, Chatterji S, Thornicroft G. Socio-economic variations in the mental health treatment gap for people with anxiety, mood, and substance use disorders: results from the WHO World Mental Health (WMH) surveys. *Psychol Med*. 2018; 48(9): 1560-1571.
113. Falloon IR, Lloyd GG, Harpin RE. The treatment of social phobia. real-life rehearsal with nonprofessional therapists. *J. Nerv. Ment. Dis*. 1981; 169: 180–184.
114. Fandilolu P.M, Kamble A.S, Dound A.S, Sonawane K.D. Role of Wybutosine and Mg²⁺ Ions in Modulating the Structure and Function of tRNAPhe: A Molecular Dynamics Study. *ACS Omega*. 2019; 4: 21327–21339.
115. Faravelli C, Lo Sauro C, Godini L, Lelli L, Benni L, Pietrini F, Lazzeretti L, Talamba GA, Fioravanti G, Ricca V. Childhood stressful events, HPA axis and anxiety disorders. *World J Psychiatry*. 2012; 2(1):13-25.

116. Fawcett WJ, Haxby EJ, Male DA. Magnesium: Physiology and Pharmacology. *Br. J. Anaesth.* 1999; 83: 302–320.
117. Feder A, Nestler EJ, Charney DS. Psychobiology and molecular genetics of resilience. *Nat Rev Neurosci.* 2009; 10(6): 446-57.
118. Felger JC, Lotrich FE. Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications. *Neuroscience.* 2013; 246: 199-229
119. Felger JC. Imaging the Role of Inflammation in Mood and Anxiety-related Disorders. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(5):533-558
120. Fernandes BS, Steiner J, Molendijk ML, Dodd S, Nardin P, Gonçalves CA, Jacka F, Köhler CA, Karmakar C, Carvalho AF, Berk M. C-reactive protein concentrations across the mood spectrum in bipolar disorder: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Psychiatry.* 2016; 3(12): 1147-1156.
121. Fernandes MA, Vieira FER, Silva JSE, Avelino FVSD, Santos JDM. Prevalence of anxious and depressive symptoms in college students of a public institution. *Rev Bras Enferm.* 2018; 71(suppl 5): 2169-2175.
122. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress : relationship with exercise and training. *Sports Med.* 2006; 36(4): 327-58.
123. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 2000; 408(6809): 239-47.
124. Fiorentini D, Cappadone C, Farruggia G, Prata C. Magnesium: Biochemistry, Nutrition, Detection, and Social Impact of Diseases Linked to Its Deficiency. *Nutrients.* 2021; 13(4): 1136.
125. Ford AH, Flicker L, Singh U, Hirani V, Almeida OP. Homocysteine, depression and cognitive function in older adults. *J Affect Disord.* 2013; 151: 646–651.
126. Frewen PA, Schmittmann VD, Bringmann LF, Borsboom D. Perceived causal relations between anxiety, posttraumatic stress and depression: extension to moderation, mediation, and network analysis. *European journal of psychotraumatology.* 2013; 4(1), 20656.

127. Fridovich I. Oxygen: How do we stand it? *Med. Princ. Pract.* 2013, 22, 131–137.
128. Fusar-Poli L, Natale A, Amerio A, Cimpoesu P, Grimaldi FP, Aguglia E, Amore M, Serafini G, Aguglia A. Neutrophil-to-Lymphocyte, Platelet-to-Lymphocyte and Monocyte-to-Lymphocyte Ratio in Bipolar Disorder. *Brain Sci.* 2021; 11(1): 1–11.
129. Gądek-Michalska A, Tadeusz J, Rachwalska P, Bugajski J. Cytokines, prostaglandins and nitric oxide in the regulation of stress-response systems. *Pharmacol Rep.* 2013; 65(6): 1655-62.
130. Gałecki P, Szemraj J, Bieńkiewicz M, Florkowski A, Gałecka E. Lipid peroxidation and antioxidant protection in patients during acute depressive episodes and in remission after fluoxetine treatment. *Pharmacol Rep.* 2009. 61: 436–447
131. García-Juárez M, Camacho-Morales A. Defining the Role of Anti- and Pro-inflammatory Outcomes of Interleukin-6 in Mental Health. *Neuroscience.* 2022; 492: 32-46.
132. Geiger H, Wanner C. Magnesium in disease. *Clin Kidney J.* 2012; 5 (Suppl 1): i25-i38.
133. Genaro K, Fabris D, Fachim H.A, Prado W.A. Angiotensin AT1 receptors modulate the anxiogenic effects of angiotensin (5–8) injected into the rat ventrolateral periaqueductal gray. *Peptides.* 2017; 96: 8–14.
134. German L, Kahana C, Rosenfeld V, Zabrowsky I, Wiezer Z, Fraser D, Shahar D.R. Depressive symptoms are associated with food insufficiency and nutritional deficiencies in poor community-dwelling elderly people. *J. Nutr. Health Aging.* 2011; 15(1): 3–8
135. Gialluisi A, Bonaccio M, Di Castelnuovo A, Costanzo S, De Curtis A, Sarchiapone M, Cerletti C, Donati MB, de Gaetano G, Iacoviello L; Moli-Sani Study Investigators. Lifestyle and biological factors influence the relationship between mental health and low-grade inflammation. *Brain Behav Immun.* 2020; 85:4-13.
136. Gialluisi A, Bracone F, Costanzo S, Santonastaso F, Di Castelnuovo A, Orlandi S, Magnacca S, De Curtis A, Cerletti C, Donati MB, de Gaetano G, Iacoviello L. Role of leukocytes, gender, and symptom domains in the influence of depression on

- hospitalization and mortality risk: Findings from the Moli-sani study. *Front Psychiatry*. 2022; 13: 959171.
137. Gialluisi A, Di Castelnuovo A, Bracone F, De Curtis A, Cerletti C, Donati MB, de Gaetano G, Iacoviello L. Associations between systemic inflammation and somatic depressive symptoms: Findings from the Moli-sani study. *Depress Anxiety*. 2020 b;37(9):935-943.
 138. Gilman SE, Sucha E, Kingsbury M, Horton NJ, Murphy JM, Colman I. Depression and mortality in a longitudinal study: 1952-2011. *CMAJ*. 2017;189(42):E1304-E1310
 139. Giustino TF, Fitzgerald PJ, Maren S. Revisiting propranolol and PTSD: Memory erasure or extinction enhancement? *Neurobiol. Learn Mem*. 2016; 130: 26–33.
 140. Godoy L.D, Rossignoli M.T, Delfino-Pereira P, Garcia-Cairasco N, de Lima Umeoka EH. A comprehensive overview on stress neurobiology: Basic concepts and clinical implications. *Front. Behav. Neurosci*. 2018; 12: 127.
 141. Goldman, W. T. *Childhood and Adolescent Anxiety Disorders*. 2001; Retrieved from [tp: //www Keep Kids Healthy.com](http://www.KeepKidsHealthy.com)
 142. Goldsmith D.R, Rapaport M.H, Miller B.J. A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: Comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression. *Mol. Psychiatry*. 2016; 21: 1696–1709.
 143. Gong S, Deng F. Renin-angiotensin system: The underlying mechanisms and promising therapeutical target for depression and anxiety. *Front Immunol*. 2023; 13: 1053136.
 144. Gorham LS, Jernigan T, Hudziak J, Barch DM. Involvement in Sports, Hippocampal Volume, and Depressive Symptoms in Children. *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging*. 2019; 4(5): 484-492.
 145. Green T.A, Baracz S.J, Everett N.A, Robinson K.J, Cornish J.L. Differential effects of GABAA receptor activation in the prelimbic and orbitofrontal cortices on anxiety. *Psychopharmacology*. 2020; 237: 3237–3247.
 146. Greenway D.C, Hindmarsh J.T, Wang J, Khodadeen J.A, Hébert P.C. Reference Interval for Whole Blood Ionized Magnesium in a Healthy Population and the Stability

- of Ionized Magnesium under Varied Laboratory Conditions. *Clin. Biochem.* 1996; 29: 515–520.
147. Gröber U, Schmidt J, Kisters K. Magnesium in Prevention and Therapy. *Nutrients.* 2015; 7(9): 8199-226.
148. Groenestege WM, Hoenderop JG, van den Heuvel L, Knoers N, Bindels RJ. The epithelial Mg²⁺ channel transient receptor potential melastatin 6 is regulated by dietary Mg²⁺ content and estrogens. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17(4): 1035-43.
149. Gruol DL. IL-6 regulation of synaptic function in the CNS. *Neuropharmacology.* 2015; 96 (Pt A): 42-54
150. Guerrero-Romero F, Rodriguez-Moran M. Hypomagnesemia, oxidative stress, inflammation, and metabolic syndrome. *Diabetes Metab Res Rev.* 2006; 22: 471–6
151. Guo M, Sun T, Zhao Z, Ming L. Preoperative Platelet to Albumin Ratio Predicts Outcome of Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2021; 27(2): 84–90.
152. Haapakoski R, Mathieu J, Ebmeier KP, Alenius H, Kivimäki M. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 β , tumour necrosis factor α and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun.* 2015; 49: 206-15.
153. Hans CP, Chaudhary DP, Bansal DD. Magnesium deficiency increases oxidative stress in rats. *Indian J Exp Biol.* 2002; 40: 1275-9.
154. Harsanyi S, Kupcova I, Danisovic L, Klein M. Selected Biomarkers of Depression: What Are the Effects of Cytokines and Inflammation? *Int J Mol Sci.* 2022; 24(1): 578.
155. Hayward J, Jacka FN, Skouteris H, Millar L, Strugnell C, Swinburn BA, Allender S. Lifestyle factors and adolescent depressive symptomatology: Associations and effect sizes of diet, physical activity and sedentary behavior. *Aust. New Zealand J. Psychiatry.* 2016; 50(11): 1064–1073.
156. Hirschfeld RM. History and evolution of the monoamine hypothesis of depression. *J Clin Psychiatry.* 2000; 61 Suppl 6: 4-6.

157. Holwerda SW, Luehrs RE, Gremaud AL, Wooldridge NA, Stroud AK, Fiedorowicz JG, Abboud FM, Pierce GL. Relative burst amplitude of muscle sympathetic nerve activity is an indicator of altered sympathetic outflow in chronic anxiety. *J. Neurophysiol.* 2018; 120: 1
158. Hou D, Wang C, Luo Y, Ye X, Han X, Feng Y, Zhong P, Wu D. Systemic immune-inflammation index (SII) but not platelet-albumin-bilirubin (PALBI) grade is associated with severity of acute ischemic stroke (AIS). *Int J Neurosci.* 2021; 131(12): 1203-1208.
159. Hovatta I, Juhila J, Donner J. Oxidative stress in anxiety and comorbid disorders. *Neurosci Res.* 2010; 68(4): 261-75.
160. Hovatta I, Tennant R.S, Helton R, Marr R.A, Singer O, Redwine J.M, Ellison J.A, Schadt E.E, Verma I.M, Lockhart D.J, et al. Glyoxalase 1 and glutathione reductase 1 regulate anxiety in mice. *Nature.* 2005; 438: 662–666.
161. 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(2): 171-86.
162. [https://doi.org/10.1016/S0014-4835\(77\)80022-5](https://doi.org/10.1016/S0014-4835(77)80022-5).
163. <https://ourworldindata.org/mental-health>
164. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545442/table/appJ_tab3/?report=objectonly
165. Hu J, Wang L, Fan K, Ren W, Wang Q, Ruan Y, Yuan C, Huang G, He J. The Association Between Systemic Inflammatory Markers and Post-Stroke Depression: A Prospective Stroke Cohort. *Clin Interv Aging.* 2021; 16: 1231-1239.
166. Hu J, Wang L, Fan K, Ren W, Wang Q, Ruan Y, Yuan C, Huang G, He J. The Association Between Systemic Inflammatory Markers and Post-Stroke Depression: A Prospective Stroke Cohort. *Clin Interv Aging.* 2021; 16: 1231-1239.
167. Hughes J.W, Watkins L, Blumenthal J.A, Kuhn C, Sherwood A. Depression and anxiety symptoms are related to increased 24-hour urinary norepinephrine excretion among healthy middle-aged women. *J. Psychosom. Res.* 2004; 57: 353–358

168. Inanli I, Aydin M, Caliskan AM, Eren I. Neutrophil/lymphocyte ratio, monocyte/lymphocyte ratio, and mean platelet volume as systemic inflammatory markers in different states of bipolar disorder. *Nord J Psychiatry*. 2019; 73(6): 372–379.
169. Institute of Health Metrics and Evaluation. Global Health Data Exchange (GHDx), (<https://vizhub.healthdata.org/gbd-results/>, accessed 14 May 2022).
170. Institute of Medicine (US) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. Washington (DC): National Academies Press (US); 1997. PMID: 23115811.
171. Iny LJ, Pecknold J, Suranyi-Cadotte BE, Bernier B, Luthe L, Nair NPV, Meaney MJ. Studies of a neurochemical link between depression, anxiety, and stress from [3H] imipramine and [3H] paroxetine binding on human platelets. *Biol. Psychiatry*. 1994; 36: 251–291.
172. Irwin M, Gillin JC. Impaired natural killer cell activity among depressed patients. *Psychiatry Res*. 1987; 20: 181–182.
173. Ising M, Hohne N, Siebertz A, Parchmann AM, Erhardt A, Keck M. Stress Response Regulation in Panic Disorder. *Curr. Pharm. Des*. 2012; 18: 5675–5684.
174. Islam M.R, Ahmed M.U, Islam M.S, Sayeed M.S, Sadia F, Chowdhury Z.S, Nahar Z, Hasnat A. Comparative analysis of serum malondialdehyde, antioxidant vitamins and immunoglobulin levels in patients suffering from generalized anxiety disorder. *Drug Res*. 2014; 64: 406–411.
175. Ismail Y, Ismail AA. The underestimated problem of using serum magnesium measurements to exclude magnesium deficiency in adults; a health warning is needed for “normal” results. *Clin. Chem. Lab. Med*. 2010; 48, 323–327.
176. Izzi B, Tirozzi A, Cerletti C, Donati MB, de Gaetano G, Hoylaerts MF, Iacoviello L, Gialluisi A. Beyond haemostasis and thrombosis: platelets in depression and its co-morbidities. *INT J MOL SCI*. 2020; 21(22): 1–10

177. Jääskeläinen E, Juola T, Korpela H, Lehtiniemi H, Nietola M, Korkeila J, Miettunen J. Epidemiology of psychotic depression - systematic review and meta-analysis. *Psychol Med.* 2018; 48(6): 905-918.
178. Jahnen-Dechent W, Ketteler M. Magnesium basics. *Clin Kidney J.* 2012; 5 (Suppl 1): i3-i14.
179. Jamilian H. Vitamin D, parathyroid hormone, serum calcium and phosphorus in patients with schizophrenia and major depression. *Eur. Psychiatry.* 2020; 26(S2): 1407.
180. Jaso BA, Niciu MJ, Iadarola ND, Lally N, Richards EM, Park M, Ballard ED, Nugent AC, Machado-Vieira R, Zarate CA. Therapeutic Modulation of Glutamate Receptors in Major Depressive Disorder. *Curr Neuropharmacol.* 2017; 15(1): 57-70.
181. Jeroen H, de Baaij F, Joost G, Hoenderop J, Rene J, Bindels M. Regulation of magnesium balance: Lessons learned from human genetic disease. *Clin. Kidney J.* 2012; 5: i15–i24.
182. Joffre C, Rey C, Layé S. N-3 Polyunsaturated Fatty Acids and the Resolution of Neuroinflammation. *Front Pharmacol.* 2019; 10: 1022.
183. Jones BDM, Daskalakis ZJ, Carvalho AF, Strawbridge R, Young AH, Mulsant BH, Husain MI. Inflammation as a treatment target in mood disorders: review. *BJPsych Open.* 2020; 6(4): e60.
184. Jovanović V, Gavrilov-Jerković V, Žuljević D, Brdarić D. Psihometrijska evaluacija skale depresivnosti, anksioznosti i stresa-21 (DASS-21) na uzorku studenata u Srbiji. *Psihologija.* 2014; 47(1): 93–112.
185. Juruena MF, Erer F, Cleare AJ, Young AH. The Role of Early Life Stress in HPA Axis and Anxiety. *Adv Exp Med Biol.* 2020; 1191: 141-153.
186. Kaličanin P. Psihijatrija: poremećaji raspoloženja p.631-689. *Elit Medica Beograd* 2002.
187. Kalueff AV, Nutt DJ. Role of GABA in anxiety and depression. *Depress Anxiety.* 2007;24(7):495-517

188. Kaner G, Soylu M, Yüksel N, Inanç N, Ongan O, Başmısırlı E. Evaluation of nutritional status of patients with depression. *BioMed Res. Int.* 2015; 2015
189. Kennedy N, Abbott R, Paykel ES. Longitudinal syndromal and sub-syndromal symptoms after severe depression: 10-year follow-up study. *Br J Psychiatry.* 2004; 184: 330–6.
190. Khandaker GM, Zuber V, Rees JMB, Carvalho L, Mason AM, Foley CN, Gkatzionis A, Jones PB, Burgess S. Shared mechanisms between coronary heart disease and depression: findings from a large UK general population-based cohort. *Mol Psychiatry.* 2020; 25(7):1477-1486.
191. Kiecolt-Glaser J, Gouin J, Weng N, Malarkey W, Beversdorf D, Glaser R. Childhood adversity heightens the impact of later-life caregiving stress on telomere length and inflammation. *Psychosomatic Medicine.* 2011; 73(1): 16
192. Kirkland A, Sarlo G, Holton K. The Role of Magnesium in Neurological Disorders. *Nutrients.* 2018; 10: 730.
193. Koizumi M, Kondo Y, Isaka A, Ishigami A, Suzuki E. Vitamin C impacts anxiety-like behavior and stress-induced anorexia relative to social environment in SMP30/GNL knockout mice. *Nutr. Res.* 2016; 36: 1379–1391.
194. Kornhuber J, Zoicas I. Neuropeptide Y as Alternative Pharmacotherapy for Antidepressant-Resistant Social Fear. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(21): 8220
195. Koudouovoh-Tripp P. Influence of mental stress on platelet bioactivity. *World J. Psychiatry.* 2012; 2: 134.
196. Kozlovsky N, Matar MA, Kaplan Z, Zohar J, Cohen H: The role of the galaninergic system in modulating stress-related responses in an animal model of posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 2009; 65: 383-391.
197. Kraus C, Castrén E, Kasper S, Lanzenberger R. Serotonin and neuroplasticity - Links between molecular, functional and structural pathophysiology in depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 2017; 77:317-326.

198. Kuloglu M, Atmaca M, Tezcan E, Ustundag B, Bulut S. Antioxidant enzyme and malondialdehyde levels in patients with panic disorder. *Neuropsychobiology*. 2002; 46: 186–189.
199. Kumar A, Chanana P. Role of nitric oxide in stress-induced anxiety: From pathophysiology to therapeutic target. *Vitam. Horm.* 2017; 103: 147–167
200. Kumar K.V.A, Nagwar S, Thyloor R, Satyanarayana S. Anti-stress and nootropic activity of drugs affecting the renin-angiotensin system in rats based on indirect biochemical evidence. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2015; 16: 801–812.
201. Kunugi H, Hori H, Adachi N, Numakawa T. Interface between hypothalamic-pituitary-adrenal axis and brain-derived neurotrophic factor in depression. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2010; 64(5): 447-59.
202. Lamers F, Cui L, Hickie IB, Roca C, Machado-Vieira R, Zarate CA Jr, Merikangas KR. Familial aggregation and heritability of the melancholic and atypical subtypes of depression. *J Affect Disord.* 2016; 204: 241-6.
203. Lang UE, Borgwardt S. Molecular mechanisms of depression: perspectives on new treatment strategies. *Cell Physiol Biochem.* 2013; 31(6): 761-77.
204. Latas M. Anksiozni poremećaji: teorija i praksa. Beograd, Službeni glasnik, 2022. ISBN: 978-86-519-1716-8
205. Li R, Jia Z, Trush MA. Defining ROS in Biology and Medicine. *React Oxyg Species (Apex)*. 2016; 1(1): 9-21.
206. Li W, Hou M, Ding Z, Liu X, Shao Y, Li X. Prognostic Value of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Neurol.* 2021; 12: 686983.
207. Li W, Yu J, Liu Y, Huang X, Abumaria N, Zhu Y, Huang X, Xiong W, Ren C, Liu XG, Chui D, Liu G. Elevation of brain magnesium prevents and reverses cognitive deficits and synaptic loss in Alzheimer's disease mouse model. *J Neurosci.* 2013; 33(19):8423-41
208. Li Y, Hao Y, Fan F, Zhang B. The role of microbiome in insomnia, circadian disturbance and depression. *Front Psychiatry.* 2018; 9: 669.

209. Li Z, Wang W, Xin X, Song X, Zhang D. Association of total zinc, iron, copper and selenium intakes with depression in the US adults. *J. Affect Disord.* 2018; 228: 68–74.
210. Liao Y, Xie B, Zhang H, He Q, Guo L, Subramanieapillai M, Fan B, Lu C, McIntyre RS. Efficacy of omega-3 PUFAs in depression: A meta-analysis. *Transl Psychiatry.* 2019; 9(1): 190.
211. Lim S.Y, Kim E.J, Kim A, Lee H.J, Choi H.J, Yang S.J. Nutritional factors affecting mental health. *Clin. Nutr. Res.* 2016; 5(3): 143–152.
212. Liu H.H, Milgrom P, Fiset L. Effect of a beta-adrenergic blocking agent on dental anxiety. *J. Dent. Res.* 1991; 70: 1306–1308.
213. Liu T, Zhong S, Liao X, Chen J, He T, Lai S, Jia Y. A Meta-Analysis of Oxidative Stress Markers in Depression. *PLoS One.* 2015; 10(10): e0138904.
214. Liu, Q.; He, H.; Yang, J.; Feng, X.; Zhao, F.; Lyu, J. Changes in the global burden of depression from 1990 to 2017: Findings from the Global Burden of Disease study. *J. Psychiatr. Res.* 2020; 126, 134–140.
215. Long S, Romani AM. Role of Cellular Magnesium in Human Diseases. *Austin J Nutr Food Sci.* 2014 Nov 18;2(10):1051. PMID: 25839058; PMCID: PMC4379450.
216. Łoś K, Waszkiewicz N. Biological Markers in Anxiety Disorders. *J Clin Med.* 2021; 10(8): 1744.
217. Lovibond PF, Lovibond SH. The structure of negative emotional states: comparison of the Depression Anxiety Stress Scales (DASS) with the Beck Depression and Anxiety Inventories. *Behav Res Ther.* 1995 Mar;33(3):335-43
218. Lu WC, Pringa E, Chou L. Effect of magnesium on the osteogenesis of normal human osteoblasts. *Magnes Res.* 2017; 30(2): 42-52.
219. Lucido MJ, Bekhbat M, Goldsmith DR, Treadway MT, Haroon E, Felger JC, Miller AH. Aiding and Abetting Anhedonia: Impact of Inflammation on the Brain and Pharmacological Implications. *Pharmacol Rev.* 2021; 73(3): 1084-1117.

220. Lutter M, Nestler EJ: Homeostatic and hedonic signals interact in the regulation of food intake. *J Nutr.* 2009; 139: 629-632
221. Maes M. Major depression and activation of the inflammatory response system. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1999; (461): 25–46.
222. Malison RT, Price LH, Berman R, van Dyck CH, Pelton GH, Carpenter L, Sanacora G, Owens MJ, Nemeroff CB, Rajeevan N, Baldwin RM, Seibyl JP, Innis RB, Charney DS. Reduced brain serotonin transporter availability in major depression as measured by [123I]-2 beta-carbomethoxy-3 beta-(4-iodophenyl) tropane and single photon emission computed tomography. *Biol Psychiatry.* 1998; 44(11): 1090-8.
223. Marcolongo-Pereira C, Castro FCAQ, Barcelos RM, Chiepe KCMB, Rossoni Junior JV, Ambrosio RP, Chiarelli-Neto O, Pesarico AP. Neurobiological mechanisms of mood disorders: Stress vulnerability and resilience. *Front Behav Neurosci.* 2022; 16: 1006836.
224. Martins JG, Bentsen H, Puri BK: Eicosapentaenoic acid appears to be the key omega-3 fatty acid component associated with efficacy in major depressive disorder: a critique of Bloch and Hannestad and updated meta-analysis. *Mol Psychiatry* 2012; 17: 1144-1149.
225. Marx A, Neutra R.R. Magnesium in drinking water and ischemic heart disease. *Epidemiol. Rev.* 1997; 19: 258–272.
226. Mason A, Holmes C, Edwards C.J. Inflammation and Dementia: Using Rheumatoid Arthritis as a Model to Develop Treatments? *Autoimmun. Rev.* 2018; 17: 919–925.
227. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 2006; 3(11): e442.
228. Mazza MG, Tringali A, Rossetti A, Botti RE, Clerici M. Cross-sectional study of neutrophil-lymphocyte, platelet-lymphocyte and monocyte-lymphocyte ratios in mood disorders. *Gen Hosp Psychiatry.* 2019; 58: 7–12
229. McLean CP, Asnaani A, Litz BT, Hofmann SG. Gender differences in anxiety disorders: prevalence, course of illness, comorbidity and burden of illness. *J Psychiatr Res.* 2011; 45(8): 1027-35.

230. Meaney MJ, Szyf M. Environmental programming of stress responses through DNA methylation: life at the interface between a dynamic environment and a fixed genome. *Dialogues Clin Neurosci.* 2005; 7(2): 103-23.
231. Medalle R, Waterhouse C, Hahn T.J. Vitamin D resistance in magnesium deficiency. *Am. J. Clin. Nutr.* 1976; 29: 854–858.
232. Mental Health and COVID-19: Early evidence of the pandemic's impact. Geneva: World Health Organization; 2022.
233. Meyerspeer M, Boesch C, Cameron D, Dezortová M, Forbes SC, Heerschap A, Jeneson JAL, Kan HE, Kent J, Layec G, Prompers JJ, Reyngoudt H, Sleight A, Valkovič L, Kemp GJ; Experts' Working Group on 31P MR Spectroscopy of Skeletal Muscle. 31 P magnetic resonance spectroscopy in skeletal muscle: Experts' consensus recommendations. *NMR Biomed.* 2020; 34(5): e4246.
234. Michopoulos V, Powers A, Gillespie CF, Ressler KJ, Jovanovic T. Inflammation in Fear-and Anxiety-Based Disorders: PTSD, GAD, and beyond. *Neuropsychopharmacology.* 2017; 42: 254–270.
235. Miller AH, Haroon E, Felger JC. Therapeutic Implications of Brain-Immune Interactions: Treatment in Translation. *Neuropsychopharmacology.* 2017; 42(1): 334-359.
236. Miller AH, Raison CL. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat Rev Immunol.* 2016; 16(1): 22-34.
237. Miljević ČD, Nikolić-Kokić A, Blagojević D, Milovanović M, Munjiza A, Jukić MM, Pešić V, Lečić-Toševski D, Spasić MB. Association between neurological soft signs and antioxidant enzyme activity in schizophrenic patients. *Psychiatry Res.* 2018; 269:746-752.
238. Mineur YS, Picciotto MR. Nicotine receptors and depression: revisiting and revising the cholinergic hypothesis. *Trends Pharmacol Sci.* 2010; 31(12): 580-6.
239. Miroslava Jašović Gašić, Dušica Lečić Toševski. Psihijatrija. Medicinski Fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2007. Poglavlje poremećaji raspoloženja p.p.145-149.

240. Mischoulon D, Raab MF: The role of folate in depression and dementia. *J Clin Psychiatry*. 2007; 68: 28-33.
241. MEĐUNARODNA STATISTIČKA KLASIFIKACIJA BOLESTI I SRODNIH ZDRAVSTVENIH PROBLEMA Deseta revizija, knjiga 2, Institut za javno zdravlje Srbije "Dr Milan Jovanović Batut", Beograd, 2010
242. Möhler H. The GABA system in anxiety and depression and its therapeutic potential. *Neuropharmacology*. 2012; 62(1): 42-53.
243. Moritz B, Schmitz AE, Rodrigues ALS, Dafre AL, Cunha MP. The role of vitamin C in stress-related disorders. *J. Nutr. Biochem*. 2020; 85: 108459.
244. Mousain-Bosc M, Roche M, Polge A, Pradal-Prat D, Rapin J, Bali J.P. Improvement of neurobehavioral disorders in children supplemented with magnesium-vitamin B6. I. Attention deficit hyperactivity disorders. *Magnes. Res*. 2006; 19: 46–52
245. Mrug S, Orihuela C, Mrug M, Sanders PW. Sodium and potassium excretion predict increased depression in urban adolescents. *Physiol Rep*. 2019; 7(16): e14213.
246. Myint AM. Kynurenines: from the perspective of major psychiatric disorders. *FEBS J*. 2012; 279(8): 1375–1385.
247. Nadler MJ, Hermosura MC, Inabe K, Perraud AL, Zhu Q, Stokes AJ, Kurosaki T, Kinet JP, Penner R, Scharenberg AM, Fleig A. LTRPC7 is a Mg.ATP-regulated divalent cation channel required for cell viability. *Nature*. 2001; 411(6837):590-5.
248. Najjar S, Pearlman DM, Alper K, Najjar A, Devinsky O. Neuroinflammation and psychiatric illness. *J Neuroinflammation*. 2013; 10:43.
249. Nakamura M, Miura A, Nagahata T, Shibata Y, Okada E, Ojima T. Low Zinc, Copper, and Manganese Intake is Associated with Depression and Anxiety Symptoms in the Japanese Working Population: Findings from the Eating Habit and Well-Being Study. *Nutrients*. 2019; 11(4): 847.
250. Napolitano G, Fasciolo G, Venditti P. The Ambiguous Aspects of Oxygen. *Oxygen*. 2022; 2(3): 382-409.

251. Nater UM, Rohleder N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. *Psychoneuroendocrinology*. 2009; 34(4): 486-96.
252. Naumovs V, Groma V, Mednieks J. From Low-Grade Inflammation in Osteoarthritis to Neuropsychiatric Sequelae: A Narrative Review. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(24): 16031.
253. Nechifor M. Magnesium in major depression. *Magnes Res*. 2009; 22(3): 163s–6s.
254. Nettleton JA, Steffen LM, Mayer-Davis EJ, Jenny NS, Jiang R, Herrington DM, Jacobs DR Jr. Dietary patterns are associated with biochemical markers of inflammation and endothelial activation in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Clin Nutr*. 2006; 83(6):1369-79.
255. Nguyen K.T, Deak T, Owens S.M, Kohno T, Fleshner M, Watkins L.R, Maier S.F. Exposure to Acute Stress Induces Brain Interleukin-1 β Protein in the Rat. *J. Neurosci*. 1998; 18: 2239–2246.
256. Nicholson A, Kuper H, Hemingway H. Depression as an aetiologic and prognostic factor in coronary heart disease: a meta-analysis of 6362 events among 146 538 participants in 54 observational studies. *Eur Heart J*. 2006; 27(23):2763-74.
257. Nielsen FH. Magnesium deficiency and increased inflammation: current perspectives. *J Inflamm Res*. 2018; 11: 25-34.
258. Nobis A, Zalewski D, Waszkiewicz N. Peripheral Markers of Depression. *J Clin Med*. 2020; 9(12): 3793.
259. Novović Z, Mihić L, Tovilović S, Jovanović V, Biro, M. Psihometrijske karakteristike Bekove skale depresivnosti na uzorku studenata u Srbiji. *Psihologija*. 2011; 44(3): 225-243.
260. Oddoux S, Violette P, Cornet J, Akkoyun-Farinez J, Besnier M, Noel A, Rouillon F. Effect of a Dietary Supplement Combining Bioactive Peptides and Magnesium on Adjustment Disorder with Anxiety: A Clinical Trial in General Practice. *Nutrients*. 2022; 14: 2425.

261. Olfson M, Mojtabai R, Merikangas KR, Compton WM, Wang S, Grant BF, Blanco C. Reexamining associations between mania, depression, anxiety and substance use disorders: results from a prospective national cohort. *Mol Psychiatry*. 2017; 22(2):235-241.
262. Oni O.D, Olagunju A.T, Olisah V.O, Aina A.F, Ojini F.I. Post-stroke depression: prevalence, associated factors and impact on quality of life among outpatients in a Nigerian hospital. *S. Afr. J. Psychiatr.* 2018; 24: 1058.
263. Orrenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003; 4: 552–565.
264. Osimo EF, Baxter LJ, Lewis G, Jones PB, Khandaker GM. Prevalence of low-grade inflammation in depression: a systematic review and meta-Analysis of CRP levels. *Psychol Med.* 2019; 49: 1958–70.
265. Osimo EF, Cardinal RN, Jones PB, Khandaker GM. Prevalence and correlates of low-grade systemic inflammation in adult psychiatric inpatients: An electronic health record-based study. *Psychoneuroendocrinology.* 2018; 91:226-234..
266. Owens MJ, Nemeroff CB. Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin Chem.* 1994; 40: 288–295
267. 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
268. Padron-Monedero A, Rodríguez-Artalejo F, Lopez-Garcia E. Dietary micronutrients intake and plasma fibrinogen levels in the general adult population. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 3843.
269. Palmer BF, Clegg DJ. Electrolyte and Acid-Base Disturbances in Patients with Diabetes Mellitus. *N Engl J Med.* 2015; 373(6): 548-59.
270. Pappa S, Ntella V, Giannakas T, Giannakoulis VG, Papoutsis E, Katsaounou P. Prevalence of depression, anxiety, and insomnia among healthcare workers during the COVID-19 pandemic: A systematic review and meta-analysis. *Brain Behav Immun.* 2020; 88: 901-907.

271. Peng C, Wang X, Chen J, Jiao R, Wang L, Li YM, Zuo Y, Liu Y, Lei L, Ma KY, Huang Y, Chen ZY. Biology of ageing and role of dietary antioxidants. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 831841.
272. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest.* 2003 Jun; 111(12): 1805-12.
273. Perez de la Mora M, Gallegos-Cari A, Crespo-Ramirez M, Marcellino D, Hansson A.C, Fuxe K. Distribution of dopamine D (2)-like receptors in the rat amygdala and their role in the modulation of unconditioned fear and anxiety. *Neuroscience.* 2012; 201: 252–266.
274. Pinto JV, Moulin TC, Amaral OB. On the transdiagnostic nature of peripheral biomarkers in major psychiatric disorders: a systematic review. *Neurosci Biobehav Rev* 2017; 83: 97–108.
275. Poleszak E, Vlaz P, Vrobel A, Fidecka S, Novak G. NMDA/glutamate mechanism of magnesium-induced anxiolytic behavior in mice. *Pharmacol. Tail.* 2008; 60: 655–663
276. Pravina P, Sayaji D, Avinash M. Calcium and its role in human body. *Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci.* 2013; 4(2): 659–668
277. Raison CL, Miller AH. Is depression an inflammatory disorder? *Curr Psychiatry Rep.* 2011; 13: 467–75.
278. Rammal H, Bouayed J, Younos C, Soulimani R. The impact of high anxiety level on the oxidative status of mouse peripheral blood lymphocytes, granulocytes and monocytes. *Eur. J. Pharmacol.* 2008; 589: 173–175.
279. Ransing R.S, Patil B, Grigo O. Mean platelet volume and platelet distribution width level in patients with panic disorder. *J. Neurosci. Rural Pract.* 2017; 8: 174–178.
280. Rayana M.C.B, Burnett R.W, Covington A.K, D’Orazio P, Fogh-Andersen N, Jacobs E, Külpmann W.R, Kuwa K, Larsson L, Lewenstam A, et al. Guidelines for Sampling, Measuring and Reporting Ionized Magnesium in Undiluted Serum, Plasma or Blood: International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC): IFCC Scientific Division, Committee on Point of Care Testing. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2005; 43: 564–569.

281. Rayssiguier Y, Libako P, Nowacki W, Rock E. Magnesium deficiency and metabolic syndrome: Stress and inflammation may reflect calcium activation. *Magn. Res.* 2010; 23(2): 73–80
282. Razzaque MS. Magnesium: Are We Consuming Enough? *Nutrients.* 2018; 10 (12): 1863.
283. Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V, Ng C, Hama S, Gangopadhyay A, Shih DM, Lusic AJ, Navab M, Fogelman AM. Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21(4): 542-7.
284. Reeves J.W, Fisher A.J, Newman M.G, Granger D.A. Sympathetic and hypothalamic-pituitary-adrenal asymmetry in generalized anxiety disorder. *Psychophysiology.* 2016; 53: 951–957.
285. Rehm J, Shield KD. Global Burden of Disease and the Impact of Mental and Addictive Disorders. *Curr Psychiatry Rep.* 2019; 21(2): 10.
286. Repova K, Baka T, Krajcirovicova K, Stanko P, Aziriova S, Reiter RJ, Simko F. Melatonin as a Potential Approach to Anxiety Treatment. *Int J Mol Sci.* 2022; 19; 23(24): 16187.
287. Reyngoudt H, Lopez Kolkovsky AL, Carlier PG. Free intramuscular Mg^{2+} concentration calculated using both ^{31}P and 1H NMRS-based pH in the skeletal muscle of Duchenne muscular dystrophy patients. *NMR Biomed.* 2019; 32(9): e4115.
288. Reynolds EH: Folic acid, ageing, depression, and dementia. *BMJ.* 2002; 324: 1512-1515
289. Reynolds JL, Joannides AJ, Skepper JN, McNair R, Schurgers LJ, Proudfoot D, Jahn-Dechent W, Weissberg PL, Shanahan CM. Human vascular smooth muscle cells undergo vesicle-mediated calcification in response to changes in extracellular calcium and phosphate concentrations: a potential mechanism for accelerated vascular calcification in ESRD. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15(11):2857-67.

290. Richard C, Galudie J. Role of cytokines in the acute phase response, in: Aggarwal, B.B, Puri, R.K, (Eds.), *Human Cytokines: Their Role in Disease and Therapy*. Balckwell Science, Cambridge, Massachusetts, 1995; pp.253-269.
291. Riley J.M, Kim H, Averch T.D, Kim H.J. Effect of magnesium on calcium and oxalate ion binding. *J. Endourol*. 2013; 27: 1487–1492.
292. Risco F, Traba M.L. Possible involvement of a magnesium dependent mitochondrial alkaline phosphatase in the regulation of the 25-hydroxyvitamin D3-1 alpha-and 25-hydroxyvitamin D3-24r-hydroxylases in llc-pk1 cells. *Magnes. Res*. 1994; 7: 169–178.
293. Riveros ME, Ávila A, Schruers K, Ezquer F. Antioxidant Biomolecules and Their Potential for the Treatment of Difficult-to-Treat Depression and Conventional Treatment-Resistant Depression. *Antioxidants (Basel)*. 2022; 11(3): 540.
294. Romani A. Regulation of magnesium homeostasis and transport in mammalian cells. *Arch Biochem Biophys*. 2007; 458(1): 90-102.
295. Roohi E, Jaafari N, Hashemian F. On inflammatory hypothesis of depression: what is the role of IL-6 in the middle of the chaos? *J Neuroinflammation*. 2021; 18(1): 45.
296. Rosanoff A, Wolf F.I. A guided tour of presentations at the xiv international magnesium symposium. *Magnes. Res*. 2016; 29: 55–59
297. Rosca O, Bumbu BA, Ancusa O, Talpos S, Urechescu H, Ursoniu S, Bloanca V, Pricop M. The Role of C- Reactive Protein and Neutrophil to Lymphocyte Ratio in Predicting the Severity of Odontogenic Infections in Adult Patients. *Medicina (Kaunas)*. 2022; 59(1): 20.
298. Ruderfer DM, Walsh CG, Aguirre MW, et al. Significant shared heritability underlies suicide attempt and clinically predicted probability of attempting suicide. *Mol Psychiatry*. 2020; 25(10): 2422-2430
299. Ruscio A.M, Brown T.A, Chiu W.T, Sareen J, Stein M.B, Kessler R.C. Social fears and social phobia in the USA: Results from the National Comorbidity Survey Replication. *Psychol. Med*. 2008; 38: 15–28.

300. Salmani H, Hosseini M, Baghcheghi Y, Moradi-Marjaneh R, Mokhtari-Zaer A. Losartan modulates brain inflammation and improves mood disorders and memory impairment induced by innate immune activation: The role of PPAR- γ activation. *Cytokine*. 2020; 125: 154860.
301. Saloni Dattani, Hannah Ritchie and Max Roser (2021) - "Mental Health". Published online at OurWorldInData.org. Retrieved from: '<https://ourworldindata.org/mental-health>' [Online Resource]
302. 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
303. Saris NE, Mervaala E, Karppanen H, Khawaja JA, Lewenstam A. Magnesium. An update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clin Chim Acta*. 2000; 294(1-2): 1-26.
304. Saris NE, Mervaala E, Karppanen H, Khawaja JA, Lewenstam A. Magnesium. An update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clin Chim Acta*. 2000; 294 (1-2): 1-26.
305. Sarrafzadegan N, Khosravi-Boroujeni H, Lotfizadeh M, Pourmogaddas A, Salehi-Abargouei A. Magnesium status and the metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition*. 2016; 32(4): 409-17.
306. Sato H, Tsukamoto-Yasui M, Takado Y, Kawasaki N, Matsunaga K, Ueno S, Kanda M, Nishimura M, Karakawa S, Isokawa M, Suzuki K, Nagao K, Higuchi M, Kitamura A. Protein deficiency-induced behavioral abnormalities and neurotransmitter loss in aged mice are ameliorated by essential amino acids. *Front. Nutr*. 2020; 7: 23.
307. Savić Vujović K, Vučković S, Vasović D, Medić B, Stojanović R, Divac N, Srebro D, Prostran M. Involvement of serotonergic and opioidergic systems in the antinociceptive effect of ketamine-magnesium sulphate combination in formalin test in rats. *Pharmacol Rep*. 2019; 71(6): 1014-1019.

308. Scarpati G, Baldassarre D, Oliva F, Pascale G, Piazza O. Ionized or Total Magnesium Levels, What Should We Measure in Critical Ill Patients? *Transl. Med. UniSa*. 2020; 23: 68–76.
309. Schiepers OJ, Wichers MC, Maes M. Cytokines and major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005; 29(2): 201-17.
310. Schleifer S.J, Keller S.E, Meyerson A.T, Raskin M.J, Davis K.L, Stein M. Lymphocyte function in major depressive disorder. *Arch. Gen. Psychiatry*. 1984; 41: 484–486.
311. Schlingmann KP, Weber S, Peters M, Niemann Nejsum L, Vitzthum H, Klingel K, Kratz M, Haddad E, Ristoff E, Dinour D, Syrrou M, Nielsen S, Sassen M, Waldegger S, Seyberth HW, Konrad M. Hypomagnesemia with secondary hypocalcemia is caused by mutations in TRPM6, a new member of the TRPM gene family. *Nat Genet*. 2002; 31(2):166-70.
312. Schuchardt JP, Hahn A. Intestinal Absorption and Factors Influencing Bioavailability of Magnesium-An Update. *Curr Nutr Food Sci*. 2017; 13(4): 260-278..
313. Schutten JC, Gomes-Neto AW, Navis G, Gansevoort RT, Dullaart RPF, Kootstra-Ros JE, Danel RM, Goorman F, Gans ROB, de Borst MH, Jeyarajah EJ, Shalurova I, Otvos JD, Connelly MA, Bakker SJL. Lower Plasma Magnesium, Measured by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, is Associated with Increased Risk of Developing Type 2 Diabetes Mellitus in Women: Results from a Dutch Prospective Cohort Study. *J Clin Med*. 2019; 8(2): 169.
314. Schwartz RD, Wagner JP, Yu Ks, Martin D. Bidirectional Modulation of GABA-Gated Chloride Channel by Divalent Cation: Inhibition by Ca²⁺ and Enhancement by Mg²⁺ J. *Neurochem*. 1994; 62: 916–922.
315. Serita T, Miyahara M, Tanimizu T, Takahashi S, Oishi S, Nagayoshi T, Tsuji R, Inoue H, Uehara M, Kida S. Dietary magnesium deficiency impairs hippocampus-dependent memories without changes in the spine density and morphology of hippocampal neurons in mice. *Brain Res Bull*. 2019; 144: 149-157.
316. Serita T, Miyahara M, Tanimizu T, Takahashi S, Oishi S, Nagayoshi T, Tsuji R, Inoue H, Uehara M, Kida S. Dietary magnesium deficiency impairs hippocampus-dependent

- memories without changes in the spine density and morphology of hippocampal neurons in mice. *Brain Res Bull.* 2019; 144: 149-157.
317. Seyama T, Kamei Y, Iriyama T, Imada S, Ichinose M, Toshimitsu M, Fujii T, Asou H. Pretreatment with magnesium sulfate attenuates white matter damage by preventing cell death of developing oligodendrocytes. *J Obstet Gynaecol Res.* 2018; 44(4): 601-607.
318. Shahrami A, Assarzagdegan F, Hatamabadi H.R, Asgarzadeh M, Sarehbandi B, Asgarzadeh S. Comparison of therapeutic effects of magnesium sulfate vs. dexamethasone/metoclopramide on alleviating acute migraine headache. *J. Emerg. Med.* 2015; 48: 69–76.
319. Simental-Mendia LE, Sahebkar A, Rodriguez-Moran M, Zambrano-Galvan G, Guerrero-Romero F. Effect of magnesium supplementation on plasma C-reactive protein concentrations: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Curr. Pharm. Des.* 2017; 23(31): 4678–4686.
320. Sinclair R, Millar L, Allender S, Snowdon W, Waqa G, Jacka F, Swinburn B. The cross-sectional association between diet quality and depressive symptomology amongst Fijian adolescents. *PLoS One.* 2016; 11(8)
321. Slutsky I, Sadeghpour S, Li B, Liu G. Enhancement of synaptic plasticity through chronically reduced Ca²⁺ flux during uncorrelated activity, *Neuron*, 44 (2004), pp. 835-849
322. Smith R.S. The macrophage theory of depression. *Med. Hypotheses.* 1991; 35(4): 298–306.
323. Snowdon J. Is Depression More Prevalent in Old Age? *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry.* 2001; 35(6): 782-787.
324. Sobocki P, Jönsson B, Angst J, Rehnberg C. Cost of depression in Europe. *J Ment Health Policy Econ.* 2006; 9(2): 87-98. PMID: 17007486.
325. Soliven B, Albert J. Tumor necrosis factor modulates Ca²⁺ currents in cultured sympathetic neurons. *J Neurosci.* 1992; 12(7): 2665-71.

326. Song Y, Li TY, van Dam RM, Manson JE, Hu FB. Magnesium intake and plasma concentrations of markers of systemic inflammation and endothelial dysfunction in women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2007; 85(4): 1068–1074.
327. Sousa T, Afonso J, Carvalho F, Albino-Teixeira A. Lipid peroxidation and antioxidants in arterial hypertension. In: Catala A, editor. *Lipid Peroxidation*. InTech; 2012 Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/50346>
328. Spasov AA, Iezhitsa IN, Kravchenko MS, Kharitonova MV. Features of central neurotransmission in animals in conditions of dietary magnesium deficiency and after its correction. *Neurosci Behav Physiol.* 2009; 39(7): 645-53.
329. Spätling L, Classen HG, Külpmann WR, et al. [Diagnosing magnesium deficiency. Current recommendations of the Society for Magnesium Research]. *Fortschritte der Medizin. Originalien.* 2000; 118 Suppl 2: 49-53.
330. Speich M, Bousquet B, Nicolas G. Reference values for ionized, complexed, and protein-bound plasma magnesium in men and women. *Clin Chem.* 1981; 27: 246–248.
331. Spencer S.J, Xu L, Clarke M.A, Lemus M, Reichenbach A, Geenen B, Kozicz T, Andrews Z.B. Ghrelin regulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and restricts anxiety after acute stress. *Biol. Psychiatry.* 2012; 72: 457–465.
332. Stangherlin A, O'Neill JS. Signal Transduction: Magnesium Manifests as a Second Messenger. *Curr Biol.* 2018; 28(24): R1403-R1405.
333. Suneson K, Lindahl J, Chamli Hårsmar S, Söderberg G, Lindqvist D. Inflammatory Depression-Mechanisms and Non-Pharmacological Interventions. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(4): 1640.
334. Swaminathan R. Magnesium metabolism and its disorders. *Clin Biochem Rev.* 2003; 24 (2): 47-66.
335. Szebeni A, Szebeni K, DiPeri TP, Johnson LA, Stockmeier CA, Crawford JD, Chandley MJ, Hernandez LJ, Burgess KC, Brown RW, Ordway GA. Elevated DNA Oxidation and DNA Repair Enzyme Expression in Brain White Matter in Major Depressive Disorder. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2017; 20 (5): 363-373.

336. Takai N, Yamaguchi M, Aragaki T, Eto K, Uchihashi K, Nishikawa Y. Effect of psychological stress on the salivary cortisol and amylase levels in healthy young adults. *Arch. Oral Biol.* 2004; 49: 963–968.
337. Tang X, Cao Y, Liu J, Wang S, Yang Y, Du P. Diagnostic and Predictive Values of Inflammatory Factors in Pathology and Survival of Patients Undergoing Total Cystectomy. *Mediators Inflamm.* 2020; 2020:9234067.
338. Tarleton EK, Littenberg B, MacLean CD, Kennedy AG, Daley C. Role of magnesium supplementation in the treatment of depression: A randomized clinical trial. *PLoS One.* 2017; 12(6): e0180067.
339. Taylor S.N. Calcium, Magnesium, Phosphorus, and Vitamin D. *World Rev. Nutr. Diet.* 2021; 122: 122–139.
340. Tian H, Hu Z, Xu J, Wang C. The molecular pathophysiology of depression and the new therapeutics. *MedComm (2020).* 2022; 3(3): e156.
341. Tofani T, Mannelli L, Zanardelli M, Ghelardini C, Pallanti S. P.1.f.003 an immunologic profile study in drug-naïve generalized anxiety non depressed patients: A pilot study. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2015; 25: S226.
342. Touyz R. Magnesium in clinical medicine. *Front Biosci* 2004; 9: 1278-93.
343. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature* 2002; 420: 853-859
344. Trajković G, Bukumirić Z. *Medicinska statistika u R programskom okruženju.* Akademska misao, Beograd, 2020.
345. Troubat R, Barone P, Leman S, Desmidt T, Cressant A, Atanasova B, Brizard B, El Hage W, Surget A, Belzung C, et al. Neuroinflammation and Depression: A Review. *Eur. J. Neurosci.* 2021; 53: 151–171.
346. Uwitonze AM, Razzaque MS. Role of magnesium in vitamin D activation and function. *J. Am. Osteopath. Assoc.* 2018; 118: 181–189.

347. van Veen JF, van Vliet IM, Derijk RH, van Pelt J, Mertens B, Zitman FG. Elevated alpha-amylase but not cortisol in generalized social anxiety disorder. *Psychoneuroendocrinology*. 2008; 33: 1313–1321.
348. Veen G, Giltay EJ, Vreeburg SA, Licht CM, Cobbaert CM, Zitman FG, Penninx BW. Determinants of salivary evening α -amylase in a large sample free of psychopathology. *Int J Psychophysiol*. 2012; 84(1): 33-8.
349. Vidović B, Dorđević B, Milovanović S, Škrivanj S, Pavlović Z, Stefanović A, Kotur-Stevuljević J. Selenium, zinc, and copper plasma levels in patients with schizophrenia: relationship with metabolic risk factors. *Biol Trace Elem Res*. 2013; 156(1-3): 22-8.
350. Vidović B, Stefanović A, Milovanović S, Dorđević B, Kotur-Stevuljević J, Ivanišević J, Miljković M, Spasić S. Associations of oxidative stress status parameters with traditional cardiovascular disease risk factors in patients with schizophrenia. *Scand J Clin Lab Invest*. 2014; 74(3): 184-91.
351. Vierling, W.; Liebscher, D.H.; Micke, O.; von Ehrlich, B.; Kisters, K. Magnesium deficiency and therapy in cardiac arrhythmias: Recommendations of the German Society for Magnesium Research. *Dtsch. Med. Wochenschr*. 2013, 138, 1165–1171.
352. Vink R, Nechifor M, editors. *Magnesium in the Central Nervous System* [Internet]. Adelaide (AU): University of Adelaide Press; 2011. PMID: 29919999.
353. Vogelzangs N, Beekman ATF, de Jonge P, Penninx BWJH. Anxiety disorders and inflammation in a large adult cohort. *Transl. Psychiatry*. 2013; 3: e249.
354. Von Ehrlich E, Barbagallo M, Classen HG, Guerrero-Romero F, Morren FC, Rodriguez-Moran M, Vierling W, Vormann J, Kisters K. The significance of magnesium in insulin resistance, metabolic syndrome, and diabetes—Recommendations of the Association of Magnesium Research e.V. *Diabetol. Stoffwechs*. 2014; 9, 96–100
355. Vormann J. Update: Magnesium und Diabetes. *OM—Z. Orthomol. Med*. 2014, 1, 6–8.
356. WALSER M. Ion association. VI. Interactions between calcium, magnesium, inorganic phosphate, citrate and protein in normal human plasma. *J Clin Invest*. 1961; 40(4): 723-30.

357. Wang D, Lin W, Pan Y, Kuang X, Qi X, Sun H. Chronic blockade of glucocorticoid receptors by RU486 enhances lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviour and cytokine production in rats. *Brain Behav. Immun.* 2011; 25(4): 706–714
358. Wang G, Si TM, Li L, Fang Y, Wang CX, Wang LN, Tan KHX, Ettrup A, Eriksen HF, Luo S, Ge L. Cognitive symptoms in major depressive disorder: associations with clinical and functional outcomes in a 6-month, non-interventional, prospective study in China. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2019;15:1723-1736.
359. Wang W, Lin W, Chen G, You Z. History and main research of psychoneuroimmunology in China. *Brain Behav Immun Health.* 2022; 26: 100562.
360. Wang X, Lin J, Liu Q, Lv X, Wang G, Wei J, Zhu G, Chen Q, Tian H, Zhang K, Wang X, Zhang N, Yu X, Su YA, Si T. Major depressive disorder comorbid with general anxiety disorder: Associations among neuroticism, adult stress, and the inflammatory index. *J Psychiatr Res.* 2022;148:307-314.
361. Wei Y, Feng J, Ma J, Chen D, Xu H, Yin L, Chen J. Characteristics of platelet-associated parameters and their predictive values in Chinese patients with affective disorders. *BMC Psychiatry.* 2022; 22 (1): 150.
362. Witkowski M, Hubert J, Mazur A. Methods of assessment of magnesium status in humans: a systematic review. *Magnes Res.* 2011; 24(4): 163-80.
363. Workinger JL, Doyle RP, Bortz J. Challenges in the Diagnosis of Magnesium Status. *Nutrients.* 2018; 10(9): 1202.
364. World Health Organization. Depression and other common mental disorders: global health estimates. Geneva: World Health Organization; (2017)
365. Wu G, Feder A, Wegener G, Bailey C, Saxena S, Charney D, Mathé AA: Central functions of neuropeptide Y in mood and anxiety disorders. *Expert Opin Ther Targets* 2011; 15: 1317-1331.
366. Yang J, Wise L, Fukuchi K.-I. TLR4 Cross-Talk With NLRP3 Inflammasome and Complement Signaling Pathways in Alzheimer’s Disease. *Front. Immunol.* 2020; 11: 724.

367. Yazar, Tamer, and Hulya Olgun Yazar. "Evaluation of C-reactive Protein/Albumin Ratio According to Stage in Patients with Idiopathic Parkinson Disease/Idiyopatik Parkinson Hastaligi Tanisi Olan Hastalarda Evrelere Gore C-reaktif Protein/Albumin Oranlarinin Degerlendirilmesi." *Turkish Journal of Neurology*, vol. 25, no. 3, Sept. 2019, pp. 123+. Gale Academic OneFile, link.gale.com/apps/doc/A603468881/AONE?u=anon~d85a056&sid=googleScholar&xid=ed94c53b. Accessed 28 Feb. 2023.
368. Yu Q, Weng W, Zhou H, Tang Y, Ding S, Huang K, Liu Y. Elevated platelet parameter in first-episode schizophrenia patients: a cross-sectional study. *J Interferon Cytokine Res*. 2020; 40(11): 524–529.
369. Zarrindast M.-R, Khakpai F. The modulatory role of dopamine in anxiety-like behavior. *Arch. Iran. Med*. 2015; 18: 591–603.
370. Zhang FF, Peng W, Sweeney JA, Jia ZY, Gong QY. Brain structure alterations in depression: Psychoradiological evidence. *CNS Neurosci Ther*. 2018; 24(11): 994- 1003.
371. Zhang J, Rong P, Zhang L, He H, Zhou T, Fan Y, Mo L, Zhao Q, Han Y, Li S, Wang Y, Yan W, Chen H, You Z. IL4-driven microglia modulate stress resilience through BDNF-dependent neurogenesis. *Sci Adv*. 2021b; 7(12): eabb9888.
372. Zhang JC, Yao W, Hashimoto K. Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF)-TrkB Signaling in Inflammation-related Depression and Potential Therapeutic Targets. *Curr Neuropharmacol*. 2016; 14(7): 721-31.
373. Zhang Y, Zheng L, Quan L, Du L. Prognostic role of platelet-to-lymphocyte ratio in oral cancer: A meta-analysis. *J Oral Pathol Med*. 2021; 50(3): 274–279.
374. Zheltova AA, Kharitonova MV, Iezhitsa IN, Spasov AA. Magnesium deficiency and oxidative stress: an update. *Biomedicine (Taipei)*. 2016; 6(4):20.
375. Zhou B, Zhu Z, Ransom BR, Tong X. Oligodendrocyte lineage cells and depression. *Mol Psychiatry*. 2021; 26(1):103-117.
376. Zhou Y, Ma Y, Wu Q, Wang Q, Yang WFZ, Wang Y, Yang D, Luo Y, Tang K, Liu T, Wang D. Comparison of Thyroid Hormone Levels Between Patients With Major

- Depressive Disorder and Healthy Individuals in China. *Front Psychiatry*. 2021; 12: 750749.
377. Zhu I, Auerbach A. Occupancy of Na⁺ and Mg²⁺ block the N-methyl-d-aspartate receptor channel. *J. Gen. Physiol*. 2001; 117: 275–286.
378. Zhu X, Shrubsole MJ, Ness RM, Hibler EA, Cai Q, Long J, Chen Z, Li G, Jiang M, Hou L, Kabagambe EK, Zhang B, Smalley WE, Edwards TL, Giovannucci EL, Zheng W, Dai Q. Calcium/magnesium intake ratio, but not magnesium intake, interacts with genetic polymorphism in relation to colorectal neoplasia in a two-phase study. *Mol Carcinog*. 2016; 55(10):1449-57.
379. Zittermann A. Magnesium deficit? overlooked cause of low vitamin D status? *BMC Med*. 2013; 11: 229.
380. Zofková I, Kancheva RL. The relationship between magnesium and calcitropic hormones. *Magnes. Res*. 1995; 8: 77–84.

Publikovani radovi iz teze:

1. **Opanković A**, Milovanović S, Radosavljević B, Čavić M, Besu Žižak I, Bukumirić Z, Latas M, Medić B, Vučković S, Srebro D, Savić Vujović K. Correlation of Ionized Magnesium with the Parameters of Oxidative Stress as Potential Biomarkers in Patients with Anxiety and Depression: A Pilot Study. Dose Response. 2022; 20(3): 15593258221116741.
2. **Opanković A**, Milovanović S, Savić Vujović K. Uloga magnezijuma i značaj hipomagnezijemije u ljudskom organizmu. Medicinski podmladak, 2023; 74 (3) DOI 10.5937/mp74-43278

BIOGRAFIJA

Dr Ana Opanković je rođena 01.marta 1979.godine u Šapcu, Republika Srbija.

Osnovnu školu i Gimnaziju završila u Šapcu.

Medicinski fakultet, Univerziteta u Beogradu upisala je 1998.god. a diplomirala 31.marta 2005. Po završenom pripravničkom stažu položila je državni lekarski ispit u maju

2006.godine. Specijalistički ispit iz psihijatrije položila je u junskom roku 2012.godine.

Školske 2012. /2013. Upisala je Doktorske akademske studije na Medicinskom fakultetu u Beogradu, smer neuronauke.

Usmeni subspecijalistički ispit iz sudske psihijatrije je položila 25.aprila 2016.

31. marta 2017.godine odbranila je rad uže specijalizacije iz sudske psihijatrije na temu

„Profil aktera komplikovanih samoubistava analiziranih kroz forenzičko-autopsijski materijal „, i stekla zvanje subspecijalista sudske psihijatrije.

U periodu od juna 2005. do marta 2006. Radila kao profesor stručnih predmeta u Srednjoj zubotehničkoj školi u Beogradu.

Od oktobra 2006. do februara 2019.godine radila u Klinici za psihijatrijske bolesti Dr Laza Lazarević, na mestu lakara specijaliste i načelnika intenzivne nege.

Od 19.februara 2019. zaposlena u KCS Klinika za psihijatriju na IX odeljenju u Centru za parcijalnu hospitalizaciju Prof dr Dimitrije Milovanović

Učesnik nacionalnih i međunarodnih kongresa i edukacija, kao što je i edukacija iz Sistemske porodične psihoterapije, u okviru Asocijacije sistemskih terapeuta srbije, gde je 2012.god. stekla zvanje porodičnog savetnika.

Od 2021. imenovana za mentora za veštine iz urgentne psihijatrije u okviru specijalističkog staža psihijatrije.

Od januara 2022. Stalni sudski veštak za oblast medicina- psihijatrija.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora Ana Opanković

Broj indeksa NN 06/12

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom : **Povezanost nivoa jonizovanog magnezijuma, pokazatelja oksidativnog stresa i specifičnih medijatora zapaljenja kod pacijenata sa anksioznim i depresivnim poremećajima**

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

U Beogradu,

Potpis autora



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Ana Opanković
Broj indeksa NN 06/12
Studijski program Neuronauke
Naslov rada: Povezanost nivoa jonizovanog magnezijuma, pokazatelja oksidativnog stresa i specifičnih medijatora zapaljenja kod pacijenata sa anksioznim i depresivnim poremećajima

Mentor Prof. Dr Srađan Milovanović
Komentor Prof. dr Katarina Savić Vujović

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi objavljivanja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.
Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva 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.

U Beogradu,

Potpis autora



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković" da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom: Povezanost nivoa jonizovanog magnezijuma, pokazatelja oksidativnog stresa i specifičnih medijatora zapaljenja kod pacijenata sa anksioznim i depresivnim poremećajima, koja je moje autorsko delo.

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

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu 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 prerada**
4. Autorstvo - nekomercijalno - deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo - bez prerada
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima

Potpis autora

U Beogradu,

