

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURAJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Iva Radoš

USPOREDBA SERUMSKE KONCENTRACIJE FOLNE
KISELINE, VITAMINA B12 I HOMOCISTEINA U TERAPIJSKI
REZISTENTNIH I NEREZISTENTNIH BOLESNIKA S
DEPRESIJOM

Doktorska disertacija

Zagreb, 2026

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURAJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Iva Radoš

USPOREDBA SERUMSKE KONCENTRACIJE FOLNE
KISELINE, VITAMINA B12 I HOMOCISTEINA U TERAPIJSKI
REZISTENTNIH I NEREZISTENTNIH BOLESNIKA S
DEPRESIJOM

Doktorska disertacija

Zagreb, 2026.

Mentor: doc.dr.sc. Bjanka Vuksan – Čusa, dr.med.

Komentor : izv.prof.dr.sc. Ivan Požgain, prim.dr.med.

Rad sadrži 96 stranica.

Sadržaj

1. Uvod	1
1.1. Depresija	1
1.2. Folna kiselina	9
1.3. Vitamin B12	12
1.4. Homocistein	14
1.5. Folna kiselina, vitamin B12 i homocistein povezanost s mentalnim poremećajima	16
1.6. Dosadašnja istraživanja	19
2. Hipoteza	21
3. Ciljevi	22
4. Ispitanici i metode	23
4.1. Ustroj studije	23
4.2. Ispitanici	23
4.3. Metode i materijali	29
4.3.1. Biološki uzorci	30
4.3.2. Metode određivanja	31
4.4. Statističke metode	32
5. Rezultati	34
5.1. Početna provjera normaliteta distribucije promatranih čimbenika Istraživanja	34
5.2. Usporedba pacijentica s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom	35
5.2.1. Usporedba pacijentica s terapijski nerezistentnom i rezistentnom depresijom prema sociodemografskim čimbenicima	36
5.2.2. Usporedba pacijentica s nerezistentnom i rezistentnom depresijom prema kliničkim i laboratorijskim čimbenicima	43
5.3. Povezanost laboratorijskih čimbenika s intenzitetom simptoma depresije	51
5.4. Predikcija terapijski rezistentne depresije na temelju laboratorijskih čimbenika	54
6. Rasprava	58

6.1. Usporedba pacijentica s terapijski nerezistentnom i rezistentnom depresijom prema sociodemografskim, kliničkim i laboratorijskim čimbenicima	59
6.2. Povezanost laboratorijskih čimbenika s intenzitetom simptoma depresije	63
6.3. Predikcija terapijski rezistentne depresije na temelju laboratorijskih čimbenika.....	65
6.4. Ograničenja.....	74
7. Zaključak.....	77
8. Sažetak.....	78
9. Summary.....	80
10. Literatura	82
11. Životopis	95

Kratice

5-mTHF - 5-metiltetrahidrofolat

BH4 - tetrahidrobiopterin

COMT - katekol-O-metiltransferaza

MAO - monoaminooksidaza

MTHFR – metilentetrahidrofolat reduktaza

SAM - S-adenozil metionin

THF - tetrahidrofolati

TNRD - terapijski nerezistentna depresija

TRD - terapijski rezistentna depresija

1. Uvod

Depresija je mentalni poremećaj rasprostranjen diljem svijeta. Procjenjuje se da od depresije boluje 3,8 % cjelokupnog stanovništva, oko 280 milijuna ljudi u svijetu. Suicid, kao najgori ishod depresije, svake godine počinu više od 700 000 ljudi što suicid čini četvrtim uzrokom smrti u dobi od 15 do 29 godina (1). Smatra se da kod jedne trećine pacijenata koji boluju od depresije ne dolazi do odgovarajućeg odgovora na liječenje unatoč odgovarajućem farmakološkom liječenju (2,3). Depresija se smatra rezistentnom kada ne nastupi odgovor na barem dva antidepresiva s različitim mehanizmom djelovanja u terapijskoj dozi u dovoljno dugom periodu liječenja. Duljim trajanje depresivne epizode dolazi do većeg rizika od poremećaja socijalnog funkcioniranja, narušavanja kvalitete života, značajnim rizikom nastanka somatskih komorbiditeta i suicidalnosti (2). Brojna dosadašnja istraživanja identificirala su mnoge biološke i nebiološke rizične čimbenike koje treba razmotriti prilikom liječenja bolesnika s terapijski rezistentnom depresijom. Niz komorbiditeta, posebno endokrinološki poremećaji, kardiovaskularne i neurološke bolesti te nedostatak pojedinih vitamina, mogu doprinijeti razvoju terapijski rezistentne depresije (1,4).

1.1. Depresija

Depresija je čest i ozbiljan mentalni poremećaj koji negativno utječe na osjećaje, način razmišljanja i svakodnevno funkcioniranje pojedinca. Mnogi pojedinci mogu doživjeti jednu depresivnu epizodu nakon akutnog stresnog događaja i oporaviti se s malim utjecajem na buduću pojavnost bolesti. Međutim, većina (50 – 80 %) ljudi nakon jedne značajne depresivne epizode razvija epizode koje se ponavljaju, povremeno uz subkliničke simptome, pri čemu rizik od ponavljanja progresivno raste sa svakom depresivnom epizodom. Depresija se rijetko javlja neovisno o drugim mentalnim poremećajima, uključujući anksioznost, zlouporabu supstanci, poremećaje ponašanja, ali i drugih somatskih komorbiditeta. Istovremena pojavnost mentalnih i somatskih poremećaja pogoršava kliničke i socijalne posljedice depresije i čini je zahtjevnijom za liječenje.

Tijekom povijesti već su stari grčki liječnici depresivno raspoloženje pripisali biokemijskim mehanizmima nastanka. Vjerovali su da je melankolični temperament nastao djelovanjem planeta Saturna koji tjera slezenu na izlučivanje crne žuči koja ometa funkciju mozga.

Prevalencija depresije razlikuje se po spolu, kod žena je nešto veća u odnosu na muškarce. Raspon se kreće od 1,6 do 3,1 s višim vrijednostima u SAD-u i zapadnoj Europi. Kod većine pacijenata kojima je dijagnosticirana depresija, prvi simptomi javili su se u adolescenciji i ranoj odrasloj dobi (5). Svoju prvu epizodu depresije 40 % oboljelih imalo je s manje od 20 godina, 50 % u dobi 20 – 50 godina, a preostalih 10 % s više od 50 godina. Depresivna epizoda definirana je depresivnim raspoloženjem, gubitkom interesa uživanja, smanjenjem energije, što obično uzrokuje povećani umor i smanjenu aktivnost. Drugi uobičajeni simptomi su smanjena koncentracija i pažnja, sniženo samopouzdanje i samopoštovanje, osjećaj krivnje i bezvrijednosti, sumoran i pesimističan pogled na budućnost, ideje o samoozljeđivanju ili suicidu, poremećaj spavanja i poremećaj apetita (6) Depresivne epizode dijele se na blage depresivne epizode, umjerene depresivne epizode, teške depresivne epizode bez psihotičnih simptoma, teške depresivne epizode sa psihotičnim simptomima te druge depresivne epizode. Depresiju se smatra rezistentnom kada ne nastupi odgovor na barem dva antidepressiva s različitim mehanizmom djelovanja u terapijskoj dozi u dovoljno dugom periodu liječenja. Joseph J. Schildkraut 1965. godine objavio je rad Katecholaminska hipoteza afektivnih poremećaja (engl. The Catecholamine Hypothesis of Affective Disorders) u kojem je povezao niske razine katecholamina (serotonin, noradrenalin, dopamin) s depresijom. Neurotransmitter serotonin sintetizira se iz aminokiseline triptofana, a metabolizira ga enzim monoaminooksidaza. Serotoninski receptor (SERT) nalazi se na presinaptičkom neuronu i regulira pohranu i koncentraciju serotonina u sinaptičkoj pukotini. Osim u mozgu (najviše neurona u *nuclei raphe*), serotonin se nalazi i u perifernom živčanom sustavu, trombocitima, probavnom sustavu i drugim organima (7–9) Neurotransmitter serotonin djeluje na širok raspon fizioloških funkcija, kao što su emocije, spavanje, cirkadijalni ritam, termoregulacija, apetit, agresija, seksualno ponašanje, osjetljivost na bol i senzomotorna reaktivnost (10). Promjene u središnjem serotoninskom sustavu, kao što su smanjene koncentracije serotonina, oslabljena funkcija serotoninskog transportera i smanjenje dostupnosti triptofana, povezani su s brojnim psihološkim problemima i psihijatrijskim poremećajima uključujući depresiju (11).

Noradrenalin se sintetizira iz aminokiseline tirozina, a metabolizira ga katekol-O-metiltransferaza (COMT) i monoaminooksidaza (MAO-A i -B). Noradrenergički transporter (NAT) odgovoran je za uklanjanje noradrenalina iz sinaptičke pukotine i njegovu pohranu u presinaptički neuron. Najviše noradrenergičkih neurona ima u *locus coeruleus*. Noradrenergički sustav ima ulogu u održavanju budnosti organizma, a u stresnim situacijama

aktivira amigdale. U patofiziologiji depresije zna se da promjene u njegovoj aktivnosti dovode do otežanog pamćenja i učenja, dekoncentriranosti i manjka energije (7–9).

Dopamin nastaje iz aminokiseline tirozina, a razgrađuju ga COMT i MAO. Dopaminergički transporter (DAT) nalazi se na presinaptičkom neuronu. U mozgu je jasno definirano pet ključnih dopaminskih neuronskih puteva: mezolimbčki, mezokortikalni, nigrostrijatalni, tuberoinfundibularni i talamički dopaminski. Uloga dopamina je pamćenje, učenje, koncentracija, motivacija i interesi. Nedostatak dopamina može se očitovati anhedonijom, anergijom, psihomotornom retardacijom, agitacijom, socijalnim povlačenjem, ambivalencijom (7–9).

Danas postoji nekoliko različitih teorija nastanka depresije. Psihodinamička shvaćanja depresivnih poremećaja prvi su opisali Sigmund Freud, Karl Abraham i Melanie Klein.

Sigmund Freud istraživao je reakcije pojedinca na stvarni gubitak ili razočarenje povezano s voljenom osobom ili na gubitak ideala. Pokušao je objasniti zašto neki ljudi reagiraju afektom žalovanja, koji prolazi nakon nekog vremena, a drugi podlegnu melankoliji, sada zvanoj depresiji. Žalovanje je reakcija na gubitak voljene osobe ili gubitak apstrakcije i iako uključuje značajne poremećaje u normalnom funkcioniranju, ne treba ga smatrati patološkim. Melankolija, s druge strane, proizlazi iz gubitka ljubavi objekta i nesvjestan je proces u kojem se opaža značajno smanjenje samopoštovanja. Krivnja je također značajka koja je prisutna u melankoličkim procesima jer gubitak objekta dolazi s osjećajem krivnje naglašavajući ambivalentne osjećaje prema izgubljenom objektu. Freud je jasno ocrtao simptome melankolije: „... duboko bolna potištenost, prestanak zanimanja za vanjski svijet, gubitak sposobnosti za ljubav, inhibicija svih aktivnosti i snižavanje osjećaja poštovanja prema sebi do stupnja koji se može izraziti u samoprijechorima i samopodbacivanju i kulminira u zabludim očekivanjima kazne.” (12,13)

Karl Abraham predložio je specifičan model za melankolični proces koji se sastoji od niza objašnjavajućih događaja: nakon početne frustracije (gubitak objekta), subjekt reagira eksternalizacijom introjiciranog objekta i njegovim uništenjem. Identifikacija s objektom ([primarni] narcizam) rezultira njegovom introjekcijom čime se sadistička osvetoljubivost prema objektu objašnjava kao dio ega subjekta; nečije se samouništenje često manifestira kao suicidalne misli. Ambivalentnost igra ključnu ulogu dok se subjekt bori s vlastitim preživljavanjem i uništenjem (12,14)

Melanie Klein razjasnila je važnost uspostavljanja unutarnjeg svijeta u kojemu se izgubljeni vanjski objekti „ponovno uspostavljaju”. U melankoliji postoji regresija na raniji neuspjeh da se dobri i loši djelomični objekti integriraju u cjelovite objekte svijeta. Depresivni pojedinac vjeruje da je svemoćno odgovoran za gubitak zbog svoje inherentne destruktivnosti koja nije integrirana s osjećajima ljubavi. Klein tvrdi da tuga, tugovanje, krivnja, popravak, moguće deluzijsko razmišljanje, svemoć, poricanje i idealizacija karakteriziraju depresiju (12,15)

Aaron Beck 1967. godine uveo je pojam poznat kao Beckova kognitivna trijada također poznata kao negativna trijada (16–18). Trijada je dio njegove kognitivne teorije depresije, a koncept se koristi kao dio KBT-a, posebno u Beckovom pristupu „Liječenju negativnih automatskih misli.” (19)

Iz kognitivne perspektive, depresivne poremećaje karakteriziraju disfunkcionalne negativni pogledi ljudi na sebe, svoje životno iskustvo (i svijet općenito) i svoju budućnost - kognitivna trijada. Osobe s depresijom često sebe doživljavaju kao nevoljene, bespomoćne, osuđene na propast ili manjkave. Svoja neugodna iskustva skloni su pripisivati svojim pretpostavljenim fizičkim, mentalnim i/ili moralnim nedostacima (18). Skloni su se osjećati pretjerano krivima vjerujući da su bezvrijedni, vrijedni krivnje i odbačeni od sebe i drugih. Možda im je vrlo teško promatrati sebe kao ljude koji bi ikada mogli uspjeti, biti prihvaćeni ili se osjećati dobro u sebi, a to može dovesti do povlačenja i izolacije što dodatno pogoršava raspoloženje (9).

Biološke teorije nastanka depresije

Različiti biološki procesi sudjeluju u etiologiji i tijeku razvoja depresije iako istraživanja nisu u potpunosti razjasnila jesu li ti procesi temeljni uzročni čimbenici, korelati ili posljedice depresije. To uključuje međusobno povezane genetske mehanizme, strukturu i funkciju mozga, neurotransmitterske i neuroendokrine procese i procese imunološkog sustava.

Monoaminska teorija nastanka depresije temelji se na pretpostavci da je kod depresivnih pacijenata smanjena koncentracija monoaminskih neurotransmitera (noradrenalina, dopamina, serotonina) (20). **Povezanost pojedinih monoamina i razvoja depresije očituje se kroz njihove specifične fiziološke uloge i simptome koji nastaju uslijed njihova nedostatka:**

1.Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT): Serotonin se sintetizira u jezgrama rafe (*nuclei raphe*) i igra ključnu ulogu u regulaciji raspoloženja, anksioznosti, spavanja, apetita i kognitivnih funkcija. Prema monoaminskoj teoriji, smanjena sinteza serotonina, pojačani reuptake (ponovni unos) u presinaptički neuron ili smanjena osjetljivost postsinaptičkih

receptora izravno pridonose razvoju depresivnog raspoloženja, suicidalnih ideja, impulzivnosti i poremećaja spavanja(21–24).

2. Noradrenalin (Norepinefrin, NE): Noradrenergički sustav izvire iz jezgre *locus coeruleus* i modulira odgovore na stres, budnost, pažnju, energiju i motivaciju. Deficit noradrenalina u sinaptičkim pukotinama frontalnog korteksa i limbičkog sustava povezuje se s psihomotornom usporenošću, kroničnim umorom, anhedonijom (nemogućnošću osjećanja zadovoljstva) te smanjenom koncentracijom kod depresivnih pacijenata(22,25,26).

3. Dopamin (DA): Premda su rane formulacije teorije primarno naglašavale serotonin i noradrenalin, dopamin (koji potječe iz ventralnog tegmentalnog područja i supstancije nigre) prepoznat je kao ključan za sustav nagrade, motivaciju i anticipaciju zadovoljstva. Disfunkcija dopaminergičkog sustava u depresiji rezultira teškim oblicima anhedonije, gubitkom motivacije i apatijom(21–23).

Poznato je da je depresija prisutna u obiteljima što je fenomen koji uključuje i genetske i okolišne procese. Studije blizanaca pokazala su da otprilike jedna trećina oboljelih od depresije kod odraslih proizlazi iz genetski uvjetovanih sklonosti (27,28). Ta je brojka znatno niža nego kod nekih drugih psihičkih poremećaja, poput shizofrenije ili bipolarnog poremećaja (29,30). Studije su također pokazale da se rizik od razvoja depresije povećava oko 2,5 – 3 puta za one koji imaju rođaka u prvom koljenu s depresijom, dok vrlo stresni životni događaj povećava rizik od 5 do 16 puta u nekoliko mjeseci nakon samog događaja (28,31).

Ključni polimorfizmi gena povezani s depresijom

1. Polimorfizam transporteru serotonina (*SLC6A4* / 5-HTTLPR)

Serotoninski sustav ima ključnu ulogu u regulaciji raspoloženja. Gen *SLC6A4* kodira protein odgovoran za ponovnu pohranu serotonina iz sinaptičke pukotine.

- Polimorfizam: Najpoznatija varijacija je regija unutar promotora gena (5-HTTLPR) koja se pojavljuje u obliku kratkog (S - *short*) i dugog (L - *long*) alela.
- Povezanost: Kratki aleloform (S) rezultira smanjenom transkripcijom i nižom razinom transportera serotonina. Osobe koje nose jedan ili dva S alela (SS ili SL genotip) pokazuju veću osjetljivost na stresne životne događaje i imaju značajno veći rizik od razvoja depresije u usporedbi s osobama koje imaju LL genotip(32).

2. Polimorfizam gena za moždani neurotrofni čimbenik (*BDNF*)

Neurotrofni čimbenik (*BDNF*) ključan je za preživljavanje neurona, sinaptičku plastičnost i neurogenezu (osobito u hipokampusu). Prema neurotrofnoj hipotezi depresije, smanjene razine *BDNF*-a pridonose atrofiji neurona uočenoj kod depresivnih stanja.

- Polimorfizam: Najznačajniji je Val66Met polimorfizam (zamjena aminokiseline valina metioninom na poziciji 66).
- Povezanost: Prisutnost Met alela povezana je sa smanjenim lučenjem *BDNF*-a ovisno o staničnoj aktivnosti. Istraživanja pokazuju da nositelji Met alela imaju manji volumen hipokampusa i povećanu ranjivost na depresiju, osobito ako su u djetinjstvu bili izloženi zlostavljanju ili zanemarivanju.(33)

3. Polimorfizmi u genima za dopaminske receptore i transportere (*DRD2*, *DRD4*, *DAT1*)

Dopamin je ključan za sustav nagrađivanja, motivaciju i osjećaj zadovoljstva (anhedonija, ili gubitak osjećaja zadovoljstva, jedan je od glavnih simptoma depresije).

- Povezanost: Polimorfizmi u genima poput *DRD2* (dopaminski receptor D2) ili *COMT* (katehol-O-metiltransferaza, enzim koji razgrađuje dopamin) utječu na razinu i stabilnost dopamina u prefrontalnom korteksu. Varijacije koje dovode do slabije dopaminergičke transmisije povezane su s povećanim rizikom od melankolične depresije i anhedonije(34).

Studija Caspi i sur. (2003.) i Kendler i sur. (2005.) otkrila je da su pojedinci s jednom ili dvije kopije kratkog alela 5-HTTLPR iskusili više depresivnih simptoma i epizoda depresivnog poremećaja kao odgovor na stresne životne događaje nego pojedinci koji su homozigoti za dugi alel (27).

Novija istraživanja sugeriraju važnost glutamatnog sustava koji može biti poremećen kod depresivnih pacijenata. Glutamat je pretežno ekscitacijski neurotransmitter u mozgu, djeluje preko više receptora od kojih su najviše istraženi NMDA (N-metil-D-aspartat) i zna se da je odgovoran za neuralnu plastičnost, pamćenje i učenje.. **Povezanost glutamata i razvoja depresije očituje se kroz nekoliko ključnih mehanizama:**

1. Hipoteza o glutamatergičkoj disfunkciji i ekscitotoksičnosti: Kod osoba s depresivnim poremećajem često se uočava promijenjena koncentracija glutamata u specifičnim regijama mozga, poput prefrontalnog korteksa i hipokampusa. Ako dođe do prekomjernog otpuštanja glutamata ili smanjenog ponovnog unosa (reuptakea) od strane astrocita, glutamat se nakuplja u sinaptičkoj pukotini. To dovodi do Prekomjerne stimulacije NMDA (N-metil-D-aspartat) receptora, što uzrokuje masovni ulazak kalcijevih iona u stanicu. Ovaj proces, poznat kao ekscitotoksičnost, može oštetiti i uništiti neurone(35–38).

2. Gubitak sinaptičke plastičnosti i atrofija neurona: Kronični stres i depresija povezani su sa smanjenjem razine neurotrofnih faktora, napose BDNF-a (moždani neurotrofni faktor). Disfunkcija glutamatergičkog sustava remeti sinaptičku plastičnost – sposobnost mozga da se prilagođava i stvara nove veze. Kao posljedica javlja se atrofija dendritičkih ogranaka i gubitak sinapsi u strukturama odgovornima za regulaciju emocija, što se klinički manifestira simptomima depresije, anhedonije i kognitivnog deficita(32-35).

3. Uloga astrocita: Glijalne stanice, točnije astrociti, ključne su za uklanjanje viška glutamata iz sinapse putem transportera za glutamate (poput GLT-1). Postmortalne studije mozгова oboljelih od depresije pokazale su smanjen broj i smanjenu funkcionalnost astrocita u prefrontalnom korteksu, što izravno pridonosi nemogućnosti regulacije razine glutamata i potiče neurodegenerativne procese(32-35).

Depresija je povezana s povišenim koncentracijama kortizola i srodnih neurohormonima. Brojne studije pokazale su više koncentracije kortizola i abnormalnosti u regulaciji kortizola među depresivnim osobama u usporedbi s zdravim pojedincima (12,39). Također, uočeno je da pacijenti s depresijom pokazuju sporiji oporavak razine kortizola kao odgovor na psihološki stres od kontrolne skupine (40). **Osovina hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda** (engl. *Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis* – HPA osovina) predstavlja temeljni neuroendokrini sustav odgovoran za odgovor organizma na stres(41). Hiperaktivnost ove osovine i posljedična disregulacija izlučivanja kortizola („hormona stresa”) smatraju se jednim od najdosljednijih bioloških nalaza u patofiziologiji velikog depresivnog poremećaja (MDD).

Povezanost između stresa, HPA osovine, kortizola i depresije očituje se kroz nekoliko ključnih mehanizama:

1. Hiperaktivnost HPA osovine i gubitak negativne povratne sprege U zdravom organizmu, suočavanje sa stresom potiče hipotalamus na lučenje kortikotropin-oslobađajućeg hormona (CRH) i arginin-vazopresina (AVP). Ovi hormoni stimuliraju prednji režanj hipofize na lučenje adrenokortikotropnog hormona (ACTH), koji potom potiče nadbubrežnu žlijezdu na sintezu i otpuštanje kortizola. Kortizol djeluje putem dvije vrste receptora u mozgu: mineralokortikoidnih (MR) i glukokortikoidnih receptora (GR). U normalnim uvjetima, vezanje kortizola za GR u hipokampusu, hipotalamusu i hipofizi pokreće mehanizam negativne povratne sprege (engl. *negative feedback*), čime se koči daljnje lučenje CRH-a i ACTH-a. Međutim, kod kroničnog stresa i depresije dolazi do smanjenja osjetljivosti ili broja GR-a (rezistencija glukokortikoidnih receptora). Zbog toga izostaje inhibicija, a HPA osovina ostaje trajno hiperaktivna, što dovodi do kronično povišenih razina kortizola u krvi(41–43).

2. Oštećenje hipokampusa i neuroplastičnosti Hipokampus je moždana struktura ključna za učenje, pamćenje i regulaciju emocija, te sadrži visoku gustoću glukokortikoidnih receptora. Kronično povišene razine kortizola djeluju toksično na neurone hipokampusa. Ovaj proces uzrokuje: smanjenje ekspresije moždanog neurotrofnog faktora (BDNF), koji je nužan za preživljavanje i rast neurona, atrofiju dendrita i gubitak sinaptičkih veza, supresiju neurogeneze (stvaranja novih neurona) u zupčastoj vijugi (*gyrus dentatus*) hipokampusa. Smanjenje volumena hipokampusa, koje se često korelira s trajanjem i težinom depresivne epizode, izravna je posljedica ovog neurotoxicnog djelovanja kortizola(38-40).

3. Utjecaj na monoaminski i glutamatergički sustav Povišene razine kortizola izravno utječu na neurotransmitere koji su tradicionalno povezani s depresijom. Kortizol povećava aktivnost enzima triptofan 2,3-dioksigenaze (TDO), koji usmjerava metabolizam triptofana prema kinureninskom putu umjesto prema sintezi serotonina. To rezultira smanjenjem razine serotonina u mozgu i stvaranjem neurotoksičnih metabolita (poput kinureninske kiseline). Također, visoke razine kortizola pojačavaju otpuštanje glutamata u prefrontalnom korteksu, što može dovesti do ekscitotoksičnosti i daljnjeg oštećenja sinapsi(38,41).

4. Interakcija s imunološkim sustavom (Upala) Iako kortizol primarno djeluje protuupalno, dugotrajna rezistencija glukokortikoidnih receptora kod depresivnih pacijenata onemogućuje kortizolu da učinkovito suzbije upalne procese. Rezultat toga je pojačano lučenje

proinflammatory citokina (kao što su IL-1, IL-6 i TNF-alfa). Ovi citokini dodatno narušavaju funkciju HPA osovine, smanjuju sintezu monoamina i pridonose razvoju simptoma depresije (poput anhedonije, umora i socijalnog povlačenja)(44–46).

S obzirom na udio depresije u cjelokupnoj populaciji svjetskog stanovništva od 3,8 %, od kojih 1/3 pacijenta ne postiže odgovarajući terapijski odgovor, kao i na činjenicu brojnih somatskih komorbiditeta, kao što su kardiovaskularne bolesti, demencija i tumori, predmet istraživanja su i brojni biomarkeri kao potencijalni uzrok terapijski rezistentnih depresija. Nekoliko biomarkera, kao što su adiponektin, apolipoprotein-B, kortizol, CRP, homocistein, fibrinogen, interleukin-6, TNF-alfa, folna kiselina, vitamin B12, vitamin D, trigliceridi, predmet su istraživanja povezanosti s depresivnim poremećajima (47,48). Kod pacijenata koji pate od depresije, mogu se naći povišene vrijednosti interleukina-1 (IL-1), interleukina-6 (IL-6), tumorskog nekrotizirajućeg faktora alfa (TNF- α), kao i nekih solubilnih interleukinskih receptora. Citokini aktiviraju enzim indoleamino 2,3-dioksigenaze koji metabolizira triptofan i tako smanjuje njegovu dostupnost za sintezu serotonina (9).

1.2. Folna kiselina

Folat ili vitamin B9 pripada skupini B vitamina. Povijesna imena uključivala su nazive *L. casei* faktor, vitamin Bc i vitamin M (49,50). S obzirom na to da ga organizam ne može sam sintetizirati, potrebno ga je unijeti prehranom u organizam, a smatra se esencijalnim nutrijentom neophodnim za rast i razvoj organizma (51). Dobri su izvori vitamina B9 zeleno lisnato povrće (brokula, salata, špinat), voće (kivi, limuni, naranče, jagode), mahunarke te žitarice. Meso i mesni proizvodi većinom sadrže malo vitamina B9, osim iznutrica (jetra) koje su bogat izvor vitamina B9. Bioraspoloživost folata iz hrane je samo 50 %. **Kemijsko ime folne kiseline je pteroilglutaminska kiselina.** Njezina se molekularna struktura sastoji od tri glavne komponente koje su međusobno povezane:

1. Baza pteridin: Točnije, 2-amino-4-hidroksipteridin.
2. Para-aminobenzojeva kiselina (PABA): Koja povezuje pteridinski prsten s glutaminskom kiselinom.
3. Glutaminska kiselina: Aminokiselina koja u prirodnim folatima iz hrane dolazi u obliku poliglutamata (sadrži lanac od 3 do 9 molekula glutamata), dok sintetska folna kiselina dolazi kao čist i stabilan monoglutamat (samo jedna molekula glutamata).

Da bi postala biološki aktivna, folna kiselina mora proći kroz dvostruku redukciju pomoću enzima dihidrofolat reduktaze (DHFR), najprije u dihidrofolat (DHF), a zatim u tetrahidrofolat (THF), koji predstavlja aktivni oblik(52–54).

Proces apsorpcije folata odvija se uglavnom u gornjem dijelu tankog crijeva (duodenum i gornji dio jejunuma) i ovisi o obliku u kojem se vitamin nalazi:

- Hidroliza prirodnih folata: Prirodni folati iz hrane (poliglutamati) ne mogu proći kroz staničnu membranu enterocita. Stoga se na četkastoj prevlaci sluznice crijeva pod utjecajem enzima pteroilpoliglutamat hidrolaze (konjugaze) moraju razgraditi u monoglutamate(52,53).
- Apsorpcija sintetske folne kiseline: Budući da je sintetska folna kiselina već u obliku monoglutamata, ona ne zahtijeva hidrolizu, zbog čega ima znatno veću bioraspoloživost (oko 85-100%) u usporedbi s folatima iz hrane (oko 50 %)(49,50).
- Metabolizam i prelazak u krvotok: Unutar enterocita, folati se reduciraju i metiliraju u 5-metiltetrahidrofolat , koji je glavni cirkulirajući oblik folata u ljudskom tijelu. Iz enterocita se izlučuje u portalni krvotok putem transportera organskih aniona(49,50).

U plazmi se većina folata transportira u slobodnom obliku ili labavo vezana za bjelančevine poput albumina. Ljudski organizam ima ograničen kapacitet skladištenja folata u usporedbi s nekim drugim vitaminima topivim u vodi (poput vitamina B12). Glavno mjesto skladištenja folata u tijelu je **jetra**, koja sadrži oko 50 % ukupnih zaliha. Ostatak je raspoređen u bubrezima, eritrocitima i drugim tkivima s brzim obrtajem stanica. Ukupne zalihe folata u tijelu zdrave odrasle osobe iznose između **10 i 30 miligrama**. Zbog visoke stope iskorištenja i stalnog metabolizma, ove zalihe mogu zadovoljiti potrebe organizma za samo **3 do 4 mjeseca** u slučaju potpunog prestanka unosa hranom, nakon čega nastupa deficit (50,54,55).

Izlučivanje folata iz tijela odvija se kroz dva glavna puta:

- **Bilijarna eliminacija i enterohepatička cirkulacija:** Jetra neprestano izlučuje velike količine folata u žuč. Međutim, veći dio tog izlučenog folata (čak do 90%) ponovno se reapsorbira u tankom crijevu i vraća u jetru. Ovaj mehanizam enterohepatičke cirkulacije pomaže u održavanju stabilne razine folata u plazmi, čak i tijekom kratkotrajnih razdoblja gladovanja.

- **Fekalna eliminacija:** Folati koji se ne reapsorbiraju u tankom crijevu, zajedno s folatima koje sintetiziraju bakterije u debelom crijevu, izlučuju se stolicom.
- **Urinarna eliminacija:** Bubrezi filtriraju folate kroz glomerularnu membranu, ali se u zdravih osoba većina slobodnih folata aktivno reapsorbira u bubrežnim tubulima. Kada koncentracija folata u plazmi prijeđe prag zasićenja (što je uobičajeno kod uzimanja visokih doza suplemenata), višak se brzo izlučuje mokraćom(49-51).

Biološka uloga folata temelji se na sposobnosti tetrahidrofolata da djeluje kao donator ili akceptor **jednougličnih skupina** (kao što su metilna, formilna, metilenska i formiminska skupina). Ovi su procesi ključni za nekoliko vitalnih metaboličkih putova:

1. Sinteza nukleinskih kiselina (DNK i RNK)

Folati su u obliku 10-formil-THF i 5,10-metilen-THF neophodni za sintezu purina (adenina i gvanina) te za konverziju deoksiuridilata u deoksitimidilat, što je ključan korak u sintezi pirimidina (timina).

Bez folata nema pravilne replikacije i popravka DNK. To izravno utječe na tkiva koja se brzo dijele(49-51).

2. Metabolizam homocisteina i metilacija

Usko surađujući s vitaminom B12, oblik 5-methyl-THF predaje svoju metilnu skupinu homocisteinu kako bi se on ponovno transformirao u esencijalnu aminokiselinu metionin. Metionin je preteča **S-adenozilmetionina (SAdMe)**, glavnog donora metilnih skupina u tijelu. SAdMe je neophodan za metilaciju DNK, RNK, proteina i lipida, što izravno regulira ekspresiju gena i sintezu neurotransmitera (serotonina, dopamina)(50,55,56).

3. Razvoj neuralne cijevi u embriogenezi

Tijekom prvih nekoliko tjedana trudnoće, adekvatne razine folata ključne su za pravilno zatvaranje neuralne cijevi ploda, iz koje se razvijaju mozak i kralježnička moždina. Nedostatak folata u ovom kritičnom razdoblju dramatično povećava rizik od teških kongenitalnih anomalija poput **spine bifide** i **anencefalije**(50,55).

Neki dokazi povezuju nedostatak folata s kliničkom depresijom (10,47,57). Ograničeni dokazi iz randomiziranih kontroliranih studija pokazuju da korištenje folne kiseline uz selektivne

inhibitore ponovne pohrane serotonina (SSRI) može imati koristi (58). Istraživanja su otkrila vezu između depresije i niske razine folata (59,60). Točni mehanizmi uključeni u razvoj shizofrenije i depresije nisu posve jasni, ali bioaktivni folat, 5-metiltetrahidrofolat (5-MTHF), izravna meta donora metila, kao što je S-adenozil metionin (S-AdoMet) koji neaktivni dihidrobiopterin (BH2) pretvara u tetrahidrobiopterin (BH4), neophodan je kofaktor u različitim koracima sinteze monoamina, uključujući sintezu dopamina i serotonina. BH4 ima regulatornu ulogu u neurotransmisiji monoamina i potreban je medijator u djelovanju većine antidepressiva (61).

1.3. Vitamin B12

Vitamin B12, poznat kao kobalamin, vitamin je topiv u vodi (62). Jedan je od osam B vitamina. Hrana koja sadrži vitamin B12 uključuje meso, školjke, jetru, ribu, perad, jaja i mliječne proizvode (62) U ljudskom organizmu služi kao kofaktor u sintezi DNK te u metabolizmu masnih kiselina i aminokiselina (63). **Vitamin B12 ima najkompleksniju kemijsku strukturu među svim vitaminima. Apsorpcija vitamina B12 je složen i strogo reguliran fiziološki proces koji se odvija u nekoliko faza duž probavnog trakta:**

1. Vitamin B12 unesen hranom vezan je za proteine. Pod utjecajem želučane kiseline i pepsina, B12 se oslobađa iz proteina hrane.
2. Slobodni B12 se u želucu odmah vezuje za haptokorin koji luče pljuvačne žlijezde i sluznica želuca. Haptokorin štiti vitamin od kiselog medija želuca.
3. U duodenumu (dvanaesniku), alkalni medij i enzimi gušterače razgrađuju haptokorin, čime se vitamin B12 ponovno oslobađa.
4. Slobodni B12 se zatim vezuje za intrinzični faktor (unutrašnji faktor), glikoprotein koji luče parijetalne stanice želuca. Kompleks B12-IF je otporan na daljnju proteolitičku razgradnju.
5. Kompleks B12-IF putuje do terminalnog ileuma (završnog dijela tankog crijeva), gdje se veže za specifične receptore (kubilin) na enterocitima. Unutar stanice kompleks se razdvaja, a vitamin B12 prelazi u krvotok (64–66).

U krvi se vitamin B12 vezuje za transportni protein **transkobalamin II (TC-II)**, koji ga raznosi do jetre i ostalih tkiva. Glavno mjesto skladištenja je **jetra**, koja sadrži oko 50 % do 80 % ukupnih zaliha tijela. Ostatak se skladišti u bubrezima, srcu, mišićima i mozgu. Ukupne zalihe u zdravom organizmu iznose između 2 i 5 miligrama. Zbog iznimno male dnevne

potrošnje (oko 1 do 2 mikrograma), zalihe vitamina B12 u jetri mogu trajati **3 do 5 godina** nakon potpunog prestanka unosa prije nego što se pojave prvi klinički simptomi deficita. Izlučivanje vitamina B12 iz organizma odvija se prvenstveno putem **žuč i mokraće**: Dio vitamina koji se ne resorbira u ileumu izlučuje se stolicom. Slobodni vitamin B12 koji nije vezan za transportne proteine filtrira se u bubrezima i izlučuje mokraćom. Vitamin B12 djeluje kao koenzim u samo dvije, ali vitalne metaboličke reakcije u ljudskom tijelu:

1. Sinteza metionina i DNK (uloga metilkobalamina)

U citoplazmi stanica, metilkobalamin je neophodan za rad enzima **metionin sintaze**. Ovaj enzim prenosi metilnu skupinu s metiltetrahidrofolata (aktivnog oblika folne kiseline) na homocistein, čime nastaje aminokiselina metionin. Ova reakcija sprječava nakupljanje toksičnog homocisteina (čimbenika rizika za kardiovaskularne bolesti) i istovremeno oslobađa folnu kiselinu potrebnu za sintezu purina i pirimidina – građevnih jedinica **DNK**. (66-68)

2. Metabolizam masnih kiselina i energije (uloga adenzilkobalamina)

U mitohondrijima, adenzilkobalamin služi kao koenzim enzimu metilmalonil-CoA mutazi. Ovaj enzim katalizira pretvorbu metilmalonil-CoA u sukcinil-CoA, koji izravno ulazi u Krebsov ciklus (ciklus limunske kiseline). Ovaj proces omogućuje iskorištavanje energije iz masnih kiselina s neparnim brojem ugljikovih atoma i određenih aminokiselina. Ako ovaj enzim ne radi zbog nedostatka B12, dolazi do nakupljanja metilmalonske kiseline (MMA), što dovodi do destabilizacije i propadanja **mjelinke ovojnice** živčanih stanica, uzrokujući neurološka oštećenja (64–67).

Najčešći uzrok nedostatka vitamina B12 u razvijenim zemljama smanjena je apsorpcija zbog gubitka želučanog intrinzičnog faktora (IF) koji je neophodan za apsorpciju (68). Drugi glavni uzrok je smanjenje proizvodnje želučane kiseline (aklorhidrija) povezano sa starenjem jer izloženost kislini oslobađa vitamin B12 vezan za proteine.

1.4. Homocistein

Homocistein je neproteinska alfa aminokiselina koja nastaje iz metionina (69) Posljednjih desetljeća homocistein je u središtu znanstvenog interesa jer povišena razina u krvi (**hiperhomocisteinemija**) predstavlja neovisni čimbenik rizika za razvoj kardiovaskularnih, cerebrovaskularnih i neurodegenerativnih bolesti(70,71). Za razliku od drugih aminokiselina, homocistein se **ne unosi** hranom u značajnim količinama niti se apsorbira u probavnom traktu kao slobodni nutrijent. Umjesto toga, sav homocistein u ljudskom tijelu nastaje isključivo endogeno, unutar stanica, kroz metabolički ciklus metionina.

Proces nastanka odvija se u tri koraka:

1. **Demetilacija metionina:** Metionin se aktivira vezanjem na ATP, čime nastaje S-adenozilmetionin (SAME), glavni donor metilnih skupina u tijelu.
2. **Gubitak metilne skupine:** Nakon što SAME preda svoju metilnu skupinu različitim akceptorima (DNK, RNK, lipidi, proteini), prelazi u S-adenozilhomocistein (SAH).
3. **Hidroliza:** Enzim SAH hidrolaza razgrađuje SAH na adenzin i **homocistein**. Ova reakcija je reverzibilna, no u fiziološkim uvjetima homocistein se brzo uklanja kako bi se spriječilo nakupljanje SAH-a, koji je snažan inhibitor većine staničnih metilacija(71).

Homocistein se **ne skladišti** u stanicama niti u tkivima već se brzo usmjerava u jedan od dva metabolička puta: remetilaciju natrag u metionin ili transsulfuraciju u cistein. Kada unutarstanična proizvodnja premaši kapacitete metaboliziranja, stanice aktivno izbacuju višak homocisteina u krvotok (plazmu).

Metabolička eliminacija homocisteina odvija se kroz dva glavna puta, ovisno o energetsom statusu i dostupnosti vitamina B-kompleksa:

1. Put remetilacije

Ovaj put vraća homocistein natrag u metionin i dominantan je kada u tijelu postoji potreba za očuvanjem metionina. Odvija se u svim stanicama kroz dva različita mehanizma:

- **Ovisno o folatima i vitaminu B12:** Enzim metionin sintaza prenosi metilnu skupinu s 5-metiltetrahidrofolata (aktivni oblik folne kiseline) na homocistein. Za ovu reakciju **vitamin B12** (kobalamin) je neophodan koenzim.

- **Neovisno o folatima (put betaina):** U jetri i bubrezima, enzim betain-homocistein metiltransferaza (BHMT) koristi betain (derivat kolina) kao donor metilne skupine za pretvorbu homocisteina u metionin.(71)

2. Put transsulfuracije (trajna razgradnja)

Kada u organizmu ima dovoljno metionina, višak homocisteina se trajno uklanja pretvorbom u cistein. Ovaj put je ireverzibilan i odvija se uglavnom u jetri, bubrezima i tankom crijevu.

Iako se često promatra isključivo kao marker bolesti, homocistein ima važne fiziološke funkcije kao ključno metaboličko raskrižje, pravovremeni metabolizam homocisteina omogućuje neometan tijek ciklusa metionina, osiguravajući stalnu opskrbu molekulama SAME. To izravno utječe na stabilnost epigenoma (metilacija DNK), sintezu neurotransmitera i sintezu fosfolipida za stanične membrane. Kroz put transsulfuracije, homocistein osigurava cistein nužan za sintezu **glutathiona**, najvažnijeg unutarstaničnog antioksidansa koji štiti stanice od slobodnih radikala. Slobodni radikali u stanju viška stvaraju stanje poznato kao oksidativni stres. Ovaj proces djeluje na mozak kroz nekoliko ključnih mehanizama:

- **Oštećenje staničnih struktura:** Mozak je bogat lipidima, a slobodni radikali uzrokuju peroksidaciju (oštećenje) staničnih membrana. To ometa normalnu komunikaciju među neuronima.
- **Upalni procesi i neurotoksičnost:** Oksidativni stres potiče oslobađanje proupalnih citokina (poput IL-1, IL-6 i TNF-alfa). Ova kronična, blaga upala dovodi do oštećenja neurona i njihove smrti.
- **Smanjenje BDNF proteina:** Slobodni radikali smanjuju razinu moždanog neurotrofnog faktora (BDNF), proteina odgovornog za preživljavanje neurona i stvaranje novih neuronskih veza (neuroplastičnost).
- **Disfunkcija neurotransmitera:** Oksidativni procesi smanjuju raspoloživost serotonina, dopamina i noradrenalina, ključnih neurotransmitera za regulaciju raspoloženja.
- **Mitochondrialna disfunkcija:** Moždane stanice ovise o energiji iz mitohondrija, a slobodni radikali oštećuju mitohondrije i smanjuju proizvodnju adenozin trifosfata (ATP), što vodi do stanične disfunkcije(71–74).

Postoje različite genetsko-nutritivne interakcije koje mogu dovesti do hiperhomocisteinemije. Često slučajevi blage hiperhomocisteinemije nastaju kao posljedica nutritivne deficijencije

folata i vitamina B12 i/ili smanjene stope glomerularne filtracije, dok se u slučajevima izraženije hiperhomocisteinemije radi o mutacijama ključnih enzima u metabolizmu homocisteina, poglavito metilentetrahidrofolatreduktaze (MTHFR), čiji je gen lociran na kraju kratkog kraka kromosoma 1 (1p36.3) (75).. Posljedica toga je manje metilentetrahidrofolata dostupno za obnovu metionina iz homocisteina te pojavu hiperhomocisteinemije (75). Poznato je da prehrana bogata bjelančevinama životinjskog podrijetla može povišiti, a hrana bogata grahoricama i zelenim povrćem sniziti razinu homocisteina. Različite skupine lijekova, kao što su lijekovi za snižavanje masnoća, pojedini oralni hipoglikemici (metformin), inzulin, lijekovi koji se koriste u liječenju reumatoidnog artritisa te antikonvulzivi, mogu uzrokovati povišenje razine homocisteina u serumu (76). Brojne studije ukazuju na spolne razlike vrijednosti homocisteina pa su tako kod muškaraca koncentracije homocisteina više (77–79).

1.5. Folna kiselina, vitamin B12 i homocisteina - povezanost s mentalnim poremećajima

Folna kiselina ili folati su B-vitamini koji su ključni za mnoge biokemijske procese u tijelu, uključujući sintezu neurotransmitera. Neurotransmiteri su kemijski spojevi koji omogućuju komunikaciju između neurona u mozgu i živčanog sustava te su od vitalne važnosti za normalno funkcioniranje živčanog sustava (80,81). Aktivacija folne kiseline uključuje niz biokemijskih reakcija koje pretvaraju folnu kiselinu u njezin aktivni oblik, tetrahidrofolat (THF), koji je ključan za brojne metaboličke procese u tijelu.

Slijedi opis nekoliko glavnih koraka u aktivaciji folne kiseline:

1) Redukcija folne kiseline

Prvi korak u aktivaciji folne kiseline je njena redukcija u aktivni oblik. Ova reakcija uključuje enzim dihidrofolat reduktazu i koenzim NADPH. Dihidrofolat reduktaza pretvara folnu kiselinu (FH₂) u dihidrofolat (DHF) koristeći NADPH kao koenzim za prijenos elektrona.

2) Redukcija dihidrofolata

Dihidrofolat (DHF) se u drugoj redukcijskoj reakciji reducira u tetrahidrofolat (THF), opet uz korištenje dihidrofolat reduktaze i NADPH kao koenzima. Tetrahidrofolat je aktivni oblik folne kiseline koji je sposoban sudjelovati u metaboličkim reakcijama kao donator jednoatomske skupine ugljika (80,82).

3) Metilacija

Aktivirani tetrahidrofolat (THF) može donirati metilne skupine ($-\text{CH}_3$) u raznim biokemijskim reakcijama. Metilacija se događa preko enzima metilentetrahidrofolat reduktaze (MTHFR) koji koristi tetrahidrofolat kao supstrat za doniranje metilnih skupina drugim molekulama, kao što je homocistein za sintezu metionina(80).

4) Interkonverzije oblika folne kiseline

Tetrahidrofolat (THF) može se konvertirati u druge oblike folne kiseline, poput 5,10-metiltetrahidrofolata i 5-metiltetrahidrofolata, koji imaju specifične uloge u različitim metaboličkim putevima, uključujući sintezu aminokiselina i nukleotida (80) MTHFR (metilentetrahidrofolat reduktaza) ključni je enzim u metabolizmu folne kiseline. Njegova uloga je katalizacija konverzije 5,10-metiltetrahidrofolata (5,10-mTHF) u 5-metiltetrahidrofolat (5-mTHF) koji je aktivni oblik folne kiseline. Ova reakcija je važna za stvaranje metionina iz homocisteina što je bitan korak u sintezi proteina i nukleotida, kao i za metilaciju DNA, proteina i lipida(83).

5) Metilacija DNA

5-mTHF, koji je proizvod reakcije katalizirane MTHFR enzimom, služi kao glavni donator metilne skupine u reakcijama metilacije. Metilacija DNA, koja uključuje dodavanje metilnih skupina na citozinske baze u DNK, ključna je epigenetička modifikacija koja može regulirati ekspresiju gena (83).

6) Metilacija proteina

Metilacija proteina važna je modifikacija koja može regulirati funkciju mnogih proteina u stanicama. 5-mTHF, generiran kroz aktivnost MTHFR enzima, može poslužiti kao donator metilne skupine u tim reakcijama (83).

7) Sintaza nukleotida

Folna kiselina ključna je za sintezu purinskih i pirimidinskih nukleotida koji su građevni DNA i RNA. Aktivacija folne kiseline posredovanjem MTHFR enzima važna je za osiguranje adekvatnih razina 5-mTHF potrebnih za tu sintezu.

Sinteza metionina uključuje niz biokemijskih reakcija koje se odvijaju u metaboličkom putu poznatom kao metionin-homocisteinski ciklus.

Slijedi pregled glavnih koraka u nastanku metionina:

1) Transformacija homocisteina u metionin

Glavni korak u biosintezi metionina je metilacija homocisteina kako bi se formirao metionin. Ova reakcija zahtijeva metilnu skupinu koja se donira od metiltetrahidrofolata (mTHF). Enzim

koji katalizira ovu reakciju je metionin sintaza, a kao koenzim koristi se vitamina B12 (kobalamin). Metionin sintaza koristi S-adenozilmetionin (SAM) kao metilni donor (80).

2) Metilacija homocisteina

Homocistein se metilira na sulfidni atom, stvarajući metionin. Metionin sintaza koristi metilni donor S-adenozilmetionin (SAM) za metilaciju homocisteina. Sam proces metilacije uključuje prijenos metilne skupine s SAM-a na homocistein čime se stvara metionin i S-adenozilhomocistein (SAH).

3) Regeneracija S-adenozilmetionina (SAM)

Nakon prijenosa metilne skupine na homocistein, nastali S-adenozilhomocistein (SAH) mora se regenerirati u S-adenozilmetionin (SAM) kako bi se održao kontinuirani ciklus metilacije. Ova reakcija uključuje hidrolizu SAH na homocistein i adenzin, a zatim metiliranje homocisteina na metionin uz pomoć metiltetrahidrofolata i vitamina B12.

4) Sintaza tetrahidrobiopterina (BH4)

Folna kiselina sudjeluje u sintezi BH4, važnog koenzima za enzime hidroksilaze. Ovaj korak nije izravno povezan s folnom kiselinom, ali je ključan za biosintezu BH4.

Biokemijske reakcije koje povezuju S-adenozilmetionin (SAM) sa sintezom neurotransmitera, poput serotonina, dopamina i noradrenalina, uključuju nekoliko ključnih koraka:

1) Sintaza serotonina

Triptofan hidroksilaza (TPH) katalizira hidroksilaciju L-triptofana u 5-hidroksitriptofan (5-HTP) koristeći BH4 kao koenzim. Aromatična aminokiselinska dekarboksilaza (AADC) zatim pretvara 5-HTP u serotonin (5-HT). SAM služi kao metilni donor u reakciji koja pretvara serotonin u N-metil-serotonin (N-metil-5-HT) koja se može koristiti kao prekursor za melatonin (84)

2) Sintaza dopamina

Tirozin hidroksilaza (TH) katalizira hidroksilaciju L-tirozina u L-dihidroksifenilalanin (L-DOPA) koristeći BH4 kao koenzim. Aromatična aminokiselinska dekarboksilaza (AADC) dalje pretvara L-DOPA u dopamin. U nekim slučajevima SAM može služiti kao metilni donor u metilaciji dopamina u N-metil-dopamin (N-metil-DA), ali ovo nije univerzalni korak u sintezi dopamina (84)

3) Sintaza noradrenalina

Dopamin- β -hidroksilaza (DBH) katalizira hidroksilaciju dopamina u noradrenalin. SAM može služiti kao metilni donor u metilaciji noradrenalina u N-metil-noradrenalin (N-metil-NA), ali ovaj korak nije uvijek prisutan u svim stanicama ili tkivima (84).

Ključni aspekt ovih biokemijskih reakcija uloga je SAM-a kao metilnog donora koji omogućuje metilaciju određenih neurotransmitera, kao i drugih bioloških molekula poput lipida, proteina i nukleinskih kiselina. Metilacija neurotransmitera može modulirati njihovu stabilnost, aktivnost i putanju metabolizma što može imati važne posljedice za funkcioniranje.

1.6. Dosadašnja istraživanja

Dosadašnja istraživanja usmjerena na povezanost folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina s razvojem simptoma depresivnog poremećaja, rezultirala su nedosljednim i neujednačenim rezultatima.

Beydoun i suradnici proveli su 2010. godine istraživanje na 2524 ispitanika s ciljem istraživanja povezanosti serumskih koncentracija folata, vitamina B12 i homocisteina te njihove povezanosti sa simptomima depresije među odraslim osobama u SAD-u. Rezultati su pokazali da su simptomi depresije bili obrnuto povezani s koncentracijom folata, osobito među ženama, ali nije značajno povezana koncentracija homocisteina ili vitamina B12 (85).

Nabi i suradnici proveli su 2013. godine istraživanje povezanosti serumske koncentracije homocisteina i velikog depresivnog poremećaja. Sudjelovalo je 3395 muškaraca i žena. Rezultati su pokazali povišene serumske koncentracije homocisteina koje su bile povezane s većim izgledima za razvoj velikog depresivnog poremećaja kod muškaraca kao i za razvoj rezistentne depresije. Među ženama nije bilo značajne povezanosti između serumske koncentracije homocisteina i razvoja velikog depresivnog poremećaja (86).

Istraživanje provedeno na 1352 sudionika, koje su proveli Elstegeest i suradnici 2017. godine, pokazalo je da nema povezanosti između serumske koncentracije vitamin B12 i homocisteina s pojavnosti simptoma depresije.

Zheng i suradnici 2020. godine proveli su meta-analizu randomiziranih kontroliranih ispitivanja učinkovitosti i sigurnosti dodatne folne kiseline za tri glavna mentalna poremećaja: shizofreniju, bipolarni poremećaj i veliki depresivni poremećaj. Kod oboljelih od shizofrenije, dodatak folne kiseline nije imao bolji terapijski učinak od placeba. Za bipolarni poremećaj, dodani folat bio je učinkovit u liječenju akutne faze manije u bipolarnom poremećaju, ali ne i u akutnoj fazi depresije. Za veliki depresivni poremećaj, dodatni folat bio je značajno bolji od placeba u poboljšanju simptoma depresije (87).

Sangle i suradnici 2020. godine objavili su pregledni rad s ukupno 35 članaka i studija usredotočenih na učinke suplementacije vitaminom B12 na početku ili tijekom trajanja depresije. Na temelju pregledanih studija, utvrđeno je da iako nema konkretnih dokaza koji

pokazuju pozitivne učinke vitamina B12 na depresiju ili simptome depresije, niže razine vitamina B12 u tijelu povezane su s većim rizikom od razvoja depresije (88).

Kohosravi i suradnici 2020. godine istraživali su povezanost između prehrambenih navika i depresije posredovane serumskim koncentracijama folata i vitamina B12. Rezultati su pokazali da je zdrav način prehrane povezan sa smanjenim rizikom od depresije putem održavanja urednih vrijednosti serumske koncentracije folata i vitamina B12. Međutim, nezdrav način ishrane bio je povezan s povećanim rizikom od depresije putem smanjene razine serumske koncentracije folata i vitamina B12.

Tao i suradnici 2020. godine proveli su istraživanje na 95 sudionika te su ustvrdili značajno više razine homocisteina u serumu kod bolesnika s depresijom u usporedbi s kontrolnom skupinom. Potvrđeno je da se folna kiselina i vitamin B12 primjenjuju u liječenju depresije smanjenjem razine homocisteina. Stoga, visoka razina homocisteina kod bolesnika s prvom epizodom i rekurentnom depresijom može se pripisati nedostatku vitamina B12 i folne kiseline (89).

Moradi i suradnici 2021. godine proveli su meta-analizu opservacijskih studija na temu povezanosti homocisteina u serumu i depresije čiji je rezultat obrađenih podataka govorio u prilog tome da su vrijednosti homocisteina više kod osoba s depresivnim poremećajem među ženama, ali nije značajno povezana koncentracija homocisteina ili vitamina B-12 (90).

Longitudinalna studija, koju su Laird i suradnici proveli 2021. godina na 3849 sudionika, pokazala je da nema povezanosti između serumske koncentracije folne kiseline s razvojem depresivnog poremećaja, dok su niske serumske koncentracije vitamina B12 bile prediktor za nastanak depresivnog poremećaju u 51 % ispitanika.

S obzirom na nedosljednost rezultata serumskih koncentracija folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina kod bolesnika s depresivnim poremećajem te na činjenicu da se rezistentne depresije kreću kod oko 30 % ukupnog broja depresivnih pacijenta, mi smo svoje istraživanje odlučili usmjeriti na istraživanje razlika serumskih koncentracija folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina kod bolesnika s terapijski rezistentnom i nerezistentnom depresijom.

2. Hipoteza

1. Koncentracija folne kiseline i vitamina B12 je niža, dok je koncentracija homocisteina viša kod pacijentica s TRD u odnosu na pacijentice s TNRD.

3. Ciljevi

1. Utvrditi postoji li razlika serumske koncentracije folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina kod bolesnika s terapijski rezistentnom i nerezistentnom depresijom.
2. Utvrditi jesu li niže vrijednosti folne kiseline i vitamina B12 te više vrijednosti homocisteina povezane s višim intenzitetom simptoma i duljim trajanjem bolesti.
3. Utvrditi opravdanost uključivanja mjerenja serumskog folata, vitamina B12 i homocisteina u rutinsku obradu pacijenata s TRD-om.
4. Budući da je riječ o sigurnom i dobro podnošljivom sredstvu s niskim potencijalom rizik, utvrditi opravdanost uvođenja folata u terapiju TDR kao adjunktivnog liječenja.

4. Ispitanici i metode

4.1. Ustroj studije

Provedena je presječna (engl. *cross-sectional*) studija. Istraživanje je provedeno na susljednom (engl. *consecutive*) uzorku svih bolesnika prema redoslijedu dolaska na pregled. Svi ispitanici potpisom su ovjerali vlastiti informirani pristanak za sudjelovanje u istraživanju. Protokol istraživanja odobrili su Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Zagreb u kojoj je istraživanje provedeno. Identitet uključenih bolesnika bio je poznat voditeljici i mentoru istraživanja. Svim drugim sudionicima istraživanja, identitet bolesnika ostao je skriven. Istraživanje se provelo u skladu s Helsinškom deklaracijom Svjetske zdravstvene organizacije (91).

4.2. Ispitanici

Istraživanje na kojem se temelje analize prikazane u ovome radu provedeno je na uzorku od 116 pacijentica u dobi od 18 do 65 godina. **Pacijentice uključene u istraživanje liječene su ambulantno te stacionarno na Klinici za psihijatriju KBC Zagreb.** Njih 59 boluje od terapijski rezistentne depresije, a 57 pacijentica boluje od terapijski nerezistentne depresije.

Dijagnoza je postavljena psihijatrijskim intervjuom od strane iskusnog psihijatra prema dijagnostičkim kriterijima MKB-10. Pacijentice uključene u ovo istraživanje imale su jednu od sljedećih dijagnoza:

- **F32 Depresivni poremećaji:** F32.0 Blaga depresivna epizoda, F32.1 Umjerena depresivna epizoda, F32.2 Teška depresivna epizoda bez simptoma psihoze, F32.3 Teška depresivna epizoda sa simptomima psihoze, F32.8 Druge depresivne epizode, F32.9 Depresivna epizoda, nespecifična.
- **F33 Povratni depresivni poremećaj:** F33.0 Blagi povratni depresivni poremećaj, F33.1 Umjeren povratni depresivni poremećaj, F33.2 Težak povratni depresivni poremećaj bez simptoma psihoze, F33.3 Težak povratni depresivni poremećaj sa simptomima psihoze, F33.4 Povratni depresivni poremećaj u remisiji, F33.8 Drugi povratni depresivni poremećaj, F33.9 Povratni depresivni poremećaj, nespecifičan.

Nakon provedenog kliničkog intervjuja tijekom kojeg se dijagnosticirao depresivni poremećaj, utvrdilo se radi li se o terapijski rezistentnoj depresiji sukladno odgovarajućim kriterijima.

Terapijski rezistentna depresija definira se kao izostanak odgovora na liječenje nakon primjene najmanje dvaju antidepresiva različitih mehanizama djelovanja primijenjenih u terapijskoj dozi u dovoljno dugom periodu liječenja. O terapijski nerezistentnoj depresiji govori se kada postoji pozitivan odgovor na primjenu antidepresiva u kliničkoj slici te smanjenje simptoma od 50 % na MADRS ljestvici nakon najmanje 8 tjedana liječenja.

Minimalno trajanje svakog pokušaja liječenja antidepresivima bilo je najmanje osam tjedana, s dozom ekvivalentnom 40 mg fluoksetina, što uključuje: 20 mg escitaloprama, 100 mg fluvoksamina, 40 mg paroksetina, 100 mg sertralina, 60 mg duloksetina, 150 mg venlafaksina, 45 mg mirtazapina i 20 mg vortiooksetina. U ovoj presječnoj studiji, odgovor na liječenje definiran je za trenutačnu epizodu, u vrijeme procjene.

Psihijatar je ispitaniku objasnio svrhu i cilj istraživanja te ga zamolio za sudjelovanje. Po dobivenoj suglasnosti i potpisanom informiranom pristanku, ispitanik je samostalno ispunio kratki Upitnik sociodemografskih varijabli, MADRS i Hamilton upitnik. Prosječno trajanje kliničkog intervjua i ispunjavanja upitnika bilo je 60 minuta.

Pojedina istraživanja pokazala su da je pojavnost terapijski rezistentne depresije češća kod žena nego kod muškaraca, ali su uočene i specifičnosti kliničke slike te terapijskog odgovora na antidepresive, stoga je ovo istraživanje usmjereno isključivo na žensku populaciju. S obzirom na to da pojedini lijekovi i medicinska stanja značajno utječu na serumsku koncentraciju folne kiseline i vitamina B12, pojedine pacijentice nisu mogle biti uključene u ovo istraživanje.

Kriteriji po kojima su uključene ispitanice bili su:

- a) ženski spol;
- b) dob od 18 do 65 godina;
- c) sposobnost za samostalno ispunjavanje upitnika;
- d) potvrđena dijagnoza depresivnog poremećaja prema MKB-10 kriterijima procijenjena od strane psihijatra;
- e) potvrđen rezistentni ili nerezistentni depresivni poremećaj;
- f) bolničko (stacionarno) liječenje;
- g) ambulantno liječenje

Kriteriji po kojima su ispitanice isključene iz istraživanja:

1. Somatske bolesti i stanja:

- a) **Autoimuni atrofični gastritis:** Vitamin B12 bilježi značajno smanjenje jer autoantitijela uništavaju parijetalne stanice želuca koje luče klorovodičnu kiselinu i intrinzični faktor. Folna kiselina može biti blago smanjena zbog aklorhidrije (nedostatka kiseline).
- b) **Imerslund-Gräsbeckov sindrom:** Razina vitamina B12 je ekstremno niska od ranog djetinjstva jer receptori u ileumu ne mogu preuzeti B12. Folna kiselina je uglavnom normalnih vrijednosti.
- c) **Upalne bolesti crijeva (Crohnova bolest i ulcerozni kolitis):** Značajno smanjenje vitamina B12 (osobito kod Crohnove bolesti jer primarno zahvaća terminalni ileum gdje se B12 apsorbira). Folna kiselina bilježi smanjenje zbog upale sluznice, ali i česte primjene lijekova poput sulfasalazina koji blokira folate.
- d) **Celijakija:** Folna kiselina bilježi značajno smanjenje (folati se apsorbiraju upravo u gornjem dijelu tankog crijeva koji je najviše oštećen), dok vitamin B12 bilježi smanjenje ako se lezije prošire na ileum ili uslijed opće malapsorpcije.
- e) **Alkoholizam:** Teški deficit folne kiseline jer alkohol blokira apsorpciju folata u crijevima, ometa njihovo skladištenje u jetri i ubrzava izlučivanje bubrezima. Vitamin B12 je smanjen zbog toksičnog učinka na sluznicu želuca i loše prehrane.
- f) **Poremećaji prehrane (Anoreksija i bulimija):** Smanjenje folne kiseline i vitamina B12 zbog kritično niskog unosa hranjivih tvari (malnutricija). Kod bulimije, stalno povraćanje dodatno remeti kiselost i oštećuje sluznicu gornjeg probavnog sustava.
- g) **AIDS / HIV infekcija:** Smanjenje vitamina B12 je vrlo česta pojava kod HIV pozitivnih bolesnika (zbog čestih oportunističkih infekcija crijeva, proljeva i popratne malapsorpcije). Folna kiselina je često smanjena, što je dodatno potencirano primjenom lijekova (npr. kotrimoksazol/trimetoprim za profilaksu infekcija).
- h) **Dijabetes (Šećerna bolest):** Vitamin B12 je često smanjen, ali primarno kao nuspojava prve linije liječenja – metformina (koji blokira apsorpciju B12), a ne same bolesti. Folna kiselina može biti blago smanjena, no uglavnom ovisi o prehrani.
- i) **Hipotireoza:** Povezana je sa smanjenjem folata u serumu (jer usporava sintezu enzima MTHFR) te s povećanim rizikom od autoimunog gastritisa (i pada B12).

- j) **Hipertireoza:** Ubrzava metabolizam, što može povećati potrošnju vitamina, no homocistein je ovdje češće normalan ili čak snižen.
- k) **Kronične bolesti jetre (Ciroza, hepatitis, masna jetra):** Smanjenje folne kiseline jer oštećeno tkivo jetre gubi sposobnost skladištenja i pravilnog metabolizma folata.
- l) **Autoimune bolesti (Lupus, reumatoidni artritis, psorijaza):** Smanjenje folne kiseline zbog kroničnog upalnog procesa i stalnog obnavljanja tkiva, pri čemu tijelo troši folate znatno brže nego u normalnim okolnostima.
- m) **Teške opekotine i kronične rane:** Smanjenje folne kiseline. Slično kao kod autoimunih bolesti, masivna regeneracija kože i tkiva zahtijeva brzu sintezu DNA, za što se troše goleme količine folne kiseline.
- n) **Hemodijaliza i peritonealna dijaliza:** Značajno smanjenje folne kiseline. Budući da je folna kiselina topiva u vodi i ne veže se čvrsto za proteine plazme, značajno se gubi kroz membranu tijekom dijalize

2. Pojedini lijekovi:

- a) **Olanzapin:** Značajno povećava apetit, dovodi do porasta tjelesne mase (BMI) te utječe na metabolizam glukoze i lipida. Ove metaboličke promjene mijenjaju i tzv. metabolizam jednog ugljika (*one-carbon metabolism*), u kojem su B12 i folna kiselina ključni kofaktori.
- b) **Karbamazepin:** Ima izrazito snažan utjecaj na smanjenje folne kiseline u serumu. Djeluje kao induktor jetrenih enzima (sustav citokroma P450), što ubrzava metabolizam i razgradnju folata. Također može dovesti do značajnog pada razine vitamina B12 u serumu, a pad koncentracije obično je proporcionalan trajanju terapije.
- c) **Valproat / Valproična kiselina:** Izravno interferira s metabolizmom folata jer inhibira specifične enzime (poput metionin sintaze i dihidrofolat reduktaze).
- d) **Metotreksat, Triamteren i Trimetoprim:** Ovi lijekovi blokiraju enzim dihidrofolat reduktazu (DHFR), koji je ključan za pretvorbu folne kiseline u njezin aktivni oblik (tetrahidrofolat).
- e) **Fenitoin i Fenobarbital:** Ubrzavaju razgradnju folata u jetri (indukcijom enzimskog sustava citokroma P450) i mogu ometati njihovu apsorpciju u crijevima.
- f) **Antacidi, inhibitori protonske pumpe i H2 blokatori:** Smanjuju kiselost želuca (povećavaju pH), što izravno negativno utječe na apsorpciju nutrijenata i vitamina B12.

- g) **Metformin:** Izravno ometa apsorpciju vitamina B12 u terminalnom ileumu.
- h) **5-Fluorouracil (5-FU):** Inhibira enzim timidilat sintazu, čime izravno utječe na potrošnju i metabolizam unutarstaničnih folata.
- i) **Dušični oksid:** Nepovratno oksidira kobalt u vitaminu B12, čime potpuno inaktivira enzim metionin sintazu.
- j) **Kolhicin:** Specifično oštećuje receptore u ileumu koji su odgovorni za prihvatanje kompleksa vitamina B12 i intrinzičnog faktora. Dugotrajna primjena značajno snižava razinu B12.
- k) **Kolestiramin:** Budući da je folna kiselina po svojoj kemijskoj strukturi slaba kiselina, kolestiramin je izravno veže za sebe u crijevima. Taj kompleks se izlučuje stolicom, čime se drastično smanjuje unos folata.
- l) **Neomicin:** Izravno ometa vezivanje kompleksa B12-intrinzični faktor za crijevne receptore te mijenja bakterijsku floru koja može kompetitivno trošiti B12.
- m) **Estrogeni i progestini:** Ubrzavaju metabolizam i izlučivanje folata putem urina. Također mogu blago smanjiti apsorpciju folata u crijevima povećanjem pH vrijednosti ili utjecajem na specifične enzime (konjugaze) u sluznici crijeva koji pripremaju folnu kiselinu za apsorpciju.

3. Ostali kriteriji isključivanja:

- a) **Kirurški zahvati na želucu (npr. gastrektomija, bariatrijski zahvati):** Značajno smanjenje vitamina B12 jer želudac proizvodi intrinzični faktor (IF) i kiselinu nužnu za oslobađanje B12 iz hrane. Bez želuca, apsorpcija B12 je gotovo nemoguća. Folna kiselina je također smanjena zbog nedostatka kiselog medija i smanjenog unosa hrane.
- b) **Trudnoća:** Smanjenje folne kiseline u serumu (potrebe za folatima rastu za 50-100% radi ubrzanog dijeljenja stanica ploda, rasta posteljice i povećanja volumena majčine krvi) te fiziološki pad vitamina B12 u serumu (djelomično zbog hemodilucije i aktivnog transporta prema fetusu).
- c) **Dojenje:** Smanjenje folne kiseline i vitamina B12 u serumu majke ako nema adekvatnog unosa, jer majka kroz mlijeko aktivno izlučuje ove vitamine kako bi osigurala razvoj novorođenčeta, čak i na štetu vlastitih zaliha
- d) **Aktualna suicidalnost**
- e) **Komorbiditet drugih somatskih i psihičkih bolesti** (koje nisu obuhvaćene ranijim kriterijima)

f) Pacijentice koje prakticiraju vegansku prehranu (zbog primarnog rizika od nutritivnog deficita vitamina B12)

g) Nesposobnost bolesnika za samostalno ispunjavanje upitnika

Uzorkovanje krvi provedeno je u prostorijama Klinike za psihijatriju. **Uzorkovanje je provedeno u 7.30 h nakon jutarnje vizite.** Iz uzoraka krvi određivana je serumska koncentracija vitamina B12 i folne kiseline te koncentracija homocisteina u plazmi. Za određivanje koncentracije vitamina B12 i folne kiseline, venska krv je uzorkovana u vakuum epruvete s aktivatorom zgrušavanja i gel separatorom (*Vacurette, Greiner Bio-One GmbH*). Za određivanje koncentracije homocisteina, venska krv je uzorkovana u vakuum epruvete s antikoagulansom K3EDTA (*Vacurette, Greiner Bio-One GmbH*) te je neposredno nakon uzorkovanja uronjena u smjesu vode i leda. Uzorci su, odmah nakon uzimanja, dostavljeni u Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb. Uzorci seruma dobiveni su centrifugiranjem epruveta s punom krvi u trajanju od 10 minuta na brzini 2000 g (3700 okretaja u minuti). Uzorci plazme dobiveni su centrifugiranjem epruveta s punom krvi u trajanju od 10 minuta na brzini 2000 g (3700 okretaja u minuti) u hladenoj centrifugi na temperaturi od +4°C. Uzorci seruma odmah su obrađeni, dok su uzorci plazme odvojeni te su alikvotirani u sekundarne epruvete i do analize pohranjeni u zamrzivaču na -80°C.

4.3. Metode i materijali

Ispitanice su uzimale antidepresivnu terapiju. Ispitivač je obavio psihijatrijski intervju, potvrdio dijagnozu u skladu s postojećim klasifikacijskim sustavima (MKB-10 i DSM-5) i uzeo sociodemografske podatke. Zatim su primijenjene dvije ocjenske skale za depresiju (Hamiltonova ocjenska skala za depresiju, HAMD-17 i Montgomery-Åsbergova ocjenska ljestvica za depresiju, MADRS).

Hamiltonova skala za depresiju (*Hamilton Rating Scale for Depression* HAM-D; HAM-D) jedna je od najranije razvijenih i najviše upotrebljivanih skala za mjerenje depresivnosti primjenjiva na djecu i odrasle (92). Provođi je kliničar na način da intervjuira osobu, a svrha je procjena stupnja izraženosti depresije kod osobe s primarnim depresivnim oboljenjem. HAM-D multidimenzionalna je skala na kojoj identičan rezultat dvaju pacijenata može imati različito kliničko značenje. Ova je skala korisna za praćenje promjena depresivnih simptoma tijekom liječenja (93). Originalna verzija HAM-D uključivala je 21 česticu, ali je Hamilton (94) naglasio kako se posljednje četiri čestice (dnevne varijacije, depersonalizacija/derealizacija, paranoidni simptomi i opsesivno-kompulzivni simptomi) ne bi trebale ubrajati u ukupan rezultat jer su takvi simptomi ili rijetki ili ne odražavaju izraženost depresije. Iz tih je zaključaka proizašla verzija sa 17 čestica koja je postala standard pri kliničkim ispitivanjima depresije (94), no postoje i verzije s 23 i 26 čestica. Prosječno vremensko trajanje provođenja ove skale je 12 minuta. Istraživanja su pokazala kako *Cronbach alpha* koeficijent unutarnje konzistencije HAM-D skale iznosi $\alpha = 0,83$, a meta-analizom preko 70 istraživanja utvrđeno je kako čestice na HAM-D skali imaju zadovoljavajuću pouzdanost (94) Test-retest pouzdanost ove skale pokazala se visokom ($r = 0,81$), čak i kada su je provodili minimalno trenirani ocjenjivači iz različitih disciplina. Što se tiče konvergentne valjanosti HAMD skale, pokazalo se kako visoko korelira sa skalama poput MADRS ili IDS-C (kasnije opisane) koje provodi kliničar. Novijom revizijom ove skale utvrđeno je kako se koeficijent unutarnje konzistencije *Cronbach alpha* kreće u intervalu od 0,71 do 0,85 što se može smatrati zadovoljavajućom pouzdanosti. HAM-D ovim je istraživanjem također proglašena valjanom skalom te je dobivena visoka korelacija s MADRS skalom ($r = 0,84$) (95)

Montgomery-Åsberg skala za ispitivanje depresije (*Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale-MADRS*; MADRS) unidimenzionalna je skala koja je više usmjerena na psihološke nego na somatske aspekte depresije te je provodi kliničar (96). S obzirom na to da ova skala nije nadopunjavana, primarni joj cilj nije utvrđivanje neurovegetativnih simptoma, već joj je svrha mjerenje učinkovitosti liječenja depresije, pri čemu se prate i uspoređuju promjene ukupnog

rezultata na upitniku prije, tijekom i po završetku liječenja. Skala se sastoji od 10 čestica i prosječno vrijeme rješavanja je oko 15 minuta (Filipčić, 2008.). Cunningham i sur. (2011.) utvrdili su kako je koeficijent unutarnje konzistencije *Cronbach alpha* za ovu skalu visok $r = 0,90$. Novijom revizijom ove skale utvrđeno je kako koeficijent unutarnje konzistencije *Cronbach alpha* varira između 0,70 i 0,84 što se može smatrati zadovoljavajućom pouzdanosti (95). Što se tiče valjanosti, MADRS, kao što je spomenuto ranije, dobro korelira s HAM-D ($r = 0,84$) koji se, uz SCID, smatra zlatnim standardom za usporedbu valjanosti različitih skala depresije te da se može smatrati valjanom mjerom za procjenu izraženosti simptoma depresivnih poremećaja. Filipčić (2008.) navodi kako je pouzdanost između procjenjivača visoka, a rezultat na skali značajno korelira s standardiziranom mjerom depresije HAM-D. Također, sposobnost skale da razlikuje osobe koje reagiraju i one koje ne reagiraju na antidepressive bolja je od HAM-D skale što ukazuje na bolju osjetljivost za promjene.

4.3.1. Biološki uzorci

Uzorkovanje krvi provedeno je u prostorijama Klinike za psihijatriju. Iz uzoraka krvi određivana je serumska koncentracija vitamina B12 i folne kiseline te koncentracija homocisteina u plazmi. Za određivanje koncentracije vitamina B12 i folne kiseline venska krv je uzorkovana u vakuum epruvete s aktivatorom zgrušavanja i gel separatorom (*Vacurette, Greiner Bio-One GmbH*). Za određivanje koncentracije homocisteina, venska krv je uzorkovana u vakuum epruvete sa antikoagulansom K3EDTA (*Vacurette, Greiner Bio-One GmbH*) te je neposredno nakon uzorkovanja uronjena u smjesu vode i leda.

Uzorci su odmah nakon uzimanja dostavljeni u Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb. Uzorci seruma dobiveni su centrifugiranjem epruveta s punom krvi u trajanju od 10 minuta na brzini 2000 g (3700 okretaja u minuti). Uzorci plazme dobiveni su centrifugiranjem epruveta s punom krvi u trajanju od 10 minuta na brzini 2000 g (3700 okretaja u minuti) u hladenoj centrifugi na temperaturi od +4°C. Uzorci seruma su odmah obrađeni, dok su uzorci plazme odvojeni te su alikvotirani u sekundarne epruvete i do analize pohranjeni u zamrzivaču na -80°C.

4.3.2. Metode određivanja

U svim uzorcima određivane su koncentracije vitamina B12, folne kiseline i homocisteina. Svi reagensi su kalibrirani pomoću materijala koje preporučuje proizvođač, a točnost mjerenja provjerena je korištenjem odgovarajućih kontrolnih materijala koje preporučuje proizvođač. Svi testovi, koji su dio ovog doktorskog rada, rutinski su testovi u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb i ispunjavaju zahtjeve akreditacijske norme HRN EN ISO 15189.

Određivanje koncentracije vitamina B12 i folne kiseline u uzorcima seruma napravljeno je na imunokemijskom modulu uređaja *Roche Cobas 6000 CEE* (*Roche Diagnostics International*, Rotkreuz, Kraljevina Švicarska). Metoda određivanja je elektrokemiluminiscencija. Za određivanje koncentracije vitamina B12 u serumu, korišten je reagens *Elecsys Vitamin B12 II reagent kit* te pripadajući kalibratori i kontrole *Vitamin B12 II CalSet II* i *PreciControl Varia* (*Roche Diagnostics International*, Rotkreuz, Kraljevina Švicarska), a za određivanje koncentracije folne kiseline korišten je reagens *Elecsys Folate III reagent kit* te pripadajući kalibratori i kontrola *Folate III CalSet* i *PreciControl Varia* (*Roche Diagnostics International*, Rotkreuz, Kraljevina Švicarska). Određivanje koncentracije homocisteina u uzorcima plazme provedeno je na tandemskom spektrometru masa udruženim s tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti *Shimadzu 8050* (*Shimadzu*, Kyoto, Japan), a za određivanje korišten je reagens *Recipe ClinMass/ClinSpot LC-MS/MS Complete Kits Homocysteine in Plasma/Serum* (*RECIPE Chemicals + Instruments GmbH*, München, Njemačka). Linearnost testa za određivanje vitamina B12 je 36,9 do 1476 pmol/l, a za folnu kiselinu 1,36 do 45,4 nmol/l (definirane su limitom slijepe probe i vrijednošću najvišeg kalibratora master krivulje). Kod određivanja homocisteina, rezultati niži od 5,0 $\mu\text{mol/l}$ izdaju se kao <5,0 $\mu\text{mol/l}$. Ako je dobiveni rezultat homocisteina viši od gornje granice ispitane linearnosti, potrebno je uzorak razrijediti HPLC vodom (*LC-MS Grade*) ili uzorkom niske koncentracije homocisteina do analitički prihvatljive vrijednosti.

4.4. Statističke metode

Kolmogorov–Smirnov test pokazao je da najvažnije kontinuirane varijable korištene u ovom istraživanju, odnosno dob, trajanje depresije, trajanje akutne epizode depresije, koncentracije folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina te rezultati na ljestvicama depresivnosti MADRS i HAM-D-17, nisu slijedile normalnu distribuciju ($p < 0,05$). Stoga je za ispitivanje razlika u kontinuiranim varijablama između dviju kliničkih skupina korišten neparametrijski statistički test.

Unutarnja pouzdanost kliničkih ljestvica procjene (MADRS i HAM-D-17) određena je Cronbachovim alfa koeficijentom. Općenito, statistička obrada uključivala je metode deskriptivne statistike (medijani, interkvartilni rasponi, frekvencije i postoci). Inferencijalne metode, odnosno razlike između dviju kliničkih skupina (TRD nasuprot depresiji bez TRD-a) u sociodemografskim, kliničkim i biološkim čimbenicima analizirane su hi-kvadrat testom (u slučaju kategorijalnih čimbenika) i Mann–Whitney testom (u slučaju kontinuiranih čimbenika).

Nadalje, provedene su dvije multivarijatne linearne regresijske analize (metodom Enter) kako bi se ispitala neovisna povezanost folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina s težinom depresivnih simptoma, uz kontrolu utjecaja sociodemografskih i kliničkih varijabli. Pritom su bile dvije kriterijske, odnosno zavisne varijable – intenzitet depresivnih simptoma prema MADRS i HAM-D-17 ljestvicama. Neke kategoričke varijable, odnosno radni status i status partnerske veze, transformirane su u tzv. dummy varijable. Izračunati su sljedeći parametri regresijskih analiza: standardizirani beta koeficijent prediktorskih varijabli, značajnost ukupnog modela i koeficijent determinacije. Također su provjereni faktori inflacije varijance (VIF) radi procjene moguće multikolinearnosti te kriterij normalnosti reziduala radi procjene potrebe za transformacijom nezavisnih varijabli.

Naposlijetku, provedene su tri binarne logističke regresijske analize za predviđanje pripadnosti jednoj od dviju kliničkih skupina (TRD vs. TNRD) na temelju koncentracija folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina, uz kontrolu mogućeg utjecaja relevantnih sociodemografskih i kliničkih čimbenika. Izračunati su sljedeći parametri logističkih regresijskih analiza: nestandardizirani koeficijent prediktorskih varijabli, standardna pogreška, Waldov test, prognostička vrijednost prediktora i koeficijent determinacije. U slučaju folne kiseline, zbog potpune separacije između dviju kliničkih skupina (TRD vs. TNRD), primijenjena je Firthova penalizirana logistička regresijska analiza.

Za izračun veličine uzorka i analizu statističke snage korišten je program G*Power 3. Za Mann–Whitneyjev test ($p < 0,05$; snaga = 0,800; srednja veličina učinka = 0,50) potrebna ukupna veličina uzorka iznosila je 102 ispitanika ($N = 51$ po skupini), dok je stvarna veličina uzorka iznosila 116 ispitanika, s 56 i 59 ispitanika po skupini. Stoga je istraživanje raspolagalo odgovarajućom veličinom uzorka i željenom statističkom snagom. Sve statističke analize provedene su u programu SPSS za Microsoft Windows, verzija 21.0.

5. Rezultati

5.1. Početna provjera normaliteta distribucije promatranih čimbenika istraživanja

U nastavku slijedi statistička analiza normaliteta distribucije za promatrane čimbenike istraživanja na cjelokupnom uzorku žena s velikim depresivnim poremećajem ($N = 116$). Pritom su analizirani sljedeći čimbenici istraživanja: dob, koncentracija folne kiseline, koncentracija vitamina B12, koncentracija homocisteina, rezultat na upitniku depresivnosti HAM-D-17, rezultat na upitniku depresivnosti MADRS, trajanje depresije (u godinama), te trajanje akutne depresivne epizode (u mjesecima). Za ovu analizu korišten je tzv. Kolmogorov-Smirnov test normaliteta distribucije.

Tablica 1. Rezultati Kolmogorov-Smirnov testa (K-S) za promatrane čimbenike istraživanja ($N = 116$)

	K-S	p
Dob	0,092	0,034
Folna kiselina nmol/l	0,130	0,000
vitamin B12 pmol/l	0,149	0,000
Homocistein μ mol/l	0,168	0,000
HAM-D-17	0,147	0,000
MADRAS	0,114	0,003
Trajanje depresije (god.)	0,154	0,000
Trajanje akutne epizode (mj.)	0,358	0,000

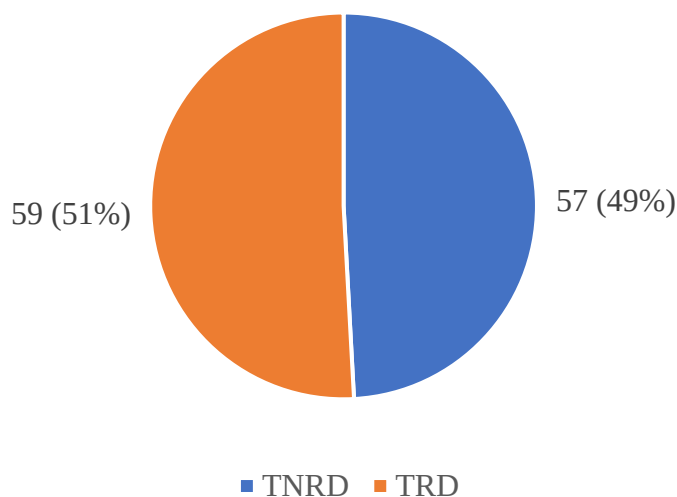
HAM-D-17 – Hamiltonova ocjenska ljestvica za depresiju; MADRS – Montgomery-Asbergova ocjenska ljestvica za depresiju; p - razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultate Kolmogorov-Smirnov testa, može se zaključiti kako svi promatrani čimbenici istraživanja statistički značajno odstupaju od normalne distribucije ($p < 0,05$) (Tablica 1). S obzirom na navedeno, bit će korišteni neparametrijski statistički testovi u narednim analizama podataka (u slučajevima u kojima je to statistički opravdano).

5.2. Usporedba pacijentica s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom

U nastavku slijedi deskriptivni prikaz, odnosno opis, pacijentica s terapijski nerezistentnom ($n = 57$) i terapijski rezistentnom depresijom ($n = 59$) prema relevantnim sociodemografskim, kliničkim i laboratorijskim čimbenicima. Pritom se ovaj opis temelji na metodama deskriptivne statistike (frekvencije, postoci/proporcije, interkvartalni raspon, medijan).

Nadalje, usporedba značajnosti razlika u navedenim sociodemografskim, kliničkim i laboratorijskim čimbenicima između pacijentica s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom provedena je pomoću odgovarajućih statističkih testova (ovisno o vrsti kvantitativne varijable – kategorijalna ili kontinuirana).



Slika 1. Prikaz raspodjele sudionica prema pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

5.2.1. Usporedba pacijentica s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom prema sociodemografskim čimbenicima

U nastavku slijedi deskriptivni prikaz, odnosno opis, pacijentica s terapijski nerezistentnom ($n = 57$) i terapijski rezistentnom depresijom ($n = 59$) prema relevantnim sociodemografskim čimbenicima: dob, stupanj obrazovanja, radni status, bračni status, broj djece, konzumacija alkohola i konzumacija cigareta. Pritom se ovaj opis temelji na metodama deskriptivne statistike (frekvencije, postoci/proporcije, interkvartalni raspon, medijan).

Nadalje, usporedba značajnosti razlika u navedenim sociodemografskim čimbenicima između pacijentica s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom provedena je pomoću χ^2 testa i Mann-Whitney testa za nezavisne uzorke.

Tablica 2. Prikaz središnjih vrijednosti i raspona dobi pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$)

Klinička skupina	Medijan	Min	Max
Pacijentice s TNRD	56	20	61
Pacijentice s TRD	55	30	65

TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

Tablica 3. Rezultati Mann-Whitney testa za razliku u medijanima dobi između pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$)

	U	P
Dob	1,575	0,554

U – Mann-Whitney test; p - razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultat Mann-Whitney testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema dobi ($p = 0,554$) (Tablica 3.).

Tablica 4. Prikaz raspodjele pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$) prema stupnju obrazovanja

	Stupanj obrazovanja			n_2
	Osnovna škola	Srednja škola	Visoko obrazovanje	
Pacijentice s TNRD	8	41	8	57
Pacijentice s TRD	10	39	10	59
n_1	18	80	18	

n_1 – frekvencija pacijentica prema obrazovanju; n_2 – frekvencija pacijentica prema pripadnosti kliničkoj skupini; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

Tablica 5. Rezultati χ^2 testa povezanosti stupnja obrazovanja i pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

χ^2	df	p
0,460	2	0,794

χ^2 – hi-kvadrat test; df – stupnjevi slobode; p – razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultat χ^2 testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema stupnju obrazovanja ($p = 0,794$), odnosno kategorije obrazovnog statusa nisu povezane s pripadanjem jednoj od dviju navedenih skupina (Tablica 5.).

Tablica 6. Prikaz raspodjele pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$) prema radnom statusu

	Radni status			n_2
	Zaposlene	Nezaposlene	Umirovljenice	
Pacijentice s TNRD	11	28	18	57
Pacijentice s TRD	13	30	16	59
n_1	24	58	34	

n_1 – frekvencija pacijentica prema radnom statusu; n_2 – frekvencija pacijentica prema pripadnosti kliničkoj skupini; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

Tablica 7. Rezultati χ^2 testa povezanosti radnog statusa i pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

χ^2	df	p
0,319	2	0,853

χ^2 – hi-kvadrat test; df – stupnjevi slobode; p – razina značajnosti

S obzirom na rezultat χ^2 testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema radnom statusu ($p = 0,853$), odnosno kategorije radnog statusa nisu povezane s pripadanjem jednoj od dviju navedenih skupina (Tablica 7.).

Tablica 8. Prikaz raspodjele pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$) prema bračnom statusu

	Bračni status				n_2
	Neudane	Udane	Razvedene	Udovice	
Pacijentice s TNRD	3	43	4	7	57
Pacijentice s TRD	5	39	11	4	59
n_1	8	82	15	11	

n_1 – frekvencija pacijentica prema bračnom statusu; n_2 – frekvencija pacijentica prema kliničkoj skupini; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

Tablica 9. Rezultati χ^2 testa povezanosti bračnog statusa i pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

χ^2	df	p
4,747	3	0,191

χ^2 – hi-kvadrat test; df – stupnjevi slobode; p – razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultat χ^2 testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema bračnom statusu ($p = 0,191$), odnosno kategorije bračnog statusa nisu povezane s pripadanjem jednoj od dviju navedenih skupina (Tablica 9.).

Tablica 10. Prikaz raspodjele pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$) prema broju djece

	Broj djece						n_2
	0	1	2	3	4	5	
Pacijentice s TNRD	4	20	27	3	2	1	57
Pacijentice s TRD	8	13	26	10	2	0	59
n_1	12	33	53	13	4	1	

n_1 – frekvencija pacijentica prema broju djece; n_2 – frekvencija pacijentica prema kliničkoj skupini; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

Tablica 11. Rezultati χ^2 testa povezanosti broja djece pacijentica i pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

χ^2	df	p
7,574	5	0,181

χ^2 – hi-kvadrat test; df – stupnjevi slobode; p – statističke razina značajnosti

S obzirom na rezultat χ^2 testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema broju djece ($p = 0,181$), odnosno broj djece nije povezan s pripadanjem jednoj od dviju navedenih skupina (Tablica 11.).

Tablica 12. Prikaz raspodjele pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$) prema konzumaciji alkohola

	Konzumacija alkohola		
	Ne	Da	n_2
Pacijentice s TNRD	53	4	57
Pacijentice s TRD	58	1	59
n_1	111	5	

n_1 – frekvencija pacijentica prema konzumaciji alkohola; n_2 – frekvencija pacijentica prema pripadnosti kliničkoj skupini; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

Tablica 13. Rezultati χ^2 testa povezanosti konzumacije alkohola i pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

χ^2	df	p
1,991	1	0,158

χ^2 – hi-kvadrat test; df – stupnjevi slobode; p – razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultat χ^2 testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema konzumaciji alkohola ($p = 0,158$), odnosno konzumacija alkohola nije povezana s pripadanjem jednoj od dviju navedenih skupina (Tablica 13.).

Tablica 14. Prikaz raspodjele pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$) prema konzumaciji cigareta

	Konzumacija cigareta		
	Ne	Da	n_2
Pacijentice s TNRD	37	20	57
Pacijentice s TRD	39	20	59
n_1	76	40	

n_1 – frekvencija pacijentica prema konzumaciji cigareta; n_2 – frekvencija pacijentica prema pripadnosti kliničkoj skupini; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

Tablica 15. Rezultati χ^2 testa povezanosti konzumacije cigareta i pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

χ^2	df	p
0,018	1	0,893

χ^2 – hi-kvadrat test; df – stupnjevi slobode; p – razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultat χ^2 testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema konzumaciji cigareta ($p = 0,893$), odnosno konzumacija cigareta nije povezana s pripadanjem jednoj od dviju navedenih skupina (Tablica 15.).

5.2.2. Usporedba pacijentica s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom prema kliničkim i laboratorijskim čimbenicima

U nastavku slijedi deskriptivni prikaz, odnosno opis, pacijentica s terapijski nerezistentnom ($n = 57$) i terapijski rezistentnom depresijom ($n = 59$) prema relevantnim kliničkim i laboratorijskim čimbenicima: psihijatrijska dijagnoza, broj depresivnih epizoda, broj dosadašnjih hospitalizacija, prethodni pokušaj suicida, pokušaji liječenja elektrokonvulzivnom terapijom, postojanje psihijatrijskog herediteta, ukupno trajanje liječenja, trajanje akutne depresivne epizode, stupanj depresivnosti prema skalama HAM-D-17 i MADRS, te koncentracija folne kiseline, homocisteina i vitamina B12. Pritom se ovaj opis temelji na metodama deskriptivne statistike (frekvencije, postoci/proporcije, interkvartalni raspon, medijan).

Nadalje, usporedba značajnosti razlika u navedenim kliničkim i laboratorijskim čimbenicima između pacijentica s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom provedena je pomoću χ^2 testa i Mann-Whitney testa za nezavisne uzorke.

Tablica 16. Prikaz raspodjele pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$) prema psihijatrijskoj dijagnozi

	Psihijatrijska dijagnoza								n_2
	F32	F32.1	F32.2	F32.3	F33	F33.1	F33.2	F33.3	
Pacijentice s TNRD	4	1	3	0	12	5	24	8	57
Pacijentice s TRD	3	2	4	1	8	8	24	9	59
n_1	7	3	7	1	20	13	48	17	

n_1 – frekvencija pacijentica prema dijagnozi; n_2 – frekvencija pacijentica prema kliničkoj skupini; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

Tablica 17. Rezultati χ^2 testa povezanosti psihijatrijske dijagnoze i pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

χ^2	df	p
3,137	7	0,872

χ^2 – hi-kvadrat test; df – stupnjevi slobode; p – razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultat χ^2 testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema psihijatrijskoj dijagnozi ($p = 0,872$), odnosno psihijatrijska dijagnoza nije povezana s pripadanjem jednoj od dviju navedenih skupina (Tablica 17.).

Tablica 18. Prikaz raspodjele pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$) prema broju dosadašnjih depresivnih epizoda te rezultati χ^2 testa povezanosti broja dosadašnjih depresivnih epizoda i pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

	Pacijentice s TNRD ($n=57$)	Pacijentice s TRD ($n=59$)	f – epizode	χ^2	df	p
2	4	4	8			
3	4	4	8			
4	5	2	7			
5	1	6	7			
6	7	6	13			
7	3	2	5			
8	5	2	7			
10	10	18	28	17,100	16	0,379
11	3	0	3			
12	4	4	8			
13	1	0	1			
14	1	2	3			
15	1	3	4			
16	1	0	1			
20	6	5	11			
26	0	1	1			

TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija; χ^2 – hi-kvadrat test; df – stupnjevi slobode; p – razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultat χ^2 testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema broju dosadašnjih depresivnih epizoda ($p = 0,379$), odnosno broj depresivnih epizoda nije povezan s pripadanjem jednoj od dviju navedenih skupina (Tablica 18.).

Tablica 19. Prikaz raspodjele pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$) prema broju dosadašnjih hospitalizacija te rezultati χ^2 testa povezanosti broja dosadašnjih hospitalizacija i pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

	Pacijentice s TNRD ($n = 57$)	Pacijentice s TRD ($n = 59$)	f – broj cigareta	χ^2	df	p
0	25	13	38			
1	7	11	18			
2	8	11	19			
3	1	7	8			
4	1	2	3			
5	5	5	10			
6	1	4	5			
7	1	1	2	17,756	14	0,218
8	3	1	4			
9	0	1	1			
10	2	0	2			
11	1	0	1			
12	1	1	2			
15	0	1	1			
16	1	1	2			

TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija; χ^2 – hi-kvadrat test; df – stupnjevi slobode; p – razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultat χ^2 testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema broju dosadašnjih hospitalizacija ($p = 0,218$), odnosno broj hospitalizacija nije povezan s pripadanjem jednoj od dviju navedenih skupina (Tablica 19.).

Tablica 20. Prikaz raspodjele pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$) prema prethodnom pokušaju suicida

	Prethodni pokušaj suicida		
	Ne	Da	n_2
Pacijentice s TNRD	50	7	57
Pacijentice s TRD	54	5	59
n_1	104	12	

n_1 – frekvencija pacijentica prema prethodnom pokušaju suicida; n_2 – frekvencija pacijentica prema pripadnosti kliničkoj skupini; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

Tablica 21. Rezultati χ^2 testa povezanosti prethodnog pokušaja suicida i pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

χ^2	df	p
0,453	1	0,501

χ^2 – hi-kvadrat test; df – stupnjevi slobode; p – razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultat χ^2 testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema broju dosadašnjih hospitalizacija ($p = 0,501$), odnosno broj hospitalizacija nije povezan s pripadanjem jednoj od dviju navedenih skupina (Tablica 21.).

Tablica 22. Prikaz raspodjele pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$) prema pokušaju liječenja elektrokonvulzivnom terapijom

	Liječenje s EKT		
	Ne	Da	n_2
Pacijentice s TNRD	54	3	57
Pacijentice s TRD	59	0	59
n_1	113	3	

n_1 – frekvencija pacijentica prema pokušaju liječenja elektrokonvulzivnom terapijom; n_2 – frekvencija pacijentica prema pripadnosti kliničkoj skupini; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

Tablica 23. Rezultati χ^2 testa povezanosti pokušaja liječenja elektrokonvulzivnom terapijom i pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

χ^2	df	p
3,188	1	0,074

χ^2 – hi-kvadrat test; df – stupnjevi slobode; p – razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultat χ^2 testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema pokušaju liječenja elektrokonvulzivnom terapijom ($p = 0,074$), odnosno pokušaji liječenja elektrokonvulzivnom terapijom nisu povezani s pripadanjem jednoj od dviju navedenih skupina (Tablica 23.).

Tablica 24. Prikaz raspodjele pacijentica s TNRD ($n = 57$) i pacijentica s TRD ($n = 59$) prema postojanju psihijatrijskog herediteta

	Postojanost herediteta		
	Ne	Da	n_2
Pacijentice s TNRD	41	16	57
Pacijentice s TRD	45	14	59
n_1	86	30	

n_1 – frekvencija pacijentica prema postojanosti drugog psihijatrijskog herediteta; n_2 – frekvencija pacijentica prema pripadnosti kliničkoj skupini; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

Tablica 25. Rezultati χ^2 testa povezanosti postojanja psihijatrijskog herediteta i pripadnosti kliničkoj skupini ($N = 116$)

χ^2	df	p
0,285	1	0,593

χ^2 – hi-kvadrat test; df – stupnjevi slobode; p – razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultat χ^2 testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno ne razlikuju prema postojanju psihijatrijskog herediteta ($p = 0,593$), odnosno postojanje psihijatrijskog herediteta nije povezano s pripadanjem jednoj od dviju navedenih skupina (Tablica 25.).

Tablica 26. Razlike u središnjim vrijednostima rezultata promatranih kliničkih i laboratorijskih čimbenika istraživanja između pacijentica s TNRD i pacijentica s TRD

Promatrana varijabla	Medijan (IQR [†])			<i>p</i> *
	Sve pacijentice istraživanja (<i>N</i> = 116)	Pacijentice s TNRD (<i>n</i> = 57)	Pacijentice s TRD (<i>n</i> = 59)	
Folna kiselina nmol/l	12 (8,50-17,53)	17,60 (15,25-23,65)	8,80 (7,00-10,80)	0,000
vitamin B12 pmol/l	279,50 (221,25-373,00)	292,00 (246,00-397,50)	261,00 (210,00-363,00)	0,053
Homocistein μmol/l	10,30 (5,00-13,00)	5,40 (5,00-10,90)	12,00 (10,23-14,48)	0,000
HAM-D-17	29,00 (26,00-32,00)	29,00 (25,00-31,00)	30,00 (26,00-32,00)	0,303
MADRS	33,00 (29,00-35,75)	32,00 (28,00-34,50)	34,00 (29,00-36,00)	0,288
Trajanje depresije (god.)	7,50 (4,00-14,00)	8,00 (4,00-18,00)	7,00 (4,00-12,00)	0,561
Trajanje akutne epizode (mj.)	2 (1-2)	2 (1-2)	2 (1-2)	0,591

* Mann-Whitney test; [†]interkvartilni raspon; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija; HAM-D-17 – Hamiltonova ocjenska ljestvica za depresiju; MADRS – Montgomery-Asbergova ocjenska ljestvica za depresiju; *p* – razina statističke značajnosti

S obzirom na rezultat Mann-Whitney testa, može se zaključiti kako se pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno razlikuju prema koncentraciji folne kiseline ($p = 0,000$) i koncentraciji homocisteina ($p = 0,000$). Točnije, koncentracija folne kiseline značajno je viša kod pacijentica s terapijski nerezistentnom depresijom, dok je koncentracija homocisteina značajno viša kod pacijentica s terapijski rezistentnom depresijom (Tablica 26.). Pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom statistički značajno se ne razlikuju u koncentraciji vitamina B12, razini depresivnosti prema upitnicima HAM-D-17 i MADRS te u trajanju depresije i trajanju akutne depresivne epizode ($p > 0,05$) (Tablica 26.).

5.3. Povezanost laboratorijskih čimbenika s intenzitetom simptoma depresije

Kako bi se ispitao nezavisni doprinos laboratorijskih čimbenika (koncentracije folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina) u objašnjavanju intenziteta simptoma depresije, provedene su dvije multivarijatne regresijske analize na cjelokupnom uzorku pacijentica s depresijom ($N = 116$). Koncentracije folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina korištene su kao prediktorske varijable, a rezultati na upitnicima MADRS i HAM-D-17 korišteni su kao dvije kriterijske varijable (u dvije zasebne multivarijatne regresijske analize). Pri tome je u obje multivarijatne regresijske analize istovremeno kontroliran utjecaj sociodemografskih i kliničkih čimbenika. Rezultati dviju multivarijatnih regresijskih analiza prikazani su u Tablicama 27 i 28.

S obzirom na rezultat prve multivarijatne regresijske analize, može se zaključiti kako su niže koncentracije folne kiseline statistički značajno povezane s višim intenzitetom simptoma depresije (prema MADRS skali) na cjelokupnom uzorku pacijentica s depresivnim poremećajem ($\beta = -0.296$, $p = 0,036$), neovisno o utjecaju ostalih sociodemografskih, kliničkih i laboratorijskih čimbenika. Također, aktivno pušenje značajno je povezano s višim intenzitetom simptoma depresije (prema MADRS skali) ($\beta = 0,488$, $p = 0,007$). Cjelokupni regresijski model statistički je značajan ($F = 2,066$, $p < 0,05$), a njime je objašnjeno ukupno 12,5 % varijance u intenzitetu simptoma depresije ($R^2 = 0,125$) (Tablica 27.). **Nisu utvrđeni značajni problemi multikolinearnosti (sve vrijednosti VIF-a bile su $< 2,3$), niti je, prema kriteriju normalnosti reziduala, bila potrebna transformacija prediktorskih varijabli.**

S obzirom na rezultat druge multivarijatne regresijske analize, može zaključiti kako koncentracije folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina nisu statistički značajno povezane s višim intenzitetom simptoma depresije (prema HAM-D-17 skali) na cjelokupnom uzorku pacijentica s depresivnim poremećajem ($\beta = -0,296$, $p = 0,036$). Cjelokupni regresijski model nije statistički značajan ($F = 0,713$, $p > 0,05$), a njime je objašnjeno ukupno samo 3,6 % varijance u intenzitetu simptoma depresije ($R^2 = 0,036$) (Tablica 28.). **Nisu utvrđeni značajni problemi multikolinearnosti (sve vrijednosti VIF-a bile su $< 2,5$), niti je, prema kriteriju normalnosti reziduala, bila potrebna transformacija prediktorskih varijabli.**

Tablica 27. Multivarijatna regresijska analiza za promatrane čimbenike istraživanja s intenzitetom depresivnih simptoma (MADRS skala) kao kriterijem za sve sudionice istraživanja ($N = 116$)

Prediktor	B	p	F	R^2
Dob	-0,079	0,495		
Folna kiselina nmol/l	-0,296	0,036		
Vitamin B12 pmol/l	0,126	0,215		
Homocistein μ mol/l	-0,075	0,532		
Bračni status	-0,133	0,224		
Stupanj obrazovanja	-0,103	0,327	2,066*	0,125
Broj djece	0,119	0,245		
Radni status	0,011	0,923		
Postojanje herediteta (ne/da)	0,142	0,161		
Konzumacija alkohola (ne/da)	-0,120	0,261		
Konzumacija cigareta (ne/da)	0,488	0,007		
Klinička skupina (TRD vs. TNRD)	-0,084	0,562		

MADRS – Montgomery-Asbergova ocjenska ljestvica za depresiju; β – standardizirani beta koeficijent prediktorskih varijabli; p – razina statističke značajnosti; F – značajnost ukupnog modela; R^2 – koeficijent determinacije; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija; * $p < 0,05$

Tablica 28. Multivarijatna regresijska analiza za promatrane čimbenike istraživanja s intenzitetom depresivnih simptoma (HAM-D-17 skala) kao kriterijem za sve sudionice istraživanja ($N = 116$)

Prediktor	β	p	F	R^2
Dob	-0,072	0,555		
Folna kiselina nmol/l	-0,150	0,215		
vitamin B12 pmol/l	0,107	0,325		
Homocistein μ mol/l	0,000	0,998		
Bračni status	-0,072	0,546		
Stupanj obrazovanja	0,024	0,833	0,713	0,036
Broj djece	0,065	0,560		
Radni status	-0,073	0,557		
Postojanje herediteta (ne/da)	0,128	0,242		
Konzumacija alkohola (ne/da)	-0,138	0,231		
Konzumacija cigareta (ne/da)	0,077	0,690		
Klinička skupina (TRD vs. TNRD)	0,045	0,824		

HAM-D-17 – Hamiltonova ocjenska ljestvica za depresiju; β – standardizirani beta koeficijent prediktorskih varijabli; p – razina statističke značajnosti; F – značajnost ukupnog modela; R^2 – koeficijent determinacije; TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija

5.4. Predikcija terapijskih rezistentne depresije na temelju laboratorijskih čimbenika

Kako bi se ispitao doprinos laboratorijskih čimbenika (koncentracije folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina) u predviđanju terapijski i rezistentne depresije, provedene su tri multivarijatne logističke regresijske analize na cjelokupnom uzorku pacijentica s depresijom ($N = 116$). Koncentracije folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina korištene su kao prediktorske varijable u tri logističke regresijske analize, a varijabla pripadnost kliničkoj skupini (TRD vs. TNRD) korištena je kao kriterij. Pri tome je u sve tri multivarijatne logističke regresijske analize istovremeno kontroliran utjecaj sociodemografskih i kliničkih čimbenika.

S obzirom na rezultate triju logističkih regresijskih analiza, može se zaključiti kako je koncentracija homocisteina statistički značajno prediktivna za pripadnost kliničkoj skupini, odnosno više koncentracije homocisteina značajno povećavaju rizik od terapijski rezistentne depresije u pacijentica s depresivnim poremećajem (Waldov $\chi^2 = 20,546$, $p < 0,001$). Značajna prediktivnost koncentracije homocisteina neovisna je o utjecaju sociodemografskih i kliničkih čimbenika. U ovom multivarijatnom logističkom modelu, iznos Nagelkerke R^2 je 0,474, a rezultati modela mogu se naći u Tablici 29.

Tablica 29. Multivarijatna logistička regresijska analiza za promatrane čimbenike istraživanja (homocistein) s pripadnošću kliničkoj skupini (TRD vs. TNRD) kao kriterijem za sve sudionice istraživanja ($N = 116$)

Prediktor	<i>B</i> (<i>S.E.</i>)	Wald	<i>OR</i>	<i>p</i>	Negelkerke R^2
Dob	-0.057 (0.029)	3.792	0.945	0.053	
Stupanj obrazovanja	0.397 (.516)	0.594	1.488	0.441	
Broj djece	0.136 (.259)	0.275	1.146	0.600	
Konzumacija cigareta	0.147 (.588)	0.063	1.159	0.803	.474
Konzumacija alkohola	-3.333 (1.731)	3.707	0.036	0.055	
Postojanje herediteta	-0.185 (.601)	0.095	0.831	0.758	
Homocistein $\mu\text{mol/l}$	0.291 (.064)	20.546	1.338	<0.001	

TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija; *B* – nestandardizirani koeficijent prediktorskih varijabli; *S.E.* – standardna pogreška; Wald – Waldov test; *OR* – prognostička vrijednost prediktora; *p* – razina statističke značajnosti; R^2 – koeficijent determinacije

Što se tiče koncentracije vitamina B12, ona nije statistički značajno prediktivna za pripadnost kliničkoj skupini, odnosno niže koncentracije vitamina B12 ne povećavaju značajno rizik od terapijski rezistentne depresije u pacijentica s depresivnim poremećajem (Waldov $\chi^2 = 0,947$, $p > 0,05$). U ovom multivarijatom logističkom modelu, iznos Nagelkerke R^2 je 0,044, a rezultati modela mogu se naći u Tablici 30.

Tablica 30. Multivarijatna logistička regresijska analiza za promatrane čimbenike istraživanja (vitamin B12) s pripadnošću kliničkoj skupini (TRD vs. TNRD) kao kriterijem za sve sudionice istraživanja ($N = 116$)

Prediktor	<i>B</i> (<i>S.E.</i>)	Wald	<i>OR</i>	<i>p</i>	Nagelkerke R^2
Dob	-0.013 (0.020)	0.414	0.987	0.520	
Stupanj obrazovanja	0.037 (.363)	0.010	0.964	0.919	
Broj djece	0.059 (.211)	0.078	1.061	0.780	
Konzumacija cigareta	0.078 (.445)	0.030	1.081	0.862	.044
Konzumacija alkohola	-1.495 (1.207)	1.534	0.224	0.216	
Postojanje herediteta	-0.247 (.443)	0.312	0.781	0.577	
Vitamin B12 pmol/l	0.001 (.001)	0.947	0.999	0.330	

TNRD – terapijski nerezistentna depresija; TRD – terapijski rezistentna depresija; *B* – nestandardizirani koeficijent prediktorskih varijabli; *S.E.* – standardna pogreška; Wald – Waldov test; *OR* – prognostička vrijednost prediktora; *p* – razina statističke značajnosti; R^2 – koeficijent determinacije

U slučaju koncentracije folne kiseline u krvi, zabilježena je potpuna separacija (odnosno savršena diskriminacija) između pacijentica s TRD-om i onih bez TRD-a, što je onemogućilo pouzdanu procjenu svih parametara modela standardnom logističkom regresijom. Drugim riječima, sve pacijentice iz TRD skupine imaju niže vrijednosti folne kiseline u odnosu na skupine pacijentice bez rezistentne depresije. To je dodatno vidljivo iz raspodjele koncentracija folne kiseline između pacijenata s i bez TRD-a prikazane u Tablici 26. Stoga je provedena Firthova penalizirana logistička regresijska analiza, koja je pokazala da su više koncentracije folne kiseline snažno povezane s manjom vjerojatnošću razvoja terapijski rezistentne depresije ($B = -2,20$; $OR = 0,111$; $P < 0,001$).

6. Rasprava

Terapijski rezistentna depresija (TRD) definira se kao stanje u kojem bolesnik s velikim depresivnim poremećajem ne pokazuje adekvatan klinički odgovor nakon primjene najmanje dva adekvatna ciklusa različitih antidepresiva u odgovarajućoj dozi i trajanju. TRD predstavlja jedan od najvećih izazova u suvremenoj psihijatriji, pogađajući do 30 % depresivnih pacijenata(2,97–99). Dok se klasični terapijski pristupi uglavnom fokusiraju na modulaciju monoaminskih neurotransmitera (serotonina, noradrenalina i dopamina), sve veći broj dokaza ukazuje na to da su metabolički i nutritivni čimbenici, posebice ciklus metilacije i metabolizam jedne ugljične skupine, ključni u patogenezi i otpornosti na liječenje.

U središtu ovog metaboličkog puta nalaze se folna kiselina (vitamin B9) i vitamin B12 (kobalamin). Ovi vitamini djeluju kao esencijalni kofaktori u procesu pretvorbe homocisteina u metionin. Metionin je pak preteča S-adenozilmetionina (S_{AM}e), glavnog donora metilnih skupina u mozgu. Kada u organizmu postoji deficit folne kiseline ili vitamina B12, proces remetilacije homocisteina je blokiran, što dovodi do dva paralelna patološka procesa: smanjenja razine S_{AM}e-a i nakupljanja homocisteina u plazmi (hiperhomocisteinemija)(56,70,100–103).

Nedostatak S_{AM}e-a izravno ugrožava sintezu serotonina, dopamina i noradrenalina, jer su metilacijski procesi nužni za rad enzima koji proizvode ove neurotransmitere. Iz tog razloga, pacijenti s funkcionalnim deficitom folata i B12 pokazuju značajno slabiji odgovor na standardne antidepresive (poput S_{IPPS}-a). Antidepresivi pokušavaju zadržati neurotransmitere dulje u sinaptičkoj pukotini, no ako je njihova bazalna proizvodnja u neuronima dramatično smanjena zbog metaboličkog bloka, terapijski učinak izostaje.

S druge strane, povišeni homocistein djeluje izravno neurotoksično. On je agonist NMDA (N-metil-D-aspartat) receptora za glutamat, što znači da njegova visoka koncentracija izaziva kroničnu ekscitotoksičnost, povećan ulazak kalcija u stanice i posljedičnu apoptozu (smrt) neurona, napose u hipokampusu. Osim toga, hiperhomocisteinemija uzrokuje endotelnu disfunkciju i mikrovaskularna oštećenja u mozgu, smanjujući cerebralni protok krvi i pridonoseći razvoju tzv. vaskularne depresije. Ovaj oblik depresije karakteriziran je izraženim kognitivnim deficitima, psihomotornim usporenjem i izrazitom otpornošću na konvencionalnu farmakoterapiju(74,89).

Dodatni klinički problem predstavljaju genetski polimorfizmi, poput mutacije gena za enzim MTHFR (metilentetrahidrofolat reduktaza). Pacijenti s ovim polimorfizmom ne mogu učinkovito pretvoriti običnu folnu kiselinu iz hrane ili standardnih suplemenata u aktivni oblik – L-metilfolat. L-metilfolat je jedini oblik koji može prijeći krvno-moždanu barijeru i sudjelovati u sintezi neurotransmitera. Kod takvih bolesnika, čak i uz prividno uredan unos folata, mozak pati od funkcionalnog nedostatka, što se klinički manifestira kao teška, terapijski rezistentna depresija(75,104,105).

Uvođenje probira za razine homocisteina, vitamina B12 i folata u serumu kod pacijenata koji ne reagiraju na prvu liniju antidepresiva nudi bazu za personalizirani pristup liječenju. Kliničke studije potvrđuju da augmentacija (pojačavanje) standardne antidepresivne terapije aktivnim oblicima ovih nutrijenata – prvenstveno L-metilfolatom i metilkobalaminom – može uspješno nadvladati metabolički blok, sniziti razinu neurotoksičnog homocisteina i preokrenuti terapijsku rezistenciju, pružajući novu nadu pacijentima s najtežim oblicima depresije.

6.1. Usporedba pacijentica s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom prema sociodemografskim, kliničkim i laboratorijskim čimbenicima

U našem istraživanju između pacijentica s terapijski nerezistentnom ($n = 57$) i terapijski rezistentnom depresijom ($n = 59$) nije bilo razlike u dvije ispitivane skupine prema relevantnim sociodemografskim čimbenicima, kao što su dob, stupanj obrazovanja, radni status, bračni status, broj djece, konzumacija alkohola i konzumacija cigareta. S obzirom na dosadašnja istraživanja, navedeno predstavlja pomalo neočekivani rezultat, osobito kod konzumacije alkohola i cigareta. Recentno istraživanje povezanosti TRD i pušenja pokazalo je da pušenje ima značajnu ulogu u nastanku TRD, odnosno da je kod žena s TRD pušenje bilo povezano sa suicidalnošću, impulzivnošću i rezistencijom na antidepresive (106). Također, slični su dokazi i kod konzumacije alkohola (107)

Kronični unos alkohola značajno ubrzava iscrpljivanje zaliha vitamina B12 u jetri i živčanom sustavu. Kombinacija teškog deficita kobalamina i alkoholizma kod pacijenata dovodi do strukturnih promjena u prednjem korteksu, što drastično povećava rizik od izostanka odgovora

na standardnu antidepresivnu terapiju i pridonosi razvoju tvrdokorne (rezistentne) depresije.(108)

Pušenje cigareta uzrokuje oksidativni stres koji ometa metabolizam jedne ugljikohodne skupine (metilaciju), smanjujući učinkovitost vitamina B12 i folata. Ovaj poremećaj izravno korelira s težinom depresivnih simptoma i većom učestalošću rezistencije na liječenje, jer je smanjena sinteza ključnih neurotransmitera(109).

Visok stupanj ovisnosti o nikotinu povezan je s ubrzanom eliminacijom i smanjenom apsorpcijom serumskog kobalamina. Obilna konzumacija alkohola i pušenje oštećuju sluznicu gastrointestinalnog trakta, izravno smanjujući apsorpciju folne kiseline i vitamina B12 unesenog hranom. Rezultirajući stanični deficit vitamina B12 u živčanom sustavu dovodi do povišenja neurotoksičnog homocisteina, što se klinički manifestira kao depresivni sindrom otporan na uobičajenu terapiju (109).

Parametri koji se odnose na kvalitetu depresije (ponavljajuća depresija i intenzitet simptoma), prijem u bolnicu, dob bolesnika, gubitak posla, život u zajednici, komorbidnu anksioznost, nesanicu i migrenu, također se u literaturi povezuju s razvojem TRD (110).

Potreba za hospitalizacijom služi kao izravan pokazatelj težine i kompleksnosti bolesti. Bolesnici koji zahtijevaju bolničko liječenje često imaju visoku stopu nefunkcionalnosti, izraženije kognitivne deficite ili su u stanju akutne krize. U literaturi se prethodne hospitalizacije smatraju snažnim markerom za TRD jer signaliziraju da ambulantno liječenje nije bilo dovoljno, a kronicitet koji se razvija tijekom ili nakon bolničkog liječenja otežava postizanje dugotrajne remisije(111). Gubitak posla predstavlja ogroman socioekonomski stresor. Gubitak posla ne znači samo financijsku nesigurnost, već i gubitak strukture dana, socijalnih kontakata i osjećaja svrhe. Kronični stres uzrokovan nezaposlenošću neprestano aktivira bolesnikov stresni sustav, što izravno potkopava biološke učinke antidepresiva. Ili život u disfunkcionalnoj zajednici lišava bolesnika ključnog resursa – emocionalne i praktične podrške. Nedostatak podrške povećava osjećaj beznada i smanjuje adherenciju (pridržavanje) planu liječenja, što izravno vodi prema terapijskom neuspjehu. Anksioznost pojačava bolesnikovu reaktivnost na stres, pogoršava kognitivne distorzije i često je povezana s izraženijim nuspojavama na lijekove, zbog čega bolesnici rano prekidaju terapiju, čime se otvara put prema TRD-u. Nesanica nije samo simptom depresije, već i neovisni čimbenik rizika za njezin razvoj i perzistenciju. Kronični nedostatak sna remeti neurotransmitterske sustave (osobito serotonin i noradrenalin) i pojačava proupalne procese u organizmu.

Ako se nesanica uspješno ne tretira, ona djeluje kao stalni "okidač" koji održava depresivno raspoloženje i sprječava antidepresive da postignu svoj puni terapijski učinak(112).

Ako promatramo laboratorijske parametre pacijentice s terapijski nerezistentnom i terapijski rezistentnom depresijom, statistički značajno razlikuju se prema koncentraciji folne kiseline i koncentraciji homocisteina. Točnije, koncentracija folne kiseline značajno je niža kod pacijentica s terapijski rezistentnom depresijom, dok je koncentracija homocisteina značajno viša kod pacijentica s terapijski rezistentnom depresijom. Navedeni rezultati su u skladu s ranijim istraživanjima.

Brojne su studije pokazale povezanost depresije i deficita folata (113–116).

Sustavni pregledi rad koji naglašava da nedostatak vitamina B9 i B12 smanjuje biosintezu neurotransmitera i podiže razinu homocisteina, što pogoršava depresivne simptome kroz ekscitotoksične odgovore u mozgu. Rad također ističe važnost genetskih varijanti (poput MTHFR polimorfizma) koje utječu na to kako pojedinci metaboliziraju ove vitamine. (2.1)

Međutim, čini se kako nije dovoljno naglašena uloga deficita folata u nedovoljnom terapijskom odgovoru na antidepresive, odnosno razvoju terapijski rezistentne depresije.

Folat ima važnu ulogu u sintezi tetrahidrobiopterina (BH₄), kofaktora u hidroksilaciji fenilalanina i triptofana, što ga čini izuzetno važnim u produkciji monoaminskih neurotransmitera koji se povezuju s depresijom (117)

Odnos između prehrane i depresije je bidirekcionalan. Dok se s jedne strane loše prehrabene navike, koje uključuju manji unos voća i povrća, povezuju s povišenim rizikom razvoja depresije (118), smanjeni apetit i gubitak na tjelesnoj težini predstavljaju simptome depresije. Stoga, nije do kraja jasno je li manjkava prehrana praćena deficitom mikronutrijenata, uključujući folnu kiselinu, predisponirajući čimbenik za depresiju, ili depresija, s druge strane, pridonosi manjku folata, ili je oboje točno. Nadalje, učinak antidepresiva također ovisi, do neke mjere, o inicijalnim razinama folata rezultirajući izostankom učinka u slučaju deficita folata (119,120). Pregledom kliničkih dokaza zaključuje se da dodavanje folne kiseline (posebno u aktivnom obliku) i vitamina B12 standardnim antidepresivima poboljšava ishode liječenja(120-122). Pacijenti s deficitom folata mogu se nekada proglasiti rezistentnima na liječenje, ali potrebna su istraživanja, poput ovog, u cilju rasvjetljavanja uloge deficita folata u nastanku TRD-a (121) Nadalje, neke studije pokazale su učinkovitost folata i kao monoterapije i kao adjunktivne terapije u liječenju depresivnog poremećaja. (122)

Ipak, nove longitudinalne studije i pregledni članci još uvijek su nedovoljno konkluzivni iako obećavajući glede sigurnosti dugotrajnog liječenja specifičnih subpopulacija bolesnika s depresivnim poremećajem (123,124).

Također, potvrdili smo više razine homocisteina u TRD grupi u usporedbi s nerezistentnom grupom kao i povezanost između povišenih vrijednosti tog parametra i pojave terapijske rezistencije, neovisno o sociodemografskim i kliničkim parametrima.

Ranija istraživanja pokazala su da postoji jasna linearna korelacija između povišenih razina homocisteina i težine depresivnih simptoma u općoj populaciji. Podaci podupiru hipotezu da povišeni homocistein izravno sudjeluje u patofiziologiji poremećaja raspoloženja, vjerojatno kroz mehanizme neurotoksičnosti. Istraživanja su se fokusirala na to kako povišeni homocistein (uzrokovao manjkom B9/B12) potiče endotelnu disfunkciju i neuroinflamaciju. Zaključeno je da visoke razine homocisteina djeluju kao neurotoksin koji oštećuje krvne žile u mozgu i narušava funkciju hipokampusa, što je ključno obilježje kroničnih depresivnih stanja(125,126). Pojedini pregledni radovi usmjereni su na identifikaciju biokemijskih markera koji razlikuju pacijente s dobrim odgovorom na terapiju od onih s rezistentnom depresijom. Rad zaključuje da parametri poput povišenog homocisteina, upalnih citokina i promijenjenih neurotrofnih faktora čine specifičan biološki profil pacijenata kod kojih standardni antidepresivi zakazuju.

To je djelomično u skladu s ranijim istraživanjima uloge hiperhomocisteinemije u depresivnom poremećaju iako su potrebne daljnje studije u procjeni utjecaja homocisteina na učinkovitost antidepresivne terapije u depresivnom poremećaju kao i u razvoju TRD-a. Imajući u vidu ranije spomenutu složenu međuigru između folne kiseline i homocisteina u sintezi za depresiju važnih neurotransmitera, kao što su serotonin i dopamin, obje ove molekule mogle bi se promatrati kao biološki markeri TRD-a.

Dapače, neki autori izvješćuju da konkomitantna uporaba antidepresiva i folne kiseline rezultira poboljšanjem učinkovitosti koja, nadalje, korelira s promjenama razina homocisteina (127). Ta konkomitantna terapija može mijenjati limfocitnu funkciju kod depresivnih pacijenata posredno preko redukcije razina homocisteina (117). Meta-analize o suplementaciji kao pomoćnoj terapiji analiziraju klinička ispitivanja u kojima su se folna kiselina (posebno u obliku L-metilfolata) i vitamin B12 koristili kao nadopuna standardnim antidepresivima (poput SSRI-ja). Rezultati potvrđuju da pacijenti koji primaju ove vitamine kao adjuvantnu terapiju bilježe brži i stabilniji pad na skalama za ocjenjivanje depresije (npr. HAM-D) u usporedbi s onima na samim antidepresivima(128)

Konačno, nismo pronašli smanjene razine vitamina B12 kod bolesnika s TRD u usporedbi s nerezistentnom depresijom što predstavlja neočekivan rezultat koji zahtijeva dodatnu potvrdu

u sljedećim istraživanjima. Premda je jedna longitudinalna studija pokazala povećanu vjerojatnost razvoja depresivnih simptoma kroz četiri godine kod starijih odraslih osoba s manjkom vitamina B12, uloga vitamina B12 u liječenju depresivnog poremećaja, osobito u rezistentnim oblicima i u negerijatrijskoj populaciji, nije još uvijek do kraja razjašnjena (124,129).

Navedeni radovi kao i naše istraživanje usmjeravaju na zajednički zaključak: folna kiselina i vitamin B12 nužni su za normalnu funkciju središnjeg živčanog sustava. Njihov nedostatak dovodi do nakupljanja homocisteina, što uzrokuje neurokemijski disbalans (smanjenu sintezu serotonina i dopamina) te vaskularna oštećenja u mozgu. Stoga pravovremena detekcija i korekcija ovih nedostataka imaju veliku važnost u prevenciji i uspješnijem liječenju depresije.

6.2. Povezanost laboratorijskih čimbenika s intenzitetom simptoma depresije

U ovome istraživanju po prvi je put u literaturi jasno pokazana povezanost između nižih razina folne kiseline i višeg intenziteta depresivnih simptoma u cijelome uzorku, neovisno o sociodemografskim, kliničkim i biološkim parametrima.

Nadalje, potvrdili smo povezanost nižih razina folne kiseline i višeg intenziteta depresivnih simptoma, čak i kad se isključi utjecaj relevantnih sociodemografskih, kliničkih i bioloških parametara, uključujući vitamin B12 i homocistein. Navedeni rezultat vrijedi za cijeli uzorak bolesnika s VDP što dodatno potvrđuje ulogu folne kiseline ne samo u terapijskoj rezistentnosti, nego i u težini kliničke slike depresije. Neke ranije studije također su potvrdile da niže razine folne kiseline povećavaju vjerojatnost depresije te utječu na njezino trajanje i intenzitet simptoma (117).

Koristeći veliku bazu podataka (NHANES), studija je pružila čvrste epidemiološke dokaze o obrnuto proporcionalnoj povezanosti između težine depresivnih simptoma i dviju mjera: folata u serumu te folata u eritrocitima (koji odražavaju dugoročne zalihe u organizmu). Zaključak istraživanja je da pojedinci s izraženijim i težim simptomima depresije konzistentno imaju niže razine folata u eritrocitima. Znanstvenici naglašavaju važnost folata u eritrocitima kao stabilnijeg indikatora nutritivnog statusa u bolesnika s depresijom te sugeriraju da bi strategije javnog zdravstva usmjerene na adekvatan unos folata mogle smanjiti prevalenciju teških depresivnih epizoda u općoj populaciji (120,125).

Sveobuhvatni pregledni rad analizirao je ulogu folata ne samo u kontekstu uobičajenih simptoma depresije, već i u kontekstu suicidalnog ponašanja i suicidalnih ideja. Autori zaključuju da adekvatan status folata igra kritičnu ulogu u neurobiologiji suicidalnosti povezane s depresijom. Ističe se da klasična folna kiselina ima ograničenja zbog genetskih polimorfizama (poput MTHFR mutacije), zbog čega se u kliničkoj praksi daje snažna prednost **L-metilfolatu** kao učinkovitijem augmentacijskom sredstvu koje izravno pojačava sintezu monoaminskih neurotransmitera i pomaže u ublažavanju najtežih psihijatrijskih simptoma(113,130).

U našoj studiji intenzitet pušenja također je bio povezan s razinom depresivnih simptoma što je u skladu s rezultatima prethodnih studija. Ipak, važno je napomenuti da u našem uzorku nije bilo razlike između dviju skupina s obzirom na status pušenja (131)

Istraživanje usmjereno na ulogu folata i životnih stilova u terapijski rezistentnim i nerezistentnim depresijama izravno uspoređuje profile pacijenata s rezistentnom i nerezistentnom depresijom. Zaključeno je da pacijenti s rezistentnim oblikom bolesti imaju statistički značajno niže razine folata u serumu te učestaliju povijest pušenja i konzumacije alkohola, što ukazuje na to da kombinacija loših životnih navika i posljedičnog metaboličkog deficita doprinosi težini i otpornosti kliničke slike(70,111,128)

Pojedini autori naglašavaju da evaluacija folatnog statusa treba biti standardni dio obrade pacijenata s depresijom. Autori naglašavaju da modificiranje životnih navika (prestanak pušenja i smanjenje alkohola) uz ciljanu suplementaciju folnom kiselinom može spriječiti razvoj terapijske rezistencije i transformirati klinički ishod iz nerezistentnog u uspješno izliječeni oblik(122,132).

Iako u našem istraživanju koncentracija vitamina B12 nije bila statistički značajnih razlika između TRD i TNRD ranija istraživanja koja su bila usmjerena na usporedbu pacijenata s rezistentnom i nerezistentnom depresijom zaključuje da skupina s rezistentnim oblikom ima znatno niže razine vitamina B12 u krvi. Autori povezuju ovaj deficit s učestalijim pušenjem i konzumacijom alkohola u toj skupini, naglašavajući da nezdrav stil života stvara biološku otpornost na antidepresivnu terapiju(108,109,133).

Kompleksna međusobna povezanost pušenja i depresije još uvijek nije u potpunosti rasvijetljena, ali je pušenje nedvojbeno povezano s komorbidnim tjelesnim bolestima kod bolesnika s depresivnim poremećajem (134–136).

Također, pušenje može smanjiti serumsku razinu brojnih antidepresiva npr. fluvoksamina, duloksetina, mirtazapina i trazodona, što može ozbiljno kompromirati njihovu učinkovitost (137)

Ne manje važno, regresijska analiza objašnjava samo 12,5 % varijance u težini depresije što ukazuje na poznatu činjenicu da je depresija kompleksan heterogeni sindrom koji je uvjetovan brojnim i međusobno povezanim biolojskim (uključujući i genetske), razvojnim, društvenim i kulturološkim determinantama (26,138).

6.3. Predikcija terapijskih rezistentne depresije na temelju laboratorijskih čimbenika

S obzirom na rezultate logističkih regresijskih analiza, može se zaključiti kako je koncentracija homocisteina statistički značajno prediktivna za pripadnost kliničkoj skupini, odnosno više koncentracije homocisteina značajno povećavaju rizik od terapijski rezistentne depresije u pacijentica s depresivnim poremećajem.

U svakodnevnoj kliničkoj praksi vrlo je važno identificirati pacijente koji će odgovoriti na liječenje antidepresivima, ali dosadašnja istraživanja nisu dala jasan odgovor na to pitanje (139).

Prema dosadašnjim studijama, pacijenti s TRD imaju povišene razine proinflammatoryh citokina koje indirektno reduciraju dostupnost serotonina u CNS i utječu na efikasnost antidepresiva (140)

Naši rezultati su u skladu s brojnim studijama koje potvrđuju povezanost homocisteina i depresije (129,141) kao i rizika relapsa kod pacijenata s depresijom (141). Međutim, nedostaju studije o povezanosti hiperhomocisteinemije i terapijske rezistencije kod depresivnih bolesnika, stoga naši podaci predstavljaju pokušaj u dodatnom rasvjetljavanju mogućih prediktivnih čimbenika za razvoj terapijske rezistencije.

Također, važno je napomenuti da nisu sve studije pokazale povezanost hiperhomocisteinemije i depresije (85,142,143) Naravno, brojni su čimbenici koji su mogli pridonijeti takvim rezultatima, poput specifičnih dijetnih režima, suplementacije vitaminima koja se odnosi na unos folata s daljnjim utjecajem na koncentracije homocisteina.

Folna kiselina pokazala se kao snažan i statistički vrlo robustan prediktor terapijski rezistentne depresije, čak i nakon primjene Firthove penalizirane logističke regresije radi uzimanja u obzir potpune separacije u vrijednostima biomarkera. Iako je smjer ove povezanosti biološki opravdan i u skladu s prethodno navedenom literaturom, veličinu učinka potrebno je tumačiti s

oprezom zbog ograničenog preklapanja koncentracija folne kiseline između uspoređivanih skupina (TRD vs. TNRD). U našem istraživanju nismo utvrdili značajno snižene koncentracije vitamina B12 u krvi kod bolesnika s terapijski rezistentnom depresijom (TRD) u usporedbi s bolesnicima bez terapijske rezistencije (naime, smanjenje koncentracije vitamina B12 u skupini s TRD-om nije doseglo razinu statističke značajnosti), što predstavlja novo opažanje u ovom području i zahtijeva potvrdu u budućim istraživanjima. Iako je jedno longitudinalno istraživanje pokazalo povećanu vjerojatnost razvoja depresivnih simptoma tijekom četverogodišnjeg praćenja kod starijih osoba s niskim ili deficitarnim statusom vitamina B12 [26], uloga vitamina B12 u liječenju velikog depresivnog poremećaja (MDD), osobito njegova terapijski rezistentnog oblika te u populacijama koje nisu gerijatrijske, i dalje je predmet rasprava (144,145)

Depresija pokazuje visoku stopu komorbiditeta s brojnim psihičkim poremećajima(26).

Najčešći psihijatrijski komorbiditeti depresije su:

1. Anksiozni poremećaji Ovo je najučestalija skupina komorbiditeta kod osoba s depresijom. Često se preklapaju simptomi poput nemira, napetosti i problema sa spavanjem. Među njima su najizraženiji:

- Generalizirani anksiozni poremećaj (GAP)
- Panični poremećaj
- Socijalna anksioznost
- Posttraumatski stresni poremećaj (PTSP)
- Opsesivno-kompulzivni poremećaj (OKP)

2. Poremećaji ovisnosti: Osobe koje pate od depresije ponekad koriste različite supstance u pokušaju ublažavanja simptoma (samoliječenje), što može dovesti do razvoja ovisnosti ili zlouporabe:

- Alkoholizam
- Zlouporaba psihoaktivnih tvari

3. Poremećaji hranjenja Depresija je blisko povezana s promjenama u apetitu i doživljaju vlastitog tijela, što se može manifestirati kroz:

- Anoreksiju nervozu

- Bulimiju nervozu
- Poremećaj s prejedanjem

5. Poremećaji spavanja Iako su problemi sa spavanjem često simptom same depresije, oni mogu postojati i kao zasebna dijagnoza koja zahtijeva specifičan tretman:

- Kronična insomnija (nesanica)
- Hipersomnija (pretjerana pospanost)

6. Poremećaji ličnosti Određeni strukturalni obrasci ponašanja i doživljavanja mogu se preklapati sa simptomima depresije, pri čemu najčešće dolazi do preklapanja s graničnim (borderline) poremećajem ličnosti te izbjegavajućim poremećajem ličnosti.

Trijas Anksioznost – Depresija – Demencija

A. Anksioznost i Depresija: Zajednički korijen

Anksioznost i depresija su toliko blisko povezane da se u kliničkoj praksi često govori o mješovitom anksiozno-depresivnom poremećaju. Smatra se da do 60-70 % bolesnika s depresijom tijekom života razvije i neki oblik anksioznog poremećaja (146).

- Neurobiologija: Oba stanja karakterizira disregulacija neurotransmitera (serotonina, noradrenalina i dopamina) te hiperaktivnost HPA osi (hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda), što dovodi do povišene razine kortizola – hormona stresa (26,146).
- Psihologija: Kronična anksioznost i stalna zabrinutost iscrpljuju kognitivne i emocionalne resurse pojedinca, što s vremenom često prelazi u osjećaj bespomoćnosti i kliničku depresiju.

B. Od Depresije i Anksioznosti prema Demenciji

Znanstvena istraživanja jasno pokazuju da povijest depresije i kronične anksioznosti u mlađoj i srednjoj životnoj dobi značajno povećava rizik od razvoja demencije (osobito Alzheimerove bolesti) u kasnijoj dobi (147,148).

Ova se povezanost objašnjava kroz tri glavna mehanizma:

1. Glukokortikoidna neurotoksičnost: Dugotrajno povišena razina kortizola (uzrokovana kroničnom anksioznošću i depresijom) ima toksičan učinak na hipokampus – dio mozga odgovoran za pamćenje i učenje. Dolazi do atrofije neurona i smanjenja neurogeneze (26,147).
2. Sistemska upala (Inflamacija): Depresija se danas sve više promatra kao upalni poremećaj. Povišene razine proinflammatoryh citokina potiču neuroinflamaciju, što ubrzava nakupljanje beta-amiloidnih plakova i tau-proteina, ključnih patoloških biljega Alzheimerove bolesti (26,147).
3. Vaskularne promjene: Depresija i anksioznost negativno utječu na kardiovaskularni sustav (povišen krvni tlak, endotelna disfunkcija), što povećava rizik od mikrovaskularnih oštećenja u mozgu i razvoja vaskularne demencije (147).

C. Depresija kao prodromalni simptom demencije

- Kada se depresija s visokim homocisteinom javi prvi put u kasnijoj životnoj dobi (tzv. *late-life depression*), ona vrlo često ne predstavlja primarni psihijatrijski poremećaj, već je zapravo prodromalna (rana) faza demencije (148).
- Vaskularna oštećenja mozga (izazvana hiperhomocisteinemijom) mogu prekinuti frontalno-subkortikalne krugove zadužene za raspoloženje i kogniciju. Taj se fenomen naziva "*hipoteza vaskularne depresije*" (148). Budući da je uzrok strukturne naravi (oštećene krvne žile i lezije bijele tvari), ovakva je depresija po definiciji izrazito rezistentna na klasične antidepresive, a bolesnici s ovim profilom imaju dramatično ubrzan prelazak u manifestnu demenciju ((126,148)).

Kliničke studije pokazuju da pacijenti koji na početku liječenja depresivnog poremećaja imaju niske razine folata i vitamina B12, uz istodobno povišen homocistein, pokazuju značajno slabiji inicijalni odgovor na farmakoterapiju.

Određivanje koncentracije homocisteina, folne kiseline i vitamina B12 pruža dragocjen uvid u metabolički status bolesnika i omogućuje ranu predikciju razvoja terapijski rezistentne depresije. Identifikacija ovog specifičnog biokemijskog fenotipa pacijenta otvara vrata personaliziranoj medicini.

Kod pacijenata s identificiranim metaboličkim disbalansom strategija augmentacije (dodavanja) L-metilfolata i vitamina B12, uz ciljano snižavanje homocisteina, pokazuje značajan potencijal u prevladavanju terapijske rezistencije, ubrzavanju kliničkog odgovora i postizanju stabilne remisije.

Povezanost između terapijski rezistentne depresije (TRD), povišene razine homocisteina (hiperhomocisteinemije) i razvoja demencije predstavlja jedan od ključnih neurobioloških i vaskularnih krugova u modernoj psihogerijatriji. Ova tri entiteta često nisu zasebne bolesti, već manifestacije zajedničkog patofiziološkog mehanizma koji uključuje poremećaj metabolizma ugljika, vaskularna oštećenja i neurodegeneraciju.

Povišeni homocistein predstavlja biološki most koji povezuje terapijsku rezistenciju u depresiji s progresivnim kognitivnim padom i demencijom. U pacijenata s TRD-om (osobito onih starije dobi), rutinsko mjerenje razine homocisteina u krvi može poslužiti kao rani biomarker povišenog neurodegenerativnog rizika ((126)). Pravovremena intervencija suplementacijom visokih doza B-vitamina (folne kiseline, B12, B6) može uspješno sniziti razine homocisteina, smanjiti stopu atrofije mozga, poboljšati kognitivne funkcije i pojačati odgovor na antidepresivnu terapiju ((26,126,147))

Povezanost anksioznosti, depresije i demencije ukazuje na kontinuitet mentalnog zdravlja kroz životni vijek. Pravovremeno i adekvatno liječenje anksioznosti i depresije u mlađoj i srednjoj dobi ne samo da poboljšava trenutačnu kvalitetu života, već potencijalno djeluje i neuroprotektivno, smanjujući rizik od kognitivnog propadanja u starosti (126,147).

Pojedina istraživanja govore u prilog potrebi daljnjeg israživanja folne kiseline, vitamina b12 i homocisteina i u drugim psihijatrijskim poremećajima.

Istraživanja kod pacijenata s OKP-om i općim anksioznim poremećajima također ukazuju na promjene u ovim biokemijskim markerima. Smatra se da smanjena dostupnost folata i povišen homocistein narušavaju ravnotežu ne samo monoamina već i glutamatergičkog sustava u kortiko-striatno-talamo-kortikalnom (CSTC) krugu, koji je ključan za patofiziologiju OKP-a (8). Pacijenti s OKP-om često pokazuju značajno više razine homocisteina u odnosu na zdrave kontrolne skupine (149).

Deficiti folata i B12 te posljedični porast homocisteina kod djece i adolescenata mogu se manifestirati nespecifičnom, ali teškom psihopatologijom. To uključuje nagle promjene raspoloženja, probleme s kontrolom bijesa, anksioznost, pa čak i suicidalne misli ili samoozljeđivanje (150). S obzirom na intenzivan razvoj mozga u toj dobi, adekvatan status ovih vitamina ključan je za neurološko i mentalno zdravlje (151).

Poremećaj metabolizma jednog ugljika igra značajnu ulogu u patofiziologiji shizofrenije, što se često povezuje i s genetskim polimorfizmima (poput MTHFR gena koji utječe na preradu folata). Niske razine folne kiseline u serumu povezane su s izraženijim negativnim simptomima shizofrenije (poput apatije, socijalnog povlačenja i emocionalne otupljenosti). Povišene razine homocisteina čest su nalaz kod bolesnika s prvom epizodom psihoze (151).

Povezanost posttraumatskog stresnog poremećaja (PTSP) s folnom kiselinom (folatom) i metabolizmom jednog ugljika (koji uključuje vitamin B12 i homocistein) predmet je sve većeg interesa u neurobiološkim istraživanjima. Iako su istraživanja u ovom specifičnom području rjeđa nego kod velike depresije, postoje jasni znanstveni dokazi koji povezuju poremećaje ovih biokemijskih parametara s patofiziologijom i intenzitetom simptoma PTSP-a.

Evo kako su folna kiselina, vitamin B12 i homocistein povezani s PTSP-om:

1. Kronični stres i hiperhomocisteinemija

PTSP je obilježen dugotrajnim, kroničnim stresom i disregulacijom osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda (HPA). Kronični psihološki stres može negativno utjecati na metaboličke procese, uključujući ciklus folata.

- Kada su razine folne kiseline i vitamina B12 niske, metabolizam se usporava i dolazi do nakupljanja homocisteina u krvi (hiperhomocisteinemija) (152).
- Istraživanja pokazuju da oboljeli od PTSP-a često imaju značajno povišene razine homocisteina u usporedbi sa zdravim kontrolnim skupinama (153).

2. Neurotoksičnost i oštećenje mozga

Povišeni homocistein, koji nastaje uslijed nedostatka folne kiseline, djeluje kao neurotoksin. On stimulira NMDA (N-metil-D-aspartat) receptore u mozgu, što dovodi do pretjeranog ulaska kalcija u stanice i posljedičnog ekscitotoksičnog oštećenja neurona (153).

- Kod PTSP-a su strukture poput hipokampusa i prefrontalnog korteksa (odgovorne za pamćenje, procesuiranje straha i regulaciju emocija) već pod utjecajem stresa i sklone atrofiji.
- Visoke razine homocisteina i deficit folata mogu dodatno ubrzati neurodegenerativne procese u tim ključnim regijama mozga, potencijalno pogoršavajući simptome poput flashbackova, nametljivih sjećanja i kognitivnih poteškoća (153).

3. Utjecaj na sintezu neurotransmitera i kardiovaskularni rizik

Folna kiselina je neophodna za stvaranje *S-adenozilmetionina* (SAME), koji sudjeluje u sintezi serotonina, dopamina i noradrenalina – neurotransmitera čiji je balans ozbiljno narušen kod PTSP-a (1). Deficit folata može smanjiti njihovu proizvodnju, što pridonosi razvoju komorbidne depresije i anksioznosti kod pacijenata s PTSP-om.

Također, poznato je da osobe s PTSP-om imaju veći rizik od razvoja kardiovaskularnih bolesti. Budući da je povišeni homocistein (uzrokovao manjkom folata) neovisni čimbenik rizika za oštećenje krvnih žila i aterosklozu, on može predstavljati biološku poveznicu između PTSP-a i povećanog kardiovaskularnog mortaliteta kod ove skupine pacijenata ((73,152)).

Povezanost poremećaja iz spektra autizma (PSA) i folne kiseline (vitamina B9) jedno je od najintenzivnije istraživanih područja u razvojnoj neuropsihijatriji. Folna kiselina ima kritičnu ulogu u ranom razvoju mozga, a znanstveni dokazi ukazuju na to da njezine razine, metabolizam i unos prije i tijekom trudnoće značajno utječu na rizik od razvoja PSA kod djece, kao i na ublažavanje određenih simptoma(153,154).

Glavni aspekti povezanosti folne kiseline i autizma obuhvaćaju prenatalnu prevenciju, metaboličke poremećaje i ulogu autoantitijela.

1. Prenatalna suplementacija i smanjenje rizika za PSA

Epidemiološke studije pružaju snažne dokaze da adekvatan unos folne kiseline u ranim fazama trudnoće ima zaštitni učinak:

- Razdoblje oko začeća (perikonceptijski period): Žene koje uzimaju preporučene doze folne kiseline (najčešće 400–600 mcg/dan) u razdoblju od 4 tjedna prije začeća do 8 tjedana nakon začeća imaju značajno manji rizik da će roditi dijete s PSA ((153,155)).
- Mehanizam zaštite: Folna kiselina je ključna za zatvaranje neuralne cijevi, ali i za epigenetičke procese (metilaciju DNA) koji reguliraju izražavanje gena odgovornih za rani razvoj sinapsi i migraciju neurona u fetalnom mozgu (154,156).

2. Poremećaj metabolizma folata i genetski polimorfizmi

Kod dijela djece s PSA uočeni su urođeni poremećaji u metabolizmu jednog ugljika (C1-metabolizam) u kojem folna kiselina, vitamin B12 i homocistein igraju glavne uloge.

- MTHFR polimorfizam: Mutacije na genu za enzim *metilen-tetrahidrofolat reduktazu* (osobito varijacije MTHFR C677T i A1298C) česte su kod majki djece s autizmom, kao i kod same djece s PSA (4). Ovaj polimorfizam smanjuje sposobnost tijela da pretvori folnu kiselinu u njezin aktivni oblik (5-metiltetrahidrofolat - 5-MTHF), što dovodi do funkcionalnog nedostatka folata u stanicama i povišenja homocisteina (2,4).
- Posljedice: Smanjena metilacija DNA i povećani oksidativni stres u stanicama mozga smatraju se ključnim biološkim čimbenicima koji doprinose patogenezi autizma (154,155).

3. Autoantitijela na folatne receptore (FRAA)

Jedno od najvažnijih novijih otkrića u kontekstu PSA jest prisutnost autoantitijela na folatne receptore alfa (engl. *Folate Receptor Alpha Autoantibodies* - FRAA).

- Cerebralni nedostatak folata: Ova autoantitijela vežu se za receptore koji prenose folat preko krvno-moždane barijere u središnji živčani sustav. Kada su receptori blokirani,

razina folata u mozgu dramatično opada, unatoč tome što su razine folne kiseline u krvi normalne (156).

- Učestalost i simptomi: Istraživanja pokazuju da značajan postotak djece s PSA (prema nekim studijama i do 60-70%) ima pozitivna FRAA antitijela. To rezultira neurološkim simptomima, kašnjenjem u razvoju govora i motoričkim poteškoćama (157,(157)).

4. Terapijski potencijal (Leukovorin / Folinska kiselina)

Zbog problema s transportom i metabolizmom obične folne kiseline, klinička ispitivanja usmjerila su se na primjenu specifičnih oblika ovog vitamina:

- Folinska kiselina (leukovorin): Za razliku od obične folne kiseline, folinska kiselina lakše zaobilazi blokirane folatne receptore i ulazi u mozak koristeći alternativne transportere (158).
- Klinički ishodi: Randomizirana kontrolirana ispitivanja pokazala su da suplementacija visokim dozama folinske kiseline kod djece s PSA (osobito kod one koja su pozitivna na FRAA autoantitijela) dovodi do značajnog poboljšanja u verbalnoj komunikaciji, socijalnoj interakciji i smanjenju repetitivnih ponašanja ((157,158)).

Brojne studije pokazuju da djeca s PSA imaju značajno niže razine aktivnih oblika vitamina B12 u plazmi i mozgu te posljedično povišene razine homocisteina (hiperhomocisteinemiju) u usporedbi s neurotipičnim vršnjacima (2,4). Kada je razina SAMe smanjena zbog manjka B12, dolazi do poremećaja u ekspresiji gena (epigenetičke promjene), što narušava normalan razvoj sinapsi u mozgu i smanjuje sposobnost organizma da se brani od toksina (154,155).

Povišeni homocistein, nastao uslijed nedostatka vitamina B12 i folata, u organizmu djeluje kao prooksidans. Kod bolesnika s autizmom, ovaj metabolički zastoj preusmjerava resurse i smanjuje proizvodnju glutaciona, najvažnijeg unutarstaničnog antioksidansa (2,5). Nedostatak glutaciona uzrokuje visoke razine oksidativnog stresa i oštećenje mitohondrija u neuronima, što se smatra jednim od bioloških mehanizama koji pridonose neurodevelopmentalnim oštećenjima kod PSA ((154,156)).

Vitamin B12 izravno je uključen u dva kritična neurološka procesa:

- Neurotransmiteri: Nužan je za regulaciju sinteze monoaminskih neurotransmitera, uključujući serotonin i dopamin, koji kontroliraju raspoloženje, socijalno ponašanje i kogniciju (155,157).
- Mijelinizacija: B12 je neophodan za sintezu i održavanje mijelinskih kućišta koja omogućuju brzi prijenos signala među živčanim stanicama. Dugotrajni deficit može dovesti do abnormalnosti u bijeloj tvari mozga, što korelira s poteškoćama u procesiranju informacija i komunikaciji kod djece s autizmom (156,158)

6.4. Ograničenja

Naše istraživanje je presječno u smislu dijagnoze depresivnog poremećaja što nam ne daje mogućnost zaključaka o uzročno povezanosti istraživanih parametara i TRD-a. Nadalje, nismo istraživali dob, prehrambene navike, a poznato je da dob pacijentica kao i prirodni unos folata hranom utječe na razinu folata u krvi. **S dobi se može smanjiti učinkovitost apsorpcije hranjivih tvari u probavnom traktu (zbog promjena u crijevnoj mikrobioti ili smanjenog lučenja želudačne kiseline).** Deficit u ovoj dobi češće je povezan s općim slabljenjem nutritivnog statusa ili kroničnim bolestima.

Također, nismo uzeli u obzir antropometrijska mjerenja, kao što je BMI i abdominalna debljina, koji su, kao što je poznato, povezani s metabolizmom folata i homocisteina (159).

Jedno od pozitivnih elemenata istraživanja jest činjenica da smo pratili kasniji eventualni razvoj TRD i usporedili dvije grupe prema sociodemografskim životnim i kliničkim parametrima (npr. dob, obrazovanje, bračni status, radni status, obiteljska anamneza za psihijatrijske poremećaje, konzumacija alkohola, pušenje, dužina liječenja te intenzitet simptoma). Nije nađena razlika u obje skupine ni u jednom od navedenih parametara.

Buduća istraživanja trebala bi uključiti istraživanje MTHFR gena, s obzirom na to da neki polimorfizmi za MTHFR, čini se, inhibiraju konverziju folata u L-metilfolat i možda na taj način predisponiraju te osobe za razvoj depresivnog poremećaja ili čak TRD (115)

Nadalje, naše istraživanje nije uključivalo praćenje za depresiju relevantnih neurotransmitera, kao što su serotonin i dopamin, te njihovih polimorfizama što bi bilo uputno učiniti u budućim istraživanjima TRD-a. Postoje i neki drugi načini definiranja TRD-a, ali mi smo se odlučili za najširu, ali ne i sveobuhvatno prihvaćenu definiciju. U istraživanje smo uključili samo ženske bolesnice jer depresija ima veću prevalenciju kod žena (26), a postoje i neke spolno vezane specifičnosti u farmakološkim profilima vezanim za TRD, tako da navedeni rezultati ne mogu biti generalizirani za oba spola (160). **Veliko istraživanje na općoj populaciji potvrdilo je da razina homocisteina linearno raste s dobi te da muškarci u prosjeku imaju 15–20 % više razine od žena .**

Antidepresivi pokazuju složenu metaboličku povezanost s folnom kiselinom, vitaminom B12 i homocisteinom. Snižene razine folata i B12 usporavaju metabolizam metionina, što dovodi do nakupljanja neurotoksičnog homocisteina. Zauzvrat, mnogi antidepresivi povećavaju učinkovitost kada se kombiniraju s dodacima folne kiseline, a istovremeno mogu utjecati na serumske koncentracije ovih nutrijenata. Amitriptilin (Triciklički antidepresiv - TCA) mogu utjecati na metabolizam vitamina B skupine. Pokazalo se da dugotrajna primjena amitriptilina može modulirati koncentracije homocisteina, a terapijska nadopuna folatima pomaže u rješavanju rezistencije na liječenje(129,141).

Budući da je dizajn studije prosječan, bilo je nemoguće utvrditi doprinose li niska koncentracija folne kiseline i visoka koncentracija homocisteina TRD ili održavaju nutritivne, metaboličke ili promjene povezane s bolešću kod već rezistentnih pacijenata.

Metabolički parametri i koncentracija folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina izravno su povezani, pri čemu nedostatak ovih B-vitamina i posljedična hiperhomocisteinemija snažno koreliraju s razvojem metaboličkog sindroma, insulinske rezistencije, dislipidemije te povećanim kardiovaskularnim rizikom.

Biokemijska isprepletenost ovih mikronutrijenata i metaboličkih pokazatelja očituje se kroz nekoliko sustava u tijelu:

- **Metabolički sindrom:** Znanstvene meta-analize potvrđuju inverznu poveznicu između razine vitamina B12 i metaboličkog sindroma. Osobe s višim koncentracijama vitamina B12 imaju značajno nižu incidenciju metaboličkog sindroma, dok su povišene razine homocisteina izravno povezane s njegovom većom učestalošću. asoci
- **Lipidni profil (Dislipidemija):** Povišene koncentracije homocisteina usko su povezane s poremećajem lipida u krvi. Hiperhomocisteinemija korelira s povišenim razinama

ukupnog kolesterola i triglicerida te smanjenjem zaštitnog HDL kolesterola, što ubrzava proces ateroskleroze.

- Krvni tlak i krutost arterija: Nedostatak folne kiseline i visoke razine homocisteina pozitivno koreliraju s prehipertenzijom i arterijskom hipertenzijom. Homocistein djeluje kao vaskularni toksin, smanjuje elastičnost arterijskih stijenki te povećava krutost krvnih žila, podižući rizik od infarkta i moždanog udara.
- Regulacija glukoze i adipokina: Adekvatne koncentracije folne kiseline i vitamina B12 dugoročno poboljšavaju lučenje metaboličkih hormona poput leptina i adiponektina. Ovi hormoni iz masnog tkiva ključni su za regulaciju osjetljivosti na inzulin i energetske ravnoteže(161).

U staničnom metabolizmu, folna kiselina i vitamin B12 djeluju sinergijski. Enzim metionin-sintaza zahtijeva vitamin B12 kao kofaktor i metilnu skupinu iz folatnog ciklusa kako bi preveo homocistein u metionin. Nedostatak bilo kojeg od ovih kofaktora blokira ovaj put, dovodeći do nakupljanja homocisteina u plazmi. Povišeni homocistein uzrokuje nakupljanje reaktivnih kisikovih vrsta (oksidativni stres), blokira sintezu dušikovog oksida i vodi prema endotelnoj disfunkciji. Ti procesi čine temelj za razvoj inzulinske rezistencije, protrombotskog stanja i progresiju metaboličkih bolesti

Ovim istraživanjem nisu mjereni metabolički parametri što predstavlja mogući predmet daljnjih istraživanja.

7. Zaključak

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvući sljedeći rezultati:

- koncentracija folne kiseline značajno je viša u pacijentica s terapijski nerezistentnom depresijom
- koncentracija homocisteina značajno viša u pacijentica s terapijski rezistentnom depresijom
- koncentracija vitamina B12 se statistički nije značajno razlikovala kod pacijentica s terapijski rezistentnom i nerezistentnom depresijom
- **niže koncentracije folne kiseline statistički su značajno povezane s višim intenzitetom simptoma depresije (prema MADRS skali) na cjelokupnom uzorku pacijentica s depresivnim poremećajem**
- koncentracije folne kiseline, vitamina B12 i homocisteina nisu statistički značajno povezane s višim intenzitetom simptoma depresije (prema HAM-D-17 skali) na cjelokupnom uzorku pacijentica s depresivnim poremećajem
- više koncentracije homocisteina, **a potencijalno i niže razine folne kiseline**, značajno povećavaju rizik od terapijski rezistentne depresije u pacijentica s depresivnim poremećajem
- navedeni rezultati ukazuju na opravdanost određivanja tih parametara u kliničkoj praksi.

8. Sažetak

Cilj istraživanja: Cilj ovoga istraživanja bio je ispitati hipotezu je li koncentracija folne kiseline i vitamina B12 niža, a koncentracija homocisteina viša kod pacijentica s TRD u odnosu na pacijentice s TNRD.

Nacrt studije: Provedena je presječna (engl. *cross-sectional*) studija. Istraživanje je provedeno na susljednom (engl. *consecutive*) uzorku svih bolesnika prema redoslijedu dolaska na pregled.

Ispitanici: U istraživanje je bilo uključeno 116 pacijentica u dobi od 18 do 65 godina od kojih je 59 pacijentica s terapijski rezistentnom depresijom i 57 pacijentica s terapijski nerezistentom depresijom. Terapijski rezistentna depresija definira se kao izostanak odgovora na liječenje s barem dva antidepresiva s različitim mehanizmom djelovanja u terapijskoj dozi u dovoljno dugom periodu liječenja. O terapijski nerezistentnoj depresiji govori se kada postoji pozitivan odgovor na primjenu antidepresiva u kliničkoj slici te redukcija simptoma od 50 % na MADRS ljestvici.

Materijali i metode: Ispitanice su uzimale antidepresivnu terapiju. Ispitivač je obavio psihijatrijski intervju te potvrdio dijagnozu u skladu s postojećim klasifikacijskim sustavima (MKB-10 i DSM-5). Primijenjene su dvije ocjenske skale za depresiju: Hamiltonova ocjenska skala za depresiju (HAMD-17) i Montgomery-Åsbergova ocjenska ljestvica za depresiju (MADRS).

Uzorkovanje krvi je provedeno u prostorijama Klinike za psihijatriju.

Iz uzoraka krvi određivana je serumska koncentracija vitamina B12, folne kiseline i koncentracija homocisteina u plazmi. Uzorci su odmah nakon uzimanja dostavljeni u Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb. Uzorci seruma dobiveni su centrifugiranjem epruveta s punom krvi u trajanju od 10 minuta na brzini 2000 g (3700 okretaja u minuti). Uzorci plazme dobiveni su centrifugiranjem epruveta s punom krvi u trajanju od 10 minuta na brzini 2000 g (3700 okretaja u minuti) u hladenoj centrifugi na temperaturi od +4°C. Uzorci seruma odmah su obrađeni, dok su uzorci plazme odvojeni te su alikvotirani u sekundarne epruvete i do analize pohranjeni u zamrzivaču na -80°C.

Rezultati: Rezultati istraživanja **pokazuju da je koncentracija folne kiseline značajno niža, a koncentracije homocisteina značajno viša, u pacijentica s TRD. Niže koncentracije folne kiseline značajno su povezane s višim intenzitetom simptoma depresije (prema MADRS skali), dok koncentracije homocisteina (a potencijalno i folne kiseline) značajno povećavaju rizik od TRD kod pacijentica s depresivnim poremećajem. Ova prediktivnost homocisteina i folne kiseline neovisna je o utjecaju sociodemografskih i kliničkih čimbenika.**

Zaključak: Terapijski rezistentna depresija predstavlja veliki sociozdravstveni problem. Smatra se da kod jedne trećine pacijenata koji boluju od depresije ne dolazi do odgovarajućeg odgovora na liječenje unatoč odgovarajućem farmakološkom liječenju. Rezultati ovog istraživanja potvrđuju opravdanost određivanja koncentracije folne kiseline i homocisteina u terapijski rezistentnoj depresiji.

Ključne riječi: nerezistentna depresija, rezistentna depresija, homocistein, folna kiselina, vitamin B12.

9. Summary

Objectives: The objectives of this study was to test the hypothesis of whether folic acid and vitamin B12 concentrations are lower, and homocysteine concentrations are higher, in patients with TRD compared to patients with TNRD.

Study design: A cross-sectional study was conducted.

Participants: The research was performed on a consecutive sample of all patients based on their order of arrival for examination. The study included 116 female patients aged 18 to 65, consisting of 59 patients with treatment-resistant depression and 57 patients with treatment-non-resistant depression. Treatment-resistant depression is defined as a lack of response to treatment with at least two antidepressants of different mechanisms of action, administered at therapeutic doses for an adequate treatment period. Treatment-non-resistant depression refers to cases where there is a positive clinical response to antidepressant therapy and a 50% symptom reduction on the MADRS scale.

Material and Methods: The participants were undergoing antidepressant therapy. The investigator conducted a psychiatric interview and confirmed the diagnosis in accordance with current classification systems (ICD-10 and DSM-5). Two depression rating scales were applied: the Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D-17) and the Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale (MADRS). Blood sampling was conducted on the premises of the Clinic for Psychiatry. Serum concentrations of vitamin B12 and folic acid, as well as plasma concentrations of homocysteine, were determined from the blood samples. Immediately after collection, the samples were delivered to the Department of Laboratory Diagnostics at the University Hospital Centre Zagreb. Serum samples were obtained by centrifuging whole blood tubes for 10 minutes at 2000g. Plasma samples were obtained by centrifuging whole blood tubes for 10 minutes at 2000g in a refrigerated centrifuge at a temperature of +4°C. Serum samples were processed immediately, while plasma samples were separated, aliquoted into secondary tubes, and stored in a freezer at -80°C until analysis.

Results: The study results showed that folate concentrations were significantly lower and homocysteine concentrations significantly higher in patients with TRD. Lower folate levels were significantly associated with greater severity of depressive symptoms (as measured by the MADRS), while homocysteine concentrations (and potentially folate levels) significantly

increased the risk of TRD among patients with depressive disorder. The predictive value of homocysteine and folate remained independent of sociodemographic and clinical factors.

Conclusion: Treatment-resistant depression represents a major socio-health problem. It is estimated that one-third of patients suffering from depression do not achieve an adequate treatment response despite appropriate pharmacological management. The results of this study confirm the validity of determining folic acid and homocysteine concentrations in treatment-resistant depression.

Keywords: non-resistant depression, resistant depression, homocysteine, folic acid, vitamin B12.

10. Literatura

1. Institute of Health Metric and Evaluation. <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/d780dffbe8a381b25e1416884959e88b> (Accessed 1 May 2021). Global Health Data Exchange.
2. Halaris A, Sohl E, Whitham EA. Treatment-Resistant Depression Revisited: A Glimmer of Hope. *J Pers Med*. 2021 Feb 23;11(2):155. doi:10.3390/jpm11020155
3. Nuñez NA, Joseph B, Pahwa M, Kumar R, Resendez MG, Prokop LJ, et al. Augmentation strategies for treatment resistant major depression: A systematic review and network meta-analysis. *J Affect Disord*. 2022 Apr;302:385–400. doi:10.1016/j.jad.2021.12.134
4. Souery D, Pitchot W. Definitions and Predictors of Treatment-resistant Depression. In: *Treatment-resistant Depression*. Wiley; 2013. p. 1–20. doi:10.1002/9781118556719.ch1
5. Andrade L, Caraveo-anduaga JJ, Berglund P, Bijl R V., Graaf R De, Vollebergh W, et al. The epidemiology of major depressive episodes: results from the International Consortium of Psychiatric Epidemiology (ICPE) surveys. *Int J Methods Psychiatr Res*. 2003 Feb 24;12(1):3–21. doi:10.1002/mpr.138
6. Međunarodna klasifikacija bolesti. 10.izd. Zagreb: Medicinska naklada; 1999.
7. Holmes J. Depresija. Zagreb : Naklada Jesenski i Turk, ; 2006.
8. Jakovljević M. Depresivni poremećaji : od ranog prepoznavanja do uspješnog liječenja. Zagreb: Pro Mente; 2004.
9. Kaplan I SJ. *Comprehensive Textbook of Psychiatry* . 10th ed. Wolters Kluwer; 2017.
10. Trivedi MH, Hollander E, Nutt D, Blier P. Clinical Evidence and Potential Neurobiological Underpinnings of Unresolved Symptoms of Depression. *J Clin Psychiatry*. 2008 Feb 15;69(2):246–58. doi:10.4088/JCP.v69n0211
11. Neumeister A, Young T, Stastny J. Implications of genetic research on the role of the serotonin in depression: emphasis on the serotonin type 1A receptor and the serotonin transporter. *Psychopharmacology (Berl)*. 2004 Aug 13;174(4). doi:10.1007/s00213-004-1950-3
12. Ribeiro Â, Ribeiro JP, von Doellinger O. Depression and psychodynamic psychotherapy. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2017 Jun 12;40(1):105–9. doi:10.1590/1516-4446-2016-2107
13. Freud S. Mourning and melancholia. In. 1917.
14. Abraham K. A short study of the development of the libido, viewed in the light of mental disorders.
15. Klein M. . Mourning and its relation to manic-depressive state's, .
16. Gross R. *Psychology: The Science of Mind and Behaviour* . 7th ed. Hodder Education; 2015.

17. Cardwell M. FC. Psychology A Level Year 1 and AS: The Complete Companion Student Book for AQA. OUP Oxford; 2018.
18. Beck AT, Steer RA, Beck JS, Newman CF. Hopelessness, Depression, Suicidal Ideation, and Clinical Diagnosis of Depression. *Suicide Life Threat Behav.* 1993 Jun 30;23(2):139–45. doi:10.1111/j.1943-278X.1993.tb00378.x
19. Gotlib IH, Joormann J. Cognition and Depression: Current Status and Future Directions. *Annu Rev Clin Psychol.* 2010 Mar 1;6(1):285–312. doi:10.1146/annurev.clinpsy.121208.131305
20. Stahl S. M. *Stahlovi temelji psihofarmakologije*. 4.izd., editor. Jastrebersko : Naklada Slap; 2017.
21. Coppen A. The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry.* 1967 Nov;113(504):1237–64. doi:10.1192/bjp.113.504.1237 PubMed PMID: 4169954.
22. Schildkraut JJ. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry.* 1965 Nov;122(5):509–22. doi:10.1176/ajp.122.5.509 PubMed PMID: 5319766.
23. Hirschfeld RM. History and evolution of the monoamine hypothesis of depression. *J Clin Psychiatry.* 2000;61 Suppl 6:4–6. PubMed PMID: 10775017.
24. Moncrieff J, Cooper RE, Stockmann T, Amendola S, Hengartner MP, Horowitz MA. The serotonin theory of depression: a systematic umbrella review of the evidence. *Mol Psychiatry.* 2023 Aug;28(8):3243–56. doi:10.1038/s41380-022-01661-0 PubMed PMID: 35854107.
25. Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature.* 2008 Oct 16;455(7215):894–902. doi:10.1038/nature07455 PubMed PMID: 18923511.
26. Otte C, Gold SM, Penninx BW, Pariante CM, Etkin A, Fava M, et al. Major depressive disorder. *Nat Rev Dis Primers.* 2016 Sep 15;2(1):16065. doi:10.1038/nrdp.2016.65
27. Kendler KS, Gatz M, Gardner CO, Pedersen NL. A Swedish National Twin Study of Lifetime Major Depression. *American Journal of Psychiatry.* 2006 Jan;163(1):109–14. doi:10.1176/appi.ajp.163.1.109
28. Sullivan PF, Neale MC, Kendler KS. Genetic Epidemiology of Major Depression: Review and Meta-Analysis. *American Journal of Psychiatry.* 2000 Oct;157(10):1552–62. doi:10.1176/appi.ajp.157.10.1552
29. McGuire S, Manke B, Saudino KJ, Reiss D, Hetherington EM, Plomin R. Perceived Competence and Self-Worth during Adolescence: A Longitudinal Behavioral Genetic Study. *Child Dev.* 1999 Nov 28;70(6):1283–96. doi:10.1111/1467-8624.00094
30. Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a Complex Trait. *Arch Gen Psychiatry.* 2003 Dec 1;60(12):1187. doi:10.1001/archpsyc.60.12.1187
31. KENDLER KS, KARKOWSKI LM, PRESCOTT CA. Stressful Life Events and Major Depression: Risk Period, Long-Term Contextual Threat, and Diagnostic

- Specificity. *J Nerv Ment Dis.* 1998 Nov;186(11):661–9. doi:10.1097/00005053-199811000-00001
32. Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H, et al. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science.* 2003 Jul 18;301(5631):386–9. doi:10.1126/science.1083968 PubMed PMID: 12869766.
 33. Kaufman J, Yang BZ, Douglas-Palumberi H, Houshyar S, Lipschitz D, Krystal JH, et al. Social supports and serotonin transporter gene moderate depression in maltreated children. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Dec 7;101(49):17316–21. doi:10.1073/pnas.0404376101 PubMed PMID: 15563601.
 34. López León S, Croes EA, Sayed-Tabatabaei FA, Claes S, Van Broeckhoven C, van Duijn CM. The dopamine D4 receptor gene 48-base-pair-repeat polymorphism and mood disorders: a meta-analysis. *Biol Psychiatry.* 2005 May 1;57(9):999–1003. doi:10.1016/j.biopsych.2005.01.030 PubMed PMID: 15860340.
 35. Sanacora G, Zarate CA, Krystal JH, Manji HK. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nat Rev Drug Discov.* 2008 May;7(5):426–37. doi:10.1038/nrd2462 PubMed PMID: 18425072.
 36. Duman RS, Aghajanian GK. Synaptic dysfunction in depression: potential therapeutic targets. *Science.* 2012 Oct 5;338(6103):68–72. doi:10.1126/science.1222939 PubMed PMID: 23042884.
 37. Zarate CA, Singh JB, Carlson PJ, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA, et al. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry.* 2006 Aug;63(8):856–64. doi:10.1001/archpsyc.63.8.856 PubMed PMID: 16894061.
 38. Popoli M, Yan Z, McEwen BS, Sanacora G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci.* 2012 Jan 30;13(1):22–37. doi:10.1038/nrn3138
 39. Plotsky PM, Owens MJ, Nemeroff CB. PSYCHONEUROENDOCRINOLOGY OF DEPRESSION. *Psychiatric Clinics of North America.* 1998 Jun;21(2):293–307. doi:10.1016/S0193-953X(05)70006-X
 40. Burke HM, Davis MC, Otte C, Mohr DC. Depression and cortisol responses to psychological stress: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology.* 2005 Oct;30(9):846–56. doi:10.1016/j.psyneuen.2005.02.010
 41. Pariante CM, Lightman SL. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci.* 2008 Sep;31(9):464–8. doi:10.1016/j.tins.2008.06.006 PubMed PMID: 18675469.
 42. Keller J, Gomez R, Williams G, Lembke A, Lazzeroni L, Murphy GM, et al. HPA axis in major depression: cortisol, clinical symptomatology and genetic variation predict cognition. *Mol Psychiatry.* 2017 Apr;22(4):527–36. doi:10.1038/mp.2016.120 PubMed PMID: 27528460.

43. de Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci*. 2005 Jun;6(6):463–75. doi:10.1038/nrn1683 PubMed PMID: 15891777.
44. Frank P, Jokela M, Batty GD, Cadar D, Steptoe A, Kivimäki M. Association Between Systemic Inflammation and Individual Symptoms of Depression: A Pooled Analysis of 15 Population-Based Cohort Studies. *Am J Psychiatry*. 2021 Dec;178(12):1107–18. doi:10.1176/appi.ajp.2021.20121776 PubMed PMID: 34645276.
45. Khandaker GM, Pearson RM, Zammit S, Lewis G, Jones PB. Association of serum interleukin 6 and C-reactive protein in childhood with depression and psychosis in young adult life: a population-based longitudinal study. *JAMA Psychiatry*. 2014 Oct;71(10):1121–8. doi:10.1001/jamapsychiatry.2014.1332 PubMed PMID: 25133871.
46. 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 Oct;49:206–15. doi:10.1016/j.bbi.2015.06.001 PubMed PMID: 26065825.
47. Lang UE, Walter M. Depression in the Context of Medical Disorders: New Pharmacological Pathways Revisited. *Neurosignals*. 2017;25(1):54–73. doi:10.1159/000482001
48. Parekh A, Smeeth D, Milner Y, Thuret S. The Role of Lipid Biomarkers in Major Depression. *Healthcare*. 2017 Feb 3;5(1):5. doi:10.3390/healthcare5010005
49. Welch AD. Folic Acid: Discovery and the Exciting First Decade. *Perspect Biol Med*. 1983 Sep;27(1):64–75. doi:10.1353/pbm.1983.0006
50. Hoffbrand A V., Weir DG. The history of folic acid. *Br J Haematol*. 2001 Jun 12;113(3):579–89. doi:10.1046/j.1365-2141.2001.02822.x
51. Pommerville JC. Alcamo's Fundamentals of Microbiology. 9th. ed., editor. Jones & Bartlett Publisher; 2010.
52. Bailey LB, Stover PJ, McNulty H, Fenech MF, Gregory JF, Mills JL, et al. Biomarkers of Nutrition for Development-Folate Review. *J Nutr*. 2015 Jul;145(7):1636S-1680S. doi:10.3945/jn.114.206599 PubMed PMID: 26451605.
53. Zhao R, Diop-Bove N, Visentin M, Goldman ID. Mechanisms of membrane transport of folates into cells and across epithelia. *Annu Rev Nutr*. 2011 Aug 21;31:177–201. doi:10.1146/annurev-nutr-072610-145133 PubMed PMID: 21568705.
54. Crider KS, Bailey LB, Berry RJ. Folic acid food fortification-its history, effect, concerns, and future directions. *Nutrients*. 2011 Mar;3(3):370–84. doi:10.3390/nu3030370 PubMed PMID: 22254102.
55. Field MS, Stover PJ. Safety of folic acid. *Ann N Y Acad Sci*. 2018 Feb 20;1414(1):59–71. doi:10.1111/nyas.13499
56. Kronenberg G, Colla M, Endres M. Folic Acid, Neurodegenerative and Neuropsychiatric Disease. *Curr Mol Med*. 2009 Apr 1;9(3):315–23. doi:10.2174/156652409787847146

57. Lucki I. The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biol Psychiatry*. 1998 Aug;44(3):151–62. doi:10.1016/S0006-3223(98)00139-5
58. Taylor MJ, Carney SM, Goodwin GM, Geddes JR. Folate for Depressive Disorders: Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of Psychopharmacology*. 2004 Jun 2;18(2):251–6. doi:10.1177/0269881104042630
59. Gilbody S, Lewis S, Lightfoot T. Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Genetic Polymorphisms and Psychiatric Disorders: A HuGE Review. *Am J Epidemiol*. 2006 Oct 13;165(1):1–13. doi:10.1093/aje/kwj347
60. Gilbody S, Lightfoot T, Sheldon T. Is low folate a risk factor for depression? A meta-analysis and exploration of heterogeneity. *J Epidemiol Community Health* (1978). 2007 Jul 1;61(7):631–7. doi:10.1136/jech.2006.050385
61. Krebs MO, Bellon A, Mainguy G, Jay TM, Frieling H. One-carbon metabolism and schizophrenia: current challenges and future directions. *Trends Mol Med*. 2009 Dec;15(12):562–70. doi:10.1016/j.molmed.2009.10.001
62. Benham AJ, Gallegos D, Hanna KL, Hannan-Jones MT. Vitamin B12 Supplementation Adequacy in Australian Vegan Study Participants. *Nutrients*. 2022 Nov 11;14(22):4781. doi:10.3390/nu14224781
63. Yamada K. Cobalt: Its Role in Health and Disease. In. 2013. p. 295–320. doi:10.1007/978-94-007-7500-8_9
64. Green R, Allen LH, Bjørke-Monsen AL, Brito A, Guéant JL, Miller JW, et al. Vitamin B12 deficiency. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Jun 29;3:17040. doi:10.1038/nrdp.2017.40 PubMed PMID: 28660890.
65. Hannibal L, Lysne V, Bjørke-Monsen AL, Behringer S, Grünert SC, Spiekerkoetter U, et al. Biomarkers and Algorithms for the Diagnosis of Vitamin B12 Deficiency. *Front Mol Biosci*. 2016;3:27. doi:10.3389/fmolb.2016.00027 PubMed PMID: 27446930.
66. Mumtaz H, Ghafoor B, Saghir H, Tariq M, Dahar K, Ali SH, et al. Association of Vitamin B12 deficiency with long-term PPIs use: A cohort study. *Annals of Medicine & Surgery*. 2022 Oct;82. doi:10.1016/j.amsu.2022.104762
67. Quadros E V. Advances in the understanding of cobalamin assimilation and metabolism. *Br J Haematol*. 2010 Jan;148(2):195–204. doi:10.1111/j.1365-2141.2009.07937.x PubMed PMID: 19832808.
68. Molina V, Medici M, Taranto MP, de Valdez GF. Effects of maternal vitamin B₁₂ deficiency from end of gestation to weaning on the growth and haematological and immunological parameters in mouse dams and offspring. *Arch Anim Nutr*. 2008 Apr 4;62(2):162–8. doi:10.1080/17450390801892567
69. Kim J, Kim H, Roh H, Kwon Y. Causes of hyperhomocysteinemia and its pathological significance. *Arch Pharm Res*. 2018 Apr 19;41(4):372–83. doi:10.1007/s12272-018-1016-4

70. Bottiglieri T, Laundry M, Crellin R, Toone BK, Carney MW, Reynolds EH. Homocysteine, folate, methylation, and monoamine metabolism in depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2000 Aug;69(2):228–32. doi:10.1136/jnnp.69.2.228 PubMed PMID: 10896698.
71. Selhub J. HOMOCYSTEINE METABOLISM. *Annu Rev Nutr*. 1999 Jul;19(1):217–46. doi:10.1146/annurev.nutr.19.1.217
72. Selhub J. Public health significance of elevated homocysteine. *Food Nutr Bull*. 2008 Jun;29(2 Suppl):S116–25. doi:10.1177/15648265080292S116 PubMed PMID: 18709886.
73. Refsum H, Ueland PM, Nygård O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med*. 1998;49:31–62. doi:10.1146/annurev.med.49.1.31 PubMed PMID: 9509248.
74. Folstein M, Liu T, Peter I, Buell J, Arsenault L, Scott T, et al. The homocysteine hypothesis of depression. *Am J Psychiatry*. 2007 Jun;164(6):861–7. doi:10.1176/ajp.2007.164.6.861 PubMed PMID: 17541043.
75. Cortese C, Motti C. MTHFR gene polymorphism, homocysteine and cardiovascular disease. *Public Health Nutr*. 2001 Apr 27;4(2b):493–7. doi:10.1079/PHN2001159
76. Dierkes J, Westphal S. Effect of Drugs on Homocysteine Concentrations. *Semin Vasc Med*. 2005 May;5(02):124–39. doi:10.1055/s-2005-872398
77. Applebaum J, Shimon H, Sela BA, Belmaker RH, Levine J. Homocysteine levels in newly admitted schizophrenic patients. *J Psychiatr Res*. 2004 Jul;38(4):413–6. doi:10.1016/j.jpsychires.2004.01.003
78. Levine J, Stahl Z, Sela BA, Gavendo S, Ruderman V, Belmaker RH. Elevated Homocysteine Levels in Young Male Patients With Schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*. 2002 Oct;159(10):1790–2. doi:10.1176/appi.ajp.159.10.1790
79. Reif A, Pfuhlmann B, Lesch KP. Homocysteinemia as well as methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism are associated with affective psychoses. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005 Sep;29(7):1162–8. doi:10.1016/j.pnpbp.2005.06.027
80. Ducker GS, Rabinowitz JD. One-Carbon Metabolism in Health and Disease. *Cell Metab*. 2017 Jan;25(1):27–42. doi:10.1016/j.cmet.2016.08.009
81. Bailey LB, Gregory JF. Folate Metabolism and Requirements. *J Nutr*. 1999 Apr;129(4):779–82. doi:10.1093/jn/129.4.779
82. Selhub J. Folate, vitamin B12 and vitamin B6 and one carbon metabolism. *J Nutr Health Aging*. 2002;6(1):39–42. PubMed PMID: 11813080.
83. Wan L, Li Y, Zhang Z, Sun Z, He Y, Li R. Methylenetetrahydrofolate reductase and psychiatric diseases. *Transl Psychiatry*. 2018 Nov 5;8(1):242. doi:10.1038/s41398-018-0276-6

84. Barnett H, D'Cunha NM, Georgousopoulou EN, Kellett J, Mellor DD, McKune AJ, et al. Effect of Folate Supplementation on Inflammatory Markers in Individuals Susceptible to Depression: A Systematic Review. *Explor Res Hypothesis Med.* 2017 Dec;2(4):1–15. doi:10.14218/ERHM.2017.00025
85. Beydoun MA, Shroff MR, Beydoun HA, Zonderman AB. Serum Folate, Vitamin B-12, and Homocysteine and Their Association With Depressive Symptoms Among U.S. Adults. *Psychosom Med.* 2010 Nov;72(9):862–73. doi:10.1097/PSY.0b013e3181f61863
86. Nabi H, Bochud M, Glaus J, Lasserre AM, Waeber G, Vollenweider P, et al. Association of serum homocysteine with major depressive disorder: Results from a large population-based study. *Psychoneuroendocrinology.* 2013 Oct;38(10):2309–18. doi:10.1016/j.psyneuen.2013.04.018
87. Zheng W, Li W, Qi H, Xiao L, Sim K, Ungvari GS, et al. Adjunctive folate for major mental disorders: A systematic review. *J Affect Disord.* 2020 Apr;267:123–30. doi:10.1016/j.jad.2020.01.096
88. Sangle P, Sandhu O, Aftab Z, Anthony AT, Khan S. Vitamin B12 Supplementation: Preventing Onset and Improving Prognosis of Depression. *Cureus.* 2020 Oct 26. doi:10.7759/cureus.11169
89. Tao H, Chen X, Zhou H, Fu J, Yu Q, Liu Y. Changes of Serum Melatonin, Interleukin-6, Homocysteine, and Complement C3 and C4 Levels in Patients With Depression. *Front Psychol.* 2020 Jun 23;11. doi:10.3389/fpsyg.2020.01271
90. Moradi F, Lotfi K, Armin M, Clark CCT, Askari G, Rouhani MH. The association between serum homocysteine and depression: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur J Clin Invest.* 2021 May 22;51(5). doi:10.1111/eci.13486
91. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013;310(20):2191–4.
92. Hamilton M. A RATING SCALE FOR DEPRESSION. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1960 Feb 1;23(1):56–62. doi:10.1136/jnnp.23.1.56
93. Abrabzdadeh-Bouchez, S. & Lépine, J.P. (2003). Measurements of Depression and Anxiety Disorders. U Kasper, S., den Boer, J.A. & Ad Sitsen, J.M., *Handbook of Depression and Anxiety* (str. 127-151). New York: Marcel Dekker.
94. Cusin, C., Yang, H., Yeung, A., & Fava, M. (2010). Rating scales for depression. In L. Baer & M. A. Blais (Eds.), *Handbook of clinical rating scales and assessment in psychiatry and mental health* (pp. 7–35). Humana Press/Springer Nature.
95. Carneiro, A. M., Fernandes, F. & Moreno, R.A. (2015). Hamilton depression rating scale and Montgomery–Åsberg depression rating scale in depressed and bipolar I patients: psychometric properties in a Brazilian sample. *Health and Quality of Life Outcomes*, 42, 1-8.

96. Montgomery SA, Åsberg M. A New Depression Scale Designed to be Sensitive to Change. *British Journal of Psychiatry*. 1979 Apr 29;134(4):382–9. doi:10.1192/bjp.134.4.382
97. Kajumba MM, Kakooza-Mwesige A, Nakasujja N, Koltai D, Canli T. Treatment-resistant depression: molecular mechanisms and management. *Molecular biomedicine*. 2024 Oct 17;5(1):43. doi:10.1186/s43556-024-00205-y PubMed PMID: 39414710.
98. O'Connor SJ, Hewitt N, Kuc J, Orsini LS. Predictors and Risk Factors of Treatment-Resistant Depression. *J Clin Psychiatry*. 2023 Nov 13;85(1). doi:10.4088/JCP.23r14885
99. Jenkins E, Goldner EM. Approaches to Understanding and Addressing Treatment-Resistant Depression: A Scoping Review. *Depress Res Treat*. 2012;2012:1–7. doi:10.1155/2012/469680
100. Calderón-Ospina CA, Nava-Mesa MO. B Vitamins in the nervous system: Current knowledge of the biochemical modes of action and synergies of thiamine, pyridoxine, and cobalamin. *CNS Neurosci Ther*. 2020 Jan 6;26(1):5–13. doi:10.1111/cns.13207
101. Almeida OP, Ford AH, Hirani V, Singh V, vanBockxmeer FM, McCaul K, et al. B vitamins to enhance treatment response to antidepressants in middle-aged and older adults: results from the B-VITAGE randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Psychiatry*. 2014 Dec;205(6):450–7. doi:10.1192/bjp.bp.114.145177 PubMed PMID: 25257064.
102. Stanger O, Fowler B, Piertz K, Huemer M, Haschke-Becher E, Semmler A, et al. Homocysteine, folate and vitamin B₁₂ in neuropsychiatric diseases: review and treatment recommendations. *Expert Rev Neurother*. 2009 Sep 9;9(9):1393–412. doi:10.1586/ern.09.75
103. Sirivarasai J, Shantavasinkul PC, Thitiwiwatkul M, Monsuwan W, Panpunuan P, Sritara P. Association Between Plasma Homocysteine, Folate, Vitamin B12 Levels, and Metabolic Dysfunction Indices in Elderly with Arterial Stiffness. *J Clin Med*. 2025 Apr 26;14(9):2998. doi:10.3390/jcm14092998
104. Levin BL, Varga E. MTHFR: Addressing Genetic Counseling Dilemmas Using Evidence-Based Literature. *J Genet Couns*. 2016 Oct 30;25(5):901–11. doi:10.1007/s10897-016-9956-7
105. Bjelland I, Tell GS, Vollset SE, Refsum H, Ueland PM. Folate, vitamin B12, homocysteine, and the MTHFR 677C->T polymorphism in anxiety and depression: the Hordaland Homocysteine Study. *Arch Gen Psychiatry*. 2003 Jun;60(6):618–26. doi:10.1001/archpsyc.60.6.618 PubMed PMID: 12796225.
106. Korchia T, Faugere M, Suc N, Garosi A, Andrieu-Haller C, Breyton M, et al. Recommendations of the treatment-resistant depression expert center network for promoting tobacco smoking cessation based on the results from the real-world FACE-TRD national cohort. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2022 Mar 2;114:110479. doi:10.1016/j.pnpbp.2021.110479 PubMed PMID: 34826559.

107. Brenner P, Brandt L, Li G, DiBernardo A, Bodén R, Reutfors J. Substance use disorders and risk for treatment resistant depression: a population-based, nested case-control study. *Addiction* (Abingdon, England). 2020 Apr;115(4):768–77. doi:10.1111/add.14866 PubMed PMID: 31656053.
108. McHugh RK, Weiss RD. Alcohol Use Disorder and Depressive Disorders. *Alcohol Res*. 2019 Oct 21;40(1). doi:10.35946/arc.v40.1.01 PubMed PMID: 31649834.
109. Oliveira P, Ribeiro J, Donato H, Madeira N. Smoking and antidepressants pharmacokinetics: a systematic review. *Ann Gen Psychiatry*. 2017;16:17. doi:10.1186/s12991-017-0140-8 PubMed PMID: 28286537.
110. Gronemann FH, Jorgensen MB, Nordentoft M, Andersen PK, Osler M. Socio-demographic and clinical risk factors of treatment-resistant depression: A Danish population-based cohort study. *J Affect Disord*. 2020 Jan 15;261:221–9. doi:10.1016/j.jad.2019.10.005 PubMed PMID: 31655377.
111. Touloumis C. The burden and the challenge of treatment-resistant depression. *Psychiatriki*. 2021 Dec;32(Supplement I):11–4. doi:10.22365/jpsych.2021.046 PubMed PMID: 34990376.
112. Baglioni C, Battagliese G, Feige B, Spiegelhalder K, Nissen C, Voderholzer U, et al. Insomnia as a predictor of depression: A meta-analytic evaluation of longitudinal epidemiological studies. *J Affect Disord*. 2011 Dec;135(1–3):10–9. doi:10.1016/j.jad.2011.01.011
113. Alpert JE, Mischoulon D, Nierenberg AA, Fava M. Nutrition and depression: focus on folate. *Nutrition*. 2000 Jul;16(7–8):544–6. doi:10.1016/S0899-9007(00)00327-0
114. Gilbody S, Lewis S, Lightfoot T. Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Genetic Polymorphisms and Psychiatric Disorders: A HuGE Review. *Am J Epidemiol*. 2006 Oct 13;165(1):1–13. doi:10.1093/aje/kwj347
115. Wan L, Li Y, Zhang Z, Sun Z, He Y, Li R. Methylenetetrahydrofolate reductase and psychiatric diseases. *Transl Psychiatry*. 2018 Nov 5;8(1):242. doi:10.1038/s41398-018-0276-6
116. Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate: Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. *Gene*. 2014 Jan;533(1):11–20. doi:10.1016/j.gene.2013.09.063
117. Stanger O, Fowler B, Piertz K, Huemer M, Haschke-Becher E, Semmler A, et al. Homocysteine, folate and vitamin B₁₂ in neuropsychiatric diseases: review and treatment recommendations. *Expert Rev Neurother*. 2009 Sep 9;9(9):1393–412. doi:10.1586/ern.09.75
118. Pano O, Sayón-Orea C, Hershey MS, de la O V, Fernández-Lázaro C, Bes-Rastrollo M, et al. The risk of incident depression when assessed with the Lifestyle and Well-Being Index. *Public Health*. 2023 Jul;220:165–71. doi:10.1016/j.puhe.2023.05.002
119. Papakostas GI, Ionescu DF. Towards new mechanisms: an update on therapeutics for treatment-resistant major depressive disorder. *Mol Psychiatry*. 2015 Oct 7;20(10):1142–50. doi:10.1038/mp.2015.92

120. Huang X, Fan Y, Han X, Huang Z, Yu M, Zhang Y, et al. Association between Serum Vitamin Levels and Depression in U.S. Adults 20 Years or Older Based on National Health and Nutrition Examination Survey 2005–2006. *Int J Environ Res Public Health*. 2018 Jun 9;15(6):1215. doi:10.3390/ijerph15061215
121. Halaris A, Sohl E, Whitham EA. Treatment-Resistant Depression Revisited: A Glimmer of Hope. *J Pers Med*. 2021 Feb 23;11(2):155. doi:10.3390/jpm11020155
122. Coppen A, Bailey J. Enhancement of the antidepressant action of fluoxetine by folic acid: a randomised, placebo controlled trial. *J Affect Disord*. 2000 Nov;60(2):121–30. doi:10.1016/S0165-0327(00)00153-1
123. Resler G, Lavie R, Campos J, Mata S, Urbina M, García A, et al. Effect of Folic Acid Combined with Fluoxetine in Patients with Major Depression on Plasma Homocysteine and Vitamin B₁₂, and Serotonin Levels in Lymphocytes. *Neuroimmunomodulation*. 2008;15(3):145–52. doi:10.1159/000151527
124. De Koning E, Van der Zwaluw N, Van Wijngaarden J, Sohl E, Brouwer-Brolsma E, Van Marwijk H, et al. Effects of Two-Year Vitamin B12 and Folic Acid Supplementation on Depressive Symptoms and Quality of Life in Older Adults with Elevated Homocysteine Concentrations: Additional Results from the B-PROOF Study, an RCT. *Nutrients*. 2016 Nov 23;8(11):748. doi:10.3390/nu8110748
125. Wang T, Wang Q, Zhou H, Zhong X, Dai YC, Zhao J, et al. Disparities in Plasma Homocysteine Levels Between Early-Onset and Late-Onset Depression. *Depress Anxiety*. 2024;2024:7919736. doi:10.1155/2024/7919736 PubMed PMID: 40226737.
126. Fan N, Zhang Q, Zhao W, Yun Y, Zhang M, Wang Y, et al. Association between homocysteine levels and cognition in late-life depression. *Front Psychiatry*. 2025;16:1599716. doi:10.3389/fpsyt.2025.1599716 PubMed PMID: 40896209.
127. Zheng W, Li W, Qi H, Xiao L, Sim K, Ungvari GS, et al. Adjunctive folate for major mental disorders: A systematic review. *J Affect Disord*. 2020 Apr;267:123–30. doi:10.1016/j.jad.2020.01.096
128. Fava M, Mischoulon D. Folate in depression: efficacy, safety, differences in formulations, and clinical issues. *J Clin Psychiatry*. 2009;70 Suppl 5:12–7. doi:10.4088/JCP.8157suppl.03 PubMed PMID: 19909688.
129. Papakostas GI, Petersen T, Lebowitz BD, Mischoulon D, Ryan JL, Nierenberg AA, et al. The relationship between serum folate, vitamin B12, and homocysteine levels in major depressive disorder and the timing of improvement with fluoxetine. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2005 May 9;8(04):523. doi:10.1017/S1461145705005195
130. Fava M, Borus JS, Alpert JE, Nierenberg AA, Rosenbaum JF, Bottiglieri T. Folate, vitamin B12, and homocysteine in major depressive disorder. *Am J Psychiatry*. 1997 Mar;154(3):426–8. doi:10.1176/ajp.154.3.426 PubMed PMID: 9054796.
131. Sangle P, Sandhu O, Aftab Z, Anthony AT, Khan S. Vitamin B12 Supplementation: Preventing Onset and Improving Prognosis of Depression. *Cureus*. 2020 Oct 26. doi:10.7759/cureus.11169

132. Coppen A, Bolander-Gouaille C. Treatment of depression: time to consider folic acid and vitamin B12. *J Psychopharmacol.* 2005 Jan;19(1):59–65. doi:10.1177/0269881105048899 PubMed PMID: 15671130.
133. Green R. Indicators for assessing folate and vitamin B-12 status and for monitoring the efficacy of intervention strategies. *Am J Clin Nutr.* 2011 Aug;94(2):666S-672S. doi:10.3945/ajcn.110.009613
134. Quittschalle J, Pabst A, Löbner M, Lupp M, Heser K, Wagner M, et al. Association of Alcohol and Tobacco Consumption with Depression Severity in the Oldest Old. Results from the Age Different Old Age Cohort Platform. *Int J Environ Res Public Health.* 2021 Jul 28;18(15):7959. doi:10.3390/ijerph18157959
135. Kang E, Lee J. A Longitudinal Study on the Causal Association Between Smoking and Depression. *Journal of Preventive Medicine and Public Health.* 2010;43(3):193. doi:10.3961/jpmph.2010.43.3.193
136. Uzun S, Sagud M, Pivac N. Biomarkers of Depression Associated with Comorbid Somatic Diseases. *Psychiatr Danub.* 2021;33(Suppl 4):463–70. PubMed PMID: 34718266.
137. Oliveira P, Ribeiro J, Donato H, Madeira N. Smoking and antidepressants pharmacokinetics: a systematic review. *Ann Gen Psychiatry.* 2017 Dec 6;16(1):17. doi:10.1186/s12991-017-0140-8
138. Malhi GS, Mann JJ. Depression. *The Lancet.* 2018 Nov;392(10161):2299–312. doi:10.1016/S0140-6736(18)31948-2
139. Owen MJ, Williams NM. Explaining the missing heritability of psychiatric disorders. *World Psychiatry.* 2021 Jun 18;20(2):294–5. doi:10.1002/wps.20870
140. Liu JJ, Wei Y Bin, Strawbridge R, Bao Y, Chang S, Shi L, et al. Peripheral cytokine levels and response to antidepressant treatment in depression: a systematic review and meta-analysis. *Mol Psychiatry.* 2020 Feb 19;25(2):339–50. doi:10.1038/s41380-019-0474-5
141. Papakostas GI, Petersen T, Mischoulon D, Ryan JL, Nierenberg AA, Bottiglieri T, et al. Serum Folate, Vitamin B12, and Homocysteine in Major Depressive Disorder, Part 1. *J Clin Psychiatry.* 2004 Aug 15;65(8):1090–5. doi:10.4088/JCP.v65n0810
142. Khosravi M, Sotoudeh G, Amini M, Raisi F, Mansoori A, Hosseinzadeh M. The relationship between dietary patterns and depression mediated by serum levels of Folate and vitamin B12. *BMC Psychiatry.* 2020 Dec 13;20(1):63. doi:10.1186/s12888-020-2455-2
143. Elstgeest LEM, Brouwer IA, Penninx BWH, van Schoor NM, Visser M. Vitamin B12, homocysteine and depressive symptoms: a longitudinal study among older adults. *Eur J Clin Nutr.* 2017 Apr 1;71(4):468–75. doi:10.1038/ejcn.2016.224
144. Sangle P, Sandhu O, Aftab Z, Anthony AT, Khan S. Vitamin B12 Supplementation: Preventing Onset and Improving Prognosis of Depression. *Cureus.* 2020 Oct 26. doi:10.7759/cureus.11169

145. Almeida OP, Ford AH, Flicker L. Systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials of folate and vitamin B12 for depression. *Int Psychogeriatr*. 2015 May;27(5):727–37. doi:10.1017/S1041610215000046
146. Kalin NH. The Critical Relationship Between Anxiety and Depression. *Am J Psychiatry*. 2020 May 1;177(5):365–7. doi:10.1176/appi.ajp.2020.20030305 PubMed PMID: 32354270.
147. Byers AL, Yaffe K. Depression and risk of developing dementia. *Nat Rev Neurol*. 2011 May 3;7(6):323–31. doi:10.1038/nrneurol.2011.60 PubMed PMID: 21537355.
148. Gimson A, Schlosser M, Huntley JD, Marchant NL. Support for midlife anxiety diagnosis as an independent risk factor for dementia: a systematic review. *BMJ Open*. 2018 Apr 30;8(4):e019399. doi:10.1136/bmjopen-2017-019399 PubMed PMID: 29712690.
149. Türksoy N, Bilici R, Yalçın A, Özdemir YÖ, Ornek I, Tufan AE, et al. Vitamin B12, folate, and homocysteine levels in patients with obsessive-compulsive disorder. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2014;10:1671–5. doi:10.2147/NDT.S67668 PubMed PMID: 25228807.
150. Ulloque-Badaracco JR, Alarcon-Braga EA, Hernandez-Bustamante EA, Von-Koeller-Jones BM, Huayta-Cortez M, Saavedra-Custodio E, et al. Vitamin B12, folate, and homocysteine levels in children and adolescents with obesity: a systematic review and meta-analysis. *Front Public Health*. 2025;13:1481002. doi:10.3389/fpubh.2025.1481002 PubMed PMID: 39991695.
151. Roffman JL, Lamberti JS, Achtyes E, Macklin EA, Galendez GC, Raeke LH, et al. Randomized multicenter investigation of folate plus vitamin B12 supplementation in schizophrenia. *JAMA Psychiatry*. 2013 May;70(5):481–9. doi:10.1001/jamapsychiatry.2013.900 PubMed PMID: 23467813.
152. Jendričko T, Vidović A, Grubišić-Ilić M, Romić Ž, Kovačić Z, Kozarić-Kovačić D. Homocysteine and serum lipids concentration in male war veterans with posttraumatic stress disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2009 Feb;33(1):134–40. doi:10.1016/j.pnpbp.2008.11.002
153. Schmidt RJ, Tancredi DJ, Ozonoff S, Hansen RL, Hartiala J, Allayee H, et al. Maternal periconceptional folic acid intake and risk of autism spectrum disorders and developmental delay in the CHARGE (CHildhood Autism Risks from Genetics and Environment) case-control study. *Am J Clin Nutr*. 2012 Jul;96(1):80–9. doi:10.3945/ajcn.110.004416 PubMed PMID: 22648721.
154. James SJ, Cutler P, Melnyk S, Jernigan S, Janak L, Gaylor DW, et al. Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism. *Am J Clin Nutr*. 2004 Dec;80(6):1611–7. doi:10.1093/ajcn/80.6.1611 PubMed PMID: 15585776.
155. Surén P, Roth C, Bresnahan M, Haugen M, Hornig M, Hirtz D, et al. Association between maternal use of folic acid supplements and risk of autism spectrum disorders

- in children. *JAMA*. 2013 Feb 13;309(6):570–7. doi:10.1001/jama.2012.155925 PubMed PMID: 23403681.
156. Frye RE, Sequeira JM, Quadros E V, James SJ, Rossignol DA. Cerebral folate receptor autoantibodies in autism spectrum disorder. *Mol Psychiatry*. 2013 Mar;18(3):369–81. doi:10.1038/mp.2011.175 PubMed PMID: 22230883.
 157. Frye RE, Slattery J, Delhey L, Furgerson B, Strickland T, Tippet M, et al. Folinic acid improves verbal communication in children with autism and language impairment: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Mol Psychiatry*. 2018 Feb;23(2):247–56. doi:10.1038/mp.2016.168 PubMed PMID: 27752075.
 158. Zwierz M, Suprunowicz M, Mrozek K, Pietruszkiewicz J, Oracz AJ, Konarzewska B, et al. Vitamin B12 and Autism Spectrum Disorder: A Review of Current Evidence. *Nutrients*. 2025 Mar 31;17(7). doi:10.3390/nu17071220 PubMed PMID: 40218978.
 159. Köse S, Sözlü S, Bölükbaşı H, Ünsal N, Gezmen-Karadağ M. Obesity is associated with folate metabolism. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 2020 Jun;90(3–4):353–64. doi:10.1024/0300-9831/a000602
 160. Moderie C, Nuñez N, Fielding A, Comai S, Gobbi G. Sex Differences in Responses to Antidepressant Augmentations in Treatment-Resistant Depression. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2022 Jun 21;25(6):479–88. doi:10.1093/ijnp/pyac017
 161. Ashok T, Puttam H, Tarnate VCA, Jhaveri S, Avanthika C, Trejo Treviño AG, et al. Role of Vitamin B12 and Folate in Metabolic Syndrome. *Cureus*. 2021 Oct;13(10):e18521. doi:10.7759/cureus.18521 PubMed PMID: 34754676.

12. Životopis

1

2. Akademsko obrazovanje (kronološki od najnovijeg)

- specijalistički ispit iz dječje i adolescentne psihijatrije
- doktor medicine, MEF Zagreb

3.. Zaposlenja

- KBC Zagreb, Klinika za dječju i adolescentnu psihijatriju
- Psihijatrijska bolnica za djecu i mladež
- Srednja škola za medicinske sestre Vinogradska

4. Objavljeni radovi

Rados Iva , Vuksan-Ćusa Zrinka, Milić Jakov, Šagud Marina, Lončar Vrančić Ana, Jakšić Nenad, Vuksan – Ćusa Bjanka Blood Concentrations of Folic Acid and Homocysteine Are Associated with Treatment-Resistant Depression Among Female Depressed Patients

Marina Šagud¹, Božena Petrović, Maja Vilibić, Alma Mihaljević-Peleš, Bjanka Vuksan-Ćusa, Iva Radoš, Alen Greš, Vladimir Trkulja . The relationship among psychopathology, religiosity, and nicotine dependence in Croatian war veterans with posttraumatic stress disorder

Marina Sagud^{1 2}, Lucija Tudor³, Suzana Uzun^{4 5}, Matea Nikolac Perkovic³, Maja Zivkovic⁶, Marcela Konjevod³, Oliver Kozumplik^{4 5}, Bjanka Vuksan Cusa^{1 2}, Dubravka Svob Strac³, Iva Rados⁷, Ninoslav Mimica^{1 4}, Alma Mihaljevic Peles^{1 2}, Gordana Nedic Erjavec³, Nela Pivac³ ; Haplotypic and Genotypic Association of Catechol- O-Methyltransferase rs4680 and rs4818 Polymorphisms and Treatment Resistance in Schizophrenia

Rados I., Kušević Z. Epidemiologija u dječjoj i adolescentnoj psihijatriji

5. Sudjelovanje u nastavi

Vanjski suradnik na kolegiju Psihijatrija i Psihološka medicina na MEF Zagreb
Vanjski suradnik na kolegiju Opća psihopatologija KBF Zagreb

6. Članstva u stručnim i znanstvenim udrugama

- Hrvatski liječnički zbor (HLZ)
- Hrvatsko katoličko liječničko društvo (HKLD)