

# Trombocitni serotonin u djece s poremećajem pažnje i hiperaktivnošću

---

**Petek, Ines**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2009**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/um:nbn:hr:217:942470>

*Rights / Prava:* [In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-04-25**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
BIOLOŠKI ODSJEK

DIPLOMSKI RAD  
TROMBOCITNI SEROTONIN U DJECE S  
POREMEĆAJEM PAŽNJE I  
HIPERAKTIVNOŠĆ U

Ines Petek

Zagreb, 2009.

Zahvaljujem svojoj mentorici dr. sc. Neli Pivac, znanstvenoj savjetnici, koja mi je nesobi no pomogla prilikom izrade i pisanja ovog diplomskog rada. Najiskrenije zahvaljujem dipl. ing. Gordani Nedi koja mi je pomagala u biokemijskim odre ivanjima, savjetovala me, bila puna strpljenja, razumijevanja i uputila me u laboratorijski rad. Zahvaljujem profesorici dr. sc. Dubravki Kocijan Hercigonja iz Poliklinike Kocijan/Hercigonja, Zagreb, na psihijatrijskoj evaluaciji djece.

Zahvaljujem Marcelu kao i cijeloj svojoj obitelji na pruženoj pomo i i podršci.

## **TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno – matematički fakultet

Biološki odsjek

Diplomski rad

### **«Trombocitni serotonin u djece s poremećajem pažnje i hiperaktivnošću»**

Ines Petek

Laboratorij za molekularnu neuropsihijatriju

Zavod za molekularnu medicinu

Institut Ruđer Bošković

Bijenička cesta 54

Zagreb

### **SAŽETAK**

Poremećaj pažnje s hiperaktivnošću (ADHD) je psihijatrijski poremećaj, i nije neurobiološka osnova potpuno jasna, ali je povezana sa promijenjenim funkciranjem dopaminergičkog, noradrenergičkog i serotonergičkog (5-HT) sustava. Koncentracija trombocitnog 5-HT promijenjena je u određenim ponašanjima (agresivno, impulzivno) i kognitivnim poremećajima, koji prate ADHD. U radu su korišteni trombociti kao ograničeni periferni model središnjih 5-HT sinaptosoma, jer služe spremaju, otpuštaju i metaboliziraju 5-HT. Koncentraciju trombocitnog 5-HT odredili smo u skupinama djece s ADHD i kontrolne zdrave djece, te istražili mogući utjecaj spola na koncentraciju trombocitnog 5-HT. Rezultati su pokazali nedostatak znatnih razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između muške i ženske djece oboljele od ADHD i zdrave djece. Nisu pronađene spolno uvjetovane razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT. Ti podaci upućuju na zaključak da ADHD nije vezan za promijenjenu koncentraciju trombocitnog 5-HT. Periferni biološki pokazatelj, kao što je trombocitni 5-HT vezan je za određena ponašanja ili simptome promijenjene u ADHD, i njegova se koncentracija ne može se koristiti kao periferni biološki pokazatelj kompleksnog dijagnostika entiteta kao što je ADHD.

(43 stranice, 21 slika, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Ključne riječi: Serotonin (5-HT), trombociti, ADHD, djeca

Voditelj: Dr. sc. Nela Pivac, znanstvena savjetnica

## BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Biology

Graduation Thesis

**«Platelet serotonin in children with attention deficit/ hyperactivity disorder»**

Ines Petek

Laboratory for molecular neuropsychiatry

Division of molecular medicine

Rudjer Bošković Institute

Bijenička cesta 54

Zagreb

### ABSTRACT

Attention deficit/ hyperactivity disorder (ADHD) is a psychiatric disorder with unclear neurobiological background, thought to be associated with altered dopaminergic, noradrenergic and serotonergic (5-HT) systems functions. Platelet 5-HT concentration is changed in particular behaviors (aggressive, impulsive) and cognitive disturbances, related to ADHD. The study used platelets as a limited peripheral model of the central 5-HT synaptosomes, since they use, release and metabolize 5-HT similarly as central 5-HT synaptosomes. Platelet 5-HT concentration was determined in groups of children with ADHD and healthy control children, and the possible influence on sex on platelet 5-HT concentration was also evaluated. The results showed the lack of significant differences in platelet 5-HT concentration between boys and girls with ADHD and control boys and girls. No significant sex related differences in platelet 5-HT concentration were found. The findings suggest that ADHD is not associated with altered platelet 5-HT concentration. Peripheral biological marker such as platelet 5-HT is related to specific behaviors or symptoms altered in ADHD, and platelet 5-HT concentration could not be used as a peripheral biological marker of a complex diagnostic entity such as ADHD.

(43 pages, 21 figures, original language: Croatian)

Thesis is deposited in the central library of biology

Key words: Serotonin (5-HT), platelets, ADHD, children

Supervisor: Nela Pivac, DVM, PhD, senior scientist

## KRATICE:

5 - HT - 5 - hidroksitriptamin, serotonin

5 - HTP - 5 - hidroksitriptofan

5 - HTT - serotoninski transporter

AADC - dekarboksilaza L - aromatskih aminokiselina

ADHD - attention deficit/ hyperactivity disorder

ACTH - adrenokortikotropni hormon

Ach - acetilkolin

ANOVA – analiza varijance

APA- American Psychiatric Association, ameriško psihijatrijsko udruženje

CNS – središnji živani sustav

DA - dopamin

DSM-IV - Diagnostic Statistical Manual, Dijagnostički i statistički priručnik za mentalne poremećaje, IV revizija

GABA - - aminomasla na kiselina

Glu - glutamat

GI - gastrointestinalni

NA - noradrenalin

MAO - monoaminoooksidaza

OCD - opsativno - komplizivni poremećaji

PD - poremećaji liosti

PTSP - posttraumatski stresni poremećaji

SBP – serotonin binding protein, protein koji veže 5-HT

Trp - triptofan

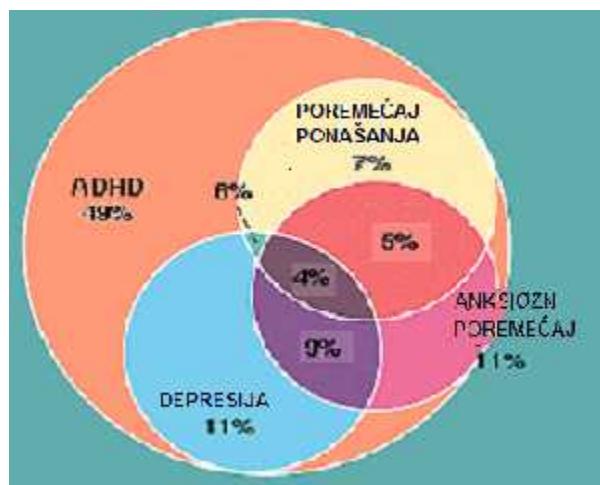
## SADRŽAJ

<b>1</b>	<b>UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1	ADHD .....	1
1.2	SIMPTOMI ADHD .....	2
1.3	UZROCI POREME AJA.....	5
1.4	SEROTONIN .....	7
1.5	METABOLIZAM SEROTONINA.....	8
1.6	SREDIŠNJI I PERIFERNI SEROTONIN .....	11
1.7	SEROTONIN KAO NEUROTRANSMITOR.....	12
1.8	SEROTONINSKI RECEPTORI.....	14
1.9	SEROTONIN I PONAŠANJE.....	14
1.10	SEROTONIN I ADHD.....	15
1.11	TROMBOCITNI SEROTONIN.....	17
<b>2</b>	<b>CILJ ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>21</b>
<b>3</b>	<b>MATERIJALI I METODE .....</b>	<b>23</b>
3.1	SKUPINE ISPITANIKA.....	23
3.2	ODRE IVANJE SEROTONINA U TROMBOCITIMA .....	25
3.3	ODRE IVANJE PROTEINA (PO LOWRYJU) .....	27
3.4	TEHNI KA POMAGALA.....	27
3.5	STATISTI KA OBRADA PODATAKA .....	28
<b>4</b>	<b>REZULTATI .....</b>	<b>29</b>
4.1	KONCENTRACIJA TROMBOCITNOG SEROTONINA U DJECE S ADHD I U KONTROLNE DJECE .....	29
4.2	KONCENTRACIJA TROMBOCITNOG SEROTONINA U DJE AKA I DJEVOJ ICA S ADHD I U KONTROLNIH DJE AKA I DJEVOJ ICA .....	29
4.3	KONCENTRACIJA TROMBOCITNOG SEROTONINA U DJE AKA I DJEVOJ ICA S ADHD .....	30
4.4	KONCENTRACIJA TROMBOCITNOG SEROTONINA U KONTROLNIH DJE AKA I DJEVOJ ICA .....	31
4.5	GODINE ŽIVOTA (DOB) U DJECE S ADHD I U KONTROLNE DJECE.....	32
4.6	KOLERACIJA IZME U DOBI I KONCENTRACIJE TROMBOCITNOG SEROTONINA U DJECE S ADHD. ....	33
4.7	KOLERACIJA IZME U DOBI I KONCENTRACIJE TROMBOCITNOG SEROTONINA U KONTROLNE DJECE.....	34
<b>5</b>	<b>RASPRAVA .....</b>	<b>36</b>
5.1	KONCENTRACIJA TROMBOCITNOG SEROTONINA U DJECE ADHD I U ZDRAVE DJECE .....	36
5.2	NEDOSTATAK SPOLNO IZAZVANIH PROMJENA U KONCENTRACIJI TROMBOCITNOG SEROTONINA U DJE AKA I DJEVOJ ICA S ADHD I U KONTROLNIH DJE AKA I DJEVOJ ICA .....	39
5.3	ADHD I RAZLI ITE PSIHIJATRIJSKE BOLESTI.....	40
<b>6</b>	<b>ZAKLJU AK .....</b>	<b>43</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>44</b>

# 1 UVOD

## 1.1 ADHD

Poreme aj pažnje s hiperativnoš u ili ADHD (prema engl. attention deficit/hyperactivity disorder) je kompleksan psihijatrijski poreme aj. Prema Dijagosti kom i statisti kom priru niku za mentalne poreme aje, kojeg je izdalo ameri ko psihijatrijsko društvo 1994 godine (APA, 1994), ADHD je poreme aj u kojem dominiraju tri karakteristi ne skupine simptoma: nepažnja, hiperaktivnost i impulzivnost (APA, 1994; Kocijan-Hercigonja i Karlovi , 1999; Biederman, 2005). ADHD se u literaturi može na i i pod nazivom "hiperkineti ki sindrom" ili "minimalna cerebralna disfunkcija".



**Slika 1.1.** Preklapanje ADHD s drugim psihi kim poreme ajima / slika preuzeta iz [www.ncpamd.com/ADD\\_Co1.gif](http://www.ncpamd.com/ADD_Co1.gif)

Postoje tri tipa ADHD:

- deficit pažnje / hiperaktivni poreme aj, predominantno nepažljiv tip
- deficit pažnje / hiperaktivni poreme aj, predominantno hiperaktivno-impulzivan tip
- deficit pažnje / hiperaktivni poreme aj, kombiniran tip

Predominantno hiperaktivno-impulzivan tip i kombiniran tip lakše se dijagnosticiraju i identificiraju, zbog vidljivih simptoma koje djeca pokazuju. Takva djeca su vrlo glasna, konstantno su u pokretu, esto se bave opasnim aktivnostima te nerijetko nepristojno odgovaraju odraslima. Predominantno nepažljiv tip od kojeg esto boluju ženska djeca, obuhva a tzv. "tihe sanjare". Takva djeca ne mogu raditi samostalno, gube stvari, i esto se izgube u vlastitim mislima (APA, 1994).

ADHD se javlja prije sedme godine života. Primje eno je da se u osnovnoškolskoj dobi broj djece s ADHD poreme ajem kre e od 1-4% (3-5%), a prema nekim istraživanjima i do 20%, a razlike u postocima ovise o upotrijebljениm dijagnosti nim instrumentima i metodama. U oko 75% djece poreme aj se nastavlja u adolescenskom periodu, a kod 50% osoba ADHD perzistira i u odrasloj dobi. Odnos dje aka i djevoj ica s ADHD je 1:3 – 1:4, što zna i da se taj poreme aj javlja 2-3 puta eš e kod dje aka nego kod djevoj ica. Dokazano je i da se kod djevoj ica eš e javlja simptom poreme aja pažnje (Biederman, 2005; Kocijan-Hercigonja i sur., 2006).



**Slika 1.2.** Poreme aj pažnje  
se eš e javlja u djevoj ica

## 1.2 SIMPTOMI ADHD

Za dijagnozu ADHD-a treba biti prisutno barem šest simptoma nepažnje ili barem šest simptoma hiperaktivnosti i impulzivnosti.

## **NEPAŽNJA:**

- ne posve uju pažnju detaljima ili rade pogreške zbog nemara u školskom uratku, poslu ili drugim aktivnostima
- esto imaju teško e u održavanju pažnje pri obavljanju zada a ili u igri
- esto se ini da ne slušaju i kad im se direktno obra a
- esto ne prate upute i ne dovršavaju ku ne poslove ili dužnosti na radnom mjestu (ne zbog prkosa ili nerazumijevanja uputa)
- esto imaju teško e s organiziranjem zadataka i aktivnosti
- esto gube stvari potrebne za ispunjavanje zada a ili aktivnosti
- esto ih ometaju vanjski podražaji
- esto zaboravljaju dnevne aktivnosti

## **HIPERAKTIVNOST:**

- esto tresu rukama i nogama ili se vрpolje na stolcu ili sjedalu
- ustaju sa stolca u razredu ili negdje drugdje gdje se o ekuje da ostanu na mjestu
- esto pretjerano tr e ili se penju u situacijama u kojima je to neprikladno (kod adolescenata ili odraslih može biti ograni eno na subjektivni osje aj nemira)
- esto imaju teško a ako se treba mirno i tiho igrati ili obavljati slobodne aktivnosti
- esto su u „pogonu“
- esto pretjerano pri aju



**Slika 1.3.** Hiperaktivno dijete

## **IMPULZIVNOST:**

- esto „istr avaju“ s odgovorima prije nego što je dovršeno pitanje
- esto imaju poteško a s ekanjem reda
- esto prekida i ometa druge
- burno emotivno reagira, ne predvi aju i dobro posjedice
- djeluje prije nego što promisli
- prebacuje se s jedne aktivnosti na drugu
- ne može ekati da netko završi re enicu ili radnju
- prekida razgovor
- name e se s drugima
- ne eka upute

Uz smetnje aktivnosti i pažnje pojavljuju se i slijede a obilježja: neslušanje, neorganiziranost, nedovršavanje zapo etih aktivnosti, nemir i nestrpljivost.

Impulzivnost esto prati i emocionalna nestabilnost koja se izražava preko provala bijesa, socijalne izolacije, niske tolerancije na frustracije i preosjetljivosti.

Djeca s ADHD poreme ajem postaju problem kada zbog svog karakteristi nog ponašanja ne mogu zadovoljiti zadatke koje im postavljaju društvo, škola i obitelj. Kao posljedica tog poreme aja javlja se nisko samopoštovanje, slab školski uspjeh, te konflikti s autoritetima.

Osim navedenih, javljaju se i sekundarni poreme aji ponašanja kao što su anksioznost, depresija, tjeskoba, poreme aji u enja, poreme aji govora i jezika, alergije, no no mokrenje, nesanica (Rothenberger i sur., 2004; Biederman, 2005). Pojava kad se uz primarni poreme aji (u ovom slu aju je to ADHD) pojavljuju i drugi psihi ki poreme aji (sekundarni poreme aji ponašanja ili dodatne psihijatrijske bolesti) naziva se komorbiditet.

Djeca s poreme ajem pozornosti i hiperaktivnoš u nemaju trajnih prijatelja, esto su izložena neadekvatnim postupcima iz okoline, te esto postaju žrtve razli itih oblika nasilja. Naime, istraživanja su pokazala da se me u takvom djecom nalazi ve i postotak zlostavljanje djece u odnosu na op u populaciju, kao i djece koja u adolescentnoj dobi konzumiraju drogu i alkohol. Takvi rezultati pokazuju da djeca s ADHD poreme ajem

imaju definiranu budunost u kojoj dolazi do značajnog narušavanja socijalnog, akademskog i radnog funkcioniranja (Kocjan-Hercigonja i Karlović, 1999).

### **1.3 UZROCI POREME AJA**

To ni uzroci poreme aja pozornosti s hiperaktivnošću nisu potpuno poznati, no prema različitim istraživanjima i teorijama uzroci se nalaze na području:

- nasljeđivanja
- poremećenog funkcioniranja mozga
- neurobioloških poremećaja
- socijalnih poremećaja
- patologije obiteljskih odnosa
- emocionalnih problema

U mnogim slučajevima veliku ulogu ima upravo genetsko nasljeđivanje.

Otkriveno je da se poremećaj ponavlja unutar obitelji, te da je relativno onih koji imaju ADHD u 25% slučajeva također razviti ADHD. Neki stručnjaci smatraju da je uzrok ADHD genetsko nasljeđeno, iako još nije pronađen odgovarajući gen odnosno geni koji bi mogli biti uzrokom ADHD-a (Rothenberger i sur., 2004; Biederman, 2005).

Prema novijim istraživanjima ADHD ima biološku osnovu, i to oštećenje mozga ili poremećaja u razvoju mozga. Posebno su zahvaljueni frontalni režnjevi tj. centri koji su odgovorni za samokontrolu, inhibiciju ponašanja i ustrajnost.

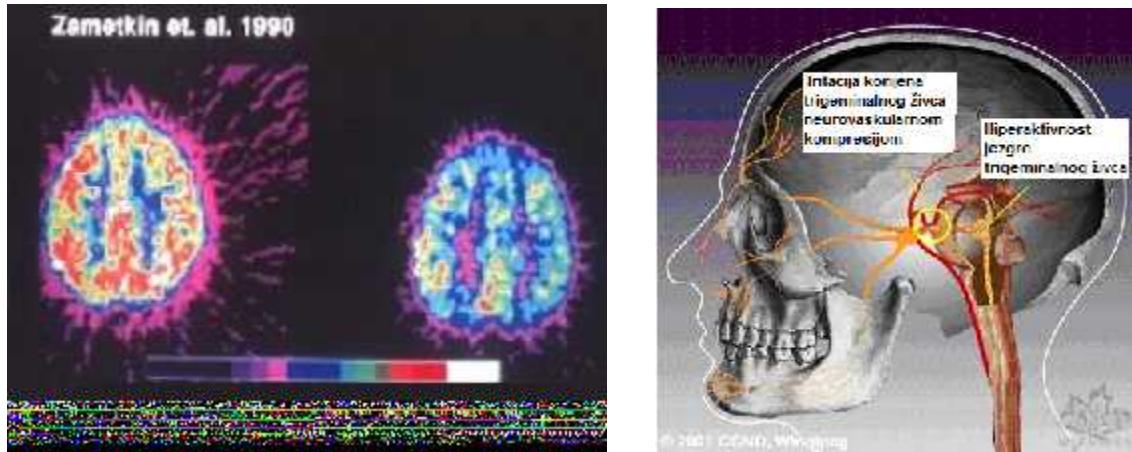
Može se javljati asimetrija između lijevog i desnog dijela frontalnog režnja, kao i abnormalnosti u području talamus, retikularne supstancije i u limbnom sustavu (Kocjan-Hercigonja i sur., 2006).



**Slika 1.4.** Ljudski mozak / slika preuzeta iz [www.trustyguides.com  
/adhd2.html](http://www.trustyguides.com/adhd2.html)

Osim ošte enja mozga, nekoliko drugih bioloških imbenika može biti uzrokom ADHD (Biederman, 2005). To su otrovanje olovom, pušenje u trudno i, alkoholizam u trudno i, niska poro ajna težina, štetni aditivi u hrani, i drugo. Uz to se naj eš e kao uzroci ADHD spominju komplikacije pri porodu (toksemije, eklampsije, loše zdravlje majke, starija dob, poreme eno fetalno sazrijevanje, produženo trajanje poroda, fetalni distres, smanjena poro ajna težina, postporo ajno krvarenje).

Simptomi ADHD su povezani s kemijskom neravnotežom u mozgu. Upravo su emocije, memorija i socijalna interakcija koordinirani kroz složen sustav neurona koji komuniciraju koriste i kemijske signale koje oslobo aju tvari ili prenositelji koji se nazivaju neurotransmitorima. Poznatiji neurotransmitori su epinefrin ili adrenalin, norepinefrin ili noradrenalin, dopamin, serotonin i drugi. Kod ADHD poreme aja javlja se neravnoteža neurotransmitora (osobito noradrenalina, dopamina i serotoninina) u dijelovima mozga koji kontroliraju misli i ponašanje, kao što su razlikovanje dobro od lošeg i razumijevanje posljedica vlastitog ponašanja (Pattij i Vanderschuren, 2008).



**Slika 1.5.** PET skeniranje prikazuje mozak ADHD pacijenta (desno) koji je manje aktivan u prednjim dijelovima od mozga pacijenta bez ADHD (lijevo) / slika preuzeta iz [www.trustyguides.com/adhd2.html](http://www.trustyguides.com/adhd2.html)

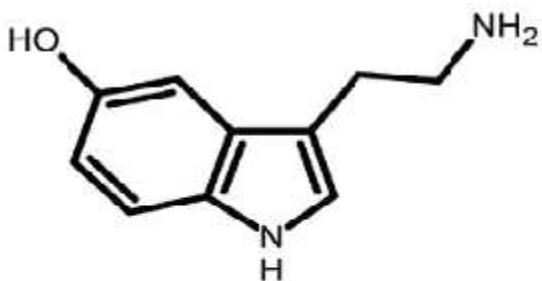
Uzrok pojavljivanja ADHD može biti i konzumiranje droga ili alkohola u trudno i ili kod djece, neki drugi problemi za vrijeme maj ine trudno e, poro ajna trauma, zlostavljanje u djetinstvu, ozljede mozga kao posljedice nesre e, meningitis, encefalitis, ili neki psihološki poreme aj.

Smatra se da bolest nije potpuno nasljedna, ve je vjerovatnije da se ADHD razvije kad se geneti ke predispozicije pomiješaju sa skupom okolišnih imbenika.

## 1.4 SEROTONIN

Serotonin (5-HT, 5-hidroksitriptamin) je heterocikli ki monoamin koji je poznat kao spoj koji uzrokuje kontrakciju glatkih miši a crijeva (Erspamer i Asero, 1952). Taj monoamin sudjeluje i u regulaciji temperature, apetita, osje aja boli, spolne aktivnosti, ponašanja, krvnog tlaka i disanja.

Serotonin je biogeni amin koji je široko rasprostranjen u prirodi. Prisutan je i u biljnome i životinjskome svijetu, pa se dosljedno tome može unositi u organizam. Ima ga u različitim plodovima (banane, ananas, orasi), u oktopodima (lignje, sipe i hobotnice) te u otrovu osa i škorpiona (Bulat i sur., 1999). Najveći dio 5-HT (95%) u sisavaca stvara se u enterokromafinim (Kultschitzkyjevim) stanicama crijeva. Serotonin se nalazi i u neuronima središnjeg živog anoga sustava, pinealnoj žlijezdi i trombocitima (Kema i sur., 2000).



**Serotonin - 5-Hidroksitryptamin ( $C_{10}H_{12}N_2O$ )**

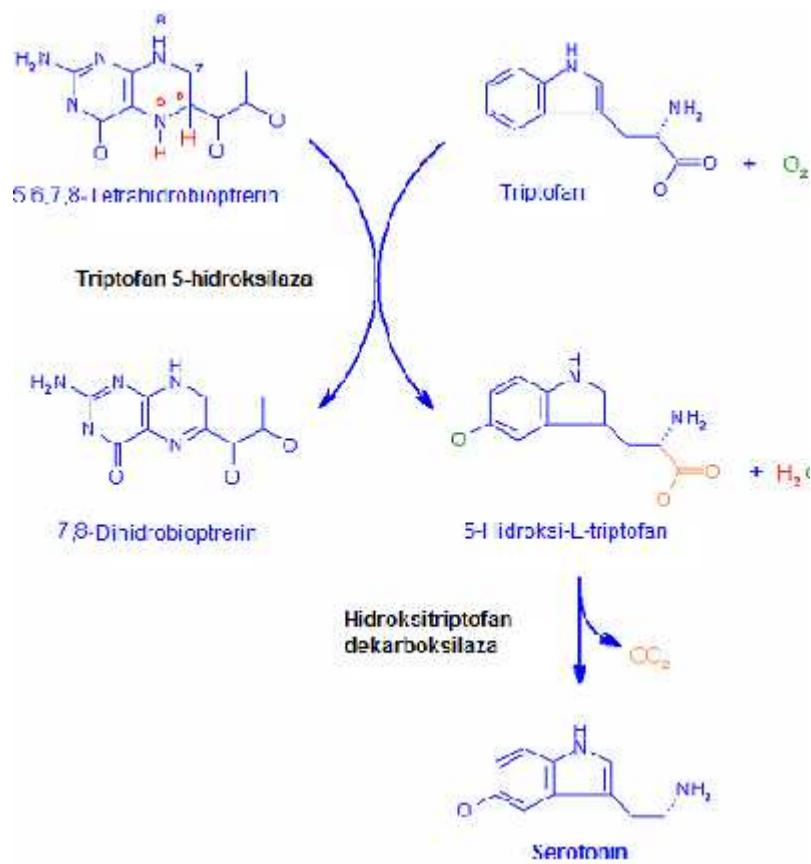
**Slika 1.6.** Kemijska struktura serotoninina  
/slika preuzeta iz [www.erowid.org/chemicals/other/images/archive/serotonin\\_2d.gif](http://www.erowid.org/chemicals/other/images/archive/serotonin_2d.gif)

Po kemijskom sastavu 5-HT je jednostavna molekula koja ima jednu amino skupinu i upravo zbog toga se klasificira kao monoamin. Serotonin je indolamin i to 3-(2-aminoetil)-5-hidroksiindol jer sadrži hidroksilnu skupinu (-OH) koja je vezana na peti C atom.

## 1.5 METABOLIZAM SEROTONINA

Sinteza 5-HT se dešava u središnjem živom anogu sustavu, a na periferiji u enterokromafinim stanicama crijeva, pinealnoj žlijezdi, bronhima, štitnjači, gušteri i kralježni koj moždini. Serotoninski neuroni središnjeg živog anoga sustava okupljeni su u jezgama rafe koji se nalaze u moždanom deblu (Kema i sur., 2000). Serotonin u mozgu ima ulogu neurotransmitora i neuromodulatora, dok je na periferiji uključen u nadzor niza fizioloških funkcija.

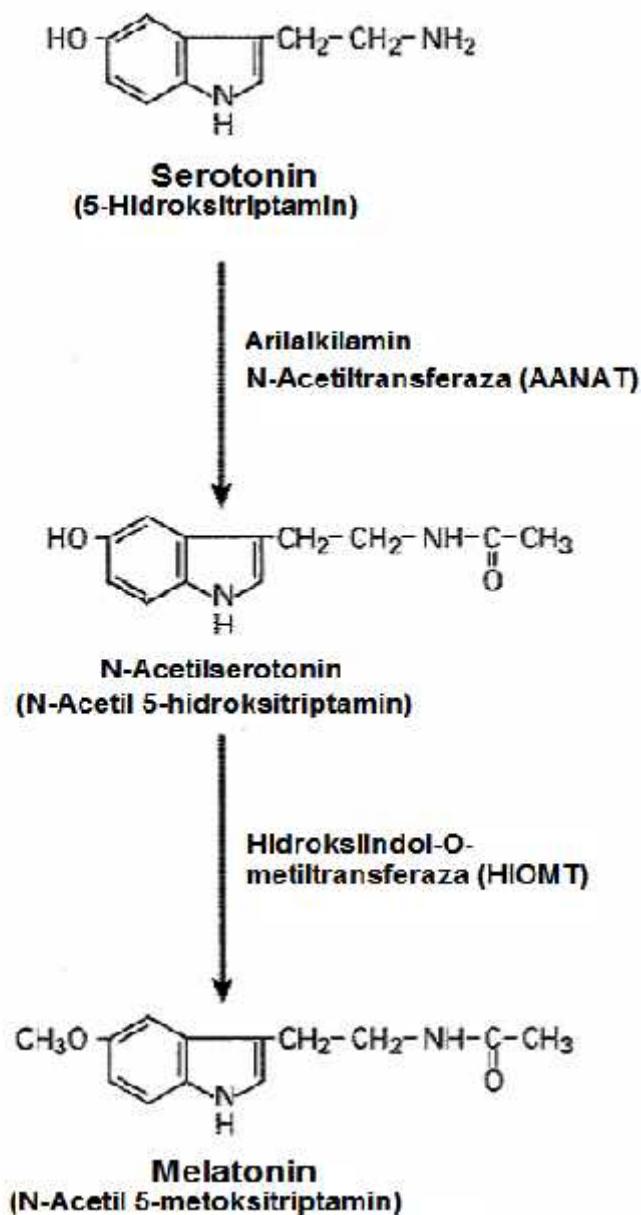
Serotonin je biogeni amin koji nastaje sintezom iz esencijalne aminokiseline triptofana. Enzim triptofan- hidroksilaza (TRH) pretvara L-triptofan u 5-hidroksitriptofan procesom hidroksilacije. Tryptofan- hidroksilaza je jedini enzim koji je specifičan za sintezu 5-HT. Prilikom hidroksilacije kofaktori su kisik i tetrahidrobiopterin i u tom se procesu jedan atom kisika ugrađuje u 5-HTP, a drugi reducira do vode. Tetrahidrobiopterin služi kao donor protona i izlazi iz reakcije kao dihidrobiopterin. 5-hidroksitriptofan se tada dekarboksilira uz pomoć enzima triptofan-dekarboksilaze koji je ovisan o piroksil-fosfatu (PLP).



**Slika 1.7.** Sinteza serotoninina

/ slika preuzeta iz [www.med.unibs.it/~marchesi/serotonin\\_synth.gif](http://www.med.unibs.it/~marchesi/serotonin_synth.gif)

Razgradnja 5-HT ide preko enzima MAO (monoaminoooksidaze) i stvara se glavni metabolit 5-hidroksiindoloctena kiselina, koja je glavni produkt razgradnje 5-HT-a u mozgu, a izlu uje se mokra om. Iz 5-HT u pinealnoj žljezdi nastaje melatonin.

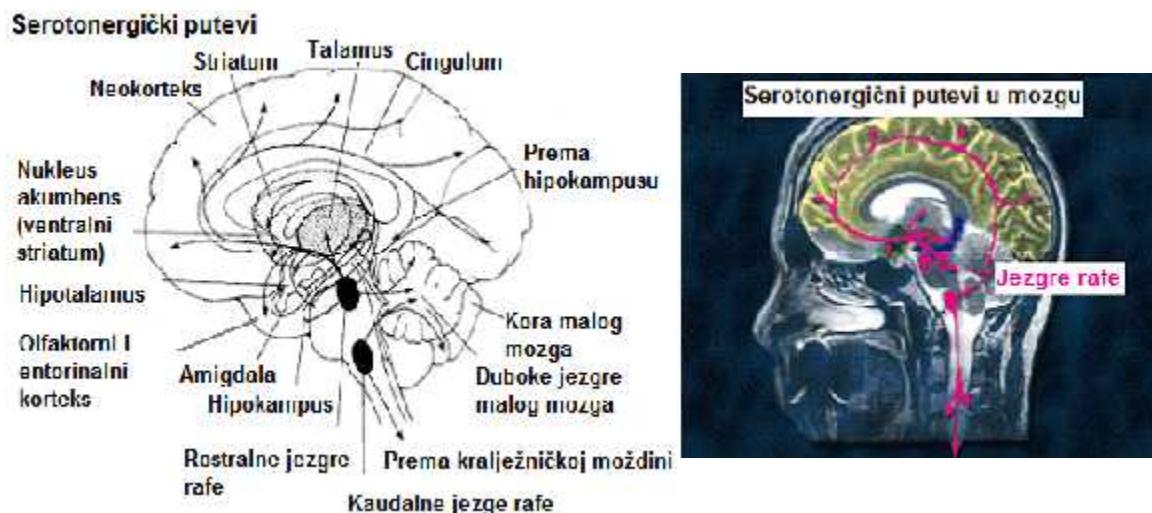


**Slika 1.8.** Nastanak melatonina iz serotonina / slika preuzeta iz [www.biochemsoctrans.org/bst/030/0365/bst0300365a01.gif](http://www.biochemsoctrans.org/bst/030/0365/bst0300365a01.gif)

## 1.6 SREDIŠNJI I PERIFERNI SEROTONIN

Serotoninsku homeostazu kod sisavaca možemo promatrati kroz dva metaboli ki odvojena odjeljka. Prvi odjeljak je središnji i obuhva a središnji živ ani sustav, a drugi je periferni koji se odnosi na druga tkiva. Središnji i periferni odjeljci su odvojeni krvno-moždanom barijerom koja je nepropusna za 5-HT, ali je propusna za 5-HT prekursor triptofan i metabolit 5-hidroksiindoloctenu kiselinu (Artigas i sur., 1985; Fuller, 1986; Ortiz i sur., 1988).

Serotoniniski neuroni u središnjem živ anom sustavu okupljeni su u jezgrama rafe koje su smještene u moždanom deblu. Svaka od tih jezgara daje projekcije u odre ene dijelove mozga, a najzna ajnija je projekcija u neokorteks. Projekcije dijelom odlaze i u kralježni ku moždinu.



**Slika 1.9.** Serotonergični putevi u mozgu / slika preuzeta iz [www.wellspringchiro.com/ws3\\_serotonin](http://www.wellspringchiro.com/ws3_serotonin)

Za periferni 5-HT iznimno su važne enterokromafine stanice gastrointerstinalne sluznice koje sintetiziraju i otpuštaju dio 5-HT u krvotok. Na taj način 5-HT dospijeva putem krvi do trombocita (Wade i sur., 1996).

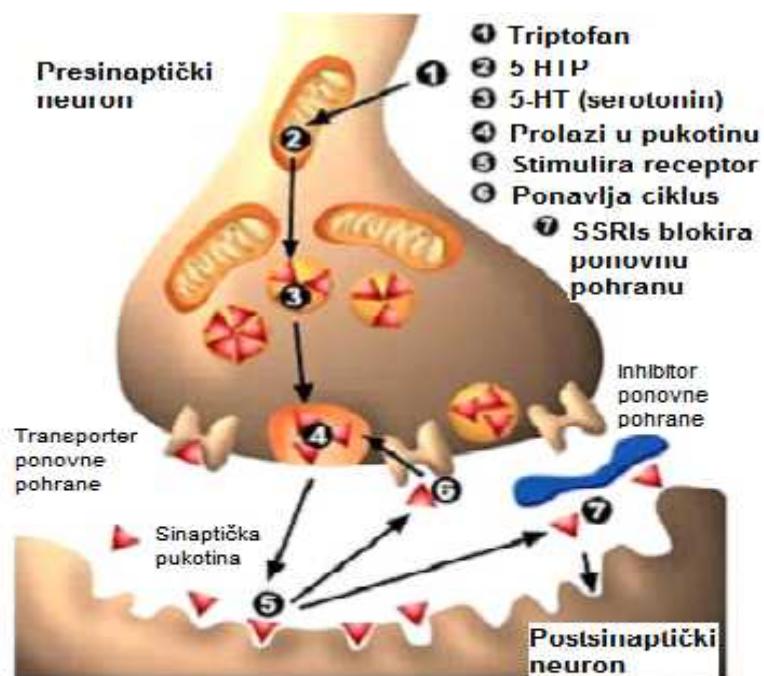
Središnji u inci 5-HT moduliraju raspoloženje (dakle afektivnost), reguliraju san, prijenos i osjet боли, seksualno ponašanje, hranjenje, endokrine funkcije (stimulacija sekrecije prolaktina, ACTH), krvni tlak i dr. (Sandler i sur., 1981; Hervig i sur., 1996; Trimble, 1996; Lucki, 1998; Stahl, 1998).

Periferni u inci 5-HT su važni za regulaciju zgrušavanja krvi, te u upalnim reakcijama. Serotonin izravno utječe na kontrakciju glatkih mišića, i stimulira peristaltiku crijeva.

Poremećaji mehanizama koji održavaju serotonininsku homeostazu mogu biti vezani uz različite somatske i duševne bolesti kao što su depresija, shizofrenija, psihoza, ovisnosti, prisilno obuzeti poremećaj, anoreksija, bulimija, migrene i druge (Trimble, 1996; Lucki, 1998; Stahl, 1998). Serotonin takođe ima važnu ulogu u procesima u enja, pažnje, pamjenju (Mattson i sur., 2004; Van Praag, 2004).

## 1.7 SEROTONIN KAO NEUROTRANSMITOR

Neurotransmitori su signalne molekule koje se sintetiziraju u presinaptičkim neuronima iz svojih prekursora pomoći enzima koji sudjeluju u toj sintezi. Te kemijske tvari služe za prijenos signala sljedeće oj inerviranoj stanici. Molekule neurotransmitora se nalaze pohranjene u mjeđuhiri imaju (presinaptičke vezikule) u presinaptičkom neuronu. Kada je neuron aktiviran, mali električni potencijal se širi duž njegove membrane, dosegavaći do presinaptičkog završetka i potiče praznjenje vezikula u sinaptičku pukotinu. Molekule neurotransmitora zatim stupaju u interakciju sa molekulama na površini ciljnog neurona koje selektivno i specifično prepoznaju. Takve receptivne molekule nazivaju se receptorima. Vezanjem za receptor neurotransmitor aktivira ciljni neuron, tj. prenosi informaciju. Kemijska signalizacija temelji se na četiri ključna procesa: sintezi, uskladištenju, vezanju za receptore i brzom uklanjanju molekula neurotransmitora iz sinaptičke pukotine.



**Shematska ilustracija pretvorbe 5-HTP-a u serotonin i SSRI-a mehanizma.**

1: Tryptofan ulazi u sustav. 2: Pretvara se u 5-HTP. 3: 5-HTP se pretvara u 5-HT (serotonin). 4: Serotonin prolazi kroz membranu u sinaptičku pukotinu. 5: 5-HT stimulira receptor. 6: 5-HT spojen s transportcrom ponovne pohranc ponovno ulazi u ciklus. 7: Inhibitori ponovne pohrane povčavaju nivo 5-HT-a u sinaptičkoj pukotini inhibirajući ponovnu pohranu serotoninina pomoću pre-sinaptičkog neurona SSRI-a= seletivni inhibitor ponovne pohranc serotoninina.

**Slika 1.10.** Shema serotonergi ne sinapse/slika preuzeta iz [www.vrp.com/grapics/](http://www.vrp.com/grapics/) ADDADHDFig1.jpg

Serotonin djeluje kao neurotransmitor u središnjem živom sustavu. Može djelovati kao ekscitacijski ili inhibicijski neurotransmitor. Serotonergi ki neuroni sintetiziraju 5-HT iz triptofana koji putuje duž aksona. Serotonin se može nalaziti u mjeđuima ili u citoplazmatskom odjeljku. U oba slučaja 5-HT je vezan za specifični protein SBP (prema engleskom "serotonin binding protein") i ta vezana forma spreava enzim monoaminoooksidazu (MAO) da ga razgradi. Akcijski potencijal koji prolazi duž aksona i uzrokuje ulazak kalcija u stanicu, dovodi do vezanja mjeđuima a za stani na membranu. Sadržaj se otpusti egzocitozom, a najveća količina 5-HT se vraća natrag aktivnim unosom.

## **1.8 SEROTONINSKI RECEPTORI**

Serotonin je neurotransmitor koji djeluje u interakciji sa svojim specifičnim receptorima. Do danas je poznato sedam različitih receptora: 5HT<sub>1</sub>, 5HT<sub>2</sub>, 5HT<sub>3</sub>, 5HT<sub>4</sub>, 5HT<sub>5</sub>, 5HT<sub>6</sub>, i 5HT<sub>7</sub>.

Skupina 5HT<sub>1</sub> je skupina receptora unutar koje postoji pet podtipova: 5HT<sub>1A</sub>, 5HT<sub>1B</sub>, 5HT<sub>1D</sub>, 5HT<sub>1E</sub>, i 5HT<sub>1F</sub>. Skupina receptora 5HT<sub>2</sub> se odlikuje podskupinama 5HT<sub>2A</sub>, 5HT<sub>2B</sub>, i 5HT<sub>2C</sub>. Većina receptora vezana je za G-proteine koji utječu na aktivnost adenilat-ciklaze ili fospholipaze. Dio receptora vezanih za G-proteine su Gs (stimulirajući G protein) i Gi (inhibirajući G protein). Skupina 5HT<sub>3</sub> je znana po tome što su joj receptori vezani za ionske kanale. Vezanjem 5-HT-a za 5HT<sub>3</sub> receptore, dolazi do otvaranja natrijevih kanala i ulaska natrija u stanicu nakon čega dolazi do depolarizacije postsinaptičke stanice ili inicijalizacije akcijskog potencijala.

S obzirom na smještaj neki 5-HT receptori su presinaptički, a neki postsinaptički. 5HT<sub>2A</sub> receptori su odgovorni za agregaciju trombocita i kontrakcije glatkih mišića, dok su za nadzor uzimanja hrane i apetita odgovorni 5HT<sub>2C</sub> receptori. U gastrointerstinalnom traktu nalaze se 5HT<sub>3</sub> receptori koji utječu na podražaj povraćanja i 5HT<sub>4</sub> receptori koji imaju veliku ulogu u regulaciji peristaltike i sekrecije. U limbičkom sustavu su smješteni receptori 5HT<sub>6</sub>, i 5HT<sub>7</sub> skupine. Inaktivacija 5-HT se događa u neuronima i gliji stanicama, a kao produkt nastaje 5-HIAA.

## **1.9 SEROTONIN I PONAŠANJE**

Serotonin je neurotransmitor koji je važan u nadzoru raznovrsnih ponašanja (Lucki, 1998; Stahl, 1998) koja su promijenjena u različitim poremećajima ličnosti i psihijatrijskim poremećajima (Coccaro i sur., 1996; Schmidt i sur., 1997; Twitchell i sur., 1998; Soloff i sur., 2000; Moeller i Dougherty, 2001). Serotonin takođe utječe na kognitivne funkcije, pa su promjene u serotoninском sustavu povezane s kognitivnim poremećajima, oštećenjima pamćenja, a posebice s povećanjem agresivnosti (Goveas i

sur., 2004). Smatra se da je 5-HT takođe važan za razvoj suicidalnog ponašanja (Mann, 1998; Mann, 2002; Mann, 2003). Suicidalno ponašanje esto se javlja u različitim psihijatrijskim bolestima koja su povezana sa smanjenim funkcioniranjem serotonininskog sustava (Dubovsky i Thomas, 1995; Mueller-Oerlinghausen i sur., 2004). Prepostavlja se da 5-HT takođe sudjeluje u nadzoru antisocijalnog i agresivnog ponašanja (Popova, 2006). Naime osobe koje pokazuju antisocijalno i agresivno ponašanjem imaju sniženu koncentraciju 5-HT u usporedbi s neagresivnim pojedincima (Coccaro i sur., 1989).

## 1.10 SEROTONIN I ADHD

Iako neurobiološka podloga ADHD nije u potpunosti objašnjena, prepostavlja se da su za etiologiju odnosno nastanak ADHD odgovorne promjene u funkcioniranju dopaminergi kog i noradrenergi kog sustava (Zametkin i Rapoport, 1987; Pliszka i sur., 1988; Biederman, 2005).

Prepostavlja se da je poremećajna funkcija dopaminergi kog sustava odgovorna za nastanak ADHD. Brojne teorije su prepostavile povezanost dopaminergi kih puteva u mozgu s pažnjom i funkcijama koje su promijenjene u ADHD. Povezanost dopamina s ADHD proizlazi iz injenice da tvari koje djeluju na taj način da povećavaju aktivnost dopamina poput amfetamina ili metilfenidata pojavljaju simptome ADHD (DiMaio i sur., 2003). Jednofotonska emisija kompjutorizirana tomografija (SPECT) pokazuje abnormalnosti u neuroanatomskim područjima bogatim dopaminergi kom inervacijom u djece s ADHD. Povećanjem dopaminergi ke aktivnosti u nukleusu akumbensu potiče se i impulzivnost.

Noradrenergi ki sustav je blisko povezan s višim kortikalnim funkcijama kao što su pažnja, pozornost, oprez i izvršne funkcije. Disfunkcije u frontalno-kortikalnim putevima koje se javljaju u osoba s ADHD, povezane su sa poremećajem regulacije noradrenergi ke funkcije. Poremećaji u regulaciji središnje noradrenergi ke mreže i podlogu patofiziologije ADHD (Arnsten i sur., 1996; Pliszka i sur., 1996). Hiperaktivnost

u ADHD je uzrokovana povećanjem središnjeg noradrenergi kog prijenosa (Kornetsky, 1970).

Osim navedenih neurotransmitora, radi kognitivnih promjena i oštećenja koja su karakteristična za ADHD, smatra se da važnu ulogu u nastanku ADHD ima i serotonergički sustav (Comings, 2001; Rothenberger i sur., 2004). Serotonergički sustav utječe na procese u enja i pamćenja (Van Praag 2004; Schmitt i sur., 2006), a uz to nadzire patološka ponašanja kao što je ekstremno nasilništvo, neprijateljstvo, impulzivnost i agresiju (Sarne i sur., 1995; Askenazy i sur., 2000; Dolan i sur., 2002; Goveas i sur., 2004), a to su sve procesi i ponašanja koja su promijenjena u ADHD.



**Slika 1.11.** Preklapanje funkcija i ponašanja koja su posredovana serotoninom, dopaminom i norepinefrinom /  
slika preuzeta iz [www.deplin.com/template/img/content\\_neurochar](http://www.deplin.com/template/img/content_neurochar)

Vezu između poremećaja dopaminergičkog sustava i ADHD se može pokazati neizravno, putem istraživanja napravljenih na eksperimentalnim životinjama. Iako ne

postoji animalni model za ADHD, hiperaktivnost se u životinja može izazvati na različite načine. U eksperimentalnih životinja, prijeđenu su ženke bile izložene nikotinu tj. dimu cigareta, pokazano je da u njihovom leglu postoji pozitivna korelacija između hiperaktivnosti i izlaganja nikotinu za vrijeme graviditeta (Fung i Lau, 1989; Van De Kamp i Collins, 1994; Thomas i sur., 2000).

## 1.11 TROMBOCITNI SEROTONIN

Trombociti su krvne pločice tj. malena bezbojna tjelešca bez jezgre. Imaju važnu ulogu u procesu zgrušavanja krvi jer je održavanje krvi u teku u stanju unutar krvotoka i zaustavljanje krvarenja prije oštete enju krvnih žila važan mehanizam za održavanje homeostaze organizma.

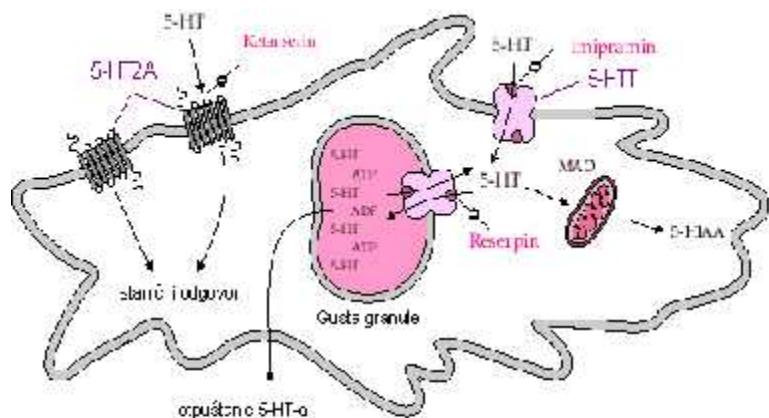
Krvne pločice nastaju u koštanoj srži prijeđenu se iz matičnih stanica megakarioblasta razvijaju promegakariociti, a zatim megakariociti koji su takođe i najveće stanice u koštanoj srži. Sazrijevanjem megakariocita i fragmentiranjem njihove citoplazme u koštanoj srži nastaju trombociti koji su najmanje cirkuliraju u krvne stanice. U cirkulirajućoj krvi nalaze se isključivo trombociti i njihovi životni vijek traje 7-10 dana.

Trombociti su diskoidalnog oblika promjera 2-4 μm, ne sadrže jezgru, endoplazmatski retikulum niti Golgijev aparat. Sastoje se od periferne zone (membrana, glikokaliks i otvoreni kanalizirani sustav), strukturalne zone (mikrofilamenti i mikrotubuli) i organela (lizosomi, mitohondriji, glikogeni, gusti tubularni sustav, gusta tjelešca, A-granule alfa). Trombociti su okruženi omotačem koji sadrži glikoproteine, uključujući i intergrine, koji su ključni za adheziju i agregaciju. Adhezija je proces kod kojeg se prilikom oštete enja endotela krvnih žila na bazalnu membranu lijepe trombociti. Agregacija je proces pri kojem se na mjestu oštete enja krvne žile nakupljaju trombociti tvoreći trombocitni ugrušak. Ispod omotača nalazi se plazmatska membrana s invaginacijama koje povećavaju dostupnu površinu za adsorbciju koagulacijskih proteina. Citoskelet je izgrađen od brojnih aktinskih filamenta koji su međusobno povezani. Zadatom citoskeleta je izgradnjom i održavanjem diskoidalne strukture trombocita. U

unutrašnjosti trombocita (citoplazmi) nalaze se alfa granule i guste granule. Najviše ima alfa granula koje sadrže glikoproteine, imbenik rasta trombocita, fibrinogen i druge imbenike zgrušavanja. Guste (delta) granule sadrže ione kalcija, serotonin, ATP i ADP potreban za agregaciju trombocita. Delta granule otpuštaju svoj sadržaj nakon adhezije trombocita.

Uz 5-HT neurone i enterokromafine stanice, trombociti spadaju u stanice najbogatije serotoninom. Iako se trombociti anatomska, funkcionalno i ontogenetski razlikuju od živanih stanica, elementi trombocitnog serotonininskog sustava su gotovo identični onima u serotonergnim neuronima. Sličnosti između neurona i trombocita postoje u sledećem unisu 5-HT-a u trombocite odnosno u ponovnom unisu u neurone, slijedim procesima pohrane i otpuštanju 5-HT. Trombociti i neuroni dijele monoaminoooksidazu tipa B, 5-HT transportere (Lesch i sur., 1994), 5HT<sub>2</sub> receptore (Andres i sur., 1993),  $\alpha_2$ -adrenergične receptore i vezna mjesta za <sup>3</sup>H-imipramin, <sup>3</sup>H-paroksetin i <sup>3</sup>H-LSD. Razlika je u tome što trombociti nemaju jezgru, ne provode električne impulse, imaju kratki životni vijek i ne sintetiziraju 5-HT (Lesch i sur., 1994). Po podrijetlu trombociti potječu iz mezoderma, a neuroni iz ektoderma.

Trombocitni 5-HT dolazi u trombocite iz crijeva jer trombocit ne posjeduje ključni enzim za sintezu 5-HT, a to je enzim triptofan hidroksilaza. Serotonin se pomoći prijenosnog proteina tj. serotonininskog prijenosnika ili transportera (SERT ili 5-HTT) unosi u unutrašnjost trombocita (Fuller, 1986). Trombocitni 5-HT sintetizira se u enterokromafinim stanicama sluznice tankog crijeva. U visokim koncentracijama 5-HT se nalazi u trombocitnoj citoplazmi tj. u gustim zrncima ili delta granulama. One su praktički neprozirne za elektronski snop mikroskopa pa su zato i dobile naziv gusta zrnca. U trombocitima susrećemo elemente serotonininskog sustava kao što su enzim monoaminoooksidaza (MAO-B), serotoninски receptor, serotonininski transmembranski prijenosnik (5-HTT) i sam 5-HT koji je pohranjen u gustim zrncima.



5-HT = transporter sekciona  
5-HIAA = receptor serotonina (odgovorno za promjenu oblika trombocita i po ovu agregacije)

**Slika 1.12.** Shema trombocitnog serotoninina

Proces nakupljanja 5-HT u trombocitu ide preko dva prijenosnika. Proteinski 5-HT prijenosnik tj. 5HTT se nalazi na membrani trombocita i posreduje unos 5-HT iz krvne plazme u unutrašnjost trombocita (Kema i sur., 2000). Za aktivni unos 5-HT u trombocite nije dovoljan samo 5-HTT već i ioni klora i natrij-kalijeve ATP-aze. Energiju osigurava ionski gradijent natrijevih i kalijevih iona. Drugi prijenosnik je vezikularni (nespecifični proteinski) prijenosnik koji se nalazi na membrani gustih (delta) granula. Taj prijenosnik posreduje unos serotoninina iz trombocitne citoplazme u delta granule (Pletscher, 1987). Za ovaj drugi stupanj unosa, osim vezikularnog prijenosnika potrebne su i vodikove pumpe i ATP. Serotonin ulazi u granule u zamjenu za vodikove ione koje vodikova ATP-aza ubacuje iz okolne citoplazme. Na membrani trombocita nalazi se i serotoniniski receptor 5-HT<sub>2A</sub> tipa koji nakon vezanja za 5-HT inducira promjenu oblika trombocita i pojava agregacije trombocita. Trombociti imaju i sposobnost otpuštanja 5-HT putem egzocitoze. To se događa za vrijeme aktivacije trombocita tijekom procesa zgrušavanja.

Istraživanjem elemenata trombocitnog serotonininskog sustava bave se različite medicinske discipline, ali najveći dio istraživanja provodi se u području neuroznanosti, i

to posebice u podruju biološke psihijatrije, zbog lake dostupnosti trombocita i elemenata serotoninorskog sustava i njihovog korištenja u smislu perifernog modela za analogue sinaptičke strukture (Pletscher, 1968; Stahl, 1985; Da Prada i sur., 1988; Andres i sur., 1993; Hrdina, 1994; Camacho i Dimsdale, 2000). U prilog trombocitnom modelu govori strukturalna sličnost modela 5-HTT, 5-HT<sub>2A</sub> receptora, enzima monoaminooksidaze tipa B u neuronima i trombocitima (Stahl, 1985; Da Prada i sur., 1988; Andres i sur., 1993; Hrdina, 1994). Valjanost trombocitnog modela ograničava odsutnost jezgre u trombocitu i mogućnost različite regulacije transkripcije gena u mozgu i perifernim tkivima (Austin i sur., 1994).

Međutim, budući da je u ispitanika možak teško dostupan materijal, trombociti se koriste kao lako dostupan ograničeni periferni model za središnje serotonergične neurone, i to upravo zato što i trombociti i serotonergični sinaptosomi dijele slične biokemijske procese (Stahl, 1985; Andres i sur., 1993; Camacho i Dimsdale, 2000; Mueller-Oerlinghausen i sur., 2004).

Treba istaknuti da trombociti, za razliku od neurona, ne mogu sintetizirati 5-HT, već akumuliraju 5-HT koji je bio sintetiziran u enterokromafinim stanicama sluznice tankog crijeva putem portalnog sustava. Naime, iako postoje metode koje nam mogu dati uvid u procese koji se dešavaju u središnjem životnom sustavu, kao što su funkcionalne "imaging" tehnike, "jednofotonska emisijska kompjutorizirana tomografija" ili (SPECT), "pozitronska emisijska tomografija (PET)", "funkcionalna magnetska rezonancija (fMRI)", "kompjutorska tomografija (CT)" (Wong i Van Tol, 2003), te metode su komplikirane, zahtjevaju skupocjenu opremu i određenu pripremu ispitanika, injiciranje kratko životnih radioizotopa, te su radi toga nepogodne za znanstvena istraživanja. Radi toga se koriste neurokemijska i genetska istraživanja, koja nam mogu ponuditi uvid u funkcioniranje raznih neurotransmitora kao što je 5-HT. Neurokemijske metode koriste biomarkere, odnosno određene biološke molekule koje se mogu koristiti za preklinička istraživanja, za dijagnostiku, za predviđanje određenih ponašanja te za pravljene terapijskih odgovora.

## **2 CILJ ISTRAŽIVANJA**

ADHD je klinički izrazito heterogeni psihijatrijski poremećaj, uzrokovani interakcijom različitih imbenika (bioloških, genetskih, okolišnih), koji se često javlja u djece, adolescenata, a rjeđe i u odraslih. ADHD uzrokuje mnoštvo problema u socijalnom funkcioniranju, odnosima u obitelji i problema u školovanju. ADHD je poremećaj u kojem dominiraju tri karakteristične skupine simptoma: nepažnja, hiperaktivnost i impulzivnost. Uzroci ADHD uključuju nasljedne imbenike, poremećaje funkcioniranja mozga, neurobiološke imbenike, socijalne poremećaje, poremećaje obiteljske odnose i emocionalne probleme. Neurobiološka podloga ADHD nije potpuno jasna, no smatra se da je sigurno povezana s poremećajima u funkcioniranju raznih neurotransmitorskih sustava kao što su dopamin i noradrenalin. Budući da se kod ADHD često javljaju različiti kognitivni poremećaji i poremećaji pažnje, koncentracije, učenja i pamćenja, pretpostavlja se da i serotonin ima ključnu ulogu u nastanku ADHD. Osim navedenog, djeca koja boluju od ADHD su često agresivna i impulzivna, a i agresija i impulzivnost su ponašanja posredovana prvenstveno serotoninskim sustavom. Serotonin ima važnu ulogu u regulaciji različitih fizioloških i patoloških oblika ponašanja i funkcija, procesa učenja i pamćenja, no on i nadzire ekstremna ponašanja kao što su nasilje, neprijateljstvo, impulzivnost i agresiju, a to su sve ponašanja koja su promijenjena u ADHD.

Istraživanje serotoninske funkcije u osoba s ADHD su povezana s raznim metodološkim i etičkim problemima, jer bi za uvid u promjene funkcioniranja serotoninskog sustava u središnjem životnom sustavu trebalo istražiti možak ili cerebrospinalni tekućinu i to pomoću invazivnih, skupih i komplikiranih tehniki. Stoga se u oboljelih od ADHD koriste periferni pokazatelji, a međutim smo mi izabrali periferne serotoninske pokazatelje u trombocitima. Trombociti se koriste kao lako dostupan organ za periferni model za središnje serotonergične neurone jer trombociti i serotonergični sinaptosomi dijele slične biokemijske procese (Stahl, 1985; Andres i sur., 1993; Camacho i Dimsdale, 2000; Mueller-Oerlinghausen i sur., 2004).

Koncentracija trombocitnog serotonina istraživana je u oboljelih od ADHD, no za sada nema jednozna nih podataka o tome je li koncentracija trombocitnog 5-HT snižena, povišena ili nepromijenjena u ADHD.

Budući da je pokazano kako je koncentracija trombocitnog 5-HT promijenjena u osoba s agresivnim i impulzivnim ponašanjem, hipoteza ovog rada bila je da će koncentracija trombocitnog 5-HT biti promijenjena u djece s ADHD. Cilj ovog rada bio je odrediti koncentraciju trombocitnog 5-HT u djece s ADHD, i usporediti vrijednosti trombocitnog 5-HT s vrijednostima 5-HT u trombocitima kontrolne zdrave djece. Naime, ako se pretpostavka ovog rada pokaže tonom (a to je da se koncentracija trombocitnog 5-HT razlikuje između oboljelih od ADHD i odgovarajućih zdrave kontrolne skupine), tada bi se moglo uvesti određivanje jednog lako dostupnog perifernog pokazatelja ADHD, a to je određivanje koncentracije trombocitnog 5-HT, i na taj način pomoći u dijagnostikom postupcima te bolesti.

### **3 MATERIJALI I METODE**

#### **3.1 SKUPINE ISPITANIKA**

U studiju smo uključili 79 djece koja su razvila ADHD koji je bio dijagnosticiran putem Dijagosti kog i statisti kog priručnika za mentalne poremećaje, a to je priručnik kojeg je izdalo američko psihijatrijsko društvo 1994. godine. ADHD je bila primarna dijagnoza koja je dijagnosticirana putem strukturiranog kliničkog intervjeta, prema kriterijima postavljenim u Dijagosti kom i statisti kom priručniku za mentalne poremećaje, IV revizija (Diagnostic Statistical Manual, DSM-IV, American Psychiatric Association, 1994). Bolesna djeca nisu primala nikakve psihotropne lijekove prije uzimanja krvi. Svi su sudionici studije dali svoj informirani pristanak za sudjelovanje u studiji. ADHD je bio prvi problem u kliničkom intervjetu, fizikalnim pregledom i putem Conners-ove skale za roditelje i učitelje (Conners, 1998). Svi su uzorci sakupljeni od djece koja su došla radi smetnji izazvanih ADHD-om u Polikliniku Kocjan/Hercigonja, u Zagrebu. Prof.dr.sc. Dubravka Kocjan Hercigonja, psihijatrica s bogatim iskustvom u psihijatrijskim poremećajima djece i adolescenata, je postavila dijagnozu ADHD prvi u kliničkom intervjetu s djecom i posebno sa roditeljima, te dobila potvrdu o pristanku za varenje krvi. Roditelji su bili potpuno obaviješteni o cilju studije i aktivno su sudjelovali u studiji. Djeca su bila gradskog porijekla, išla su u vrtić ili škole i ni jedno dijete nije dolazilo iz razorenih obitelji. Sva su djeca imala oba roditelja. ADHD je kod djece uzrokovalo mnoštvo problema u školi i u socijalnom funkcioniranju. U skupinu djece nisu bila uključena ona djeca koja su bolovala od drugih psihijatrijskih bolesti kao što su komorbidna depresija, shizofrenija, i druge.

Kriteriji za uključivanje u studiju:

- dijagnoza ADHD

Za postavljanje dijagnoze prema DSM IV trebali su biti zadovoljeni određeni kriteriji:

A)

6 ili više od ukupno 9 karakteristika za nepažnju

6 ili više za hiperaktivnost i nepažnju od ukupno 6 za hiperaktivnost i 3 za nepažnju

B)

smetnje su morale nastati prije 7 godine života

C)

oštećenje kao posljedica simptoma javlja se u dvije ili više sredina

D)

jasni znakovi socijalnog, akademskog ili radnog funkcioniranja

E)

ne javljaju se u sklopu nekog drugog poremećaja

Kriteriji za isključivanje iz studije:

- Prijašnja terapija s antidepresivima koji mogu utjecati na koncentraciju trombocitnog 5-HT (Muck Šeler i sur., 2002; Pivac i sur., 2003; Muck Šeler i sur., 2005).

Od 79 djece, 77 nije primalo nikakve lijekove u vrijeme uzimanja krvi, dok su 2 dječaka dobivali karbamazepin.

Kontrolna skupina ispitanika: u kontrolnoj skupini uključeno je 30 zdrave djece, koja su bila odgovarajuća po godinama, i koja nisu patila od psihijatrijskih poremećaja.

Svi su roditelji potpisali informirani pristanak za sudjelovanje u studiji. Etički odbor je odobrio ova istraživanja.

### **3.2 ODRE IVANJE SEROTONINA U TROMBOCITIMA**

Djeci kojoj je dijagnosticiran ADHD uzeta je 4 ml krvi iz kubitalne vene u plastičnu špricu s 1 ml antikoagulansa acid citrat dekstroza (ACD). Na sobnoj temperaturi krv se centrifugira na 950 g x 30 s. Dobivena plazma bogata je trombocitima (prema eng. «platelet-rich-plazma (PRP)»). U pothlađenju (+ 4°C) centrifugi na 10.000 x g 5 min provodi se daljnje centrifugiranje plazme bogate trombocitima. Rezultat tog centrifugiranja su sedimentirani trombociti. Talog se ispira fiziološkom otopinom i ponovno centrifugira. Sedimentirani trombociti smrznu se na - 20°C i pohrane prije postupka odreivanja koncentracije 5-HT. Trombociti ne smiju biti pohranjeni u zamrzivaču duže od 7 dana.

Koncentracija trombocitnog 5-HT određuje se pomoću spektrofluorimetrijske metode (Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 2001). Ukratko, trombociti se razbijaju u sonikatoru (20 kHz, amplituda  $8 \times 10^{-3}$  mm kroz 30 sek). Sonikati trombocita, uzorci standarda i slijepo probe (blank) koju ini deionizirana voda analiziraju se u duplikatu. Svi se uzorci deproteiniziraju s 1 ml 10% ZnSO<sub>4</sub> i 0.5 ml NaOH. U deproteinizirane uzorce za pripremu fluorofora dodaje se 0.2 ml L-cisteina (0.1%) i 1.2 ml ortoftalaldehida (0.05%). Tim postupkom pomaknut je maksimum fluorescencije i ekscitacije na višu valnu duljinu. To je veoma važno jer se tako razlikuje od interferirajućih spojeva koji fluoresciraju pri istim valnim duljinama. Mjerjenje 5-HT fluorescencije provodi se na Varian Cary Eclipse spektrofluorimetru pri valnim duljinama 345/485, a koncentracija trombocitnih proteina metodom po Lowry-ju (Lowry i sur., 1951).

**POSTUPAK ODRE IVANJA 5-HT:** Na talog trombocita doda se 1.5 ml deionizirane vode (Q H<sub>2</sub>O). Dignuti talog se dobro izmiješa u ciklomikseru, a nakon toga uzorak se sonicira u sonikatoru po 30 sekundi. Plastične epruvete se označe, a zatim se u njih dodaje 1.2 ml sonikata ili 1.2 ml standarda ili 1.2 ml deionizirane vode (slijepa proba ili blank). U svaku epruvetu (blank, standard, uzorci) dodaje se 1 ml ZnSO<sub>4</sub>, dobro izmiješa

u ciklomikseru, zatim se dodaje 0.5 ml NaOH (pohranjena na sobnoj temperaturi) i opet se sve izmiješa u ciklomikseru. Nakon što su uzorci odstajali 5 minuta, centrifugiraju se 10 min na 10 000 rpm (Centrifuga Sorwall, na + 4°C). Iznad taloga nalazi se supernatant od kojeg uzmem po 2 ml u staklene duga ke epruvete. Na supernatant dodaje se 0.2 ml L-cisteina (0.1 % otopina u 0.1 N HCl), 1 ml OPT (0.05% otopina u 10 N HCl) i kuha 10 minuta u kipu oj vodi (100°C). O itavanje se vrši na Varian Cary Eclipse spektrofluorimetru pri valnim duljinama 345 nm / 485 nm.

**PRIPREMA STANDARDA:** mati na (stock) otopina sadrži :

0.1 ml + 9.9 ml Q H<sub>2</sub>O      2000 ng/ml

2.5 ml + 7.5 ml Q H<sub>2</sub>O      500 ng/ml

4      +      4      = 250 ng/ml

3      +      3      = 125 ng/ml

2      +      2      = 63 ng/ml

**POSTUPAK:**

**PRIPREMENJE OTOPINA:**

- 1.5 ml Q H<sub>2</sub>O                          10% ZnSO<sub>4</sub>      5 g ZnSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O u 50 ml QH<sub>2</sub>O
- soniciranje
- 1.2 ml sonikata                          1 N NaOH      4 g NaOH u 10 ml QH<sub>2</sub>O
- 1.0 ml ZnSO<sub>4</sub>
- 0.5 ml NaOH                                  0.1 % L-cistein      10 mg cisteina u 10 mg
- 5' stoji                                          0.1 N HCl
- 10' 1000 rpm
- 2.0 ml supernatanta                          0.05% OPT      u 50 ml 10 N HCl otopi se
- 0.2 ml L-cistein                                  25 mg OPT-a
- 1.0 ml OPT
- 10' kuhati u H<sub>2</sub>O (100°C)
- mjerjenje 345 nm / 485 nm

### **3.3 ODRE IVANJE PROTEINA (po Lowryju)**

Standardi:

0.2 ml stocka + 0.2 ml 0.1 N HCl (25 µg)  
0.2 ml + 0.2 ml 0.1 NHCl (12.5 µg)  
0.2 ml + 0.2 ml 0.1 NHCl (6.25 µg)

ABC smjesa:

100 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>  
1 ml CuSO<sub>4</sub> (2)  
1 ml K-Na-tartarat (1)

POSTUPAK:

U svaku epruvetu se stavi 10 µl uzorka ,a na to se doda 2 ml ABC smjese. Smjesa se ostavi stajati 10 minuta,a zatim se doda 0.2 ml folina (1:1). Nakon 30 minuta spektrofotometrijski se mjeri apsorbancija pri valnoj duljini od 700 nm.

### **3.4 TEHNI KA POMAGALA**

Varian Cary Eclipse spectrofluorimetar

Elektronska vaga (PB 3002-S Delta range, Mettler – Toledo)

Centrifuge (5804 R Eppendorf, MiniSpin Eppendorf)

Vortex mješalica (Heidolph)

Hladnjak (- 4°C)

Zamrziva (- 20°C)

Magnetska mješalica (heldolph)

### **3.5 STATISTIKA OBRADA PODATAKA**

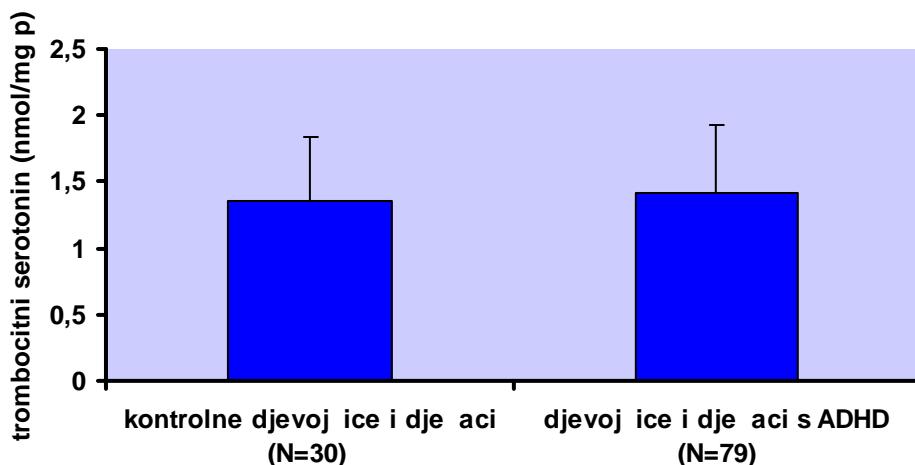
Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti  $\pm$  standardna devijacija (SD). Statistička obrada dobivenih podataka napravljena je pomoću jednosmjerne analize varijance (ANOVA), nakon koje je za usporedbu između pojedinačnih skupina korišten Student Newman Keuls test multiple komparacije podataka. Korelacija između pojedinih parametara određena je pomoću Pearsonovog koeficijenta korelacije. Značajnost rezultata je prihvaćena kod  $p < 0.05$ . Statistička analiza podataka je provedena pomoću statističkog programa SigmaStat 2.0 (Jandell scientific Corp., San Raphael, California, SAD).

## 4 REZULTATI

### 4.1 KONCENTRACIJA TROMBOCITNOG SEROTONINA U DJECE S ADHD I U KONTROLNE DJECE

Slika 1. prikazuje koncentraciju trombocitnog 5-HT u djece s ADHD i u kontrolne djece. Koncentracija trombocitnog 5-HT nije se razlikovala između skupina djece s ADHD i kontrolne djece. Naime, jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) je pokazala kako nema značajne ( $F=0.264$ ;  $df=1,107$ ;  $p=0.609$ ) razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT između djece s ADHD i kontrolne djece.

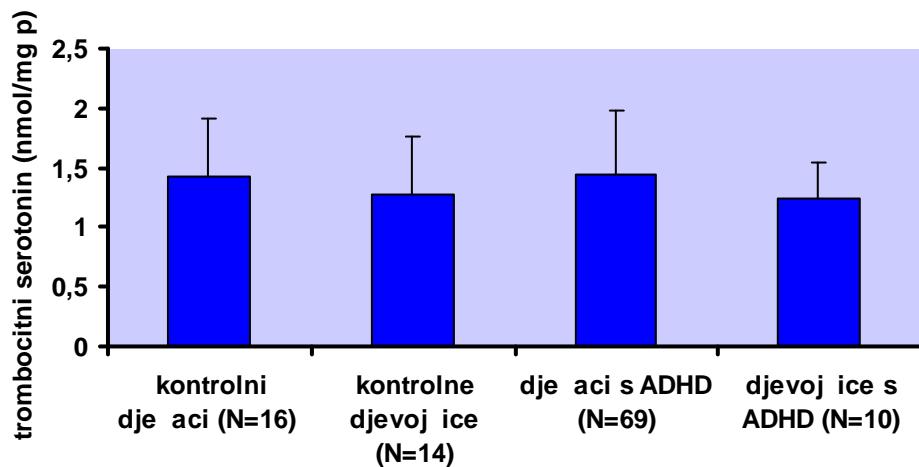
**Slika 4.1. Koncentracija trombocitnog serotoninina u djece s ADHD i u kontrolne djece**



### 4.2 KONCENTRACIJA TROMBOCITNOG SEROTONINA U DJE AKA I DJEVOJICA S ADHD I U KONTROLNIH DJE AKA I DJEVOJICA

Koncentracija trombocitnog 5-HT u djeaka i djevojica s ADHD i u kontrolnih djeaka i djevojica prikazana je na slici 2. Kad su djeca bila podijeljena prema spolu, koncentracija trombocitnog 5-HT nije se razlikovala između djeaka i djevojica s ADHD i kontrolnih djeaka i djevojica. Jednosmjerna ANOVA je pokazala kako nema značajne ( $F=0.745$ ;  $df=3,105$ ;  $p=0.528$ ) razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT između djeaka i djevojica s ADHD i u kontrolnih djeaka i djevojica.

**Slika 4. 2. Koncentracija trombocitnog serotonina u djeaka i djevojica s ADHD i kontrolnih djeaka i djevojica**

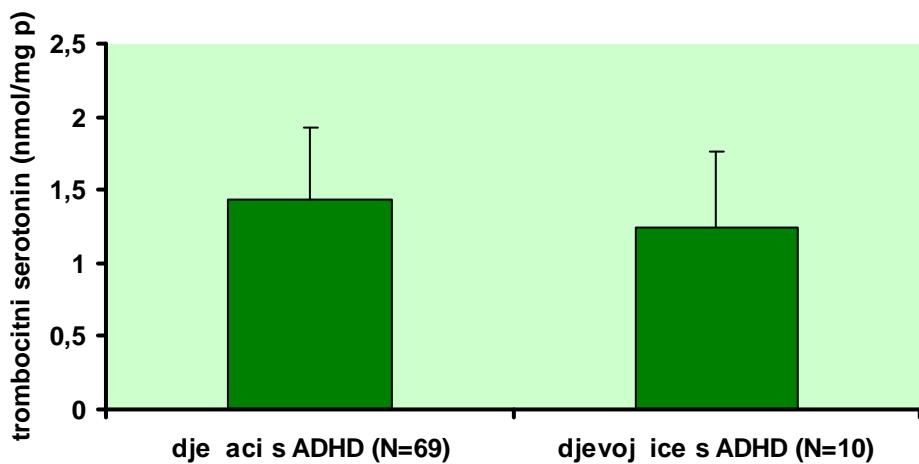


#### **4.3 KONCENTRACIJA TROMBOCITNOG SEROTONINA U DJEAKA I DJEVOJICA S ADHD**

U odraslih osoba postoji spolom izazvana razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između muških i ženskih ispitanika. Kako se u ovom istraživanju nije da postoji određena razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između djeaka i djevojica s ADHD, dakle razlike koje su uzrokovane spolom ispitanika, izmjerili smo koncentraciju trombocitnog 5-HT u djeaka i djevojica s ADHD i te su vrijednosti prikazane na slici 3. Kad su djeca bila podijeljena prema spolu, koncentracija trombocitnog 5-HT nije se razlikovala unutar djece s ADHD tj. između djeaka i djevojica s ADHD. Jednosmjerna ANOVA je

pokazala kako nema zna ajne ( $F=1.248$ ;  $df=1,77$ ;  $p=0.267$ ) razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT izme u dje aka i djevoj ica s ADHD.

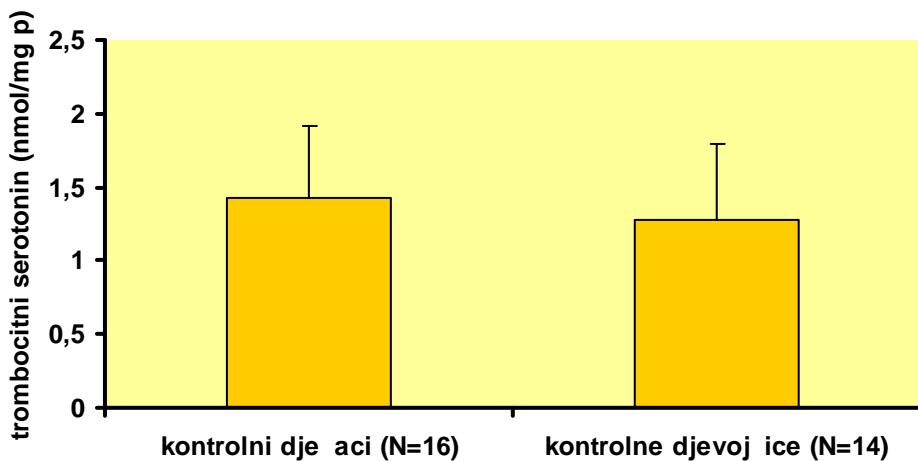
**Slika 4.3. Koncentracija trombocitnog serotonina u dje aka i djevoj ica s ADHD**



#### **4.4 KONCENTRACIJA TROMBOCITNOG SEROTONINA U KONTROLNIH DJE AKA I DJEVOJ ICA**

Tako er smo željeli istražiti postoji li razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT izme u kontrolnih zdravih dje aka i djevoj ica. Kako bi odredili moguće razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT koje su uzrokovane spolom ispitanika, izmjerili smo koncentraciju trombocitnog 5-HT u kontrolnih ispitanika, dakle u kontrolnih dje aka i djevoj ica. Slika 4. prikazuje koncentraciju trombocitnog 5-HT u kontrolnih dje aka i djevoj ica. Nije bilo razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT izme u kontrolnih dje aka i djevoj ica. Jednosmjerna ANOVA je pokazala kako nema zna ajne ( $F=0.751$ ;  $df=1,28$ ;  $p=0.393$ ) razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT izme u kontrolnih dje aka i djevoj ica.

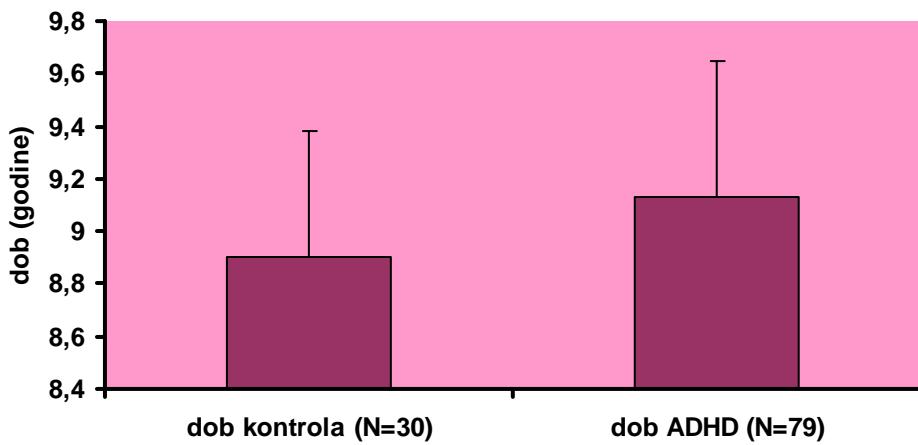
**Slika 4.4. Koncentracija trombocitnog serotonina u kontrolnih dječaka i djevojčica**



## **4.5 GODINE ŽIVOTA (DOB) U DJECE S ADHD I U KONTROLNE DJECE**

Slika 5. prikazuje dob u djece s ADHD i u kontrolne djece. Ime u skupina djece s ADHD i kontrolne djece nije bilo razlike u dobi (prikazane u godinama života). Naime, jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) je pokazala kako nema značajne ( $F=0.187$ ;  $df=1,107$ ;  $p=0.666$ ) razlike u starosti između djece s ADHD i kontrolne djece.

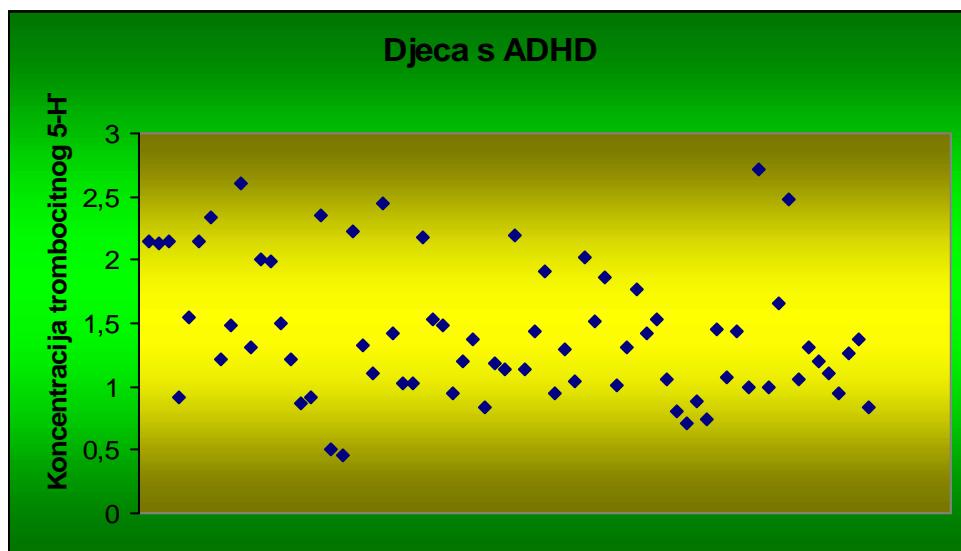
**Slika 4.5. Godine života(dob) u djece s ADHD i u kontrolne djece**



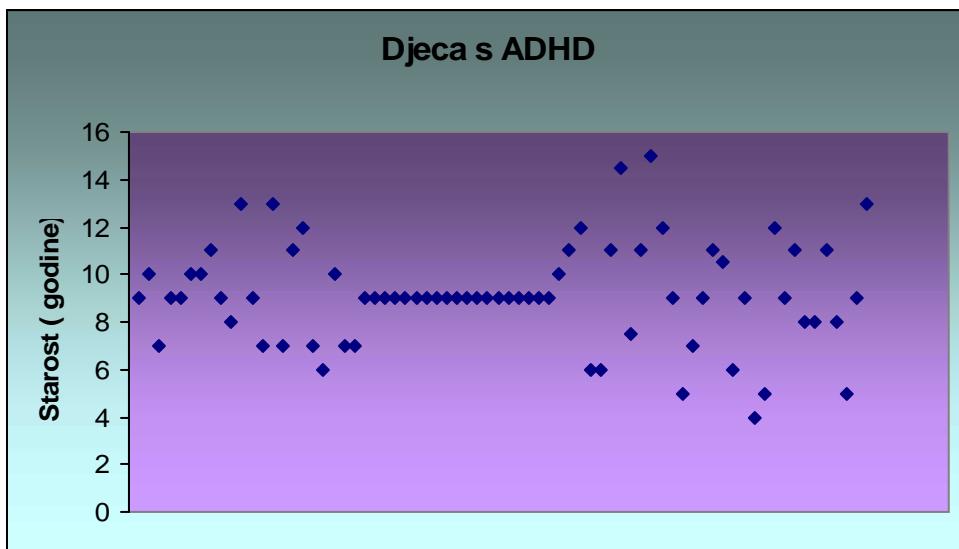
## **4.6 KORELACIJA IZME U DOBI I KONCENTRACIJE TROMBOCITNOG SEROTONINA U DJECE S ADHD**

Tako er smo željeli istražiti postoji li korelacija (povezanost) izme u koncentracije trombocitnog 5-HT i dobi kod djece s ADHD. Tu smo korelaciju odredili pomo u Pearsonovog koeficijenta korelacijske. Slika 6. prikazuje individualne vrijednosti za trombocitni 5-HT u djece s ADHD, dok slika 7. prikazuje individualne vrijednosti za dob u djece s ADHD. Nije bilo zna ajne korelacijske izme u koncentracije trombocitnog 5-HT i dobi kod djece s ADHD. Pearsonov test korelacijske pokazao je da ne postoji zna ajna ( $r=-0.143$ ;  $p=0.230$ ) povezanost ( korelacija) izme u koncentracije trombocitnog 5-HT i dobi kod djece s ADHD.

**Slika 4.6. Individualni podaci za vrijednosti trombocitnog serotoninina u djece s ADHD**



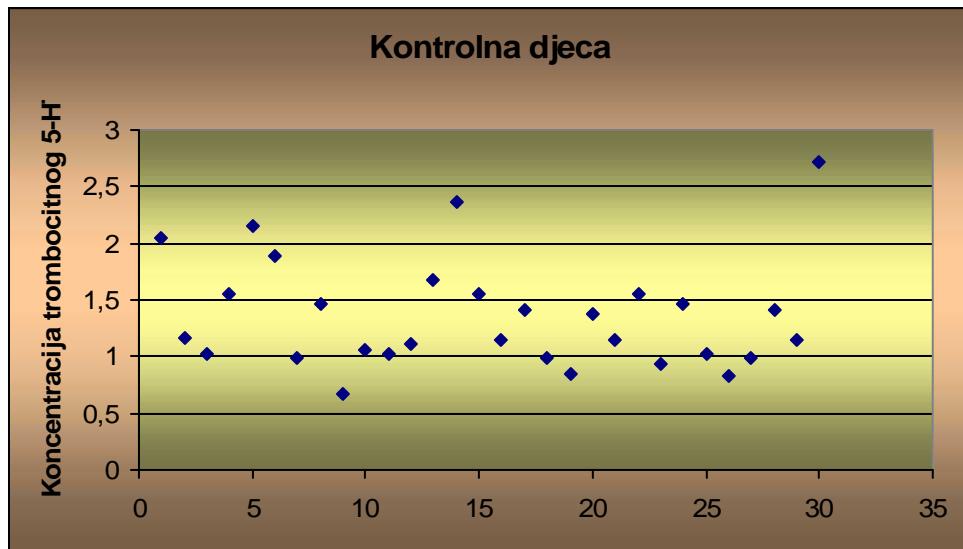
**Slika 4.7. Individualni podaci za dob u djece s ADHD**



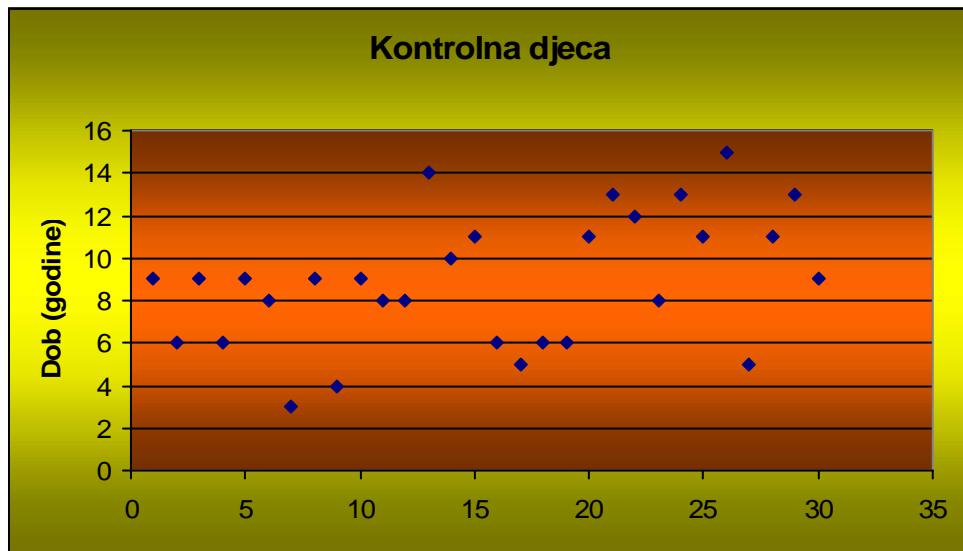
#### **4.7 KORELACIJA IZME U DOBI I KONCENTRACIJE TROMBOCITNOG SEROTONINA U KONTROLNE DJECE**

Istražili smo korelaciju izme u koncentracije trombocitnog 5-HT i dobi kod kontrolne djece. Slika 8. prikazuje individualne vrijednosti za trombocitni 5-HT u kontrolne djece, dok slika 9. prikazuje individualne vrijednosti za dob u kontrolne djece. Nije bilo zna ajne korelacije izme u koncentracije trombocitnog 5-HT i dobi kod kontrolne zdrave djece. Pearsonov test korelacije pokazao je da ne postoji zna ajna ( $r=0.217$ ;  $p=0.249$ ) povezanost (korelacija) izme u koncentracije trombocitnog 5-HT i dobi kod kontrolne djece.

**Slika 4.8. Individualni podaci za vrijednosti trombocitnog serotonina u kontrolne djece**



**Slika 4.9. Individualni podaci za dob u kontrolne djece**



## **5 RASPRAVA**

### **5.1 KONCENTRACIJA TROMBOCITNOG SEROTONINA U DJECE S ADHD I U ZDRAVE DJECE**

Rezultati ove studije, provedenoj na pažljivo odabranim skupinama muške i ženske djece oboljele od ADHD poreme aja i zdrave (kontrolne) djece, pokazali su da nema zna ajne razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT izme u djece s ADHD poreme ajem i zdrave djece. Naši su rezultati uskla eni sa podacima istraživanja koji isti u sli nu koncentraciju 5-HT kod djece s ADHD prem kontrolnoj djeci (Cook i sur., 1995; Unis i sur., 1997; Hercigonja-Novkovi i sur., 2009), ili sa nepromijenjenim omjerom serotonina i trombocita kod bolesnika s ADHD poreme ajem u usporedbi s kontrolnim ispitanicima (Comings, 1993).

Iako je poznato da 5-HT utje e na antisocijalno i agresivno ponašanje (Goveas i sur., 2004; Popova, 2006), te da se koncentracija trombocitnog 5-HT može koristiti kao pokazatelj promijenjenog ponašanja (Goveas i sur., 2004), naši rezultati nisu bili uskla eni s promijenjenom koncentracijom trombocitnog 5-HT u agresivnih ispitanika (Goveas i sur., 2004). Me utim, nedavno je pokazano kako se koncentracija trombocitnog 5-HT ne razlikuje izme u djece s ADHD podijeljene prema podtipu ADHD na one sa nepažnjom, hiperaktivnoš u ili kombiniranim podtipom ADHD (Hercigonja-Novkovi i sur., 2009). Ti podaci, s našim podacima, upu uju na pretpostavku da razli iti podtipovi ADHD, ili sama dijagnoza ADHD, nije vezana za promijenjenu koncentraciju trombocitnog 5-HT. Rezultati naše studije ne slažu se s podacima istraživanja koji su pokazali da se u djece s ADHD javlja niža koncentracija trombocitnog 5-HT u odnosu na kontrolnu djecu (Comings, 1993), ili s izvješ imo koja pokazuju snižene (Rapoport i

sur., 1974), ali i poveane (Rogeness i sur., 1992) pokazatelje periferne funkcije 5-HT kod ADHD poremećaja.

Neslaganja u nalazima povezana s trombocitnim 5-HT sadržanim kod ADHD poremećaja mogu biti objašnjena različitim utjecajem rase i etnološkog podrijetla na koncentraciju trombocitnog 5-HT, prethodno otkovanim kod psihijatrijskih pacijenata predpubertetske dobi i kod zdrave djece (Pfeffer i sur., 1998). Kako bi kontrolirali te imbenike koji mogu utjecati na koncentraciju trombocitnog 5-HT, u našim istraživanjima su djeca bila iste rase (bijelci) i istog etnološkog podrijetla. Izostanak otkrivanja značajnih razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između kontrolne djece i djece s ADHD poremećajem može biti povezan sa smanjenom snagom statističkih testova upotrijebljenih u statistici koj obradi podataka, budući da je naše istraživanje uključivalo manji broj (N=30) kontrolne djece.

Na trombocitni 5-HT mogu utjecati i drugi različiti imbenici kao što su dob, spol, godišnje doba, dužina dnevnog svijetla, korištenje lijekova, pušenje i različite komorbidne psihijatrijske dijagnoze i patološka ponašanja. U odraslih osoba godišnja doba ne utječe na koncentraciju trombocitnog 5-HT (Jakovljević i sur., 1997), tako da je potencijalni sezonski utjecaj na koncentraciju trombocitnog 5-HT isključen. U tom istraživanju pokazano je kako zdravi ispitanici imaju približno jednaku koncentraciju trombocitnog 5-HT za vrijeme različitih sezona (Jakovljević i sur., 1997). No i dužina dnevnog svijetla može utjecati na koncentraciju trombocitnog 5-HT (Ljubić i sur., 2007). U zdravim ispitanika taj je u inak dnevnog svijetla pokazan samo kod zdravih odraslih muškaraca, dok kod zdravih odraslih žena nema znacajnog utjecaja dnevnog svijetla na koncentraciju trombocitnog 5-HT (Ljubić i sur., 2007). Dakle ti podaci upućuju da bi se i koncentracija trombocitnog 5-HT kod dječaka s ADHD poremećajem ili kod zdravih dječaka mogla razlikovati ako su njihovi uzorci prikupljeni tijekom ljeta. Upravo radi te injenice se tijekom ljeta, kada je dužina dnevnog svijetla najduža, ne prikupljaju uzorci za istraživanje koncentracije trombocitnog 5-HT.

Koncentracija trombocitnog 5-HT se ne mijenja prema dnevnom ritmu i stabilna je tijekom dana (Muck-Šeler i sur., 2001). Osim toga, u našem je istraživanju

prikupljanje uzoraka krvi bilo u injeno u 8.00 sati ujutro, dakle uvijek u isto vrijeme, kako bi se izbjegao bilo kakav utjecaj dnevnih varijacija na koncentraciju trombocitnog 5-HT. Kod odreivanja razine hormona u krvi bi taj utjecaj dnevnih fluktuacija bio znatan, no pri mjerenu koncentracije trombocitnog 5-HT u samo jednoj vremenskoj točki, budući da je ta koncentracija stabilna, nema potencijalnog ograničenja istraživanja. U prilog toj pretpostavci govore i podaci o stabilnosti koncentracije trombocitnog 5-HT u djeci aka sa ADHD starih 8 godina, jer se te vrijednosti nisu razlikovale u istih dječaka starih 11 godina (Pick i sur., 1999).

Iako su neka starija djeca možda pušila cigarete, sva su djeca nijekala da su pušaju, a i dokazano je da pušenje ne utječe na koncentraciju trombocitnog 5-HT u zdravih odraslih osoba (Kovačić i sur., 2008).

Na koncentraciju trombocitnog 5-HT mogu utjecati određeni simptomi koje se javljaju kao dio kliničke slike psihijatrijskih bolesti (Muck-Šeler i sur., 2005; Pivac i sur., 2006b). Povećana koncentracija trombocitnog 5-HT može biti povezana s prisutnošću psihotičnih simptoma (Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 1997a; Muck-Šeler i sur., 2005; Pivac i sur., 2006a; 2006b; Kovačić i sur., 2008) ili psihotičke sumanute i iskrivljene slike realiteta i halucinacija (Pivac i sur., 2006a), međutim dijagnostički instrumenti kao što su klinički intervju, fizički pregled i Connersova mjerna ljestvica za roditelje i uitelje isključili su prisutnost tih simptoma.

Koncentracija trombocitnog 5-HT može biti promijenjena u odraslih osoba sa agresivnim ponašanjem (Goveas i sur., 2004), no budući da naša skupina djece s ADHD poremećajem nije evaluirana na prisutnost agresije pomoću određenih psihologičkih skala i upitnika, na temelju naših rezultata ne možemo zaključiti o promjenama koncentraciju trombocitnog 5-HT u agresiji. Naši podaci upućuju da djeca s ADHD vjerojatno nisu bila agresivna, budući da je njihova koncentracija trombocitnog 5-HT bila nepromijenjena u odnosu na vrijednosti u kontrolnoj skupini djece.

## **5.2 NEDOSTATAK SPOLNO IZAZVANIH PROMJENA U KONCENTRACIJI TROMBOCITNOG SEROTONINA U DJE AKA I DJEVOJ ICA S ADHD I KONTROLNIH DJE AKA I DJEVOJ ICA**

Mjerenjem koncentracije trombocitnog 5-HT u dje aka i djevoj ica, dobiveni su rezultati koji pokazuju da nema zna ajnih razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT izme u dje aka i djevoj ica oboljelih od ADHD ili izme u kontrolnih dje aka i djevoj ica. Ti su rezultati u skladu sa istraživanjem koje je obuhvatilo ve e skupine djece s ADHD ili kontrolne djece (Hercigonja-Novkovi i sur., 2009). U odraslih osoba postoje spolom izazvane promjene u koncentraciji trombocitnog 5-HT izme u muškaraca i žena i to je pokazano u zdravih ispitanika (Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 2001), u depresivnih bolesnika (Muck-Šeler i sur., 1996; 2005), u shizofrenih bolesnika (Muck-Šeler i sur., 1999; Pivac i sur., 2006b) i u ovisnika o alkoholu (Pivac i sur., 2001; Pivac i sur., 2007; Pivac i sur., 2008). U našem istraživanju kod dje aka i djevoj ica nisu prona ene spolne razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT, prethodno prona ene kod odraslih osoba (Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 2001; 2008). Taj bi se nedostatak spolno izazvanih promjena u koncentraciji trombocitnog 5-HT mogao objasniti injenicom da su djeca s ADHD poreme ajem uklju ena u ovom istraživanju bila stara od 4-15 godina i od ukupno 79 djece je samo etvero djece bilo staro 12 godina, troje djece 13 godina i po jedno dijete 14 i jedno 15 godina, dakle u dobi kada po inje spolno sazrijevanje. Kontrolna djeca su tako er bila u dobi od 4-15 godina, no u toj skupini od 30 djece je još manje djece bilo u fazi puberteta jer je samo jedno dijete bilo staro 12 godina, troje djece je bilo staro 13 godina i po jedno dijete je imalo 14 i 15 godina. Radi toga nije bilo zna ajnih razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT izme u dje aka i djevoj ica s ADHD poreme ajem.

Budu i su skupine djece bile uskla ene, izostanak razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT nije vezan za promjenama u 5-HT funkcije vezane uz dob (Halperin i sur., 1997).

### **5.3 ADHD I RAZLIČITE PSIHIJATRIJSKE BOLESTI**

ADHD je poremećaj u kojem se najčešće javljaju simptomi nepažnje, hiperaktivnosti i impulzivnosti, a smatra se da ključnu ulogu u nastanku ADHD ima osim dopamina i 5-HT (Comings, 2001; Rothenberger i sur., 2004). Djeca koja boluju od ADHD često su impulzivna i agresivna, a to su ponašanja posredovana 5-HT sustavom. Promjene u 5-HT sustavu povezane su s oštete enjima pamćenja, kognitivnim poremećajima i s povećanjem agresivnosti (Goveas i sur., 2004). Kod osoba s antisocijalnim i agresivnim ponašanjem javlja se niža koncentracija 5-HT nego kod neagresivnih pojedinaca (Coccaro i sur., 1989).

Postoje istraživanja koja pokazuju da je 5-HT važan za razvoj različitih patoloških oblika ponašanja koja često se javljaju u različitim psihijatrijskim bolestima, a koja su povezana sa smanjenim funkcioniranjem serotoninskog sustava (Dubovsky i Thomas, 1995; Mueller-Oerlinghausen i sur., 2004). Naime osobe koje pokazuju antisocijalno i agresivno ponašanjem imaju sniženu koncentraciju 5-HT u usporedbi s neagresivnim pojedincima (Coccaro i sur., 1989).

Neka istraživanja podupiru hipotezu da su biološki pokazatelji, uključujući i periferne pokazatelje 5-HT funkcije, možda snažnije povezani s osnovnim psihopatološkim simptomima, poput impulzivnosti, nego sa aktualnim dijagnoskom kategorijama, kao što je ADHD (Manuck i sur., 1998; Askenazy i sur., 2000; Goveas i sur., 2004; Mueller-Oerlinghausen i sur., 2004; Schmitt i sur., 2006). Nedavno je pokazano da impulzivna djeca s ADHD poremećajem imaju veću koncentraciju trombocitnog 5-HT nego neimpulzivna djeca s ADHD poremećajem (Hercigonja-Novković i sur., 2009). Budući da se koncentracija trombocitnog 5-HT povezuje s impulzivnošću, ali ne i s nepažnjom ili hiperaktivnošću kod djece s ADHD poremećajem (Hercigonja-Novković i sur., 2009), ovi podaci potvrđuju hipotezu da povećana koncentracija trombocitnog 5-HT može biti pokazatelj impulzivnosti (Askenazy i sur., 2000). Budući da središnji 5-HT sustav nadzire impulzivnost (Pattij i Vanderschuren, 2008), promjene koncentracije perifernog, trombocitnog 5-HT upućuju na zaključak da se koncentracija trombocitnog 5-HT može koristiti kao pokazatelj određenih ponašanja koja su promijenjena u ADHD.

Uz ADHD pojavljuju se esto i druge psihi ke bolesti (komorbiditeti). Koriste i trombocite kao periferni model za središnje serotoninske sinaptosome, istraživanja su pokazala povišenu koncentraciju trombocitnog serotoninu u shizofrenih (Muck-Šeler i sur., 1999), depresivnih bolesnika s predominantno psihotni kim simptomima (Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 1997a), ispitanika s posttraumatskim stresnim poreme ajem koji su razvili psihoti ke simptome (Pivac i sur., 2006a), te sniženu koncentraciju trombocitnog serotoninu u suicidalnom ponašanju (Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 1997b; Marinko i sur., 2007; Kovač i sur., 2008). U skupinu djece koja su sudjelovala u istraživanjima nisu bila uklju ena ona djeca koja su uz ADHD bolovala od drugih psihijatrijskih bolesti kao što su komorbidna depresija, shizofrenija, ili posttraumatski stresni poreme aj. Prema tome, nije bilo komorbidnih psihijatrijskih bolesti koje bi mogle utjecati na koncentraciju trombocitnog 5-HT kod istraživane djece.

Na pove anu u estalost oboljenja djece od ADHD može utjecati i zlorabu alkohola u roditelja. Naime, postoje istraživanja koja prepostavljaju da se ADHD javlja ešte kod djece iji su roditelji bili alkoholi ari (Earls i sur., 1988). Budu i da je alkoholizam povezan sa smanjenjem središnje serotoninske funkcije (Berglund i sur., 2006), možda bi zloraba alkohola u roditelja ispitanika iz naše studije mogla biti uzrokom razvoja ADHD u djece. Nedostatak ovog istraživanja jest da roditelji djece s ADHD poreme ajem nisu ispitivani o zlorabi alkohola ili ovisnosti o alkoholu. Prema tome, ne možemo isklju iti mogu nost da su djeca uklju ena u studiju imala roditelje koji su bili ovisnici o alkoholu. No, prilikom psihijatrijskog intervjeta s roditeljima djece oboljele od ADHD, prikupljeni su podaci o njihovom socijalnom statusu. Sva djeca koja su bila uklju ena u studiju, potjecala su iz domova u kojem su oba roditelja živjela zajedno. Dakle, djeca s ADHD nisu dolazila iz razrušenih domova, a mogu a ovisnost o alkoholu ili kroni ni alkoholizam bi utjecao na stabilnost obitelji i sigurnost domova. Prema tim podacima, ini se da djeca u našoj studiji najvjerojatnije nisu imala roditelje koji su bili ovisnici o alkoholu. Drugi imbenici, kao što su otrovanje olovom, pušenje u trudno i, alkoholizam u trudno i, niska poro ajna težina, štetni aditivi u hrani, komplikacije pri porodu (toksemije, eklampsije, loše zdravlje majke, starija dob, poreme eno fetalno sazrijevanje, produženo trajanje poroda, fetalni distres, smanjena

poro ajna težina, postporo ajno krvarenje) mogu biti uzrokom ADHD (Biederman, 2005), no ti demografski podaci u ovoj studiji nisu prikupljeni.

U zaklju ku, rezultati studije su pokazali sli nu koncentraciju trombocitnog 5-HT me u skupinama muške i ženske djece oboljele od ADHD poreme aja i zdrave (kontrolne) djece. Nisu prona ene spolno izazvane razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT izme u muške i ženske djece, i to niti kod oboljelih od ADHD, niti u zdrave kontrolne djece. Ti podaci upu uju na zaklju ak da se koncentracija trombocitnog 5-HT ne razlikuje izme u oboljelih od ADHD i odgovaraju e zdrave kontrolne skupine, odnosno da dijagnoza ADHD nije vezana za promijenjenu koncentraciju trombocitnog 5-HT. Sukladno tome, koncentracija trombocitnog 5-HT ne može se koristiti kao periferni biološki pokazatelj ADHD. Ti su podaci uskla eni sa literaturnim, koji upu uju na zaklju ak da su periferni biološki pokazatelji, kao što je koncentracija trombocitnog 5-HT, povezani sa promjenama odre enih, specifi nih skupina simptoma ili odre enog ponašanja ili karakteristika li nosti, promijenjenih u ADHD.

## **6 ZAKLJUČAK**

1. Koncentracija trombocitnog 5-HT nije se značajno razlikovala između muške i ženske djece oboljele od ADHD poremećaja i zdrave (kontrolne) djece.
2. Nisu pronađene značajne razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT između muške i ženske djece s ADHD.
3. Nisu pokazane značajne razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT između zdrave kontrolne muške i ženske djece.
4. Budući da je ADHD kompleksan psihijatrijski poremećaj, u kojem dominiraju tri karakteristične skupine simptoma: nepažnja, hiperaktivnost i impulzivnost, a njihova neurobiološka podloga nije potpuno jasna, rezultati naše studije upućuju da se koncentracija trombocitnog 5-HT ne može koristiti kao periferni biokemijski pokazatelj koji bi uputio na sigurnu dijagnozu ADHD.
5. Kako se koncentracija 5-HT u trombocitima razlikuje u osoba sa određenim simptomima, sa određenim ponašanjem ili karakteristikama ličnosti, periferni biološki pokazatelj odnosno koncentracija trombocitnog 5-HT može se koristiti kao pokazatelj određenih, specifičnih skupina simptoma, simptoma određenog ponašanja ili karakteristika ličnosti, promijenjenih u ADHD.

## 7 LITERATURA

**American Psychiatric Association** (1994). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4<sup>th</sup> ed. *American Psychiatric Press*, Washington, DC.

**Andres, A.H., Rao, M.A., Ostrowitzki, S. i Enzian, W.** (1993). Human brain cortex and platelet serotonin<sub>2</sub> receptor binding properties and their regulation by endogenous serotonin. *Life Sci* 52, 313-321.

**Arnsten, A., Steere, J. i Hunt, R.** (1996). The contribution of -2 noradrenergic mechanisms to prefrontal cortical cognitive function: Potential significance to attention deficit hyperactivity disorder. *Arch Gen Psychiatry* 53, 448-455.

**Artigas, F., Sarrias, M.J., Martinez, E. i Gelpi, E.** (1985). Serotonin in body fluids: Characterization of human plasmatic and cerebrospinal fluid pools by means of a new HPLC method. *Life Sci* 37, 441-447.

**Askenazy, F., Caci, H., Myquel, M., Darcourt, G. i Lecrubier, Y.** (2000). Relationship between impulsivity and platelet serotonin content in adolescents. *Psychiatry Res* 94, 19-28.

**Austin, M.C., Bradely, C.C., Mann, J.J. i Blakely, R.D.** (1994). Expression of serotonin transporter messenger RNA in the human brain. *J Neurochem* 62, 2362-2367.

**Berglund, K.C., Fahlke, C., Berggren, U., Eriksson, M. i Balldin, J.** (2006). Personality profile in type I alcoholism: long duration of alcohol intake and low serotonergic activity are predictive factors of anxiety proneness. *J Neural Transm* 113, 1287-1298.

**Biederman, J.** (2005). Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Selective Overview. *Biol Psychiatry* 57, 1215-1220.

**Bulat, M., Geber, J. i Lackovi , Z.** (1999). Medicinska farmakologija. Medicinska naknada, Zagreb.

**Camacho, A. i Dimsdale, J.E.** (2000). Platelets and psychiatry: lessons learned from old and new studies. *Psychosom Medicine* 62, 326-336.

**Coccaro, E.F., Kavoussi, R.J., Sheline, Y.I., Lish, J.D. i Csernansky, J.G.** (1996). Impulsive aggression in personality disorder correlates with tritiated paroxetine binding in the platelet. *Arch Gen Psychiatry* 53, 531-536.

**Coccaro, E.F., Siever, L.J., Klar, H.M., Maurer, G., Cocharane, K., Cooper, T.B., Mohs, R.C. i Davis K.L** (1989). Serotonergic studies of personality disorder: Correlates with behavioral aggression and impulsivity. *Arch Gen Psychiatry* 46, 587-599.

**Cook, E.Jr., Stein, M.A., Ellison, T., Unis, A.S. i Leventhal, B.L.** (1995). Attention deficit hyperactivity disorder and whole blood serotonin levels: Effects of comorbidity. *Psychiatry Res* 57, 13–20.

**Comings, D.E.** (1993). Serotonin and the biochemical genetics of alcoholism: lessons from studies of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) and Tourette syndrome. *Alc Alcoholism* (Oxford, Oxfordshire) 2, 237-241.

**Comings, D.E.** (2001). Clinical and Molecular Genetics of ADHD and Tourette Syndrome: Two Related Polygenic Disorders. *Ann NY Acad Sci* 931, 50-83.

**Conners, C.K.** (1998). Rating scales in attention deficit/hyperactivity disorder: use in assessment and treatment monitoring. *J Clin Psychiatry* 58, 24-30.

**Da Prada, M., Cesura, A.M., Launay, J.M. i Richards, J.G.** (1988). Platelets as models for neurons? *Exp Res* 44, 115–126.

**DiMaio, S., Grizenko, N. i Joober, R.** (2003). Dopamine genes and attention-deficit hyperactivity disorder: a review. *J Psychiatry Neurosci* 28, 27-38.

**Dolan, M., Deakin, W.J.F., Roberts, N. i Anderson, I.** (2002). Serotonergic and cognitive impairments in impulsive aggressive personality disordered offenders: are there implications for treatment? *Psychol Med* 32, 105–117.

**Dubovsky, S.L. i Thomas, M.** (1995). Beyond specificity: Effects of serotonin and serotonergic treatments on psychobiological dysfunction. *J Psychosom Res* 39, 429-444.

**Earls, F., Reich, W., Jung, K.E. i Cloninger, R.** (1988). Psychopathology in children of alcoholic and antisocial parents. *Alcohol Clin Exp Res* 12, 481–487.

**Erspamer, V. i Asero, B.** (1952). Identification of enteramine, specific hormone of enterochromaffin cells, as 5-hydroxytryptamine. *Nature* 169, 800-801.

**Fuller, R.W.** (1986). Biochemical pharmacology of the serotonin system. *Adv Neurol* 43, 469-471.

**Fung, Y.K. i Lau, Y.S.** (1989). Effects of prenatal nicotine exposure on rat striatal dopaminergic and nicotinic systems, *Pharmacol Biochem Behav* 33, 1–6.

**Goveas, J.S., Csernansky, J.G. i Coccaro, E.F.** (2004). Platelet serotonin content correlates inversely with life history of aggression in personality-disordered subjects. *Psychiatry Res* 126, 23-32.

**Halperin, J.M., Newcorn, J.H., Schwartz, S.T., Sharma, V., Siever, L.J., Koda, V.H. i Gabriel, S.** (1997). Age-related changes in the association between serotonergic function and aggression in boys with ADHD. *Biol Psychiatry* 41, 682–689.

**Hercigonja Novkovi , V., Rudan, V., Pivac, N., Nedi , G. i Muck-Šeler, D.** (2009). Platelet serotonin concentration in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Neuropsychobiology*, 59, 17-22.

**Hervig, T.A., Farstad, M. i Vollset, S.E.** (1996). Endogenous serotonin in human blood platelets-factors that may influence reference values. *Platelets* 7, 47-52.

**Hrdina, P.D.** (1994). Platelet serotonergic markers in psychiatric disorders: use, abuse and limitations. *J Psychiatry Neurosci* 19, 87-88.

**Jakovljevi , M., Muck-Šeler, D., Pivac, N., Ljubi i , D., Bujas, M. i Dodig, G.** (1997). Seasonal influence on platelet 5-HT levels in patients with recurrent major depression and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 41, 1028-1034.

**Kema, I.P., de Vries, E.G.E. i Muskiet, F.A.J.** (2000). Clinical chemistry of serotonin and metabolites. *J Chromatography B* 747, 33-48.

**Kocijan-Hercigonja, D., Faber, B., Folnegovi -Šmalc, V., Gotovac, K., Henigsberg, N., Hercigonja Novkovi , V., Lackovic, Z., Matijevi Maši , Lj. i Šimi G.** (2006). Biološke osnove i terapija ponašanja. *Školska knjiga*, Zagreb, 1-255.

**Kocijan-Hercigonja, D. i Karlovi , D.** (1999). Psihofarmakoterapija poreme aja pažnje s hiperaktivnoš u. *Pediatry Rev* 43, 181-183.

**Kornetsky, C.** (1970). The psychopharmacology of the immature organism. *Psychopharmacologia* 17, 105–136.

**Kovač, Z., Henigsberg, N., Pivac, N., Nedić, G. i Borovićki A.** (2008). Platelet serotonin concentration and suicidal behaviour in combat related posttraumatic stress disorder. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat* 32, 544-551.

**Lesch, K.P., Baling, U., Gross, J., Strauss, K., Wolozin, B., Murphy, D.L. i Riederer, P.** (1994). Organization of the human serotonin transporter gene. *J Neural Transm* 95, 157-162.

**Lowry, O.H., Rosenbrough, N.S., Farr, A.C. i Randall, R.J.** (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193, 265-275.

**Lucki, I.** (1998). The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biol Psychiatry* 44, 151-162.

**Ljubičić, Š., Stipčević, T., Pivac, N., Jakovljević, M. i Muck-Šeler, D.** (2007). The influence of daylight exposure on platelet 5-HT levels in patients with major depression and schizophrenia. *J Photchem Photobiol B: Biology*, 89, 63-69.

**Marinko, D., Pivac, N., Martinac, M., Jakovljević, M., Mihaljević-Peleš, A. i Muck-Šeler, D.** (2007). Platelet serotonin and serum cholesterol concentrations in suicidal and non-suicidal male patients with first episode of psychosis. *Psychiatry Res* 150, 105-108.

**Mann, J.J.** (2002). A current perspective of suicide and attempted suicide. *Ann Int Med* 136, 302-311.

**Mann, J.J.** (1998). Neurobiology of suicide. *Nature Med* 4, 25-30.

**Mann, J.J.** (2003). Neurobiology of suicidal behaviour. *Nature Rev Neurosci* 4, 819-828.

**Manuck, S.B., Flory, J.D., McCaffery, J.M., Matthews, K.A., Mann, J.J. i Muldoon, M.F.** (1998). Aggression, impulsivity, and central nervous system serotonergic responsiveness in a nonpatient sample. *Neuropsychopharmacology*, 19, 287-299.

**Mattson, M.P., Maudsley, S. i Martin, B.** (2004). BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 27, 589-594.

**Moeller, F.G. i Dougherty, D.M.** (2001). Antisocial personality disorder, alcohol, and aggression. *Alc Res Health* 25, 5-11.

**Muck-Šeler, D., Jakovljevi , M. i Pivac, N.** (1996). Platelet 5-HT concentrations and suicidal behavior in recurrent major depression. *J Affect Disord* 39, 73-80.

**Muck-Šeler, D., Pivac, N. i Jakovljevi , M.** (1999). Sex differences, season of birth and platelet 5-HT levels in schizophrenic patients. *J Neural Transm* 106, 337-347.

**Muck-Šeler, D., Pivac, N. i Jakovljevi , M.** (2001). The influence of acute paroxetine treatment on peripheral biochemical markers in depressed patients. *World J Biol Psychiatry* 2, Suplement 1, P025-59.

**Muck-Šeler, D., Pivac, N., Šagud, M., Jakovljevi , M. i Mihaljevi -Peleš, A.** (2002). The effects of paroxetine and tianeptine on peripheral biochemical markers in major depression. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatr* 26, 1235-1243.

**Muck-Šeler, D., Pivac, N., Šagud, M., Mustapi , M. i Jakovljevi , M.** (2005). The effects of serotonin uptake inhibitors on platelet serotonin: From basic to clinical studies. In Shirley AC (Ed.), Trends in serotonin uptake inhibitors research, *NOVA Science Publishers*, Inc, NY, Hauppauge, USA, 29-53.

**Mueller-Oerlinghausen, B., Roggenbach, J. i Franke, L.** (2004). Serotonergic platelet markers of suicidal behavior – do they really exist? *J Affect Disord* 79, 13-24.

**Ortiz, J., Artigas, F. i Gelpí, E.** (1998). Serotonergic status in human blood. *Life Sci* 43, 983-990.

**Pattij, T. i Vanderschuren, LJ.M.J.** (2008). The neuropharmacology of impulsive behaviour. *Trends Pharmacol Sci* 29, 192-199.

**Pfeffer, C.R., McBride, P.A., Anderson, G.A., Kakuma, T., Fensterheim, L. i Khait, V.** (1998). Peripheral serotonin measures in prepubertal psychiatric inpatients and normal children: associations with suicidal behaviour and its risk factors. *Biol Psychiatry* 44, 568-577.

**Pick, L.H., Halperin, J.M., Schwartz, S.T. i Newcorn, J.H.** (1999). A longitudinal study of neurobiological mechanisms in boys with attention-deficit hyperactivity disorder: preliminary findings. *Biol Psychiatry* 45, 371-373.

**Pivac, N., Muck-Šeler, D. i Jakovljevi , M.** (1997a). Platelet 5-HT levels and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in schizophrenic patients with positive and negative symptoms. *Neuropsychobiology* 36, 19-21.

**Pivac, N., Jakovljevi , M., Muck-Šeler, D. i Brzovi , Z.** (1997b). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and platelet serotonin concentrations in depressed patients. *Psychiatry Res* 73, 123-132.

**Pivac, N., Muck-Šeler, D., Bariši , I., Jakovljevi , M. i Pureti , Z.** (2001). Platelet serotonin concentration in dialysis patients with somatic symptoms of depression. *Life Sci* 68, 2423-2433.

**Pivac, N., Muck-Šeler, D., Šagud, M., Jakovljevi , M., Mustapi , M. i Mihaljevi - Peleš, A.** (2003). Long-term sertraline treatment and peripheral biochemical markers in female depressed patients. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatr* 27, 759-765.

**Pivac, N., Muck-Šeler, D., Mustapi , M., Šagud, M., Marinko, D., Deželjin, M. i Jakovljevi , M.** (2006b). Peripheral biological markers and treatment response in schizophrenia, U: French DP (urednik) Schizophrenic Psychology: New Research. New York, *Nova Science Publishers* str. 319-370.

**Pivac, N., Kozari -Kovač, D., Mustapi , M., Deželjin, D., Borovićki, A., Grubišić-Ilić , M. i Muck-Šeler, D.** (2006a). Platelet serotonin in combat related posttraumatic stress disorder with psychotic symptoms. *J Affect Disord* 93, 223-227.

**Pivac, N., Kozari -Kovač, D., Mustapi , M., Deželjin, M., Nenadi -Šviglin, K. i Muck-Šeler, D.** (2007). New research on alcohol abuse and alcoholism (Peripheral biological markers in alcoholism) Chapter I. U: *Drug and Alcohol abuse Research Focus*. Walcott, Terry A. (urednik): *New York, Nova Publishers*, str. 1-62.

**Pivac, N., Kozari -Kovač, D., Mustapi , M., Deželjin, M., Nenadi -Šviglin, K. i Muck-Šeler, D.** (2008). *Peripheral biological markers in alcoholism*. Pivac, N. (urednik): *New York, Nova Publishers*, str 1-93.

**Pletscher, A.** (1968). Metabolism, transfer and storage of 5-hydroxytryptamine in blood platelets. *Brit J Pharmac Chemother* 32, 1-16.

**Pletscher, A.** (1987). The uptake system of 5-hydroxytryptamine in blood platelets: physiology and pathophysiology. *Int J Cardiol* 14, 177-188.

**Pliszka, S.R., Rogeness, G.A., Renner, P., Sherman, J. i Broussard, T.** (1988). Plasma neurochemistry in juvenile offenders. *J Am Acad Child Adolesc Psych* 255, 588–594.

**Pliszka, S., McCracken, J. i Maas, J.** (1996). Catecholamines in attention-deficit hyperactivity disorder: Current perspectives. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 35, 264–272.

**Popova, N.K.** (2006). From genes to aggressive behavior: the role of serotonergic system. *Bioassays* 28, 495-503.

**Rapoport, J., Quinn, N., Scribanu, N. i Murphy, D.L.** (1974). Platelet serotonin of hyperactive school age boys. *Br J Psychiatry* 125, 138–140.

**Rogeness, G.A., Javors, M.A. i Pliszka, S.R.** (1992). Neurochemistry of child and adolescent psychiatry. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatr* 31, 765-781.

**Rothenberger, A., Doepfner, M., Sergeant, J. i Steinhause, H.C.** (2004). ADHD - beyond core symptoms. Not only a European perspective. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 13, 1-130.

**Sandler, M., Reveley, M.A. i Glover, V.** (1981). Human platelet monoamine oxidase activity in health disease: a review. *J Clin Pathol* 34, 292-297.

**Sarne, Y., Mandel, J., Goncalves, M.H., Brook, S., Gafni, M. i Elizur, A.** (1995). Imipramine binding to blood platelets and aggressive behaviour in offenders, schizophrenics and normal volunteers. *Neuropsychobiology* 31, 120-124.

**Schmidt, L.G., Dufeu, P., Heinz, A., Kuhn, S. i Rommelspacher, H.** (1997). Serotonergic dysfunction in addiction - effects of alcohol, cigarette smoking and heroin on platelet 5-HT content. *Psychiatry Res* 72, 177-185.

**Schmitt, J.A.J., Wingen, M., Ramaekers, J.G., Evers, J.G. i Riedel, W.J.** (2006). Serotonin and human cognitive performance. *Curr Pharmaceut Design* 12, 2473-2486.

**Soloff, P.H., Lynch, K.G. i Moss, H.B.** (2000). Serotonin, impulsivity, and alcohol use disorders in the older adolescent: A psychobiological study. *Alcohol Clin Exp Res* 24, 1609-1619.

**Stahl, S.M.** (1985). Platelets as pharmacological models for the receptors and biochemistry of monoaminergic neurons; in Longenecker GL (ed): Platelets: Physiology and Pharmacology. New York, *Academic Press* 307-340.

**Stahl, S.M.** (1998). Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. *J Affect Disord* 51, 215-235.

**Thomas, J.D., Garrison, M.E., Slawecki, C.J., Ehlers, C.L. i Riley, E.P.** (2000). Nicotine exposure during the neonatal brain growth spurt produces hyperactivity in preweanling rats: a review. Center for Behavioral Teratology, San Diego State University, *Neurotoxicol Teratol* 22, 695-701.

**Trimble, M.R.** (1996). *Biological Psychiatry*, Second edition. Chichester: John Wiley& Sons.

**Twitchell, G.R., Hanna, G.L., Cook, E.H., Fitzgerald, H.E., Little, K.Y. i Zucker, R.A.** (1998). Overt behavior problems and serotonergic function in middle childhood among male and female offspring of alcoholic fathers. *Alcohol Clin Exp Res* 22, 1340-1348.

**Unis, A.S., Cook, E.H., Vincent, J.G., Gjerde, D.K., Perry, B.D., Mason, C. i Mitchell, J.** (1997). Platelet serotonin measures in adolescents with conduct disorder. *Biol Psychiatry* 42, 553-559.

**Van De Kamp, J. i Collins, A.** (1994). Prenatal nicotine alters nicotinic receptor development in the mouse brain, *Pharmacol Biochem Behav* 47, 889–900.

**Van Praag, H.M.** (2004). The cognitive paradox in posttraumatic stress disorder: a hypothesis. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatr* 28, 923-935.

**Wade, P.R., Chen, J., Jaffe, B., Kassem, I.S., Blakely, R.D. i Gershon, M.D.** (1996). Localization and function of a 5-HT transporter in crypt epithelia of the gastrointerstinal tract. *J Neurosci* 16, 2352-2364.

**Wong, A.H.C. i Van Tol, H.H.M.** (2003). Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. *Neurosci Biobehav Rev* 27, 269-306.

**Zametkin, A.J. i Rapoport, J.L.** (1987). Noradrenergic hypothesis of attention deficit with hyperactivity A critical review. In: H.Y. Meltzer, Editor, *Psychopharmacology The Third Generation of Progress*, *Raven Press*, New York, 837–842.