

# Trombocitni serotonin i suicidalnost u ovisnika o alkoholu

---

Šimčić, Oliver

Master's thesis / Diplomski rad

2010

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:746625>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-04**



Repository / Repozitorij:

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



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prirodoslovno-matematički fakultet**  
**Biološki odsjek**

Oliver Šimčić

**Trombocitni serotonin i suicidalnost u ovisnika o alkoholu**

Diplomski rad

**Zagreb, 2010. godina**

Ovaj rad, izrađen u Laboratoriju za molekularnu neuropsihijatriju, Zavoda za molekularnu medicinu Instituta Ruđer Bošković, pod vodstvom dr.sc Nele Pivac, znanstvene savjetnice, predan je na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja prof. biologije.

Zahvaljujem svojoj mentorici dr. sc. Neli Pivac, znanstvenoj savjetnici, koja mi je nesebično pomogla prilikom izrade i pisanja ovog diplomskog rada. Najiskrenije zahvaljujem dipl. ing. Gordani Nedić i Matei Nikolac koje su mi pomogle u biokemijskim određivanjima, savjetovale me, bile pune strpljenja, razumijevanja i uputile me u laboratorijski rad. Zahvaljujem psihijatrici dr. sc. Koroni Nenadić Šviglin iz Centra za alkoholizam i druge ovisnosti Psihijatrijske bolnice Vrapče na izboru ispitanika i njihovoj kliničkoj evaluaciji.

## **TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno – matematički fakultet

Biološki odsjek

Diplomski rad

### **«Trombocitni serotonin i suicidalnost u ovisnika o alkoholu»**

Oliver Šimčić

Laboratorij za molekularnu neurofarmakologiju

Zavod za molekularnu medicinu

Institut Ruđer Bošković

Bijenička cesta 54

Zagreb

### **SAŽETAK**

Abnormalna aktivnost središnjeg serotoninskog (5-HT) sustava povezuje se sa alkoholizmom, depresijom, impulsivnom agresivnošću i suicidalnim ponašanjem. Središnji serotonergički neuroni i trombociti dijele slične biokemijske procese, te se stoga u svrhu lakšeg proučavanja određenih psihopatoloških stanja vezanih za promjene središnjeg 5-HT ponekad koriste trombociti kao lako dostupan periferni model. Ovisnici o alkoholu su skloni razvitku suicidalnog ponašanja. Suicidalno je ponašanje u psihijatrijskih bolesnika povezano sa sniženom koncentracijom trombocitnog 5-HT. U studiji je sudjelovalo 359 muških i 90 ženskih ovisnika o alkoholu koji nisu uzimali nikakve lijekove, te 425 zdravih muških i 156 zdravih ženskih ispitanika. Ovisnici o alkoholu podijeljeni su prema spolu, komorbidnoj depresiji, suicidalnom ponašanju i suicidalnim pokušajima. Koncentracija trombocitnog 5-HT bila je značajno snižena u ovisnika o alkoholu prema kontrolnim ispitanicima, no nije se značajno razlikovala između ispitanika ovisnika o alkoholu sa ili bez suicidalnog ponašanja ili onih koji su pokušali ili nikad nisu pokušali počinuti suicid. Prema tome, rezultati su uputili na zaključak da se koncentracija trombocitnog 5-HT ne može koristiti kao periferni pokazatelj suicidalnog ponašanja u ovisnika o alkoholu.

(58 stranica, 20 slika, jezik izvornika: hrvatski)

Ključne riječi: trombocitni serotonin (5-HT), ovisnici o alkoholu, suicidalno ponašanje, suicidalni pokušaji

Voditelj: Dr. sc. Nela Pivac, znanstveni savjetnik

Suvoditelj: Prof. dr. sc. Nada Oršolić

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Biology

Graduation Thesis

### **«Platelet serotonin and suicidality in alcoholic patients»**

Oliver Šimčić

Laboratoy for Molecular Neuropsychiatry

Division of Molecular Medicine

Ruder Bošković Institute

Bijenička cesta 54

Zagreb

### **ABSTRACT**

Abnormal activity of the central serotonergic (5-HT) system is associated with alcoholism, depression, impulsivity, aggression and suicidal behavior. Central serotonergic synaptosomes and platelets share similar biochemical processes, and therefore platelets could be used as easy obtainable peripheral models for studies of particular psychopathologies related to alterations of the central 5-HT. Chronic alcoholic patients are prone to develop suicidal behavior. Suicidal behavior is associated with lower platelet 5-HT concentration in psychiatric patients. The study included 359 male and 90 female alcoholic, medication-free patients, and 425 healthy male and 156 healthy female control subjects. Chronic alcoholic subjects were subdivided according to the sex, comorbid depression, suicidal behavior and suicidal attempts. Platelet 5-HT concentration was significantly lower in chronic alcoholic patients than in healthy subjects, however it did not differ significantly between alcoholic patients with or without suicidal behavior, or between those who tried or did not try to attempt suicide. Therefore, these results suggested that platelet 5-HT concentration could not be used as a peripheral marker of suicidal behavior in alcoholic patients.

(58 pages, 20 figures, original language: Croatian)

Thesis is deposited in the central library of biology.

Key words: Platelet serotonin (5-HT), suicidal behavior, suicidal attempts, alcoholic patients

Supervisor: Nela Pivac, DVM, PhD, senior scientist

Co-supervisor: Nada Oršolić, BSc, PhD, Professor

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1 Alkoholizam .....	1
1.1.1 Alkoholizam općenito .....	1
1.1.2 Neurobiologija alkoholizma .....	2
1.1.3 Alkoholizam i serotonin .....	3
1.2 Serotonin .....	4
1.2.1 Periferni serotonin .....	5
1.2.2 Središnji serotonin .....	5
1.2.3 Trombocitni serotonin .....	7
1.3 Suicidalno ponašanje .....	8
1.3.1 Suicidalno ponašanje općenito .....	8
1.3.2 Suicidalno ponašanje u alkoholičara .....	10
1.3.3 Suicidalno ponašanje i serotonin .....	12
<b>2. CILJ RADA</b> .....	13
2.1 Hipoteza .....	14
2.2 Opći cilj .....	14
<b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....	16
3.1 Skupine ispitanika .....	16
3.1.1 Ovisnici o alkoholu .....	16
3.1.2 Kontrolni ispitanici .....	17
3.2 Određivanje koncentracije trombocitnog 5-HT .....	18
3.2.1 Priprema trombocita iz krvi .....	18
3.2.2 Postupak određivanja 5-HT .....	19
3.3. Statistička analiza podataka .....	21
<b>4. REZULTATI</b> .....	22
4.1. Koncentracija trombocitnog 5-HT u zdravih muških i ženskih ispitanika .....	22
4.2 Koncentracija trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu	23
4.3 Broj bodova na HAMD skali u ovisnika o alkoholu podijeljenih na muške i ženske ispitanike sa ili bez komorbidne depresije .....	24
4.4 Koncentracija trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu i komorbidnoj depresiji .....	25
4.5 Broj bodova na podpitanju o suicidalnosti na HAMD skali u ovisnika o alkoholu podijeljenih na muške i ženske ispitanike sa ili bez komorbidne depresije .....	26
4.6 Koncentracija trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu, komorbidnoj depresiji i suicidalnom ponašanju, određenom prema broju bodova na HAMD skali, te u zdravih ispitanika .....	27
4.7 Koncentracija trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu, komorbidnoj depresiji i pokušaju suicida tijekom života te u zdravih ispitanika .....	30
4.8 Dob (u godinama) u muških i ženskih ovisnika o alkoholu podijeljenih prema komorbidnoj depresiji .....	32
4.9 Dob (u godinama) u muških ovisnika o alkoholu podijeljenih prema suicidalnom ponašanju (određenom prema broju bodova na skali HAMD) i komorbidnoj depresiji .....	33
4.10 Dob (u godinama) u ženskih ovisnika o alkoholu podijeljenih prema suicidalnom (određenom prema broju bodova na skali HAMD) ponašanju i komorbidnoj depresiji .....	34
4.11 Dob (u godinama) u muških ovisnika o alkoholu podijeljenih prema pokušaju samoubojstva i komorbidnoj depresiji .....	35

4.12	Dob (u godinama) u ženskih ovisnika o alkoholu podijeljenih prema pokušaji samoubojstva i komorbidnoj depresiji .....	36
<b>5.</b>	<b>RASPRAVA</b> .....	<b>37</b>
5.1	Razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT u zdravih osoba i ovisnika o alkoholu	37
5.2	Razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT u zdravih osoba i ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu .....	38
5.3	Nedostatak razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu i komorbidnoj depresiji.....	39
5.4	Nedostatak razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu, komorbidnoj depresiji, i suicidalnom ponašanju ili suicidalnim pokušajima .....	40
<b>6.</b>	<b>ZAKLJUČCI</b> .....	<b>45</b>
<b>7.</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>46</b>



## KRATICE

5 - HIAA – 5-hidroksiindoloctena kiselina

5 - HT – 5-hidroksitriptamin, serotonin

5 - HTT – serotoniniski transporter

ACD – kisela citratna dekstroza

ANOVA – analiza varijance

cAMP – 3'-5'-monofosfat

CNS – središnji živčani sustav

CSF – cerebrospinalna tekućina

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

FAD – flavin adenin dinukleotid

FADH<sub>2</sub>

GABA – gamma – aminomaslačna kiselina

GTP – gvanozin-5'-trifosfat

HAMD – hamiltonova ocjenska skala za depresiju

MANOVA – multifaktorijalna ANOVA

MAO – monoaminoooksidaza

NMDA – N-metil-D-aspartat

PET – pozitronska emisijska tomografija

SCID – strukturirani klinički intervju

SD – standardna devijacija

# 1. UVOD

## 1.1 Alkoholizam

### 1.1.1 Alkoholizam općenito

Alkohol je najzastupljenije farmakološko sredstvo čija je upotreba najčešće zlorabljena. Pod pojmom alkoholizma nema općenito priznate i prihvaćene definicije. Pojam obuhvaća velik broj sindroma koji su kliničnog i socijalnog karaktera.

Alkohol je psihoaktivna tvar čijom se intenzivnom konzumacijom stvara ovisnost, a prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji definicija ovisnosti glasi: «Sindrom koji se manifestira u obliku specifičnih obrazaca ponašanja u kojem se upotrebi psihoaktivne droge, ili skupina droga, daje veći prioritet nego onim obrascima ponašanja koji su prije imali veću vrijednost.» Svjetska zdravstvena organizacija odbacila je termin «zlorababa» kada se govori o problematici droge. Prema Dijagnostičkom i statističkom priručniku za mentalne poremećaje, 4. revizija (DSM-IV, APA, 1994) zadržava se koncept zlorababe da bi se opisalo socijalno neprihvatljivo ponašanje, pri kojem nedostaje povijest ovisnosti o psihoaktivnoj tvari, a vezano je uz njenu konzumaciju.



Slika 1.1. Ovisnost o alkoholu

Uz alkoholizam javlja se neprikladno ponašanje i/ili promijenjena stanja psihološke svijesti (neprikladno seksualno ili agresivno ponašanje, smanjena razina rasuđivanja, promjena raspoloženja) koja se razvijaju nakon konzumiranja alkohola. Promjene su popraćene nerazgovjetnim govorom, nedostatkom koordinacije, nestabilanim hodom, umanjenom pozornošću i pamćenjem, otupjelost ili koma. Fiziološka ovisnost o alkoholu vidljiva je simptomima suzdržanja: hiperaktivnost pojedinih fizioloških funkcija (znojenje, puls iznad 100 otkucaja u minuti), drhtanje ruku, nesаница, mučnina ili povraćanje, vizualne, auditivne ili osjetilne halucinacije.

Razlike u kliničkoj dijagnostici i osobinama nasljeđivanja su osnova za razlikovanje dva podtipa alkoholizma: tip 1, vezan uz sklonosti anksioznosti i gubitak kontrole konzumiranja alkohola poslije 25. godine; tip 2, povezan sa impulsivnim i antisocijalnim ponašanjem i gubitkom kontrole konzumiranja alkohola prije 25. godine (Cloninger i sur., 1981). U pogledu bolničkog liječenja takva podjela u osnovi samo pokazuje u kojoj je godini života započeo problem alkoholizma (Penick i sur., 1990).

Alkoholizam često prate ostali psihijatrijski poremećaji; a takva dualna dijagnoza zove se komorbidnost. Najčešći komorbidni poremećaji su anksiozni poremećaji (panični poremećaji, posttraumatski stresni poremećaj ili PTSP), shizofrenija i poremećaji raspoloženja (depresija, bipolarni poremećaj) (Petrakis i sur., 2002). Uz alkoholizam veže se i impulzivnost, agresija i suicidalno ponašanje (Sher i sur., 2006).

### **1.1.2 Neurobiologija alkoholizma**

Alkohol može imati učinke na međusobne interakcije neurotransmitera uključujući gamma – aminomaslačnu kiselinu (GABA), glutamat, dopamin, opioidne polipeptide i serotonin, što može dovesti do pojačanog unosa alkohola (Koob i sur., 1997). Na moždane funkcije alkohol utječe tako da djeluje na mnoge neurotransmitterske sustave i time narušava ravnotežu između inhibicijskih i eksitacijskih neurotransmitera (Valenzuela, 1997).

Etanol je relativno jednostavna molekulska struktura, ali farmakološki posjeduje širok spektar djelovanja. Malo je vjerovatno da će neki pojedini molekularni mehanizam (sam po sebi) značajno objasniti njegovo farmakološko djelovanje. Unatoč toj činjenici znanstvenici su u proteklih desetljeća identificirali brojna potencijalna ciljna djelovanja alkohola.

Molekularna ciljna mjesta alkohola, benzodiazepina i barbiturata su GABA<sub>A</sub> receptori (Tallman i sur., 1980), koji dijele neurofarmakološke osobine alkohola. Biokemijski testovi, u in vitro uvjetima, pri mjerenju GABA<sub>A</sub> receptora posredovanog protokom <sup>36</sup>Cl<sup>-</sup> u

sinaptosomima, pokazali su da alkohol potencira aktivnost GABA<sub>A</sub> receptora pri niskim koncentracijama intoksikacije alkoholom (Suzdak i sur., 1986; Allan i sur., 1986), te negativno nabijeni ioni uđu u stanicu pri čemu inhibiraju aktivnost neurona.

Važan eksitacijski neurotransmitter u središnjem živčanom sustavu (SŽS-u) je glutamat. Prilikom depolarizacije  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metilisoksazol-4-propionične kiseline (AMPA) i vezanja glutamata za N-metil-D-aspartat (NMDA) receptore, otvaraju se Ca<sup>2+</sup> kanali i lakše dolazi do depolarizacije. Niske doze alkohola snažno inhibiraju ekscitacijske NMDA receptore i inhibiraju aktivnost neurona (Tsai i sur., 1995). Niske doze alkohola mogu olakšati aktivnost noradrenalina, serotonina, dopamina, endokanabinoidnog signalnog sistema i ostalih neurotransmiterskih receptora povezanih sa G proteinima (Hoffman i sur., 1990; Nestler i sur., 1994; Basavarajappa i sur., 2002).

Na razini neurobiologije ponašanja, mezolimbicni dopaminergični put od ventralnog tegmentalnog prostora do nukleus akubensa aktiviran je sredstvima koje uzrokuju ovisnost, kao što su alkohol, kokain, opiodi i nikotin (Koob i sur., 1992.; Samson i sur., 1993). Aktivacijom dopaminergičnog puta potiče se sustav nagrađivanja što je uzrok ovisničkog ponašanja, i to je pokazano kod zloupotreba droga (Wise i sur., 1987). Kontinuiranom konzumacijom alkohola povećava se osjetljivost tog sustava, te se počinje otpuštati dopamin, pri čemu se olakšava dodatna konzumacija alkohola (Robinson i sur., 1993).

Smatra se da alkohol može djelovati i na opiodni neurotransmitorski sustav pri čemu može doći do promjene želje za alkoholom (Herz i sur., 1996). Blokiranje aktivnosti opiodnih peptida, preko delta opiodnog receptora, može stvoriti averziju prema alkoholu (Froehlich i sur., 1998). Taj podatak daje iznimno značajnu ulogu opiodnom sustavu, putem delta opiodnog receptora, u reguliranju averzije prema alkoholu.

### **1.1.3 Alkoholizam i serotonin**

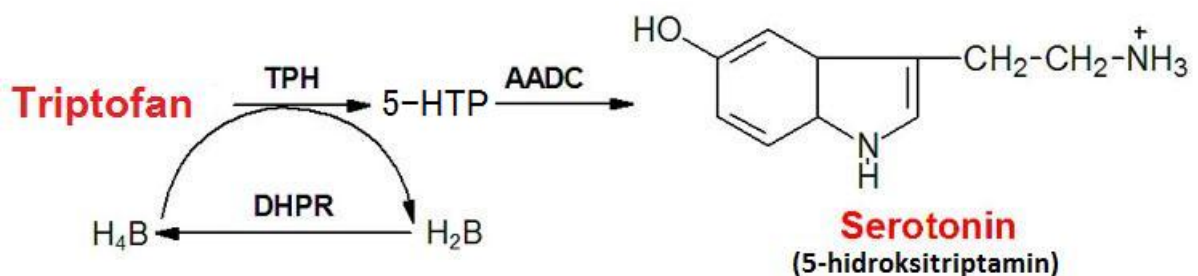
Mnogo je dokaza da je smanjena koncentracija serotonina (5-hidroksitriptamin ili 5-HT) povezana sa povećanjem depresije, ali i agresije. Povezanost 5-HT i alkoholizma bazira se na funkcionalnim promijenama središnjeg i perifernog 5-HT u alkoholizmu. Snižena aktivnost središnjeg 5-HT može se povezati sa alkoholizmom (LeMarquand i sur., 1994). Postoji mogućnost da je disfunkcionalnost 5-HT sustava tj. poremećaj 5-HT neurotransmisije povezana sa tendencijom zloupotrebe i ovisnosti o alkoholu (Johnson i sur., 2004). U ovisnika o alkoholu i liječenih alkoholičara unos 5-HT u trombocite smanjen je u odnosu prema kontrolnim ispitanicima (Kent i sur., 1985), no pokazano je da on može biti ili povećan (Faraj i

sur.,1997) ili nepromijenjen (Javors i sur., 2000). U osoba koje su ovisnici o alkoholu od tinejdžerskih dana ili u dobi od dvadeset godina života, dokazano je povećanje aktivnosti trombocitnog 5-HT transportera (5-HTT), dok se u osoba, kod kojih se ovisnost očituje u kasnijoj životnoj dobi bez povijesti ovisnosti, takva aktivnost ne javlja (Javors i sur., 2000). Snižena aktivnost 5-HTT može se povezati sa smanjenom koncentracijom 5-HT u trombocitima koja je pronađena u ovisnika o alkoholu (Pivac i sur., 2008). Povećana osjetljivost nukleusa akubensa na učinke 5-HT-a ili glutamata pri konzumiranju etanola, kao i prirođeno niska bazalna razina aktivnosti 5-HT-a ili glutamata može biti povezana sa predispozicijom alkoholizam (Selim i sur.,1996).

Serotoninski receptor tipa 5-HT<sub>3</sub> važna je komponenta diskriminativnog poticajnog učinka etanola, dok strukturne karakteristike selektivnog antagonista 5-HT<sub>3</sub> receptora utječu na blokiranje djelovanja etanola (Grant i sur.,1991). 5-HT<sub>3</sub> receptori sudjeluju u unosu, toleranciji i procesu povlačenja etanola, međutim u mehanizmu nagrađivanja nemaju značajnu ulogu u averzivnim učincima etanola i diskriminativnih poticajnih učinaka etanola (Kostowski, 1996). Smatra se da se 5-HT<sub>3</sub> receptori, koji su ključni za konzumaciju etanola, nalaze na dopaminergičnim neuronima u nukleus akubensu (Kostowski, 1996).

## 1.2 Serotonin

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) nastaje hidrosilacijom i dekarboksilacijom triptofana.



Slika 1.2. Sinteza serotonina (5-HT)

Kratice: TPH – triptofan hidroksilaza; 5-HTP – 5-hidroksi-L-triptofan; AADC – aromatična L-amino kiselina dekarboksilaza; DHPR – dihidropteridin reduktaza; H<sub>2</sub>B – dihidrobiopterin; H<sub>4</sub>B - tetrahidrobiopterin

### 1.2.1 Periferni serotonin

Najveća koncentracija 5-HT-a nalazi se u enterokromatofilnim stanicama gastrointestinalnog trakta odakle je prvi put izoliran (Erspamer et al 1937). Supstanca koja ima ulogu vazokonstriktora izolirana je iz krvnog seruma (Rapport et al, 1948), međutim, tek se 1952. godine shvatilo da je to ista tvar koju je Erspamer izolirao desetljeće ranije. No osim uloge vazokonstriktora 5-HT je vrlo bitan u trombocitima, koji ga skladište iz krvne plazme, a 5-HT se otpušta prilikom agregacije trombocita i stvaranja trombocitnog ugruška. U respiratornom i probavnom sustavu 5-HT djeluje stvarajući peristaltičke kontrakcije glatkih mišića. Funkcija 5-HT-a ovisi o tome na koji se specifični receptor veže. Pronađeno je i identificirano je nekoliko vrsta 5-HT 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>. Mnogi od receptora kooperativno su povezani sa G proteinima koji djeluju na aktivnost adenilat-ciklaze i fosfolipaze Cy. Postoje naznake da je serotoninški receptor 5HT<sub>2C</sub> bitan nad kontrolom unosa hrane u organizam (Hayashi i sur., 2004; Schuhler i sur., 2005; Miller, 2005), te da receptori 5-HT<sub>4</sub> sudjeluju u procesu peristaltike crijeva (Gullikson i sur., 1993) što može dovesti do razvoja novih lijekova za kontrolu bolesti probavnog sustava (De Maeyer i sur., 2008).

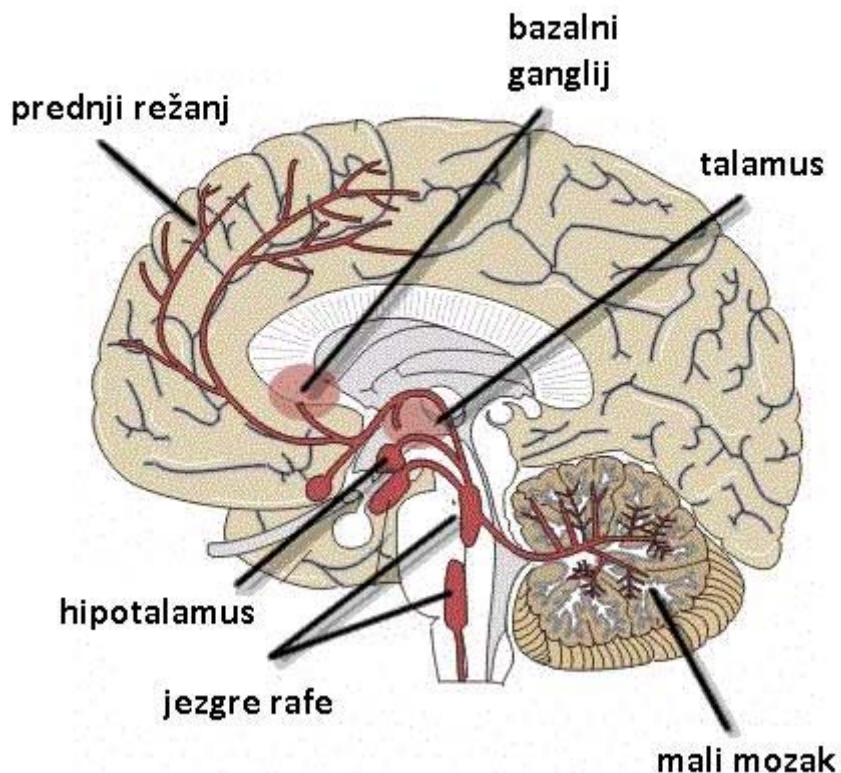
### 1.2.2 Središnji serotonin

Serotonin je monoamin koji u mozgu ima ulogu neurotransmitera. Središnji 5-HT je jako važan neurotransmiter u SŽS-u gdje se sintetizira u serotonergičnim neuronima, otpušta u sinaptičku pukotinu te vezajući se za odgovarajuće receptore dovodi do eksitacijskog ili inhibicijskog učinka. U središnjem dijelu ponsa i produljene moždine nalazi se nekoliko tankih jezgara, a zovu se jezgre rafe. U njima se nalaze mnogi neuroni čija je zadaća sintetiziranje i otpuštanje 5-HT-a. Njihovi aksoni prodiru u mnoge moždane regije, amigdalnu, nukleus akubens i regije prednjeg mozga te utječu na emocionalne reakcije, ponašanje, kognitivne funkcije i anksioznost. Neuroni koji sintetiziraju 5-HT moduliraju aktivnost kortikalnih i subkortikalnih neurona na taj način da na njihove receptore djeluju: eksitacijski, inhibicijski ili i ekscitacijski i inhibicijski. Aksoni neurona jezgara rafe koji inerviraju hipokampus posreduju u procesu tolerancije podražaja i poticanja relaksacije.

Serotonin ne prelazi krvno moždanu barijeru, no prekursor za sintezu 5-HT, aminokiselina triptofan, prelazi barijeru te se 5-HT neovisno sintetizira u neuronima. U

živčanom sustavu služi kao neurotransmiter, ali je uloga 5-HT u biološkim sustavima mnogo složenija i kompleksnija. Ima izrazito važnu neuroendokrinološku ulogu te kontrolira regulaciju osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda (Dinan i sur., 1996). 5-HT kontrolira regulaciju kortikotropnog hormona (CRH) paraventricularne jezgre hipotalamusa koji djeluje na sekreciju adrenokortikotropnog hormona i glukokortikoida. Kompleksnost 5-HT sustava upotpunjuju glukokortikoidi i kateholamini koji utječu na tu os prilikom stresa (Dinan i sur., 1996). Serotonin zbog širokog spektra djelovanja ima veliki značaj u reguliranju stanja svijesti, spavanja, anksioznosti i depresivnih stanja, hranjenja, imulzivnosti, agresije, suicidalnog ponašanja, napada panike, ovisnosti, itd. (Lucki, 1998; Stahl, 1998).

U vrste *Aplysia* postoji serotoniniski olakšan prijenos između senzornih i motornih neurona, a djelovanje 5-HT može biti olakšano djelovanjem posrednika 3'-5'-monofosfat (ciklički AMP) (Brunelli i sur., 1976). Pri toj kaskadnoj reakciji povećava se unutarstanična koncentracija cAMP-a što rezultira zatvaranjem S-K<sup>+</sup> kanala i širenjem presinaptičkog akcijskog potencijala (Abrams i sur., 1984.)

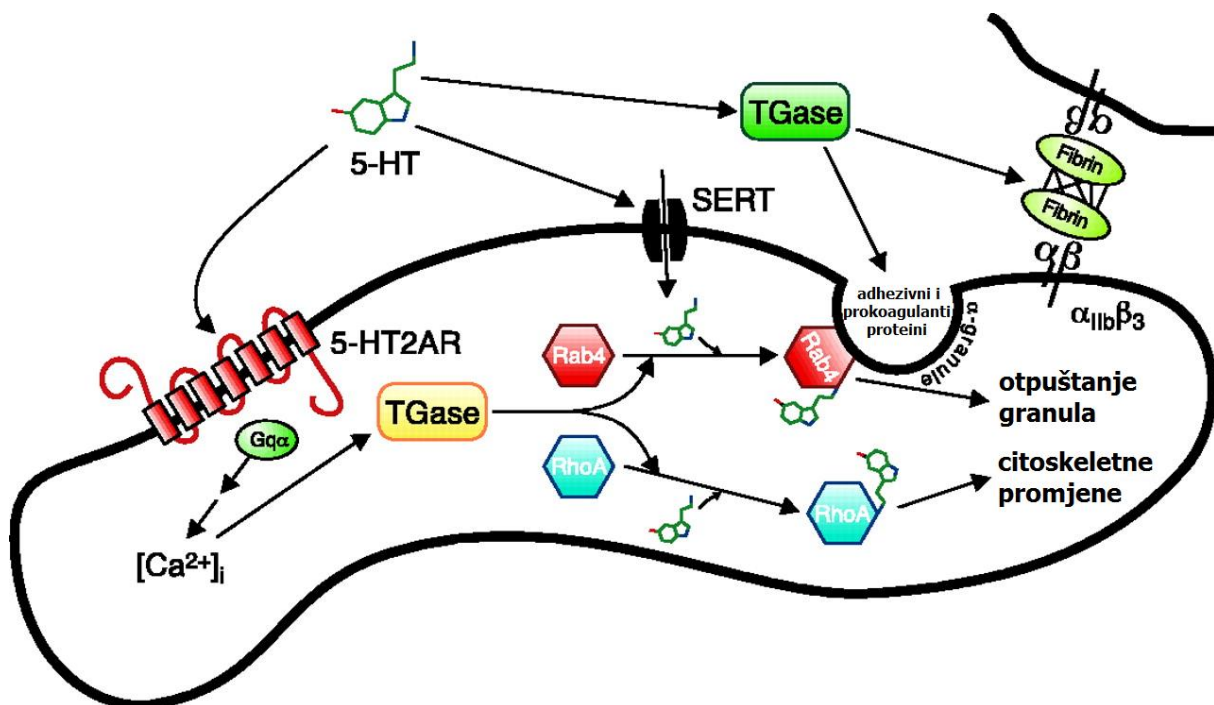


Slika 1.3. Serotonergični putevi u mozgu

### 1.2.3 Trombocitni serotonin

Trombociti imaju funkcionalnu ulogu u procesu hemostaze i zaustavljanju krvarenja. Krvne pločice, 2 – 4  $\mu\text{m}$  u promjeru, okruglog su ili ovalnog oblika i sastavna su komponenta krvi gdje se po litri može izbrojati 150 – 350  $\times 10^9$  trombocita. Sve krvne stanice nastaju diferencijacijom pluripotentne hematopetske matične stanice. Iz matične stanice daljnjim slijedom diferencijacija nastaje mijeloblast iz kojeg se stvara megakariocit. Trombociti nastaju fragmentcijom megakariocita u koštanoj srži, iz koje ulaze u krvotok. Životni vijek krvnih pločica je 8 – 12 dana nakon čega ih makrofazi uklanjaju iz cirkulacije.

Pri procesu zaustavljanja krvarenja, trombociti imaju izrazito važnu ulogu. Ukoliko je pukotina na žili malena, agregacijom krvnih pločica u trombocitni čep potpuno se zaustavlja krvarenje, no za zaustavljanje većeg krvarenja uz trombocitni čep se stvara i krvni ugrušak.



Slika 1.4. Unos, pohranjivanje i djelovanje 5-HT na procese aktivacije trombocita.

Serotonin sintetiziran u enterokromatofilnim stanicama gastrointestinalnog trakta izlučuje se u krvnu plazmu. Trombociti ne mogu sintetizirati 5-HT zbog nedostatka enzima odgovornih za sintezu 5-HT, a to je triptofan hidroksilaza, te 5-HT iz krvne plazme pomoću serotoniniskog transmembranskog prijenosnika (5-HTT ili SERT) ulazi u stanicu i pohranjuje se u gustim granulama (slika 1.4). Serotoninskom stimulacijom 5-HT receptora (5-HT<sub>2A</sub>) dolazi do povećanja unutarstaničnog kalcija. Kalcij aktivira transglutaminazu koja omogućuje



vezanje 5-HT za Rab4 i RhoA, te blokiranjem GTP hidrolaze postaju neprestano aktivni. Aktivacijom Rab4 i RhoA dolazi do preuređenja citoskeleta i egzocitoze a granule. Iz  $\alpha$ -granula oslobodaju se faktori zgrušavanja čijom se 5-HT transamidacijom povećavaju adhezivna svojstva. Faktori su lokalizirani na membranski prostor trombocita gdje mogu sudjelovati u daljnjim procesima aktivacije trombocita (Heger i Collins, 2004).

## **1.3 Suicidalno ponašanje**

### **1.3.1 Suicidalno ponašanje općenito**

Prema definiciji Svjetske Zdrastvene Organizacije samoubojstvo je čin namjernog ubojstva samog sebe. Faktori rizika za samoubojstvo uključuju psihičke poremećaje (depresija, poremećaj ličnosti, ovisnost o alkoholu, shizofrenija) i fizičke bolesti (neurološki poremećaji, infekcija HIV-om, tumori).

Problematikom suicidalnosti bavili su se mnogi antički mislioci (Platon, Sokrat, Vergilije). Kroz srednji vijek zastalo je znanstveno proučavanje suicidalnosti sve do 19. stoljeća kad se medicina prihvaća problematike tumačenja suicidalnog ponašanja. Medicina 19. stoljeća se u potpunosti oslanja na anatomiju čovjeka te se pogrešno uočava da samoubojice imaju određene anatomske specifičnosti. U proučavanu suicidalnosti značajniji pomak napravio je francuski sociolog Durkheim. U svojem tumačenju suicidalnosti razlikuje četiri sociološke kategorije samoubojstava: egoističko, altruističko, anomičko i fatalističko. No takva klasifikacija u kategorije nije pridonijela objašnjenju razloga samoubojstva, te se spoznalo da je kontraproduktivno klasificirati osobe u pojedine dijagnostičke kategorije, već bi nastojanje liječnika trebalo biti upoznavanje ličnosti pogođene osobe i njezine interakcije sa okolinom. Nastojalo se potom kliničkim putem objasniti suicidalnost i došlo se do druge važne spoznaje: postoje osobe koje život završe samoubojstvom i one koje čin započnu, ali ga ne dovrše. U tom pogledu razlikujemo suicid i parasuicid (pokušaj samoubojstva). Freud smatra da životom vladaju dvije vrste nagona: Eros – seksualni nagon i Thanatos – nagon za smrću. Prema njegovom mišljenju cilj Thanosa je da organski život vrati u neživo stanje, a cilj Erosa je udruživanje čestica rasprsnute žive supstancije. Prema Fruedu život je kompromis tih dviju težnji.

Prema statističkim podacima Svjetske Zdrastvene Organizacije stopa samoubojstva na 100 000 stanovnika, gledano samo za europski kontinent, razlikuje se od zemlje do zemlje.

Najviše stope zabilježene su u Istočnoj Europi, Bjelorusiji (63,3 M, 10,3 Ž) i Rusiji (53,9 M, 9,5 Ž), dok su najniže stope u Južnoj Europi, Albaniji (4,7 M, 3,3 Ž) i Grčkoj (5,9 M, 1,2 Ž).

Na uzorku populacije Sjedinjenih Američkih Država vidljivo je da se na 100 000 stanovnika javlja 20 samoubojstva godišnje, a ta brojka je konstanta kroz više desetljeća. Izuzetak su godine velike depresije, za koje vrijeme je značajno povećan broj samoubojstava, i drugi svjetski rat, koji je doprinio značajnom smanjenju broja samoubojstava. Procjenjuje se da je broj pokušaja samoubojstava do deset puta veći od počinjenih.

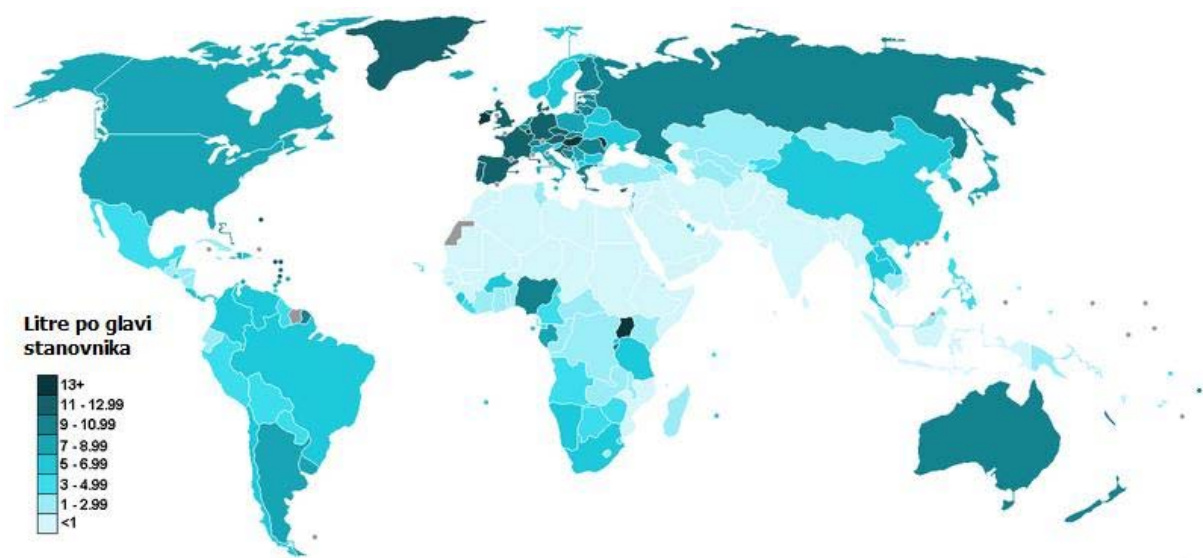
Radi tako velikog broja samoubojstava i pokušaja samoubojstava, sve bi liječničke ordinacije trebale biti preventivne stanice, svi bi liječnici trebali djelovati zajedno i sakupljati podatke, provoditi program javnog obrazovanja i zatražiti pomoć medija u nastojanju da se smanji postotak samoubojstava (Kern, 1953).



Slika 1.5. Čin samoubojstva

### 1.3.2 Suicidalno ponašanje u alkoholičara

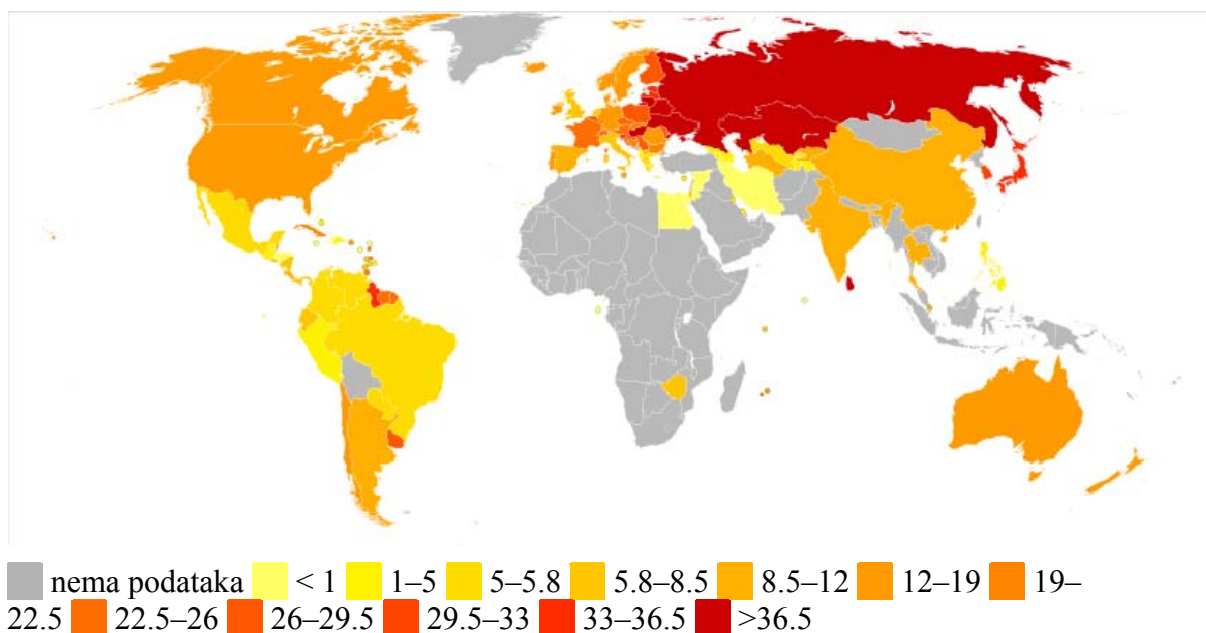
Periodički ponavljana istraživanja u 13 zemalja u periodu 1950. – 1970. godine pokazala su da stopa samoubojstva i ubojstva obično, ne uvijek, korelira sa konzumacijom alkohola po glavi stanovnika (Lester, 1994). Elementi koji vjerovatno pridonose suicidalnom ponašanju u alkoholičara su: a) ovisnost o alkoholu često dovodi do društvenog pada – razvoda, gubitka radnog mjesta i poremećaja obiteljskih veza, a posljedica je društvena izolacija što je potentni uzrok samoubojstva; b) uslijed ovisnosti dolazi do gubitka samopoštovanja i javlja se depresija, ili druge psihijatrijske bolesti, a takva psihološka stanja pogoduju razvoju suicidalnog ponašanja; c) intoksikacijom alkohola povećava se impulsivnost, i umanjuju se ograničenja za po život opasnih ponašanja (Kendall, 1983).



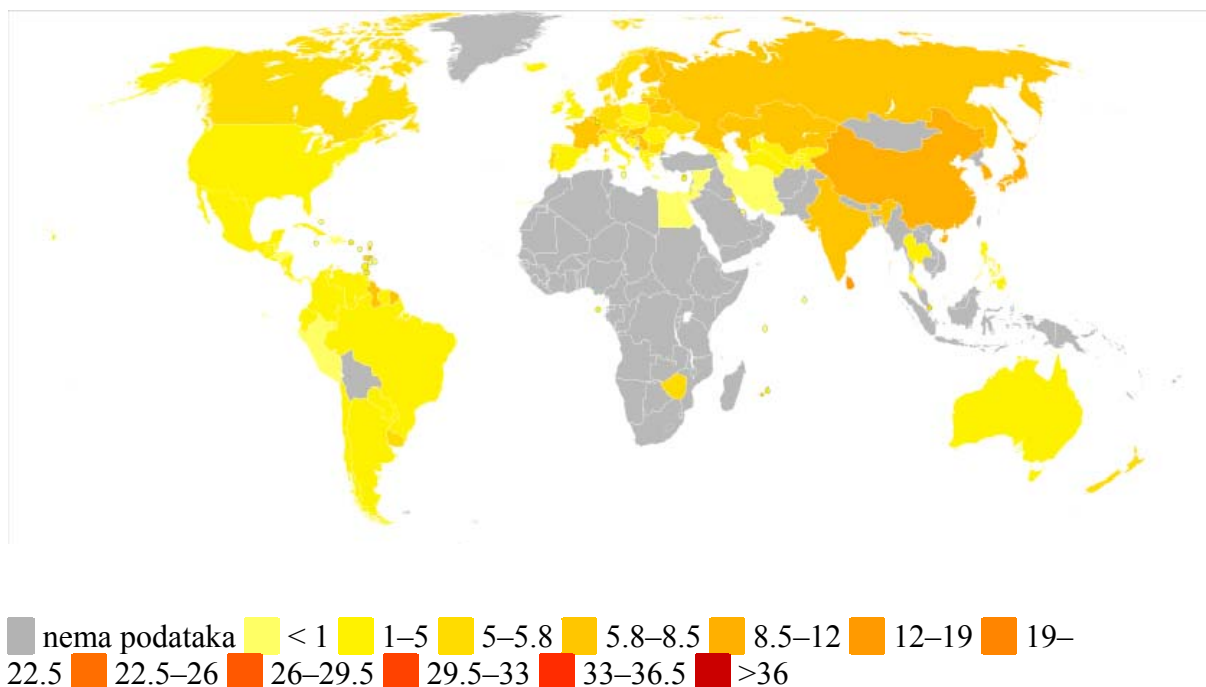
Slika 1.6 Konzumacija alkohola (u litrama) po glavi stanovnika. Izvor: WHO 2008.

Mnogo je psiholoških poremećaja vezanih uz prekomjerno konzumiranje alkohola: delirium, demencija, amnezija, psihoze, promjene raspoloženja, anksioznost, seksualna disfunkcija. Suicidalnost je poremećaj koji može, ali i ne mora biti vezan za alkoholizam. Zloupotreba alkohola je predispozicija za suicidalno ponašanje, kroz čiju se zloupotrebu razvija depresija kroz koju osoba drugačije doživljava nepovoljne životne događaje, i za oba uzorka ponašanja postoji mogućnost da dijele zajedničke genetičke predispozicije (Brady, 2006). Pokušaj suicida zabilježen je u 43% osoba koje su bile u programu odvikavanja od alkohola; od kojih je u 63% zabilježena impulsivnost (Wojnar i sur., 2009). Depresivne osobe, a posebice one sklone alkoholu, su agresivnije i impulsivnije, i sa mnogo većom vjerojatnošću

da su bile zlostavljane u djetinjstvu, pokušavale počiniti samoubojstvo i bile ovisnici o duhanu (Sher i sur., 2005).



Slika 1.7 Stopa samoubojstva na 100 000 muškaraca. Izvor: WHO 2009.



Slika 1.8 Stopa samoubojstva na 100 000 žena. Izvor: WHO 2009.

### 1.3.3 Suicidalno ponašanje i serotonin

U posljednja tri desetljeća, koliko se vrše istraživanja vezana uz suicidalno ponašanje, došlo je do značajnih pomaka u otkrivanju genetskih čimbenika koji mogu utjecati na suicidalno ponašanje. Najizgledniji kandidati koji se uzimaju u obzir su serotoniniski transporter (5-HTT ili SERT), triptofan hidrokilaze (TPH), neki serotoniniski receptori (5HT1A, 5HT1B, 5HT2A), katehol-o-metiltransferaza (COMT), monoaminoooksidaza A i B (MAO-A, MAO-B) i tirozin hidroksilaza (TH).

Tijekom godina proučavanja, depresiju i suicidalnost povezalo se sa promjenama serotonergičnih neurona i ciljnih receptora na koje djeluju, a pronađene su regionalne različite neurobiološke poveznice suicidalnosti i depresije (Arango i sur., 2002). Predložena uzročno posljedična veza 5-HT i suicidalnog ponašanja (Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 1997a) bila je pod pitanjem u preglednom radu (Mueller-Oerlinghausen i sur., 2004), no u zaključku su ti autori postavili ista principe za istraživanje suicidalnosti kao i Muck-Šeler i suradnici (1996): da se treba voditi računa o spolu ispitanika, podtipu depresije, sezoni uzimanja krvi, dovoljnoj veličini uzoraka, određivanju jačine suicidalnog ponašanja, odjeljivanju suicidalnog ponašanja od suicidalnih pokušaja i drugo. Sa sigurnošću je pokazano da osobe sklone suicidalnom ponašanju imaju promijenjenu 5-HT funkciju. Suicidalno ponašanje, često komorbidno s alkoholizmom, ukazuje na disfunkcionalnost serotonergičnog sustava u alkoholičara (Dubovsky i Thomas 1995; Grunewald, 1995; Veenstra-Vander Weele i sur., 2000; Gorwood, 2001; Muller-Oerlinghausen i sur., 2004). Genska istraživanja serotonergičnih mehanizama su pokazala da je određeni genotip serotoniniskog transportera povezan sa pokušajima ponavljanja samoubojstva (Courtet i sur., 2004). Nije potvrđena povezanost aktivnosti MAO-B i suicidalnosti (Lewitzka i sur., 2007). Proučavanjem ekspresije gena za 5-HTT te triptofan hidroksilazu tipa 1 i 2 (TPH) u ventralnom prefrontalnom korteksu pronađeno je da je povećana ekspresija TPH2 gena u osoba koje su počinile samoubojstvo (Perroud i sur., 2010). Smanjene funkcije središnjeg serotonergičnog sustava su povezane sa suicidalnim ponašanjem (Mann, 1998). Agresivno ponašanje koje se manifestira kroz samoranjavanje ili samoubojstvo povezano je sa smanjenom količinom 5-HT metabolita 5-hidroksiindolactene kiseline cerebrospinalnoj tekućini (Asberg i sur., 1976).

## 2. CILJ RADA

Abnormalna aktivnost središnjeg 5-HT sustava povezuje se mnogim psihičkim poremećajima kao što su alkoholizam (Gorwood, 2001), depresija (Maes i Melzer, 1995), impulsivna agresivnost (Coccaro 1989), shizofrenija (Bleich i sur., 1988; Iqbal i van Praag, 1995), post-traumatski stresni poremećaj (PTSP), (Davis i sur., 1997; Pivac i sur., 2007), te različitim poremećajima ponašanjima kao što je suicidalno ponašanje (Bräunig i sur., 1988; Stanley i Stanley, 1990; Nordström i Asberg, 1992; Twichell i sur., 1998). Ovisnici o alkoholu često pokazuju impulzivnost, agresiju i suicidalno ponašanje (Sher i sur., 2006). Središnji serotonergički neuroni i trombociti dijele slične biokemijske procese (Stahl i sur., 1985; Camacho i Dimsdale, 2000), te se stoga u svrhu lakšeg proučavanja određenih abnormalnih stanja vezanih za središnje serotonergičke sinaptosome ponekad trombociti koriste kao lako dostupan periferni model za proučavanje procesa koji su slični u mozgu i na trombocitima. Ti procesi su: to unos, uskladištenje i oslobađanje 5-HT i ti su farmakodinamski procesi istovjetni u trombocitima i središnjim serotonergičnim sinaptosomima (Stahl i sur., 1985; Andres i sur., 1993, Mendelson, 2000; Goveas i sur., 2004). Neki se trombocitni serotonergični pokazatelji dovode u korelaciju sa određenim psihopatološkim poremećajima (Jackman i sur., 1983; Stahl i sur., 1985). Snižena koncentracija 5-HT u trombocitima može poslužiti kao pokazatelj za predviđanje suicidalnog ponašanja u osoba sa različitim psihijatrijskim oboljenjima kao što su depresija (Mück-Šeler et al., 1996; Pivac i sur., 1997a), akutna psihoza (Marčinko i sur., 2007) i PTSP (Kovačić i sur., 2008). Suicidalno ponašanje često je vezano za impulsivno ponašanje i depresiju (Sher i sur., 2005a), te depresiju i alkoholizam (Sher, 2005b). Osobe ovisne o alkoholu, sklone suicidalnom ponašanju, imaju sklonosti impulsivnom i agresivnom ponašanju (Koller i sur., 2002), dok se smanjena serotoninska aktivnost povezuje sa povećanjem agresivnosti i impulsivnosti (Dolan i sur., 2001). Prilikom unosa alkohola povećava se razina serotoninskih metabolita u urinu i krvi (Lovinger, 1999).

U skladu s dosadašnjim saznanjima može se uočiti povezanost i međudjelovanje alkoholizma, suicidalnog ponašanja i serotonergičnog sustava. Koncentracija trombocitnog 5-HT različita je u muškaraca i žena (Muck-Šeler i sur., 1999; Pivac i sur., 2001; Pivac i sur., 2003) te smo radi tih razlika sve ispitanike podijelili prema spolu. Budući da je trombocitni 5-HT promijenjen u depresiji (Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 1997a; Muck-Seler i sur.,

2005), ali i u alkoholizmu (Pivac i sur., 2008), skupine ovisnika o alkoholu smo podijelili u dvije podgrupe, kronične ovisnike o alkoholu bez komorbidne depresije i ispitanike sa kroničnim alkoholizmom i komorbidnom depresijom. Kako je do sada pokazano da su periferni trombocitni serotonergični pokazatelji promijenjeni u ovisnika o alkoholu, koji su osim alkoholizma razvili i antisocijalni poremećaj ličnosti, koji je karakteriziran sa jako izraženim agresivnim ponašanjem (Schmidt i sur.,1997), no pokazano je također da su periferni trombocitni serotonergični pokazatelji promijenjeni u ovisnika o alkoholu bez antisocijalnog poremećaja ličnosti (Pivac i sur., 2004; Pivac i sur., 2008), u ovom smo radu željeli istražiti može li se koncentracija trombocitnog 5-HT koristiti i kao pokazatelj suicidalnog ponašanja u ovisnika o alkoholu. Naime, suicidalno ponašanje je također vrsta agresivnog ponašanja no ta je agresija usmjerena prema samome sebi. U našem su radu ovisnici o alkoholu bili podijeljeni prema suicidalnom ponašanju na one sa suicidalnim ponašanjem i one bez suicidalnog ponašanja. Suicidalno ponašanje određeno je prema podpitanju 3 na Hamiltonovoj ocjenskoj skali za depresiju, dok su suicidalni pokušaji tijekom života određeni prema anamnestičkim podacima prikupljenim tijekom strukturiranog psihijatrijskog kliničkog intervjua. U istraživanje su bile uključene osobe s kroničnom ovisnošću o alkoholu koje prije uzimanja uzoraka nisu liječene psihotropnim lijekovima, jer psihofarmaci mogu utjecati na koncentraciju trombocitnog 5-HT (Muck-Šeler i sur., 2002; Pivac i sur., 2003).

## **2.1 Hipoteza**

Hipoteza ovog istraživanja je da je suicidalno ponašanje u ovisnika o alkoholu povezano sa sniženom koncentracijom trombocitnog 5-HT.

## **2.2 Opći cilj**

Opći cilj rada jest odrediti koncentraciju trombocitnog 5-HT u osoba ovisnih o alkoholu koji su primljeni na liječenje od alkoholizma u Psihijatrijsku bolnicu Vrapče i bili su podijeljeni na ovisnike s alkoholizmom sa ili bez komorbidne depresije, a prema suicidalnom ponašanju podijeljeni su na one sa ili bez suicidalnog ponašanja, te na one koji jesu ili nisu pokušali izvršiti suicid.

Pretpostavka je da bi ovaj lako dostupan periferni biokemijski pokazatelj mogao doprinijeti i biologijskom razlikovanju između suicidalnih i nesuicidalnih ovisnika o alkoholu, a taj bi podatak mogao pomoći u procjeni odabira najučinkovitijeg liječenja kako bi se izbjegli suicidalni pokušaji i izvršeni suicidi u skupini ovisnika o alkoholu koji su skloni suicidalnom ponašanju i pokušajima suicida.



## **3. MATERIJALI I METODE**

### **3.1 *Skupine ispitanika***

#### **3.1.1 Ovisnici o alkoholu**

U istraživanje je bilo uključeno 327 muškaraca i 87 žena iz iste etničke sredine. Ispitanici su bili bijele rase, hrvatskog porijekla, i nisu konzumirale lijekove. Svi su bolesnici bili kronični alkoholičari, dakle razvili su kroničnu ovisnost o alkoholu. Ovisnost o alkoholu i komorbidnu depresiju dijagnosticirao je psihijatar putem strukturiranog kliničkog intervjua (SCID), prema Dijagnostičkom i statističkom priručniku za mentalne poremećaje (DSM), IV revizija (APA, 1994). Osobe sa ovisnosti o alkoholizmu primljene su u Psihijatrijsku bolnicu Vrapče uslijed simptoma sustezanja povezanih sa ovisnosti o alkoholu. Simptomi sustezanja bili su nepsihotičnog tipa, koji su bili povećani tjedan dana prije prijema u bolnicu. Većina pacijenata bila je u stanju akutne intoksikacije alkoholom. Stoga je razgovor i uzimanje uzoraka bilo provedeno nakon što su se bolesnici otriježnili, a to je bilo najmanje 12 sati nakon prijema u bolnicu. Pacijenti oboljeli od alkoholizma nisu liječeni psihotropnim lijekovima prije uzimanja uzoraka krvi.

Na osnovi SCID-a i opsežnog psihijatrijskog razgovora, pacijenti oboljeli od alkoholizma bili su podijeljeni na bolesnike sa ili bez komorbidne depresije. U skupine ovisnika o alkoholu bilo je uključeno 307 muškaraca bez depresije i 20 muškaraca sa komorbidnom depresijom, te 79 žena bez depresije i 8 žena sa komorbidnom depresijom. Uz komorbidnu depresiju koja najčešće prati kronični alkoholizam, osobe oboljele od alkoholizma razvile su u manjoj mjeri i druge komorbidne psihijatrijske poremećaje kao što su zlouporaba droga, shizofrenija, anksiozni poremećaj, anksiozno depresivni poremećaj, akutne stresne reakcije, posttraumatski stresni poremećaj (PTSP), poremećaj ličnosti, mentalna retardacija, disocijativan poremećaj, organski mentalni poremećaj, poremećaj raspoloženja, fobični anksiozni poremećaj i poremećaj prilagodbe. Pacijenti su također bili podijeljeni prema tipu I i tipu II alkoholizma, prema Cloningeru. Tip II uključuje ispitanike koji su počeli redovito pretjerano konzumirati alkohol prije 25 godine života, dok su

alkoholičari tipa I osobe koje su počele zloupotrebljavati alkohol nakon 25 godine života i smatra se da je taj poremećaj blažeg tipa (Cloninger i sur., 1996).

Prema SCID-u i psihijatrijskom razgovoru, suicidalno ponašanje ocijenjivano je prema dva kriterija. Osobe ovisne o alkoholu bile su podjeljene u dvije skupine, na suicidalne i nesuicidalne, a temeljem podpitanja za suicidalnost (treće podpitanje) na Hamiltonovoj ocjenskoj skali za depresiju (eng. Hamilton Rating Scale for Depression ili HAMD) koja se sastoji od 17 podpitanja (Hamilton, 1960). Takvu su podijelu predložili Roggenbach i suradnici (Roggenbach i sur., 2007). Ovisnici o alkoholu bez suicidalnog ponašanja imali su 0 bodova na trećem podpitanju (što znači odsutnost suicidalnog razmišljanja i ideja i planova), dok su ovisnici o alkoholu sa suicidalnim ponašanjem imali 1 ili više bodova na skali HAMD. Ovisnici o alkoholu koji su imali suicidalno ponašanje mogli su imati 1-4 boda na toj skali. Podskala 3 na HAMD dijeli se na one sa 0 bodova: suicidalno ponašanje nije prisutno, 1 bod: osoba osjeća da život nema vrijednosti, da nije vrijedno živjeti, 2 boda: želja za smrću ili bilo koje misli o mogućoj smrti, 3 boda: osoba ima suicidalne misli ili geste i 4 boda: pokušaji samoubojstva.

Budući da HAMD ocjenjuje suicidalno ponašanje u zadnjih tjedan dana, dodatni strukturirani psihijatrijski intervju upotrijebljen je da se procijene pokušaji samoubojstva tijekom cijelog života. Stoga, ista grupa pacijenata sa alkoholizmom, sa ili bez komorbidne depresije, bila je prema kriteriju pokušaja samoubojstva tijekom života podijeljena na one koji su pokušali izvršiti samoubojstvo bilo kada tijekom života i na one koji nisu pokušali izvršiti samoubojstvo.

### **3.1.2 Kontrolni ispitanici**

U kontrolnoj skupini bilo je uključeno 425 muškaraca ( $M = 43,04$ ;  $SD = 13,31$  godina) i 156 žena ( $M = 39,4$ ;  $SD = 11,77$  godina) kao zdravih ispitanika bez osobne ili obiteljske povijesti psihopatologije i/ili zlouporabe opijata ili alkohola, bez povijesti pokušaja samoubojstva ili obiteljskih pokušaja samoubojstava, bez trenutnog medicinskog tretmana, bez zdravstvenih problema sa jetrom ili bubrezima, koji nisu konzumirali alkohola najmanje tijekom posljednjih 24 sata. Zdravi ispitanici bili su odabrani među osobama koje su dolazile na redovite medicinske preglede u Klinički bolnički centar Zagreb ili u Kliničku bolnicu Dubrava. Svi sudionici ispunili su upitnike vezane za povijest bolesti i navike uživanja u

alkoholnim pićima. Uzorkovanje pacijenata i zdravih kontrola bilo je izvršeno u istom periodu godine. Pismena potvrda pristanka bila je dobivena od svih sudionika, pod procedurom odobrenom od lokalnih etičkih povjerenstava. Studija je bila izvršena u skladu s načelima Helsinške deklaracije.

### **3.2 Određivanje koncentracije trombocitnog 5-HT**

Uzimanje krvi bolesnicima sa ovisnosti o alkoholizmu bilo je učinjeno kada su pacijenti bili trijezni, tj. najmanje 12 sati nakon prijema na odijel, odnosno obično nakon njihova triježnjenja u 8 sati ujutro. Zdravim kontrolama vađena je krv također u 8 sati ujutro. Uzorci krvi (8ml) bile su pohranjivane u plastične epruvete zajedno sa 2 ml antikoagulansa kisele citratne dekstroze (ACD). Koncentracija trombocitnog 5-HT u trombocitima određivana je spektrofluorimetrijskom metodom, kao što je prethodno opisano (Pivac i sur., 2004). Granica detekcije ove metode je 10.0 ng/uzorku, a intra- i inter-varijabilnost varijacije iznosi 3.66% i 8.69%. Koncentracije trombocitnih proteina su bile mjerene metodom po Lowry-ju (1951).

#### **3.2.1 Priprema trombocita iz krvi**

Uzorci krvi od ispitanika uzimali su se u jutarnjim satima, do 8 ujutro, dok su pacijenti natašte. Vadi se 8 ml krvi i sprema u vakutaner epruvete u koje je prethodno stavljeno 2 ml antikoagulansa ACD-a. Trombociti se moraju izdvojiti u periodu od 24 sata prilikom kojih krv mora stajati na temperaturi od +4°C. Smjesa krvi i ACD-a u epruветama postavi se na roler, miješa 10 minuta i prebaci u centrifugu 3 minute na 1831g. Pri centrifugiranju odvoji se supernatant, plazma bogata trombocitima, od crvenog taloga punog eritrocita i proteina. Pipetom vadimo supernatant i razdvajamo ga u dvije plastične epruvete, pazeći da u svaku epruветu ulijemo jednake volumene i stavimo ih u centrifugu 15 minuta na 5086g. Nakon centrifugiranja trombociti ostaju u talogu, a supernatant se odlije i spremi na -80°C. Talog, bogat trombocitima, ispere se s 2 ml fiziološke otopine i stavi u centrifugu 15 minuta na 5086g. Supernatant se odlije, a trombociti se sprema u plastičnu epruветu i pohrane na -20°C prije postupka određivanja koncentracije 5-HT. Trombociti mogu biti zamrznuti najduže tjedan dana. Koncentracija trombocitnog 5-HT određuje se spektrofluorimetrijskom metodom (Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 2001). Trombociti su razbijeni u sonikatoru (20 kHz,

aplituda  $8 \times 10^{-3}$  mm, 30 sek), a potom se sonikati trombocita, uzorci standarda i slijepe probe (blank) koju čini deionizirana voda, analiziraju u duplikatu. Svi uzorci se deprotoniziraju 1 ml 10% ZnSO<sub>4</sub> i 0,5 ml NaOH i u njih za pripremu fluorofora doda 0,2 ml L-cisteina (0,1 %) i 1,2 ml ortoftalaldehida (0,05 %). Time je postignuto pomicanje maksimuma fluorescencije i ekscitacije na višu valnu duljinu kako bi se postigla razlika za interferirajuće spojeve koji pri istim valnim duljinama fluoresciraju. Fluorescencija 5-HT mjeri se Varian Cary Eclipse spektrofluorimetrom pri valnim duljinama 345/485 nm, a koncentracija trombocitnih proteina određena je Lowry (Lowry i sur., 1951.) metodom.

### 3.2.2 Postupak određivanja 5-HT

Talogu trombocita doda se 1,5 ml deionizirane vode (Q H<sub>2</sub>O) i dignuti se talog dobro izmiješa na ciklomikseru. Uzorak se potom stavlja u sonikator na 30 sekundi. Označe se plastične epruvete i u njih se doda 1,2 ml sonikata ili 1,2 ml standarda ili 1,2 ml deionizirane vode (slijepa proba ili blank). U svaku od njih (uzorci, standard, blank) doda se 1 ml ZnSO<sub>4</sub> što se dobro izmiješa u ciklomikseru. Potom se u epruvete doda 0,5 ml NaOH (pohranjene na sobnoj temperaturi) i opet se izmiješa na ciklomikseru. Uzorci trebaju odstajati 5 minuta, a onda se stavljaju u centrifugu 10 minuta na 10 000 rpm (Centrifuga Sorwall, +4°C). Iz supernatanta uzme se 2 ml i prenese u dugačke staklene epruvete u koje se doda 0,2 ml L-cisteina (0,1 % otopina u 0,1 N HCl), 1 ml OPT (0,05% otopina u N HCl) što se kuha 10 minuta u kipućoj vodi (100°C). Dobivena smjesa stavlja se u Varian Cary Eclipse spektrofluorimetar i pri valnim duljinama 345 nm / 485 nm vrši se očitavanje rezultata.

#### Priprema standarda

Matična (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:

- 1,5 QH<sub>2</sub>O                                      10 % ZnSO<sub>4</sub> → 5g ZnSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O u 50 ml QH<sub>2</sub>O
- soniciranje
- 1,2 ml sonikata
- 1,0 ml ZnSO<sub>4</sub>
- 0,5 ml NaOH                                      1N NaOH → 4g NaOH u 10 ml QH<sub>2</sub>O
- 5 min odstoji                                      0,1 N HCl
- 10' 10000 rpm
- 2,0 ml supernatanta
- 0,2 ml L-cistein                                      0,1 % L-cistein → 10 mg cisteina u 10 ml
- 1,0 ml OPT    0,05 % OPT → u 50 ml 10N HCl otopi se
- 10 min kuhati u H<sub>2</sub>O (100°C)                                      25 mg OPT-a
- mjerenje 345 nm / 485 nm

## Određivanje 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 N HCl	(12,5 µg)
0,2 ml + 0,2 ml 0,1 N HCl	(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

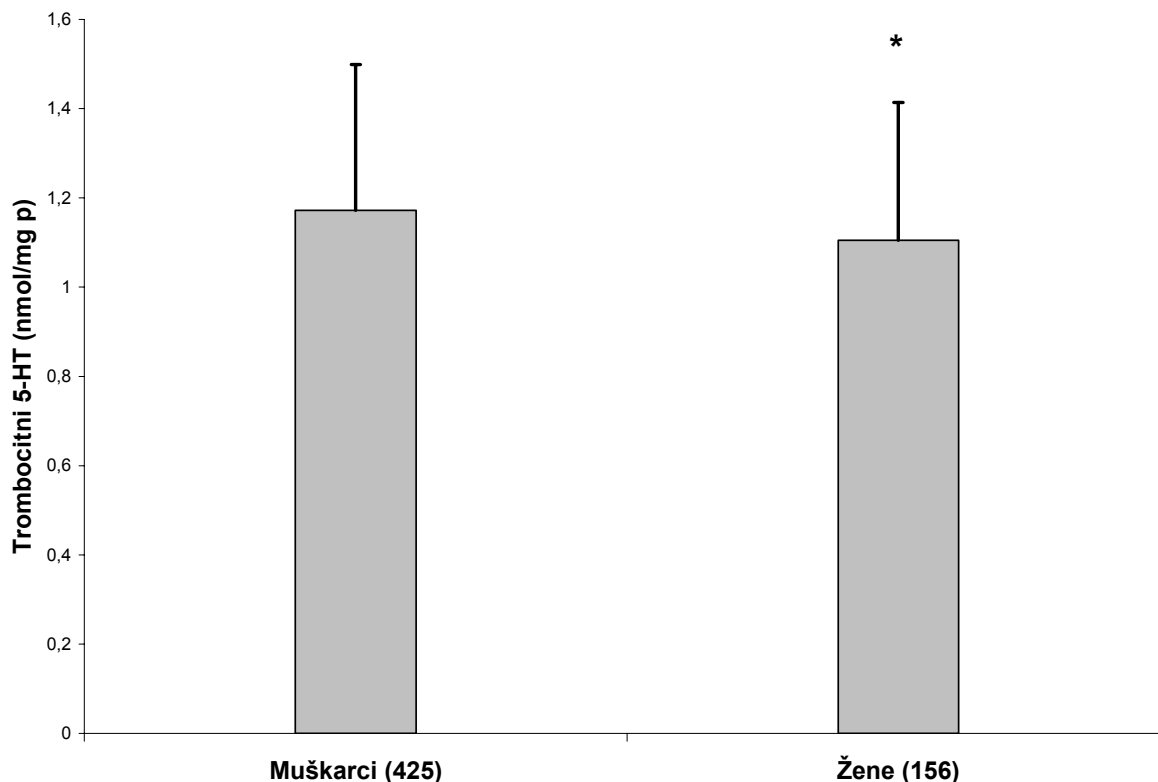
Na 10 ml uzorka doda se 2 ml ABC smjese. Smjesa se ostavi da miruje 10 minuta, a potom se doda 0,2 ml folina (omjer 1:1). Smjesa se ponovno ostavi da miruje 30 minuta i zatim se na spektrofotometru mjeri apsorbancija pri valnoj duljini 700 nm.

### **3.3. Statistička analiza podataka**

Statistička analiza rezultata, izraženih kao srednje vrijednosti  $\pm$  standardna devijacija (SD), napravljena je pomoću računalnog programa Sigmastat 3.5 (Jandell Scientific Corp. San Raphael, Kalifornija, SAD) i StatGraphics (Statistical Graphics System, verzija 3.0). Razlike između skupina procijenjene su pomoću jednosmjerne analize varijance (ANOVA) nakon koje je slijedio Tukey test multiple komparacije. Rezultati su također procijenjeni i pomoću multifaktorijalne ANOVA (MANOVA). MANOVA je bila korištena za evaluaciju učinaka pojedinih varijabli i to dijagnoze (alkoholizam nasuprot nedostatku alkoholizma), spola (muškarac nasuprot ženi), komorbidne depresije (komorbidna depresija nasuprot nedostatku komorbidne depresije), suicidalnog ponašanja (0 bod prema 1-4 bodovima na HAMD-u; te pokušaj samoubojstva prema osobama koje nikad nisu pokušale počinuti samoubojstvo) i interakcije (2-faktorijalne) između specifičnih varijabli i koncentracije trombocitnog 5-HT. Učestalost pacijenata koji su pokušali izvršiti samoubojstvo bilo je ocijenjeno pomoću  $\chi^2$  testu. Svi statistički testovi su bili dvostrani i razina značajnosti je iznosila  $P = 0,05$  ili manje.

## 4. REZULTATI

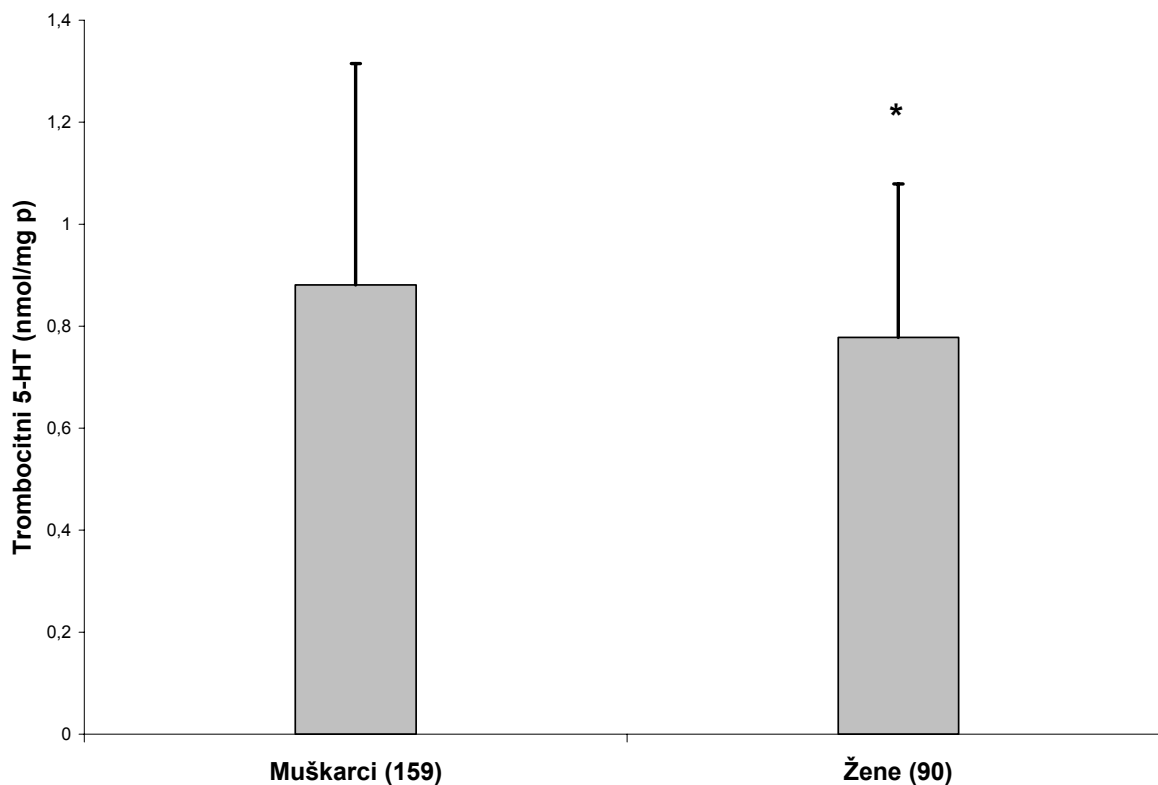
### 4.1. Koncentracija trombocitnog 5-HT u zdravih muških i ženskih ispitanika



Slika 4.1. Koncentracija trombocitnog 5-HT u zdravih muških i ženskih ispitanika. Rezultati su prikazani u obliku stupića gdje svaki stupić predstavlja srednju vrijednost  $\pm$  standardna devijacija (SD). Na ordinati (os y) označene su vrijednosti trombocitnog 5-HT izražene u nanomoloviima po miligramu trombocitnog proteina. Na apcisi (os x) su opisane skupine ispitanika na kojima se napravilo istraživanje, a brojevi u zagradama označavaju broj ispitanika po skupini.

Koncentracija trombocitnog 5-HT značajno se razlikovala između zdravih kontrolnih skupina od 425 muškaraca i 156 žena ( $F=4,960$ ;  $df=1, 569$ ;  $P=0,026$ , ANOVA) (Slika 4.1). Naime, pronađene su značajne spolno uvjetovane razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT ( $P<0,05$ ) kojom se potvrđuje da između spolova postoji razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT u zdravih osoba.

#### 4.2 Koncentracija trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu

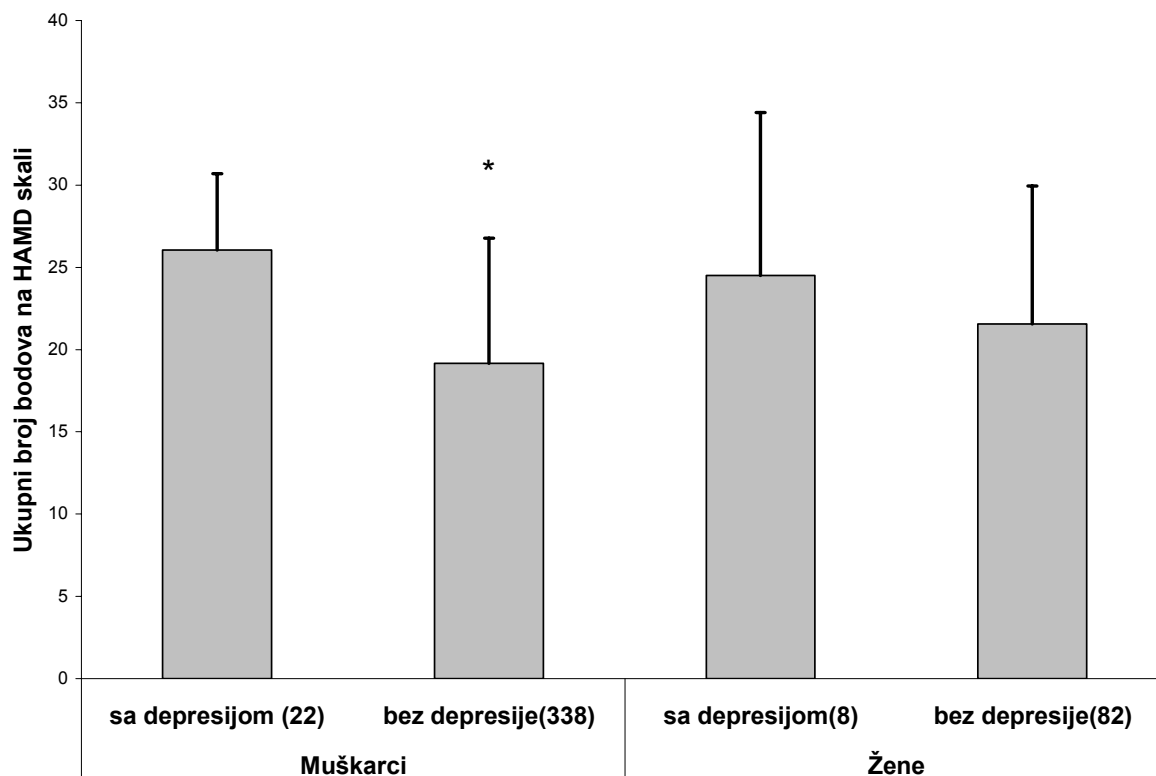


Slika 4.2 prikazuje koncentraciju trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu. Rezultati su prikazani u obliku stupića koji predstavlja srednju vrijednost  $\pm$  SD. Brojevi u zagradama predstavljaju broj ispitanika po skupini.

Pronađene su značajne razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT između ovisnika o alkoholu, podijeljenih prema spolu, na skupine ispitanika od 359 muškaraca i 90 žena ( $F=4,467$ ;  $df=1,447$ ;  $p=0,035$ ). Naime, usporedbom između muškaraca i žena ovisnih o alkoholu pronađena je značajna razlika ( $P<0,05$ ) u koncentraciji trombocitnog 5-HT, i taj je nalaz potvrdio da postoje razlike između spolova u koncentraciji trombocitnog 5-HT, koje su pronađene i u zdravih osoba i u osoba ovisnih o alkoholu.



### 4.3 Broj bodova na HAMD skali u ovisnika o alkoholu podijeljenih na muške i ženske ispitanike sa ili bez komorbidne depresije



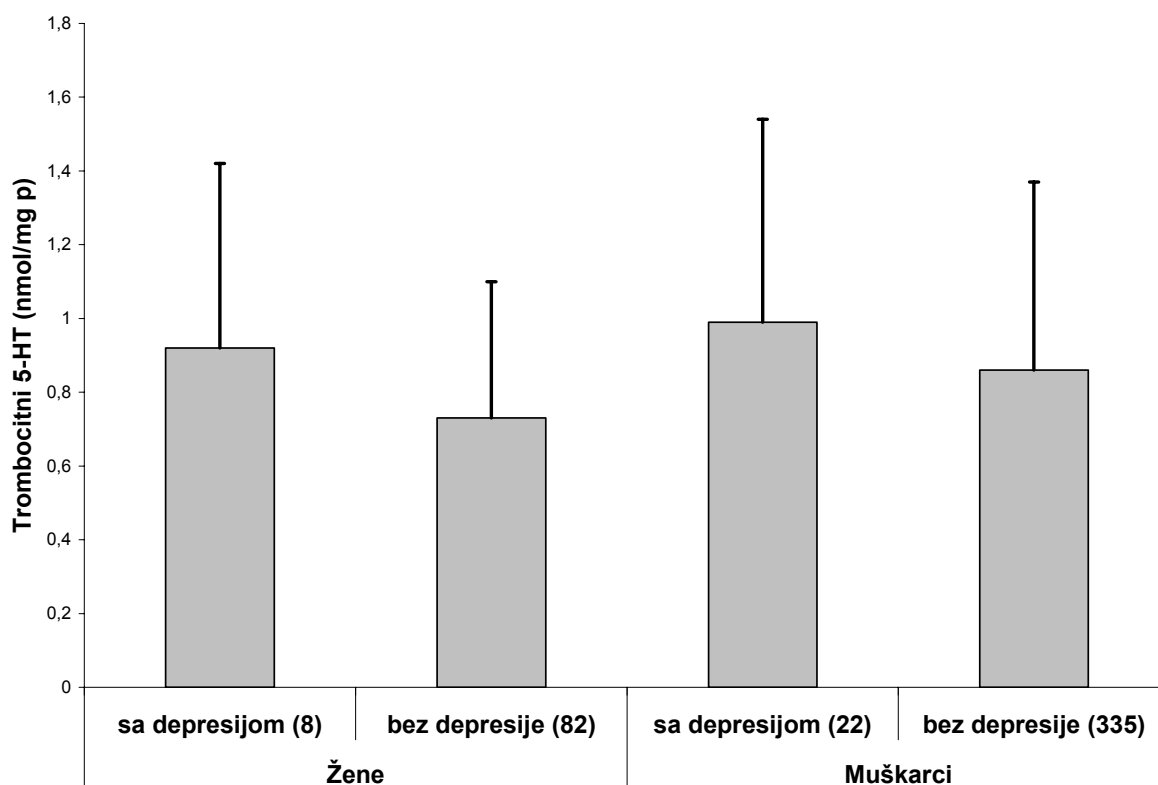
Slika 4.3 prikazuje broj bodova na HAMD skali u ovisnika o alkoholu podijeljenih na muške i ženske ispitanike, sa ili bez komorbidne depresije. Stupići predstavljaju rezultate bodova na skali HAMD kao srednje vrijednosti sa standardnom devijacijom. U zagradama je upisan broj ispitanika po skupini.

Rezultati su pokazali da postoje značajne razlike u ukupnom broju bodova na HAMD skali ( $F=7,948$ ;  $df=3, 446$ ;  $P<0,001$ ) između 338 muškaraca ovisnih o alkoholu bez komorbidne depresije i 22 muškarca ovisnih o alkoholu sa komorbidnom depresijom, te između 82 žene ovisne o alkoholu bez komorbidne depresije i 8 žena ovisnih o alkoholu sa komorbidnom depresijom. Pokazano je da muškarci ovisni o alkoholu bez komorbidne depresije ( $N=338$ ) imaju značajno snižen broj bodova na HAMD skali ( $P<0,001$ ) prema muškarcima ovisnim o alkoholu sa komorbidnom depresijom ( $N=22$ ). Muški i ženski ovisnici o alkoholu s komorbidnom depresijom imali su veći broj bodova na skali HAMD nego

ovisnici o alkoholu oba spola bez komorbidne depresije, no kod žena ta razlika nije bila statistički značajna.

Kad se koncentracije trombocitnog 5-HT usporede među svim istraživanim skupinama ( $F=36,646$ ;  $df=5,986$ ;  $P<0,001$ ), pokazane su značajne razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT, jer su muški ovisnici o alkoholu bez komorbidne depresije imali značajno ( $P<0,001$ ) nižu koncentraciju trombocitnog 5-HT nego zdravi ispitanici, a žene ovisnice o alkoholu bez komorbidne depresije imale su značajno ( $P<0,001$ ) nižu koncentraciju trombocitnog 5-HT nego zdrave ispitanice. Također se pokazalo da su muški ovisnici o alkoholu bez komorbidne depresije imali značajno ( $P<0,0033$ ) višu koncentraciju trombocitnog 5-HT nego žene ovisnice o alkoholu bez komorbidne depresije.

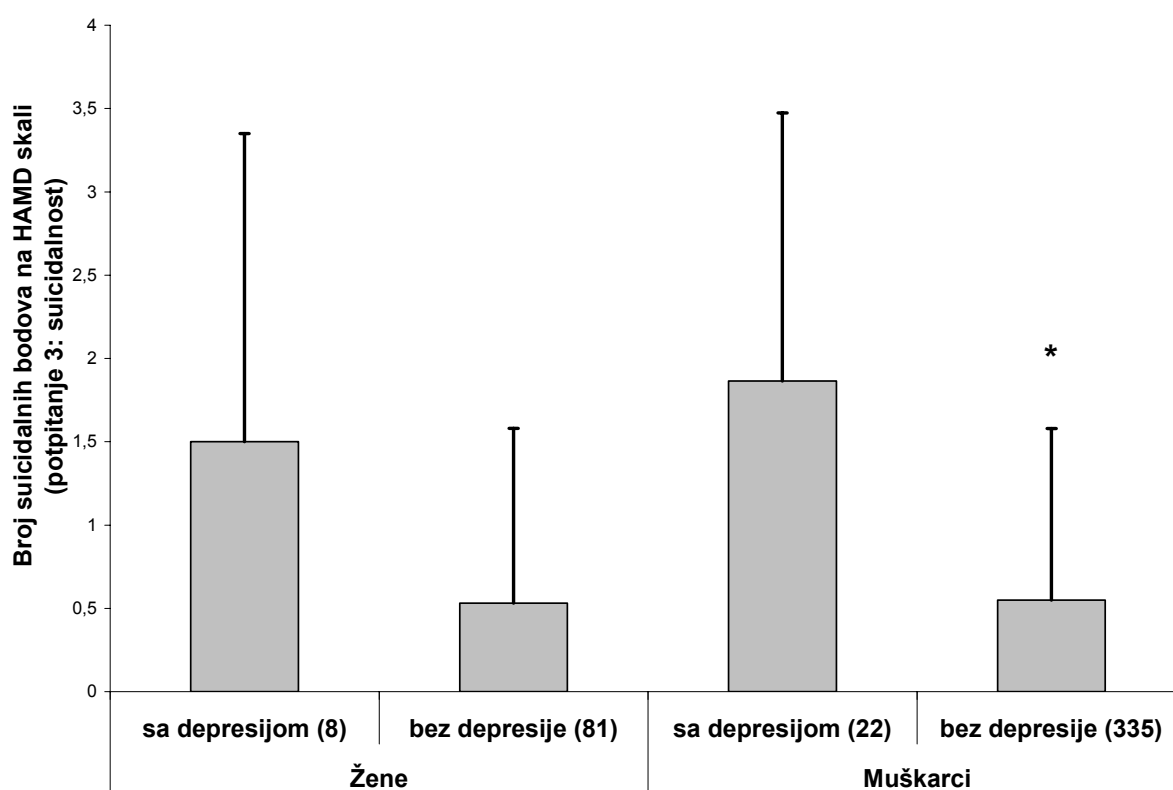
#### **4.4 Koncentracija trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu i komorbidnoj depresiji**



Slika 4.4 Prikazuje koncentraciju trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu i komorbidnoj depresiji. Rezultati su prikazani u obliku stupića koji predstavljaju srednju vrijednost  $\pm$  SD. Brojevi u zagradama predstavljaju broj ispitanika po skupini.

Unutar ispitanika s kroničnim alkoholizmom nisu pronađene značajne ( $F=2,324$ ;  $df=3,415$ ;  $P=0,074$ ) razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT između muškaraca i žena ovisnih o alkoholu podijeljenih prema spolu i komorbidnoj depresiji.

#### 4.5 Broj bodova na podpitanju o suicidalnosti na HAMD skali u ovisnika o alkoholu podijeljenih na muške i ženske ispitanike sa ili bez komorbidne depresije

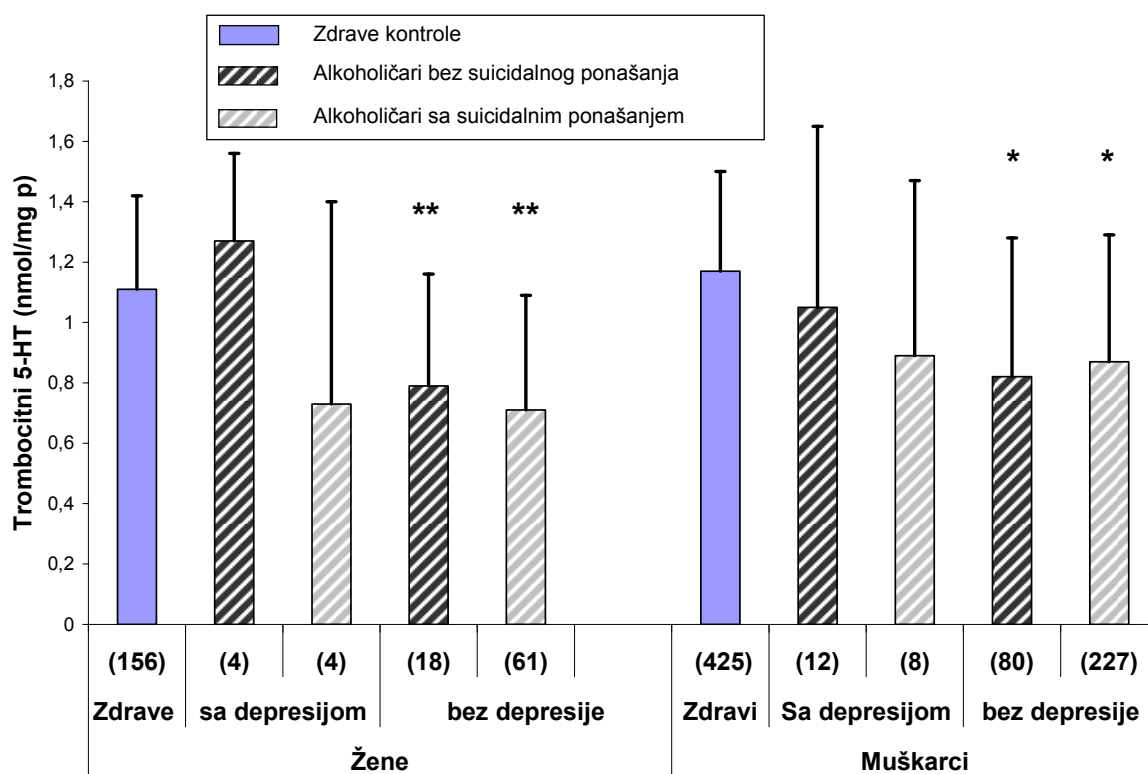


Slika 4.5 prikazuje broj suicidalnih bodova na HAMD podskali koja je vezana za pitanja o suicidalnosti u ovisnika o alkoholu podijeljenih na muške i ženske ispitanike sa ili bez komorbidne depresije. Rezultati su prikazani u obliku stupaca koji predstavljaju srednje vrijednost  $\pm$  SD.

Broj suicidalnih bodova na skali HAMD (podpitanje 3: suicidalnost) u ovisnika o alkoholu podijeljenih na muške i ženske ispitanike sa ili bez komorbidne depresije značajno ( $F=11,961$ ;  $df=3, 442$ ;  $p<0,001$ ) se razlikovao. Naime, broj bodova na skali s podpitanjem o

suicidalnosti bio je značajno ( $p < 0,001$ ) povećan u muških ovisnika o alkoholu s komorbidnom depresijom prema broju suicidalnih bodova u muškim ovisnicima o alkoholu bez komorbidne depresije, Kod ženskih ovisnika o alkoholu s komorbidnom depresijom broj suicidalnih bodova na skali HAMD (podpitanje 3: suicidalnost) bio je granično ( $P = 0,077$ ) povećan prema suicidalnim bodovima kod ženskih ovisnicima o alkoholu bez komorbidne depresije.

#### 4.6 Koncentracija trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu, komorbidnoj depresiji i suicidalnom ponašanju, određenom prema broju bodova na HAMD skali, te u zdravih ispitanika



Slika 4.6 prikazuje koncentraciju trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu, komorbidnoj depresiji i suicidalnom ponašanju (evaluiranom prema podpitanju 3 na skali HAMD). Stupići predstavljaju srednje vrijednosti  $\pm$  SD. Zdrave kontrole, ovisnici o alkoholu sa suicidalnim ponašanjem i ovisnici o alkoholu bez suicidalnog ponašanja (evaluiranom prema podpitanju 3 na skali HAMD) obilježeni su različitim bojama i uzorcima.

Pronađene su značajne razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT između muškaraca i žena ovisnih o alkoholu podijeljenih prema spolu, komorbidnoj depresiji i suicidalnom ponašanju ( $F=21,787$ ;  $df=9,985$ ;  $P<0,001$ ) te zdravih kontrolnih ispitanika. Naime zdravi muški ispitanici imali su značajno višu koncentraciju trombocitnog 5-HT nego muški ovisnici o alkoholu bez komorbidne depresije sa suicidalnim ponašanjem ( $P<0,001$ ) ili nego muški ovisnici o alkoholu bez komorbidne depresije i bez suicidalnog ponašanja ( $P<0,001$ ). Također, slični su rezultati dobiveni i kod ženskih ispitanica, te su zdrave žene imale značajno višu koncentraciju trombocitnog 5-HT nego žene ovisnice o alkoholu bez komorbidne depresije sa suicidalnim ponašanjem ( $P<0,021$ ) ili nego žene ovisnice o alkoholu bez komorbidne depresije i bez suicidalnog ponašanja ( $P<0,001$ ).

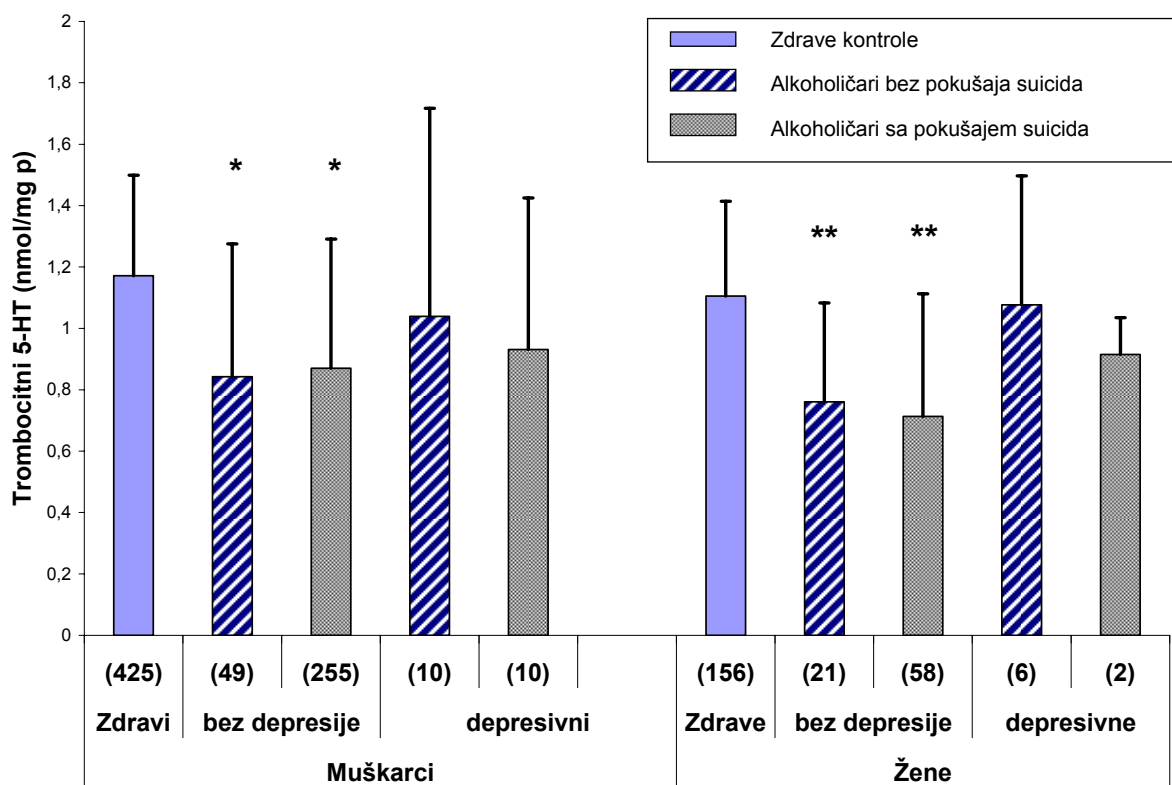
Iako smo mi očekivali da bi se koncentracija trombocitnog 5-HT između suicidalnih ili nesuicidalnih ovisnika o alkoholu mogla značajno razlikovati, naši podaci nisu potvrdili tu hipotezu. Naime, nije pronađena značajna razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između suicidalnih ili nesuicidalnih ovisnika o alkoholu. Suicidalno ponašanje evaluirano je pomoću pitanja na podskali 3 HAMD skale. Svi ovisnici o alkoholi podijeljeni su prema tim podpitanjima na one koji nisu bili suicidalni, dakle nisu pokazivali suicidalno ponašanje, te na one koji su bili suicidalni tj. pokazivali suicidalno ponašanje. Osim toga podijeljeni su također prema spolu i komorbidnoj depresiji. Naši su rezultati pokazali da se koncentracija trombocitnog 5-HT nije značajno razlikovala između muških ovisnika o alkoholu bez komorbidne depresije sa ili bez suicidalnog ponašanja ( $P=0,988$ ), ili između muških ovisnika o alkoholu sa komorbidnom depresijom sa ili bez suicidalnog ponašanja ( $P=0,996$ ). Također nije bilo značajnih razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između žena ovisnica o alkoholu bez komorbidne depresije sa ili bez suicidalnog ponašanja ( $P=0,999$ ), ili između žena ovisnica o alkoholu sa komorbidnom depresijom sa ili bez suicidalnog ponašanja ( $P=0,572$ ).

Kako bi detaljnije istražili postoji li značajna povezanost između koncentracije trombocitnog 5-HT, dijagnoze (zdravi ispitanici prema ovisnicima o alkoholu), spola (muškarci prema ženama), komorbidne depresije (prisutna komorbidna depresija prema nedostatku komorbidne depresije) i suicidalnog ponašanja (nema suicidalnog ponašanja prema suicidalnom ponašanju), upotrijebljena je multipla analiza varijance (MANOVA). MANOVA je pokazala da postoje značajni glavni učinci svih varijabli na koncentraciju trombocitnog 5-HT ( $F=21,787$ ;  $P=0,000$ ), značajan učinak dijagnoze ( $F=120,430$ ;  $P=0,000$ ), značajan učinak suicidalnog ponašanja ( $F=4,721$ ;  $P=0,030$ ), i značajan učinak komorbidne depresije ( $F=5,205$ ;

P=0,023) na koncentraciju trombocitnog 5-HT. Međutim, pri provjeri postoje li značajne interakcije između dvije ili tri ili četiri varijable na koncentraciju trombocitnog 5-HT, pronađeno je da postoji značajna interakcija samo između suicidalnog ponašanja i komorbidne depresije (F=3,996; P=0,046) na koncentraciju trombocitnog 5-HT. Nisu pronađene značajne interakcije između bilo kojih drugih kombinacija ostalih varijabli na koncentraciju trombocitnog 5-HT.

MANOVA nam je pokazala da alkoholizam, suicidalno ponašanje, procijenjeno prema podpitanju 3 na skali HAMD, kao i prisutnost komorbidne depresije, značajno utječe na koncentraciju trombocitnog 5-HT. Međutim, kad u obzir uzmemo i druge varijable kao što su spol, dijagnoza, i komorbidna depresija, tada se pokazalo da suicidalno ponašanje, procijenjeno prema podpitanju 3 na skali HAMD, nije utjecalo značajno na koncentraciju trombocitnog 5-HT u muških i ženskih ovisnika o alkoholu, koji su imali, ili nisu imali komorbidnu depresiju.

**4.7 Koncentracija trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu, komorbidnoj depresiji i pokušaju suicida tijekom života te u zdravih ispitanika**



Slika 4.7 prikazuje koncentraciju trombocitnog 5-HT između ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu, komorbidnoj depresiji i pokušaju suicida tijekom života te u zdravih ispitanika. Stupići predstavljaju srednje vrijednosti  $\pm$  SD. Zdrave kontrole, ovisnici o alkoholu sa pokušajem suicida i ovisnici o alkoholu bez pokušaja suicida obilježeni su različitim bojama i uzorcima.

Koncentracije trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu, komorbidnoj depresiji i pokušaju suicida značajno se razlikovala ( $F=20,434$ ;  $df=9,982$ ;  $P<0,001$ ) između ispitanih skupina. Značajno ( $P<0,001$ ) viša koncentracija trombocitnog 5-HT pronađena je u zdravih muških ispitanika nego kod muških ovisnika o alkoholu bez komorbidne depresije s pokušajem suicida tijekom života ili kod muških ovisnika o alkoholu bez komorbidne depresije koji nisu pokušali počinuti suicid. Koncentracija trombocitnog 5-HT nije se značajno razlikovala između muških kontrolnih ispitanika i muških ovisnika o

alkoholu sa komorbidnom depresijom koji jesu ( $P=0,982$ ) ili nisu ( $P=0,573$ ) pokušali počinuti suicid. Kod ženskih ispitanika zdrave su kontrole imale značajno višu koncentraciju trombocitnog 5-HT nego žene ovisnice o alkoholu bez komorbidne depresije ali sa pokušajem suicida tijekom života ( $P<0,002$ ) ili nego žene ovisnice o alkoholu bez komorbidne depresije koje nisu pokušale počinuti suicid ( $P<0,001$ ). Međutim, nisu pronađene značajne razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT između kontrolnih žena i žena ovisnica o alkoholu sa komorbidnom depresijom koji su pokušali počinuti suicid ( $P=1,000$ ) ili ženskih kontrolnih ispitanica i žena ovisnica o alkoholu sa komorbidnom depresijom koji nisu pokušali počinuti suicid ( $P=0,999$ ).

Budući da se koncentracija trombocitnog 5-HT nije razlikovala između ovisnika o alkoholu sa ili bez suicidalnog ponašanja, sljedeća hipoteza ovog rada bila je da će postojati razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između ovisnika o alkoholu koji su pokušali počinuti suicid tijekom života i ovisnika o alkoholu koji nikad nisu pokušali počinuti suicid tijekom života. Suicidalni pokušaji procijenjeni su temeljem vrlo iscrpnog psihijatrijskog intervjua, ali i temeljem pitanja o suicidalnom pokušaju na pitanju 3 skale HAMD. Svi su ovisnici o alkoholu bili podijeljeni na ovisnike koji nisu pokušali suicid tijekom života i na ovisnike koji su pokušali počinuti suicid tijekom života. Osim suicidalnih pokušaja ovisnici o alkoholu su bili podijeljeni prema spolu i komorbidnoj depresiji.

Koncentracija trombocitnog 5-HT nije se značajno razlikovala između muških ovisnika o alkoholu bez komorbidne depresije koji jesu ili nisu pokušali počinuti suicid ( $P=1,000$ ), ili između muških ovisnika o alkoholu sa komorbidnom depresijom koji su se pokušali ubiti ili koji nisu pokušali suicid ( $P=1,000$ ). Osim tih nalaza koncentracija trombocitnog 5-HT nije bila značajno promijenjena unutar žena ovisnica o alkoholu bez komorbidne depresije koje su pokušale ili nisu pokušale suicid ( $P=1,000$ ), ili između žena ovisnica o alkoholu sa komorbidnom depresijom koje jesu ili nisu pokušale suicid ( $P=1,000$ ).

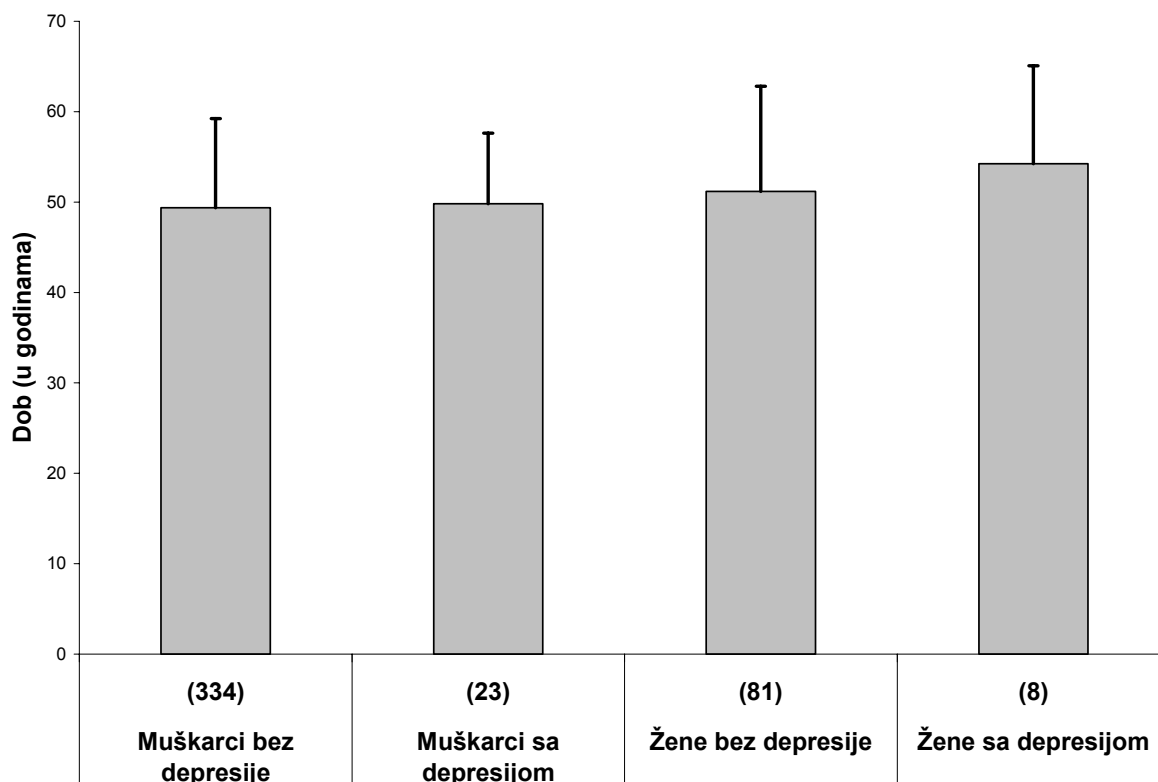
Kako bi potvrdili ili opovrgnuli rezultat koji je pokazao da se koncentracija trombocitnog 5-HT ne razlikuje značajno između muških i ženskih ovisnika o alkoholu sa ili bez komorbidne depresije koji jesu ili nisu pokušali počinuti suicid, upotrijebili smo MANOVU. MANOVA se također koristi kako bi se provjerila značajnost interakcija između pojedinih varijabli: koncentracije trombocitnog 5-HT, dijagnoze (zdravi ispitanici prema ovisnicima o alkoholu), spola (muškarci prema ženama), komorbidne depresije (prisutna ili odsutna komorbidna



depresija) i suicidalnih pokušaja (nema suicidalnih pokušaja prema suicidalnim pokušajima). Rezultati MANOVA-e su uputili da postoje značajni glavni učinci svih varijabli na koncentraciju trombocitnog 5-HT ( $F=20,434$ ;  $P=0,000$ ), značajan učinak dijagnoze ( $F=117,336$ ;  $P=0,000$ ), i značajan učinak komorbidne depresije ( $F=4,604$ ;  $P=0,032$ ) na koncentraciju trombocitnog 5-HT. Međutim, nisu pronađeni značajni učinci bilo suicidalnih pokušaja na koncentraciju trombocitnog 5-HT ( $F=0,631$ ;  $P=0,427$ ), niti su postojale značajne interakcije između bilo koje druge varijable na koncentraciju trombocitnog 5-HT.

Ti su rezultati pokazali da alkoholizam i komorbidna depresija utječu značajno na koncentraciju trombocitnog 5-HT u muških i ženskih ovisnika o alkoholu, ali da suicidalni pokušaji nisu pokazali bilo kakav značajan učinak na koncentraciju trombocitnog 5-HT u muških i ženskih ovisnika o alkoholu. Ti su rezultati potvrdili da suicidalni pokušaji ne utječu na koncentraciju trombocitnog 5-HT u muških i ženskih ovisnika o alkoholu, sa ili bez komorbidne depresije.

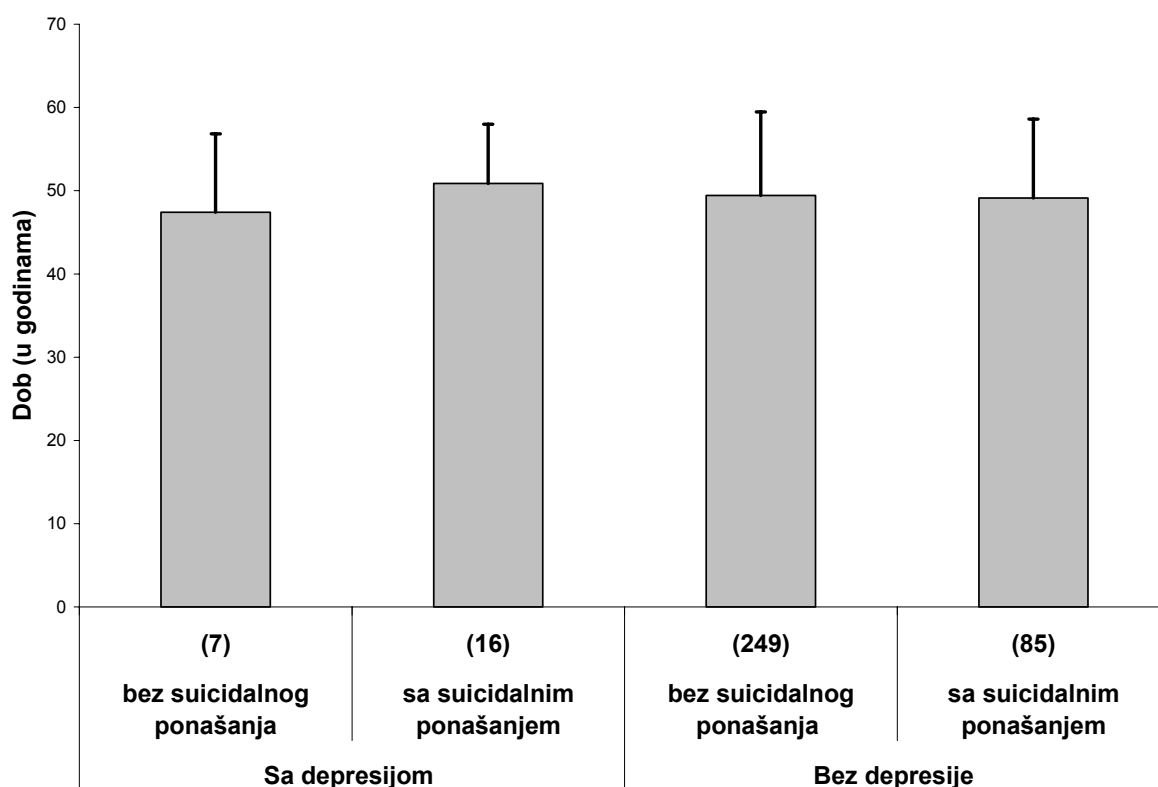
#### **4.8 Dob (u godinama) u muških i ženskih ovisnika o alkoholu podijeljenih prema komorbidnoj depresiji**



Slika 4.8. prikazuje dob muškaraca i žena ovisnih o alkoholu podijeljenih prema komorbidnoj depresiji. Srednje vrijednosti prikazane su u obliku stupića  $\pm$  SD. Brojevi u zagradama predstavljaju broj ispitanika po skupinama.

Dob muškaraca i žena ovisnih o alkoholu sa komorbidnom depresijom nije se značajno razlikovala ( $F=1,213$ ;  $df=3,442$ ;  $P=0,304$ ). Naime, i muškarci i žene ovisnici o alkoholu sa komorbidnom depresijom imali su približno sličnu dob.

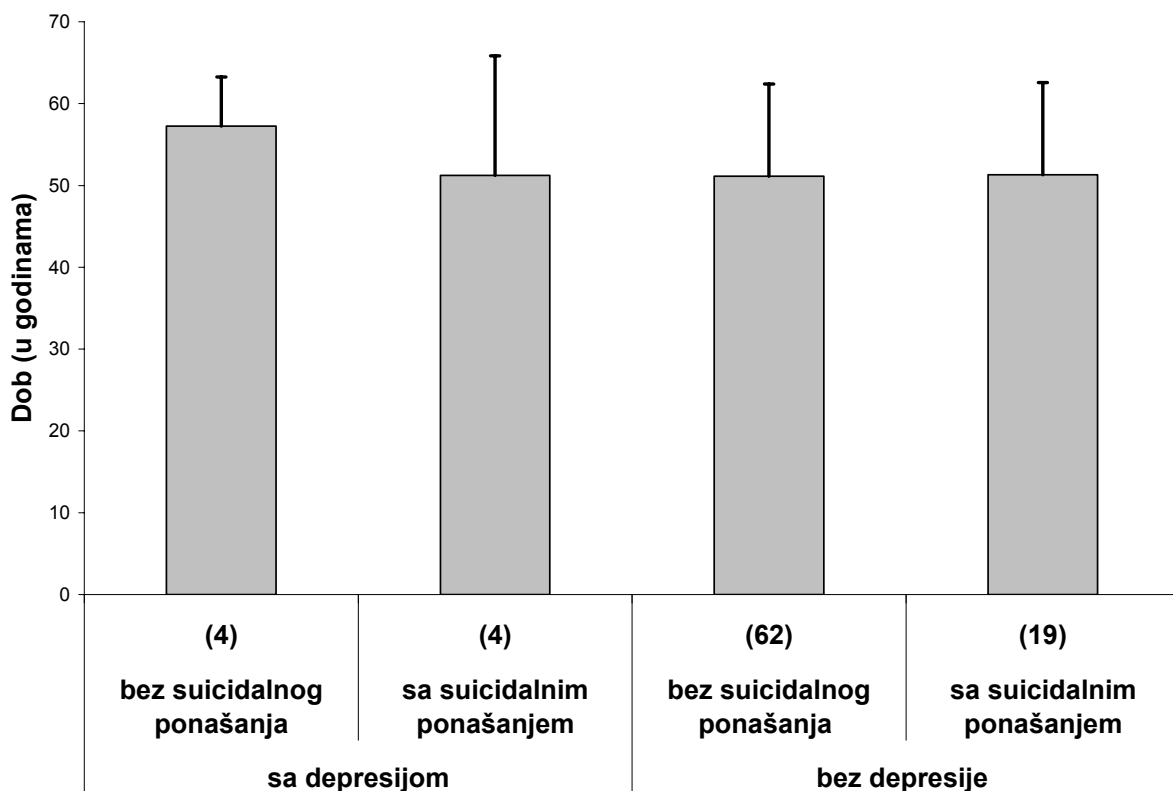
#### **4.9 Dob (u godinama) u muških ovisnika o alkoholu podijeljenih prema suicidalnom ponašanju (određenom prema broju bodova na skali HAMD) i komorbidnoj depresiji**



Slika 4.9 prikazuje dob muškaraca ovisnih o alkoholu podijeljenih prema suicidalnom ponašanju (određenom prema broju bodova na skali HAMD) i komorbidnoj depresiji. Rezultati prikazuju srednje vrijednosti  $\pm$  SD. Brojevi u zagradama prikazuju broj ispitanika.

Nije bilo značajne ( $F=0,240$ ;  $df=3,353$ ;  $P=0,868$ ) razlike u dobi muških ovisnika o alkoholu podijeljenih prema komorbidnoj depresiji i suicidalnom ponašanju (određenom prema broju bodova na HAMD skali).

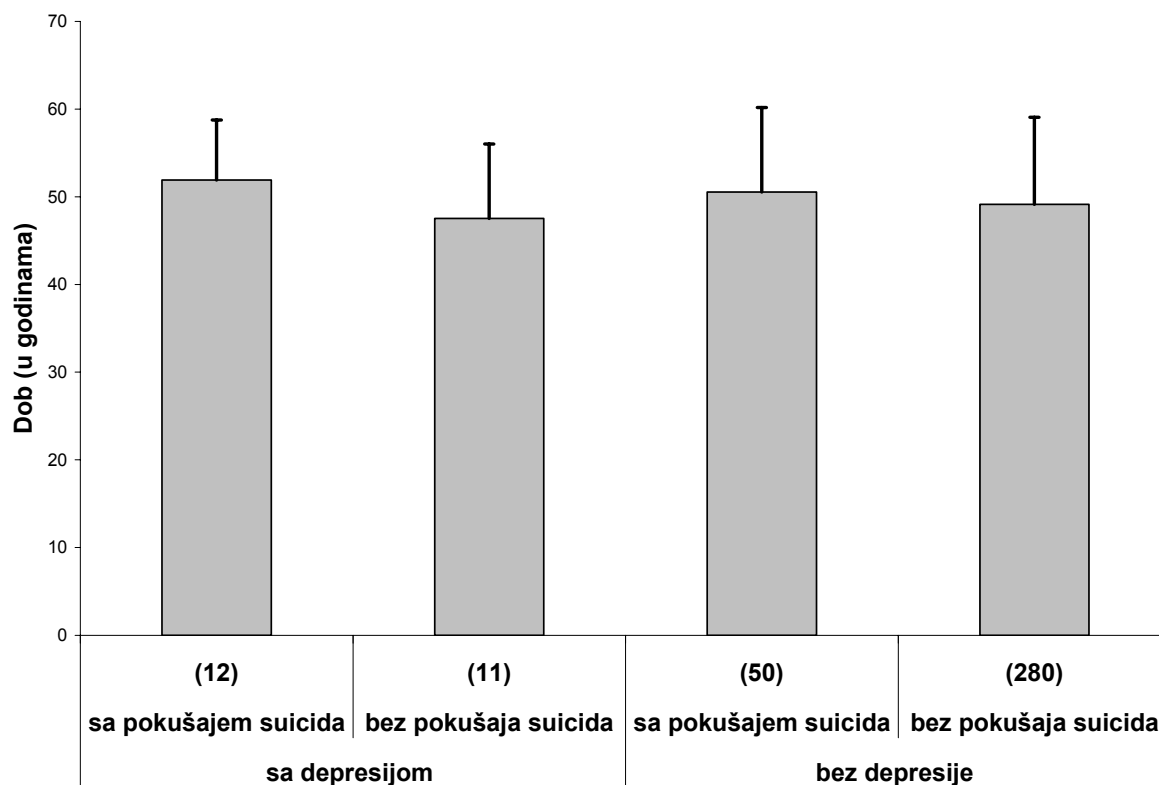
#### **4.10 Dob (u godinama) u ženskih ovisnika o alkoholu podijeljenih prema suicidalnom (određenom prema broju bodova na skali HAMD) ponašanju i komorbidnoj depresiji**



Slika 4.10 prikazuje dob žena ovisnih o alkoholu podijeljenih prema komorbidnoj depresiji i suicidalnom ponašanju (određenom prema broju bodova na skali HAMD). Rezultati predstavljaju srednje vrijednosti  $\pm$  SD. Brojevi u zagradama predstavljaju broj ispitanika.

Dob se nije značajno razlikovala između ženskih ispitanika ovisnih o alkoholu podijeljenih prema suicidalnom ponašanju i komorbidnoj depresiji ( $F=0,346$ ;  $df=3,85$ ;  $P=0,792$ ).

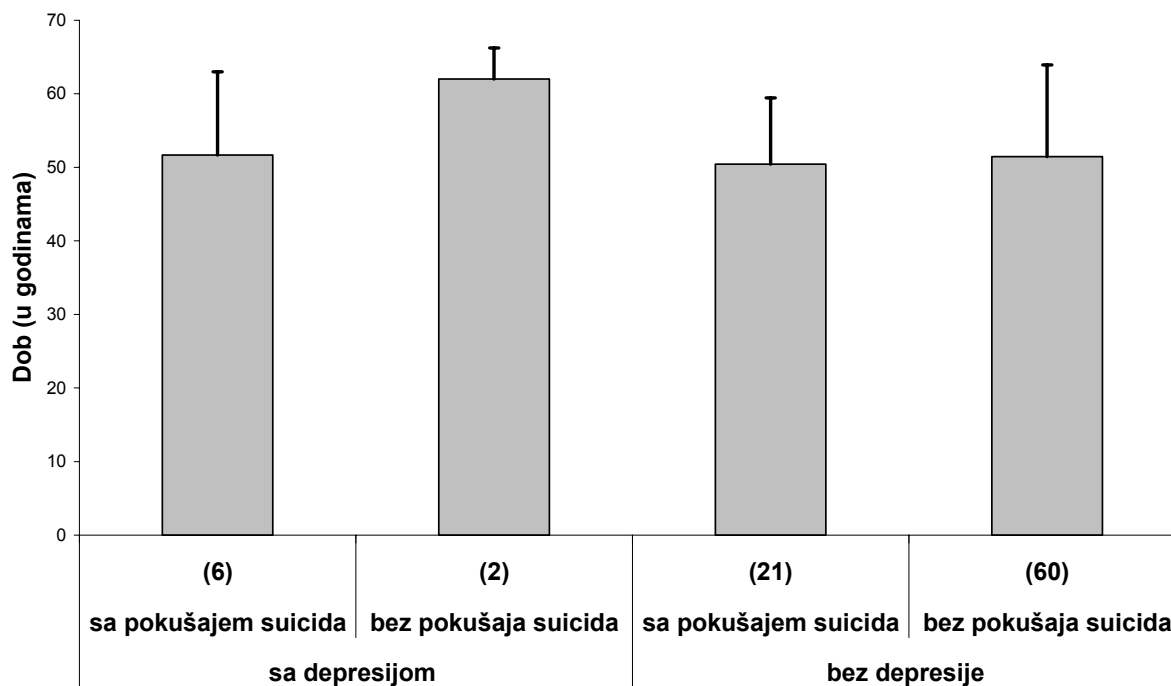
#### 4.11 Dob (u godinama) u muških ovisnika o alkoholu podijeljenih prema pokušaju samoubojstva i komorbidnoj depresiji



Slika 4.11 prikazuje dob muškaraca ovisnih o alkoholu svrstanih prema komorbidnoj depresiji i pokušaju samoubojstva. Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti  $\pm$  SD. Brojevi u zagradama predstavljaju broj ispitanika po skupini.

Usporedbom dobi u muškaraca ovisnih o alkoholu podijeljenih prema komorbidnoj depresiji i pokušaju suicida utvrđeno je da ne postoji značajna razlika ( $F=0,701$ ;  $df=3,349$ ;  $P=0,552$ ) u dobi između promatranih skupina.

#### 4.12 Dob (u godinama) u ženskih ovisnika o alkoholu podijeljenih prema pokušaji samoubojstva i komorbidnoj depresiji



Slika 4.12 prikazuje dob ženskih ovisnika o alkoholu podijeljenih prema komorbidnoj depresiji i prema pokušaju samoubojstva. Rezultati prikazuju srednje vrijednosti  $\pm$  SD. Brojevi u zagradama označavaju broj ispitanika.

Nije bilo značajnih razlika u dobi žena ovisnih o alkoholu podijeljenih prema komorbidnoj depresiji i pokušaju suicida rezultati ( $F=0,604$ ;  $df=3,85$ ;  $P=0,613$ ).

## **5. RASPRAVA**

### **5.1 *Razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT u zdravih osoba i ovisnika o alkoholu***

Istraživanje je provedeno na uzorku od 327 muškaraca i 87 žena koji nisu uzimali lijekove sa dijagnozom kronične ovisnosti o alkoholu. Rezultati su pokazali da muški i ženski ispitanici ovisni o alkoholu imaju značajno sniženu koncentraciju trombocitnog 5-HT u usporedbi sa zdravim kontrolnim ispitanicima, a ti su rezultati usklađeni s rezultatima dosadašnjih istraživanja (Bailly i sur., 1990; Bailly i sur., 1993; Schmidt i sur., 1997; Pivac i sur., 2004; Pivac i sur., 2008). Međutim, u nekim istraživanjima (Szalay i sur., 2001) nije pronađena razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između ovisnika o alkoholu i zdravih kontrolnih skupina, no ta su istraživanja uključila osobe s alkoholom koje su razvile i cirozu jetre, što može biti razlogom tih razlika u rezultatima. U našoj studiji uključene su osobe ovisne o alkoholu sa simptomima sustezanja i većina primljenih pacijenata bila je u stanju akutne intoksikacije alkoholom i radi toga je uzimanje krvi provedeno kada su pacijenti bili trijezni, najmanje 12 sati nakon prijema. Budući da je da je koncentracija trombocitnog 5-HT snižena u ovisnika sa akutnom alkoholom intoksikacijom (Schmidt i sur., 1997), ovisnika o alkoholu sa simptomima sustezanja (Bailly i sur., 1990; Bailly i sur., 1993) i u ovisnika o alkoholu nakon 2 tjedana apstinencije (Bailly i sur., 1993), ti su rezultati pokazali da je snižena koncentracija trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu biološki pokazatelj alkoholizma u svim fazama bolesti.

Naši su rezultati, iako dobiveni na perifernom pokazatelju, sukladni rezultatima koji pokazuju da je smanjena koncentracija središnjeg 5-HT povezana sa povećanjem depresije, agresije i alkoholizma (LeMarquand i sur., 1994; Johnson i sur., 2004); odnosno da je snižena aktivnost 5-HT sustava povezana sa predispozicijom za alkoholizam (Selim i sur., 1996) i alkoholizmom (LeMarquand i sur., 1994).

## **5.2 Razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT u zdravih osoba i ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu**

Snižena koncentracija trombocitnog 5-HT pronađena je u ženskih zdravih ispitanika prema muškim zdravim ispitanicima, te u ženskih ovisnika o alkoholu prema muškim ovisnicima o alkoholu. Ti rezultati potvrđuju rezultate prijašnjih istraživanja (Oxenkrug, 1979; Mück-Šeler i sur., 1996a; Mück-Šeler i sur., 1999; Pivac i sur., 2001, Pivac i sur., 2004; Pivac i sur., 2006b; Pivac i sur., 2008) u kojima je utvrđeno da postoji razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između zdravih muškaraca i žena te između muških i ženskih depresivnih ili shizofrenih bolesnika. Istraživanjem su dobiveni podaci koji su potvrdili da zdrave žene imaju nižu koncentraciju trombocitnog 5-HT od zdravih muških ispitanika (Pivac i sur., 2004; Pivac i sur., 2008). U našem radu je također potvrđeno da postoji spolna razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT u ovisnika o alkoholu i ti su rezultati na većem broju ispitanika potvrdili rezultate prijašnja istraživanja (Pivac i sur., 2004; Pivac i sur., 2008) u kojima se utvrdilo da u muškaraca i žena ovisnih o alkoholu postoji razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT, gdje je u muškaraca ovisnih o alkoholu, u odnosu na žene ovisne o alkoholu, povećana koncentracija trombocitnog 5-HT. Takva spoznaja je različita u odnosu na slična istraživanja gdje nije utvrđena spolna razlika koncentracije trombocitnog 5-HT (Bailly i sur., 1990) i to se može objasniti premalim brojem ženskih ispitanica uključenim u tu studiju (N=9). Također postoje studije koje nisu podijelile ispitanike po spolu (Schmidt i sur., 1997) ili su u istraživanje bili uključeni samo muški ispitanici (Patkar i sur., 2003).

Spolne razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT, osim što su vidljive u zdravih osoba (Oxenkrug, 1979; Mück-Šeler i sur., 1996; Mück-Šeler i sur., 1999; Pivac i sur., 2001, Pivac i sur., 2004), uočavaju se u osoba ovisnih o alkoholu (Pivac i sur., 2004; Pivac i sur., 2008), u depresivnih osoba (Coppen i sur., 1976; Oxenkrug 1979; Mück-Šeler i sur., 1996), osoba sklonih suicidu (Mück-Šeler i sur., 1996; Müller-Oerlinghausen i sur., 2004), te osoba oboljelih od shizofrenije (Mück-Šeler i sur., 1999). Snažni napadi depresije su učestaliji u žena nego u muškaraca (Kessler i sur., 1993) te su Nishizawa i sur. (1997) mjerenjem omjera sinteze 5-HT u mozgu pozitronskom emisijskom tomografijom utvrdili da se u mozgu muškarca sintetizira veća količina 5-HT nego u mozgu žena. Istraživanje na serotonergičnim receptorima mozga pozitronskom emisijskom tomografijom uočen je značajno veći kapacitet vezanja za receptor 5HT<sub>2</sub> u muškaraca nego u žena (Biver i sur., 1996). Uočava se razlika u serotonergičnom sustavu muškaraca i žena što je moguća osnova povećane osjetljivosti žena

na psihičke poremećaje kao što je depresija, a utjecaj okolišnih faktora (stres) može, zbog smanjene sinteze 5-HT i manjeg kapaciteta vezivanja, biti dodatan razlog većoj osjetljivosti žena za razvoj psihičkih poremećaja kao što je depresija. U zdravih žena starije dobi utvrđeno je povećanje koncentracije trombotičnog 5-HT i njegova metabolita 5-hidroksiindolane kiseline (Kumar i sur., 1998), iz čega slijedi da bi dob mogla značajno utjecati na koncentraciju trombotičnog 5-HT. Za razliku od tog nalaza, na velikom broju ispitanika je utvrđeno (Pivac i sur., 2004; Pivac i sur., 2008, naš rad) da kod žena ovisnih o alkoholu i od muških ispitanika ovisnih o alkoholu nema značajne korelacije između dobi i koncentracije trombotičnog 5-HT. Budući da su u obje studije ženske ispitanice imale značajno nižu koncentraciju trombotičnog 5-HT nego muški ispitanici, bez obzira na godine života, može se zaključiti da dob nema utjecaja na koncentraciju trombotičnog 5-HT. U prilog tom nalazu je pokazano da nema korelacije između dobi ispitanika i koncentracije trombotičnog 5-HT u zdravih ispitanika (Mück-Šeler i sur., 1996, Mück-Šeler i sur., 2003, Pivac i sur., 2001, Pivac i sur., 2003; Pivac i sur., 2004; Pivac i sur., 2006b; Pivac i sur., 2008) i u osoba ovisnih o alkoholu (Bailly i sur., 1993, Pivac i sur., 2004; Pivac i sur., 2008). Osim toga, u našem radu nije bilo značajnih razlika između dobi muških ili ženskih ovisnika o alkoholu, podijeljenih prema komorbidnoj depresiji, ili suicidalnom ponašanju, što potvrđuje nalaz da dob ne utječe na koncentraciju trombotičnog 5-HT, već na koncentraciju trombotičnog 5-HT utječe spol i dijagnoza alkoholizma.

### ***5.3 Nedostatak razlika u koncentraciji trombotičnog 5-HT između ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu i komorbidnoj depresiji***

Depresija je komorbidni poremećaj koji se često javlja uz alkoholizam (Petrakis i sur., 2002; Sher i sur., 2006a; 2006b). Koncentracija trombotičnog 5-HT promijenjena je u bolesnika s depresijom (Muck-Šeler i sur., 1996; Muck-Šeler i sur., 2002; Muck-Šeler i sur., 2005; Pivac i sur., 1997a; Pivac i sur., 2003). Na manjem broju ispitanika (Pivac i sur., 2008) pokazano je da muški ovisnici o alkoholu imaju sniženu, dok ženske ovisnice o alkoholu imaju povišenu koncentraciju trombotičnog 5-HT ako su uz alkoholizam razvili i komorbidnu depresiju. Taj se oprečan nalaz može objasniti prisustvom bilo psihotičkih simptoma bili suicidalnih ideja, nagona i ponašanja. Naime prisustvo psihotičkih simptoma moglo je povećati koncentraciju trombotičnog 5-HT u ženskih depresivnih ovisnica o alkoholu, jer



psihotički simptomi povećavaju koncentraciju trombocitnog 5-HT u depresiji (Muck-Šeler i sur., 1996; Muck-Šeler i sur., 2005; Pivac i sur., 1997a), shizofreniji (Pivac i sur., 1997b; Muck-Šeler i sur., 1999; Pivac i sur., 2006b) ili posttraumatskom stresnom poremećaju (Pivac i sur., 2006a). S druge strane prisutnost suicidalnih misli, ideja, ponašanja i pokušaja moglo je sniziti koncentraciju trombocitnog 5-HT u muških ovisnika koji su uz alkoholizam razvili i komorbidnu depresiju, jer je suicidalno ponašanje vezano uz sniženu koncentraciju trombocitnog 5-HT u depresiji (Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 1997a), akutnoj psihozi (Marčinko i sur., 2007), ili posttraumatskom stresnom poremećaju (Kovačić i sur., 2008). No kad su skupine ispitanika bile povećane, ali se treba istaknuti da nisu bile podijeljene prema prisustvu psihotičkih simptoma, koncentracija trombocitnog 5-HT nije se razlikovala između ispitanika s kroničnim alkoholizmom podijeljenih prema spolu i komorbidnoj depresiji.

#### ***5.4 Nedostatak razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između ovisnika o alkoholu podijeljenih prema spolu, komorbidnoj depresiji, i suicidalnom ponašanju ili suicidalnim pokušajima***

Suicidalnost se povezuje sa smanjenim funkcioniranjem središnjeg 5-HT sustava (Stanley i Mann, 1983; Hrdina i sur., 1993). Budući da se do tkiva mozga može doći samo nakon smrti ispitanika, kako bi se prevenirali suicidalni pokušaji u psihijatrijskih bolesnika, često se traže određeni periferni biokemijski pokazatelji suicidalnosti. Osim snižene koncentracije kolesterola (Marčinko i sur., 2007) koristi se i koncentracija trombocitnog 5-HT koja je bila snižena u osoba sa različitim psihijatrijskim dijagnozama, a koje su pokazale suicidalno ponašanje ili pokušale počinuti suicid (Mann i sur., 1992; Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 1997a; Marčinko i sur., 2007; Kovačić i sur., 2008). Budući da trombociti dijele neke slične procese sa središnjim serotonergičnim sinaptosomima, u ovom smo istraživanju koristili koncentraciju trombocitnog 5-HT kao jedan od perifernih pokazatelja suicidalnosti. Stoga smo u ovom istraživanju htjeli utvrditi postoji li povezanost koncentracije trombocitnog 5-HT i suicidalnog ponašanja ili pokušaja suicida u ovisnika o alkoholu. Naši su rezultati pokazali kako nema značajnih razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između ispitanika ovisnih o alkoholu sa ili bez suicidalnog ponašanja, ili kod ispitanika ovisnih o alkoholu koji jesu ili nisu pokušali počinuti suicid tijekom života. Ti rezultati, koji su pokazali da nema značajnih promjena koncentracije trombocitnog 5-HT u suicidalnih prema nesuicidalnim ovisnicima o alkoholu nisu u skladu sa rezultatima pronađenim u depresivnim

bolesnicima, shizofrenim bolesnicima ili ispitanicima sa PTSP-om (Mann i sur., 1992; Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 1997a; Marčinko i sur., 2007; Kovačić i sur., 2008). Naime u svim tim dijagnostičkim kategorijama utvrđena je značajno snižena koncentracija trombocitnog 5-HT u suicidalnih prema nesuicidalnim ispitanicima. Nalazi naših rezultata mogli bi biti sukladni pretpostavki (Müller-Oerlinghausen i sur., 2004) da trombocitni 5-HT nije značajan biološki marker prema kojem se može predvidjeti suicidalno ponašanje ili pokušaj suicida. Međutim, treba biti oprezan sa zaključcima o suicidalnosti i trombocitnom 5-HT. Iako koncentracija trombocitnog 5-HT ne pokazuje značajne promjene kod suicidalnog ponašanja ili suicidalnih pokušaja kod kroničnih ovisnika o alkoholu, taj rezultat se možda može objasniti i činjenicom da je kod ovisnika o alkoholu koncentracija trombocitnog 5-HT već izrazito snižena prema odgovarajućim kontrolnim ispitanicima. Treba istaknuti da su svi drugi suicidalni bolesnici koji su pokazali sniženu koncentraciju trombocitnog 5-HT prema nesuicidalnim bolesnicima imali ili povišenu ili nepromijenjenu koncentraciju trombocitnog 5-HT (Mann i sur., 1992; Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 1997a; Marčinko i sur., 2007; Kovačić i sur., 2008). Prema tome može se pretpostaviti da je koncentracija trombocitnog 5-HT toliko snižena u alkoholizmu da se ne može više sniziti čak i ako je prisutno suicidalno ponašanje ili suicidalni pokušaji. Ovo je istraživanje izvršeno na ovisnicima o alkoholu, jer su istraživanja pokazala da u stanju privremene intoksikacije alkoholom, sa ili bez simptoma ovisnosti o alkoholu, u osoba postoji veliki rizik da će pokušati ili počiniti samoubojstvo (Hufford, 2001; Giancola 2002). U istraživanju se pazilo da ispitanici ne uzimaju nikakve lijekove prije nego im se vadila krv, jer psihofarmaci kao što su antidepresivi značajno snižavaju koncentraciju trombocitnog 5-HT (Muck-Šeler i sur., 2002; Pivac i sur., 2003). Utvrđeno je da količina konzumacije alkohola utječe na suicidalno ponašanje (Borges i Rosovsky, 1996), tj. povećanjem količine alkohola povećava se rizik suicidalnog ponašanja. U ovisnika o alkoholu unos alkohola u organizam može za posljedicu imati niže koncentracije središnjeg 5-HT što može smanjiti inhibicije ponašanja i povećati potencijalno agresivno ponašanje (Pihl i LeMarquand, 1998). Agresivno ponašanje može biti usmjereno prema sebi koje onda dovodi do pokušaja suicida, a takvi ispitanici imaju i smanjenu koncentraciju metabolita 5-HT, 5-HIAA u cerebralnoj tekućini (Asberg i sur., 1976). Snižena koncentracija 5-HIAA u cerebralnoj tekućini je bila prvi nalaz koji je uputio na pretpostavku da je smanjena središnja 5-HT neurotransmisija karakteristika suicidalnog pokušaja, jer se smatra da je 5-HIAA u cerebralnoj tekućini pokazatelj središnje serotoninske funkcije (Asberg i sur., 1976).

Snižena koncentracija trombocitnog 5-HT u suicidalnom ponašanju koja je pronađena u različitim psihijatrijskim bolestima (Mann i sur., 1992; Muck-Šeler i sur., 1996; Pivac i sur., 1997a; Marčinko i sur., 2007; Kovačić i sur., 2008) ali ne i u alkoholizmu, istaknula je važnost da se kod istraživanja suicidalnosti i bioloških pokazatelja treba voditi računa o spolu ispitanika, psihijatrijskom poremećaju i podtipu tog poremećaja, dovoljnoj veličini uzoraka, određivanju jačine suicidalnog ponašanja, te odjeljivanju suicidalnog ponašanja od suicidalnih pokušaja. Budući da je u ovisnika u alkoholizmu već radi alkoholizma snižena koncentracija trombocitnog 5-HT, a osobe sklone suicidalnom ponašanju imaju sniženu aktivnost 5-HT sustava, suicidalno ponašanje koje se često javlja u alkoholizmu upućuje na izrazitu disfunkcionalnost serotonergičnog sustava u alkoholičara (Dubovsky i Thomas 1995; Grunewald, 1995; Veenstra-Vander Weele i sur., 2000; Gorwood, 2001).

Ovisnost o alkoholu je potencijalni rizični faktor suicidalnog ponašanja i počinjenja suicida, no osobe koje su pokušale ili počinile samoubojstvo bile su obilježene snažnim depresivnim epizodama, stresnim životnim događajima, poteškoćama u međuljudskim odnosima, niskom društvenom potporom, samačkim životom, agresivnošću, impulsivnošću, beznadnošću, teškom ovisnošću o alkoholu, zluporabom droga, osobito kokaina, teškim mentalnim bolestima, suicidalnim razgovorima i prijašnjem suicidalnom ponašanju (Sher, 2005). Mnogi životni događaji moraju biti uzeti u obzir prije procjene suicidalnog rizika u ovisnika o alkoholu.

U svrhu potpunog razumijevanja odnosa između suicidalnog ponašanja i koncentracije trombocitnog 5-HT treba pažljivo istražiti čimbenike kao što su dob, spol, uzimanje lijekova, pušenje ili druge psihijatrijske komorbidne bolesti (Muck-Šeler i sur., 1996, Pivac i sur., 1997a; Pivac i sur., 2004; Pivac i sur., 2008; Marčinko i sur., 2007; Kovačić i sur., 2008; Müller-Oerlinghausen i sur., 2004). Međutim, u različitim psihijatrijskim bolestima (depresija, akutna psihoza, PTSP) pokazano je da kad se ispitanici usklade prema svim tim čimbenicima kao što su dob, spol, godišnje doba, pušenje ili druge psihijatrijske komorbidne bolesti, i kad se istražuje dovoljno velik broj ispitanika, tada se mogu pronaći promjene koncentracije trombocitnog 5-HT koje su snižene kod jače izraženog suicidalnog ponašanja (Muck-Šeler i sur., 1996, Pivac i sur., 1997a; Marčinko i sur., 2007; Kovačić i sur., 2008). Snižena koncentracija trombocitnog 5-HT nije uočena kod ispitanika s ovisnosti o alkoholizmu, iako je multipla ANOVA pokazala značajan utjecaj suicidalnog ponašanja, ali ne i suicidalnih pokušaja, na koncentraciju trombocitnog 5-HT.

U potpuno razumijevanje razloga različitih rezultata vezanih za koncentraciju trombocitnog 5-HT u psihijatrijskim bolestima treba uzeti u obzir što više različitih faktora koji bi mogli imati utjecaj na koncentraciju trombocitnog 5-HT. Rezultati istraživanja Blum i sur. (1992) govore da je koncentracija 5-HT u plazmi vezana uz način prehrane i rezultati pokazuju da se unosom ugljikohidrata u organizam značajno povisi koncentracija 5-HT u krvi. Unosom masti povisi se koncentracija trombocitnog 5-HT, no ne značajno, dok se unosom proteina značajno snižava koncentracija trombocitnog 5-HT. Različite prehrambene navike muškaraca i žena, naročito u pogledu unosa kalorija u organima, ali i prema udjelu unosa ugljikohidrata, masti i bjelančevina, mogle bi biti uzrok spolno ovisnih razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT. Postoji mogućnost oštećenja 5-HT transportera uslijed alkoholizma no postavlja se pitanje kako djeluje trombocitni 5-HT transporter pri sniženoj koncentraciji 5-HT u krvi. Genetskim istraživanjem, uspoređivanjem kratkog i dugog alela gena serotoninskog transportera (5-HTTLPR) utvrđeno je da kratki alel 5HTTLPR utječe na smanjenje kapaciteta transporta 5-HT, a to može dovesti do povećanog rizika za pokušaj samoubojstva (Gorwood i sur., 2000). Stoga bilo bi dobro usporediti koncentraciju trombocitnog 5-HT i aktivni unos 5-HT u trombocite putem 5HTT i tada usporediti te rezultate. Međutim, u svrhu otkrivanja odnosa između koncentracije trombocitnog 5-HT i različitih genotipova 5HTT, u zdravih ispitanika je uspoređena koncentracija trombocitnog 5-HT prema nosiocima različitih genotipova (kratki/kratki, kratki/dugi i dugi/dugi) 5HTTLPR (Pivac i sur., 2009). Pokazano je da nema značajne razlike u koncentraciji trombocitnog 5-HT između nosioca različitih genotipova 5HTTLPR, iako se smatra da taj protein regulira 5-HT koncentraciju, te bi dugi/dugi genotip 5HTTLPR trebao biti vezan za veću, a kratki/kratki genotip 5HTTLPR za sniženu koncentraciju trombocitnog 5-HT (Pivac i sur., 2009). U svakom slučaju trebalo bi provjeriti javlja li se kratki alel 5HTTLPR češće u ispitanika ovisnih o alkoholu koji su skloni pokušaju samoubojstva (Gorwood i sur., 2000).

U kroničnih ovisnika o alkoholu utvrđena je loša i poremećena prehrana (pothranjenost) (Lieber, 1984) i loša apsorpcija nutrijenata (Green, 1983). Budući da se sinteza 5-HT velikim dijelom vrši u enterokromafilnim stanicama gastro-intestinalnog trakta, postavlja se pitanje postoji li djelovanje alkohola na sintezu 5-HT u gastro intestinalnom traktu? Ukoliko je sinteza 5-HT poremećena uslijed poremećaja prehrane ili loše apsorpcije nutrijenata, a nema sinteze 5-HT u trombocitima, može se pretpostaviti da je poremećena sinteza 5-HT u

enterokromafilnim stanicama gastro-intestinalanog trakta povezana sa sniženom koncentracijom trombocitnog 5-HT.

U osoba oboljelih od depresije također je uočen poremećaj prehrane (Paykel, 1977), u 66% pacijenata uočen je smanjen apetit, 20% bez promjene apetita i 14% povećanog apetita. U pacijenata na terapiji hemodijalizom (Koo i sur., 2003) uočena je povezanost depresije sa nutritivnim statusom, a utvrđeno je da bi depresija mogla biti rizični faktor za pothranjenost. Prehrana, odnosno poremećaj prehrane, trebala bi se uvrstiti u slijedeća istraživanja u svrhu potpunog razumijevanja problematike alkoholizma, depresije i suicidalnosti, jer moguća je povezanost prehrane, sinteze 5-HT i koncentracije trombocitnog 5-HT.

U zaključku, naši rezultati nisu potvrdili hipotezu da je snižena koncentracija trombocitnog 5-HT povezana sa suicidalnim ponašanjem i suicidalnim pokušajima u muških i ženskih ovisnika o alkoholu.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Nije bilo značajnih razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između ovisnika o alkoholu sa suicidalnim ponašanjem i/ili suicidalnim pokušajima i ovisnika o alkoholu bez suicidalnog ponašanja i/ili suicidalnih pokušaja
2. Pronađeno je da postoji značajna interakcija samo između suicidalnog ponašanja i komorbidne depresije i koncentracije trombocitnog 5-HT, no ta značajna interakcija nije bila potvrđena sa promijenjenom koncentracijom trombocitnog 5-HT u suicidalnih ispitanika prema nesuicidalnim ispitanicima
3. Rezultati su pokazali da alkoholizam i komorbidna depresija utječu značajno na koncentraciju trombocitnog 5-HT u muških i ženskih ovisnika o alkoholu, ali da suicidalno ponašanje i suicidalni pokušaji nisu značajno utjecali na koncentraciju trombocitnog 5-HT u muških i ženskih ovisnika o alkoholu
4. Muškarci i žene ovisni o alkoholu imali su niže koncentracije trombocitnog 5-HT od vrijednosti 5-HT u odgovarajućih zdravih kontrolnih ispitanika
5. Utvrđena je spolna razlika u koncentraciji trombocitnog 5-HT između zdravih kontrolnih skupina i ovisnika o alkoholu, pri čemu su ženske ispitanice imale niže koncentracije trombocitnog 5-HT od muških ispitanika
6. Dob ispitanika nije bila povezana sa koncentracijom trombocitnog 5-HT u muškaraca i žena ovisnika o alkoholu sa depresijom, suicidalnim ponašanjem ili pokušajem suicida
7. Naši rezultati nisu potvrdili našu hipotezu da je suicidalno ponašanje ili suicidalni pokušaji u ispitanika s ovisnosti o alkoholu sa ili bez komorbidne depresije povezani sa sniženom koncentracijom trombocitnog 5-HT.
8. Prema tome, koncentracija trombocitnog 5-HT ne može se koristiti kao periferni pokazatelj suicidalnog ponašanja ili suicidalnih pokušaja u ispitanika s ovisnosti o alkoholu

## 7. LITERATURA

Abrams, T.W., Castellucci V.F., Camardo, J.S., Kandel, E.R., Lloyd, P.E. (1984). Two endogenous neuropeptides modulate the gill and siphon withdrawal reflex in *Aplysia* by presynaptic facilitation involving cAMP-dependent closure of a serotonin-sensitive potassium channel. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* 81, 7956-7960.

Allan, A.M., Harris, R.A. (1986). Gamma-aminobutyric acid and alcohol actions: neurochemical studies of long sleep and short sleep mice. *Life Science* 39, 2005-2015.

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

Arango, V., Underwood, M.D., Mann, J.J. (2002). Serotonin brain circuits involved in major depression and suicide. *Progress in Brain Research* 136, 443-453

Asberg, M., Träskman, L. and Thorén, P., (1976). 5-HIAA in the cerebrospinal fluid—a biochemical suicide predictor? *Archives of General Psychiatry* 33, 1193–1197

Bailly, D., Vignau, J., Lauth, B., Racadot, N., Beuscart, R., Servant, D. i Parquet, P.J. (1990). Platelet serotonin decrease in alcoholic patients. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 81, 68-72.

Bailly, D., Vignau, J., Racadot, N., Beuscart, R., Servant, D. i Parquet P.J. (1993). Platelet serotonin levels in alcoholic patients: Changes related to physiological and pathological factors. *Psychiatry Research* 47, 57-88.

Basavarajappa B.S., Hungund B.L. (2002). Neuro-modulatory role of the endocannabinoid signaling system in alcoholism: an overview. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 66, 287-99

Biver, F., Lotstra, F., Monclus, M., Wikler, D., Damhaut, P., Mendlewicz, J., Goldman, S. (1996). Sex difference in 5HT<sub>2</sub> receptor in the living human brain. *Neuroscience Letters* 204, 25-28

Bleich A, Brown SL, Kahn R, van Praag HM. (1988). The role of serotonin in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 14, 297-315.

Blum, I., Vered, Y., Grosskopf, E., Graff, E., Don, R., Harsat A., Raz, O. (1992) The influence of meal composition on plasma serotonin and norepinephrine concentrations. *Metabolism* 41, 137-140

Borges, G., Rosovsky, H. (1996). Suicide attempts and alcohol consumption in an emergency room sample. *Journal of Studies on Alcohol* 57, 543–548.

Brady, J. (2006). Association between alcohol misuse and suicidal behavior. *Alcohol & Alcoholism* 41, 473–478

Bräunig,P., Pollentier, S., Rao, M.(1988). Increased serotonin after a suicide attempt: Coincidence or catharsis? *Biological Psychiatry* 24, 725-727

Brunelli, M., Castellucci, V., Kandel, E.R. (1976). Synaptic facilitation and behavioral sensitization in Aplysia: possible role of serotonin and cyclic AMP. *Science* 194, 1178-1181

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

Cloninger CR, Bohman M, Sigvardsson S. Inheritance of alcohol abuse (1981). Cross-fostering analysis of adopted men. *Archives of General Psychiatry* 38, 861-869.

Cloninger, C.R., Sigvardsson, S., and Bohman, M. (1996). Tye I and II alcoholism: an update. *Alcohol Health and Research World* 20, 18-23.



Coccaro F. (1989). Central serotonin and impulsive aggression. *The British Journal of Psychiatry* 155, supplement 8, 52-62.

Coppen, A., Rowsell, A. R., Turner, P., Padgham, C.(1976). 5-Hydroxytryptamine (5-HT) in the whole-blood of patients with depressive illness. *Post-graduate Medical Journal* 52, 156-158

Courtet, P., Picol, M.C., Bellivier, F., Torres, S., Jollant, F., Michelon, C., Castelnaud, D., Astruc, B., Buresi, C., Malafosse, A. (2004). Serotonin transporter gene may be involved in short-term risk of subsequent suicide attempts. *Biological Psychiatry* 55, 46-51

Davis, L.L, Suris, A., Lambert, M.T, Heimberg, C., Petty F. (1997). Post-traumatic stress disorder and serotonin: new directions for research and treatment. *Journal of Psychiatry & Neuroscience* 22, 318–326.

Dinan, T.G. (1996). Serotonin and regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Life Sciences* 58, 1683-1694.

De Maeyer, J.H., Lefebvre, R.A., Schuurkes, J.A. (2008). 5-HT<sub>4</sub> receptor agonists: similar but not the same. *Neurogastroenterology Motility* 20, 99-112

Dolan, M., Anderson, I.M., Deakin, J.F. (2001). Relationship between 5-HT function and impulsivity and aggression in male offenders with personality disorders. *British Journal of Psychiatry* 178, 352-359

Dubovsky, S.L., Thomas, M. (1995). Beyond the specificity: Effects of serotonin and serotonergic treatments on psychological dysfunction. *Journal of Psychosomatic Research* 39, 429-444

Erspermer, V. (1937). Ricerche morfologiche ed istochimiche sui lipidi delle vie biliari nei Mammiferi. *Cell and Tissue Research* 26, 202-238.

Faraj, B.A., Olkowski, L., Jackson, T.R. (1997). Prevalence of high serotonin uptake in lymphocytes of abstinent alcoholics. *Biochemical Pharmacology* 53, 53-57.

Froehlich J.C., Badia-Elder N.E., Zink R.W., McCullough D.E., Portoghese P.S. (1998). Contribution of the opioid system to alcohol aversion and alcohol drinking behavior. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 287, 284-292.

Gorwood, P., Batel, P., Adès, J., Hamon, M., Boni, C. (2000). Serotonin transporter gene polymorphisms, alcoholism, and suicidal behavior. *Biological Psychiatry* 48, 259-264

Giancola, P.R. (2002). Irritability, acute alcohol consumption and aggressive behavior in men and women. *Drug Alcohol Dependence* 68, 263–274.

Gorwood, P. (2001). Biological markers for suicidal behavior in alcohol dependence. *European Psychiatry* 16, 410-417.

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

Grant, K.A., Barrett, J.E. (1991). Blockade of the discriminative stimulus effects of ethanol with 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists. *Psychopharmacology* 104, 451-456

Green P.H. (1983) Alcohol, nutrition and malabsorption. *Clinical Gastroenterology* 12, 563-74

Grunewald, P., Ponicki, W. i Mitchell, P. (1995). Suicide rates and alcohol consumption in the United States, 1970-89. *Addiction* 90, 1063-1075.

Gullikson, G.W., Virina, M.A., Loeffler, R.F., Yang, D.C., Goldstein, B., Wang, S.X., Moumami, C., Flynn D. L., Zabrowski, D.L. (1993). SC-49518 enhances gastric emptying of solid and liquid meals and stimulates gastrointestinal motility in dogs by a 5-hydroxytryptamine<sub>4</sub> receptor mechanism. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 264, 240-248

Guyton, A.C., Hall, J.E. (1999). Medicinska fiziologija, *Medicinska naklada*, Zagreb

- Hamilton, M. (1960). A rating scale for depression. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 23, 56-62.
- Hayashi, A., Suzuki, M., Sasamata, M. and Miyata, K. (2004). Agonist diversity in 5-HT<sub>2C</sub> receptor-mediated weight control in rats. *Psychopharmacology* 178, 241-249
- Heger, C.D., Collins, R.N. (2004). Platelet Activation and “Crossover Appeal”: Rab and Rho Families United by Common Links to Serotonin. *Molecular Interventions* 4, 79-81
- Herz A. (1996.) Endogenous opioid system and alcohol addiction. *Psychopharmacology* 129, 99-111.
- Hoffman, P.L, Rabe, C.S., Grant, K.A. (1990). Ethanol and the NMDA receptor. *Alcohol* 7, 229-231.
- Hrdina, P.D., Demeter, E., Vu, T.B., Sótónyi, P., Palkovits, M.(1993). 5-HT uptake sites and 5-HT<sub>2</sub> receptors in brain of antidepressant-free suicide victims/depressives: increase in 5-HT<sub>2</sub> sites in cortex and amygdala. *Brain Research* 614, 37-44
- Hudolin, Vladimir (1984). Psihijatrija, *Stvarnost*, Zagreb, 128-136
- Hufford, MR.(2001). Alcohol and suicidal behavior. *Clinical Psychological Review* 21, 797–811
- Iqbal N., van Praag H.M. (1995). The role of serotonin in schizophrenia. *European Neuropsychopharmacology* 5, Supplement, 11-23.
- Jackman H, Luchins D, Meltzer HY. (1983). Platelet serotonin levels in schizophrenia: relationship to race and psychopathology. *Biological Psychiatry* 18, 887-902.
- Javors, M., Tiouririne, M., Prihoda, T. (2000). Platelet serotonin uptake is higher in early-onset than in late-onset alcoholics. *Alcohol and Alcoholism* 35, 390-393.
- Johnson, B.A. (2004). Role of the serotonergic system in the neurobiology of alcoholism – Implications of treatment. *CNS Drugs* 18, 1105-1118.

- Kendall, R.E. (1983). Alcohol and suicide. *Substance and Alcohol Actions/Misuse* 4, 121-127
- Kent, T.A., Campbell, J.L., Pazdernik, T.L., Hunter, R., Gunn, W.H., Goodwin, D.W. (1985). Blood platelet uptake of serotonin in men alcoholics. *Journal of the Studies on Alcoholism* 46, 357-359.
- Kern, R.A. (1953). The growing problem of suicide. *California Medicine* 79, 6-10
- Kessler, R.C., McGonagle, K.A., Swartz M., Blazer, D.G., Nelson, C.B. (1993). Sex and depression in the National Comorbidity Survey I: Lifetime prevalence, chronicity and recurrence. *Journal of Affective Disorders* 29, 85-96
- Koller, G., Preuß, U.W., Bottlender, M., Wenzel, K., Soyka, M.(2002). Impulsivity and aggression as predictors of suicide attempts in alcoholics. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 252, 155-160
- Koo, Ja-Ryong, Yoon, Jong-Woo, Kim, Seong-Gyun, Lee, Young-Ki, Oh, Kook-Hwan, Kim, Gheun-Ho, Kim, Hyung-Jik, Chae, Dong-Wan, Noh, Jung-Woo, Lee, Sang-Kyu, Son, Bong-Ki (2003). Association of depression with malnutrition in chronic hemodialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases* 41, 1037-1042
- Koob G.F., Weiss F.( 1992). Neuropharmacology of cocaine and ethanol dependence. *Recent Developments in Alcoholism* 10, 201-233.
- Koob G.F., Nestler E.J. (1997). The neurobiology of drug addiction. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neuroscience* 9, 482-497
- Kostowski, W.(1996). 5-HT<sub>3</sub> receptors and central effects of ethanol. *Polish Journal of Pharmacology* 48, 243-54.
- Kovačić, Z., Henigsberg, N., Pivac, N., Nedić, G., Borovečki, A. (2008). Platelet serotonin concentration and suicidal behavior in combat related posttraumatic stress disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 32, 544-551

Kumar, A.D., Weiss, S., Fernandez, J.B., Cruess, D. & Eisdorfer, C. (1998). Peripheral serotonin levels in women: role of aging and ethnicity. *Gerontology* 44, 211-216.

LeMarquand, D., Pihl, R.O., Benkelfat, C. (1994.) Serotonin and alcohol intake, abuse and dependence: Clinical evidence. *Biological Psychiatry* 36, 326-337.

Lester, D. (1994). The association between alcohol consumption and suicide and homicide rates: a study of 13 nations. *Alcohol and Alcoholism* 30, 465 – 468

Lewitzka, U., Müller-Oerlinghausen, B., Felber, W., Brunner, J., Hawellek, B., Rujescu, D., Ising, M., Lauterbach, E., Broocks, A., Bondy, B., Rao, M.L., Frahnert, C., Heuser, I., Hohagen, F., Maier, W., Bronisch, T. (2007). Is MAO-B activity in platelets associated with the occurrence of suicidality and behavioural personality traits in depressed patients? *Acta Psychiatrica Scandinavica* 117, 41 - 49

Lieber, C.S. (1984). Alcohol-nutrition interaction: 1984 update. *Alcohol* 1, 151-157

Lovinger, D.M.(1999). The Role of Serotonin in Alcohol's Effects on the Brain. *Current Separations* 18, 23-28

Lowry, O.H., Rosenbrough, N.S., Farr, A.C. & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193, 265-75.

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

Maes, M., Meltzer, H.Y.M. (1995): The serotonin hypothesis of major depression. In: Bloom, F.E., Kupfer, D.J. (Eds.), *Psychopharmacology, the Fourth Generation of Progress*, New York, Raven, 933-944

Mann J.J., McBride, P.A., Brown, R.P., Linnoila, M., Leon, A.C., DeMeo M.(1992). Relationship between central and peripheral serotonin indexes in depressed and suicidal psychiatric inpatients. *Archives of General Psychiatry* 49, 442–446

Mann, J.J. (1998). The neurology of suicide. *Nature Medicine* 4, 25-30

Marcinko, D., Pivac, N., Martinac, M., Jakovljevic, M., Mihaljevic-Peles, A., and Muck-Seler, D. (2007) Platelet serotonin and serum cholesterol concentrations in suicidal and non-suicidal male patients with first episode of psychosis. *Psychiatry Research* 150, 105-108.

Mendelson, S.C., 2000. The current status of the platelet 5-HT<sub>2A</sub> receptor in depression. *Journal of Affective Disorders* 57, 13-24.

Miller, K.J. (2005). Serotonin 5-HT<sub>2C</sub> receptor agonist: Potential for the treatment of obesity. *Molecular Interventions* 5, 282-291

Muck-Seler, D., Jakovljevic, M., Pivac, N. (1996). Platelet 5-HT concentration and suicidal behavior in recurrent major depression. *Journal of Affective Disorder* 39, 73-78

Mück-Šeler, D., Pivac, N., Jakovljević, M. (1999). Sex differences, season of birth and platelet 5-HT levels in schizophrenic patients. *Journal of Neural Transmission* 106, 337–347.

Muck-Šeler, D., Pivac, N., Šagud, M., Jakovljević, M. i Mihaljević-Peš, A. (2002). The effects of paroxetine and tianeptine on peripheral biochemical markers in major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 26, 1235-1243.

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

Muller-Oerlinghausen, B., Roggenbach, J. & Franke, L. (2004). Serotonergic platelet markers of suicidal behavior – do they really exist? *Journal of Affective Disorders* 79, 13-24.

Nestler E.J., Guitart X., Ortiz J. i sur.,(1994). Second messenger and protein phosphorylation mechanisms underlying possible genetic vulnerability to alcoholism. *Annals of the New York Academy of Sciences* 708, 108-18.

Nishizawa, S., Benkelfat, C., Young, S.N., Leyton, M., Mzengeza, S., De Montigny, C., Blier, P. i Diksic, M. (1997). Differences between males and females in rates of serotonin synthesis in human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 94, 5308-5313.

Nordström, P., Asberg, M. (1992). Suicide risk and serotonin. *International Clinical Psychopharmacology* 6 Supplement 6, 12-21.

Oxenkrug, G.F. (1979). The content and uptake of 5-HT by blood platelets in depressive patients. *Journal of Neural Transmission* 45, 285–289

Paykel, E.S. (1977). Depression and appetite. *Journal of Psychosomatic Research* 21, 401-407

Patkar, A.A., Gopalakrishnan, R., Naik, P.C., Murray, H.W., Vergare, M.J. i Marsden, C.A. (2003). Changes in plasma noradrenaline and serotonin levels and craving during alcohol withdrawal. *Alcohol & Alcoholism* 38, 224-231.

Perroud, N., Jaussent, I., Guillaume, S., Bellivier, F., Baud, P., Jollant, F., Leboyer, M., Lewis, C.M., Malafosse, A., Courtet, P. (2010). COMT but not serotonin-related genes modulates the influence of childhood abuse on anger traits. *Genes, Brain and Behavior* 9, 193-202

Pihl, R. and LeMarquand, D., (1998). Serotonin and aggression and the alcohol-aggression relationship. *Alcohol and Alcoholism* 33, 55–65

Pivac, N., Jakovljevic, M., Muck-Seler, D., Brzovic, Z. (1997a). Hypothalamic–pituitary–adrenal axis function and platelet serotonin concentrations in depressed patients. *Psychiatry Research* 73, 123–132.

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

Pivac, N., Mück-Šeler, D., Barišić, I., Jakovljević, M., Puretić, Z. (2001). Platelet serotonin concentration in dialysis patients with somatic symptoms of depression. *Life Sciences* 68, 2423–2433.

Pivac, N., Mück-Šeler, D., Šagud, M., Jakovljević, M., Mustapić, M., Mihaljević-Peleš, A. (2003). Long term sertraline treatment and peripheral biochemical markers in female depressed patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 27, 759–765

Pivac, N., Mück-Šeler, D., Mustapić, M., Nenadić-Šviglin, K. i Kozarić-Kovačić, D. (2004). Platelet serotonin concentration in alcoholic subjects. *Life Sciences* 76, 521-531.

Pivac, N., Kozarić-Kovačić, D., Mustapić, M., Deželjin, M., Borovecki, A., Grubišić-Ilić, M. i Muck-Šeler, D. (2006a). Platelet serotonin in combat related posttraumatic stress disorder with psychotic symptoms. *Journal of Affective Disorders*, 93, 223-227.

Pivac, N., Muck-Seler, D., Mustapic, M., Sagud, M., Marcinko, D., Dezeljin, M., and Jakovljevic M. (2006b). Peripheral biological markers and treatment response in schizophrenia, Chapter 15. In *Schizophrenic Psychology: New Research*, French, D.P. ed. (Hauppauge, New York: NOVA Science Publishers, Inc.), 319-370.

Pivac, N., Kozarić-Kovačić, D., Mustapić, M., Deželjin, M., Nenadić-Šviglin, K., Muck-Šeler D. (2008). Peripheral biological markers in alcoholism. Pivac, N., ed. (Hauppauge, New York: NOVA Science Publishers, Inc.), 1-93.

Pivac, N., Nedić, G., Mustapić, M., Babić, A., Stipčević, T., Borovečki, F., Hajnšek, S., Muck-Šeler, D. (2009). The lack of genotype-phenotype relationship between platelet serotonin concentration and serotonin transporter gene promoter polymorphism in healthy subjects. *Neuroscience Letters* 462, 45-48.

Penick, E.C., Powell, B.J., Nickel, E.J., Read, M.R., Gabrielli, W.F., Liskow, B.I. (1990). Examination of Cloninger's Type I and Type II Alcoholism with a Sample of Men Alcoholics in Treatment. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 14, 623 - 629



Petrakis, I.L., Gonzalez, G., Rosenheck, R., Krystal, J.H. (2002). Comorbidity of alcoholism and psychiatric disorders: an overview. *Alcohol and Comorbid Mental Health Disorder* 26, 81-90

Rapport, M.M., Green, A.A., Page, I.H. (1948). Serum vasoconstrictor, serotonin; isolation and characterization. *The Journal of Biological Chemistry* 176, 1243–51

Robinson T.E., Berridge K.C. (1993). The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research Reviews* 18, 247-91.

Roggenbach, J., Mueller-Oerlinghausen, B., Franke, L., Uebelhack, R., Blank, S., and Ahrens, B. (2007). Peripheral serotonergic markers in acutely suicidal patients. 1. Comparison of serotonergic platelet measures between suicidal individuals, non-suicidal patients with major depression and healthy subjects. *Journal of Neural Transmission* 114, 479–487.

Samson H.H., Hodge C.W.(1993). The role of the mesoaccumbens dopamine system in ethanol reinforcement: studies using the techniques of microinjection and voltammetry. *Alcohol and Alcoholism - Supplement* 2, 469-74.

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 Research* 72, 177-185.

Schuhler, S., Clark, A., Joseph, W., Patel, A., Lehnen, K., Stratford, E., Horan, T. L., Fone, K. C. F., Ebling, F. J. P.(2005). Involvement of 5-HT<sub>2C</sub> Receptors in the Regulation of Food Intake in Siberian Hamsters. *Journal of Neuroendocrinology* 17, 276-285

Selim M., Bradberry C.W.(1996). Effect of ethanol on extracellular 5-HT and glutamate in the nucleus accumbens and prefrontal cortex: comparison between the Lewis and Fischer 344 rat strains. *Brain Research* 716, 157-64.

Sher, L., Oquendo, M. A., Galfalvy, H.C., Grunebaum, M.F., Burke, A.K., Burke, A.K., Zalsman, G., Mann, J.J. (2005). The relationship of aggression to suicidal behavior in depressed patients with a history of alcoholism. *Addictive Behaviors* 30, 1144–1153

Sher, L. (2005). Alcohol consumption and suicide. *QJM: An International Journal of Medicine* 99, 57-61

Sher, L. (2006). Alcoholism and suicidal behavior: a clinical overview. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 113, 13-22.

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

Stahl, S.M. (1998). Mechanism of action of serotonin selective reuptakeinhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. *Journal of Affective Disorders* 51, 215-35.

Stanley, M., Mann, J.J. (1983) Increased serotonin-2 binding sites in frontal cortex of suicide victims. *The Lancet* 321, 214-216

Stanley, M., Stanley, B.(1990). Postmortem evidence for serotonin's role in suicide. *The Journal of Clinical Psychiatry, Supplement* 51, 22-30.

Suzdak, P.D., Schwartz, R.D., Skolnick, P., Paul, S.M. (1986). Ethanol stimulates gamma-aminobutyric acid receptor-mediated chloride transport in rat brain synaptoneuroosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83, 4071-5

Szalay, F., Borcsiczky, D., Kempler, P. i Tekes, K. (2001). Platelet serotonin (5-HT) is decreased not only in alcoholic but also in HCV cirrhosis. *American Journal of Gastroenterology* 96, Supplement, 137-138.

Tallman, J.F., Paul S.M., Skolnick P., Gallagher D.W. (1980). Receptors for the age of anxiety: pharmacology of the benzodiazepines. *Science* 207, 274-81

Tsai G., Gastfriend D.R., Coyle J.T. (1995). The glutamatergic basis of human alcoholism. *American Journal of Psychiatry* 152, 332-40.

Twichell, G.R., Hanna, G.L., Cook, E.H., Fitzgerald, H.E., Little, K.Y., Zucker, R.A., (1998). Overt behavior problems and serotonergic function in middle childhood among male and female offspring of alcoholic fathers. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 22, 1340-1348.

Valenzuela, F.C. (1997). Alcohol and Neurotransmitter Interactions. *Alcohol Health and Research World* 21, 144-147

Veenstra-Vander Weele, J., Anderson, G.M. i Cook, E.H. Jr. (2000). Pharmacogenetics of the serotonin system: initial studies and future directions. *European Journal of Pharmacology* 410, 165-181.

Wise R.A., Bozarth M.A. (1987). A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychological Review* 94, 469-92.

Wojnar M., Ilgen M.A., Czyz, E., Strobbe, S., Klimkiewicz, A., Jakubczyk, A., Glass, J., Brower, K.J. (2009) Impulsive and non-impulsive suicide attempts in patients treated for alcohol dependence. *Journal of Affective Disorders* 115, 131–139