

Ocena populacji limfocytów i stężenia cytokin u chorych na schizofrenię

Evaluation of lymphocyte subsets and cytokine concentration in patients with schizophrenia

Paweł Wójciak¹, Agnieszka Remlinger-Molenda¹, Małgorzata Sobieska², Artur Kostrzewa², Janusz Rybakowski¹

¹Klinika Psychiatrii Dorosłych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

²Katedra Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Neuropsychiatria i Neuropsychologia 2012; 7, 3: 122–129

Adres do korespondencji:

dr n. med. Paweł Wójciak

Klinika Psychiatrii Dorosłych

Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego

ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań

e-mail: p.wojciak@neostrada.pl

Streszczenie

Wstęp: Schizofrenia wiąże się z zaburzeniami funkcji układu odpornościowego. Do ich najbardziej charakterystycznych wykładników należą zmiany w obrębie populacji limfocytów oraz wahania stężenia cytokin.

Cel badania: Ocena populacji limfocytów i stężenia cytokin u chorych na schizofrenię.

Materiał i metody: Oceniano populacje limfocytów (CD3+, CD4+, CD16+, CD19+, CD4/CD8) u 28 chorych na schizofrenię (12 mężczyzn i 16 kobiet w wieku od 19 do 56 lat), wykorzystując metodę cytometrii przepływową. Stężenie cytokin (sIL-2R, IL-4, IL-6) badano u 32 osób ze schizofrenią (15 mężczyzn i 17 kobiet w wieku od 29 do 56 lat) za pomocą metody ELISA. Grupę kontrolną stanowiło 32 zdrowych ochotników (16 mężczyzn i 16 kobiet w wieku od 23 do 61 lat).

Wyniki: Obserwowano statystycznie istotne różnice dotyczące populacji limfocytów między chorymi na schizofrenię a grupą kontrolną (zwiększenie liczby CD19+ i stosunku CD4/CD8 w zaostrzeniu oraz zmniejszenie stosunku CD4/CD8 w remisji choroby). Nie odnotowano różnic między mężczyznami i kobietami ze schizofrenią w zaostrzeniu i remisji choroby. Stwierdzono statystycznie istotną różnicę w zakresie stężenia cytokin między chorymi na schizofrenię a grupą kontrolną (większe stężenie sIL-2R), różnica ta nie występowała w remisji. Zaobserwowano również statystycznie istotną różnicę między pacjentami z zaostrzeniem schizofrenii i remisją choroby (większe stężenie IL-4 w zaostrzeniu). Nie stwierdzono różnic między mężczyznami i kobietami w zakresie powyższych parametrów w zaostrzeniu i w remisji choroby.

Wnioski: Uzyskane wyniki potwierdzają istnienie zmian w aktywności układu odpornościowego w schizofrenii. Obserwowane jednocześnie procesy aktywacji i supresji tego układu sugerują istnienie zaburzeń równowagi immunologicznej w tej chorobie.

Słowa kluczowe: schizofrenia, cytokiny, populacje limfocytów.

Abstract

Introduction: Schizophrenia is associated with immune system dysfunction. These dysfunctions are reflected, among others, in changes of lymphocyte subsets and cytokine levels.

Aim of the study: To evaluate lymphocyte subsets and cytokine concentration in patients with schizophrenia.

Material and methods: Lymphocyte subsets evaluation (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD19+, CD4/CD8) was performed in 28 patients with schizophrenia (12 men and 16 women aged from 19 to 56 years) using the flow cytometry method. The cytokine evaluation (sIL-2R, IL-4, IL-6) was performed in 32 patients with schizophrenia (15 men and 17 women aged from 29 to 56 years) using the ELISA method. The evaluation was also performed in 32 healthy control subjects (16 men and 16 women aged from 23 to 61 years).

Results: Statistically significant differences were observed in lymphocyte subsets between schizophrenia patients and healthy control subjects (increase of CD19+, CD4/CD8 during exacerbation and increase of CD4/CD8 in remission). There were no significant differences between schizophrenic men and women in the above parameters during exacerbation and remission of schizophrenia. Statistically significant differences were observed in cytokine concentration between patients during acute episodes of schizophrenia and healthy control subjects (higher sIL-2R level), but not in remission. Also, there were significant differences between patients in exacerbation of schizophrenia and remission (higher IL-4 level).

Conclusions: The results obtained confirm changes of immune system activity in schizophrenia including both activation and suppression at the same time. This may suggest an immunological imbalance during schizophrenia.

Key words: schizophrenia, cytokines, lymphocyte subsets.

Wstęp

Dokonujący się w ostatnich latach postęp w zakresie wiedzy o budowie i funkcjonowaniu układu odpornościowego zwrócił uwagę badaczy na możliwy udział czynników immunologicznych w patogenezie wielu schorzeń, w tym również zaburzeń psychicznych.

Badania nad układem immunologicznym w schizofrenii przynoszą jednak niejednoznaczne wyniki. Jako przyczynę tego stanu rzeczy wskazuje się najczęściej heterogenny charakter tej choroby oraz różnorodność czynników etiopatogenetycznych warunkujących jej powstanie. Z uwagi na dużą podatność układu odpornościowego na wpływ czynników zewnętrznych zwraca się także uwagę na styl życia osób chorych. Palenie dużej liczby papierosów, alkohol, leki, nadwaga lub niedożywienie, problemy ze snem oraz przewlekły stres w sposób znaczący modyfikują u nich odpowiedź immunologiczną (Sperner-Unterweger i wsp. 2001; Rapaport 2001; Mansur i wsp. 2012). Niezależnie jednak od powyższych czynników odchylenia w zakresie parametrów układu odpornościowego w schizofrenii obserwowane były przez wielu badaczy.

W zakresie układu białokrwinkowego w latach 60. opisano u chorych na schizofrenię obecność atypowych limfocytów, określanych jako komórki P (Fassel i wsp. 1963; Vander Kamp 1962). Charakteryzują się one zasadochłonną cytoplazmą i nieregularnym kształtem jądra. Późniejsze badania potwierdziły obecność tych komórek (określanych obecnie jako limfocyty Downeya typu III) we krwi pacjentów ze schizofrenią (Hirata-Hibi i Hayashi 1993; Lahdelma i wsp. 1995). Część badaczy obserwowała odchylenia w obrębie limfocytów B, m.in. wzrost subpopulacji limfocytów B CD5+ oraz wzrost całkowitej liczby komórek B (Masserini i wsp. 1990; McAllister i wsp. 1989). Liczba limfocytów B CD5+ jest zwiększona także w niektórych chorobach autoimmunologicznych, np. reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS) lub chorobie Sjögrena (Jakóbiśiak 1995), co może przemawiać za tym, że również w schizofrenii zwiększone wytwarzanie tych komórek jest efektem toczącego się procesu autoimmunologicznego (Wright i wsp. 1996).

Badania oceniające populacje limfocytów w schizofrenii wskazują na przewagę odpowiedzi humoralnej. Większość prac podaje wzrost poziomu limfocytów CD3+, CD4+, wzrost stosunku CD4/CD8 oraz spadek liczby komórek *natural killer* (NK) (Sperner-Unterweger i wsp. 2001).

W odniesieniu do cytokin szczególną uwagę zwraca zwiększone stężenie interleukiny 1 (IL-1) (Sirota i wsp. 1995). Sugeruje się genetycznie uwarunkowane zaburzenia w metabolizmie cytokin, czego dowodem mogą być różnice w zakresie polimorfizmu kompleksu genów kodujących IL-1 (IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra) zlokalizowanych na długim ramieniu chromosomu 2 między osobami chorymi i zdrowymi (Katila i wsp. 1999).

Pacjenci leczeni dużymi dawkami rekombinowanej IL-2 w przebiegu chorób nowotworowych często mieli zaburzenia psychiczne w postaci omamów i urojeń (Denicoff i wsp. 1987). Bliźnięta, z których jedno chorowało na schizofrenię, charakteryzowały się wyższym stężeniem rozpuszczalnego receptora dla IL-2 (sIL-2R) niż bliźnięta zdrowe (Rapaport i wsp. 1993; Singh 2009). U chorych na schizofrenię stężenie IL-2 w surowicy było zmniejszone (Villemain i wsp. 1989), szczególnie jeżeli obserwowano u nich wysoki poziom autooprzeciwciał (Yang i wsp. 1994) lub znajdowali się oni w okresie zaostrzenia psychozy (Ganguli i wsp. 1992). Ta ostatnia zależność wydaje się tak silna, że Ganguli (Ganguli i wsp. 1993a) postuluje, że stężenie IL-2 w surowicy poniżej 400 pg/ml może być sygnałem poprzedzającym nawrót schizofrenii. Ten sam autor sugeruje istnienie dodatkowej korelacji między małym osoczym stężeniem IL-2 a początkiem choroby w wieku młodzieńczym (Ganguli i wsp. 1993b). Jednocześnie wyższe wyjściowe miana IL-2 wydają się dodatnio korelować z efektem leczenia farmakologicznego (Zhang i wsp. 2004).

Zwiększone stężenie IL-6 obserwowano w surowicy osób chorych w okresie remisji (Ganguli i wsp. 1994). Zwiększone stężenie rozpuszczalnego receptora dla IL-6 (sIL-6R) zdaje się korelować dodatnio z nasileniem objawów wytwórczych (Müller i wsp. 1997). Równie ważną rolę w patogenezie schizofrenii odgrywa inna cytokina prozapalna – czynnik martwicy nowotworu (*tumor necrosis factor α* – TNF- α). W licznych badaniach obserwowano zwiększenie jej stężenia w fazie zaostrzenia choroby oraz zmniejszenie w miarę poprawy samopoczucia po skutecznym leczeniu farmakologicznym (Hope i wsp. 2009).

Za zaburzeniami równowagi immunologicznej w schizofrenii przemawiać może także zmniejszone u tych chorych stężenie cytokin przeciwzapalnych – IL-4 oraz IL-10 (O'Brien i wsp. 2008).

W ciągu ostatnich 20 lat próbowano stosować interferon α (IFN- α) u chorych na schizo-

frenię (Katila i wsp. 1993; Leszek i wsp. 1991). Uzyskano pozytywne wyniki, przede wszystkim poprawę w zakresie objawów ubytkowych, ale z uwagi na wysoką cenę kuracji ograniczyła się ona do wąskiej grupy pacjentów.

Celem opisywanego badania była ocena wybranych parametrów układu odpornościowego (populacji limfocytów oraz stężenia cytokin) u chorych na schizofrenię w okresie zaostżenia i remisji choroby.

Materiał i metody

Osoby badane

Badaniem, na które uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy UM w Poznaniu (238/01), objęto osoby hospitalizowane w Klinice Psychiatrii Dorosłych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Włączono do niego chorych spełniających kryteria rozpoznania schizofrenii zgodnie z ICD-10 i DSM-IV. Warunkiem włączenia był brak współistniejących schorzeń o podłożu autoimmunologicznym oraz schorzeń somatycznych wpływających na aktywność układu immunologicznego, a także ostrych schorzeń infekcyjnych i alergicznych w ciągu 4 tygodni przed badaniem. Pacjenci zostali poinformowani o celu i metodyce przeprowadzanych badań. Wszystkie osoby badane oraz osoby z grupy kontrolnej wyraziły pisemną zgodę na udział w badaniu.

Grupę badaną, w której oznaczano cytokiny, stanowiło 32 pacjentów (15 mężczyzn, 17 kobiet) z rozpoznaniem schizofrenii. Średni wiek pacjentów wynosił 31 lat (mediana 29, min. 19, maks. 56 lat). Do grupy badanej, w której oznaczano populację limfocytów, włączono 28 pacjentów (12 mężczyzn, 16 kobiet) z rozpoznaniem schizofrenii. Średni wiek pacjentów wynosił 31 lat (mediana 29, min. 19, maks. 56 lat). Grupę kontrolną stanowiły 32 osoby (16 mężczyzn, 16 kobiet). Średnia wieku wynosiła 39 lat (mediana 34, min. 23, maks. 61 lat). Do grupy kontrolnej zakwalifikowano osoby, u których na podstawie wywiadu wykluczono istnienie schorzeń autoimmunologicznych, przewlekłych schorzeń somatycznych zaburzających funkcję układu immunologicznego oraz ostrych schorzeń infekcyjnych i alergicznych w ciągu 4 tygodni przed badaniem. Warunkiem włączenia do badania było także niewystępowanie w wywiadzie depresji oraz innych schorzeń psychicznych. Podczas pobytu w Klinice Psychiatrii chorzy poddawani byli leczeniu farmakologicznemu. Stosowano haloperidol, sulpiryd, risperidon, olanzapinę, zuklopentiksol i flupentiksol.

Wszystkich chorych oceniono za pomocą skali PANSS (*The Positive and Negative Syndrome Scale for Schizophrenia*; Skala zespołu pozytywnego i negatywnego dla schizofrenii) (Kay i wsp. 1987). Do badania włączono chorych, którzy uzyskali 80 punktów i więcej. Ponownie pobierano krew w momencie redukcji wyniku skali o 40% lub więcej, co traktowano jako kryterium istotnej poprawy objawowej. Średni odstęp czasu między ocenami, tj. między zaostżeniem a remisją choroby wg kryteriów przedstawionych powyżej, wynosił dla badania cytokin 55 dni, a dla populacji limfocytów 52 dni.

Metodyka badań laboratoryjnych

U każdego chorego pobierano krew dwukrotnie: w momencie zaostżenia oraz w momencie remisji choroby, natomiast w grupie kontrolnej jednokrotnie.

Do pomiaru cytokin pobierano 10 ml krwi do czystej, suchej probówki w celu oddzielenia surowicy od skrzepu oraz z tego samego wkłucia – 2 ml krwi na wersenian dwupotasowy (K_2EDTA) do oznaczania populacji limfocytów. Do oceny cytokin wykorzystano metodę ELISA (testy immunoenzymatyczne w fazie stałej) opartą na zasadzie podwójnych przeciwciał. Zastosowano zestawy Quantikine (firma R and D System, USA) do oznaczania IL-4, IL-6, IFN- γ oraz sIL-2R. Natężenie barwy mierzono w czytniku płytkowym. Odczytu stężenia antygeny w badanych próbkach dokonywano z krzywej na podstawie wartości absorbancji uzyskanych dla standardów. Do oceny subpopulacji limfocytów wykorzystano metodę cytometrii przepływowej polegającą na wyznakowaniu komórek barwnikami fluorescencyjnymi (izotiocyjanian fluoresceiny, fikoerytryna, fikoerytryna sprzężona z barwnikiem cyjaninowym) związanymi z przeciwciałami reagującymi z cząsteczkami powierzchniowymi limfocytów, a następnie na pomiarze intensywności związanej z komórką fluorescencji wzbudzonej światłem lasera. Pomiaru fluorescencji znakowanych komórek dokonano, używając cytofluorymetru przepływowego Cytoron Absolute (Ortho Diagnostic System), posiadającego laser argonowy (15 mW) emitujący światło o długości fali $\lambda = 488$ nm. Wyniki opracowano metodą analizy bramkowej, pozwalającej na oznaczenie fluorescencji w wybranej subpopulacji komórek z zastosowaniem programu ImmunoCount II, który umożliwił obliczenie bezwzględnej liczby komórek w przeliczeniu na μl (mm^3).

Metoda obliczeń statystycznych

Ponieważ oceniane w pracy parametry nie wykazywały rozkładu normalnego, do ich oceny zastosowano testy nieparametryczne. Do porównania parametrów między dwoma różnymi grupami używano testu Manna-Whitneya, a do oceny dynamiki zmian w obrębie jednej grupy badanych – testu Wilcozona.

Do badania zależności między dwoma cechami wykorzystano korelację porządku rang Spearmana. Za poziom istotności statystycznej porównań przyjęto $p < 0,05$. Wszystkie porównania i korelacje wykonano przy użyciu pakietu Statistica.

Wyniki

W tabeli 1. przedstawiono porównanie parametrów populacji limfocytów u osób ze schizofrenią w okresie ostrego epizodu choroby z parametrami uzyskanymi w trakcie remisji. Nie stwierdzono istotnych różnic między parametrami populacji limfocytów u chorych na schizofrenię

podczas ostrego epizodu choroby i w fazie remisji.

W tabeli 2. porównano pod względem populacji limfocytów wyniki uzyskane u chorych na schizofrenię w okresie zaostrzenia oraz remisji choroby z wynikami grupy kontrolnej osób zdrowych.

U osób ze schizofrenią w fazie zaostrzenia choroby stwierdzono statystycznie istotne zwiększenie liczby komórek CD19+ i CD4/CD8 w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,05$). U osób ze schizofrenią w okresie remisji odnotowano istotne zwiększenie stosunku CD4/CD8 w porównaniu z grupą kontrolną.

Ocena wpływu płci na parametry populacji limfocytów w fazie zaostrzenia i remisji schizofrenii nie wykazała zależności między tym czynnikiem a aktywnością układu odpornościowego. Stwierdzono dodatnią korelację między liczbą limfocytów, komórek CD3+, CD4+, CD19+ a wiekiem pacjentów w okresie remisji choroby.

W tabeli 3. pokazano różnice w stężeniu badanych cytokin między chorymi na schizofre-

Tabela 1. Dane dotyczące populacji limfocytów (liczba komórek/mm³) u 28 chorych na schizofrenię w okresie ostrego epizodu choroby oraz w trakcie remisji

Parametr	Schizofrenia – ostry epizod PANSS > 80		Schizofrenia – remisja PANSS redukcja > 40%		Różnica – ostry epizod vs remisja
	średnia	SD	średnia	SD	
limfocyty	2290	1124,6	2204	992,3	NS $p > 0,05$
CD3+	1681	889,6	1629	776,7	NS $p > 0,05$
CD4+	990	490,1	940	425	NS $p > 0,05$
CD8+	521	337	494	275	NS $p > 0,05$
CD16+	277	187,4	283	193,4	NS $p > 0,05$
CD19+	308	154,2	268	172,8	NS $p > 0,05$
CD4/CD8	2,3	1,1	2,3	1,1	NS $p > 0,05$

NS – nieistotne statystycznie

Tabela 2. Dane dotyczące populacji limfocytów (liczba limfocytów/mm³) w grupie kontrolnej 32 osób oraz ich porównanie z wynikami uzyskanymi u chorych na schizofrenię w fazie zaostrzenia i remisji choroby (szczegółowe wyniki podano w tabeli 1)

Parametr	Grupa kontrolna		Różnica grupa kontrolna vs schizofrenia – zaostrzenie	Różnica grupa kontrolna vs schizofrenia – remisja
	średnia	SD		
limfocyty	2232	794,5	NS $p > 0,05$	NS $p > 0,05$
CD3+	1763	635,7	NS $p > 0,05$	NS $p > 0,05$
CD4+	1019	456,1	NS $p > 0,05$	NS $p > 0,05$
CD8+	634	279,4	NS $p > 0,05$	NS $p > 0,05$
CD16+	228	153,4	NS $p > 0,05$	NS $p > 0,05$
CD19+	241	152,6	↑ $p < 0,05$	NS $p > 0,05$
CD4/CD8	1,8	0,9	↑ $p < 0,05$	↑ $p < 0,05$

↑ wynik wyższy niż w grupie kontrolnej, $p < 0,05$, test Manna-Whitneya, NS – nieistotne statystycznie

Tabela 3. Stężenie cytokin (pg/ml) u 32 chorych na schizofrenię w okresie ostrego epizodu choroby oraz w okresie remisji

Parametr	Schizofrenia – ostry epizod PANSS > 80		Schizofrenia – remisja PANSS redukcja > 40%		Różnica ostry epizod vs remisja
	średnia	SD	średnia	SD	
sIL-2R	192	53,1	203,5	63,7	NS $p > 0,05$
IL-4	679,1	376,7	593,8	396,7	↑ $p < 0,05$
IL-6	1,2	2,4	1,45	3	NS $p > 0,05$

↑ wynik wyższy w okresie zaostrzenia, $p < 0,05$, test Manna-Whitneya, NS – nieistotne statystycznie

Tabela 4. Stężenia cytokin (pg/ml) uzyskane w grupie kontrolnej 32 osób oraz ich porównanie z wynikami uzyskanymi u chorych na schizofrenię w fazie zaostrzenia i remisji choroby (szczegółowe wyniki podano w tabeli 3.)

Parametr	Grupa kontrolna		Różnica grupa kontrolna vs schizofrenia – zaostrzenie	Różnica grupa kontrolna vs schizofrenia – remisja
	średnia	SD		
sIL-2R	161,9	52,2	↑ $p < 0,05$	NS $p > 0,05$
IL-4	720,4	272,8	NS $p > 0,05$	NS $p > 0,05$
IL-6	0,53	1,5	NS $p > 0,05$	NS $p > 0,05$

↑ wynik wyższy niż w grupie kontrolnej, $p < 0,05$, test Manna-Whitneya, NS – nieistotne statystycznie

nię w okresie ostrego epizodu choroby i w trakcie remisji. Stwierdzono istotnie większe stężenie IL-4 ($p < 0,05$) u pacjentów w fazie zaostrzenia choroby w stosunku do okresu remisji.

W tabeli 4. przedstawiono porównanie stężenia cytokin uzyskanego u chorych na schizofrenię w okresie zaostrzenia oraz remisji choroby ze stężeniami uzyskanymi w grupie kontrolnej.

U osób ze schizofrenią w okresie ostrego epizodu choroby zaobserwowano istotnie większe stężenie sIL-2R w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,05$). Nie odnotowano istotnych różnic pod względem stężenia cytokin między chorymi na schizofrenię w fazie remisji a grupą kontrolną.

Nie stwierdzono różnic w stężeniach cytokin w okresie zaostrzenia i remisji choroby u kobiet i mężczyzn. U osób ze schizofrenią w fazie zaostrzenia obserwowano dodatnią zależność między wiekiem i stężeniem IL-6.

Omówienie

Uzyskane wyniki wskazują na zmiany w zakresie badanych parametrów układu odpornościowego u chorych na schizofrenię. W fazie zaostrzenia choroby nie zaobserwowano istotnej różnicy w odniesieniu do całej populacji limfocytów oraz w zakresie liczby komórek CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ w porównaniu z grupą kontrolną. Osoby chore na schizofrenię od osób zdrowych znacząco odróżnia podwyższony poziom limfocytów CD19+ (limfocyty B) oraz zwiększony stosunek CD4/CD8 ($p < 0,05$).

Podobne, charakterystyczne dla cierpiących na schizofrenię zwiększenie stosunku CD4/CD8 w porównaniu z grupą kontrolną opisali Sperner-Unterweger i wsp. (2001). Wydaje się, że podwyższony poziom limfocytów B sugeruje gotowość układu immunologicznego do zwiększonej produkcji przeciwciał, często opisywanej w schizofrenii (Rybakowski 2000). Zwiększony stosunek CD4/CD8, świadczący o przewadze pomocniczych limfocytów T (których rola polega m.in. na indukowaniu odpowiedzi immunologicznej) nad supresyjnymi limfocytami T (mającymi zdolność hamowania odpowiedzi immunologicznej), może przemawiać za występowaniem u chorych procesów aktywacji w obrębie układu immunologicznego (Mackiewicz 1991).

U chorych na schizofrenię w porównaniu z grupą kontrolną w okresie remisji statystycznie istotna różnica utrzymała się jedynie dla stosunku CD4/CD8 ($p < 0,05$). Jednocześnie porównanie parametrów otrzymanych u chorych włączonych do leczenia z parametrami uzyskanymi w momencie klinicznej remisji nie wykazało znaczącej różnicy między oboma pomiarami. Jeśli chodzi o średnie wyniki dotyczące populacji limfocytów, po leczeniu nastąpił spadek wszystkich parametrów w stosunku do poziomu w chwili włączenia do badania. Zaobserwowano zmniejszanie się liczby wszystkich limfocytów, komórek CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, a także stosunku CD4/CD8. Wzrosła jedynie średnia liczba komórek NK. Powyższe rozważania znajdują potwierdzenie

w literaturze. Sperner-Unterweger i wsp. (2001) u pacjentów w remisji obserwowali zmniejszenie liczby komórek CD3+, CD4+ oraz stosunku CD4/CD8, a także zwiększenie liczby komórek NK w porównaniu z okresem zaostrzenia.

Bardziej specyficzne wydają się zmiany w zakresie stężenia cytokin. W pracy obserwowano istotne zwiększenie stężenia sIL-2R ($p < 0,05$) u osób z zaostrzeniem schizofrenii w stosunku do grupy kontrolnej. Stężenia IL-4 i IL-6 nie wykazały różnic istotnych statystycznie, ale ich średnie stężenie u chorych odzwierciedlało dane z piśmiennictwa. Średnie stężenie IL-6 u osób ze schizofrenią było większe niż w grupie kontrolnej (Kunz i wsp. 2011), natomiast średnie stężenie IL-4 mniejsze (Ganguli i wsp. 1994; Maes i wsp. 1994; 1995b; Służewska i wsp. 1997). Interleukina 6 odgrywa ważną rolę w kontroli procesów immunologicznych. Uznawana jest za marker odpowiedzi zapalnej, aktywuje limfocyty B do produkcji przeciwciał (Müller i wsp. 2001). Związek tej cytokiny z objawami schizofrenii wynika także z jej wpływu na neurotransmisję. W badaniach *in vitro* IL-6 pobudzała neurony do uwalniania dopaminy (Hama i wsp. 1991). Obwodowe podanie IL-6 zwierzętom nasilało obrót dopaminy i serotoniny w hipokampie i korze czołowej (Zalcman i wsp. 1994), prowadziło także do behawioralnych zmian podobnych do schizofrenii (Watanabe i wsp. 2010). Zwiększone stężenie IL-6 w schizofrenii wiąże się najprawdopodobniej z obserwowaną u chorych przewagą odpowiedzi humoralnej (Müller i wsp. 2001). Ganguli i wsp. (1998) postulują istnienie deficytu w obrębie populacji limfocytów Th1 w schizofrenii. Już w latach 40. u chorych na schizofrenię obserwowano obniżoną reakcję na śródskórne podanie obcego białka (surowica świnki morskiej) (Molholm 1942). Potwierdzeniem przesunięć w aktywacji odporności komórkowej u tych chorych może być także rzadkie współwystępowanie schizofrenii oraz RZS, silnie związanego z aktywacją ramienia komórkowego odpowiedzi immunologicznej (Vinogradov i wsp. 1991).

Zwiększone w porównaniu z grupą kontrolną stężenie sIL-2R wskazuje na istniejącą u chorych aktywację odpowiedzi immunologicznej. sIL-2R jest wydzielany przez zaktywowane limfocyty T, zmiany jego stężenia są przez niektórych autorów traktowane jako indeks aktywności różnych chorób o podłożu immunologicznym (Caruso i wsp. 1993). Służewska i wsp., omawiając uzyskane we własnej pracy zwiększone

stężenia IL-6 oraz sIL-2R w stosunku do grupy kontrolnej, sugerują, że mogą one być wykładnikiem istnienia aktywacji układu immunologicznego o charakterze chronicznym u osób ze schizofrenią w okresie zaostrzenia objawów choroby (Służewska i wsp. 1997; Potvin i wsp. 2008; Bresee 2009).

W pracy nie stwierdzono istotnej różnicy między stężeniem IL-4 w grupie osób chorych podczas zaostrzenia i w grupie kontrolnej.

Nie odnotowano statystycznie istotnej różnicy dla sIL-2R między osobami chorymi będącymi w remisji a grupą kontrolną. Leczenie spowodowało również istotne zmniejszenie stężenia IL-4 ($p < 0,05$), a także (bez statystycznej istotności) zwiększenie stężenia sIL-2R oraz IL-6 u osób w okresie remisji w porównaniu z osobami z zaostrzeniem choroby. Podobne zwiększenie stężenia wyżej wymienionych cytokin w trakcie leczenia neuroleptykami obserwowali także inni autorzy (Kluge i wsp. 2009).

Analiza uzyskanych wyników sugeruje normalizujący charakter działania neuroleptyków na parametry układu immunologicznego. Świadczy o tym uzyskana po terapii redukcja statystycznych istotności odróżniających osoby chore od grupy kontrolnej. Wydaje się, że neuroleptyki wywierają jednocześnie efekt immunomodulujący, mający na celu uzyskanie stanu równowagi immunologicznej, wyraźnie zaburzonej w ostrej fazie choroby (Drzyzga i wsp. 2006; Kato i wsp. 2011).

Obserwowane zwiększenie stężenia sIL-2R może się wiązać z ograniczeniem obserwowanej w schizofrenii aktywacji układu immunologicznego. Zmniejszenie stężenia IL-4, silnie związanej z odpowiedzią typu Th2 (odpowiedź humoralna), oraz liczby limfocytów B (CD19+) mogą świadczyć o hamowaniu przez leki przeciwpsychotyczne ramienia humoralnego. Zwiększenie liczby komórek NK oraz zmniejszenie stosunku CD4/CD8 może przemawiać za wyrównaniem równowagi między odpowiedzią Th1 (odpowiedź komórkowa) i Th2.

U chorych na schizofrenię zwraca się uwagę na obserwowaną normalizację parametrów immunologicznych w porównaniu z grupą kontrolną oraz aktywację odpowiedzi Th1 w trakcie stosowania neuroleptyków. Ganguli i wsp. (1995) wskazują na zwiększenie stężenia sIL-2R podczas stosowania leków przeciwpsychotycznych. Powoduje to zmniejszenie obserwowanej w schizofrenii aktywacji układu immunologicznego poprzez wiązanie krążącej we krwi wolnej IL-2. Jednocześnie zaznaczają, że stopień wzrostu sIL-2R w surowicy osób chorych nie

zależny od rodzaju stosowanego neuroleptyku, ponieważ podobne rezultaty obserwowano podczas leczenia m.in. klozapiną, haloperidolem, flufenazyną oraz risperidonem. Nie odnotowano istotnych statystycznie różnic między kobietami i mężczyznami w zakresie parametrów układu immunologicznego, zarówno przed leczeniem, jak i po nim. Także inni autorzy (Rothermundt i wsp. 1996) nie obserwowali zależności między płcią a aktywnością układu immunologicznego w schizofrenii.

Stwierdzona przez autorów niniejszej pracy dodatnia korelacja między wiekiem a stężeniem IL-6 w ostrej fazie choroby wiąże się być może z opisywanym zjawiskiem silniejszej aktywacji układu immunologicznego u osób z dłuższym przebiegiem choroby (Rapaport i wsp. 2001). Uzyskane wyniki są w dużym stopniu zbieżne z obserwacjami zawartymi w literaturze, autorzy zdają sobie jednak sprawę z ograniczeń związanych z małą liczebnością grupy badanej, co może utrudniać analizę uzyskanych danych.

Wnioski

Uzyskane wyniki wskazują na istnienie statystycznie istotnych różnic w aktywności wybranych parametrów układu immunologicznego między osobami chorymi na schizofrenię w okresie ostrego epizodu a osobami zdrowymi. Zmiany obserwowane u osób chorych sugerują występowanie w fazie zaostrzenia schizofrenii zaburzenia równowagi immunologicznej, głównie w zakresie procesów aktywacji i supresji odpowiedzi odpornościowej. W miarę poprawy klinicznej wyniki uzyskane przez chorych zbliżyły się do wyników osób zdrowych. Otwarte pozostaje pytanie, czy poprawa parametrów immunologicznych wiąże się bezpośrednio z uzyskaniem klinicznej remisji objawów, czy też jest następstwem zastosowania terapii (w tym wypadku leków neuroleptycznych).

Piśmiennictwo

- Bresee C, Rapaport MH. Persistently increased serum soluble interleukin-2 receptors in continuously ill patients with schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009; 12: 861-865.
- Caruso C, Candore G, Cigna D, et al. Biological significance of soluble IL-2 receptor. *Mediators Inflamm* 1993; 2: 3-21.
- Denicoff KD, Rubinow DR, Papa MZ, et al. The neuropsychiatric effects of treatment with interleukin-2 and lymphokine – activated killer cells. *Ann Intern Med* 1987; 107: 293-300.
- Drzyzga L, Obuchowicz E, Marcinowska A, Herman ZS. Cytokines in schizophrenia and the effects of antipsychotic drugs. *Brain Behav Immun* 2006; 20: 532-545.
- Fessel WJ, Hirata-Hibi M. Abnormal lymphocytes in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1963; 9: 601-613.
- Ganguli R, Brar JS, Solomon W, et al. Altered interleukin-2 production between clinical state and autoantibody production. *Psychiatry Res* 1992; 44: 113-123.
- Ganguli R, Brar JS, Damaraju CV, et al. Clinical correlation of immune dysfunction in subgroup of schizophrenic patients. Past, present and future of psychiatry, IX World Congress of Psychiatry, Rio de Janeiro 1993a; Vol. I: 44-444.
- Ganguli R, Brar JS, Chengappa KR, et al. Mitogen-stimulated interleukin-2 production in never-medicated first episode schizophrenics. The influence of age of onset and negative symptoms. *Arch Gen Psychiatry* 1993b; 52: 668-672.
- Ganguli R, Yang Z, Shurin G, et al. Serum interleukin-6 concentration in schizophrenia: elevation associated with duration of illness. *Psychiatry Res* 1994; 51: 1-10.
- Ganguli R, Brar JS. Clozapine – induced increase in plasma levels of soluble interleukin-2 receptors. *Arch Gen Psychiatry* 1995; 52: 672-688.
- Ganguli R. Cytokine abnormalities in schizophrenia: a review of their pathogenic significance, with particular reference to the autoimmune hypothesis. In: *Current Update in Psychoimmunology*. Wieselmann G (ed.). Springer, New York 1998; 44-49.
- Hama T, Kushima Y, Miyamoto M, et al. Interleukin-6 improves the survival of mesencephalic catecholaminergic and septal cholinergic neurons from postnatal, two-week-old rats in cultures. *Neuroscience* 1991; 40: 445-452.
- Hirata-Hibi M, Hayashi K. The anatomy of the P lymphocyte. *Schizophr Res* 1993; 8: 257-262.
- Hope S, Melle I, Aukrust P, et al. Similar immune profile in bipolar disorder and schizophrenia: selective increase in soluble tumor necrosis factor receptor I and von Willebrand factor. *Bipolar Disord* 2009; 11: 726-734.
- Jakóbsiak M. Populacje i subpopulacje limfocytów. W: *Immunologia*. Wyd. 2. Jakóbsiak M (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1995; 159-170.
- Katila H, Cantell C, Appelberg B, et al. Interferon α as adjuvant treatment in chronic schizophrenia. *Neuropsychobiology* 1993; 28: 192-196.
- Katila H, Hänninen K, Hurme M. Polymorphisms of the interleukin-1 gene complex in schizophrenia. *Mol Psychiatry* 1999; 4: 179-181.
- Kato TA, Monji A, Mizoguchi Y, et al. Anti-inflammatory properties of antipsychotics via microglia modulations: are antipsychotics a “fire extinguisher” in the brain of schizophrenia? *Mini Rev Med Chem* 2011; 11: 565-574.
- Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull* 1987; 13: 261-276.
- Kluge M, Schuld A, Schacht A, et al. Effects of clozapine and olanzapine on cytokine systems are closely linked to weight gain and drug-induced fever. *Psychoneuroendocrinology* 2009; 34: 118-128.
- Kunz M, Ceresér KM, Goi PD, et al. Serum levels of IL-6, IL-10 and TNF- α in patients with bipolar disorder and schizophrenia: differences in pro- and anti-inflammatory balance. *Rev Bras Psiquiatr* 2011; 33: 268-274.
- Lahdelma R, Katila H, Hirata-Hibi M, et al. Atypical lymphocytes in schizophrenia. *Eur Psychiatry* 1995; 10: 92-96.
- Leszek J, Inglot AD, Cantell K, et al. Natural human leukocyte interferon in the treatment of schizophrenia. *Eur J Psychiatry* 1991; 5: 55-63.

24. Mackiewicz S. Immunologia. PZWL, Warszawa 1991.
25. Maes M, Meltzer HY, Bosmans E. Immune-inflammatory markers in schizophrenia: comparison to normal controls and effects of clozapine. *Acta Psychiatr Scand* 1994; 89: 346-351.
26. Maes M, Meltzer HY, Buckley P, Bosmans E. Plasma-soluble interleukin-2 and transferrin receptor in schizophrenia and depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1995b; 244: 325-329.
27. Maes M, Delange J, Ranjan R, et al. Acute phase proteins in schizophrenia, mania and major depression: modulation by psychotropic drugs. *Psychiatry Res* 1997; 66: 1-11.
28. Masserini C, Vita A, Basile R, et al. Lymphocyte subsets in schizophrenic disorders. Relationship with clinical, neuro-morphological and treatment variables. *Schizophr Res* 1990; 3: 269-275.
29. McAllister CG, Rapaport MH, Pickar D, et al. Increased numbers of CD5+ B lymphocytes in schizophrenic patients. *Arch Gen Psychiatry* 1989; 46: 890-894.
30. Molholm HB. Hyposensitivity to foreign protein in schizophrenic patients. *Psychiatry Q* 1942; 16: 565-571.
31. Müller N, Dobmeier P, Empl M, et al. Soluble IL-6 receptors in the serum and cerebrospinal fluid of paranoid schizophrenic patients. *Eur Psychiatry* 1997; 12: 294-299.
32. Müller N, Riedel M, Ackenheil M, et al. Immune function in schizophrenia: the role of disease and antipsychotic medication. *Psychoneuroimmunology. Hypothesis and Current Research. Adv Biol Psychiatry* 2001; 20: 75-86.
33. O'Brien SM, Scully P, Dinan TG. Increases tumor necrosis-alpha concentrations with interleukin-4 concentrations in exacerbations of schizophrenia. *Psychiatry Res* 2008; 160: 256-262.
34. Potvin S, Stip E, Sepehry AA, et al. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol Psychiatry* 2008; 63: 801-808.
35. Rapaport MH, Torrey EF, McAllister CG, et al. Increased serum soluble interleukin-2 receptors in schizophrenic monozygotic twins. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1993; 243: 7-10.
36. Rapaport MH, Müller N. Immunological states associated with schizophrenia. *Psychoneuroimmunology* 2001; 2: 373-382.
37. Rothermundt M, Arolt V, Weitzsch C, et al. Cytokines in schizophrenia. Result from a longitudinal study, 1996.
38. Rybakowski J. Neuroimmunologia zaburzeń psychicznych – aspekty kliniczne i farmakologiczne. W: Bijak M, Lasoń W. *Neuropsychofarmakologia – dziś i jutro*. Instytut Farmakologii PAN, Kraków 2000; 333-345.
39. Singh B, Bera NK, Nayak CR, Chaudhuri TK. Decreased serum levels of interleukin-2 and interleukin-6 in Indian Bengalee schizophrenic patients. *Cytokine* 2009; 47: 1-5.
40. Sirota P, Firer MA, Schild K, et al. Autoantibodies to DNA in multicase families with schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1993; 33: 450-455.
41. Służewska A, Rybakowski J, Sobieska M. Zmiany immunologiczne w schizofrenii. *Postępy Psychiatr Neurol* 1997; 5 Supl. 2: 23-30.
42. Sperner-Unterweger B, Eder-Ischia U, Widner B, et al. Immunological changes in schizophrenia – effects of the disease? *Psychoneuroimmunology. Hypotheses and current research. Adv Biol Psychiatry* 2001; 20: 66-74.
43. Vander Kamp H. Nuclear changes in the white blood cells of patient with schizophrenic reactions. *J Neuropsychiatr* 1962; 4: 1-3.
44. Vilemain F, Chatenoud L, Galinowski A, et al. Aberrant T cell-mediated immunity in untreated schizophrenic patients: deficient interleukin-2 production. *Am J Psychiatry* 1989; 146: 609-616.
45. Vinogradov S, Gottesman II, Moises HW, Nicol S. Negative association between schizophrenia and rheumatoid arthritis. *Schizophr Bull* 1991; 17: 669-678.
46. Watanabe Y, Someya T, Nawa H. Cytokine hypothesis of schizophrenia pathogenesis: evidence from human studies and animal models. *Psychiatry Clin Neurosci* 2010; 64: 217-230.
47. Wright P, Sham PC, Gilvarry CM, et al. Autoimmune disease in the pedigrees of schizophrenic and control subjects. *Schizophr Res* 1996; 20: 261-267.
48. Yang ZW, Chengappa KN, Shurin G, et al. An association between anti-hippocampal antibody concentration and lymphocyte production of IL-2 in patients with schizophrenia. *Psychol Med* 1994; 24: 449-455.
49. Zalcman S, Green-Johnson JM, Murray L, et al. Cytokine-specific central monoamine alterations induced by interleukin-1, -2, and -6. *Brain Res* 1994; 643: 40-49.
50. Zhang XY, Zhou DF, Cao LY, et al. Changes in serum interleukin-2, -6, and -8 levels before and during treatment with risperidone and haloperidol: relationship to outcome in schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 2004; 65: 940-947.