

*Anna Służewska, Magdalena Sobieska, Maria Chłopocka-Woźniak,
Aleksandra Suwalska, Janusz Rybakowski*

Białka ostrej fazy w przebiegu długoterminowego leczenia solami litu

Klinika Psychiatrii Dorosłych, Zakład Immunologii Klinicznej i Alergologii
Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

U 46 pacjentów z chorobami afektywnymi leczonych długoterminowo węglanem litu: 21 – do 2 lat, 25 – ponad 10 lat, zbadano stężenia białka C-reaktywnego (CRP), alfa-1-kwaśnej glikoproteiny (AGP) oraz alfa-1-antychymotrypsyny (ACT) i ich mikroheterogenność (AGP-RC i ACT-RC). Zbadano także grupę 20 osób zdrowych odpowiadających wiekiem i płcią badanym pacjentom. Wartości CRP były w obu grupach zbliżone do wartości w grupie kontrolnej. W czasie profilaktyki litem stwierdzono utrzymujące się podwyższone stężenia AGP i ACT w obu grupach pacjentów oraz wartości AGP-RC i ACT-RC odpowiadające grupie kontrolnej u pacjentów leczonych ponad 10 lat. Otrzymane wyniki mogą świadczyć o immunoregulacyjnym działaniu soli litu w trakcie długoterminowego leczenia profilaktycznego.

Summary

We have studied concentration of C-reactive protein (CRP), alpha-1-acid glycoprotein (AGP) and alpha-1-antychymotripsin (ACT) and their major microheterogeneity (AGP-RC, ACT-RC) in 46 patients during lithium prophylaxis: 21 – up to 2 years, 25 – over 10 years and in 20 healthy controls. Concentrations of CRP were in the range of healthy controls in both groups. AGP and ACT levels were in both groups higher than in controls. The values of microheterogeneity of ACT and AGP were elevated in the patients treated for 2 years and the patients treated for more than 10 years were in the range of controls. The results obtained may suggest that during prophylaxis lithium, exerts the immunomodulatory effect on glycosylation of acute phase proteins.

Wstęp

Skuteczność profilaktyczna długotrwałego stosowania litu w chorobach afektywnych jest potwierdzona na bardzo dużej liczbie chorych. Mechanizmy tego działania nie są nadal do końca wyjaśnione. Polegają one prawdopodobnie na stabilizacji metabolicznych procesów zachodzących w ośrodkowym układzie nerwowym i zapobieganiu zmianom mogącym zapoczątkować nową fazę chorobową. Ostatnio w mechanizmie profilaktycznego działania litu w chorobie afektywnej wskazuje się na możliwość jego wpływu na układ immunologiczny i związane z tym właściwości immunoregulacyjne.

Badania parametrów immunologicznych prowadzone w ostatnich latach w depresji endogennej wskazują na cechy aktywacji układu immunologicznego

(Maes i wsp., 1992a, b; Służewska i wsp., 1995a). Na uwagę zasługują głównie badania białek ostrej fazy (bof): pozytywnych i negatywnych. Wśród pozytywnych bof badanych w depresji, potwierdzono podwyższony poziom haptoglobiny (Hp), alfa-1-kwasnej glikoproteiny (AGP), alfa-1-antychymotrypsyny (ACT), celuroplazminy (Cp), stwierdzono także obniżony poziom negatywnych bof, tj. albuminy i transferyny (Nemeroff i wsp., 1990; Joyce i wsp., 1991; Kehoe i wsp. 1991, Maes i wsp., 1992a, Służewska i wsp. 1993, 1995 – w druku). W trakcie odpowiedzi ostrej fazy nie tylko wzrasta poziom pozytywnych bof, ale ulegają one także zmianom jakościowym, które dotyczą głównie bocznych łańcuchów węglowodanowych. W związku ze znaczną zmiennością reszt cukrowcowych wyróżniono dla AGP i ACT tzw. mikroheterogenność główną, dotyczącą różnic struktur antenarnych. Zmiany glikozylacji dotyczące mikroheterogenności głównej zachodzą w hepatocytach i są regulowane niezależnie od ekspresji genów przez cytokiny oraz glikokortykoidy (Van Dick i wsp., 1994).

W poprzednich badaniach stwierdziliśmy zmiany stężenia i glikozylacji AGP pod wpływem krótkotrwałego leczenia litem i karbamazepiną u pacjentów z depresją endogenną (Służewska i wsp., 1994a). W badaniach tych wykazaliśmy tendencję do obniżenia podwyższonego poziomu AGP i AGP-RC u pacjentów z depresją endogenną pod wpływem 4-tygodniowego leczenia litem.

Tematem obecnego doniesienia jest ocena białek ostrej fazy u chorych otrzymujących długoterminowo sole litu w celach profilaktycznych.

Material i metoda

Badania przeprowadzono u 46 pacjentów Poradni Przyklinicznej Katedry Psychiatrii Akademii Medycznej w Poznaniu. Wszyscy badani pacjenci byli leczeni długoterminowo węglanem litu (Li) w średniej dawce dobowej 1000 mg (500–1500 mg) dla uzyskania średniego poziomu Li w surowicy – 0,57 mmol/l (0,3–0,74 mmol/l). Dwudziestu jeden pacjentów leczonych było Li do 2 lat (5 miesięcy – 2 lat, średnia 1,3 roku), a 25 chorych przez ponad 10 lat (11–24 lat, średnia 15,5 lat). Wśród pacjentów leczonych przez 2 lata u 14 rozpoznano CHAD, a u 7 CHAJ. W grupie pacjentów leczonych ponad 10 lat wszystkim rozpoznano CHAD. W dniu badania wszyscy pacjenci byli w wyrównanym stanie psychicznym. U żadnego z badanych nie stwierdzono ostrej infekcji, choroby alergicznej ani choroby mogącej mieć wpływ na układ immunologiczny w ciągu ostatnich 4 tygodni przed badaniem.

Krew pobierano na czczo, rano o tej samej godzinie. Otrzymałą po odwirowaniu surowicę używano do oznaczania bof: CRP, AGP i ACT. Oznaczanie stężenia bof wykonywano przy użyciu metody immunoelektroforezy rakietkowej (Laurell, 1966), stosując swoiste surowice przeciw ludzkiemu CRP, AGP i ACT. Stosując metodę krzyżowej immunoelektroforezy powinowactwa (CAIE) z konkanawaliną A (Con A) jako ligandem oznaczono mikroheterogenność główną AGP i ACT wg metody opisanej przez Bog-Hansen (1973) z modyfikacjami Mackiewicz i in. (1986).

W przypadku AGP mogą wystąpić 2 do 4 warianty różnie reagujące z Con A. Fizjologicznie występują trzy warianty w stałej proporcji: wariant O, najszybciej wędrujący (niehamowany), wariant 1 (słabo hamowany), wariant 2 (hamowany).

Dla ACT opisano występowanie 4 wariantów: od 1 – najszybciej wędrującego, do 4 (najsilniej reagującego z Con A) – silnie hamowanego.

Dla każdej surowicy obliczono współczynnik reaktywności z Con A (RC) według schematu: suma wariantów reagujących z Con A przez wariant nie reagujący z Con A. Wartości współczynników reaktywności dla AGP i ACT w grupie kontrolnej wynoszą odpowiednio: 1.3 ± 0.2 i $2.47-5.1$.

Grupa kontrolna składała się z 20 osób zdrowych odpowiadających wiekiem i płcią badanym pacjentom.

Wyniki

W tabeli 1 przedstawiono dane demograficzne i wartości badanych parametrów immunologicznych u pacjentów z chorobą afektywną leczonych długoterminowo litem oraz w grupie kontrolnej. Pacjenci leczeni litem do 2 lat i ponad 10 lat mieli znamienne statystycznie wyższe stężenia AGP i ACT, niż stwierdzone w grupie kontrolnej. Wartości CRP były w obu grupach zbliżone do wartości w grupie kontrolnej. Nie wykazano korelacji między wartościami AGP, AGP-RC, ACT, ACT-RC i CRP a wiekiem i płcią pacjentów.

Tabela 1. Cechy demograficzne i wykładniki immunologiczne w chorobie afektywnej w trakcie leczenia długoterminowego litem i w grupie kontrolnej

Cechy demograficzne i wykładniki immunologiczne	Grupa kontrolna n=20	Choroba afektywna	
		Li do 2 lat, n=21	Li ponad 10 lat, n=25
Wiek (lata)	42 ± 5	45 ± 11	50 ± 12
Płeć (M/K)	7/13	9/12	8/17
CRP (mg/l)	3.0 ± 1	4 ± 6	3.6 ± 6
AGP (mg/l)	757 ± 104	$1112 \pm 356^{**}$	$1062 \pm 325^{**}$
AGP-RC	1.3 ± 0.2	1.4 ± 0.3	1.2 ± 0.2
ACT (mg/l)	367 ± 26	$485 \pm 120^*$	459 ± 148
ACT-RC	4.3 ± 0.8	5.28 ± 2.4	$4.08 \pm 0.86^{***}$

* różnica statystycznie znamienna w stosunku do kontroli $p < 0.01$, ** różnica statystycznie znamienna w stosunku do kontroli $p < 0.001$, *** różnica statystycznie znamienna w stosunku do pacjentów z chorobą afektywną leczonych Li do 2 lat.

U pacjentów z chorobami afektywnymi leczonych Li do 2 lat występował trend do podwyższonych wskaźników reaktywności z Con A dla obu glikoprotein AGP i ACT. Zmiany te nie były znamienne statystycznie. Po 10 latach leczenia Li wartości AGP-RC i ACT-RC były w normie i nie wskazywały na istnienie ostrego procesu zapalnego (aktywacji układu immunologicznego) u tych pacjentów.

Omówienie wyników

Podobnie jak w naszych poprzednich badaniach (Służewska i wsp., 1994a) nad wpływem krótkoterminowego (4 tygodnie) leczenia litem na stężenie i mikroheterogenność AGP u pacjentów z depresją endogenną, wykazaliśmy obniżenie stężenia AGP i AGP-RC pod wpływem długoterminowego leczenia litem. Stwierdziliśmy także podobny wpływ litu na stężenie ACT i jej mikroheterogenność. Zmiany obu badanych pozytywnych bof przebiegały równolegle.

W innych badaniach Służewska i wsp. (1995b) wykazali, że po 4 tygodniach leczenia Li w surowicy pacjentów z depresją endogenną, dochodzi do obniżenia podwyższonego poziomu interleukiny-6 (IL-6) i rozpuszczalnego receptora dla IL-6 (sIL-6R). Wartości IL-6 i sIL-6R, a także innych badanych cytokin: receptor dla transferyny (TfR) i rozpuszczalny receptor dla interleukiny-2 (sIL-2R), pozostawały jednak nadal powyżej wartości grupy kontrolnej. Świadczy to o niepełnym efekcie immunoregulacyjnych Li w trakcie leczenia krótkoterminowego.

Długoterminowe podawanie Li powodowało obniżenie stężeń AGP i ACT, jednak pozostawały one nadal powyżej wartości obserwowanej w grupie kontrolnej. Być może ma to związek z utrzymującym się podwyższonym poziomem IL-6 u tych pacjentów, która jest jedną z głównych cytokin odpowiedzialnych za syntezę glikoprotein. Niestety nie dysponujemy wynikami badań poziomu IL-6 u tych osób. Ta sama cytokina jest odpowiedzialna także za zmiany glikozylacji glikoprotein.

Wpływ immunoregulacyjny Li został także potwierdzony w badaniach bof i odpowiedzi immunologicznej w modelach zwierzęcej depresji.

Służewska i wsp. (1994b) wykazali, że węglan litu podawany przez 21 dni obniża podwyższone poziomy Hp w jednym z modeli depresji – chronic mild stress.

Także Song i Leonard (1994) stwierdzili, że chlorek litu podawany szczurom w modelu depresji, uzyskanym poprzez obustronne przecięcie opuszek węchowych, powoduje normalizację deficytu fagocytozy neutrofilów i proliferacji limfocytów stymulowanych mitogenami. Oba te procesy są obniżone w depresji endogennej, jak i w modelach zwierzęcej depresji, i powracają do normy pod wpływem leczenia przeciwdepresyjnego (O'Neill i Leonard 1987, 1990).

Nasze badania wskazują jeszcze raz na istnienie odchyłeń parametrów immunologicznych, świadczących o aktywacji układu immunologicznego u pacjentów z chorobami afektywnymi, leczonych długoterminowo solami litu, nawet w okresie remisji objawów chorobowych. Wydaje się, że zwłaszcza normalizacja glikozylacji AGP i ACT związana jest z efektem profilaktycznego leczenia solami litu.

Wnioski

1. W trakcie profilaktyki litem w surowicy pacjentów z chorobami afektywnymi utrzymują się niektóre cechy aktywacji układu immunologicznego, takie jak podwyższony poziom AGP i ACT.
2. Przy długotrwałym stosowaniu litu (ponad 10 lat) dochodzi do normalizacji glikozylacji AGP i ACT.

Piśmiennictwo

1. Bog-Hansen, TC.: Crossedimmuno-affinoelectrophoresis: an analytical method to predict the result of affinity chromatography. *Anal. Biochemistry*. 1973, 56, 480–488.
2. Healy, D., Calvin, J., Whitehouse, AM., i in.: Alpha-1-acid glycoprotein in major depressives and eating disorders. *J. Affect. Disord.* 22, 13–20, 1991.
3. Joyce, PR., Hawes, CR., Mulder, RT.: Elevated levels of acute phase plasma proteins in major depression. *Biological Psychiatry*. 1992, 32, 1035–1041.
4. Kehoe, WA., Kwentus, JA., Sheffel, WB., Harralson, AS.: Increased alpha-1-acid glycoprotein in depression lowers free fraction of imipramine. *Biol. Psychiatry*. 29, 489–493, 1991.
5. Laurell CB.: Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Anal. Biochem.* 15, 45052, 1966.
6. Mackiewicz, A., Mackiewicz, S.: Determination of lecitin-sugar dissociation contents by agarose affinity electrophoresis. *Anal. Biochem.* 56, 480–484, 1986.
7. Maes, M., Scharpe, S., Bosmans, E. i in.: Distribution in acute phase proteins during melancholia; additional evidence for the presence of an inflammatory process during that illness. 1992, 16, 501–515.
8. Maes, M., Scharpe, S., Van Grootel, I., i in.: Higher alpha-1-antitrypsin, haptoglobin, celuroplasmn and lower retinol binding protein plasma levels during depression: Further evidence for the existence of an inflammatory response during that illness. *J. Affect. Disord.*, 1992 a, 24, 183–192.
9. Nemeroff, ChB., Krisman, RR., Blazer, DG., i in.: Elevated plasma concentration of alpha-1-acid glycoprotein, a putative endogenous inhibitor of tritiated imipramine binding site in depressed patients. *Arch. Gen. Psychiatry.*, 1990, 47, 337–340.
10. O'Neill, B., O'Connor, W.T., Leonard, B.E.: Depressed neutrophil phagocytosis in the rat following olfactory bulbectomy reversed by chronic desipramine treatment. *Med. Sci. Res.*, 1987, 15, 267–268.
11. O'Neill, B., Leonard, B.E.: Abnormal zymosan-induced neutrophil chemiluminescence as a marker of depression. *J. Affective Disord.* 1990. 19, 265–272.
12. Służewska, A., Rybakowski, J.K.: Concentration and microheterogeneity of alpha-1-acid glycoprotein in depression. *Psychiatric Genetics*, 1993, 3, 3, 160–161.
13. Służewska, A., Rybakowski, J.K., Sobieska, M., Wiktorowicz, K.: The effects of lithium, carbamazepine and fluoxetine on alpha-1-acid glycoprotein concentration and microheterogeneity in depressed patients. *Neuropsychopharmacology*, 1994a, 10, (3S), 202.
14. Służewska, A., Nowakowska, E., Gryśka, K., Mackiewicz, A.: Haptoglobin levels in chronic mild stress model of depression in rats before and after treatment. *European Neuropsychopharmacology*, 1994b, 4, 3, 302.
15. Służewska, A., Rybakowski, J.K., Bosmans, E., Maes, M., Sobieska, M.: Some interleukins, their receptors and alpha-1-acid glycoprotein as the indicators of immune activation in depression. *Behavioural Pharmacology*, 1995a, 6, (1), 66–68.
16. Służewska, A., Rybakowski, J.K., Bosmans, E., Maes, M., Berghmans, R., Pollet, H.: The effect of treatment with lithium and carbamazepine on some interleukins and their receptors in depressed patients. *Pharmacological Research*, 1995b, 3, 366.
17. Służewska, A., Rybakowski, J.K., Sobieska, M., Wiktorowicz, K.: Concentration and microheterogeneity glycoproteins of alpha-1-acid glycoprotein in major depressive disorder. *J. Affect. Disorders – w druku*.
18. Song, C., Leonard, B.E.: The effects of chronic lithium chloride administration on some behavioural and immunological changes in the bilaterally olfactory bulbectomized rat. *J. Psychopharmacology*, 1994, 8 (1), 40–47.
19. Van Dijk, W., Turner, G.A., Mackiewicz, A.: Changes in glycosylation of acute phase proteins in health and disease: occurrence, regulation and function. *Glycosylation and Disease*, 1994, 1, 5–14.