

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. H.-J. Möller

**Charakterisierung von T-Helferzellen und spezifisch zellulärer  
Immunität bei schizophrenen Patienten im Verlauf einer  
Therapie mit dem selektiven Cyclooxygenase-2-Hemmer  
Celecoxib**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Markus Ulmschneider  
aus München  
2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dipl.-Psych. N. Müller

Mitberichterstatter: Prof. Dr. R. Hohlfeld  
Prof. Dr. O. Steinlein

Mitbetreuung durch die  
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. R. Gruber  
Dr. M. Riedel  
Dr. M. Schwarz

Dekan: Prof. Dr. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 27.10.2005

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>7</b>
1.1	Schizophrenie	7
1.2	Immunsystem	7
1.3	Spezifisch zelluläres Immunsystem und Schizophrenie	9
1.4	COX-Hemmer	15
1.5	Modell zur Pathogenese der Schizophrenie	18
1.6	Hypothese	20
1.7	Studiendesign	20
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>22</b>
2.1	Patienten	22
2.2	Prozedere	22
2.3	PANSS	23
2.4	ELISA	24
2.5	Durchflusszytometrie	27
2.6	Statistische Auswertung	36
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>38</b>
3.1	Studienabbrecher	38
3.2	PANSS	38
3.3	sIL-2R	41
3.4	CD45	42
3.5	Korrelation Psychopathologie-Immunologie	47
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>49</b>
4.1	Psychopathologie	49
4.2	Immunologie	50
4.3	Zusammenspiel Psychopathologie-Immunologie	52
4.4	Alternative Wirkmechanismen	53
4.5	Ausblick	57
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>59</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>61</b>

# Abkürzungsverzeichnis

AG	Antigen
AK	Antikörper
APC	Antigen presenting cells
APC	Allophycocyanin
CD	Cluster of differentiation
COX	Cyclooxygenase
CYP	Cytochrom P450
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
DTH	delayed-type hypersensitivity
ELISA	enzyme-linked immunosorbant assay
FACS	fluorescence-activated cell sorter
FITC	Fluorescein
FL	Fluoreszenz
FSC	forward scatter
IFN	Interferon
IL	Interleukin
IL-2R	Interleukin-2 receptor
M	mean
MHC	major histocompatibility complex
mRNA	messenger ribonucleid acid
p	probability
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PE	Phycoerythrin
PerCP	Peridinin Chlorophyll Protein
PG	Prostaglandin
PGHS	Prostaglandin-H-Synthase
r	Korrelation
SD	standard deviation
sIL-2R	soluble Interleukin-2 receptor
SSC	side scatter
TCR	T-cell-receptor
T <sub>H</sub>	T-Helferzellen

# 1 Einleitung

## 1.1 Schizophrenie

Etwa ein Prozent der Bevölkerung entwickelt im Laufe des Lebens eine Störung, die man als Schizophrenie bezeichnet. Dabei sind die Erscheinungsbilder, die sich unter den Diagnosekriterien der Schizophrenie integrieren lassen äußerst vielgestaltig. Die typischen Symptome wie Ich-Störungen, formale und inhaltliche Denkstörungen, Halluzinationen, Affektstörungen oder psychomotorische Störungen können in völlig unterschiedlicher Gewichtung und Ausprägung auftreten. Uneinheitlich zeigt sich auch der Krankheitsverlauf. Die Schizophrenie kann schleichend oder akut beginnen, sich episodisch oder kontinuierlich entwickeln und zu vollständiger Remission oder zu Residualzuständen führen. Diese Vielfalt legt nahe, dass es sich bei der Diagnose Schizophrenie nicht um eine einheitliche Krankheitsentität handelt. Entsprechend offen ist bis heute die Ursache der Störung. Zur Diskussion stehen neben zahlreichen anderen Ansätzen auch immunologische Mechanismen, denn bei schizophrenen Patienten beobachtet man eine Vielzahl von Auffälligkeiten des Abwehrsystems (Übersicht: Gaughran, 2002; Rapaport und Müller, 2001). Wie sich diese Veränderungen im Rahmen der Erkrankung integrieren lassen ist allerdings noch unklar. Eine pathogenetische oder sogar ätiologische Bedeutung, etwa für eine Untergruppe schizophrener Patienten, ist mehrfach diskutiert worden (Ganguli et al, 1994a; Müller und Ackenheil, 1998).

## 1.2 Immunsystem

Das Immunsystem sorgt für die Erhaltung von Individualität und Integrität des Organismus durch die Abwehr körperfremder oder als körperfremd empfundener Strukturen. Diese Aufgabe wird von entwicklungsgeschichtlich und funktionell unterschiedlichen Mechanismen bewerkstelligt: Man unterscheidet das unspezifische oder angeborene vom spezifischen oder erworbenen Immunsystem und jeweils humorale von zellulären Anteilen. Charakteristisch für unspezifische Mechanismen ist, dass sie keinen vorangegangenen Kontakt mit einer fremden Substanz benötigen. Auf beliebige Fremdoberflächen folgt eine

in Ablauf und Intensität stets ähnliche Abwehrreaktion. Von Bedeutung ist dieser Teil des Immunsystems beispielsweise bei der ersten und frühen Abwehr gegenüber Eindringlingen. Daneben dient die unspezifische Abwehr häufig als Effektormechanismus spezifischer Anteile.

Im Mittelpunkt dieser Arbeit steht der spezifische Arm des Immunsystems. Dieser Teil ist auf wiederholten Kontakt mit einer Fremdschubstanz, dann als Antigen (AG) bezeichnet, angewiesen. Zunächst bildet sich dabei ein so genanntes immunologisches Gedächtnis gegenüber der Substanz. Kommt es zum erneuten Kontakt mit dem AG, setzt eine hocheffiziente Abwehrreaktion gegen genau dieses AG ein. Koordiniert und reguliert wird die spezifische Immunität von bestimmten Lymphozyten, den T-Helferzellen ( $T_H$ ). Sie wirken je nach Bedarf aktivierend oder hemmend, zum einen auf humorale Komponenten wie B-Lymphozyten und Antikörperproduktion, zum anderen auf zelluläre Anteile beispielsweise Makrophagen.

Genetische Faktoren und die Lernfähigkeit bei der Auseinandersetzung mit der Umwelt beeinflussen das Immunsystem jedes Einzelnen. Dadurch entsteht eine ganz individuelle Immunität und bei der Auseinandersetzung mit der Umwelt ein individueller Gleichgewichtszustand, der Krankheit und Gesundheit generieren kann. Gleichzeitig ist das Immunsystem bei seiner Arbeit auf vielen Ebenen im Gesamtorganismus integriert, steht also auch in Wechselbeziehung mit Nervensystem und Psyche. Immunologische Veränderungen sind dadurch in der Lage, einen Einfluss auf die Psyche zu nehmen (Kaschka 1996; Kronfol und Remick, 2000; Müller und Ackenheil, 1998).

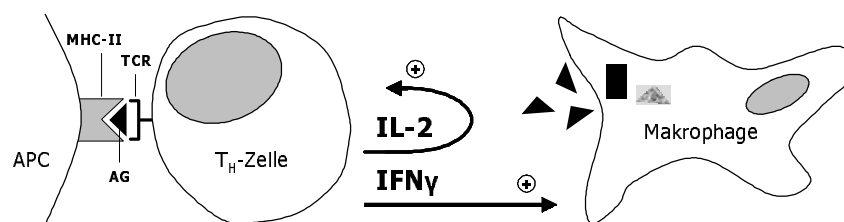
Es besteht also die Möglichkeit, dass die bei Schizophrenie gefundenen immunologischen Auffälligkeiten mit der Psychopathologie der Erkrankung verknüpft sind. Entsprechend könnte die Beeinflussung des Immunsystems, etwa mit einem Medikament, einen Einfluss auf die schizophrene Symptomatik haben. Diese Annahme bildete die Grundüberlegung einer Studie zur Behandlung der Schizophrenie mit dem selektiven Cyclooxygenase(COX)-2-Hemmer Celecoxib. Einen Teilaspekt stellten dabei Veränderungen der T-Helferzellen und der spezifisch zellulären Abwehr dar. Sie sind zentrales Thema dieser Arbeit.

# 1.3 Spezifisch zelluläres Immunsystem und Schizophrenie

Unter den vielen Befunden zu immunologischen Veränderungen bei Schizophrenie finden sich wiederholt Auffälligkeiten der spezifisch zellulären Abwehr. So wurde bereits vor über 60 Jahren eine Hyposensibilität gegenüber intrakutan verabreichtem Meerschweinchenserum beschrieben (Molholm, 1942). Heute weiß man, dass eine solche Injektion von Fremdanitgenen eine Reaktion der spezifisch zellulären Abwehr hervorruft, die man delayed-type hypersensitivity (DTH) oder Überempfindlichkeit vom verzögerten Typ nennt. Molholm fand also damals bereits einen Hinweis auf eine reduzierte spezifisch zelluläre Abwehr bei schizophrenen Patienten.

## DTH

Die DTH ist ein zentrales Reaktionsmuster der spezifisch zellulären Immunität. DTH resultiert aus einer Sensibilisierung von  $T_H$ -Zellen mit ganz bestimmten Antigenen, zum Beispiel intrazellulären Keimen, bestimmten Bakterienprodukten wie Tuberkulin, löslichen Fremdproteinen oder Fremdgewebe. Bei wiederholtem Kontakt kommt es gegenüber diesen Antigenen zu einer typischen zellulären Reaktion (Abb. 1):



**Abb. 1:** Delayed-type-hypersensitivity (DTH) oder Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ (nach Keller 1994)

Antigen-präsentierende Zellen (APC), zum Beispiel Makrophagen oder Endothelzellen, induzieren die DTH durch Präsentation eines AGs in Verbindung mit dem major histocompatibility complex (MHC)-Klasse-II-Molekül.  $T_H$ -Zellen modulieren die DTH über Zytokine, zum Beispiel Interleukin (IL)-2 und Interferon (IFN) $\gamma$ , die sie nach T-Zell-Rezeptor (TCR) vermittelter Aktivierung vermehrt freisetzen. Makrophagen sind

Effektorzellen der DTH und können unter dem Einfluss von  $\text{IFN}\gamma$  das AG zum Beispiel durch Phagozytose eliminieren.

Ein einfacher Test um die DTH in vivo auszulösen ist der Intrakutantest. Die intrakutane Applikation von Fremddantigen löst nach vorangegangener Sensibilisierung eine DTH aus. Morphologisches Korrelat ist eine Induration der Haut aus T-Lymphozyten, Makrophagen und Fibrin, anhand derer die Reagibilität quantifiziert werden kann. Molholms Untersuchung beruhte auf diesem Prinzip. Heute sind standardisierte Tests wie der Multitest Mérieux zur Testung der DTH erhältlich.

## **DTH bei Schizophrenie**

In einer aktuellen Untersuchung ließen sich Molholms Befunde bestätigen. Schizophrene Patienten zeigen eine abgeschwächte Reaktion im Multitest Mérieux im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen (Riedel et al., 2004 in Vorbereitung). Schizophrene weisen demnach eine Schwäche der DTH auf. Als mögliche Ursache kommt die Störung einer der beteiligten Zellen, deren Kommunikation oder eine Kombination dieser Faktoren in Betracht. Die  $T_H$ -Zellen, die Modulatoren der DTH, werden im Folgenden näher charakterisiert.

## **Subpopulationen der $T_H$ -Zellen**

$T_H$ -Zellen sind die regulierenden Zellen der spezifischen Immunität. Sie sind Lymphozyten, die CD4 exprimieren. CD4 ist ein Glykoprotein von 55kD und bindet gemeinsam mit dem TCR an das MHC-Klasse-II-Molekül auf APC. Dadurch kommt ein spezifischer Kontakt von APC und  $T_H$ -Zelle zustande, der die  $T_H$ -Zelle aktivieren kann. Diese Aktivierung führt unter anderem zur Sekretion von Zytokinen, über die  $T_H$ -Zellen ihre regulierenden Funktionen ausüben.

Unterschiede im Zytokinsekretionsmuster haben zur Differenzierung zweier Subpopulationen, den  $T_{H1}$ -Zellen und den  $T_{H2}$ -Zellen geführt (Tab. 1).  $T_{H1}$ -Zellen sezernieren IL-2 und  $\text{IFN}\gamma$  und aktivieren dadurch zellvermittelte Reaktionen, unter anderem die DTH.  $T_{H2}$ -Zellen fördern dagegen die spezifisch humorale Immunität beispielsweise durch Stimulation von B-Lymphozyten zur Produktion von Antikörpern (AK). Wichtige  $T_{H2}$ -Zytokine sind IL-4, IL-5 und IL-10.



**Tab. 1:** TH1- / TH2-Zytokine

	<b>Zytokin</b>	<b>Zielzelle</b>	<b>Hauptwirkung</b>	
<b>T<sub>H1</sub></b>	IFN $\gamma$	Makrophagen APC alle Zellen	Aktivierung Expression von MHC -II Expression von MHC -I	<b>zelluläre Aktivierung</b>
	IL-2	T-Zelle	Proliferation Zytokinproduktion	
<b>T<sub>H2</sub></b>	IL-4	T-Zelle B-Zelle	Differenzierung zur T <sub>H2</sub> Subpopulation IgE-Produktion	<b>humorale Aktivierung</b>
	IL-5	Eosinophile	Proliferation Aktivierung	
	IL-10	Makrophagen T <sub>H1</sub> -Zellen B-Zelle	Hemmung Hemmung der Zytokinproduktion Aktivierung	

Von Bedeutung für die vorliegende Arbeit sind die zur zellulären Aktivierung beitragenden T<sub>H1</sub>-Zytokine:

IFN $\gamma$  wird vor allem von aktivierten T<sub>H1</sub>-Zellen sezerniert. Es induziert die MHC-Klasse-II Expression auf APC und wirkt stark stimulierend auf Makrophagen. Damit fördert IFN $\gamma$  sowohl die Erkennungs- als auch die Effektorphase der spezifisch zellulären Immunität.

IL-2 ist wichtigster Wachstumsfaktor für T-Lymphozyten und regt diese zur Produktion von Zytokinen, insbesondere IFN $\gamma$  an. IL-2 fungiert damit als positiver Verstärkermechanismus für das T<sub>H1</sub>-System.

## **IL-2 Rezeptor**

Die Wirkung von IL-2 ist rezeptorvermittelt. Dabei gibt es zwei IL-2 Rezeptoren (IL-2R). Ruhende Lymphozyten exprimieren vor allem den IL-2R $\beta$ , der IL-2 mit mäßiger Affinität bindet. Nach Aktivierung produzieren die Zellen zusätzlich den IL-2R $\alpha$ . Der IL-2R $\alpha$  ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von 55kD, bestehend aus einer externen IL-2 bindenden Region, einer Transmembranregion und einem sehr kurzen (13 Aminosäuren) intrazellulären Abschnitt. Zur Signaltransduktion ist der IL-2R $\alpha$  auf die intrazelluläre Domäne des IL-2R $\beta$  angewiesen. Zusammen bilden sie einen als hochaffiner Rezeptor bezeichneten Komplex.

Wichtig im Rahmen dieser Arbeit ist, dass sich nach chronischer T-Zell-Stimulation der IL-2R $\alpha$  vermehrt im Serum als löslicher oder sIL-2R nachweisen lässt. Der sIL-2R ist ein abgescherter, 45kD schwerer Teil des IL-2R $\alpha$ . Seine Funktion ist nicht genau bekannt.

Seine Konzentration im peripheren Blut ist jedoch ein Marker, um den Aktivierungszustand von Lymphozyten in vivo zu messen (Waldmann, 1991).

## **Subpopulationen der T<sub>H</sub>-Zellen bei Schizophrenie**

Eine Vielzahl an Studien beschäftigt sich mit Auffälligkeiten von Zytokinen bei Schizophrenie (Übersicht: Gaughran, 2002; Rapaport und Müller, 2001), unter anderem mit den T<sub>H1</sub>-Zytokinen IL-2 und IFN $\gamma$ :

Dabei ist die erniedrigte IL-2-Produktion nach In-vitro-Stimulation von Lymphozyten ein häufiger Befund (Arolt et al., 2000; Bessler et al., 1995; Ganguli et al., 1989, 1992, 1995; Hornberg et al., 1995; Kim et al., 1998; Rothermundt et al., 1996, 1998; Villemain et al., 1989; Yang et al., 1994). Dagegen sind die Bestimmungen von IL-2 im Serum uneinheitlich. Neben unveränderten Werten (Gattaz et al., 1992; Xu et al., 1994) fanden sich einmal erhöhte (Kim et al., 2000) und einmal erniedrigte (Theodoropoulou et al., 2001) IL-2 Konzentrationen im Serum Schizophrener.

Ähnliches gilt für IFN $\gamma$ . Auch IFN $\gamma$  ist nach In-vitro-Stimulation von Lymphozyten bei schizophrenen Patienten in geringerer Menge nachweisbar (Arolt et al., 2000; Moises et al., 1985; Rothermundt et al., 1996, 1998; Wilke et al., 1996). Im Serum dagegen sind die IFN $\gamma$  Werte bei Schizophrenen nicht anders als bei gesunden Kontrollen (Becker et al., 1990; Gattaz et al., 1992).

Ein stabiler Befund ist demnach die herabgesetzte Stimulierbarkeit von Lymphozyten zur Produktion von IL-2 und IFN $\gamma$ , was als Schwäche des T<sub>H1</sub>-Systems interpretiert wurde (Müller et al., 2000). Für die abgeschwächte DTH bei schizophrenen Patienten findet sich damit eine Entsprechung auf Zytokinebene. Dem Mangel an T<sub>H1</sub>- steht vermutlich ein Überwiegen des T<sub>H2</sub>-Systems gegenüber. Mehrfach ist diese als T<sub>H1</sub>-T<sub>H2</sub>-Shift bezeichnete Imbalance bei Schizophrenen beschrieben worden (Müller et al., 2000; Schwarz et al., 2001).

## **sIL-2R bei Schizophrenie**

Um die T<sub>H1</sub>-Aktivität mit einer einfachen Methode möglichst aus dem Patientenserum bestimmen zu können, scheint die direkte Messung von Zytokinen nicht geeignet, da sie zu den genannten uneinheitlichen Ergebnissen führt. Eine mögliche Erklärung dafür ist die lokal begrenzte, parakrine Wirkungsweise von Zytokinen. Der sIL-2R repräsentiert dagegen mit seiner Konzentration im peripheren Blut auch Immunaktivierung anderer

Kompartimente und Organe (Rubin und Nelson, 1990) und wird unter anderem als ein im Serum messbarer Marker zur Bestimmung der  $T_{H1}$ -Aktivität bei Multiple Sklerose genutzt (Sivieri et al., 1998).

Bei abgeschwächter  $T_{H1}$ -Reaktion würde man demnach erniedrigte sIL-2R Werte im Serum erwarten. Überraschenderweise fanden sich bei schizophrenen Patienten wiederholt erhöhte sIL-2R Konzentrationen (Ganguli und Rabin, 1989; Gaughran et al., 1998; Hornberg et al., 1995; Maes et al., 1994, 1995; Rapaport et al. 1989).

Bei Einordnung dieses Befundes muss allerdings eine entscheidende Stör- und Einflussgröße berücksichtigt werden, die immunologische Potenz von Neuroleptika, ein Problem auf das auch später noch genauer eingegangen wird. Für den sIL-2R ist neben anderen Störfaktoren vor allem eine antipsychotische Vorbehandlung von Bedeutung (Haack et al., 1999; Pollmächer und Hinze-Selch 1998), denn einige Neuroleptika sind in der Lage den sIL-2R zu erhöhen (Maes et al., 1994; Müller et al., 1997; Pollmächer et al., 1995). Alle aufgeführten Studien, die erhöhte sIL-2R Konzentrationen bei Schizophrenen ergaben, fanden jedoch an vorbehandelten Patienten statt (Ganguli und Rabin, 1989; Gaughran et al., 1998; Hornberg et al., 1995; Rapaport et al. 1989) oder nach einer maximalen Auswaschperiode von einer Woche (Maes et al., 1994, 1995). Die erhöhten Werte für den sIL-2R sind also möglicherweise ein Behandlungseffekt.

Eine neuere Studie stützt diese Annahme. Schizophrene Patienten, die zuvor mindestens drei Wochen unbehandelt waren, haben im Vergleich zu gesunden Kontrollen erniedrigte sIL-2R Werte nach In-vitro-Lymphozytenstimulation. Unter anschließender Therapie mit Neuroleptika steigen dann die sIL-2R Konzentrationen an (Kowalski et al., 2000). Bei unbehandelten schizophrenen Patienten findet sich also ein erniedrigter sIL-2R, ein Befund der gut mit einer verminderten  $T_{H1}$ -Aktivität vereinbar ist.

## **CD45-Isoformen**

Voraussetzung für eine relevante Sekretion von Zytokinen durch  $CD4^+$  oder  $T_H$ -Zellen ist zunächst deren Aktivierung: Die Bindung eines Antigen an den TCR führt zu einer Stimulation der Gentranskription. Dadurch werden neben gesteigerter Sekretion von Zytokinen auch andere Oberflächenmoleküle auf  $T_H$ -Zellen exprimiert.

Ein Beispiel für den Wechsel von Oberflächenmerkmalen ist die Änderung der CD45 Isoform. CD45 ist ein Glykoprotein aus einer zytoplasmatischen Komponente mit Tyrosinkinaseaktivität, einer Transmembranregion und einer variablen externen Domäne. Diese externe Domäne gibt Aufschluss über den Aktivierungszustand der Zelle:  $T_H$ -Zellen

die noch mit keinem Antigen in Berührung gekommen sind, exprimieren die externe Region mit einem Segment, das von Exon A kodiert wird. Man nennt diese Isoform CD45RA und Zellen, die CD45RA tragen, naive Zellen. Der erste AG-Kontakt führt zur Zellaktivierung und durch Herausschneiden von Exon A aus der CD45-mRNA zur Expression der Null-Isoform CD45R0 (Lynch und Weiss, 2000). T<sub>H</sub>-Gedächtnis-Zellen sind beispielsweise CD4<sup>+</sup>45R0<sup>+</sup>. Zusätzlich hat das CD45-Glykoprotein über die zytoplasmatische Tyrosinkinaseaktivität regulierende Funktion bei der T-Zellaktivierung (Sasaki et al., 2001). CD45R0<sup>+</sup> T<sub>H</sub>-Zellen reagieren dabei am effektivsten auf ein AG (Novak et al., 1994) und können im Gegensatz zu CD45RA<sup>+</sup> T<sub>H</sub>-Zellen ein breites Spektrum an Zytokinen, beispielsweise IFN $\gamma$  produzieren (Beverley, 1992).

Die Messung der CD45 Isoform kann somit als ein Marker für Reifungs-, Aktivierungs- und Funktionszustand von CD4<sup>+</sup> Lymphozyten verwendet werden und diente in dieser Arbeit neben dem sIL-2R zur Charakterisierung von T<sub>H</sub>-Zellen und spezifisch zellulärer Immunität.

Bei Auswertung der CD45-Isoformen muss eine Besonderheit berücksichtigt werden. Es gibt Individuen, die aufgrund einer angeborenen Variante nicht in der Lage sind, das Exon A aus der CD45-mRNA herauszuschneiden. Menschen mit diesem Splice-Defekt, der bei etwa acht Prozent phänotypisch Gesunder auftritt, exprimieren auf allen T<sub>H</sub>-Zellen die CD45RA<sup>+</sup>-Isoform (Schwinzer et al., 1992; Thude et al., 1995). Zur Differenzierung von naiven und aktivierten T<sub>H</sub>-Zellen ist CD45 bei diesen Patienten daher ungeeignet.

## **CD45-Isoformen bei Schizophrenie**

Zwei Studien haben CD45-Isoformen von schizophrenen Patienten mit gesunden Kontrollen verglichen. In der Früheren findet sich kein Unterschied der beiden Gruppen hinsichtlich der CD4<sup>+</sup>45R0<sup>+</sup> also T<sub>H</sub>-Gedächtnis-Zellen (Wilke et al., 1996). Allerdings waren die Patienten nicht unbehandelt. Bei einer späteren Untersuchung an Patienten, die vorher für drei Monate unbehandelt waren, ergibt sich eine erhöhte Anzahl an CD4<sup>+</sup>45RA<sup>+</sup>, also naiven T<sub>H</sub>-Zellen, in Prozent der Lymphozyten gemessen. Umgekehrt finden sich weniger CD4<sup>+</sup>45RA<sup>-</sup> Zellen, die vom Autor der Studie als T<sub>H</sub>-Gedächtnis-Zellen bezeichnet werden (Cazzullo et al., 1998). Die CD4<sup>+</sup>45R0<sup>+</sup> Zellen entsprechen, von den wenig doppelt positiven CD4<sup>+</sup>45RA<sup>+</sup>45R0<sup>+</sup> Zellen abgesehen, den CD4<sup>+</sup>45RA<sup>-</sup> Zellen und werden daher üblicherweise beide als T<sub>H</sub>-Gedächtnis-Zellen oder aktivierte T<sub>H</sub>-Zellen

bezeichnet. Bei unbehandelten schizophrenen Patienten findet sich also eine geringere Anzahl aktivierter und eine erhöhte Anzahl naiver  $T_H$ -Zellen.

Aus den aufgeführten Untersuchungen zum sIL-2R und zur CD45-Isoform bei schizophrenen Patienten geht hervor, dass bei der Bewertung und Einordnung immunologischer Befunde die Wirkung von Neuroleptika eine problematische Störgröße ist. Neuroleptika nehmen Einfluss auf viele immunologische Parameter und die Verbesserung der spezifisch zellulären Abwehr wurde sogar als therapeutischer Effekt diskutiert (Müller et al., 1998).

Um Behandlungs- und Krankheitseffekte zu differenzieren ist die eingangs beschriebene Entdeckung von Molholm ein entscheidender Hinweis, denn sie stammt aus einer Zeit vor Einführung der ersten Neuroleptika in den 50er Jahren. Von den späteren Befunden weisen jene, die an unbehandelten Patienten erhoben wurden ebenfalls in Richtung einer supprimierten spezifisch zellulären Immunität bei Schizophrenie.

In der Zusammenschau kann man daher davon ausgehen, dass bei unbehandelten schizophrenen Patienten die spezifisch zelluläre Abwehr durch einen Mangel an  $T_{H1}$ -Zytokinen und durch unzureichende Reifung und Aktivierung der  $T_H$ -Zellen beeinträchtigt ist (Tab. 2).

**Tab. 2:** Veränderungen des spezifisch zellulären Immunsystems bei unbehandelten schizophrenen Patienten

<b>Aktivierung der <math>T_H</math>-Zellen</b> ↓	<b><math>T_{H1}</math>-Zytokine</b> ↓
aktivierte $T_H$ -Zellen ( $CD4^+45R0^+$ ) ↓	IFN $\gamma$ ↓
naive $T_H$ -Zellen ( $CD4^+45RA^+$ ) ↑	IL-2 ↓
	sIL-2R ↓

## 1.4 COX-Hemmer

COX-Hemmer sind Medikamente mit analgetischer, antipyretischer und antiphlogistischer Komponente. Dabei nehmen sie Einfluss auf verschiedene Teile des Immunsystems.

Im Rahmen dieser Arbeit wird auf die Wirkung bezüglich spezifisch zellulärer Komponenten und auf mögliche Effekte im Rahmen der Schizophrenie genauer eingegangen.

## COX-Isoenzyme

Das Enzym Cyclooxygenase (COX), auch als Prostaglandin-H-Synthase (PGHS) bezeichnet, katalysiert den limitierenden Schritt der Prostaglandin(PG)-Synthese aus Arachidonsäure. Das Enzym existiert in zwei Isoformen, COX-1 und COX-2, die beide die gleiche Reaktion katalysieren, dabei aber unterschiedliche Aufgaben im Organismus erfüllen. COX-1 wird von vielen Geweben in relativ konstanter Menge exprimiert und produziert Prostaglandine, die vor allem physiologische Aufgaben zum Beispiel in der Niere oder in Thrombozyten erfüllen. COX-2 ist die induzierbare Form des Enzyms. Im Rahmen einer Entzündungsreaktion wird COX-2 vor allem von Makrophagen aber auch von Endothelzellen oder Fibroblasten und einigen anderen gebildet (Smith et al., 1996). Eine Sonderstellung nehmen bestimmte Nervenzellen im Gehirn ein. Hier ist die COX-2 auch unter physiologischen Bedingungen nachweisbar (Kaufmann et al., 1997).

## Prostaglandine und spezifisch zelluläres Immunsystem

Die von der COX-2 gebildeten Prostaglandine vermitteln eine Vielzahl von Wirkungen im Rahmen einer Entzündungsreaktion. Proinflammatorische Effekte wie Vasodilatation und Permeabilitätssteigerung erzeugen die Kardinalsymptome einer Entzündung.

Daneben regulieren Prostaglandine das Entzündungsgeschehen nicht nur durch pro-, sondern auch durch antiinflammatorische Eigenschaften, mit dem Ziel, das Verhältnis aus Schaden und Nutzen des Prozesses für den Organismus zu optimieren (Tilley et al., 2001). Besonders  $\text{PGE}_2$  ist dabei in der Lage, die spezifisch zelluläre Immunität zu supprimieren:  $\text{PGE}_2$  ist das von aktivierten Makrophagen im Zeitfenster der verzögerten Immunreaktion bevorzugt synthetisierte Prostaglandin (Naraba et al., 1998). Durch direkten Kontakt im Rahmen dieser Abwehrreaktion nehmen Makrophagen über die gebildeten Prostaglandine unmittelbar Einfluss auf T-Zellen.  $\text{PGE}_2$  hemmt dabei Aktivierung und Proliferation von T-Zellen (Baker et al., 1981; Minakuchi et al., 1990). Bei den  $T_H$ -Zellen ist der antiproliferative Effekt auf die aktivierten  $\text{CD4}^+\text{45R0}^+$  Zellen stärker als auf naive  $\text{CD4}^+\text{45RA}^+$  (Sunder-Plaßmann et al., 1991). Möglicherweise folgt daraus ein Ungleichgewicht aus mehr naiven  $\text{CD4}^+\text{45RA}^+$  und weniger aktivierten  $\text{CD4}^+\text{45R0}^+$  Zellen unter  $\text{PGE}_2$ . Auch auf Differenzierung und Funktion von  $T_{H1}$ - $T_{H2}$ -System nimmt  $\text{PGE}_2$  Einfluss.  $\text{PGE}_2$  supprimiert die  $T_{H1}$ -Zytokine  $\text{IFN}\gamma$  und IL-2 und generiert einen Shift zum  $T_{H2}$ -System (Betz und Fox, 1991; Demeure et al., 1997; Katamura et al., 1995). Der sIL-2R als gut messbarer Indikator der  $T_{H1}$ -Aktivität ist unter  $\text{PGE}_2$  Einfluss erniedrigt (Anastassiou et al., 1992).

Zusammenfassend generiert PGE<sub>2</sub> einen Mangel der spezifisch zellulären Abwehr, ähnlich dem bei Schizophrenie.

## COX-Hemmer und spezifisch zelluläres Immunsystem

COX-Hemmer reduzieren die Synthese von Prostaglandinen und verringern in der Folge deren Einfluss auf die Körperabwehr. So erklärt sich die aktivierende Wirkung von COX-Hemmern auf das spezifisch zelluläre Immunsystem.

COX-Hemmer erhöhen nach oraler Gabe die Stimulierbarkeit von Lymphozyten zur Sekretion der T<sub>H1</sub>-Zytokine IL-2 und IFN $\gamma$  (Hsia et al., 1989). Im peripheren Blut steigt der sIL-2R unter Therapie mit einem COX-Hemmer als Ausdruck einer verbesserten spezifisch zellulären Abwehr an (Josten et al., 1991). Der direkte Einfluss von COX-Hemmern auf die Ausprägung der CD45-Isoform ist meines Wissens bisher nicht untersucht worden. Die durch Prostaglandine verursachte Verschiebung von aktivierten CD45R0<sup>+</sup> Zellen zu naiven CD45RA<sup>+</sup> Zellen müsste durch einen COX-Hemmer reversibel sein. Daneben begünstigt IL-2, das wie erwähnt unter Therapie mit einem COX-Hemmer ansteigt (Hsia et al., 1989), die Bildung aktivierter CD45R0<sup>+</sup> aus naiven CD45RA<sup>+</sup> Lymphozyten (Roth, 1994).

COX-Hemmer sind also in der Lage, eine insuffiziente spezifisch zelluläre Abwehr zu aktivieren (Tab. 3).

**Tab. 3:** Wirkung von COX-Hemmern auf das spezifisch zelluläre Immunsystem

Aktivierung der T <sub>H</sub> -Zellen ↑	T <sub>H1</sub> -Zytokine ↑
aktivierte T <sub>H</sub> -Zellen (CD4 <sup>+</sup> 45R0 <sup>+</sup> ) ↑ (?)	IFN $\gamma$ ↑
naive T <sub>H</sub> -Zellen (CD4 <sup>+</sup> 45RA <sup>+</sup> ) ↓ (?)	IL-2 ↑
	sIL-2R ↑

## Celecoxib

Celecoxib ist ein moderner COX-Hemmer mit in vitro ungleich stärkerem Effekt auf COX-2 als auf COX-1 und gilt damit als selektiver COX-2-Hemmer (Penning et al., 1997). Bei gleicher klinischer Wirksamkeit treten die über COX-1-Hemmung vermittelten, beispielsweise gastrointestinalen Nebenwirkungen, erheblich seltener auf als bei herkömmlichen, nicht-selektiven COX-Hemmern (Deeks et al., 2002). Celecoxib zeigt darüber hinaus gute Wirksamkeit auch im ZNS. Es hemmt im Tierversuch effektiv die COX-2 und erhöht die Konzentration von T<sub>H1</sub>-Zytokinen im Gehirn (Chen et al., 2002;

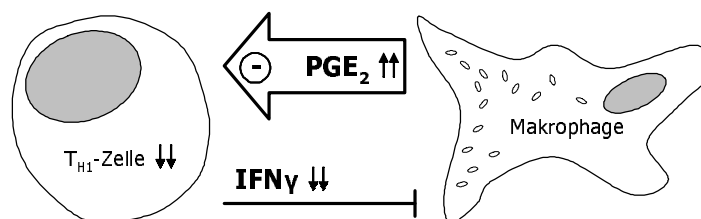
Ciceri et al., 2002). Damit erscheint Celecoxib aus pharmakokinetischer Sicht geeignet für einen Behandlungsversuch von schizophrenen Patienten.

## 1.5 Modell zur Pathogenese der Schizophrenie

Welche Bedeutung die immunologischen Auffälligkeiten bei Schizophrenie haben, ist noch völlig unklar. Ein Beleg ob Ursache, Begleitphänomen oder Behandlungseffekt lässt sich bisher nicht erbringen. Mehrfach ist die pathogenetische Bedeutung der Veränderungen diskutiert worden (Ganguli et al, 1994a; Müller und Ackenheil, 1998). Ein aktuelles Modell zur Schizophrenie postuliert einen Immundefekt, der die Anfälligkeit für bestimmte Infektionen erhöht oder deren Überwindung erschwert und dadurch einen chronisch entzündlichen oder autoimmunen Prozess generiert (Müller et al., 2004 in Vorbereitung). Die supprimierte spezifisch zelluläre Immunität könnte einen solchen Immundefekt darstellen und zu einer chronischen Entzündung führen.

### Modell einer chronischen Entzündung

Ausgangspunkt des im Folgenden entwickelten Modells zur Entstehung einer chronisch persistierenden Entzündung bildet eine Schwäche der spezifisch zellulären Abwehr (Abb. 2):



**Abb. 2:** Erregerpersistenz in Makrophagen und Ausbildung einer chronischen Entzündungsreaktion bei T<sub>H1</sub>-Schwäche

Im Falle einer Infektion können die insuffizienten T<sub>H1</sub>-Lymphozyten mangels IFN $\gamma$  befallene Makrophagen nicht ausreichend zur Erregerelimination stimulieren. IFN $\gamma$  ist bei bestimmten Infektionen zur Keimabtötung unerlässlich, da es in Makrophagen Enzyme zur Bildung von Sauerstoffradikalen induziert (Abbas et al., 1996). Der Mangel an IFN $\gamma$  führt



also möglicherweise zu einer Erregerpersistenz, die befallene Makrophagen zur COX-Expression und PG-Synthese stimuliert (Matte et al., 2001; Steer et al., 2003). Prostaglandine supprimieren ihrerseits, wie bereits ausführlich behandelt, die  $T_{H1}$ -Lymphozyten einschließlich deren Produktion von  $IFN\gamma$ . Dadurch entsteht ein Circulus vitiosus, der eine Chronifizierung des Prozesses zur Folge hat. Vergleichbare Mechanismen zur Entstehung einer chronisch-persistierenden Entzündung sind zum Beispiel für Infektionen mit Mykobakterien (Edwards et al., 1986), Leishmania (Perez-Santos und Talamas-Rohana, 2001) oder Herpesviren (Khyatti und Menezes, 1990) beschrieben.

Die schwache T-Zell-Reaktion kann in diesem Szenario primär, zum Beispiel genetisch und damit ursächlich, oder sekundär PG vermittelt diesen Circulus vitiosus unterhalten. Die Gabe eines COX-Hemmers, der die PG-Entstehung verhindert und damit den Kreislauf unterbricht, verbessert in allen oben aufgeführten Untersuchungen die Erregerelimination.

Die Voraussetzungen zur Entstehung einer chronischen Entzündung bei  $T_{H1}$ -Schwäche sind auch im ZNS gegeben: T-Lymphozyten patrouillieren bereits unter physiologischen Bedingungen ständig im Gehirn (Hickey et al., 1991). Zur Expression des MHC Klasse-II Moleküls und damit zur  $T_H$ -Zell spezifischen Präsentation eines Antigen sind zum Beispiel Mikrogliazellen, die eigentlichen Gewebemakrophagen des Gehirns, oder Astrozyten in der Lage (Sedgwick et al., 1991; Hirayama et al., 1986). Beide Zelltypen können nach Stimulation COX-2 exprimieren und Prostaglandine bilden (Bauer et al., 1997; Kalmár et al., 2001). Der Kontakt von Gliazellen mit  $T_H$ -Zellen wird, wie im peripheren Immunsystem auch, durch Zytokine, unter anderem  $IFN\gamma$ , und durch Prostaglandine reguliert (Aloisi et al., 2000). Die  $PGE_2$ -vermittelte Chronifizierung einer Entzündung des Gehirns findet sich zum Beispiel nach Infektion von Mäusen mit Theiler's murine encephalomyelitis virus (Molina-Holgado et al., 2002).

## **Chronische Entzündung bei Schizophrenie**

Die Idee einer erregerbedingten Entzündung des Gehirns bei Schizophrenie ist nicht neu (Kirch, 1993; Taieb et al., 2001; Torrey, 1991; Yolken et al., 2000). Die insuffiziente zelluläre Immunität bei Schizophrenen könnte die Voraussetzung für die Persistenz einer Infektion sein. Die resultierende chronische Entzündung wird dann im weiteren Verlauf durch erniedrigte  $IFN\gamma$ - und erhöhte PG-Konzentrationen unterhalten. Bei schizophrenen Patienten finden sich erhöhte PG-Spiegel im Liquor (Mathé et al., 1980) und bei einer

Untersuchung Schizophrener mit Krankheitsbeginn in der Kindheit sind erniedrigte IFN $\gamma$ -Werte im Liquor beschrieben (Mittleman et al., 1997). Es gibt also Hinweise auf einen chronischen Entzündungsprozess im Sinne des entwickelten Modells.

Eine Entzündung im Gehirn beeinflusst in der Folge ein Netzwerk aus Zellen und Botenstoffen nicht nur des Immun-, sondern auch des Nervensystems (Müller und Ackenheil, 1998). Daher ist denkbar, dass die postulierte Entzündung ursächlich für psychopathologische Veränderungen bei Schizophrenie ist.

## 1.6 Hypothese

Dieses Modell zur Pathogenese der Schizophrenie ist natürlich spekulativ. So ist die eigentliche Ursache für die Veränderungen des Immunsystems nicht bekannt. Unter den vielen diskutierten genetischen Faktoren (Übersicht: Prasad et al., 2002) finden sich auch Auffälligkeiten bei Genen der spezifischen Immunität. Deren Bedeutung ist jedoch völlig unklar. Ähnliches gilt für einen möglichen Erreger. Diverse Befunde, zum Beispiel erhöhte Antikörpertiter, geben einen indirekten Hinweis auf ein infektiöses Geschehen (Hart et al., 1999; Lillehoj et al., 2000; Yolken et al., 2001). Ein bestimmter Erreger konnte bisher allerdings nicht isoliert werden.

Sollte jedoch der spezifisch zellulären Immunität eine pathogenetische Bedeutung für die Schizophrenie zukommen, so müsste die Stärkung dieser Abwehr mit einer Veränderung auch der Psychopathologie einhergehen.

Die Hypothese der Arbeit lautet daher:

Der Einsatz eines COX-Hemmers nimmt über die Aktivierung der spezifisch zellulären Immunität Einfluss auf die Symptome der Schizophrenie. Konkret steigt der Anteil der CD45R0<sup>+</sup> an den T<sub>H</sub>-Zellen und der sIL-2R im peripheren Blut der Patienten an, der Anteil der CD45RA<sup>+</sup> an den T<sub>H</sub>-Zellen geht zurück. Diese Veränderungen korrelieren mit einer Veränderung der Psychopathologie.

## 1.7 Studiendesign

Im Rahmen einer prospektiven, doppelblinden, randomisierten Studie im Parallelgruppendesign, die von Dezember 1999 bis Februar 2001 an der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt wurde, konnte die

formulierte Hypothese überprüft werden. Die Wirksamkeit des selektiven COX-2-Hemmers Celecoxib bei Schizophrenie stand im Mittelpunkt der Studie. Celecoxib kam dabei als Zusatztherapie zu dem bewährten atypischen Neuroleptikum Risperidon zum Einsatz. Eine Vergleichsgruppe erhielt Risperidon und Placebo. Durch das add-on Design war sichergestellt, dass alle Patienten mit einer erwiesenermaßen wirksamen Therapie behandelt wurden. Im Verlauf von fünf Wochen wurden die Psychopathologie mittels PANSS und die spezifisch zelluläre Immunität durch Bestimmung des sIL-2R und der CD45-Isoform der T<sub>H</sub>-Zellen erfasst.

Daneben wurden weitere immunologische Parameter gemessen, die nicht unmittelbar die T<sub>H</sub>-vermittelte spezifisch zelluläre Immunität betreffen. Sie sind nicht Gegenstand dieser Arbeit.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Patienten**

Insgesamt 50 Patienten, 25 Frauen und 25 Männer im Alter zwischen 18 und 65 Jahren (Mittelwert (M) 36 Jahre) wurden in die Studie aufgenommen. Die Patienten befanden sich wegen akuter Exazerbation einer schizophrenen Psychose in stationär-psychiatrischer Behandlung. Die Diagnose nach DSM-IV wurde von jeweils zwei Ärzten unabhängig voneinander bestätigt. Nach schriftlicher Einwilligung zur Teilnahme an der Studie folgte die randomisierte Aufteilung in zwei Gruppen, 25 Patienten (11 Frauen und 14 Männer, mittleres Alter 36 Jahre) in die Behandlungs- oder Celecoxibgruppe, die anderen 25 Patienten (14 Frauen und 11 Männer, mittleres Alter 36 Jahre) in die Kontroll- oder Placebogruppe.

### **2.2 Prozedere**

Von den 50 Patienten waren 26 (Celecoxibgruppe 10; Placebogruppe 16) unmittelbar vor Studienbeginn mit einem Neuroleptikum vorbehandelt. Diese Patienten mussten zunächst eine Auswaschphase von mindestens 48h für orale Neuroleptika oder einem Applikationsintervall für Depotmedikation durchlaufen.

Die Behandlungsphase erstreckte sich über einen Zeitraum von fünf Wochen. Die Patienten erhielten zweimal täglich, morgens und abends, je 200mg Celecoxib oder eine identische Placebokapsel. Risperidon wurde nach klinischen Erfordernissen zwischen zwei und sechs mg pro Tag dosiert. Vor Studienbeginn und in wöchentlichen Abständen erfolgte neben Erhebung der Psychopathologie die immunologische Diagnostik. Gleichzeitig wurden extrapyramidalmotorische und allgemeine Nebenwirkungen erfasst und der Risperidonspiegel im Blut kontrolliert.

## 2.3 PANSS

Die Psychopathologie wurde mit der Positiv- und Negativ-Syndrom Skala (PANSS) erhoben. Die PANSS ist eine standardisierte Skala zur Erfassung und Quantifizierung der Symptome bei Schizophrenie. Sie gliedert sich in insgesamt 30 Items, die, je nach Schweregrad, mit einem (nicht vorhanden) bis sieben (extrem) Punkten bewertet werden. Für die exakte Bewertung ist jeder Punktwert eines Items detailliert definiert. Die Summe aller Bewertungen ergibt den Gesamtscore (PANSS gesamt) mit theoretischem Minimum von 30 und theoretischem Maximum von 210 Punkten. Die Gesamtskala setzt sich aus drei Unterskalen zusammen, der Positivskala (PANSS positiv), der Negativskala (PANSS negativ) und der Skala der Alltagspsychopathologie (PANSS global) (Tab. 4). Die Erfassung erfolgt im Rahmen eines Interviews und aus Beobachtungen und Berichten des Betreuungspersonals. Die PANSS ist eine in Studien bewährte Skala mit hoher Reliabilität und Validität, insbesondere auch zur Differenzierung von Positiv- und Negativsymptomatik (Kay et al., 1987). Gängiges Kriterium für einen Therapieerfolg ist die Verbesserung des Gesamtscores um mindestens 20%.

**Tab. 4:** Die 30 Items der PANSS

---

<b>Positiv- und Negativ-Syndrom Skala (PANSS)</b>	
<b>Positivskala</b>	<b>Skala der Alltagspsychopathologie</b>
P1 Wahneideen	G1 Sorge um die Gesundheit
P2 Formale Denkstörungen	G2 Angst
P3 Halluzinationen	G3 Schuldgefühle
P4 Erregung	G4 Anspannung
P5 Grössenideen	G5 Manierismen und unnatürliche Körperhaltungen
P6 Misstrauen, Verfolgungsideen	G6 Depression
P7 Feindseligkeit	G7 Motorische Verlangsamung
	G8 Unkooperatives Verhalten
<b>Negativskala</b>	G9 Ungewöhnliche Denkinhalte
N1 Affektverflachung	G10 Desorientiertheit
N2 Emotionaler Rückzug	G11 Mangelnde Aufmerksamkeit
N3 Mangelnder affektiver Rapport	G12 Mangel an Urteilsfähigkeit und Einsicht
N4 Soziale Passivität und Apathie	G13 Willensschwäche
N5 Schwierigkeiten beim abstrakten Denken	G14 Mangelnde Impulskontrolle
N6 Mangel an Spontanität und Flüssigkeit der Sprache	G15 Selbstbezogenheit
N7 Stereotype Gedanken	G16 Aktives soziales Vermeidungsverhalten

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die PANSS von insgesamt drei speziell geschulten Ratern erhoben. Die Inter-Rater-Reliabilität lag im Mittel bei 0.92. Bei der statistischen Auswertung der PANSS-Daten wurden sowohl die Gesamtskala als auch die drei Unterskalen analysiert.

## 2.4 ELISA

Mit einem käuflichen ELISA-Kit von R&D Systems wurde der sIL-2R im Serum der Patienten gemessen.

### Grundlagen

ELISA(enzyme-linked immunsorbant assay) ist eine etablierte und bewährte Methode, mit der sich viele Serumbestandteile auch in niedriger Konzentration nachweisen lassen. Beim hier verwendeten Sandwichtest binden zunächst spezifische AK, die in den Vertiefungen einer Mikrotiterplatte fixiert sind, den nachzuweisenden Stoff. Nach Auswaschen der überschüssigen Probe werden in einem zweiten Schritt spezifische AK in löslicher Form zugegeben. Diese AK sind an ein Enzym gebunden, das einen Farbumschlag katalysiert. Die entstehende Farbintensität, gemessen als optische Dichte bei charakteristischer Wellenlänge, ist ein Maß für die entstandenen AK-AG-AK-Komplexe respektive ein Maß für den nachzuweisenden Stoff. Steht ein Standard mit bekannter Konzentration dieses Stoffes zur Verfügung, kann mit Hilfe einer Verdünnungsreihe aus der optischen Dichte einer Probe deren Konzentration ermittelt werden.

### Material

#### ELISA-Kit

Quantikine IL-2sR $\alpha$  Immunoassay von R&D Systems

#### Verbrauchsmaterial

Serumblutentnahmeröhrchen von Sarstedt

Probengefäße 1.5ml von Eppendorf

Pipettenspitzen von Sarstedt

Peha-Safe Latexhandschuhe von Hartmann

Aqua destillata

## Geräte

Zentrifuge J2-21 Zentrifuge von Beckmann Instruments

Plattenrüttler Delfia Plateshake von Wallac

Waschgerät 812 SW1 von SLT-Labinstruments

Photometer Rainbow von SLT-Labinstruments

Pipetten Reference 10-100 und 100-1000 von Eppendorf

## Software

Prism 4.0 für Windows von GraphPad

## Methode

### Probenvorbereitung

Blut aus einer peripheren Vene wurde in einem Serumröhrchen gesammelt, zur Ausbildung eines Überstandes für 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahrt, zehn Minuten bei 4000g zentrifugiert, in Portionen zu 250µl aliquotiert und bei -80°C gelagert. Vor der Messung wurden die Proben aus der Kühlung genommen und nach Erreichen von Raumtemperatur unmittelbar verarbeitet.

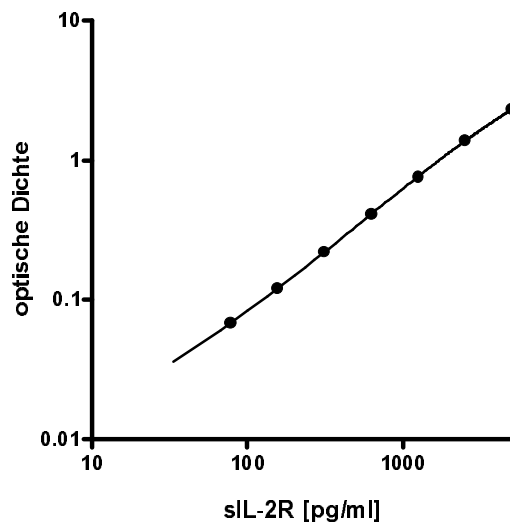
### Messung

Die Bestimmung des sIL-2R erfolgte genau nach Herstellerangaben des ELISA-Kits. Auf die mit sIL-2R-AK beschichteten Mikrotiterplatten wurden schrittweise Serumproben, peroxidasekonjugierte sIL-2R-AK und Färbereagenz aufgebracht. Zum Waschen diente ein automatisches Mikrotiterplatten-Waschgerät. Bei Messung der optischen Dichte wurden ein Messfilter von 490nm und ein Referenzfilter von 570nm verwendet. Die Referenzmessung wird vom eigentlichen Messwert subtrahiert und dient der Korrektur unspezifischer optischer Effekte, die zum Beispiel durch Verschmutzung der Mikrotiterplatte zustande kommen. Aus einem im Kit enthaltenen Standard mit bekannter Konzentration wurde auf jeder Mikrotiterplatte eine Verdünnungsreihe angelegt.

### Messauswertung

Die Umrechnung der gemessenen optischen Dichte in eine Serumkonzentration erfolgte mit der Software Prism 4.0 für Windows von GraphPad. Zunächst wurden die bekannten Konzentrationen der Verdünnungsreihe des Standards gegen die jeweils gemessene

optische Dichte aufgetragen. Die Software ermittelte aus diesen Werten eine Standardkurve (Abb. 3).



**Abb. 3:** Standardkurve zur Bestimmung der sIL-2R Serumkonzentration

Anhand dieser Kurve konnte die optische Dichte der Patientenproben in eine Serumkonzentration umgerechnet werden. Die durchschnittliche sIL-2R Konzentration aller gemessenen Proben lag mit 682 pg/ml am unteren Rand der vom Hersteller angegebenen Streuung zwischen 676 und 2132 pg/ml.

### Qualitätskontrolle

Nach Angaben des Herstellers ist der sIL-2R ELISA spezifisch für den natürlichen und rekombinanten sIL2-R $\alpha$  des Menschen. Der Test hat eine Sensitivität von unter 10pg/ml. Für seine Intra- und Inter-Test-Präzision wird ein Variationskoeffizient zwischen 4.6 und 7.0% angegeben.

Zur Qualitätssicherung wurde für alle Proben eine Doppelbestimmung durchgeführt. In die weitere Auswertung ging jeweils der Mittelwerte der beiden Messungen ein.



## 2.5 Durchflusszytometrie

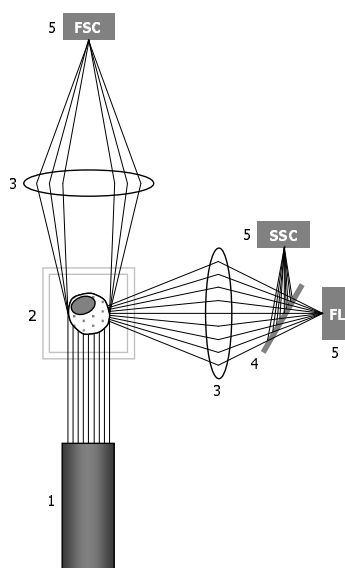
Zur Bestimmung der Oberflächenantigene CD4, CD45R0 und CD45RA auf Lymphozyten wurde eine Durchflusszytometrie durchgeführt.

### Grundlagen

Die Durchflusszytometrie ist ein Verfahren zur Bestimmung und Differenzierung von Zellen und Zellbestandteilen. Das Prinzip der Analyse beruht auf Streulicht- und Fluoreszenzphänomenen, die entstehen, wenn ein Lichtstrahl auf eine fluoreszenzmarkierte Zelle trifft. Ein typisches Einsatzgebiet der Methode ist die Bestimmung von CD-Antigenen auf Leukozyten.

### Durchflusszytometer

Ein Durchflusszytometer ermöglicht die automatisierte optische Analyse vieler einzelner Zellen oder Partikel. Das Gerät besteht aus zwei wesentlichen Elementen, einem Flüssigkeitssystem und einem optischen System. Im Flüssigkeitssystem werden die Zellen oder Partikel in die kontinuierliche Strömung einer Trägerflüssigkeit eingebracht. Vor der Messstelle verengt und beschleunigt der Probestrom, so dass die Zellen oder Partikel einzeln einen Lichtstrahl passieren. Dieser Vorgang, den man als hydrodynamische Fokussierung bezeichnet, ermöglicht die Analyse einzelner Zellen. Das optische System (Abb. 4) besteht aus einem Laser und mehreren Photodetektoren.



**Abb. 4:** Optisches System des Durchflusszytometers: Laser (1), Messkammer mit Zelle (2), Sammellinse (3), Teilerspiegel (4), und Photodetektoren (5) für Vorwärtsstreulicht (FSC), Seitwärtsstrahllicht (SSC), Fluoreszenz (FL) (nach Raffael et al.,1994)

Trifft das Licht des Lasers auf die Zelle in der Messkammer, erfassen die Detektoren Lichtstreuung und Fluoreszenz. Aufgrund dieser beiden Phänomene kann eine Zelle charakterisiert werden.

## Lichtstreuung

Vom Streulicht werden zwei Komponenten registriert, das Vorwärtsstreulicht (FSC) hinter der Messstelle, und das Seitwärtsstreulicht (SSC) neben der Messstelle. Das Vorwärtsstreulicht gibt Informationen über die Größe, das Seitwärtsstreulicht über Granularität und äußere Form der Zelle.

## Fluoreszenz

Fluoreszenz ist die Eigenschaft bestimmter Stoffe, absorbierte Strahlung rasch erneut in Form einer Strahlung, zum Beispiel Licht, wieder abzugeben. Diese Eigenschaft macht sich die Durchflusszytometrie zunutze. Eine mit einem Fluoreszenzfarbstoff markierte Zelle wird mittels Laserstrahl angeregt und ein Photodetektor erfasst die durch den Farbstoff emittierte Strahlung. Dadurch kann jeder beliebige Zellbestandteil, bei dem eine spezifische Markierung mit einem Fluoreszenzfarbstoff gelingt, mit Hilfe der Durchflusszytometrie gezielt analysieren werden.

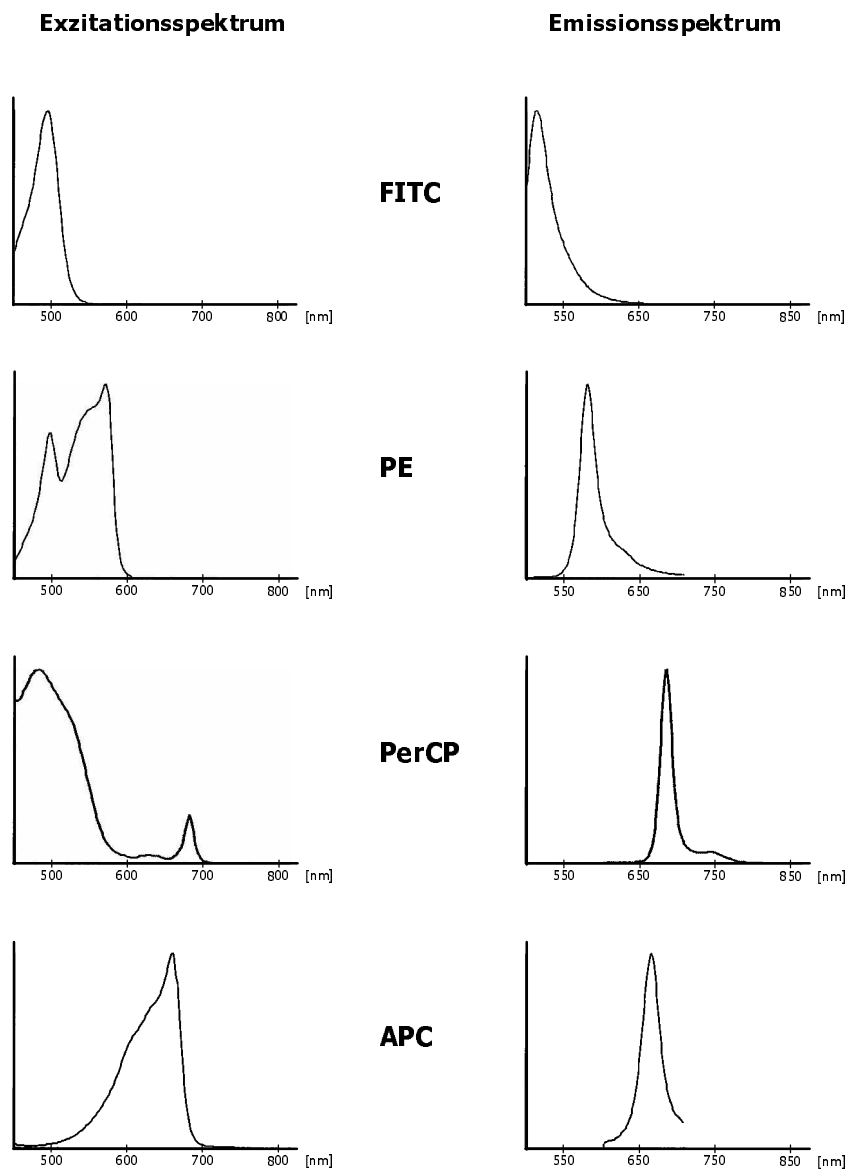
Für die Markierung stehen unterschiedliche Fluoreszenzfarbstoffe zur Verfügung (Abb. 5), die zur Analyse an monoklonale AK gegen Zellbestandteile gekoppelt werden. Die Farbstoffe unterscheiden sich hinsichtlich ihres Exzitationsspektrums, das heißt der Wellenlängen, durch die sie angeregt werden, und hinsichtlich des Emissionsspektrums, der Wellenlängen, die sie abstrahlen. Für die Anregung der Fluoreszenzfarbstoffe muss der verwendete Laser Licht mit einer Wellenlänge im Bereich des Exzitationsspektrums abgeben. Üblich ist ein Argonlaser mit 488nm.

## Mehrfarbenanalyse

Die gleichzeitige Erfassung mehrerer Fluoreszenzfarbstoffe nennt man Mehrfarbenanalyse. Dadurch kann eine Zelle durch eine Kombination von Eigenschaften charakterisiert werden. Bei der Mehrfarbenanalyse nutzt man die Tatsache, dass manche Fluoreszenzfarbstoffe ein ähnliches Exzitationsspektrum haben, sich aber bei der Emission unterscheiden. Typisches Beispiel ist eine Kombination der Farbstoffe Fluorescein (FITC), Phycoerythrin (PE) und Peridinin Chlorophyll Protein (PerCP). Alle können durch den Argonlaser bei 488nm angeregt werden. Für die gleichzeitige Messung hat jeder Farbstoff einen eigenen Detektor. Optische Filter sorgen dafür, dass ein Photodetektor spezifisch die

Wellenlänge nur eines Farbstoffes misst. Falls sich Emissionsspektren direkt überschneiden kann diese Überschneidung durch elektronische Kompensation ausgeblendet werden.

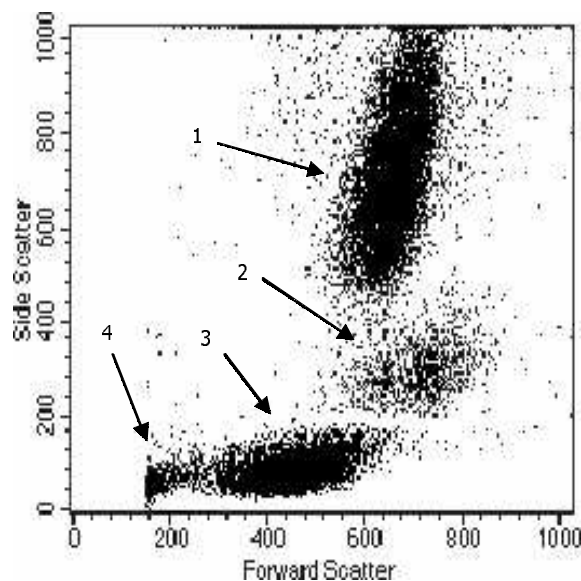
Eine weitere Ergänzung der Mehrfarbenanalyse ist durch den Einsatz eines zusätzlichen Lasers möglich. Gebräuchlich sind zum Beispiel Helium-Neon Laser oder Diodenlaser, die Licht mit einer Wellenlänge um 635nm abgeben. Dadurch können auch Fluoreszenzfarbstoffe mit Exzitationsspektrum in diesem Bereich, etwa Allophycocyanin (APC), eingesetzt werden.



**Abb. 5:** Absorptions- und Emissionsspektren gebräuchlicher Fluoreszenzfarbstoffe (nach Becton Dickinson, wissenschaftliche Information)

## Auswertung

Für jede Zelle werden alle gleichzeitig erfassten Streu- und Fluoreszenzereignisse quantitativ, als Wert zwischen 0 und 1023, registriert. Bei einer Vierfarbenanalyse sind dies sechs Werte, der FSC-Wert, der SSC-Wert und die vier Fluoreszenzwerte. Bei der Auswertung werden üblicherweise jeweils zwei der gemessenen Eigenschaften in einem Zweiparameter-Punkt(Dot-Plot)-Histogramm grafisch dargestellt. Trägt man zum Beispiel Vorwärtsstreulicht (FSC) und Seitwärtsstreulicht (SSC) gegeneinander auf, erhält man das Lichtstreuungsdiagramm (Abb. 6).



**Abb. 6:** Lichtstreuungsdiagramm mit Granulozyten (1), Monozyten (2), Lymphozyten (3) und Zelltrümmern (4)

Jeder Punkt repräsentiert eine Zelle und anhand der Koordinaten lässt sich deren Größe und Granularität ablesen. Punktwolken entsprechen Zellpopulationen mit ähnlichen Eigenschaften. So ist es möglich, Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten zu differenzieren. Abhängig von der Fragestellung kann man alle denkbaren Parameterkombinationen als Dot-Plot-Histogramm darstellen.

Um die Auswertung auf eine bestimmte Zellpopulation zu begrenzen, wird die zugehörige Punktwolke mit einem Auswertefenster, einem Gate, versehen. In die weitere Auswertung gehen dann nur die Zellen ein, die innerhalb des Gates liegen. Durch diesen Vorgang können Informationen aus verschiedenen Dot-Plot-Histogrammen kombiniert werden.

Zur Quantifizierung von Zellpopulationen wird das Histogramm optisch aufgeteilt. Durch Einfügen von Trennlinien oder Quadranten ist die Angabe prozentualer Verhältnisse innerhalb der analysierten Zellen möglich.

## **Material**

### **Reagenzien**

Anti-CD4 PerCP von Becton Dickinson (BD)  
Anti-CD8 APC von Pharmingen  
Anti-CD45R0 FITC von Pharmingen  
Anti-CD45RA PE von Pharmingen  
MultiTEST CD3 FITC/CD8 PE/CD45 PerCP/CD4 APC von BD  
CaliBRITE-Dreifarben-Set von BD  
CaliBRITE-APC-Beads von BD  
Uti-Lyse von DAKO

### **Verbrauchsmaterial**

EDTA Blutentnahmeröhrchen von Sarstedt  
Falcon Polystyrolröhrchen 12 x 75mm von BD  
FACSFlow von BD  
FACSafe von BD  
FACSRinse von BD  
Pipettenspitzen von Sarstedt  
Peha-Safe Latexhandschuhe von Hartmann

### **Geräte**

FACSCalibur Durchflusszytometer von BD  
Vortexmischer Genie 2 von Bender & Hobein  
Pipetten Reference 0.5-10, 10-100 und 100-1000 von Eppendorf

### **Software**

CellQuest von BD  
MultiSET von BD  
FACSComp von BD

## **Methode**

Zur Bestimmung der CD45-Isoformen auf T<sub>H</sub>-Zellen wurde eine Vierfarben-FACS(Fluorescence-activated cell sorter)-Analyse durchgeführt. Neben den Oberflächenantigenen CD4, CD45R0 und CD45RA, wurde als vierter Parameter CD8 gemessen. Da der Schwerpunkt der Arbeit bei CD4 Zellen lag, wird auf die Bestimmung von CD8 nicht weiter eingegangen.

### **Probenvorbereitung**

Für die Analyse wurde Vollblut aus einer peripheren Vene in handelsüblichen EDTA-Röhrchen gesammelt, bei Raumtemperatur gelagert und am selben Tag verarbeitet.

Zur Färbung der Zellen wurden 90µl des EDTA-Blutes in Einmal-Teströhrchen vorgelegt und 10µl einer Antikörpermischung zugegeben, die sich wie folgt zusammensetzte: 1µl Anti-CD4 PerCP, 1µl Anti-CD8 APC, 1µl Anti-CD45RA PE, 2.5µl Anti-CD45R0 FITC und 4.5µl FACS-Flow Trägeflüssigkeit. Nach Mischen auf dem Vortexmischer folgte eine Inkubationszeit von zehn Minuten bei Dunkelheit und Raumtemperatur.

Bei der folgenden Lyse der Erythrozyten wurde DAKO-Lyselösung nach Angaben des Herstellers verwendet.

Die so vorbereiteten Proben wurden unmittelbar anschließend mit dem Durchflusszytometer analysiert.

Das exakte Protokoll der Probenvorbereitung ist das Ergebnis eines Optimierungsprozesses vor Studienbeginn. Bei der Färbung der Zellen möchte man vor allem hochaffine Antigen-Antikörper-Reaktionen erzeugen und unspezifische, niedrigaffine Kreuzreaktionen vermeiden, um keine falsch positiven Ergebnisse zu erzielen. Gleichzeitig muss die Färbung kräftig genug sein, damit keine falsch negative Werte auftreten. Wesentliche Parameter, die die Färbung beeinflussen, sind die Zellkonzentration, die Antikörperkonzentration, die Färbezeit und die Färbetemperatur. Die Zellkonzentration ist durch Verwendung von unverdünntem Vollblut in einem günstigen Bereich von 10<sup>6</sup> Leukozyten pro ml stabil. Bei der Färbezeit gelten zehn Minuten als Standard, da hier das Verhältnis aus rasch entstehenden hochaffinen zu langsam entstehenden niedrigaffinen Komplexen günstig ist. Das Färben bei Raumtemperatur ist praktikabel und wenig störanfällig. Unter Konstanthaltung der genannten Parameter wurden nun die Antikörperkonzentrationen variiert, um optimale Ergebnisse zu erzielen. Jeder Antikörper wurde einzeln in Konzentrationen von 1:10, 1:40 und 1:100 getestet. Anhand der Auswertung wurde die Konzentration ausgewählt, die die beste Unterscheidung von positiven und negativen Zellpopulationen des Parameters zuließ. Für CD4, CD8 und

CD45RA hat sich eine Konzentration von 1:100 bewährt, für CD45R0 eine Konzentration von 1:40. Schließlich wurden die Konzentrationen bei gleichzeitiger Messung als Vierfarbenanalyse nochmals überprüft und für gut befunden.

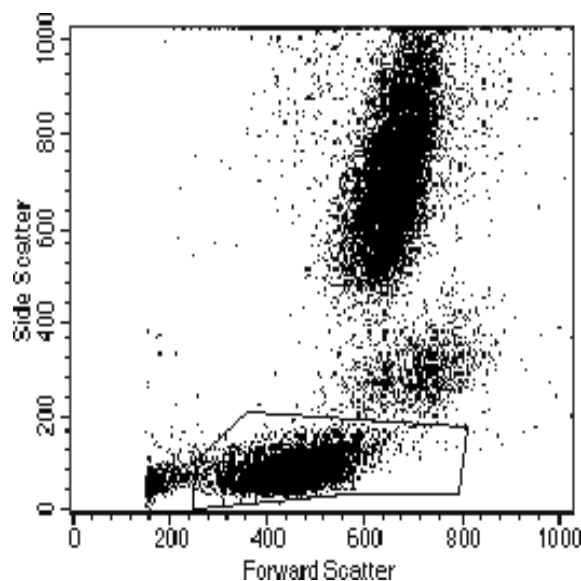
Um störende Einflüsse der Erythrozyten zu minimieren, ist neben der alleinigen Lyse auch die Lyse mit anschließender Waschprozedur gebräuchlich. Da der Waschvorgang keinen sichtbaren Vorteil brachte und zusätzliche Manipulationen die Störanfälligkeit erhöhen, wurde eine Lyse ohne Waschen bevorzugt.

## Messung

Die Proben wurden mit einem FACSCalibur-Durchflusszytometer der Firma BD analysiert. Das Gerät ist mit zwei Lasern, einem Argonlaser und einem Diodenlaser, sowie einer Messeinheit zur Vierfarbenanalyse ausgestattet. Dadurch war die gleichzeitige Messung der Oberflächenantigene CD4, CD8, CD45R0 und CD45RA möglich. Aus jeder Probe wurden jeweils 5000 Zellen aufgezeichnet.

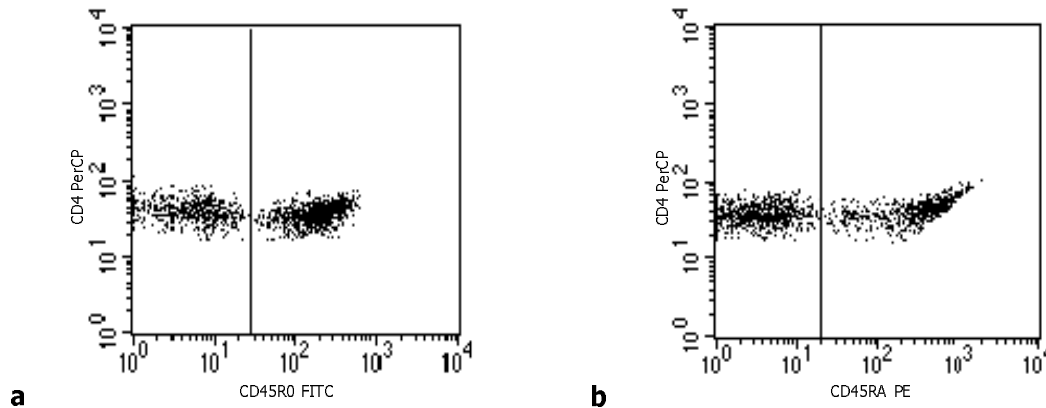
## Messauswertung

Die aufgezeichneten Daten wurden mit der Software CellQuest von BD ausgewertet. Ziel dieser Auswertung war, die Rohdaten so darzustellen, dass sich daraus der Anteil der CD45R0<sup>+</sup> und CD45RA<sup>+</sup> ermitteln ließ. Zunächst wurde im Lichtstreuungsdiagramm ein Gate auf die Lymphozytenpopulation gesetzt (Abb. 7) und in die weitere Auswertung gingen dadurch nur die Lymphozyten ein.



**Abb. 7:** Lichtstreuungsdiagramm mit Lymphozytengate

In einer weiteren Darstellung wurde ein Gate auf  $CD4^+$  gelegt, so dass die folgenden Diagramme ausschließlich  $CD4$ -Zellen enthalten. Diese Zellen wurden nun gegen  $CD45R0$  und  $CD45RA$  aufgetragen (Abb. 9).



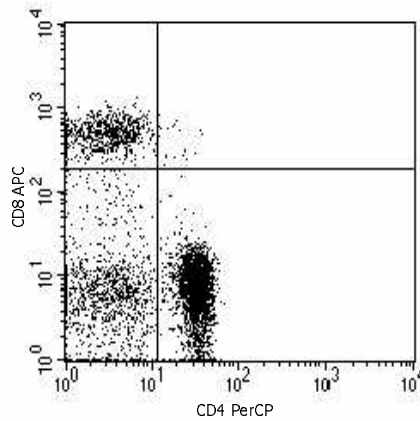
**Abb 9:**  $CD45R0 / CD4$  (a) und  $CD45RA / CD4$  Dot-Plot-Histogramm (b)

Nach optischen Gesichtspunkten konnte in beiden Darstellungen eine Grenze zwischen der positiven und negativen Zellenpopulation hinsichtlich der  $CD45$ -Isoform gezogen werden. Die Software ermittelte automatisch die prozentualen Anteile rechts und links dieser Trennlinie. Der jeweils rechte Anteil entspricht dem gesuchten Anteil der  $CD45R0^+$  oder  $CD45RA^+$  an  $CD4^+$  Lymphozyten, respektive dem Anteil aktivierter oder naiver Zellen an den  $T_H$ -Zellen.

In einigen Arbeiten, etwa den zitierten Untersuchungen zu  $CD45$  bei Schizophrenie (Cazzullo et al., 1998; Wilke et al., 1996), wird die  $CD45$ -Isoform der  $T_H$ -Zellen als Anteil an den Gesamtlymphozyten angegeben. Um die Gesamtzahl der  $T_H$ -Zellen zu kontrollieren und um die Vergleichbarkeit mit den genannten Studien zu überprüfen, wurden zusätzlich die  $CD4^+$  Zellen in Prozent der Gesamtlymphozyten bestimmt. Daraus ließen sich dann die  $CD45$ -Isoformen in Prozent der Gesamtlymphozyten berechnen und mit den direkt gemessenen Werten in Prozent der  $T_H$ -Zellen vergleichen.

Für die  $CD4$ -Messung wurden eingangs wieder die Lymphozyten mit Hilfe des Lichtstreuungsdiagramms isoliert (Abb. 7) und anschließend  $CD4$  und  $CD8$  gegeneinander aufgetragen (Abb.10). Nach optischer Aufteilung des Histogramms in vier Quadranten konnte der prozentuale Anteil der  $T_H$ -Zellen, genauer der  $CD4^+CD8^-$  Zellen an den Gesamtlymphozyten aus dem rechten unteren Quadranten abgelesen werden.





**Abb.10:** CD4 / CD8 Dot-Plot-Histogramm

Aus den direkt gemessenen Prozentangaben für die CD45 und CD4 wurde nun der Anteil der CD45-Isoform an den Gesamtlymphozyten berechnet (Abb.11).

$$\text{CD4}^+\text{CD45RX}^+ \text{ von Lymphozyten [\%]} = \text{CD45RX}^+ \text{ von CD4}^+ [\%] \times \text{CD4}^+ \text{ von Lymphozyten [\%]}$$

**Abb.11:** Umrechnungsformel zur Bestimmung der CD45-Isoformen in Prozent der Gesamtlymphozyten

## Qualitätskontrolle

Das Flüssigkeitssystem des Zytometers wurde vor und nach jeder Benutzung mit FACSSafe, FACSRinse und FACSTFlow gespült und gereinigt.

Zur Wartung des optischen Systems diente eine einmal wöchentlich durchgeführte standardisierte Testprozedur. Anhand der Analyse von CaliBRITE-Beads, die gefärbte oder ungefärbte Partikel in definierter Zusammensetzung enthalten, wurde mit FACSTComp Software die Empfindlichkeit und Kompensation des Gerätes überprüft und automatisch optimiert.

Zur weiteren Qualitätskontrolle wurde die Messung von CD4 mit einer zweiten Methode, dem MultiTest von BD kontrolliert. Der MultiTest ist ein weitgehend standardisiertes Analyseverfahren und vom Hersteller auf gute Inter-Test-Präzision und Reproduzierbarkeit geprüft. Das verwendete Färbereagenz enthält fluoreszenzmarkierte AK gegen CD3, CD4, CD8 und CD45 in definierter Zusammensetzung. CD45 wird in diesem Zusammenhang als leukocyte-common-antigen verwendet um Leukozyten zu isolieren. Eine Differenzierung von CD45RA und CD45R0 ist dabei nicht möglich. Bei der Probenvorbereitung des MultiTests wurde genau nach Angaben des Herstellers vorgegangen. Die Aufzeichnung und Auswertung erfolgte mittels zugehöriger MultiSET Software. Dabei ermittelt die Software automatisch die Leukozyten- und Lymphozytensubpopulationen über das CD45

und CD3 Antigen. Ein optisches Setzen von Auswertefenstern oder Trennlinien ist also nicht notwendig. In der Ausgabe des Programms erscheinen direkt die Prozentzahlen der T<sub>H</sub>-Zellen, genauer der CD4<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> Zellen. Von diesem Wert mussten die doppelt positiven T-Zellen, CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> abgezogen werden, um sie direkt mit den konventionell als CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> bestimmten T<sub>H</sub>-Zellen vergleichen zu können.

Die Korrelation der Messwerte der konventionellen und der MultiTest Messungen lag bei  $r=0.92$  ( $p=0.00$ ).

## 2.6 Statistische Auswertung

Die Daten wurden mit SPSS 11.5 für Windows statistisch ausgewertet.

Als globaler Test zur Analyse von Unterschieden zwischen Behandlungs- und Kontrollgruppe wurde eine multivariate Varianzanalyse mit Messwiederholung und Kovariate gerechnet, mit den fünf Behandlungszeitpunkten des jeweiligen Parameters als Innersubjektfaktor „Zeit“, Celecoxib versus Placebo als Zwischensubjektfaktor „Gruppe“ und dem Ausgangswert des Parameters als Kovariate. Diese Kovariate diente dem Ausgleich von Mittelwertsunterschieden der Gruppen zu Studienbeginn, die, obwohl sie nicht signifikant waren, bei allen Parametern die Behandlungsgruppe im Sinne der Hypothese bevorzugten.

Zur Spezifizierung signifikanter Effekte wurden Behandlungs- und Kontrollgruppe getrennt mittels Varianzanalyse mit Messwiederholung untersucht, wobei hier Ausgangswert und die fünf Behandlungswerte als abhängige Variable den Innersubjekt- oder Messwiederholungsfaktor „Zeit“ bildeten. Im Falle einer Verletzung der Sphärizitätsannahme wurden die Freiheitsgrade durch Greenhouse-Geisser-Korrektur modifiziert. Daneben kamen einfache T-Tests zum Einsatz, um relevante Effekte zu verdeutlichen, bei Gruppenunterschieden der T-Test für unabhängige Stichproben, bei Änderungen im Therapieverlauf der T-Test für gepaarte Stichproben.

Lag keine Normalverteilung der Daten vor, wurden nichtparametrische Verfahren eingesetzt. Da ein globaler nichtparametrischer Test im Sinne der Fragestellung nicht zur Verfügung steht, konnten Gruppen- und Zeiteffekte nur getrennt untersucht werden. Für die Berechnung von Gruppenunterschieden wurde der Mann-Whitney-U-Test, für den Verlauf in den Gruppen der Friedman- und im Signifikanzfall der Wilcoxon-Test gerechnet.

Um einen Zusammenhang von Immunologie und Psychopathologie zu testen, wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson und im Falle nicht normal verteilter Daten der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman berechnet.

Als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  festgelegt.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Studienabbrecher

Sieben Patienten, vier aus der Celecoxibgruppe, drei aus der Placebogruppe, schieden vorzeitig aus der Studie aus. In der Celecoxibgruppe waren EKG-Veränderungen, Unterschenkelödeme, mangelnde Besserung und der unerwartete Umzug in eine andere Stadt die Gründe für den Abbruch nach 5,9,17 und 18 Tagen. Die drei Patienten in der Placebogruppe mussten wegen akuter Bauchschmerzen, Verschlechterung der Psychose und schwerer Akathisie die Studie beenden. Sie hatten zuvor 7,15 und 17 Tage teilgenommen.

Bei der statistischen Auswertung der PANSS kam im Falle der Studienabbrecher das „last observation carried forward“-Design zum Einsatz, das heißt der jeweils letzte erhobene Wert wurde auf die fehlenden Wochen übertragen. Diese Methode verhindert den Effekt einer falsch hohen Besserung, der durch erhöhte Abbruchrate bei therapieresistenten Patienten zustande kommt.

Die Immunologiedaten wurden ohne Studienabbrecher, im Sinne eines listenweisen Fallausschlusses ausgewertet.

### 3.2 PANSS

Zu Beginn der Studie betragen die Mittelwerte in der PANSS von Celecoxib- und Placebogruppe für die Positivskala 19.0 (SD=6.0) und 17.2 (SD=4.6), für die Negativskala 18.7 (SD=6.3) und 21.1 (SD=5.5), für die Skala der Allgemeinenpsychopathologie 34.0 (SD=8.5) und 37.2 (SD=7.1) und für die Gesamtskala 71.8 (SD=17.1) und 75.5 (SD=12.8). Die Daten waren normal verteilt (Kolmogorov-Smirnov mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors; Positivskala:  $df=50$ ,  $p=0.07$ ; Negativskala  $df=50$ ,  $p=0.20$ ; Skala der Allgemeinpsychopathologie:  $df=50$ ,  $p=0.20$ ; Gesamtskala:  $df=50$ ,  $p=0.20$ ) und die Unterschiede von Behandlungs- und Kontrollgruppe in keiner der Skalen signifikant (T-Test bei unabhängigen Stichproben; Positivskala:  $t=1.22$ ,  $df=48$ ,  $p=0.23$ ; Negativskala:  $t=1.44$ ,  $df=48$ ,  $p=0.16$ ; Skala der Allgemeinpsychopathologie:  $t=1.42$ ,  $df=48$ ,  $p=0.16$ ;

Gesamtskala:  $t=0.87$ ,  $df=48$ ,  $p=0.39$ ). Im fünfwöchigen Verlauf (Tab. 5) erfüllten die Mittelwerte der Gesamtskala aller Patienten mit einem Rückgang von 23.0% das Kriterium für einen Therapieerfolg. Diese Verbesserung der Psychopathologie, die unterschiedlich stark auch in allen Unterskalen der PANSS nachweisbar war (Positivskala 26.3%; Negativskala 14.5% und Skala der Allgemeinpsychopathologie 17.6%), ist primär ein Effekt der Risperidonthherapie und daher nicht zentraler Punkt dieser Arbeit.

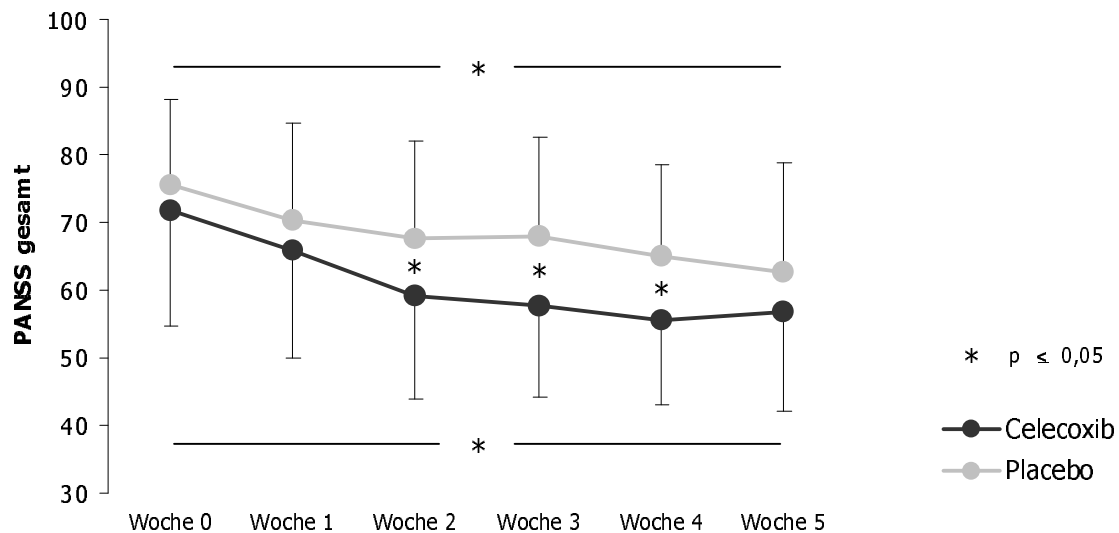
**Tab. 5:** PANSS

		Woche 0		Woche 1		Woche 2		Woche 3		Woche 4		Woche 5	
		<b>M</b>	<b>SD</b>	<b>M</b>	<b>SD</b>	<b>M</b>	<b>SD</b>	<b>M</b>	<b>SD</b>	<b>M</b>	<b>SD</b>	<b>M</b>	<b>SD</b>
<b>Positivskala</b>	Celecoxib	<b>19.0</b>	6.0	<b>16.7</b>	5.5	<b>14.4</b>	5.0	<b>14.0</b>	4.7	<b>12.8</b>	4.4	<b>13.4</b>	5.6
	Placebo	<b>17.2</b>	4.6	<b>16.2</b>	4.6	<b>15.0</b>	4.5	<b>15.2</b>	5.5	<b>14.2</b>	4.4	<b>13.3</b>	4.4
<b>Negativskala</b>	Celecoxib	<b>18.7</b>	6.3	<b>17.2</b>	5.6	<b>15.9</b>	4.9	<b>16.0</b>	4.5	<b>15.7</b>	4.4	<b>15.9</b>	4.9
	Placebo	<b>21.1</b>	5.5	<b>19.3</b>	5.2	<b>19.2</b>	5.1	<b>19.6</b>	4.2	<b>18.6</b>	4.4	<b>18.1</b>	5.6
<b>Allgemeinskala</b>	Celecoxib	<b>34.0</b>	8.5	<b>32.2</b>	7.7	<b>28.8</b>	7.9	<b>27.6</b>	6.4	<b>27.2</b>	6.4	<b>27.4</b>	6.6
	Placebo	<b>37.2</b>	7.1	<b>34.8</b>	8.0	<b>33.6</b>	8.0	<b>33.3</b>	8.2	<b>32.1</b>	7.2	<b>31.3</b>	8.2
<b>Gesamtskala</b>	Celecoxib	<b>71.8</b>	17.1	<b>66.0</b>	16.0	<b>59.1</b>	15.2	<b>57.6</b>	13.5	<b>55.6</b>	12.7	<b>56.8</b>	14.8
	Placebo	<b>75.5</b>	12.8	<b>70.2</b>	14.6	<b>67.7</b>	14.3	<b>68.0</b>	14.5	<b>65.0</b>	13.4	<b>62.7</b>	16.1

Unterschiede zwischen Behandlungs- und Kontrollgruppe, also Auswirkungen der Celecoxibtherapie, wurden mittels multivariater Varianzanalyse berechnet. Bei den drei Unterskalen der PANSS unterschieden sich die beiden Gruppen nicht (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, Zwischensubjekteffekt Gruppe; Positivskala:  $F=1.74$ ,  $df=1$ , 47,  $p=0.19$ ; Negativskala:  $F=2.82$ ,  $df=1$ , 47,  $p=0.10$ ; Skala der Allgemeinpsychopathologie:  $F=3.19$ ,  $df=1$ , 47,  $p=0.08$ ). Dagegen fanden sich signifikante Effekte bei der Gesamtskala der PANSS mit Unterschied von Behandlungs- und Kontrollgruppe (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, Zwischensubjekteffekt Gruppe:  $F=3.80$ ,  $df=1$ , 47,  $p=0.05$ ) und Gruppe-Zeit-Interaktion (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, multivariate Tests, Pillai-Spur Zeit\*Gruppe:  $F=3.91$ ,  $df=4$ , 44,  $p=0.01$ ) bei quadratischem Innersubjektcontrast (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, quadratischer Innersubjektcontrast Zeit\*Gruppe:  $F=12.50$ ,  $df=1$ , 47,  $p=0.00$ ).

Bei post-hoc Analysen dieser Ergebnisse ergab die nach Gruppen getrennte Varianzanalyse wie zu erwarten einen signifikanten Rückgang im Behandlungszeitraum für beide Gruppen (einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung, Innersubjekteffekt Zeit, Greenhouse-Geisser korrigiert; Celecoxib:  $F=13.2$ ,  $df=1.8$ , 44;  $p=0.00$ ; Placebo:  $F=8.94$ ,  $df=2.3$ , 56,  $p=0.00$ ). Hier überwog der für die Fragestellung unerhebliche Effekt von Risperidon. Erst anhand von wochenweise durchgeführten T-Tests ließ sich der

Unterschied beider Gruppen weiter verdeutlichen: Die Celecoxibgruppe wies signifikant niedrigere Werte der PANSS-Gesamtskala in Woche zwei bis vier auf (T-Test bei unabhängigen Stichproben; Woche zwei:  $t=2.06$ ,  $df=48$ ,  $p=0,05$ ; Woche drei:  $t=2.64$ ,  $df=48$ ,  $p=0,01$ ; Woche vier:  $t=2.54$ ,  $df=48$ ,  $p=0,01$ ) (Abb.12).



**Abb. 12:** Statistik der PANSS-Gesamtskala

Die add on Behandlung mit Celecoxib bewirkte demnach vor allem eine schnellere Verbesserung der Psychopathologie.

Das add-on Design der Studie birgt allerdings die Gefahr einer Interaktion der beiden verabreichten Medikamente. Um eine Beeinflussung des Risperidonmetabolismus durch Celecoxib auszuschließen, wurden die Plasmaspiegel von Risperidon und dem aktiven Metaboliten 9-Hydroxy-Risperidon der Behandlungs- und Kontrollgruppe verglichen. Dabei zeigten sich zu keinem Zeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede hinsichtlich dieser Plasmaspiegel (T-Test bei unabhängigen Stichproben; Woche eins:  $t=0.42$ ,  $df=48$ ,  $p=0.66$  (Risperidon) und  $t=1.04$ ,  $df=48$ ,  $p=0.30$  (9-Hydroxy-Risperidon); Woche zwei:  $t=1.06$ ,  $df=45$ ,  $p=0.29$  und  $t=1.81$ ,  $df=45$ ,  $p=0.07$ ; Woche drei  $t=0.92$ ,  $df=41$ ,  $p=0.36$  und  $t=0.54$ ,  $df=41$ ,  $p=0.59$ ; Woche vier:  $t=0.18$ ,  $df=41$ ,  $p=0.68$  und  $t=0.43$ ,  $df=41$ ,  $p=0.64$ ; Woche fünf:  $t=0.41$ ,  $df=41$ ,  $p=0.68$  und  $t=1.06$ ,  $df=41$ ,  $p=0.28$ ).

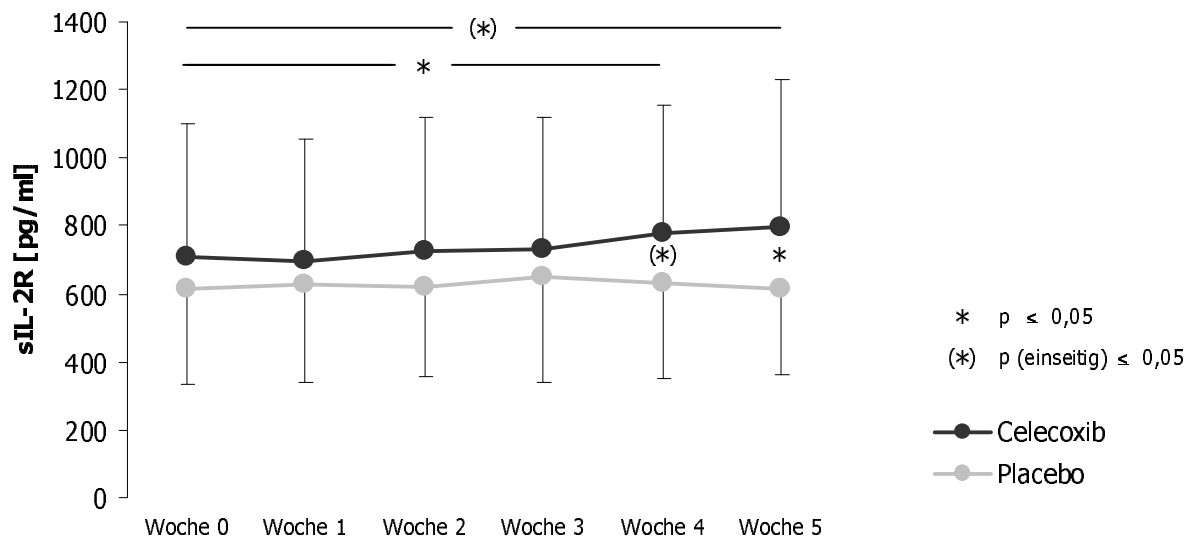
### 3.3 sIL-2R

Die Ausgangswerte für den sIL-2R betragen 707pg/ml (SD=395pg/ml) in der Celecoxibgruppe und 613pg/ml (SD=280pg/ml) in der Placebogruppe. Diese Daten waren nicht normal verteilt (Kolmogorov-Smirnov mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors: df=43, p=0.00) und zur weiteren Berechnung kamen daher nichtparametrische Verfahren zum Einsatz. Der Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen zu Beginn der Studie war nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test: z=0.96, p=0.33). Um den Einfluss der wichtigen Störgröße einer vorausgegangenen Neuroleptikabehandlung zu kontrollieren, wurden die sIL2-R-Ausgangswerte von unmittelbar vorbehandelten Patienten mit Unbehandelten verglichen. Die Vorbehandelten hatten im Mittel etwas höhere Werte (M=716pg/ml, SD=405pg/ml) als die Unbehandelten (M=625pg/ml, SD=212pg/ml), der Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test: z=0.63, p=0.53).

**Tab. 6:** sIL2-R

		Woche 0		Woche 1		Woche 2		Woche 3		Woche 4		Woche 5	
		<b>M</b>	<b>SD</b>	<b>M</b>	<b>SD</b>	<b>M</b>	<b>SD</b>	<b>M</b>	<b>SD</b>	<b>M</b>	<b>SD</b>	<b>M</b>	<b>SD</b>
<b>sIL-2R</b> [pg/ml]	Celecoxib	<b>707</b>	395	<b>697</b>	358	<b>727</b>	391	<b>729</b>	392	<b>778</b>	376	<b>794</b>	437
	Placebo	<b>613</b>	280	<b>629</b>	290	<b>619</b>	262	<b>652</b>	314	<b>634</b>	283	<b>616</b>	253

Auch im Studienverlauf (Tab. 6) zeigte die Behandlung der Patienten mit Risperidon allein keine Auswirkung auf den sIL-2R, wie die Analyse der Placebogruppe zeigte (Friedman-Test: Chi-Quadrat=3.9, df=5, p=0.56). Risperidon war damit zumindest für einen Behandlungszeitraum von fünf Wochen neutral hinsichtlich einer Beeinflussung des sIL-2R. Dagegen wies die Celecoxibgruppe eine Veränderung im Therapieverlauf auf (Friedman-Test: Chi-Quadrat=15.4, df=5, p=0.01). Im Vergleich zum Ausgangswert stieg der sIL-2R unter Celecoxibtherapie bis zur Woche vier (Wilcoxon-Test z=2.1, p=0.04) und fünf (Wilcoxon-Test z=1.8, p(einseitig)=0.04) und erreichte signifikant höhere Werte als unter Therapie mit Placebo (Mann-Whitney-U-Test; Woche vier: z=1.9, p(einseitig)=0.03; Woche fünf: z=2.28; p=0.02) (Abb.13).



**Abb.13:** Statistik des sIL-2R

Celecoxib bewirkte also einen Anstieg des sIL-2R im Therapieverlauf.

### 3.4 CD45

Insgesamt acht Patienten mussten aus der Analyse der CD45-Isoformen ausgeschlossen werden, vier (Celecoxibgruppe drei; Placebogruppe einer) wegen eines technischen Defekts bei Messung des Ausgangswertes und weitere vier (Celecoxibgruppe einer; Placebogruppe drei) aufgrund der einleitend beschriebenen Variante der CD45-Expression. Der auffallende Phänotyp mit einer CD45RA<sup>+</sup>-Expression auf nahezu 100% der T<sub>H</sub>-Zellen ließ die eindeutige Identifizierung dieser Patienten zu. Die Anzahl von vier aus 50 Patienten im Rahmen dieser Arbeit entspricht genau der erwarteten Häufigkeit von acht Prozent bei gesunden Individuen. Ein Patient mit der genetischen Variante fiel gleichzeitig in die Gruppe der Studienabbrecher. Der Datensatz zur Berechnung der CD45-Isoformen umfasste damit insgesamt 36 Patienten (17 in der Celecoxibgruppe, 19 in der Placebogruppe).

#### CD45R0<sup>+</sup> in Prozent der CD4<sup>+</sup>

Der Anteil der aktivierten oder CD45R0<sup>+</sup> an den CD4<sup>+</sup> Lymphozyten betrug zu Studienbeginn für die Celecoxibgruppe im Mittel 58.4% (SD=9.5%), für die Placebogruppe 56.1% (SD=15.9%). Es lag eine Normalverteilung vor (Kolmogorov-Smirnov mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors: df=36, p=0.20) und zwischen

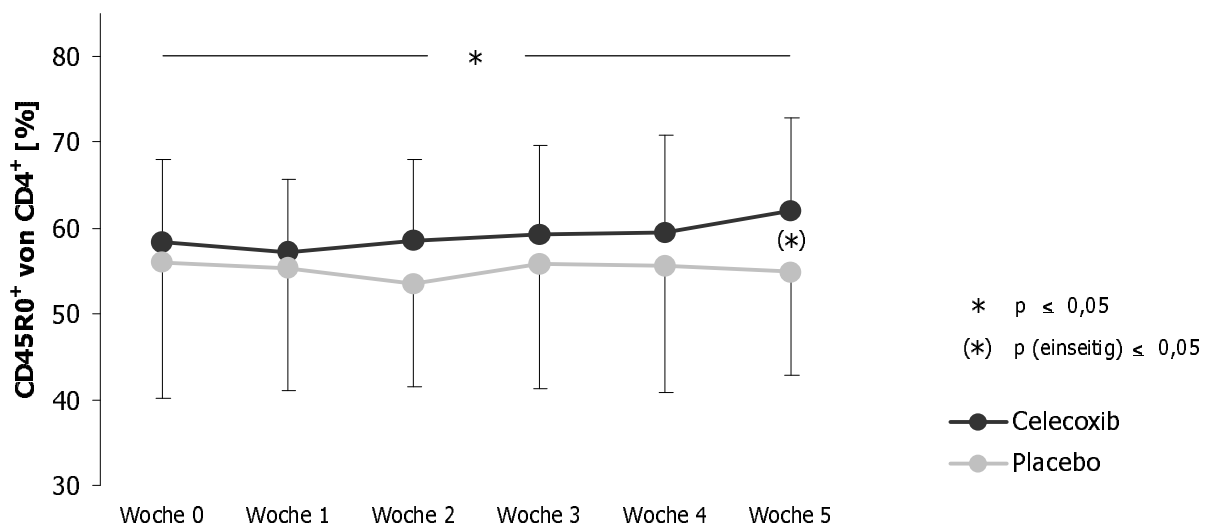


Behandlungs- und Kontrollgruppe bestand zu Studienbeginn kein Mittelwertunterschied (T-Test bei unabhängigen Stichproben:  $t=53$ ,  $df=30.0$ ,  $p=0.60$ ).

**Tab 7:** CD45R0<sup>+</sup> in Prozent der CD4<sup>+</sup>

		Woche 0		Woche 1		Woche 2		Woche 3		Woche 4		Woche 5	
		<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD
<b>CD45R0<sup>+</sup></b> von CD4 <sup>+</sup> [%]	Celecoxib	<b>58.3</b>	9.5	<b>57.1</b>	8.6	<b>58.6</b>	9.4	<b>59.2</b>	10.3	<b>59.4</b>	11.2	<b>61.9</b>	11.0
	Placebo	<b>54.1</b>	15.9	<b>55.4</b>	14.3	<b>53.5</b>	12.1	<b>55.8</b>	14.4	<b>55.6</b>	14.7	<b>54.9</b>	12.0

Im Therapieverlauf (Tab. 7) fand sich kein relevanter Unterschied von Celecoxib- und Placebogruppe (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, Zwischensubjekteffekt Gruppe:  $F=1.56$ ,  $df=1, 33$ ,  $p=0.22$ ), allerdings zeigte die Analyse mittels T-Test zumindest einen Effekt in Woche fünf (T-Test bei unabhängigen Stichproben:  $t=1.81$ ,  $df=34$ ,  $p(\text{einseitig})=0.04$ ) (Abb.14). Auffallend war darüber hinaus eine signifikante Gruppe-Zeit-Interaktion (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, multivariate Tests, Pillai-Spur Zeit\*Gruppe:  $F=2.60$ ,  $df=4, 30$ ,  $p=0.05$ ) und ein linearer Trend (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, linearer Innersubjektcontrast Zeit\*Gruppe:  $F=3.22$ ,  $df=1, 33$ ,  $p=0.08$ ).



**Abb14:** Statistik CD45R0<sup>+</sup>

Die Betrachtung der einzelnen Gruppen ergab dann eine signifikante Änderung im Behandlungsverlauf für die Celecoxibgruppe (einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung, Innersubjekteffekt Zeit, Sphärizität angenommen:  $F=2.82$ ,  $df=5, 80$ ,  $p=0.02$ ). In nachgeschalteten T-Tests war der Wert am Ende der Behandlung signifikant höher als zu Beginn (T-Test bei gepaarten Stichproben:  $t=1.9$ ,  $df=16$ ,  $p(\text{einseitig})=0.04$ )

(Abb.14). Die Kontrollgruppe zeigte statistisch einen konstanten Verlauf (einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung, Innersubjekteffekt Zeit, Greenhouse-Geisser korrigiert:  $F=0.45$ ,  $df=2.7, 48$ ,  $p=0.70$ ).

Der Anteil aktivierter  $T_H$ -Zellen stieg also nur unter Celecoxib an, dennoch ließ sich im Behandlungszeitraum von fünf Wochen kein stabiler Unterschied zur Placebogruppe detektieren.

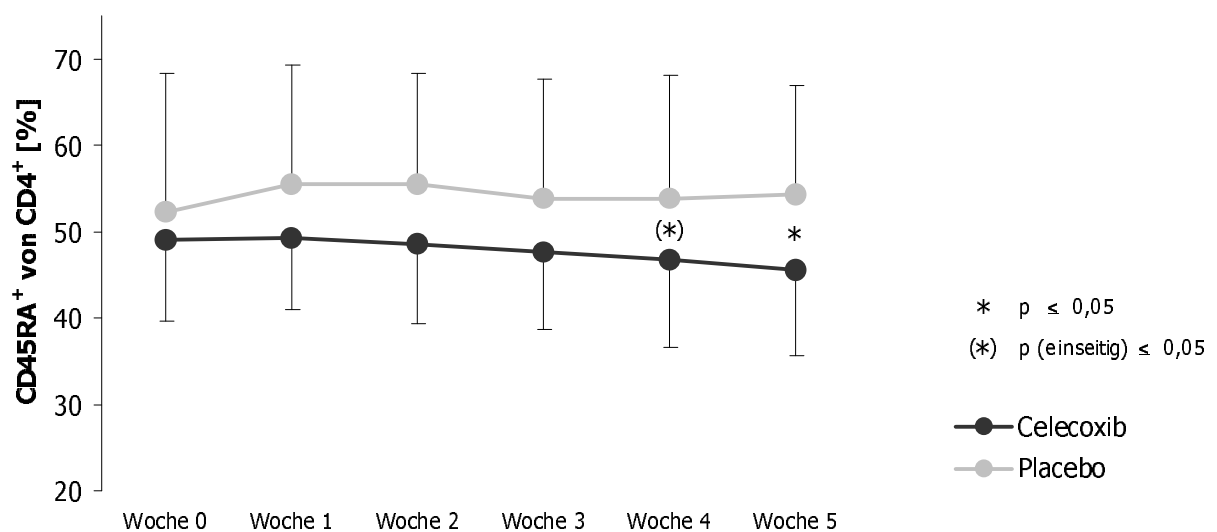
## CD45RA<sup>+</sup> in Prozent der CD4<sup>+</sup>

Die CD45RA<sup>+</sup> oder naiven von den CD4<sup>+</sup> Lymphozyten hatten einen Ausgangswert von 48.9% (SD=9.3%) in der Celecoxibgruppe und 52.3% (SD=16.0%) in der Placebogruppe. Die Daten waren normal verteilt (Kolmogorov-Smirnov mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors:  $df=36$ ,  $p=0.20$ ). Bei den Ausgangswerten bestand kein signifikanter Gruppenunterschied (T-Test bei unabhängigen Stichproben:  $t=0.77$ ,  $df=29.4$ ,  $p=0.44$ ).

**Tab. 8:** CD45RA<sup>+</sup> in Prozent der CD4<sup>+</sup>

		Woche 0		Woche 1		Woche 2		Woche 3		Woche 4		Woche 5	
		<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD
<b>CD45RA<sup>+</sup></b> von CD4 <sup>+</sup> [%]	Celecoxib	<b>48.9</b>	9.3	<b>49.3</b>	8.3	<b>48.6</b>	9.3	<b>47.5</b>	8.8	<b>46.6</b>	9.9	<b>45.5</b>	9.9
	Placebo	<b>52.3</b>	16.0	<b>55.4</b>	13.8	<b>53.5</b>	12.7	<b>53.8</b>	13.9	<b>53.8</b>	14.4	<b>54.2</b>	12.8

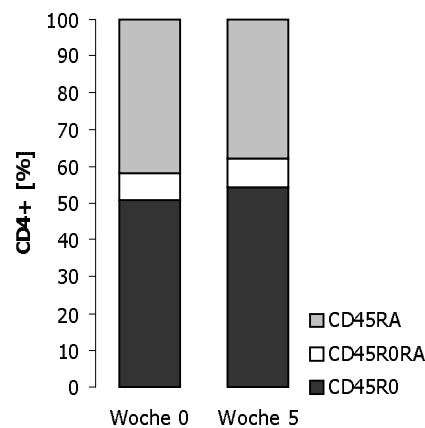
Im Behandlungsverlauf (Tab. 8) ergab sich ein Unterschied zwischen Celecoxib- und Placebogruppe (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, Zwischensubjekteffekt Gruppe:  $F=5.09$ ,  $df=1, 33$ ,  $p=0.03$ ).



**Abb. 15:** Statistik CD45RA<sup>+</sup>

Post-hoc T-Tests zeigten dann signifikant niedrigere CD45RA<sup>+</sup>-Werte nach vier- (T-Test bei unabhängigen Stichproben:  $t=1.72$ ,  $df=34$ ,  $p(\text{einseitig})=0.05$ ) und nach fünfwöchiger (T-Test bei unabhängigen Stichproben:  $t=2.28$ ,  $df=34$ ,  $p=0.03$ ) Therapie mit Celecoxib (Abb.15). Obwohl sich im Laufe der Studie also ein Gruppenunterschied ergab, war eine signifikante Gruppe-Zeit-Interaktion nicht nachweisbar (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, multivariate Tests, Pillai-Spur Zeit\*Gruppe:  $F=0.72$ ,  $df=4, 30$ ,  $p=0.59$ ).

Als Ergebnis lässt sich festhalten, dass der Anteil naiver T<sub>H</sub>-Zellen nach fünfwöchiger Celecoxibtherapie signifikant niedriger war als unter Therapie mit Placebo. In der Zusammenschau mit dem Befund der aktivierten T<sub>H</sub>-Zellen, die nur in der Behandlungsgruppe anstiegen, hat die Therapie mit Celecoxib den Aktivierungszustand von T<sub>H</sub>-Zellen insgesamt verbessert (Abb.16).



**Abb.16:** Zusammensetzung der T<sub>H</sub>-Zellen in der Behandlungsgruppe, vor und nach fünfwöchiger Celecoxibtherapie

## CD4<sup>+</sup>

Die Mittelwerte der CD4<sup>+</sup> oder T<sub>H</sub>-Lymphozyten in Prozent der Gesamtlmphozyten sind in Tabelle 9 aufgeführt.

**Tab. 9:** CD4<sup>+</sup> in Prozent der Gesamtlmphozyten

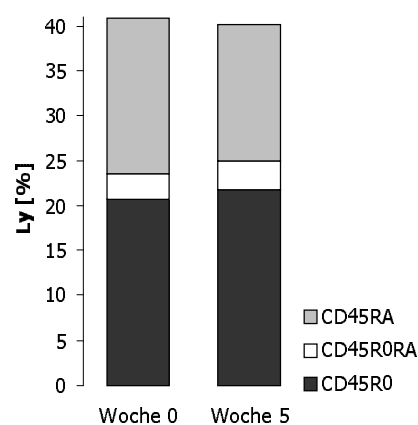
		Woche 0		Woche 1		Woche 2		Woche 3		Woche 4		Woche 5	
		<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD	<b>M</b>	SD
<b>CD4<sup>+</sup></b> von Lymphozyten [%]	Celecoxib	<b>40.7</b>	6.9	<b>41.6</b>	6.3	<b>41.7</b>	7.3	<b>42.1</b>	6.5	<b>41.5</b>	6.4	<b>40.2</b>	6.9
	Placebo	<b>42.0</b>	8.3	<b>45.5</b>	8.3	<b>44.7</b>	8.1	<b>44.6</b>	8.9	<b>43.4</b>	8.8	<b>44.7</b>	10.4

Die Daten waren normal verteilt (Kolmogorov-Smirnov mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors:  $df=36$ ,  $p=0.20$ ). Es bestand kein Gruppenunterschied zu Behandlungsbeginn (T-Test bei unabhängigen Stichproben:  $t=0.50$ ,  $df=34$ ,  $p=0.62$ ). Die multivariate Varianzanalyse zeigte keinen signifikanten Gruppenunterschied (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, Zwischensubjekteffekt Gruppe:  $F=2.97$ ,  $df=1, 33$ ,  $p=0.09$ ) und keine Gruppe-Zeit-Interaktion (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, multivariate Tests, Pillai-Spur Zeit\*Gruppe:  $F=1.03$ ,  $df=4, 30$ ,  $p=0.41$ ).

## CD45-Isoformen in Prozent der Gesamtlymphozyten

Die Bestimmung der  $CD4^+$  in Prozent der Gesamtlymphozyten ermöglichte die Berechnung der CD45-Isoform in Prozent der Gesamtlymphozyten. Bei statistischer Betrachtung der umgerechneten Werte, lieferte der Vergleich von Celecoxib- und Placebogruppe ähnliche Ergebnisse wie für die direkt gemessenen CD45-Isoformen: Im Behandlungsverlauf zeigte sich ein signifikanter Gruppenunterschied bei den  $CD45RA^+$  (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, Zwischensubjekteffekt Gruppe:  $F=6.33$ ,  $df=1, 33$ ,  $p=0.02$ ) und kein Effekt bei den  $CD45R0^+$  (Kovarianzanalyse mit Messwiederholung, Zwischensubjekteffekt Gruppe:  $F=0.01$ ,  $df=1, 33$ ,  $p=0.91$ ).

Innerhalb der Celecoxibgruppe blieb ein Anstieg der  $CD45R0^+$  und ein Rückgang der  $CD45RA^+$  bei Betrachtung der reinen Mittelwerte bestehen (Abb. 18).



**Abb.18:** Zusammensetzung der  $T_H$ -Zellen in der Celecoxibgruppe, dargestellt in Prozent der Gesamtlymphozyten.

Beide Effekte waren allerdings bei statistischer Auswertung nicht signifikant. ( $CD45R0^+$ : einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung, Innersubjekteffekt Zeit, Greenhouse-

Geisser korrigiert:  $F=0.85$ ,  $df=3.2$ ,  $50$ ,  $p=0.48$ ;  $CD45RA^+$ : einfaktorische Varianzanalyse mit Messwiederholung, Innersubjekteffekt Zeit, Sphärizität angenommen:  $F=1.15$ ,  $df=5$ ,  $80$ ,  $p=0.34$ ).

Die unterschiedlichen Darstellungen der  $CD45$ -Isoform sind also nur bedingt vergleichbar. Grundlage der weiteren Auswertung dieser Arbeit waren die direkt gemessenen Werte der  $CD45$ -Isoform in Prozent der  $CD4^+$ .

### 3.5 Korrelation Psychopathologie-Immunologie

Um festzustellen, ob bei Patienten unter Celecoxibtherapie ausgeprägte immunologische Veränderungen mit besonders guter Besserung der Psychopathologie einhergingen, wurden Differenzen – Ausgangswert minus Behandlungswert – der immunologischen Parameter mit Differenzen der PANSS gesamt korreliert

**Tab.10:** Wochenweise Korrelation von Veränderungen der Immunologie und Psychopathologie

	<b>Δ PANSS gesamt</b>									
	Woche 1		Woche 2		Woche 3		Woche 4		Woche 5	
	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>
<b>Δ sIL-2R</b>	<b>0.03</b>	0.89	<b>-0.17</b>	0.46	<b>-0.35</b>	0.12	<b>-0.39</b>	0.08	<b>-0.34</b>	0.13
<b>Δ CD45R0<sup>+</sup></b>	<b>-0.02</b>	0.99	<b>-0.65</b>	0.00*	<b>-0.29</b>	0.27	<b>0.05</b>	0.85	<b>-0.05</b>	0.85
<b>Δ CD45RA<sup>+</sup></b>	<b>0.00</b>	0.99	<b>0.67</b>	0.00*	<b>0.26</b>	0.31	<b>0.04</b>	0.89	<b>0.08</b>	0.77

Wochenweise Korrelation dieser Differenzen (Tab.10) ergab einen signifikanten Zusammenhang von Veränderungen der Gesamtskala und der  $CD45$ -Isoformen in Woche zwei. Der Rückgang in der PANSS gesamt war zu diesem Zeitpunkt mit einem Anstieg der  $CD45R0^+$ -Zellen und einem Rückgang der  $CD45RA^+$ -Zellen assoziiert. Für alle anderen Zeitpunkte verfehlten die Korrelationen signifikantes Niveau.

Schließlich wurden noch die Differenzen zum Zeitpunkt des jeweils stärksten Celecoxibeffekts eines Parameters korreliert. Für die Psychopathologie war das die Woche drei, für die Immunologie die Woche fünf. Ziel war, ganz allgemein zu klären, ob Patienten, die immunologisch besonders gut auf Celecoxib respondierten, auch psychopathologisch stärkere Veränderungen zeigten. Die Berechnung ergab allerdings keine signifikanten Effekte (Tab.11).

**Tab.11:** Korrelation der jeweils stärksten Veränderung von Immunologie und Psychopathologie

		<b>Δ PANSS gesamt</b>	
		Woche 3	
		<b>r</b>	<b>p</b>
<b>Δ sIL-2R</b>		<b>-0.19</b>	0.40
<b>Δ CD45R0<sup>+</sup></b>	Woche 5	<b>-0.13</b>	0.62
<b>Δ CD45RA<sup>+</sup></b>		<b>0.29</b>	0.26

## 4 Diskussion

### 4.1 Psychopathologie

Der Effekt einer add-on Therapie mit Celecoxib bei Schizophrenie zeigte sich in einer schnelleren Verbesserung der Psychopathologie im Vergleich zu einer Behandlung mit Risperidon allein. Entscheidend für den Nachweis der Wirksamkeit von Celecoxib war, eine pharmakokinetische Interaktion mit Risperidon auszuschließen. Risperidon wird hepatisch über CYP 2D6 und CYP 3A4 metabolisiert (DeVane und Nemeroff, 2001). Der Abbau von Celecoxib erfolgt vorwiegend über CYP 2C9 (Tang et al., 2000), aber auch Interaktionen mit Substraten von CYP 2D6 sind beschrieben worden (Werner et al., 2003). Die Kontrolle von Risperidon und dem aktiven Metaboliten 9-Hydroxy-Risperidon in Behandlungs- und Placebogruppe ergab zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Gruppenunterschied. So scheidet eine pharmakokinetische Beeinflussung von Risperidon zur Erklärung der günstigen Celecoxibeffekte aus.

Celecoxib hat also eine eigenständige antipsychotische Wirkung, die messbar war zusätzlich zu einer Therapie mit dem bewährten und sehr breit auf alle PANSS Skalen wirksamen Neuroleptikum Risperidon (Glick et al., 2001). Da bei einer Kombination von Medikamenten die gemeinsame Wirkung in aller Regel nicht einer Addition der Einzelwirkungen entspricht, lässt sich auch die Celecoxibwirkung wohl nicht auf die einfache Differenz von Behandlungs- und Kontrollgruppe reduzieren. Obwohl ein Gruppenunterschied nur in der Gesamtskala der PANSS signifikant war, könnten sich auch in den Unterskalen relevante Celecoxibeffekte verbergen. Gemessen am Zwischensubjekteffekt Gruppe der PANSS-Unterskalen zeigte die Skala der Allgemeinpsychopathologie den ausgeprägtesten Gruppenunterschied. In der Positivskala war der Effekt am geringsten. Möglicherweise ist in dieser Skala die Überschneidung mit dem Wirkungsprofil von Risperidon besonders deutlich, ist doch die akute Behandlung von produktiven Symptomen klassische Zielsymptomatik der D<sub>2</sub>-Rezeptor blockierenden Neuroleptika. Risperidon hat zusätzlich antiserotonerge Eigenschaften und zeigt gute Wirksamkeit auch auf die Negativsymptomatik (Carman et al., 1995). Damit ist für die Negativskala eine Wirkungskonkurrenz ebenfalls denkbar. Aus der potentiellen Überschneidung der Wirkungsspektren beider Medikamente geht hervor, dass eine exakte

Quantifizierung der antipsychotischen Celecoxibwirkung im Rahmen des add-on Studiendesigns nicht möglich ist.

Eine Celecoxibmonotherapie wäre aus wissenschaftlichen Erwägungen wünschenswert. Schizophrenen Patienten eine erwiesenermaßen wirksame Therapie mit Neuroleptika vorzuenthalten, lässt sich allerdings auch mit den Ergebnissen dieser Untersuchung nicht rechtfertigen. Neben der Frage nach der eigenständigen Potenz von Celecoxib fehlen etwa Erfahrungen über einen längeren Behandlungszeitraum. Zugunsten engmaschiger und umfangreicher Diagnostik war die Studie mit einer Dauer von fünf Wochen auf die Beurteilung akuter Effekte beschränkt. Offen blieb, ob sich die Wirkung auf dem Niveau von Woche vier erschöpft, oder ob Celecoxib, wie die meisten Neuroleptika, eine Bedeutung bei der Rezidivprophylaxe oder Verhinderung von Residualzuständen hat.

Ebenfalls unklar ist die Frage nach der optimalen Dosierung. Für rheumatoide Arthritis und Osteoarthritis sind Dosen von zweimal täglich 100mg bis 400mg erprobt (Deeks et al., 2002). Für den Einsatz bei Erkrankungen des ZNS liegen keine breiten klinischen Erfahrungen vor und eine direkte Übertragbarkeit der genannten Dosierungen bleibt fraglich. Im Tierexperiment lag die Dosierung von Celecoxib zur Beeinflussung der zerebralen COX-2 unter der bei Arthritis benötigten Menge (Ciceri et al., 2002). Daneben scheint eine höhere Dosis nicht zwangsläufig mit einer besseren Wirkung einherzugehen, es gibt sogar Hinweise, dass bei hoher Dosierung durch Induktion proinflammatorischer Gentranskription ein Wirkungsverlust von Celecoxib eintritt (Niederberger, et al., 2001). Die günstigen Effekte von Celecoxib bei der Behandlung der Schizophrenie lassen sich also durch Änderungen im Therapieregime möglicherweise noch optimieren.

## 4.2 Immunologie

Die Hypothese der Arbeit geht von einer Aktivierung der spezifisch zellulären Abwehr im Therapieverlauf aus. Die Auswertung ergab einen Anstieg des sIL-2R unter Celecoxib. Zusätzlich war eine Änderung der Zusammensetzung der T<sub>H</sub>-Zellen hinsichtlich der CD45-Isoform nachweisbar. Der Anteil naiver, CD45RA<sup>+</sup>-Zellen war nach fünf Wochen in der Celecoxibgruppe signifikant niedriger als unter Placebo. Der Anteil aktivierter, CD45R0<sup>+</sup>-Zellen stieg nur in der Celecoxibgruppe signifikant an. Obwohl der zuletzt genannte Effekt aus statistischer Sicht nur bedingt verwertbar ist, da sich im globalen Test kein Unterschied zur Placebogruppe ergab, war in der Zusammenschau der Ergebnisse eine Aktivierung des



T<sub>H</sub>-Systems und der spezifisch zellulären Abwehr unter Celecoxibtherapie deutlich nachweisbar.

Die Gesamtzahl der T<sub>H</sub>-Zellen blieb dabei statistisch konstant. Nach Umrechnung der CD45-Isoform in Prozent der Gesamtlmphozyten war die Aktivierung des T<sub>H</sub>-Systems jedoch weniger ausgeprägt. Allerdings erscheint für den Funktionszustand der T<sub>H</sub>-Zellen das Verhältnis aus CD45RA zu CD45R0 aussagekräftiger als die Angabe in Prozent der Gesamtlmphozyten, da mit einer Erweiterung des Bezugssystems auch die Anzahl an Stör- und Einflussgrößen wächst. Die weitere Diskussion bezieht sich daher auf die in Prozent der T<sub>H</sub>-Zellen gemessenen CD45-Isoformen.

Im Behandlungsverlauf war die Verbesserung der spezifisch zellulären Abwehr ein kontinuierlicher Prozess, der allerdings erst nach vier bis fünf Wochen signifikante Veränderungen brachte. Ein vergleichsweise langer Zeitraum, denn in anderer Indikation erreicht Celecoxib maximale klinische Wirksamkeit bereits nach zwei Wochen (Simon et al., 1999) und der sIL-2-R war bei Therapie einer peripheren Entzündung mit einem COX-Hemmer bereits nach vier Tagen signifikant erhöht (Josten, et al., 1991). Mögliche Erklärung für die relativ langsame Veränderung ist, dass sich der mutmaßliche Entzündungsprozess bei Schizophrenie im ZNS abspielt, also durch die Blut-Hirn-Schranke von der Messstelle, dem peripheren Blut, getrennt. Bei einer anderen Erkrankung des ZNS, der Multiplen Sklerose, die auch mit Veränderungen des sIL-2R und der CD45<sup>+</sup> T<sub>H</sub>-Zellen im peripheren Blut einhergeht (Sivieri et al., 1998; Zaffaroni et al. 1990) fiel auf, dass der gleichzeitig im Liquor bestimmte sIL-2R nicht zwangsläufig mit Werten aus dem peripheren Blut korreliert (Gallo et al., 1991; Sivieri et al., 1998). Man muss daher davon ausgehen, dass die im peripheren Blut gemessenen Ereignisse nicht exakt das zentrale Geschehen abbilden. Denkbar ist eine zeitliche Verzögerung der Effekte, was die relativ lange Zeit bis zur signifikanten Response der immunologischen Daten unter Celecoxib erklären könnte. Das allerdings ist spekulativ und die Messung im peripheren Blut stellt einen methodischen Kompromiss zugunsten einer einfach und regelmäßig durchführbaren Diagnostik dar. Eine Liquoruntersuchung aus wissenschaftlichem Interesse ist sicherlich erst nach weiterer Bestätigung und Optimierung der Celecoxibtherapie gerechtfertigt.

Nicht klären ließ sich die Frage, ob die spezifisch zelluläre Abwehr der Patienten zu Therapiebeginn tatsächlich supprimiert war. Dazu fehlte der Vergleich mit gesunden Kontrollen. Wie einleitend ausgiebig dargestellt, spricht die Zusammenschau vieler Einzelbefunde anderer Studien für ein geschwächtes zelluläres Immunsystem bei Schizophrenie.

Für die Bestimmung des sIL-2R, der einer deutlichen Beeinflussung durch antipsychotische Vorbehandlung unterliegt, wäre eine längere Auswaschperiode vorbehandelter Patienten wünschenswert. In Anbetracht der Therapienotwendigkeit einer akuten Psychose ist eine mehrwöchige Behandlungspause allerdings nicht realisierbar. Statistisch war ein relevanter Einfluss einer vorangegangenen Neuroleptikatherapie auf den Ausgangswert des sIL-2R nicht nachweisbar.

Sollten einzelne Patienten dennoch bereits zu Studienbeginn eine Aktivierung der spezifisch zellulären Immunität aufweisen, so ist der anschließende Anstieg umso bemerkenswerter und unterstreicht die aktivierende Wirkung von Celecoxib. Hier zeigt sich, dass das reine Ausgangsniveau zur Beurteilung der Celecoxibwirkung auf das Immunsystem nur von untergeordneter Bedeutung ist.

### **4.3 Zusammenspiel Psychopathologie-Immunologie**

Zwei wesentliche Effekte der Celecoxibtherapie, Verbesserung der Psychopathologie und Stärkung der spezifisch zellulären Immunität, sind die bisher diskutierten Ergebnisse dieser Arbeit. Die zentrale Frage allerdings war, ob zwischen diesen Befunden ein Zusammenhang besteht. Um dieser Frage nachzugehen, wurden in der Behandlungsgruppe die immunologischen Daten mit der PANSS Gesamtskala korreliert. Die dabei verwendeten Differenzen stehen für die Veränderung eines Parameters zu einem bestimmten Zeitpunkt. Eine signifikante Korrelation, so die Überlegung, müsste sich einstellen, falls die Patienten, die unter Celecoxibtherapie eine ausgeprägte Immunaktivierung zeigten, auch besonders gute antipsychotische Responder waren.

Allerdings offenbarten sich auch bei dieser Auswertung die Schwächen des add-on Studiendesigns, denn die Differenzen der PANSS sind, wie weiter oben bereits diskutiert, nicht gleichzusetzen mit der reinen Celecoxibwirkung. Für die Immunologie, die von der Risperidontherapie statistisch weitgehend unbeeinflusst blieb, beschreiben die Differenzen den Celecoxibeffekt. Die berechneten Korrelationen vergleichen demnach reine Celecoxibeffekte der Immunologie mit kombinierten Celecoxib- und Risperidoneffekten der Psychopathologie. Da jedoch die add-on Celecoxibtherapie signifikante antipsychotische Wirkung hatte, müsste sich diese auch in den Differenzen und weiter in den Korrelationen zumindest in diskreter Form wieder finden.

Bei den berechneten Werten bestand in Woche zwei für die CD45-Isoform eine Korrelation von Verbesserung der T<sub>H</sub>-Aktivierung mit dem Rückgang der

Psychopathologie. Alle weiteren Zeitpunkte verfehlten allerdings weit ein signifikantes Niveau. Das isolierte Auftreten dieser Korrelation macht den Effekt schwer interpretierbar, zumal die Wirkungen der Celecoxibbehandlung bei der Immunologie erst in Woche vier und fünf signifikant wurden. Von einem relevanten Effekt würde man erwarten, dass er zu diesem Zeitpunkt zumindest in Ansätzen noch nachweisbar ist.

Um schließlich der Erkenntnis Rechnung zu tragen, dass immunologische Veränderungen im peripheren Blut möglicherweise erst mit einer Verzögerung messbar werden, wurden die Zeitpunkte mit den jeweils stärksten Veränderungen korreliert. Für die PANSS war das die Woche drei, für die Immunologie die Woche fünf. Dabei fanden sich keine signifikanten Effekte.

Das bedeutet, dass Patienten, die immunologisch gut auf Celecoxib respondierten, offensichtlich nicht die Patienten waren, die auch besonders ausgeprägte Verbesserungen bei der Psychopathologie aufwiesen. Ein Zusammenhang von Behandlung, Immunologie und Psychopathologie im Sinne der Hypothese lässt sich daher nicht herstellen. Die Auswertung der Korrelationen spricht eher dafür, dass es sich bei den Veränderungen der spezifisch zellulären Immunität um ein Epiphänomen neben der antipsychotischen Celecoxibwirkung handelt. Mit absoluter Sicherheit verwerfen lässt sich die Ausgangshypothese allerdings nicht, da mit dem add-on Therapieregime und der peripheren Messung der Immunologie methodische Schwächen bestanden, deren Einfluss sich nicht vollständig kontrollieren ließ. Dennoch gibt dieses Ergebnis Anlass, nach Alternativen zu suchen, um die antipsychotische Wirkung von Celecoxib zu erklären.

## 4.4 Alternative Wirkmechanismen

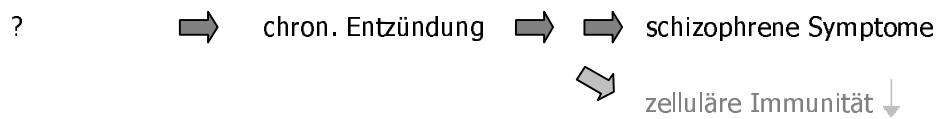
In der einleitend entwickelten Hypothese wurde die supprimierte zelluläre Immunität als Ausgangspunkt und Ursache einer chronischen Entzündung diskutiert, die dann schizophrene Symptome verursacht (Abb.19).

zelluläre Immunität ↓ ➡ chron. Entzündung ➡ ➡ schizophrene Symptome

**Abb.19:** Kausalkette im Sinne der Ausgangshypothese

Möglicherweise ist die Kausalkette eine andere. Eine chronische Entzündung führt zu schizophrenen Symptomen und unterdrückt prostaglandinvermittelt die zelluläre

Immunität (Abb.20). Damit wäre die bei Schizophrenen beobachtete insuffiziente zelluläre Immunität und deren Beeinflussung durch Celecoxib ein Epiphänomen, so wie es die Auswertung der Studie nahe legt.



**Abb.20:** Kausalkette mit Psychopathologie und zellulärer Immunität als unabhängige Faktoren

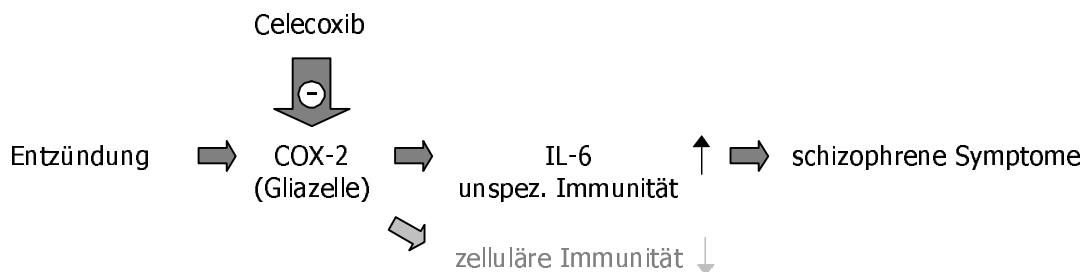
Weiter stellt sich die Frage, wie Celecoxib in einem solchen Modell Einfluss auf die Psychopathologie nehmen kann.

Celecoxib hemmt selektiv die COX-2. Im Gehirn wird die COX-2 unter anderem von Mikroglia (Bauer et al., 1997), aber auch von Neuronen (Kaufmann et al., 1997) exprimiert. Daraus werden im Folgenden zwei unterschiedliche Modelle entwickelt, wie die Celecoxibwirkung vermittelt sein könnte, ein antiinflammatorisches Modell durch Hemmung der mikroglialen COX-2 und ein neuroprotektives Modell durch Hemmung der neuronalen COX-2.

## Antiinflammatorisches Modell

Ohne hier näher auf mögliche Ursachen einzugehen, gibt es Anzeichen für einen Entzündungsprozess im ZNS schizophrener Patienten. Einleitend wurden bereits die erhöhten PG-Konzentrationen im Liquor erwähnt (Mathé et al., 1980). Daneben fand sich aktivierte Mikroglia im Gehirn verstorbener Schizophrener (Bayer et al., 1999; Radewicz et al., 2000). Da diese Zellen nach Stimulation COX-2 exprimieren (Bauer et al., 1997), sind sie möglicher Ursprung des im Liquor gefundenen PG. PGE<sub>2</sub> ist dabei das von Mikroglia nach Aktivierung bevorzugt produzierte PG (Slepko et al., 1997). Über die Beeinflussung der Zytokinsekretion angrenzender Zellen moduliert es die Abwehrreaktion mittels anti- und proinflammatorischer Effekte: PGE<sub>2</sub> supprimiert, wie einleitend beschrieben, den spezifischen Arm des Immunsystems auch im ZNS (Aloisi et al., 2000). Andererseits hat PGE<sub>2</sub> stark aktivierende Wirkung auf die unspezifische Abwehrreaktion. Dieser Teil des Immunsystems und insbesondere IL-6, ein wichtiges Zytokin dieser Abwehr, stehen im Zentrum des antiinflammatorischen Modells zur Celecoxibwirkung. PGE<sub>2</sub> steigert die Sekretion von IL-6 in Makrophagen (Williams et al., 2000), im Gehirn bilden zusätzlich Astrozyten IL-6 unter dem Einfluss von PGE<sub>2</sub> (Fiebich et al., 2001). Eine

Entzündung kann also im ZNS über Mikrogliaaktivierung, COX-2-Expression und PGE<sub>2</sub> schließlich zum Anstieg der IL-6-Produktion führen. IL-6 ist nach peripherer Gabe bei Mäusen in der Lage, die Dopaminaktivität im Hippokampus und präfrontalen Cortex zu erhöhen (Zalcman et al., 1994). Damit ergibt sich eine Verbindung zum derzeit gängigsten Modell zur Erklärung schizophrener Symptome, der Dopaminhypothese. Über diese Verbindung ließe sich auch die Wirkung von Celecoxib erklären. Selektive Hemmung der COX-2 vermindert die PGE<sub>2</sub> und die IL-6-Konzentration im entzündeten ZNS (Kyrkanides et al., 2002), was möglicherweise zu einer Verringerung der Dopaminaktivität führt. Antiinflammatorische Mechanismen könnten auf diese Weise eine antipsychotische Wirkung entfalten (Abb.21).



**Abb.21:** Antiinflammatorisches Modell zur Celecoxibwirkung

Interessant ist, dass sich bei schizophrenen Patienten erhöhte IL-6 Konzentrationen im peripheren Blut (Ganguli et al., 1994b; Kaminska et al, 2001; van Kammen et al., 1999; Maes et al., 1994; Naudin et al., 1996; 1997) und bei einer Untergruppe von Patienten im Liquor (Garver et al., 2003) fanden. Im Gegensatz zur supprimierten spezifischen Immunität, scheint das unspezifische Immunsystem schizophrener Patienten Zeichen einer Aktivierung aufzuweisen. Um zu überprüfen, ob das hier entwickelte Modell bei der antipsychotischen Celecoxibwirkung eine Rolle spielt, wäre die Korrelation von Psychopathologie und unspezifischen Abwehrprozessen, etwa der Liquorkonzentration von IL-6, von Bedeutung.

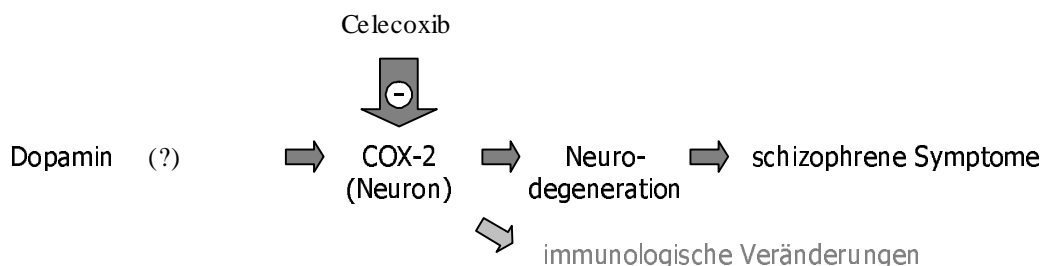
## Neuroprotektives Modell

Bisher standen Teile des Immunsystems und eine vermutete Entzündung im Mittelpunkt aller Überlegungen. Denkbar ist allerdings auch ein primär nicht immunologisch-entzündlicher Mechanismus. Ausgangspunkt dieser Überlegung ist, dass die COX-2 auf Nervenzellen im Gehirn, im Gegensatz zu den meisten anderen Organen, auch unter physiologischen Bedingungen exprimiert wird (Kaufmann et al., 1997). Die basale COX-2-Expression legt nahe, dass es einen physiologischen, primär nicht immunologischen

Stimulus für die COX-2 geben muss. Hauptsächlich scheint dafür Glutamat über die Stimulation von NMDA-Rezeptoren verantwortlich (Yamagata et al., 1993). Aber auch Dopamin ist in der Zellkultur in der Lage, über D<sub>2</sub>-Rezeptoren die COX-2 zu stimulieren (Hellstrand et al., 2002). Unter physiologischen Umständen hat die COX-2 im Gehirn Schutz- und Reparaturfunktion, bei pathologischer Erhöhung der Expression bewirkt sie die Apoptose von Nervenzellen (Graham und Hickey, 2003). Dabei können auch Stoffwechselprodukte von Dopamin eine wichtige Rolle spielen: Dopamin kann über die Peroxidaseaktivität ausgerechnet der COX-2 zu reaktiven Dopamin-Quinonen oxidiert werden (Hastings, 1995). Dopamin-Quinone haben ausgeprägt neurodegenerative Wirkungen, unter anderem durch Stimulation von NMDA-Rezeptoren zur weiteren Induktion der COX-2-Expression (Smythies, 1997).

Es ist also denkbar, dass Dopamin über die Induktion von COX-2 neurotoxisch wirkt. Möglicherweise spielt dabei ein bestimmtes Prostaglandin, 15d-PGJ<sub>2</sub>, eine entscheidende Rolle, da es direkt neuronale Apoptose verursachen kann (Rohn et al., 2001). Sicher scheint zu sein, dass die selektive Hemmung der COX-2, zum Beispiel durch Celecoxib, in der Lage ist, den neuronalen Zelltod zu verhindern und auf diesem Weg neuroprotektiv zu wirken (Figueiredo-Pereira et al., 2002; Hewett et al., 2000). Dieser Schutz vor Neurodegeneration wurde zum Beispiel als günstig bei der Behandlung von Alzheimer diskutiert (Giovannini et al., 2003).

Fraglich ist nun, ob die geschilderten Prozesse im Rahmen der Schizophrenie von Bedeutung sind. Das mutmaßliche Modell sieht etwa so aus, dass eine COX-2-Überexpression, möglicherweise dopamininduziert, durch ihre neurodegenerative Wirkung an der Entstehung schizophrener Symptome beteiligt ist (Abb.22).



**Abb.22:** Neuroprotektives Modell zur Celecoxibwirkung

Eine neurodegenerative Komponente bei schizophrenen Patienten ist mehrfach beschrieben worden (Übersicht: Arnold und Trojanowski 1996). Veränderungen finden sich unter anderem in Teilen des limbischen Systems und des frontalen Cortex. In diesen Regionen enden auch dopaminerge mesolimbisch-mesokortikale Bahnen und eine dopamininduzierte

COX-2 Expression als Auslöser der Neurodegeneration dieser Bereiche erscheint möglich, ein direkter Nachweis dafür existiert bisher allerdings nicht. Kommt es jedoch zu einer COX-2-Überexpression speziell in Hippokampus, Amygdala und Teilen des Cortex, zeigen Mäuse zunehmend neurodegenerative Prozesse und kognitive Defizite (Andreasson et al., 2001). Besonders im Rahmen chronischer Krankheitsverläufe treten auch bei Schizophrenie kognitive Störungen auf, daneben finden sich gerade bei diesen Verläufen häufig Anzeichen einer Neurodegeneration (Henn und Braus, 1999). Der neuronale Schaden scheint dabei schon zu Beginn einer akuten Krankheitsexarzbation zu entstehen, denn ein fortschreiten von Neurodegeneration wurde vor allem während der Übergangsphase zur akuten Psychose beobachtet (Velakoullis et al., 2000). Gleichzeitig kann eine möglichst frühzeitige neuroleptische Therapie während der akuten Erkrankungsphase die Ausbildung kognitiver Beeinträchtigungen teilweise verhindern (Amminger et al., 2002). Diese neuroprotektive Wirkung von Neuroleptika ließe sich aus dem einfachen Schema (Abb.22) erklären: Ein Dopaminantagonist verhindert die COX-2-Induktion und dadurch die Neurodegeneration. Beim Einsatz eines COX-Hemmers würde man in Anlehnung an dieses Schema einen vermutlich noch rascheren und effektiveren Schutz erwarten.

Unter Celecoxib konnte man vor allem eine raschere Verbesserung der akuten schizophrenen Symptomatik beobachten. Möglicherweise nimmt die Therapie über eine neuroprotektive Komponente auch einen günstigen Einfluss auf die weitere Entwicklung der Erkrankung. Ein langfristiges Behandlungsregime und die Beobachtung von Residualsymptomen erscheinen unter diesen Gesichtspunkten viel versprechend.

## **4.5 Ausblick**

Der Nachweis, dass der COX-2-Hemmer Celecoxib bei Schizophrenie positive Wirkung hat, ist zentrales Ergebnis der Studie. Einblicke in den Wirkmechanismus zu erlangen ist dagegen nur teilweise gelungen. Die Ausgangshypothese, wonach die Beeinflussung der zellulären Immunität der wesentliche Grund der antipsychotischen Celecoxibwirkung sei, hat sich so nicht bestätigt. Allerdings sind die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Modelle sicher zu schematisch und eindimensional um die komplexen Vorgänge der Psychoimmunologie zu beschreiben. Viel wahrscheinlicher ist, dass eine Kombination verschiedener Komponenten die Celecoxibwirkung ausmacht. Zusätzlich legt die Heterogenität von Psychose und Immunsystem nahe, dass der Therapieeffekt individuell

ganz unterschiedlich zustande kommt. Manche Patienten profitieren deshalb vermutlich stärker von der Celecoxibtherapie als andere. Um diese vielen Einflüsse differenzieren zu können, sind Studien an einer größeren Anzahl von Patienten und über einen längeren Zeitraum notwendig.

Aber nicht nur aus wissenschaftlichen Erwägungen über den genauen Wirkmechanismus, sondern vor allem um die günstigen Effekte für die Patienten weiter auszubauen, sollte der Befund antipsychotischer Potenz eines COX-2-Hemmers weiter erforscht werden. Neben der akuten Wirkung, die sich vermutlich durch Optimierung des Therapieregimes noch verbessern lässt, sind besonders langfristige Effekte, beispielsweise bei der Rezidivprophylaxe oder Prognoseverbesserung von Interesse.

Diese erste Studie zum Einsatz eines COX-2-Hemmers bei Schizophrenie hat einen Einblick in die Möglichkeiten einer solchen Therapie gegeben. Obwohl viele Fragen noch unbeantwortet blieben, hat sich ein bemerkenswerter Befund ergeben. Diesen Befund zu konkretisieren und für die klinische Praxis nutzbar zu machen sollte Ziel weiterer Studien sein.



## 5 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen einer klinischen Studie zur Behandlung schizophrener Patienten mit dem COX-2-Hemmer Celecoxib. Grundlage einer Therapie der Schizophrenie mit einem primär immunmodulierenden Medikament bilden zahlreiche Beobachtungen von Auffälligkeiten des Immunsystems bei schizophrenen Patienten. Die Bedeutung dieser Veränderungen ist bisher weitgehend unklar, psychoimmunologische Erkenntnisse sprechen allerdings für eine enge Verknüpfung von Abwehrsystem und Psyche.

Immunologischen Schwerpunkt der Arbeit bildet das spezifisch zelluläre Immunsystem. Schizophrene Patienten weisen eine Schwäche in diesem Teil der Körperabwehr auf. Der COX-2-Hemmer Celecoxib ist dagegen in der Lage das spezifisch zelluläre Immunsystem zu aktivieren.

Die Hypothese geht nun von einer Verknüpfung der immunologischen und psychopathologischen Veränderungen aus. Eine Aktivierung der insuffizienten spezifisch zellulären Abwehr durch Celecoxib müsste unter dieser Annahme Einfluss auf die Symptome der Schizophrenie nehmen.

Zur Überprüfung der Hypothese wurden im Rahmen einer klinischen Studie 50 Patienten mit akut exazerbierter Schizophrenie mit Celecoxib oder Placebo behandelt, zusätzlich zu einer gängigen antipsychotischen Therapie mit Risperidon. Über einen Zeitraum von fünf Wochen wurden psychopathologische Veränderungen unter Verwendung der PANSS erfasst. Zur Charakterisierung der spezifisch zellulären Immunität wurden der sIL-2R aus dem Serum mittels ELISA und die Oberflächenmerkmale CD45RA und CD45R0 auf T<sub>H</sub>-Zellen mittels Durchflusszytometrie bestimmt.

Die mit Celecoxib behandelten Patienten zeigten im Vergleich zur Kontrollgruppe eine raschere Remission der schizophrenen Symptomatik. Immunologisch war unter Celecoxibtherapie eine Aktivierung sowohl bei den Oberflächenmerkmalen CD45RA und CD45R0, als auch beim sIL-2R nachweisbar. Die Korrelation von Psychopathologie und Immunologie legte allerdings nahe, dass es sich um voneinander unabhängige Effekte handelte. Eine Verbindung im Sinne der Hypothese ließ sich also nicht ableiten.

Die antipsychotische Wirkung von Celecoxib ist das zentrale Ergebnis der Studie. Wie dieser Effekt zustande kommt, blieb dagegen weitgehend ungeklärt. Alternativ zur Ausgangshypothese ist denkbar, dass primär antiinflammatorische oder neuroprotektive

Wirkmechanismen beteiligt sind. Dies zu klären und den bemerkenswerten klinischen Effekt für die Patienten zu optimieren sollte Ziel weiterer Studien sein.

## 6 Literaturverzeichnis

Abbas AK, Lichtman AH, Jordan SP (1996) Immunologie. Bern, Göttingen, Toronto, Seattle Huber Verlag

Aloisi F, Serafini B, Adorini L (2000) Glia-T cell dialogue. *J Neuroimmunol* 107: 111-117

Amminger GP, Edwards J, Brewer WJ, Harrigan S, McGorry PD (2002) Duration of untreated psychosis and cognitive deterioration in first-episode schizophrenia. *Schizophr Res* 54: 223-230

Anastassiou ED, Paliogianni F, Balow P, Yamada H, Dimitrios TB (1992) Prostaglandin E<sub>2</sub> and other cyclic AMP-elevating agents modulate IL-2 and IL-2R $\alpha$  gene expression at multiple levels. *J Immunol* 148: 2845-2852

Andreasson KI, Savonenko A, Vidensky S, Goellner JJ, Zhang Y, Shaffer A, Kaufmann WE, Worley PF, Isakson P, Markowska AL (2001) Age-dependent cognitive deficits and neuronal apoptosis in cyclooxygenase-2 transgenic mice. *J Neurosci* 21: 8198-8209

Arnold SE, Trojanowski JQ (1996) Recent advances in defining the neuropathology of schizophrenia. *Acta Neuropathol (Berl)* 92: 217-231

Arolt V, Rothermundt M, Wandinger KP, Kirchner H (2000) Decreased in vitro production of interferon-gamma and interleukin-2 in whole blood of patients with schizophrenia during treatment. *Mol Psychiatry* 5: 150-158

Baker PE, Fahey JV, Munck A (1981) Prostaglandin inhibition of T-cell proliferation is mediated at two levels. *Cell Immunol* 61: 52-61

Bauer KA, Lieb K, Schulze-Osthoff K, Berger M, Gebick-Haerter PJ, Bauer J, Fiebich BL (1997) Expression and regulation of cyclooxygenase-2 in rat microglia. *Eur J Biochem* 243: 726-731

Bayer TA, Buslei R, Havas L, Falkai P (1999) Evidence for activation of microglia in patients with psychiatric illnesses. *Neurosci Lett* 271: 126-128

Becker D, Kritschmann E, Floru S, Shlomo-David Y, Gotlieb-Stematsky T (1990) Serum interferon in first psychotic attack. *Br J Psychiatry* 157: 136-138

Bessler H, Levental Z, Karp L, Modai I, Djaldetti M, Weizman A (1995) Cytokine production in drug-free and neuroleptic-treated schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 38: 297-302

Betz M, Fox BS (1991) Prostaglandin E<sub>2</sub> inhibits production of T<sub>H1</sub> lymphokines but not of T<sub>H2</sub> lymphokines. *J Immunol* 146: 108-113

Beverley PC (1992) Functional analysis of human T cell subsets defined by CD45 isoform expression. *Semin Immunol* 4: 35-41

Bühl A, Zöfel P (2000) *SPSS Version 9: Einführung in die moderne Datenanalyse unter Windows*. 6. Auflage Addison-Wesley

Carman J, Peuskens J, Vangeneugden A (1995) Risperidon in the treatment of negative symptoms of schizophrenia: a meta-analysis. *Int Clin Psychopharmacol* 10: 207-213

Cazzullo CL, Saresella M, Roda K, Calvo MG, Bertrando P, Doria S, Clerici M, Salvaggio A, Ferrante P (1998) Increased levels of CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>45RA<sup>+</sup> lymphocytes in schizophrenic patients. *Schizophr Res* 31: 49-55

Chen N, Retivo A, Reiss CS (2002) Selective inhibition of COX-2 is beneficial to mice infected intranasally with VSV. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 67: 143-155

Ciceri P, Zhang Y, Shaffer AF, Leahy KM, Woerner MB, Smith WG, Seibert K, Isakson PC (2002) Pharmacology of celecoxib in rat brain after kainate administration. *J Pharmacol Exp Ther* 302: 846-852

Deeks JJ, Smith LA, Bradley D (2002) Efficacy, tolerability, and upper gastrointestinal safety of celecoxib for treatment of osteoarthritis and rheumatoid arthritis: systematic review of randomised controlled trials. *BMJ* 325: 619

Demeure CE, Yang LP, Desjardins C, Raynauld P, Delespesse G (1997) Prostaglandin E<sub>2</sub> primes naive T cells for the production of anti-inflammatory cytokines. *Eur J Immunol* 27: 3526-3531

DeVane CL, Nemeroff CB (2001) An evaluation of risperidone drug interactions. *J Clin Psychopharmacol* 21: 408-416

Edwards CK 3rd, Hedegaard HB, Zlotnik A, Gangadharam PR, Johnston RB Jr, Pabst MJ (1986) Chronic infection due to mycobacterium intracellulare in mice: association with macrophage release of prostaglandin E<sub>2</sub> and reversal by injection of indomethacin, muramyl dipeptide, or interferon-gamma. *J Immunol* 136: 1820-1827

Fiebich BL, Schleicher S, Spleiss O, Czygan M, Hull M (2001) Mechanism of prostaglandin E<sub>2</sub>-induced interleukin-6 release in astrocytes: possible involvement of EP<sub>4</sub>-like receptors, p38 mitogen-activated protein kinase and protein kinase C. *J Neurochem* 79: 950-959

Figueiredo-Pereira ME, Li Z, Jansen M, Rockwell P (2002) N-acetylcysteine and celecoxib lessen cadmium cytotoxicity which is associated with cyclooxygenase-2-up-regulation in mouse neuronal cells. *J Biol Chem* 277: 25283-25289

Gallo P, Piccinno MG, Tavolato B, Siden A (1991) A longitudinal study on IL-2, sIL-2R, IL-4 and IFN-gamma in multiple sclerosis CSF and serum. *J Neurol Sci* 101: 227-232

Ganguli R, Brar JS, Chengappa KNR, DeLeo M, Yang ZW, Shurin G, Rabin BS (1995) Mitogen stimulated interleukin-2 production in never-medicated, first-episode schizophrenic patients. *Arch Gen Psychiatry* 52: 668-672

Ganguli R, Brar JS, Rabin BS (1994a) Immun abnormalities in schizophrenia: evidence for the autoimmune hypothesis. *Harv Rev Psychiatry* 2: 70-83

Ganguli R, Yang Z, Shurin G, Chengappa KN, Brar JS, Gubbi AV, Rabin BS (1994b) Serum interleukin-6 concentration in schizophrenia: elevation associated with duration of illness. *Psychiatry Res* 1: 1-10

Ganguli R, Brar JS, Solomon W, Chengappa RKN, Rabin BS (1992) Altered interleukin-2 production in schizophrenia: Association between clinical state and autoantibody production. *Psychiatry Res* 44: 113-123

Ganguli R, Rabin BS (1989) Increased serum interleukin 2 receptor in schizophrenic and brain-damaged subjects. *Arch Gen Psychiatry* 46: 292

Ganguli R, Rabin BS, Belle SH (1989) Decreased interleukin-2 production in schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 26: 427-430

Garver DL, Tamas RL, Holcomb JA (2003) Elevated interleukin-6 in the cerebrospinal fluid of previously delineated schizophrenia subtype. *Neuropsychopharmacology* 28: 1515-1520

Gattaz WF, Dalgalarondo P, Schröder HC (1992) Abnormalities in serum concentrations of interleukin-2, interferon- $\alpha$  and interferon- $\gamma$  in schizophrenia not detected. *Schizophr Res* 6: 237-241

Gaughran F (2002) Immunity and schizophrenia: autoimmunity, cytokines and immune responses. *Int Rev Neurobiol* 52: 275-302

Gaughran F, O'Neill E, Cole M, Collins K, Daly RJ, Shanahan F (1998) Increased soluble interleukin 2 receptor levels in schizophrenia. *Schizophr Res* 29: 263-267

Giovannini MG, Scali C, Prosperi C, Bellucci A, Pepeu G, Casamenti F (2003) Experimental brain inflammation and neurodegeneration as model of Alzheimer's disease: protective effects of selective COX-2 inhibitors. *Int J Immunopathol Pharmacol* 16: 31-40

Glick ID, Lemmens P, Vester-Blockland E (2001) Treatment of the symptoms of schizophrenia: a combined analysis of double-blind studies comparing risperidone with haloperidol and other antipsychotic agents. *Int Clin Psychopharmacol* 16: 265-274

Graham SH, Hickey RW (2003) Cyclooxygenases in central nervous system diseases. Arch Neurol 60: 628-630

Gruber R, Ziegler-Heitbrock HWL Immunologische Diagnostik. in: Taschenbuch der medizinisch-klinischen Diagnostik Scriba PC, Pforte A (Hrsg.) 154-184 Berlin, Heidelberg, New York Springer Verlag

Haack M, Hinze-Selch T, Fenzel T, Kraus T, Kühn M, Schuld A, Pollmächer T (1990) Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors in psychiatric patients upon hospital admission: effects of confounding factors and diagnosis. J Psychiatr Res 33: 407-418

Hart DJ, Heath RG, Sautter FJ Jr, Schwartz BD, Garry RF, Chol B, Beilke MA, Hart LK (1999) Antiretroviral antibodies: implications for schizophrenia, schizophrenia spektrum disorders, and bipolar disorders. Biol Psychiatry 45: 704-714

Hastings TG (1995) Enzymatic oxidation of dopamine: the role of prostaglandin H synthase. J Neurochem 64: 919-924

Hellstrand M, Eriksson E, Nilsson CL (2002) Dopamine D(2) receptor-induced COX-2-mediated production of prostaglandin E(2) in D(2)-transfected chinese hamster ovary cells without simultaneous administration of Ca(2+)-mobilizing agent. Biochem Pharmacol 63: 2151-2158

Henn FA, Braus DF (1999) Structural neuroimaging in schizophrenia. An integrative view of neuromorphology. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 249 Suppl 4: 48-56

Hewett SJ, Uliasz TF, Vidwans AS, Hewett JA (2000) Cyclooxygenase-2 contributes to N-methyl-D-aspartate-mediated neuronal cell death in primary cortical cell culture. J Pharmacol Exp Ther 293: 417-425

Hickey WF, Hsu BL, Kimura H (1991) T-lymphocyte entry into the central nervous system. J Neurosci Res 28: 254-260

Hirayama M, Yokochi T, Shimokata K, Iida M, Fujiki N (1986) Induction of human leukocyte antigen-A,B,C and -DR in cultured human oligodendrocytes and astrocytes by human gamma-interferon. *Neurosci Lett* 72: 369-374

Hornberg M, Arolt V, Wilke I, Kruse A, Kirchner H (1995) Production of interferons and lymphokines in leukocyte cultures of patients with schizophrenia. *Schizophr Res* 15: 237-242

Hsia J, Sarin N, Oliver JH, Goldstein AL (1989) Aspirin and thymosin increase interleukin-2 and interferon-gamma production by human peripheral blood lymphocytes. *Immunopharmacology* 17: 167-173

Josten C, Griga T, Muhr G (1991) Immunstimulation mit Ibuprofen bei der chronischen Osteitis. *Unfallchirurg* 94: 191-193

Kalmár B, Kittel Á, Lemmens R, Környei Z, Madarász E (2001) Cultured astrocytes react to LPS with increased cyclooxygenase activity and phagocytosis. *Neurochem Int* 38: 453-461

Kaminska T, Wysocka A, Marmurowska-Michalowska H, Dubas-Slemp H, Kandfer-Szerszen M (2001) Investigation of serum cytokine levels and cytokine production in whole blood cultures of paranoid schizophrenic patients. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 49: 439-445

Kaschka WP (1996) Wie sind psychische Prozesse, neuroendokrines System und Immunsystem integriert? *Z Klin Psychol Psychiatr Psychother* 44: 280 -289

Katamura K, Shintaku N, Yamauchi Y, Fukui T, Ohshima Y, Mayumi M, Furusho K (1995) Prostaglandin E<sub>2</sub> at priming of naive CD4<sup>+</sup> T cells inhibits acquisition of ability to produce IFN- $\gamma$  and IL-2, but not IL-4 and IL-5. *J Immunol* 155: 4604-4612

Kaufmann WE, Andreasson Ki, Isakson PC, Worley PF (1997) Cyclooxygenases and the central nervous system. *Prostaglandins* 54: 601-624



Kay SR, Fiszbein A, Opler LA (1987) The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull* 13: 261-276

Keller R (1994) *Immunologie und Immunpathologie*. 4. Auflage Stuttgart, New York Thieme Verlag

Khyatti M, Menezes J (1990) The effect of indomethacin, prostaglandin E<sub>2</sub> and interferon on the multiplication of herpes simplex virus type 1 in human lymphoid cells. *Antiviral Res* 14: 161-172

Kim YK, Kim L, Lee MS (2000) Relationship between interleukins, neurotransmitters and psychopathology in drug-free male schizophrenics. *Schizophr Res* 44: 165-175

Kim YK, Lee MS, Suh KY (1998) Decreased interleukin-2 production in Korean schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 43: 701-704

Kirch DG (1993) Infection and autoimmunity as etiologic factors in schizophrenia: a review and reappraisal. *Schizophr Bull* 19: 355-370

Kowalski J, Blada P, Krzysztof K, Lawniczek T, Madej A, Belowski D, Herman ZS (2000) In-vitro immunomodulatory effects of haloperidol and perazine in schizophrenia. *World J Biol Psychiatry* 1: 190-196

Kronfol Z, Remick DG (2000) Cytokines in the brain: implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry* 157: 683-694

Krykanides S, Moore AH, Olschowska JA, Daeschner JC, Williams JP, Hansen JT, Kerry O'Banion M (2002) Cyclooxygenase-2 modulates brain inflammation-related gene expression in central nervous system radiation injury. *Brain Res Mol Brain Res* 104: 159-169

Lillehoj EP, Ford GM, Bachmann S, Schroeder J, Torrey EF, Yolken RH (2000) Serum antibodies reactive with non-human primate retroviruses identified in acute onset schizophrenia. *J Neurovirol* 6: 492-497

Lynch KW, Weiss A (2000) A model system for activation-induced alternative splicing of CD45 pre-mRNA in T cells implicates protein kinase c and ras. *Mol Cell Biol* 20: 70-80

Maes M, Meltzer HY, Buckley P, Bosmans E (1995) Plasma-soluble interleukin-2 and transferrin receptor in schizophrenia and major depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 244: 325-329

Maes M, Meltzer HY, Bosmans E (1994) Immune-inflammatory markers in schizophrenia: comparison to normal controls and effects of clozapine. *Acta Psychiatr Scand* 89: 346-351

Mathe AA, Sedvall G, Wiesel FA, Nyback H (1980) Increased content of immunoreactive prostaglandin E in cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Lancet* 1(8158): 16-18

Matte C, Maion G, Mourad W, Olivier M (2001) Leishmania donovani-induced macrophages cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 synthesis. *Parasite Immunol* 23: 177-184

Minakuchi R, Wacholtz C, Davis LS, Lipsky PE (1990) Delineation of the mechanism of inhibition of human T cell activation by PGE<sub>2</sub>. *J Immunol* 145: 2616-2625

Mittleman BB, Castellanos FX, Jacobsen LK, Rapoport JL, Swedo Se, Shearer GM (1997) Cerebrospinal fluid cytokines in pediatric neuropsychiatric disease. *J Immunol* 159: 2994-2999

Moises HW, Schindler L, Leroux M, Kirchner H (1985) Decreased production of interferon alpha and interferon gamma in leucocyte cultures. *Acta Psychiatr Scand* 72: 45-50

Molholm HB (1942) Hyposensitivity to foreign protein in schizophrenic patients. *Psychiatr Quarterly* 16: 565-571

Molina-Holgado E, Arévalo-Martín A, Ortiz S, Vela JM, Guaza C (2002) Theiler's virus infection induces the expression of cyclooxygenase-2 in murine astrocytes: inhibition by

the anti-inflammatory cytokines interleukin-4 and interleukin-10. *Neurosci Lett* 324: 237-241

Müller N, Riedel M, Ackenheil M, Schwarz MJ (2004 in Vorbereitung) Inflammation in schizophrenia - from epidemiological findings to therapeutic consequences.

Müller N, Riedel M, Ackenheil M, Schwarz MJ (2000) Cellular and humoral immune system in schizophrenia: a conceptual re-evaluation. *World J Biol Psychiatry* 1: 173-179

Müller N, Ackenheil M (1998) Psychoneuroimmunology and the cytokine action in the CNS: implications for psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 22: 1-33

Müller N, Riedel M, Schwarz M, Gruber R, Ackenheil M (1998) Zelluläres Immunsystem und Zytokinsystem Schizophrener: Immunmodulatorische Effekte antipsychotischer Therapie. in: *Schizophrenie - Moderne Konzepte zur Diagnostik, Pathogenese, Therapie*. Möller HJ, Müller N (Hrsg.) 143-153 Wien, New York Springer Verlag

Müller N, Empl M, Riedl M, Schwarz M, Ackenheil M (1997) Neuroleptic treatment increases soluble IL-2 receptors and decreases soluble IL-6 receptors in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 247: 308-313

Naraba H, Murakami M, Matsumoto H, Shimbara S, Ueno A, Kudo I, Oh-ishi S (1998) Segregated coupling of phospholipase A<sub>2</sub>, cyclooxygenases, and terminal prostanoid synthases in different phases of prostanoid biosynthesis in rat peritoneal macrophages. *J Immunol* 160: 2974-2982

Naudin J, Capo C, Giusano B, Mege JL, Azorin JM (1997) A differential role for interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in schizophrenia? *Schizophr Res* 26: 227-233

Naudin J, Mege JL, Azorin JM, Dassa D (1996) Elevated circulating levels of IL-6 in schizophrenia. *Schizophr Res* 20: 269-273

Niederberger E, Tegeder I, Vetter G, Schmidtko A, Schmidt H, Euchenhofer C, Bräutigam L, Grösch S, Geisslinger G (2001) Celecoxib loses its anti-inflammatory efficacy at high doses through activation of NF-kappaB. *FASEB J* 15: 1622-1624

Novak TJ, Farber D, Leitenberg D, Hong SC, Johnson P, Bottomly K (1994) Isoforms of the transmembrane tyrosine phosphatase CD45 differentially affect T cell recognition. *Immunity* 1: 109-119

Penning TD, Talley JJ, Bertenshaw SR, Carter JS, Collins PW, Docter S, Graneto MJ, Lee LF, Malecha JW, Miyashiro BM, Rogers RS, Rogier DJ, YU SS, Anderson GD, Burton EG, Cogburn JN, Gregory SA, Koboldt CM, Perkins WE, Seibert K, Veenhuizen AW, Zhang YY, Isakson PC (1997) Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: identification of 4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1*H*-pyrazol-1-yl]benzenesulfonamide (SC-58635, celecoxib). *J Med Chem* 40: 1347-1365

Peres-Santos JLM, Talamas-Rohana P (2001) In vitro indomethacin administration upregulates interleukin-12 production and polarized the immune response toward a T<sub>H1</sub> type in susceptible BALB/c mice infected with *Leishmania mexicana*. *Parasite Immunol* 23: 599-606

Pollmächer T, Hinze-Selch D (1998) Factors confounding studies of circulating soluble interleukin-2 receptor levels in schizophrenia. *Schizophr Res* 33: 123-124

Pollmächer T, Hinze-Selch D, Mullington J, Holsboer F (1995) Clozapin-induced increase in plasma levels of soluble interleukin-2 receptors. *Arch Gen Psychiatry* 52: 877-878

Prasad S, Semwal P, Smita D, Triptish B, Nimgaonkar VL, Thelma BK (2002) Molecular genetics of schizophrenia: past, present and future. *J Biosc* 27: 35-52

Radbruch A (1994) Immunfluoreszenz: Färbung-Messung-Datenauswertung. in: Durchflußzytometrie in der klinischen Zelldiagnostik. Schmitz G, Rothe G (Hrsg.) Stuttgart, New York Schattauer Verlag

- Radewicz K, Garey LJ, Gentleman SM, Reynolds R (2000) Increase in HLA-DR immunoreactive microglia in frontal and temporal cortex of chronic schizophrenics. *J Neuropathol Exp Neurol* 59: 137-150
- Raffael A, Nebe CT, Valet G (1994) Grundlagen der Durchflußzytometrie. in: *Durchflußzytometrie in der klinischen Zelldiagnostik*. Schmitz G, Rothe G (Hrsg.) Stuttgart, New York Schattauer Verlag
- Rapaport MH, Müller N (2001) Immunological states associated with schizophrenia. in: *Psychoneuroimmunology 3rd ed, vol 2*. Edited by Ader R, Felten DL, Cohen N 373-382 San Diego, Calif Academic Press
- Rapaport MH, McAllister CG, Pickar D, Nelson DL, Paul SM (1989) Elevated levels of soluble interleukin 2 receptors in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 46: 291-292
- Riedel M, Strassnig M, Spellmann I, Sikorski C, Möller HJ, Müller N (2004 in Vorbereitung) Decreased cutaneous immune response in schizophrenic patients.
- Rohn TT, Wong SM, Cotman CW, Cribbs DH (2001) 15-deoxy-delta12,14-prostaglandin J2, a specific ligand for peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, induces neuronal apoptosis. *Neuroreport* 12: 839-843
- Roth MD (1994) Interleukin 2 induces the expression of CD45RO and the memory phenotype by CD45RA<sup>+</sup> peripheral blood lymphocytes. *J Exp Med* 179: 857-864
- Rothermundt M, Arolt V, Weitzsch C, Eckhoff D, Kirchner H (1998) Immunological dysfunction in schizophrenia: a systematic approach. *Neuropsychobiology* 37: 186-193
- Rothermundt M, Arolt V, Weitzsch C, Eckhoff D, Kirchner H (1996) Production of cytokines in acute schizophrenic psychosis. *Biol Psychiatry* 40: 1294-1297
- Rubin LA, Nelson DL (1990) The soluble interleukin-2 receptor: biology, function, and clinical application. *Ann Intern Med* 113: 619-627

Sasaki T, Sasaki-Irie J, Penninger JM (2001) New insights into the transmembrane protein tyrosine phosphatase CD45. *Int J Biochem Cell Biol* 33: 1041-1046

Schmidt RE (1994) Monoklonale Antikörper in der Diagnostik von Zelloberflächenantigenen. in: *Durchflußzytometrie in der klinischen Zelldiagnostik*. Schmitz G, Rothe G (Hrsg.) Stuttgart, New York Schattauer Verlag

Schwarz MJ, Chiang S, Müller N, Ackenheil M (2001) T-helper-1 and T-helper-2 response in psychiatric disorders. *Brain Behav Immun* 15: 340-370

Schwinzer R, Schraven B, Kyas U, Meuer SC, Wonigeit K (1992) Phenotypical and biochemical characterization of a variant CD45R expression pattern in human leukocytes. *Eur J Immunol* 22: 1095-1098

Sedgwick JD, Schwender S, Imrich H, Dörries R, Butcher GW, Meulen V (1991) Isolation and direct characterization of resident microglial cells from the normal and inflamed central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 7438-7442

Simon LS, Weaver AL, Graham DY, Kivitz AJ, Lipsky PE, Hubbard RC, Isakson PC, Verburg KM, Yu SS, Zhao WW, Geis GS (1999) Anti-inflammatory and upper gastrointestinal effects of celecoxib in rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial. *JAMA* 282: 1921-1928

Sivieri S, Ferrarini AM, Gallo P (1998) Multiple sclerosis: IL-2 and sIL-2R levels in cerebrospinal fluid and serum. *Mult Scler* 4: 7-11

Slepko N, Minghetti L, Polazzi E, Nicolini A, Levi G (1997) Reorientation of prostanoid production accompanies "activation" of adult microglial cells in culture. *Neurosci Res* 49: 292-300

Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL (1996) Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *J Biol Chem* 271: 33157-33160

Smythies JR (1997) Oxidative reactions and schizophrenia: a review-discussion. *Schizophr Res* 24: 357-364

Steer SA, Moran JM, Maggi LB Jr, Buller RM, Perlman H, Corbett JA (2003) Regulation of cyclooxygenase-2 expression by macrophages in response to double-stranded RNA and viral infection. *J Immunol* 170: 1070-1076

Sunder-Plaßmann R, Majdic O, Knapp W, Holter W (1991) In vitro and in vivo activated T cells display increased sensitivity to PGE<sub>2</sub>. *Cell Immunol* 138: 289-299

Taieb O, Baleyte JM, Mazet P, Fillet AM (2001) Borna disease virus and psychiatry. *Eur Psychiatry* 16: 3-10

Tang C, Shou M, Mei Q, Rushmore H, Rodrigues AD (2000) Major role of human liver microsomal cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) in the oxidative metabolism of celecoxib, a novel cyclooxygenase-II inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther* 293: 453-459

Theodoropoulou St, Spanakos G, Baxevanis CN, Economou M, Gritzapis AD, Papamichail MP, Stefanis CN (2001) Cytokine serum levels, autologous mixed lymphocyte reaction and surface marker analysis in never medicated and chronically medicated schizophrenic patients. *Schizophr Res* 47: 13-25

Thude HJ, Hundrieser J, Wonigeit K, Schwitzer R (1995) A point mutation in the human CD45 gene associated with defective splicing of exon A. *Eur J Immunol* 25: 2101-2106

Tilley SL, Coffman TM, Beverly HK (2001) Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. *J Clin Invest* 108: 15-23

Torrey EF (1991) A viral-anatomical explanation of schizophrenia. *Schizophr Bull* 17: 15-18

van Kammen DP, McAllister-Sistilli CG, Kelley ME, Gurklis JA, Yao JK (1999) Elevated interleukin-6 in schizophrenia. *Psychiatry Res* 87: 129-136

Velakoullis D, Wood SJ, McGorry PD, Pantelis C (2000) Evidence for progression of brain structural abnormalities in schizophrenia: beyond the neurodevelopmental model. *Aust N Z J Psychiatry* 34: 113-126

Villemain F, Chatenoud L, Galinowski A, Homo-Delarche F, Ginestet D, Loo H, Zarifian E, Bach JF (1989) Aberrant T cell-mediated immunity in untreated schizophrenic patients: deficient interleukin-2 production. *Am J Psychiatry* 146: 609-616

Waldmann TA (1991) The interleukin-2 receptor. *J Biol Chem* 266: 2681-2684

Werner U, Werner D, Rau T, Fromm MF, Hinz B, Brune K (2003) Celecoxib inhibits metabolism of cytochrome P450 2D6 substrate metoprolol in humans. *Clin Pharmacol Ther* 74: 130-137

Wilke I, Arolt V, Rothermundt M, Weitzsch C, Hornberg M, Kirchner H (1996) Investigations of cytokine production in whole blood cultures of paranoid and residual schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 246: 279-284

Williams JA, Pontzer CH, Shacter E (2000) Regulation of macrophage interleukin-6 (IL-6) and IL-10 expression by prostaglandin E2: the role of p38 mitogen-activated protein kinase. *J Interferon Cytokine Res* 20: 291-298

Xu HM, Wei J, Hemmings GP (1994) Changes of plasma concentrations of interleukin-1 $\alpha$  and interleukin-6 with neuroleptic treatment for schizophrenia. *Br J Psychiatry* 164: 251-253

Yamagata K, Andreasson KI, Kaufmann WE, Barnes CA, Worley PF (1993) Expression of mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids. *Neuron* 11: 371-386

Yang ZW, Chengappa KNR, Shurin G, Brar JS, Rabin BS, Gubbi AV, Ganguli R (1994) An association between anti-hippocampal antibody concentration and lymphocyte production of IL-2 in patients with schizophrenia. *Psychol Med* 24: 449-455

Yolken RH, Bachmann S, Ruslanova I, Lillehoj E, Ford G, Torrey EF, Schroeder J, Rouslanova I (2001) Antibodies to *Toxoplasma gondii* in individuals with first-episode schizophrenia. *Clin Infect Dis* 32: 842-844



Yolken RH, Karlsson H, Yee F, Johnston-Wilson NL, Torrey EF (2000) Endogenous retroviruses and schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev* 31: 193-199

Zaffaroni M, Rossini S, Ghezzi A, Parma R, Cazzullo CL (1990) Decrease of CD4<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> T-cells in chronic-progressive multiple sclerosis. *J Neurol* 237: 1-4

Zalcman S, Green-Johnson JM, Murray L, Nance DM, Dyck D, Anisman H, Greenberg AH (1994) Cytokine-specific central monoamine alterations induced by interleukin-1, -2 and -6. *Brain Res* 643: 40-49

# Lebenslauf

**Name:** Markus Ulmschneider  
**Geburtsdatum:** 14.11.1973  
**Geburtsort:** München  
**Familienstand:** ledig

## Schulbildung:

1980-1984 Grundschole Grafing  
1984-1993 Gymnasium Grafing  
07/1993 Allgemeine Hochschulreife

## Studium:

1994-1996 Musikstudium an der Hochschule für Musik in München  
08/1996 Zwischenprüfung  
1996-2003 Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität  
München  
05/2003 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

## Beruf:

12/2003: Tätigkeit in der Abteilung für Innere Medizin der Kreisklinik  
Perlach als Arzt im Praktikum, seit 10/2004 als Assistenzarzt.

Teile der vorliegenden Arbeit wurden mit Genehmigung durch Herrn Prof. Dr. P. C. Weber, Vorsitzender des Promotionsausschusses, bereits in Fachzeitschriften (Am J Psychiatry, Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, Expert Opin Investig Drugs) veröffentlicht.