

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. H.-J. Möller

**Einflüsse der Therapie mit Risperidon und Celecoxib
auf das zelluläre Immunsystem schizophrener Patienten**

Dissertation

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

vorgelegt von
Constanze Scheppach
aus Ichenhausen

2007

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

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

Mitberichterstatter: Prof. Dr. R. Hohlfeld
PD Dr. A. Giese

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitbetreuer: PD Dr. med. R. Gruber

Dekan: Prof. Dr. med. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 19.04.2007

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
1.1	Das Krankheitsbild der Schizophrenie	6
1.2	Immunologische Auffälligkeiten bei der Schizophrenie	6
1.3	Zelluläres Immunsystem bei schizophrenen Patienten	8
1.3.1	Zellen des unspezifischen Immunsystems	8
1.3.2	Zellen des spezifischen Immunsystems	9
1.4	Th1/Th2-Imbalance bei schizophrenen Patienten	10
1.4.1	Th1-System	10
1.4.2	Th2-System	11
1.4.3	Bedeutung der Th1/Th2-Imbalance	11
1.5	Nichtsteroidale Antirheumatika in der Therapie der Schizophrenie	12
1.6	Immunmodulatorische Effekte neuroleptischer Therapie	14
1.7	Zielsetzung der Arbeit	15
2	Patienten und Methoden	16
2.1	Patienten und Studiendesign	16
2.2	Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)	17
2.3	Immunologische Methoden	18
2.3.1	Färben der Zellen	19
2.3.2	Lyse der Erythrozyten	21
2.3.3	Messen mittels Durchflusszytometer	21
2.3.3.1	Durchflusszytometer	21
2.3.3.2	Vorbereitung des Gerätes	23
2.3.3.3	Datenaufnahme und -analyse	24
2.3.4	Qualitätskontrolle	30
2.3.4.1	Kontrollzellen	30
2.3.4.2	Vergleich von MultiSET™ und CellQuest™	30
2.4	Statistische Methoden	30
3	Ergebnisse	32
3.1	Psychopathologie	32
3.2	Immunologie	35
3.2.1	T-Lymphozyten (CD3+)	40
3.2.2	Zytotoxische T-Zellen (CD3+/8+)	42
3.2.3	B-Lymphozyten (CD19+)	43
3.3	Zusammenhänge zwischen Psychopathologie und Immunologie	44
3.4	Vergleich von Respondern und Non-Respondern	46
3.5	Qualitätskontrolle	48
4	Diskussion	50
5	Zusammenfassung	59
6	Literaturverzeichnis	61

7	Anhang	72
7.1	Patientendaten	72
7.2	PANSS-Manual: Bewertungsbogen	74
7.3	Labormaterialien	76
7.4	Lebenslauf	77
7.5	Danksagung	78

Abkürzungsverzeichnis

APC –	Allophycocyanin
CD –	Cluster of Differentiation
COX –	Cyclooxygenase
EDTA –	Ethylene Diamine Tetra-Acetate
FACS –	Fluorescence Activated Cell Scanner
FITC –	Fluorescein-Isothiocyanat
FL –	Fluoreszenz
FSC –	Forward Angle Light Scatter
IFN –	Interferon
Ig –	Immunglobulin
IL –	Interleukin
NK- Zellen –	Natürliche Killerzellen
NMDA –	N-Methyl-D-Aspartat
NSAR –	Nichtsteroidale Antirheumatika
PANSS –	Positive and Negative Syndrome Scale
PE –	Phycoerythrin
PerCP –	Peridinin-Chlorophyll-Protein
PG –	Prostaglandin
SSC –	Side Scatter
TNF –	Tumor-Nekrose-Faktor
ZNS –	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

1.1 Das Krankheitsbild der Schizophrenie

Die Schizophrenie zählt zu den endogenen Psychosen. Diese bilden eine Gruppe von Krankheitsbildern, die, zumindest teilweise, anlagebedingt sind und bei denen bis heute keine direkte körperliche Ursache nachweisbar ist. Die Symptomatik der schizophrenen Psychose ist häufig sehr vielgestaltig und reicht von Wahn und Halluzinationen über formale Denkstörungen und Ich-Störungen bis zu Störungen im Affekt und psychomotorischen Auffälligkeiten.

Mit einer Prävalenz von 0,5 bis 1% in der Bevölkerung ist die Schizophrenie eine häufige psychiatrische Erkrankung, dennoch ist ihre Ätiopathogenese noch weitgehend unbekannt. Nach heutigem Kenntnisstand tragen mehrere Faktoren zur Krankheitsentstehung bei. Als zentrale Ursache wird ein Ungleichgewicht im Neurotransmittersystem bei schizophrenen Patienten mit einem relativen Überwiegen von Dopamin gegenüber anderen Neurotransmittern im mesolimbischen System angesehen. Darauf deutet auch das gute Ansprechen der schizophrenen Symptomatik auf die Therapie mit Neuroleptika hin. Des Weiteren werden genetische Faktoren bei der Pathogenese vermutet ebenso wie strukturelle Abnormitäten des Gehirns bei schizophrenen Patienten. Für das Auslösen eines akuten Krankheitsschubes werden teilweise psychosoziale Faktoren verantwortlich gemacht. Als weiteren Aspekt in dieser multifaktoriellen Pathogenese werden Auffälligkeiten im Immunsystem bei Schizophrenen diskutiert.

1.2 Immunologische Auffälligkeiten bei der Schizophrenie

Erste Auffälligkeiten im Immunsystem Schizophrener wurden schon zu Beginn des letzten Jahrhunderts entdeckt. Beschrieben wurde das Auftreten einer Leukozytose bei Patienten, die mit einer akuten Psychose stationär aufgenommen wurden (Bruce und Peebles, 1903; Dameshek, 1930). Menninger stellte mit Hilfe epidemiologischer Studien einen Zusammenhang zwischen der Influenza-Pandemie nach dem ersten Weltkrieg und dem vermehrten Auftreten schizophrenieartiger Symptome bei Opfern der Infektion her (Menninger, 1919). Schon damals wurde die Möglichkeit diskutiert, der Schizophrenie liege eine Virusinfektion zugrunde oder es sei ein Virus - zumindest indirekt - an der Pathogenese der Schizophrenie beteiligt.

Lehman-Facius beschrieb als erster autoreaktive Antikörper gegen Hirnstrukturen im Liquor schizophrener Patienten (Lehman-Facius, 1937). Molholm stellte eine Hyposensitivität gegenüber Fremdproteinen bei Schizophrenen fest (Molholm, 1942). Diese Beobachtungen zeigten erste Hinweise darauf, dass bei der Entstehung der Schizophrenie eventuell immunologische Prozesse eine Rolle spielen könnten.

In den letzten Jahrzehnten bot der enorme Fortschritt in der Entwicklung immunologischer Methoden Möglichkeiten, das Immunsystem schizophrener Patienten detaillierter zu untersuchen. Von zahlreichen Forschungsgruppen konnten dabei Auffälligkeiten im zellulären Immunsystem von Schizophrenen, d.h. von Leukozyten und Lymphozyten mit ihren Subpopulationen, bestätigt werden. Auch die Zytokine, die Marker der Aktivität des Immunsystems, zeigten wiederholt ein abnormes Sekretionsmuster. Weitere Zusammenhänge zwischen Infektionen und der Entwicklung einer schizophrenen Psychose wurden aufgedeckt. Antikörper gegen Viren, Gehirnstrukturen oder allgemein autoreaktive Antikörper zeigten bei schizophrenen Patienten wiederholt abweichende Konzentrationen im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Auffälligkeiten in der Reaktion auf Impfstoffen bei schizophrenen Patienten wurden beschrieben. In post-mortem untersuchtem Hirngewebe schizophrener Patienten fanden sich entzündliche Veränderungen und zudem wurde gezeigt, dass verschiedene Neuroleptika immunmodulatorische Effekte aufweisen (Kirch, 1993; Ganguli et al., 1994a; Müller et al., 2000; Rothermund et al., 2001; Gaughran, 2002).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass auf verschiedensten Ebenen Besonderheiten im Immunsystem schizophrener Patienten gefunden wurden. Lange Zeit wurde die Hypothese verfolgt, der Schizophrenie läge eine Infektionskrankheit zugrunde. Allerdings konnte bislang weder ein spezifischer Erreger isoliert, noch der Beweis für einen direkten infektiösen Vorgang geführt werden. Man beachte hierzu jedoch die Entdeckung von *Treponema pallidum* als Erreger der Neurosyphilis oder die Identifikation des HIV-Virus mit der HIV-assoziierten Enzephalopathie. Beide Erkrankungen können mit psychotischen Symptomen einhergehen, sind aber nicht, wie zunächst vermutet, endogen bedingt, sondern haben eindeutig einen Erreger als Ursache. So ist es durchaus vorstellbar, dass weitere Erreger isoliert werden können, die möglicherweise einen Teil der schizophrenen Psychosen mitbedingen.

Alternativ wurde mehrfach postuliert, dass bei der Pathogenese der Schizophrenie autoimmunologische Prozesse eine Rolle spielen. Hier fehlt bislang wiederum der Nachweis eines spezifischen Autoantikörpers, der die Hypothese beweisen würde. Jedoch können einige der o.g. Vorbefunde gut in das Konzept der Schizophrenie als Autoimmunerkrankung integriert werden. Darüber hinaus finden sich zahlreiche Parallelen zwischen anderen Autoimmunerkrankungen und der Schizophrenie wie z.B. ein ähnlicher klinischer Verlauf, genetische Übereinstimmungen sowie korrelierende epidemiologische Besonderheiten. Des Weiteren ist das Auftreten psychotischer Symptome bei bestimmten Autoimmunerkrankungen, wie z.B. dem systemischen Lupus erythematoses beschrieben (Roos, 1984; DeLisi und Crow, 1986; Kirch, 1993; Rothermund et al., 2001). So sind weitere Studien zur Überprüfung der Autoimmun-Hypothese bei schizophrenen Patienten sicherlich vielversprechend und wünschenswert.

In den letzten Jahren wurden die bis dahin teilweise unzusammenhängenden Befunde auf dem Gebiet der immunologischen Forschung bei schizophrenen Patienten in einem neuen Kontext betrachtet. Müller beschrieb 1999 erstmals eine Überaktivität im humoralen Immunsystem schizophrener Patienten auf Kosten der zellulären Immunität. Auf der Ebene der T-Helferzellen bedeutet dies ein Überwiegen der Th2- gegenüber der Th1-Population, das bei verschiedenen Autoimmunerkrankungen beobachtet wurde und möglicherweise auch in der Pathogenese schizophrener Psychosen eine Rolle könnte (Müller et al., 1999; Sperner-Unterweger et al., 1999; Rothermund et al., 2001; Schwarz et al., 2001).

1.3 Zelluläres Immunsystem bei schizophrenen Patienten

Das menschliche Immunsystem besteht aus einer Vielzahl an Zellen und Botenstoffen, die durch ihre koordinierte Zusammenarbeit der Abwehr von Erregern und Fremdstoffen dienen. Es kann aufgrund seiner Entwicklung in ein unspezifisches, phylogenetisch älteres und ein spezifisches, erst im Laufe der Evolution entstandenes Abwehrsystem unterteilt werden.

1.3.1 Zellen des unspezifischen Immunsystems

Zu den Zellen des unspezifischen Immunsystems gehören die Monozyten/Makrophagen, die neutrophilen Granulozyten und die Natürlichen Killerzellen (NK-Zellen). Effektormoleküle sind Akute-Phase-Proteine und die Bestandteile des Komplement-Systems. Lösliche Botenstoffe zur Kommunikation zwischen den Zellen sind die von Makrophagen gebildeten Zytokine Interferon- α (IFN- α) und - β (IFN- β), Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α), Interleukin-1 (IL-1) und Interleukin-6 (IL-6). Das unspezifische Immunsystem bildet die „erste Linie“ der Abwehr und ist im Vergleich zum spezifischen relativ einfach aufgebaut. Die Zellen des unspezifischen Immunsystems können auf direktem Wege aktiviert werden und reagieren dabei unabhängig von erneutem Erregerkontakt immer in gleicher Weise ohne Ausbildung einer antigenspezifischen Gedächtnisfunktion.

Bei schizophrenen Patienten zeigten verschiedene Untersuchungen eine Überaktivierung des unspezifischen Immunsystems. So beschreibt Wilke eine erhöhte Zahl an Monozyten und neutrophilen Granulozyten im Blut schizophrener Patienten verglichen mit gesunden Kontrollen (Wilke et al., 1996). Müller entdeckte eine erhöhte Zahl an γ/δ^+CD8^+ Zellen, eine Zellreihe, die eine unreife Form des T-Zell-Rezeptors exprimiert und der unspezifischen Abwehr zugeordnet werden kann (Müller et al., 1998). Nikkilä fand im Liquor schizophrener Patienten eine erhöhte Monozytenzahl (Nikkilä et al., 2001). Betrachtete man nicht nur die Anzahl, sondern die Aktivität der Monozyten anhand ihrer Möglichkeit, *in vitro* IL- β und TNF- α zu produzieren, so wurde festgestellt, dass diese bei schizophrenen Patienten erhöht war (Kowalski et al., 2001). Die

Untersuchungen zu den Natürlichen Killerzellen zeigten keine einheitlichen Ergebnisse. Hier wurden erhöhte (Theodoropoulou et al., 2001) sowie erniedrigte (Sperner-Unterweger et al., 1999) NK-Zellen im Vergleich zu Kontrollen gefunden. Auch die NK-Zell-Aktivität wurde bei Schizophrenen einerseits als erhöht (Vasil'eva et al., 2002) andererseits als erniedrigt (Yovel et al., 2000) beschrieben.

1.3.2 Zellen des spezifischen Immunsystems

Die Zellen des spezifischen Immunsystems sind die Lymphozyten, zu denen die B- und T-Lymphozyten gehören. B-Lymphozyten wandeln sich nach Antigenkontakt in Plasmazellen um und produzieren Antikörper, die Effektormoleküle des spezifischen Immunsystems. B-Zellen bestehen dabei einerseits aus einer kleineren B1-Population, die früh in der Entwicklung entsteht und für die Produktion sog. natürlicher Antikörper verantwortlich ist. Diese gehören meist zur Klasse IgM, sind niedrig-affin und polyspezifisch. Das bedeutet, dass sie gleichzeitig mehrere verschiedene Antigene erkennen können, die meist gewöhnliche Pathogene oder Autoantigene sind. Der Hauptanteil der B-Lymphozyten gehört jedoch zur B2-Population, die sich in der Ontogenese später entwickelt und spezifische Antikörper aller Klassen produziert.

T-Lymphozyten werden aufgrund ihrer Funktion weiter in zytotoxische T-Zellen und T-Helferzellen unterteilt. T-Zellen sind prinzipiell auf Präsentation der Antigene durch andere Zellen des Immunsystems angewiesen. Zytotoxische T-Zellen sind dabei direkt zur Lyse von durch Erreger befallene Zellen befähigt. Die Hauptaufgabe der T-Helferzellen besteht darin, nach Antigenkontakt Zytokine zu sezernieren, die die weitere Immunantwort bestimmen. Naive T-Helferzellen (Th0) differenzieren sich dabei in eine Th1- und eine Th2-Population. Charakterisiert werden die jeweiligen Populationen durch das typische Muster an Zytokinen, das von ihnen produziert werden kann. Das spezifische Immunsystem bildet die „zweite Linie“ der Abwehr und ist ein sehr komplexes System, das auf Erkennung bestimmter Antigene beruht. Es beinhaltet ein antigen-spezifisches Gedächtnis, durch das die Immunantwort bei erneutem Kontakt mit demselben Erreger um ein Vielfaches gesteigert werden kann.

Untersuchungen zu den T-Lymphozyten mit Subpopulationen bei Patienten mit einer schizophrenen Psychose weisen sehr divergierende Ergebnisse auf. Mehrere Autoren stellten keine Veränderungen im T-Zell-System bei Schizophrenen im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen fest (Villemain et al., 1989; Wilke et al., 1996; Printz et al., 1999). Einige Arbeitsgruppen fanden jedoch eine erhöhte T-Lymphozyten-Zahl einhergehend mit einem erhöhten Anteil an T-Helferzellen, zumindest bei akut erkrankten Personen mit einer Erstmanifestation der schizophrenen Psychose (Henneberg et al., 1990; Masserini et al., 1990; Müller et al., 1991; Sperner-Unterweger et al., 1999). Die Anzahl der zytotoxischen T-Zellen wurde dabei insgesamt eher als erniedrigt beschrieben (Müller et al., 1991; Sasaki et al., 1994).

Die B-Lymphozyten schizophrener Patienten zeigten sich in mehreren Studien erhöht gegenüber denen von gesunden Kontrollpersonen (DeLisi et al., 1982; McAllister et al., 1989; Printz et al., 1999). Andere Autoren fanden dasselbe Ergebnis zumindest bei einem Teil der Patienten mit Schizophrenie oder nach erfolgter Therapie (Masserini et al., 1990; Rogozhnikova, 1993).

Der Anteil der B-Zellen, die zur B1-Population gehören, wurde bei Schizophrenen wiederholt als erhöht gemessen (McAllister et al., 1989; Printz et al., 1999), wobei Ganguli dieses Ergebnis nicht reproduzieren konnte (Ganguli et al., 1993). Erhöhte B1-Populationen spielen bei verschiedenen Autoimmunerkrankungen eine Rolle und werden dort z.B. für die Produktion von Rheumafaktoren oder anderer polyreaktiver Autoantikörper verantwortlich gemacht (Hardy et al., 1987; Casali et al., 1987; Pers et al., 1999). Eine Erhöhung dieser Zellpopulation bei schizophrenen Patienten würde somit eine Parallele zu bestimmten Autoimmunerkrankungen wie z.B. der rheumatoiden Arthritis oder der Sklerodermie darstellen.

1.4 Th1/Th2-Imbalance bei schizophrenen Patienten

Betrachtet man nun nicht nur die Immunzellen, sondern auch die von ihnen gebildeten Proteinhormone, die Zytokine, welche die zelluläre Aktivität widerspiegeln, so lässt sich bei schizophrenen Patienten ein bestimmtes Muster erkennen. Man findet ein Überwiegen der Zytokine, die von Th2-Helferzellen gebildet werden, einhergehend mit einer verminderten Produktion von Zytokinen des Th1-Systems.

1.4.1 Th1-System

Die wichtigsten von Th1-Helferzellen freigesetzten Zytokine sind Interleukin-2 (IL-2), Interferon- γ (IFN- γ) und Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α). IL-2 fungiert als auto- und parakriner Wachstumsfaktor für alle Lymphozyten (B-Zellen, T-Zellen und NK-Zellen). IFN- γ ist der wichtigste Botenstoff für die Aktivierung von Monozyten, aber auch von NK-Zellen. Des Weiteren wird die Antigenpräsentation durch IFN- γ verbessert. TNF- α dient der Aktivierung von neutrophilen Granulozyten mit der Ausbildung von allgemeiner Entzündungsreaktion und Fieber. Interleukin-12 (IL-12), ein weiteres Zytokin, das vornehmlich von Makrophagen und Monozyten gebildet wird, spielt eine wichtige Rolle bei der Differenzierung der T-Helferzell-Subpopulationen. Dessen wichtigste Aufgabe besteht in der Induktion der T-Zellen und NK-Zellen zur IFN- γ -Produktion. Insgesamt sind die Zytokine des Th1-Systems also für die Phagozyten-vermittelte, zelluläre Immunität mit Aktivierung von verschiedenen Zelllinien des Immunsystems verantwortlich. Darunter fällt auch die Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ.

Für eine Unteraktivierung des Th1-Systems bei schizophrenen Patienten spricht am deutlichsten der wiederholt reproduzierte Befund einer erniedrigten IL-2-Produktion

(Villemain et al., 1989; Ganguli et al., 1995; Hornberg et al., 1995; Cazzullo et al., 1998). Ebenfalls erniedrigt zeigte sich mehrfach die IFN- γ -Produktion bei Patienten mit einer schizophrenen Psychose (Moises et al., 1985; Hornberg et al., 1995; Wilke et al., 1996). Ein weiterer Hinweis auf eine Defizienz im Th1-System schizophrener Patienten besteht in einer geschwächten Reaktion auf intrakutan verabreichte Impfsereen und auf in vitro Stimulation mit spezifischen, Th1-abgängigen Antigenen (Molholm, 1942; Müller et al., 1991).

1.4.2 Th2-System

Die wichtigsten Zytokine, die von Th2-Helferzellen gebildet werden, sind Interleukin-4 (IL-4), Interleukin-5 (IL-5), Interleukin-6 (IL-6) und Interleukin-10 (IL-10). IL-4 fördert die Produktion von IgE, IL-5 die Aktivierung von eosinophilen Granulozyten. IL-6 bewirkt die Proliferation reifer B-Zellen und fördert ihre Fähigkeit zur Antikörperproduktion. Insgesamt sind die Zytokine des Th1-Systems somit vor allem für die humorale, Phagozyten-unabhängige Abwehr zuständig. Hierunter fällt u.a. auch die Abwehr von Parasiten und die IgE-vermittelte allergische Reaktion vom anaphylaktischen Typ. Wichtig ist zu erwähnen, dass sowohl IL-10 als auch IL-4 die Zell-vermittelte Immunität hemmen und somit eine regulatorische Funktion auf das Th1-Zytokin-System besitzen.

Auf eine Überaktivierung des Th2-Systems bei schizophrenen Patienten deutet der mehrfach erhöht gemessene IL-6-Spiegel im Serum Schizophrener hin (Ganguli et al., 1994b; Maes et al., 1995; Frommberger et al. 1997; Lin et al., 1998). Dabei gab es durchaus Arbeitsgruppen, die keinen Unterschied bezüglich des IL-6-Spiegels schizophrener Patienten gegenüber gesunden Kontrollen fanden (Monteleone et al., 1997; Kim et al., 1998). Eine erhöhte in vitro Produktion von IL-10 wurde bei schizophrenen Patienten gefunden (Cazzullo et al., 1998). Eine Erhöhung von IL-4 wurde im Liquor juveniler Schizophrener im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen festgestellt (Mittleman et al., 1997). Zumindest bei einer Untergruppe schizophrener Patienten zeigten sich erhöhte Serum-IgE-Spiegel (Ramchand et al., 1994).

Die genannten Befunde sprechen ebenfalls für ein Überwiegen der humoralen gegenüber der Zell-vermittelten Immunität beim Krankheitsbild der Schizophrenie.

1.4.3 Bedeutung der Th1/Th2-Imbalance

In diesem Zusammenhang ist wichtig zu erwähnen, dass alle o.g. Zytokine sowohl aktiv über die Blut-Hirn-Schranke transportiert als auch direkt im ZNS von Astrozyten oder Mikroglia gebildet werden können und eine enge Verbindung zum Neurotransmitter-metabolismus aufweisen (Müller, 1997a). So haben IL-2 und IL-6 in vitro eine direkte Wirkung auf die Ausschüttung von Dopamin (Lapchak, 1992; Zalcman et al., 1994). Durch die Gabe von IL-2 können psychotische Symptome ausgelöst werden (Denicoff

et al., 1987). Darüber hinaus besitzt IL-6 eine Wirkung auf Hypothalamus und Hypophyse und dadurch auf das endokrine System (Spangelo et al., 1989). Somit ist gut vorstellbar, dass ein Ungleichgewicht im Zytokinsystem mit dem Auftreten schizophrener Symptome gekoppelt sein kann.

Für die Ursache der Th2-Dominanz bei der Schizophrenie gibt es mehrere Erklärungsmöglichkeiten. So kann z.B. die o.g. Überaktivität im unspezifischen Immunsystem schizophrener Patienten dafür verantwortlich sein. Aktivierte Monozyten und Makrophagen sind die Hauptproduzenten von IL-6 und könnten zu einem Th2-Shift beitragen. Des Weiteren ist beschrieben, dass unspezifischer Stress eine Aktivierung des Th2-Helferzell-Systems induzieren kann (Decker et al., 1996; Nakano et al., 1998). Frommberger fand erhöhte IL-6-Spiegel im akuten Erkrankungsstadium sowohl bei schizophrenen als auch bei depressiven Patienten mit Normalisierung der Werte nach Remission (Frommberger et al., 1997). Die Th2-Stimulation durch IL-6 könnte auch hier durchaus mit einer unspezifischen Stressreaktion in Zusammenhang gebracht werden. Eine Th1/Th2-Imbalance mit Th2-Übergewicht wird häufig bei humoral vermittelten Autoimmunerkrankungen wie z.B. dem systemischen Lupus erythematoses oder der Sklerodermie beobachtet (Singh et al., 1999). Dies spräche wiederum für einen humoral vermittelten Autoimmunmechanismus bei der Pathogenese der Schizophrenie. Interessant ist, dass Zell-vermittelte Autoimmunerkrankungen, die eher als Th1-dominiert gelten, wie z.B. die rheumatoide Arthritis oder der insulinabhängige Diabetes mellitus eine negative Assoziation zur Schizophrenie aufweisen (Oken und Schulzer, 1999; Finney, 1989). Wagner von Jauregg, einer der Pioniere der Psychoneuroimmunologie, veröffentlichte 1926 seine Ergebnisse zur Fieberbehandlung bei Psychosen (Wagner von Jauregg, 1926). Grundlage für sein Therapiekonzept war die Beobachtung, dass psychiatrische Patienten, die an Typhus erkrankt waren, nach ihrer Genesung auch hinsichtlich ihrer psychiatrischen Symptomatik profitiert hatten. Er führte daraufhin Impftherapien mit attenuierten Stämmen von *Salmonella typhi*, *Plasmodium malariae* und *Mycobacterium tuberculosis* mit dem Ziel, psychiatrische Symptome zu verbessern, durch. Interessanterweise induzieren alle drei Erreger eine Aktivierung der Th1-Immunantwort (Ramathinam et al., 1993; Winkler et al., 1998; Flesch et al., 1995).

1.5 Nichtsteroidale Antirheumatika in der Therapie der Schizophrenie

Die in den vorangegangenen Kapiteln beschriebenen Veränderungen im Immunsystem schizophrener Patienten können allgemein als entzündlich angesehen werden. Auch wenn die Ursache ihres Auftretens noch nicht ganz geklärt ist, erscheint es folgerichtig, eine anti-inflammatorische Therapie zusätzlich zur etablierten Neuroleptikatherapie bei schizophrenen Psychosen zu versuchen.

Hinweise auf eine mögliche Wirksamkeit nichtsteroidaler Antirheumatika (NSAR) auf die schizophrene Symptomatik können Voruntersuchungen zur starken negativen Assoziation zwischen der Schizophrenie und der rheumatoiden Arthritis liefern (Vinogradov

et al., 1991; Oken und Schulzer 1999). Der vielfach reproduzierte Befund, dass bei Patienten mit einer rheumatoiden Arthritis die Wahrscheinlichkeit für das gleichzeitige Erkranken an einer schizophrenen Psychose deutlich reduziert ist, könnte möglicherweise auf die häufige Einnahme von NSAR bei dieser Patientengruppe zurückzuführen sein.

Nichtsteroidale Antirheumatika vermindern durch Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase die Prostaglandinsynthese. Die antiphlogistische Wirkung beruht dabei vor allem auf der verminderten Synthese des Entzündungsmediators Prostaglandin E₂ (PGE₂) durch die Cyclooxygenase-2. Für unsere Studie wurde Celecoxib, ein selektiver COX-2-Inhibitor, ausgewählt, da dieser ZNS-gängig ist und bei guter Wirksamkeit geringere gastrointestinale Nebenwirkungen gegenüber nicht selektiven Substanzen aufweist (FitzGerald und Patrono, 2001).

Interessanterweise sind bei schizophrenen Patienten sowohl erhöhte PGE₂-Spiegel als auch eine Überaktivität der Cyclooxygenase beschrieben (Kaiya et al., 1989; Das und Khan, 1998). So behandelte Falloon 10 schizophrene Patienten mit Acetaminophen unter der Annahme, dass psychotische Symptome mit einer Überaktivität von PGE₂ im Hypothalamus in Verbindung stehen (Falloon et al., 1978). Leider konnte der gewünschte Effekt auf die Psychopathologie der Patienten nicht erzielt werden. Kaiya therapierte insgesamt 15 schizophrene Patienten mit PGE₁, wovon zumindest 6 Patienten profitieren konnten (Kaiya et al., 1987). Als möglichen Wirkmechanismus schlägt er eine Verringerung des initial erhöhten PGE₂-Spiegels durch PGE₁-Gabe vor, die zu einer Verbesserung der schizophrenen Symptomatik führt. Insgesamt handelt es sich um sehr geringe Patientenzahlen, weitere Voruntersuchungen zu diesem Thema fehlen.

In unserem Zusammenhang ist wichtig, dass NSAR auf der Ebene der Zytokinproduktion *in vitro* zu einer Erhöhung der Th1-Zytokine IL-2, IFN- γ und TNF- α und zu einer Verminderung der Th2-Zytokine IL-6 und IL-4 führen (Tsuboi et al., 1995). Sie wirken somit dem Shift zum Th2-System entgegen, der möglicherweise der Entstehung der Schizophrenie zugrunde liegt.

Allerdings wurde auch vom Auftreten psychotischer Symptome unter Therapie sowohl mit Indometacin als auch mit Celecoxib berichtet (Katz et al., 2002; Lantz und Giambanco, 2000).

1.6 Immunmodulatorische Effekte neuroleptischer Therapie

Vielfach wurden immunmodulatorische Effekte verschiedenster Neuroleptika beschrieben. Immer stellte sich die Frage, ob die neuroleptische Medikation Auslöser der immunologischen Veränderungen sei oder ob zuvor existierende Auffälligkeiten im Immunsystem Schizophrener durch die antipsychotische Therapie ausgeglichen werden könnten. Für die erstgenannte Theorie spricht z.B. die Tatsache, dass bei chronisch

schizophrenen Patienten unter langdauernder neuroleptischer Medikation ein erhöhtes Auftreten von Autoantikörpern gefunden wurde (Gallien et al., 1977; Canoso et al., 1990; Chengappa et al., 1991; Schwartz et al., 1999). Dieser Effekt wurde bei den verschiedensten neuroleptischen Substanzklassen beobachtet und mehrfach reproduziert, wobei vermutet wird, dass das Neuroleptikum die Antikörperproduktion induziert.

Andere Studien zeigen, dass primär bestehende Immunveränderungen durch die antipsychotische Therapie ausgeglichen werden können. So fand z.B. Sperner-Unterweger einen Abfall der primär erhöhten T-Helferzellen und einen Anstieg der primär erniedrigten NK-Zellen bei Schizophrenen während des Therapieverlaufes (Sperner-Unterweger et al., 1999). Kowalski stellte fest, dass sich die Überaktivität im Monozyten-System bei Schizophrenen unter neuroleptischer Therapie normalisierte (Kowalski et al., 2001).

Einige Befunde sprechen auch für eine ausgleichende Rolle der neuroleptischen Medikation auf die oben beschriebene Th1/Th2-Imbalance. So wurde sowohl eine Zunahme der Th1-Zytokine IL-2 und IFN- γ (Wilke et al., 1996; Rudolf et al., 2002) als auch eine Abnahme des Th2-Zytokins IL-6 (Maes et al., 1995; Lin et al., 1998) unter antipsychotischer Medikation bei schizophrenen Patienten festgestellt.

Insgesamt betrachtet sind die Vorbefunde zur Wirkung der Neuroleptika auf das Immunsystem nicht einheitlich, was jedoch nicht verwundert, da es sich um biochemisch völlig unterschiedliche Substanzklassen handelt.

In unserer Studie wurden alle Patienten mit dem Atypikum Risperidon therapiert, das sowohl auf die Positiv- und die Negativsymptomatik der Schizophrenie effektiv wirkt, gut in der psychiatrischen Therapie etabliert ist und im Vergleich zu typischen Neuroleptika geringe Nebenwirkungen aufweist (Marder und Meibach, 1994; Möller et al., 1998). Risperidon gehört zur Klasse der Benzisoxazole. Die antipsychotische Wirkung beruht dabei vor allem auf einer Hemmung der Dopamin- (D_2) und Serotonin- ($5-HT_{2A}$) Rezeptoren im mesolimbischen System. Des Weiteren führt Risperidon zu einer Blockade an α_1 -Adrenorezeptoren und Histamin- (H_1) Rezeptoren mit den möglichen Nebenwirkungen einer orthostatischen Dysregulation und Sedierung. Die Interaktion am muskarinergen Acetylcholin-Rezeptor (AChM) ist zu vernachlässigen.

Immunmodulatorische Effekte sind bislang für Chlorpromazin und Clozapin beschrieben, weniger z.B. für Haloperidol (Pollmächer et al., 2000). Die Wirkung von Risperidon auf das Immunsystem schizophrener Patienten ist noch weitgehend unbekannt und bietet daher ein interessantes Forschungsgebiet.

1.7 Zielsetzung der Arbeit

Mit Hilfe einer Placebo-kontrollierten Studie sollte untersucht werden, ob schizophrene Patienten von einem entzündungshemmenden Medikament, das zusätzlich zu einem etablierten Neuroleptikum verabreicht wird, in der Verbesserung ihrer psychopathologischen Symptomatik profitieren können.

Das Ziel dieser Arbeit besteht darin, die Veränderungen im zellulären Immunsystem im peripheren Blut der untersuchten Patienten während der 5-wöchigen Therapie zu beschreiben.

Da alle Patienten mit dem atypischen Neuroleptikum Risperidon behandelt wurden bietet sich die Möglichkeit, die Wechselwirkungen dieser Substanz mit dem Immunsystem Schizophrener näher zu betrachten. Weiter soll die Einwirkung des COX-2-Inhibitors Celecoxib auf das zelluläre Immunsystem durch Vergleich von Medikamenten- und Placebogruppe über 5 Wochen untersucht werden.

Erhofft werden Aufschlüsse über die Wirkungsweise beider Medikamente bei vermutter immunologisch (mit-)bedingter Pathogenese der Schizophrenie, sowie mögliche Sekundäreffekte des Neuroleptikums auf das Immunsystem.

Zusammenhänge zwischen Veränderungen in der Psychopathologie und im Immunsystem sollen aufgedeckt werden. Mit Hilfe der immunologischen Parameter sollen Patienten identifiziert werden, die besonders gut auf die Therapie mit einem der beiden Medikamente ansprechen.

Die Zellen des Immunsystems wurden mittels Durchflusszytometrie bestimmt.

Um einen Überblick über das zelluläre Immunsystem der untersuchten Patienten zu gewinnen, wurden Monozyten und NK-Zellen als Repräsentanten für das unspezifische Immunsystem bestimmt. Von den Zellen des spezifischen Immunsystems wurden die T-Lymphozyten mit ihren Untergruppen T-Helferzellen und zytotoxische T-Zellen und die B-Lymphozyten mit dem Anteil der B1-Population gemessen .

2 Patienten und Methoden

2.1 Patienten und Studiendesign

Bei der Studie handelte es sich um eine prospektive, doppelblinde Parallelgruppenuntersuchung bei schizophrenen Patienten, die randomisiert entweder der Behandlungsgruppe (Risperidon plus Celecoxib) oder der Kontrollgruppe (Risperidon plus Placebo) zugeordnet wurden.

50 schizophrene Patienten wurden im Rahmen der Studie untersucht. Bei allen erfolgte die stationäre Aufnahme in die Psychiatrische Klinik der LMU München aufgrund eines akuten Schubes einer schizophrenen Psychose. Die Diagnose der Schizophrenie wurde von zwei unabhängigen Psychiatern nach den Kriterien des DSM-IV gestellt. Die Studie wurde von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der LMU München genehmigt. Die Patienten wurden nach den dort festgelegten Richtlinien aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis.

Nach ausführlicher Diagnostik wurden 25 Patienten (11 weiblich, 14 männlich) der Celecoxibgruppe und 25 weitere (14 weiblich, 11 männlich) der Placebogruppe zugeteilt. Das Alter der Patienten betrug zwischen 18 und 65 Jahren. Der Altersdurchschnitt lag in der Celecoxibgruppe bei 35,9 Jahren ($\pm 12,8$), in der Placebogruppe bei 35,5 Jahren ($\pm 13,6$). 16 Patienten wurden erstmalig stationär-psychiatrisch mit der Diagnose einer schizophrenen Psychose aufgenommen (je 8 in der Celecoxib- bzw. in der Placebogruppe). Im Durchschnitt handelte es sich sowohl bei den Patienten der Celecoxibgruppe ($2,9 \pm 4,1$) als auch bei denen der Placebogruppe ($3,0 \pm 2,0$) um die jeweils dritte Krankheitsepisode. Die durchschnittliche Erkrankungsdauer betrug in der Celecoxibgruppe 91 Monate (± 110) und in der Placebogruppe 114 Monate (± 129). Bei den meisten Patienten war die Diagnose eine paranoid-halluzinatorische Form der Schizophrenie (19 in der Celecoxib- bzw. 14 in der Placebogruppe). Bezüglich des Alters, des Geschlechtes und der Erkrankungsdauer bestanden also zwischen der Behandlungs- und der Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede (Müller et al., 2002).

12 Patienten nahmen 3 Monate oder länger keine Neuroleptika vor Aufnahme in die Studie ein. Bei Patienten, die unter oraler Neuroleptikatherapie standen, musste die letzte Einnahme mindestens 48 Stunden zurückliegen. Bei Depotmedikation musste mindestens ein Injektionsintervall bis zum Einschluss in die Studie abgelaufen sein. Zur Überbrückung dieser Zeit wurden bei Bedarf Benzodiazepine gegeben.

Die Patienten erhielten nun eine flexible, der Stärke der Symptomatik angepasste Dosis an Risperidon zwischen 2 und 6 mg pro Tag, beginnend mit 2 mg pro Tag. Die Celecoxibdosis betrug 400 mg pro Tag, jeweils 200 mg morgens und abends. Die Patienten der Placebogruppe erhielten identisch aussehende Kapseln, ebenfalls morgens und abends,

jedoch ohne Wirkstoff. Bei Auftreten extrapyramidaler Nebenwirkungen unter Neuroleptikatherapie stand Biperiden zur Verfügung, bei Erregungs- oder Angstzuständen wurden Benzodiazepine verabreicht, hier zumeist Lorazepam.

Zur Überprüfung der Compliance und des Risperidonmetabolismus wurde der Plasmaspiegel sowohl von Risperidon als auch von 9-Hydroxyrisperidon, dem aktiven Metaboliten, bei allen Patienten einmal pro Woche bestimmt. Bezüglich der erhaltenen Risperidondosis, des Risperidon- sowie des 9-Hydroxyrisperidonspiegels wichen die Behandlungs- und die Kontrollgruppe zu keinem Zeitpunkt voneinander ab. Dies bedeutet, dass ein unterschiedliches Ansprechen auf die Therapie nicht durch eine unterschiedliche Verstoffwechslung von Risperidon bedingt sein konnte (Müller et al., 2002).

Auch im Auftreten extrapyramidaler Nebenwirkungen unterschieden sich die Patienten beider Gruppen nicht, die Verordnung von Biperiden war in der Celecoxib- und in der Placebogruppe vergleichbar. Die Patienten der Celecoxibgruppe benötigten im Schnitt weniger Benzodiazepine im Vergleich zu denen der Placebogruppe. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant (Müller et al., 2002).

Der Beobachtungszeitraum der Studie betrug insgesamt 5 Wochen, wobei das Erheben des psychopathologischen Befundes und das Erfassen von Nebenwirkungen in wöchentlichen Abständen durchgeführt wurde.

7 Patienten schieden vorzeitig aus der Studie aus. 4 von ihnen befanden sich in der Celecoxibgruppe (1 weiblich, 3 männlich) und 3 in der Placebogruppe (2 weiblich, 1 männlich). Gründe hierfür waren entweder mangelnder Therapieerfolg oder das Auftreten nicht tolerierbarer Nebenwirkungen.

Da die Untersuchung des zellulären Immunsystems schizophrener Patienten unter Studienmedikation im Zentrum der vorliegenden Arbeit steht, wurden die o.g. Aspekte teilweise nicht ausführlicher dargestellt. Bezüglich der statistischen Auswertung der allgemeinen Patientendaten, Begleitmedikation sowie Nebenwirkungen wurde daher auf die Publikation der klinischen Daten verwiesen (Müller et al., 2002).

Eine Übersicht über die Patientendaten befindet sich im Anhang (Kapitel 7.1).

2.2 Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)

Für das wöchentliche Erfassen der Psychopathologie wurde ein standardisiertes Bewertungsverfahren, die „Positive and Negative Syndrome Scale“ (PANSS) für schizophrene Psychosen, angewandt (Kay et al., 1987).

Auf der Plus-Skala wird hierbei die Stärke der produktiv psychotischen Symptome (7 Items) erfasst, wie z.B. Wahn und Halluzinationen, auf der Minus-Skala (7 Items) die Ausprägung der Negativ-Symptomatik, wie z.B. Affektverarmung und Kontaktmangel. Zusätzlich wird die allgemeine Psychopathologie (16 Unterpunkte) beurteilt, zu der z.B. Angst oder Depressivität im Rahmen einer schizophrenen Psychose zählen.

In allen Unterpunkten kann der Patient je nach Ausprägung einen Wert von 1 (= nicht vorhanden) bis 7 (= extrem vorhanden) erreichen. Zählt man die Punktwerte aller Skalen zu einem PANSS-Gesamtwert zusammen, so können theoretisch Werte zwischen 30 (30 Items x 1) und 210 (30 Items x 7) Punkten erzielt werden.

Alle an der Studie beteiligten Rater nahmen an einem Training teil, um eine möglichst standardisierte Beurteilung nach festgelegten Kriterien zu erreichen.

Ein exemplarischer Bewertungsbogen befindet sich im Anhang (Kapitel 7.2).

2.3 Immunologische Methoden

Parallel zur Erhebung der Psychopathologie wurde einmal wöchentlich bei jedem Patienten Blut in ein EDTA-Röhrchen entnommen. Die Blutabnahme erfolgte jeweils zwischen 9 und 11 Uhr vormittags unter sterilen Bedingungen. Die Proben wurden sofort weiterverarbeitet, im Dunkeln bei Raumtemperatur gelagert und spätestens bis zum Nachmittag analysiert.

Die Zellen des Immunsystems wurden mittels Durchflusszytometrie bestimmt.

Zur Unterscheidung in einzelne Leukozytenuntergruppen dienen die CD-Antigene (CD = „Cluster of Differentiation“). Dies sind charakteristische Moleküle auf der Zelloberfläche bestimmter Leukozytenpopulationen, die mit Hilfe monoklonaler Antikörper markiert werden können und die Zelle identifizieren. Alle in der Arbeit beschriebenen CD-Antigene wurden in der unten folgenden Tabelle zusammengefasst (Tabelle 1).

Stellvertretend für das unspezifische Immunsystem wurden Monozyten (CD14+) und NK-Zellen (CD16+/56+) bestimmt. Von den Zellen des spezifischen Immunsystems wurden die T-Lymphozyten (CD3+) mit den Subpopulationen T-Helferzellen (CD3+/4+) und zytotoxische T-Zellen (CD3+/8+) und die B-Lymphozyten (CD19+) mit dem Anteil der B1-Population (CD19+/5+) gemessen.

Alle Zellpopulationen, für die fertige Antikörper-Vierfach-Mischungen im Handel sind (MultiTEST™), wurden mit Hilfe der MultiSET™-Analyse bestimmt. War dies nicht der Fall, so wurden die Antikörperkombinationen selbst zusammengestellt und die Zellen mittels CellQuest™-Software analysiert.

CD-Antigen	Identifiziert	Erkannte Membranstruktur
CD3	T-Lymphozyten	Epsilon-Kette des T-Zell-Rezeptor-Komplexes
CD4	T-Helferzellen	Korezeptor für MHC-Klasse-II-Moleküle
CD5	T-Lymphozyten, Untergruppe von B-Lymphozyten	67-kDa-Transmembran-Antigen (Leu-1)
CD8	Zytotoxische T-Zellen	Korezeptor für MHC-Klasse-I-Moleküle
CD14	Monozyten	LPS (Lipopolysaccharid-Rezeptor)
CD16	NK-Zellen, Granulozyten, Makrophagen	Fc-Rezeptor für IgG
CD19	B-Lymphozyten	90-kDa-Antigen auf B-Zellen
CD45	Leukozyten	Leukozytenantigen der LCA-Familie (Leucocyte Common Antigen)
CD56	NK-Zellen	Ig-ähnlicher Bereich des NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule)

Tabelle 1: Alle in der Studie verwendeten CD-Antigene mit den wichtigsten Zellpopulationen, die durch sie identifiziert werden und der Membranstruktur, die von den entsprechenden anti-CD-Antikörpern erkannt wird.

2.3.1 Färben der Zellen

Zur Färbung der Zellen werden monoklonale Antikörper verwendet, die direkt an bestimmte Fluoreszenzfarbstoffe gekoppelt sind. Die Antikörper reagieren spezifisch mit Oberflächenmolekülen von Zellen, in unserem Fall mit CD-Antigenen auf Leukozyten, die über diese Antikörper-Bindung mit einem Farbstoff gekennzeichnet werden. Nach Messen der Fluoreszenz kann somit die Zelle charakterisiert werden. Eine Unterscheidung in Lymphozyten mit den entsprechenden Subpopulationen wird möglich.

Um eine optimale Färbung der Lymphozyten mit den Antikörpern zu erreichen, müssen verschiedene Bedingungen erfüllt sein. Es muss ein optimales Färbenvolumen von etwa 50-110 μl und eine Zellkonzentration von 10^6 bis $10^7/\text{ml}$ vorliegen, um eine gute Bindung zwischen Oberflächenantigen und Antikörper zu ermöglichen. Die Konzentration der verwendeten Antikörper spielt eine ebenso wichtige Rolle. Zu niedrige Antikörperkonzentrationen führen zu einer schlechten Unterscheidung von positiven und negativen Zellen, eine zu hohe Konzentration fördert die Ausbildung nicht-spezifischer Antikörper-Kreuzreaktionen und führt somit zu falsch-positiven Ergebnissen. Ein weiterer Parameter ist die Färbezeit, die in einem Bereich liegen sollte, in dem sich möglichst viele hoch-affine Antigen-Antikörper-Reaktionen schon abgespielt und sich niedrig-affine Verbindungen, die meist längere Zeit benötigen, noch nicht ausgebildet haben. Dieser

Bereich beträgt etwa 10 bis 15 Minuten. Die Inkubation muss - um die Fluoreszenzstoffe nicht vor der Messung auszubleichen - im Dunkeln erfolgen.

MultiSET™-Analyse

Für die MultiSET™-Analyse wurden Kits verwendet, in denen die Antikörper in einer vom Hersteller vorgefertigten und gut erprobten Vierfach-Mischung vorliegen. Verwendet wurden zwei Vierfarben-Reagenzien:

Antikörper-Mischung 1:

MultiTEST™ CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PerCP/CD4-APC

Antikörper-Mischung 2:

MultiTEST™ CD3-FITC/CD16+CD56-PE/CD45-PerCP/CD19-APC

Die Probenvorbereitung erfolgte nach Anleitung des Herstellers. Als Reagenzgefäße dienten TruCOUNT™-Röhrchen, die eine direkte Bestimmung der absoluten Zellzahl der Lymphozyten ermöglichen. Dabei wurden 20 µl der jeweiligen Antikörpermischung in das Röhrchen pipettiert und 50 µl Vollblut hinzugegeben. Die Probe wurde auf dem Vortex™-Mischer gemischt und 15 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert.

CellQuest™-Analyse

Für die CellQuest™-Analyse wurde das Färbervolumen auf 110 µl festgelegt. Die Antikörper-Vierfach-Mischung wurde selbst hergestellt, wobei die optimale Konzentration der einzelnen Antikörper durch Titration ermittelt wurde.

Diese erfolgte unter standardisierten Bedingungen, also bei konstanter Zellkonzentration, Volumen und Zeit, nur unter Variation der Konzentration des einzelnen Antikörpers. Es wurden Verdünnungen von 1:10, 1:40 und 1:100 getestet, der beste Bereich definiert und dann eine Mischung aus den vier verwendeten Antikörpern hergestellt. Die Mischung wurde erneut analysiert, um gegebenenfalls nochmals Korrekturen vornehmen zu können.

Ermittelte Verdünnungen:

CD16-FITC	1 : 11
CD14-PE	1 : 44
CD19-PerCP	1 : 22
CD5-APC	1 : 44

Für die Messungen wurden 20 µl der Antikörpermischung zu 90 µl Vollblut gegeben, auf dem Vortex™-Mischer gemischt und dann 10 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert.

2.3.2 Lyse der Erythrozyten

Vor der Analyse von Lymphozyten in Vollblutproben mittels Durchflusszytometer müssen die vorhandenen Erythrozyten lysiert werden.

Nach Vergleich eines Lyseverfahrens mit anschließendem Waschen der Zellen mit einem Lyseverfahren ohne Waschprozedur wurde letzteres gewählt, da dieses einen deutlich geringeren Arbeitsaufwand bedeutete, die Messungen jedoch nahezu identische Ergebnisse lieferten. Verwendet wurde Uti-Lyse™ Lyse-Reagenz.

Für die Proben zur MultiSET™-Analyse erfolgten die Arbeitsschritte wiederum nach Anleitung des Herstellers. Dies bedeutet, dass zur gefärbten Probe 40 µl des Reagenz A der Lyselösung, nach weiteren 10 Minuten Inkubationszeit 410 µl des Reagenz B der Lyselösung beigefügt wurden. Für die CellQuest™-Analyse wurden zur gefärbten Probe 100 µl des Reagenz A der Lyselösung gegeben, nach 10-minütiger Inkubation 1 ml des Reagenz B der Lyselösung. Nach nochmaliger Inkubation von 10 Minuten und Mischen auf dem Vortex™-Mischer waren die Proben zur Akquisition bereit.

2.3.3 Messung mittels Durchflusszytometer

2.3.3.1 Durchflusszytometer

Das Durchflusszytometer ist ein optisches Meßsystem, das einzelne Partikel aufgrund ihrer Streulicht- und Fluoreszenzsignale analysiert. Das Verfahren wurde in den 60er und 70er Jahren von unterschiedlichen Arbeitsgruppen zur Messung von Tumorzellen, Lymphozyten und Bakterien entwickelt. Wir arbeiteten mit dem Gerät FACSCalibur™ (FACS = Fluorescence Activated Cell Scanner) der Firma BD Biosciences, das sowohl zur Routinediagnostik als auch zu spezifischen Forschungszwecken genutzt werden kann. Das Gerät ist mit zwei verschiedenen Lasern ausgestattet und somit zur Vierfarbenanalyse fähig.

Die zu messenden Zellen werden über ein Flüssigkeitssystem zur Messkammer geleitet, die sie einzeln passieren. Es erfolgt eine Addition vieler aufeinanderfolgender Einzelmessungen. Die Zellen werden dort mit einem fokussierten Lichtstrahl in Kontakt gebracht, in unserem Fall mit einem 488 nm Argonlaser und einem 635 nm Diodenlaser. Wichtig ist hierbei, dass das Emissionsspektrum der Laser im Absorptionsbereich der verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe liegt. Nach Anregung durch die Lichtquelle senden die Zellen zum einen Streulichtsignale zum anderen Fluoreszenzsignale aus, die vom Detektionsteil des optischen Systems erfasst werden (Abbildung 1).

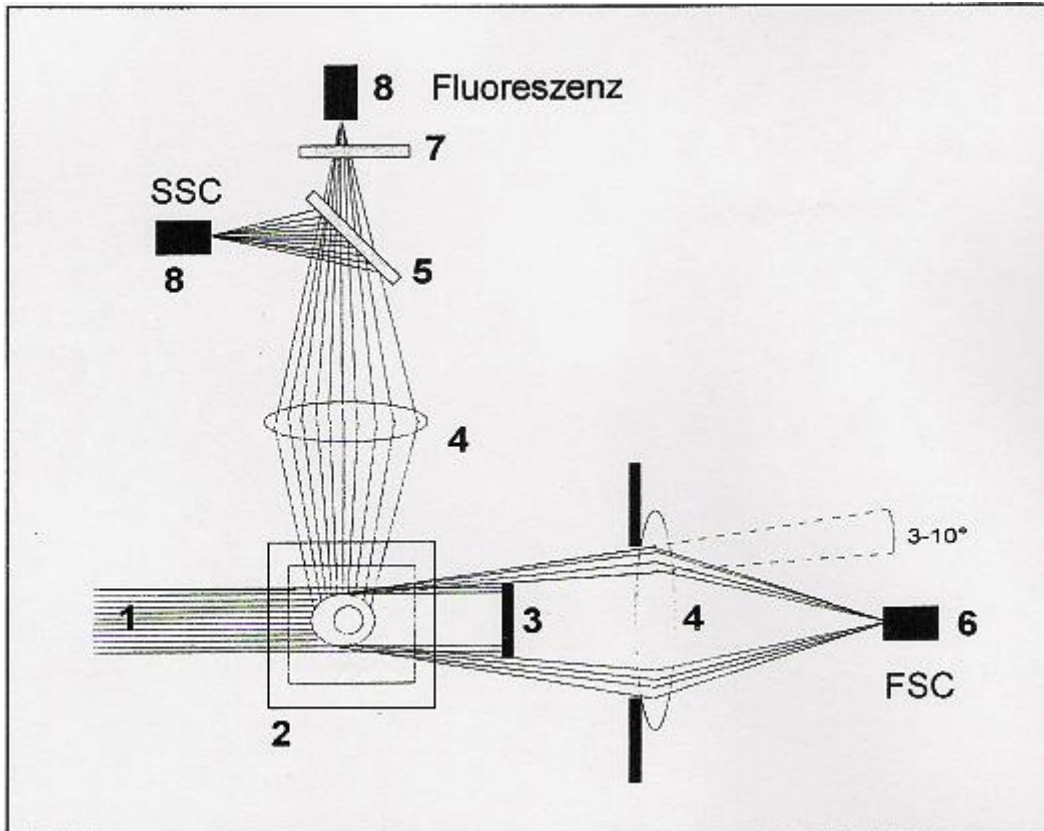


Abbildung 1: Optisches System eines Durchflusszytometers (1=Laserstrahl, 2=Quarzglasküvette, 3=Blockerstreifen, 4=Sammellinse, 5=Teilerspiegel, 6=Photodiode, 7=Lichtfilter, 8=Photomultiplier)

Streulicht

Mit Hilfe der ausgesendeten Streulichtsignale können Zellen aufgrund ihrer Größe und Granularität charakterisiert werden. Dabei gibt das Vorwärtsstreulicht (FSC = Forward Angle Light Scatter, 0-10 Grad) vor allem Informationen über Zellgröße, das Seitwärtsstreulicht (SSC = Side Scatter, 90 Grad) vor allem Auskunft über Granularität, äußere Form und Membranfaltung der Zelle.

Mit Hilfe dieser Informationen können Leukozyten in die Untergruppen Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten aufgeteilt werden.

Fluoreszenz

Unter Fluoreszenz versteht man die rasch abklingende Lichtemission von Molekülen nach Absorption energiereicher Strahlung. Wie in der Probenvorbereitung beschrieben, wurden einzelne Leukozyten-Untergruppen mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert.

Nach Anregung durch die Laser sendet jeder dieser Farbstoffe Licht einer ganz bestimmten Wellenlänge aus (Tabelle 2).

	Farbstoff	Emission	Anregung durch
1	Fluorescein-Isothiocyanat - FITC	530 nm	Argonlaser (488 nm)
2	Phycoerythrin - PE	585 nm	Argonlaser (488 nm)
3	Peridinin-Chlorophyll-Protein - PerCP	670 nm	Argonlaser (488 nm)
4	Allophycocyanin - APC	661 nm	Diodenlaser (635 nm)

Tabelle 2: Verwendete Fluoreszenzfarbstoffe mit zugehörigem Absorptions- und Emissionsspektrum

Nach Aufnahme der Fluoreszenzsignale kann eine Unterscheidung von Lymphozyten in die einzelnen Subpopulationen erfolgen.

FSC, SSC und die vier Fluoreszenzen werden vom Detektionsteil des optischen Systems des Durchflusszytometers getrennt erfasst. Mittels Photodioden und Photomultiplier werden die optischen in elektrische Signale umgewandelt. Die Streulichtsignale werden linear, die Fluoreszenzen logarithmisch verstärkt.

2.3.3.2 Vorbereitung des Gerätes

Das Durchflusszytometer wurde vor jeder Benutzung auf die gleiche Weise vorbereitet und nach jeder Messung gereinigt und desinfiziert.

Einmal wöchentlich wurde zum Justieren der Instrumenteneinstellung eine Kalibrierung durchgeführt. Hierzu wurde aus CaliBRITE™ Mikropartikeln nach Anleitung des Herstellers eine Testsuspension zur Vierfarbenanalyse vorbereitet. Diese wurde mittels FACSCComp™ Software analysiert. Die Mikropartikel in Suspension verhalten sich dabei ähnlich wie ungefärbte Zellen, bzw. wie Zellen, die mit dem entsprechenden Farbstoff gekoppelt sind und dienen so der Instrumenteneinstellung, bevor Patientenproben an dem Gerät gemessen werden. Ein wichtiger Punkt ist hierbei die Einstellung der Fluoreszenzkomensation. Auch wenn der Emissionsbereich zweier Farbstoffe zu stark überlappen sollte, wird mit Hilfe der Kompensationsmechanismen trotzdem eine sichere Abgrenzung der beiden betroffenen Zellpopulationen gewährleistet. Dies ist vor allem bei Mehrfarbenanalysen von enormer Bedeutung (Abbildung 2).

Eine weitere Aufgabe der Kalibrierung besteht in der Optimierung der Instrumentenempfindlichkeit.

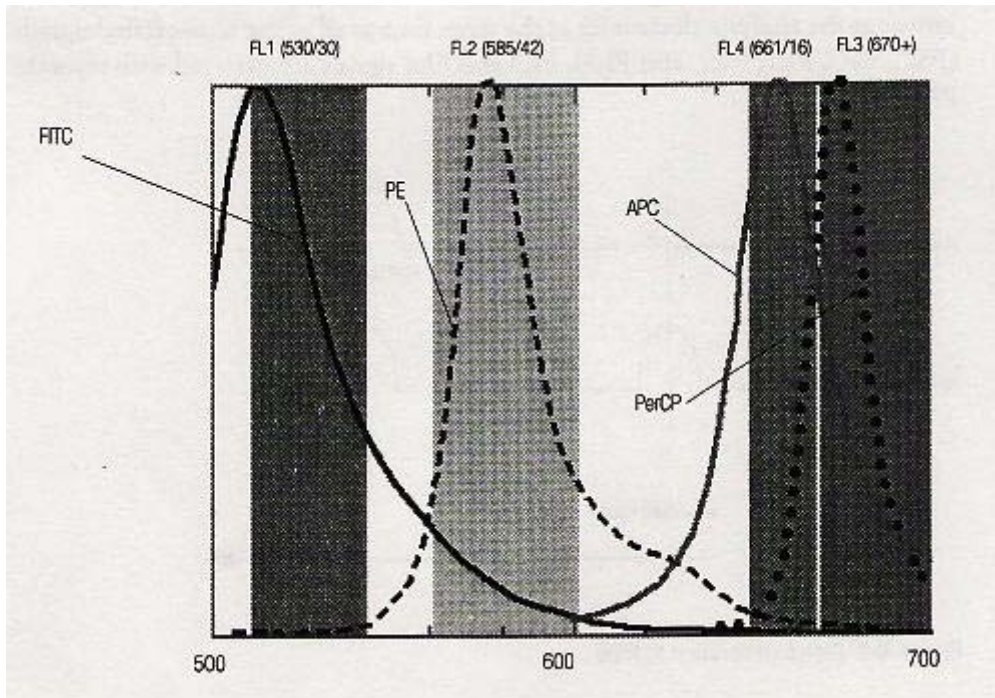


Abbildung 2: Spektrale Überlappung der verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe: FL1=FITC 530 nm, FL2=PE 585 nm, FL3=PerCP 670 nm, FL4=APC 661nm.

2.3.3.3 Datenaufnahme- und analyse

MultiSET™-Analyse

Die MultiSET™ Software ist ein stark automatisiertes Programm, das nach Akquisition der Probe selbständig die Population der gemessenen Lymphozyten definiert. Diesen Prozess des Eingrenzens einer bestimmten, weiter zu untersuchenden Gruppe nennt man „Gaten“. Bei MultiSET™ erfolgt dies zum einen über Messen des Seitwärtsstreulichts (SSC), d.h. der Zellgranularität, mit Hilfe dessen die Lymphozyten gegenüber Granulozyten, Monozyten und lysierten Erythrozyten, also Zelldebris abgegrenzt werden können. Des Weiteren wird der CD45-Marker genutzt, der sich auf allen Leukozyten befindet, am stärksten aber auf Lymphozyten exprimiert ist, so dass im gesetzten Gate kernhaltige oder noch nicht lysierte Erythrozyten ausgeschlossen werden können. Das Verwenden des CD45-PerCP-Markers zum Bestimmen des Gates wird als „Fluoreszenz-Triggering“ bezeichnet. Die folgende Abbildung zeigt das Eingrenzen des Lymphozyten-Gates in der Antikörper-Mischung 1 (Abbildung 3).

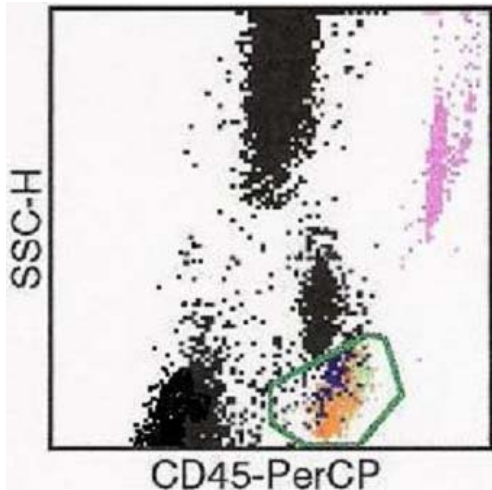


Abbildung 3: Punktwolkendiagramm. Abgrenzen der Lymphozyten (Gate) gegenüber Zelldebris, Monozyten, Granulozyten und kernhaltigen oder noch nicht lysierten Erythrozyten mittels CD45-PerCP und SSC. Rechts oben im Bild Mikropartikel zur Bestimmung der absoluten Zellzahl.

Weiter werden nun in der Antikörper-Mischung 1 zunächst die CD3-positiven Zellen, d.h. die T-Lymphozyten von den übrigen Lymphozyten abgegrenzt. Diese Abgrenzung wird, wie auch alle folgenden, vom Programm selbständig aufgrund der spezifischen Fluoreszenzfarbstoffe vorgenommen. Man erhält somit den Anteil der T-Lymphozyten (CD3+) bezogen auf alle gemessenen Lymphozyten (Abbildung 4, links).

Weiterhin sollen die Zellen identifiziert werden, die zu den T-Lymphozyten gehören, gleichzeitig aber CD4- bzw. CD8-Antigen-positiv sind. Hieraus erhält man den Anteil der T-Helferzellen (CD3+/4+) bzw. der zytotoxischen T-Zellen (CD3+/8+) im Bezug auf alle gemessenen Lymphozyten (Abbildung 4, rechts).

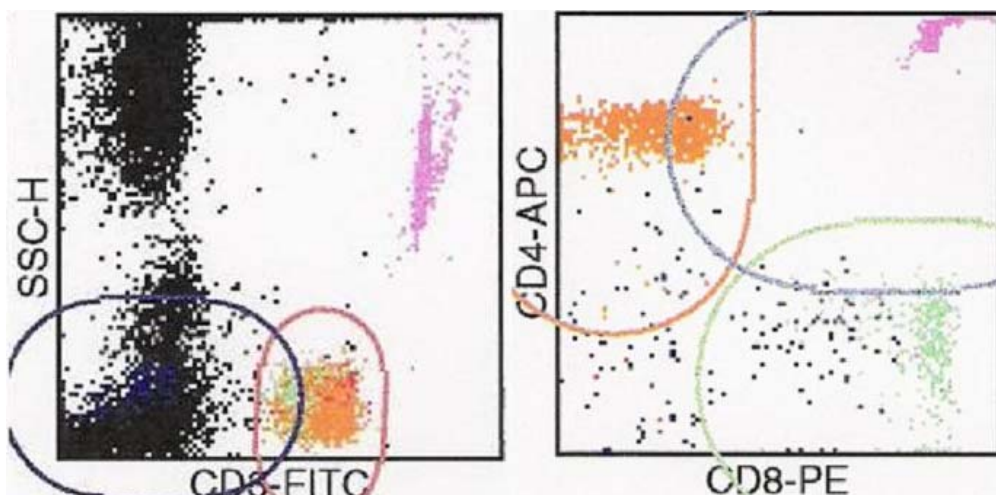


Abbildung 4: Im linken Bild Abgrenzen der CD3-positiven Population (rechts) gegenüber CD3-negativen Lymphozyten (links) mittels CD3-FITC und SSC. Im rechten Bild Abgrenzen der CD8-positiven Population (rechts unten) und der CD4-positiven Population (links oben) mittels CD8-PE und CD4-APC.

Analog zur Antikörper-Mischung 1 wird nun auch in der Antikörper-Mischung 2 das Lymphozyten-Gate definiert (Abbildung 5).

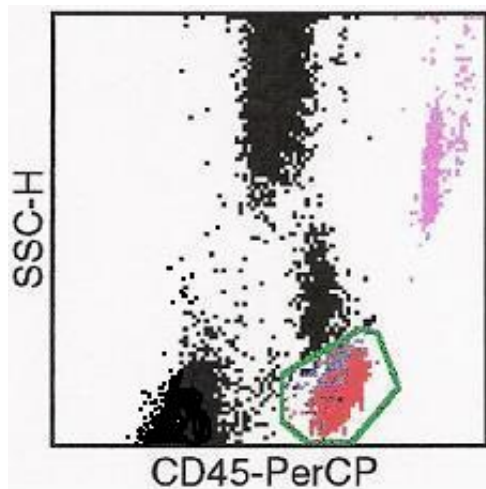


Abbildung 5: Punktwolkendiagramm. Abgrenzen der Lymphozyten (Gate) gegenüber Zelldebris, Monozyten, Granulozyten und kernhaltigen oder noch nicht lysierten Erythrozyten mittels CD45-PerCP und SCC.

Hier interessieren allerdings diejenigen Zellen, die ebenfalls im Lymphozyten-Gate enthalten sind, jedoch CD3-Rezeptor-negativ sind, also B-Lymphozyten und Natürliche Killerzellen (Abbildung 6, links). Es ergibt sich der Anteil der B-Zellen (CD19+) bzw. der Natürlichen Killerzellen (CD16+/56+) bezogen auf alle Lymphozyten (Abbildung 6, rechts).

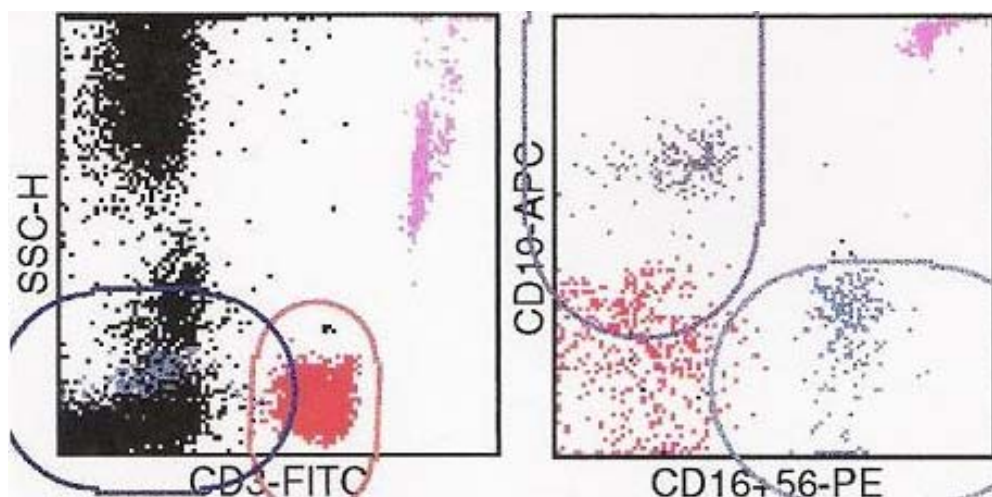


Abbildung 6: Im linken Bild Abgrenzung der CD3-positiven Population (rechts) gegen CD3-negative Lymphozyten (links) mittels CD3-FITC und SCC. Im rechten Bild Abgrenzen der CD16+56-positiven Population (rechts unten) und der CD19-positiven Population (links oben) mittels CD16+56-PE und CD19-APC.

Bei Verwendung von TruCOUNT™ Röhren zur Probenvorbereitung liefert MultiSET™ zusätzlich die Möglichkeit, über im Röhren befindliche fluoreszierende Mikropartikel die absolute Zahl der gemessenen Zellen zu bestimmen. Leider konnten diese Mikropartikel aufgrund technischer Schwierigkeiten nicht immer zuverlässig in ausreichender Menge gemessen werden, so dass sich bei der Auswertung auf die Angabe der Lymphozytenuntergruppen als Anteil an gemessenen Lymphozyten beschränkt wurde. Bei allen ermittelten Werten handelt es sich also um Prozentangaben.

CellQuest™-Analyse

Bei der CellQuest™-Analyse muss aus allen gemessenen Ereignissen die Lymphozytenpopulation manuell ermittelt werden. Dies erfolgt klassischerweise in der Dotplot-Darstellung, bei der das Vorwärtstreulicht (FSC) gegen das Seitwärtstreulicht (SSC) aufgetragen ist. Jeder Punkt stellt dabei ein gemessenes Ereignis dar. Die Anzahl der Ereignisse wurde bei der Messung auf 5000 bis 8000 festgelegt. Wiederum werden die Lymphozyten gegen Zelldebris, Monozyten und Granulozyten abgegrenzt (Abbildung 7).

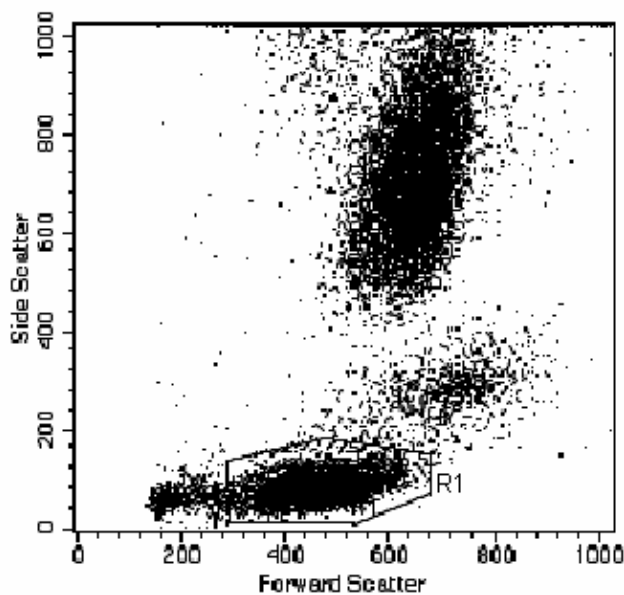


Abbildung 7: Punktwolkendiagramm. Abgrenzen der Lymphozyten gegenüber Zelldebris, Monozyten und Granulozyten mittels FSC und SSC. Setzen des Lymphozyten-Gates (R1).

Nach Definition der Lymphozyten wurde in der folgenden Abbildung CD19 gegen CD5 aufgetragen und ein zweites Gate, diesmal auf alle CD19-positiven Zellen, also auf alle B-Lymphozyten gesetzt (Abbildung 8).

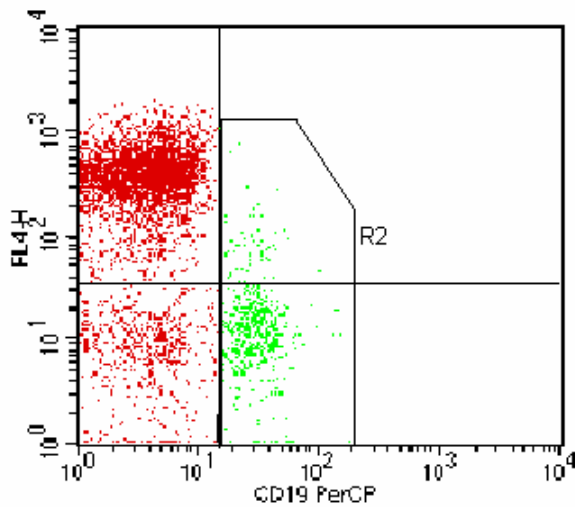


Abbildung 8: Abgrenzung der CD19-positiven Population (rechts) gegenüber CD-19-negativen Lymphozyten (links) mittels CD19-PerCP und CD5-APC (=FL4-H). Setzen des B-Lymphozyten-Gates (R2).

Nur die im Gate enthaltenen Zellen wurden weiter analysiert. Es interessierte nun der Anteil der ermittelten B-Zellen, die zur B1-Subpopulation gehören und einen CD5-Rezeptor auf ihrer Zelloberfläche tragen. Graphisch wurde die CD5-positive B-Zell-Population manuell gegen die CD5-negative abgegrenzt (Abbildung 9). Die Prozentzahl, die abgelesen wird, entspricht dem Anteil an CD5-positiven B-Zellen (CD19+/5+) bezogen auf die B-Lymphozyten insgesamt.

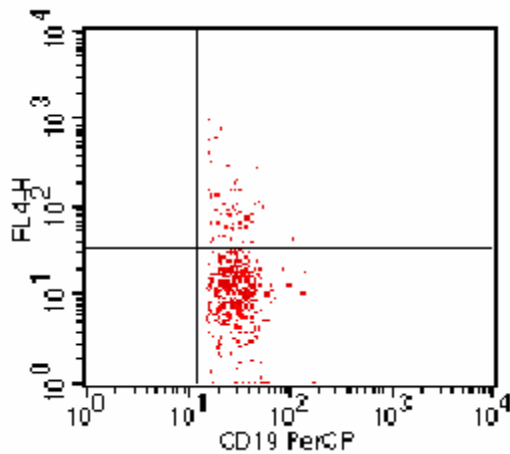


Abbildung 9: Abgrenzung der CD5-positiven (rechts oben) gegen die CD5-negativen B-Zellen (rechts unten) mittels CD19-PerCP und CD5-APC (=FL4-H).

Die zweite Fragestellung war, die in der Probe befindlichen Monozyten und NK-Zellen zu ermitteln. Zu diesem Zweck musste das Gate von einem ursprünglich reinen Lym-

phozyten-Gate (Abbildung 7) auf ein Lymphozyten-Monozyten-Gate (Abbildung 10) erweitert werden.

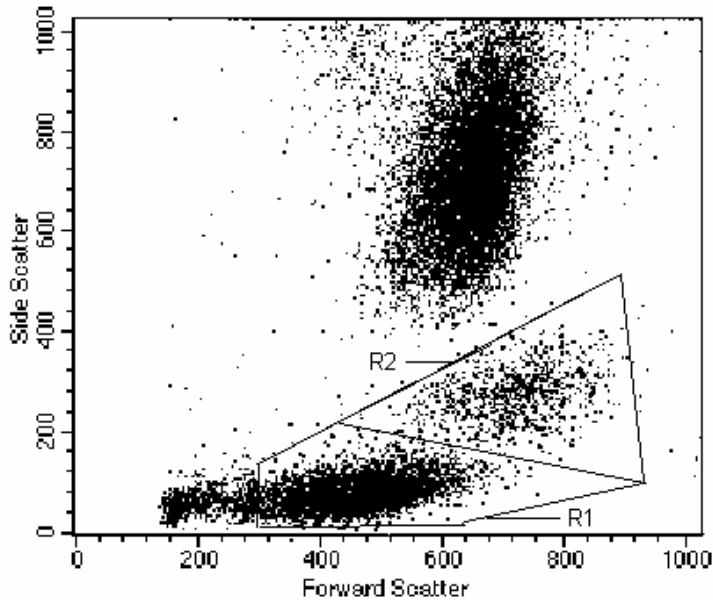


Abbildung 10: Punktwolkendiagramm. Setzen des Lymphozyten-Monozyten-Gates (R1+R2) und Abgrenzung gegenüber Zellschrott und Granulozyten mittels FSC und SCC.

In der Abbildung, in der CD14 gegen CD16 aufgetragen wird (Abbildung 11), kann nun die Monozytenpopulation von der NK-Zell-Population von Hand abgegrenzt werden. Dadurch erhält man den Anteil der Monozyten (CD14+) und NK-Zellen (CD16+/56+) bezogen auf alle Lymphozyten inklusive Monozyten.

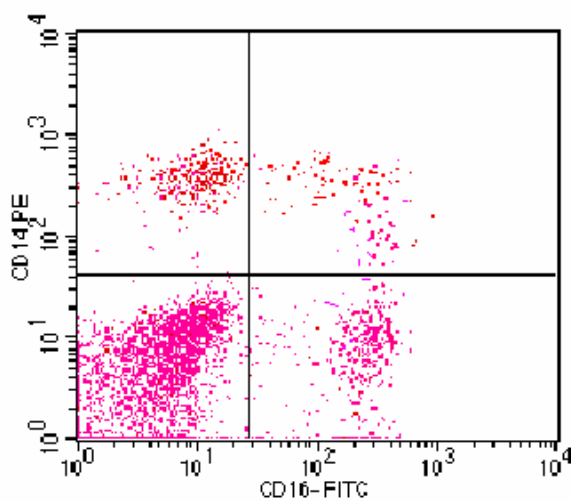


Abbildung 11: Abgrenzung der CD14-positiven (links oben) und der CD16-positiven (rechts unten) Population mittels CD14-PE und CD16-FITC.

2.3.4 Qualitätskontrolle

2.3.4.1 Kontrollzellen

Jede zweite Woche wurden zur Qualitätssicherung Cyto-Trol™ Kontrollzellen mittels Durchflusszytometer analysiert. Hierbei handelt es sich um aus dem peripheren Blut isolierte, humane Lymphozyten, die typische Antigene normaler Lymphozyten auf ihrer Oberfläche tragen. Die lyophilisierten Zellen wurden nach Anleitung des Herstellers rekonstituiert sowie in gleicher Konzentration und unter denselben Bedingungen wie das Patientenblut mit den verschiedenen Antikörpermischungen gefärbt. Da es sich um isolierte Lymphozyten handelt, entfiel die Lyseprozedur, stattdessen wurde die Mischung durch Zugabe von CellWASH™-Puffer auf die entsprechende Analysemenge gebracht. Die Auswertung erfolgte mittels CellQuest™ Software, es wurde ein manuelles Gate um die enthaltenen Lymphozyten gesetzt und die Subpopulationen per Hand voneinander abgegrenzt.

Folgende Oberflächenantigene konnten bestimmt werden: CD3, CD4, CD5, CD8, CD19, CD45 und CD56. Die erreichten Werte wurden mit den vom Hersteller vorgegebenen Referenzbereichen verglichen.

Dabei lagen die gemessenen Werten zu allen Zeitpunkten innerhalb der Referenzbereiche.

2.3.4.2 Vergleich von MultiSET™ und CellQuest™

Die Natürlichen Killerzellen wurden zum Zwecke der Qualitätskontrolle sowohl mit der MultiSET™ Methode als auch mit der CellQuest™ Methode mit entsprechend unterschiedlicher Vorbereitung und Analyse bestimmt. Die Werte wurden graphisch gegeneinander aufgetragen, eine Regressionsgerade ermittelt und der Regressionskoeffizient bestimmt.

Eine Übersicht über alle verwendeten Labormaterialien mit Herstellernachweis befindet sich im Anhang (Kapitel 7.3).

2.4 Statistische Methoden

Die Daten wurden mit dem Programm SPSS 11.5 für Windows statistisch ausgewertet. Zunächst wurden alle Daten mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors auf Normalverteilung geprüft.

Der primäre Test bei unserer Datenlage bestand in einer zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung mittels ANOVA. Der Zwischensubjektfaktor „Gruppe“ charakterisiert hierbei die Unterschiede zwischen der Medikamenten- und der Kontrollgruppe. Der Innersubjektfaktor „Zeit“ beschreibt den Verlauf über 5 Wochen. Die Freiheitsgrade wurden beim Innersubjektvergleich bei Abweichen von Sphärizität nach

Greenhouse-Geisser korrigiert. Bei der Analyse der klinischen Daten wurde der jeweilige Ausgangswert (Woche 0) als Kovariate in die Berechnung eingeführt, bei den immunologischen Daten war dieses Vorgehen nicht notwendig. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha=0,05$ festgelegt.

Bei nicht-normalverteilten Daten wurde zusätzlich zur Varianzanalyse ein nicht-parametrischer Test, der Mann-Whitney-U-Test, zur Analyse von Gruppenunterschieden angewandt.

Zur Charakterisierung der Gruppenunterschiede wurden post-hoc t-Tests für unverbundene Stichproben durchgeführt. Zur näheren Beschreibung des zeitlichen Verlaufes wurde eine nach Gruppen getrennte einfaktorische Varianzanalyse mit dem Inner-subjektfaktor „Zeit“ über 5 Wochen durchgeführt. Des Weiteren wurden t-Tests für verbundene Stichproben (jeweiliger Ausgangswert verglichen mit dem jeweiligen wöchentlichen Wert) gerechnet. Analog zu den t-Tests wurde bei nicht-normalverteilten Daten ein entsprechendes nicht-parametrisches Verfahren, der Wilcoxon-Test, angewandt. Das Signifikanzniveau wurde hier nach Bonferroni auf $\alpha=0,01$ korrigiert.

Um Zusammenhänge zwischen den klinischen und den immunologischen Daten zu beschreiben, wurden verschiedene Korrelationen ermittelt. Bei normalverteilten Daten wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet. War eine Datenreihe nicht normalverteilt, wurde auf den Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman ausgewichen. Das Signifikanzniveau wurde wiederum nach Bonferroni auf $\alpha=0,01$ korrigiert.

Schließlich wurden die Patienten nach Respondern und Non-Respondern unterteilt. Als Kriterium für ein Ansprechen auf die Therapie galt die Verbesserung in der gesamten Psychopathologie um mehr als 20%. Um Gruppenunterschiede zu ermitteln, wurden nochmalig t-Tests für unverbundene Stichproben bzw. der Mann-Whitney-U-Test bei nicht-normalverteilten Daten gerechnet.

3 Ergebnisse

3.1 Psychopathologie

Die klinischen Daten wurden nach dem Prinzip des „last observation carried forward“ behandelt, d.h., dass bei Patienten, die vorzeitig aus der Studie ausgeschieden waren, die jeweils letzten beobachteten Werte auf alle nachfolgenden Untersuchungszeitpunkte übertragen wurden. Somit konnten alle Patienten in die statistische Auswertung einbezogen werden (n=50).

		Woche 0	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5
PANSS positiv	gesamt	18,12	16,42	14,72	14,58	13,48	13,36
		5,35	5,03	4,70	5,12	4,42	4,95
	Celecoxib	19,04	16,68	14,44	14,00	12,76	13,44
		5,95	5,47	4,97	4,73	4,38	5,57
	Placebo	17,20	16,16	15,00	15,16	14,20	13,28
		4,60	4,64	4,51	5,52	4,43	4,36
PANSS negativ	gesamt	19,88	18,24	17,52	17,76	17,16	17,00
		5,95	5,45	5,24	4,68	4,63	5,33
	Celecoxib	18,68	17,16	15,88	15,96	15,68	15,92
		6,28	5,57	4,91	4,49	4,43	4,94
	Placebo	21,08	19,32	19,16	19,56	18,64	18,08
		5,48	5,21	5,13	4,23	4,41	5,58
PANSS global	gesamt	35,62	33,44	31,18	30,48	29,66	29,36
		7,93	7,89	8,23	7,82	7,15	7,65
	Celecoxib	34,04	32,16	28,80	27,64	27,20	27,40
		8,48	7,71	7,88	6,35	6,36	6,61
	Placebo	37,20	34,72	33,56	33,32	32,12	31,32
		7,15	8,02	8,02	8,23	7,16	8,23
PANSS gesamt	gesamt	73,62	68,10	63,42	62,82	60,28	59,72
		15,10	15,24	15,27	14,79	13,75	15,59
	Celecoxib	71,76	66,00	59,12	57,60	55,60	56,76
		17,14	15,97	15,25	13,45	12,65	14,82
	Placebo	75,48	70,20	67,72	68,04	64,96	62,68
		12,84	14,49	14,31	14,46	13,42	16,07

Tabelle 3: Mittelwerte (fett) und Standardabweichung (jeweils darunter) in den einzelnen PANSS-Skalen zu den 6 Beobachtungszeitpunkten für alle Patienten und nach Celecoxib- und Placebogruppe unterteilt

Die Daten waren im Kolmogorov-Smirnov-Test mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors normal verteilt.

Zunächst wurden die Mittelwerte mit Standardabweichung in allen PANSS-Skalen für das gesamte Patientenkollektiv und für die Behandlungs- und Kontrollgruppe getrennt zu allen Beobachtungszeitpunkten berechnet (Tabelle 3).

Bei Studienbeginn (Woche 0) konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Behandlungs- und der Kontrollgruppe im PANSS gesamt sowie in den einzelnen Unterskalen gefunden werden (t-Test für unverbundene Stichproben: *PANSS positiv* $t=1,22$, $df=48$, $p=0,23$; *PANSS negativ* $t=1,44$, $df=48$, $p=0,16$; *PANSS global* $t=1,42$, $df=48$, $p=0,16$, *PANSS gesamt* $t=0,87$, $df=48$, $p=0,39$).

Die Patienten der Celecoxibgruppe wiesen jedoch im Mittel etwas niedrigere Ausgangswerte im PANSS negativ (18,68 versus 21,08), global (34,04 versus 37,20) und gesamt (71,76 versus 75,48) auf, als die Patienten der Placebogruppe (Abbildung 12). Da dies in der Berechnung einen Gruppenunterschied vortäuschen könnte, der möglicherweise nur durch die günstigere Baseline der Celecoxibgruppe und nicht durch einen tatsächlichen Therapieeffekt bedingt sein könnte, wurde für die PANSS-Daten der jeweilige Ausgangswert (Woche 0) als Kovariate in die Berechnung eingeführt.

Der primäre Test war also eine Kovarianzanalyse für die einzelnen PANSS-Werte (positiv, negativ, global) und für die PANSS-Gesamtskala. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha=0,05$ festgelegt.

Innersubjekteffekte (Zeit)					
	F	df		p	Kontrast
PANSS positiv	4,68	2,6	122	0,006*	linear
PANSS negativ	0,74	1,9	89	0,47	
PANSS global	4,47	2,4	111	0,01*	linear
PANSS gesamt	3,33	1,9	90	0,04*	linear

Tabelle 4: Innersubjekteffekte in der Kovarianzanalyse der Skalen der Psychopathologie (*auf einem Niveau von $\alpha=0,05$ signifikant)

Betrachtet wurden zunächst die Veränderung der PANSS-Werte des gesamten Patientenkollektivs über die Zeit, repräsentiert durch die Innersubjekteffekte (Tabelle 4). Dabei zeigte die Stichprobe eine signifikante, graduelle Besserung im PANSS-Gesamtwert (Abbildung 12), ausgedrückt durch eine signifikante graduelle Verbesserung der Positiv- sowie der Allgemeinsymptomatik. Die Negativsymptomatik reduzierte sich dagegen im Verlauf nicht signifikant.

Dies bedeutet eine allgemeine Verbesserung der Psychopathologie der gesamten Stichprobe, ausgenommen der Negativsymptomatik, vermutlich als Therapieeffekt des Neuroleptikums Risperidon.

Zwischensubjekteffekte (Gruppe)				
	F	df	p	
PANSS positiv	1,74	1 47	0,19	
PANSS negativ	2,82	1 47	0,10	
PANSS global	3,18	1 47	0,08	
PANSS gesamt	3,80	1 47	0,05*	

Tabelle 5: Zwischensubjekteffekte in der Kovarianzanalyse der Skalen der Psychopathologie (*auf einem Niveau von $\alpha=0,05$ singifikant)

Signifikante Unterschiede zwischen der Celecoxib- und der Placebogruppe ließen sich als Zwischensubjekteffekte (Tabelle 5) nur für den PANSS Gesamtwert ablesen. Die Patienten der Medikamenten- und der Kontrollgruppe unterschieden sich nicht hinsichtlich der Unterskalen der Psychopathologie.

Dies lässt vermuten, dass die Celecoxib add-on Therapie einen zusätzlichen positiven Effekt auf die Verbesserung der Gesamtpsychopathologie hatte (Abbildung 12).

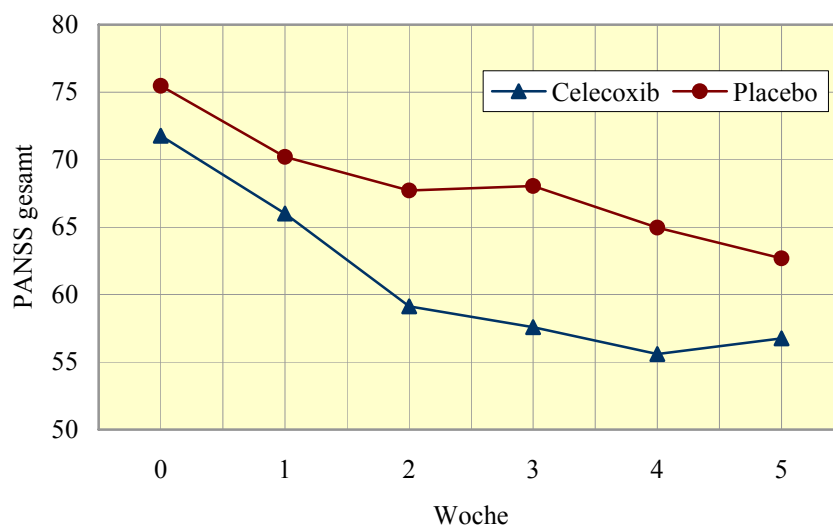


Abbildung 12: Mittelwerte der Gesamtpsychopathologie (PANSS gesamt) in der Celecoxib- und in der Kontrollgruppe zu den 6 Beobachtungszeitpunkten (Woche 0 bis 5)

Der Gruppeneffekt im PANSS gesamt bestand am deutlichsten in der Mitte des Beobachtungszeitraumes, was sich aus der signifikanten quadratischen Zeit-Gruppen-Interaktion ersehen ließ ($F=12,50$, $df=1, 47$, $p=0,001$).

Anschließend wurden post-hoc t-Tests für unverbundene Stichproben zu allen Beobachtungszeitpunkten durchgeführt, um den Gruppenunterschied im PANSS gesamt zu verdeutlichen. Diese zeigten, dass die Patienten der Celecoxibgruppe vor allem in den Wochen 2, 3 und 4 signifikant niedrigere Werte im PANSS gesamt im Vergleich zur Placebogruppe aufwiesen (*Woche 2*: $t=2,06$, $df=48$, $p=0,05$; *Woche 3*: $t=2,64$, $df=48$, $p=0,01$; *Woche 4*: $t=2,54$, $df=48$, $p=0,01$).

Die quadratische Zeit-Gruppen-Interaktion fand sich darüber hinaus auch in allen PANSS-Unterskalen, darf jedoch nicht als statistisch signifikant gewertet werden, da hier insgesamt kein Gruppeneffekt in der Kovarianzanalyse bestand (*PANSS positiv*: $F=4,77$, $df=1, 47$, $p=0,03$; *PANSS negativ*: $F=8,86$, $df=1, 47$, $p=0,005$; *PANSS global*: $F=6,16$, $df=1, 47$, $p=0,02$).

Ähnlich verhielt es sich mit dem t-Test für unverbundene Stichproben, der auch in den Skalen PANSS negativ (*Woche 2*: $t=2,31$, $df=48$, $p=0,02$; *Woche 3*: $t=2,92$, $df=48$, $p=0,005$; *Woche 4*: $t=2,37$, $df=48$, $p=0,02$) und PANSS global (*Woche 2*: $t=2,12$, $df=48$, $p=0,04$; *Woche 3*: $t=2,73$, $df=48$, $p=0,009$; *Woche 4*: $t=2,57$, $df=48$, $p=0,01$) in Woche 2, 3 und 4 signifikante Ergebnisse zeigte. Da in der Kovarianzanalyse kein Gruppeneffekt bestand, durfte das Resultat des t-Tests nicht gewertet werden.

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass die Patienten insgesamt in ihrer Gesamt-, Positiv- und Allgemeinsymptomatik von der neuroleptischen Therapie mit Risperidon profitieren konnten. Die Patienten der Celecoxibgruppe zeigten zusätzlich eine deutlichere und schnellere Verbesserung der Gesamtpsychopathologie. Am Ende des Beobachtungszeitraumes glichen sich die Medikamenten- und die Kontrollgruppe bezüglich der Gesamtsymptomatik jedoch wieder aneinander an.

3.2 Immunologie

Bei den immunologischen Daten wurden - im Gegensatz zu den klinischen - alle fehlenden Daten auch als fehlend gewertet. Für die Varianzanalyse ergab sich hierdurch eine Patientenanzahl zwischen 34 und 37. Die fehlenden Werte kamen zum einen durch vorzeitig aus der Studie ausgeschiedene Patienten zum anderen durch Nicht-Erscheinen der Patienten zur Blutentnahme oder durch vereinzelt auftretende, methodische Probleme zustande. In die Berechnung von t-Tests und nicht-parametrischen Testverfahren gingen primär alle Patienten ein ($n=50$).

Auch für die immunologischen Daten wurden zunächst Mittelwerte mit Standardabweichung der einzelnen Parameter für das gesamte Patientenkollektiv und für die Behandlungs- und Kontrollgruppe getrennt zu allen Beobachtungszeitpunkten berechnet (Tabelle 6).

		Woche 0	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5
CD14+	gesamt	18,94	17,88	17,35	17,49	19,62	17,90
		5,95	5,22	4,21	4,45	7,50	4,21
	Celecoxib	19,01	18,88	17,53	17,10	19,40	18,69
		6,95	6,14	5,03	4,69	6,54	4,81
	Placebo	18,88	16,83	17,17	17,88	19,83	17,14
		5,02	3,91	3,36	4,27	8,47	3,49
<hr/>							
CD16+/56+	gesamt	13,71	13,46	12,66	14,08	14,00	14,53
		7,54	7,01	6,42	7,59	7,01	7,96
	Celecoxib	14,63	15,32	14,49	15,47	15,56	16,33
		5,64	5,99	6,41	6,77	6,04	6,96
	Placebo	12,84	11,53	10,83	12,69	12,52	12,82
		9,04	7,58	6,03	8,25	7,66	8,62
<hr/>							
CD3+	gesamt	68,05	70,81	71,09	70,41	70,46	70,52
		9,89	9,46	8,81	10,15	9,94	10,37
	Celecoxib	66,42	69,38	70,66	69,44	69,38	69,02
		8,32	7,59	7,08	8,02	8,39	8,58
	Placebo	69,61	72,30	71,51	71,38	71,50	71,95
		11,16	11,05	10,40	12,02	11,32	11,86
<hr/>							
CD3+/8+	gesamt	22,56	23,54	23,94	24,03	23,98	23,72
		6,87	7,18	7,30	7,11	7,66	6,91
	Celecoxib	21,80	23,44	24,50	24,12	23,18	23,49
		5,46	6,53	6,81	6,81	6,49	6,09
	Placebo	23,29	23,64	23,38	23,93	24,75	23,94
		8,04	7,94	7,87	7,56	8,72	7,74
<hr/>							
CD3+/4+	gesamt	44,83	46,54	46,34	45,34	45,65	45,99
		8,45	8,94	8,07	9,64	8,50	9,53
	Celecoxib	44,26	45,13	45,59	43,81	45,70	44,90
		8,61	8,91	6,98	8,83	8,87	9,69
	Placebo	45,36	48,01	47,09	46,87	45,60	46,98
		8,45	8,91	9,12	10,36	8,33	9,51

		Woche 0	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5
CD19+	gesamt	16,09	14,32	14,38	13,79	14,16	13,73
		6,71	5,37	6,06	5,55	5,52	5,48
	Celecoxib	16,31	13,78	13,16	13,12	13,61	12,91
		5,50	4,31	4,27	3,90	4,14	3,85
	Placebo	15,88	14,88	15,60	14,47	14,71	14,48
		7,82	6,33	7,33	6,85	6,69	6,63
CD19+/5+	gesamt	12,58	13,98	14,04	13,43	13,61	14,05
		5,48	8,07	8,75	8,46	8,82	8,39
	Celecoxib	12,24	13,56	12,34	12,47	12,28	12,82
		5,20	6,57	6,33	5,68	6,35	6,20
	Placebo	12,90	14,42	15,73	14,43	14,89	15,12
		5,82	9,51	10,52	10,70	10,66	9,94

Tabelle 6: Mittelwerte (fett) und Standardabweichung (jeweils darunter) in den einzelnen immunologischen Parametern (Prozentangaben) zu den 6 Beobachtungszeitpunkten für alle Patienten und nach Celecoxib- und Placebogruppe unterteilt

Die Daten wurden auf Normalverteilung getestet. Die B-Lymphozyten (CD19+) waren als einziger immunologischer Parameter bei Studienbeginn nicht normal verteilt ($p=0,03$ im Kolmogorov-Smirnov-Test).

Im Gegensatz zu den klinischen Daten war hier das Einführen einer Kovariate nicht angezeigt, da bei den immunologischen Daten nicht von „günstigeren“ oder „weniger günstigen“ Ausgangswerten gesprochen werden kann und sich die Patienten der Celecoxibgruppe auch bei erwarteten Veränderungen über die Zeit (z.B. Abfallen der B-Lymphozyten) nicht in einer bevorzugten Ausgangsposition (z.B. schon zu Beginn niedrigere B-Lymphozyten im Vergleich zur Kontrollgruppe) befanden.

Der primäre Test für die einzelnen immunologischen Parameter war also die zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung ohne Kovariate. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha=0,05$ festgelegt.

Innersubjekteffekte (Zeit)					
	F	df		p	Kontrast
Monozyten (CD14+)	1,99	2,8	97	0,13	
NK-Zellen (CD16+/56+)	1,13	4,2	147	0,35	
T-Lymphozyten (CD3+)	4,99	3,8	134	0,001*	linear
Zytotoxische T-Zellen (CD3+/8+)	4,95	3,7	130	0,001*	linear
T-Helferzellen (CD3+/4+)	2,14	5	160	0,06	
B-Lymphozyten (CD19+)	4,98	3,1	98	0,003*	linear
CD5-positive B-Zellen (CD19+/5+)	0,86	5	155	0,51	

Tabelle 7: Innersubjekteffekte in der Varianzanalyse der einzelnen Immunparameter (*auf einem Niveau von $\alpha=0,05$ signifikant)

Betrachtet wurde zunächst wiederum die Veränderung der Immunparameter im Verlauf bezogen auf das gesamte Patientenkollektiv, repräsentiert durch die Innersubjekteffekte (Tabelle 7).

Die Zellen des unspezifischen Immunsystems, die Monozyten (CD14+) und NK-Zellen (CD16+/56+) zeigten – für alle Patienten gemeinsam betrachtet - keine signifikanten Veränderungen über die Zeit.

Die T-Lymphozyten (CD3+) stiegen dagegen im Beobachtungszeitraum signifikant an. Repräsentiert wurde dieser Anstieg vor allem durch die Population der zytotoxischen T-Zellen (CD3+/8+). Der Anteil der T-Helferzellen (CD3+/4+) an den Lymphozyten nahm dabei ebenfalls zu, jedoch knapp nicht signifikant.

Parallel dazu fielen die B-Zellen (CD19+) im Verlauf - wiederum alle Patienten gemeinsam betrachtet - signifikant ab. Der Anteil der CD5-positiven B-Zellen (CD19+/5+) veränderte sich über den Beobachtungszeitraum jedoch nicht.

Änderungen, die hier als Innersubjekteffekte erfasst wurden, galten für alle Studienpatienten insgesamt und erlauben nur Aussagen über Faktoren, die alle Patienten gleichermaßen betreffen, wie etwa die Therapie mit Risperidon.

Zwischensubjekteffekte (Gruppe)				
	F	df		p
Monozyten (CD14+)	0,001	1	35	0,98
NK-Zellen (CD16+/56+)	3,10	1	35	0,09
T-Lymphozyten (CD3+)	0,78	1	35	0,39
Zytotoxische T-Zellen (CD3+/8+)	0,00	1	35	0,99
T-Helferzellen (CD3+/4+)	0,43	1	32	0,52
B-Lymphozyten (CD19+)	0,98	1	32	0,33
CD5-positive B-Zellen (CD19+/5+)	0,002	1	31	0,97

Tabelle 8: Zwischensubjekteffekte in der Varianzanalyse der einzelnen Immunparameter

Signifikante Unterschiede zwischen der Celecoxib- und der Placebogruppe ließen sich als Zwischensubjekteffekte (Tabelle 8) für keinen der bestimmten Immunparameter nachweisen, am ehesten aber noch für die NK-Zellen (CD16+/56+).

Da die B-Lymphozyten (CD19+) als einziger gemessener Immunparameter bei Woche 0 nicht normalverteilt waren, mussten sie gesondert behandelt werden. Sie wurden zwar zunächst in der Varianzanalyse gerechnet, weil diese recht robust gegen Abweichungen von der Normalverteilung ist und da für die vorliegende Studienanordnung kein adäquates Pendant zur Varianzanalyse bei nicht-normalverteilten Daten existiert.

Um keinen Gruppeneffekt zu übersehen, wurde für die einzelnen Untersuchungszeitpunkte zusätzlich ein nicht-parametrischer Test, der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, der jedoch ebenfalls zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Gruppenunterschied zeigte (Tabelle 9).

Mann-Whitney-U-Test für B-Lymphozyten (CD19+)						
	Woche 0	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5
Z	-0,58	-0,76	-1,44	-0,49	-0,33	-0,85
p	0,56	0,45	0,15	0,62	0,74	0,39

Tabelle 9: Mann-Whitney-U-Test für B-Lymphozyten (CD19+), Vergleich der Behandlungs- mit der Medikamentengruppe zu den 6 Beobachtungszeitpunkten (Woche 0 bis 5)

Zusammenfassend für alle Immunparameter muss gesagt werden, dass sowohl in der Varianzanalyse, die den geeigneten statistischen Test bei unserer Datenlage darstellt als auch im Mann-Whitney-U-Test für die B-Lymphozyten kein signifikanter Unterschied zwischen der Medikamenten- und der Kontrollgruppe bestand. Somit muss gefolgert werden, dass die Celecoxib add-on Therapie auf keine der untersuchten Leukozytenpopulationen einen entscheidenden Einfluss hatte.

Unter der Annahme, dass dieser Gruppenunterschied der Immunzellen aufgrund des add-on Designs nur schwierig zu erreichen ist, sollten diejenigen Parameter, bei denen ein signifikanter Zeiteffekt aufgetreten war (T-Lymphozyten, zytotoxische T-Zellen und B-Lymphozyten) zu deskriptiven Zwecken näher analysiert werden.

Mit Hilfe einer nach Gruppen getrennten einfaktoriellen Varianzanalyse mit dem Inner-subjektfaktor „Zeit“ über 5 Wochen sollte der zeitliche Verlauf in der Medikamenten- und in der Kontrollgruppe jeweils für sich betrachtet noch näher beschrieben werden. Zum gleichen Zweck wurden t-Tests für verbundene Stichproben (jeweiliger Ausgangswert verglichen mit dem jeweiligen wöchentlichen Wert) für die einzelnen Gruppen zur Charakterisierung des zeitlichen Verlaufs gerechnet. Analog zu den t-Tests wurde bei nicht-normalverteilten Daten ein entsprechendes nicht-parametrisches Verfahren, der Wilcoxon-Test, angewandt. Das Signifikanzniveau wurde hier nach Bonferroni auf $\alpha=0,01$ korrigiert, da es sich um wiederholte Tests (5-facher Test) zur Beantwortung einer Fragestellung (statistische Veränderungen der Immunparameter im Verlauf) handelte.

3.2.1 T-Lymphozyten (CD3+)

Die T-Lymphozyten (CD3+) zeigten in der nach Gruppen aufgeteilten Varianzanalyse einen nicht-signifikanten Anstieg in der Celecoxibgruppe (Innersubjekteffekt „Zeit“: $F=2,45$, $df=2,8$, 49 , $p=0,08$) und einen signifikanten Anstieg in der Placebogruppe (Innersubjekteffekt „Zeit“: $F=3,15$, $df=2,9$, 52 , $p=0,03$; linearer Kontrast).

Gleiches ließ sich aus dem t-Test für abhängige Stichproben ablesen, wobei der Anstieg der T-Zellen in der Placebogruppe stetig über alle Wochen im Vergleich zum Ausgangswert vorhanden war. In der Celecoxibgruppe ließ sich dagegen zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Veränderung im Verlauf der T-Zellen eruieren (Tabelle 10).

t-Test (abhängige Stichproben) für T-Lymphozyten (CD3+)						
		Woche 0-1	Woche 0-2	Woche 0-3	Woche 0-4	Woche 0-5
gesamt	t	-3,01	-3,99	-3,31	-3,70	-3,32
	df	43	40	38	37	37
	p	0,004*	0,0003*	0,002*	0,0007*	0,002*
Celecoxib	t	-1,49	-2,48	-2,13	-2,35	-1,49
	df	21	19	18	17	17
	p	0,15	0,02	0,05	0,03	0,15
Placebo	t	-2,96	-3,73	-2,86	-2,91	-4,50
	df	21	20	19	19	19
	p	0,007*	0,001*	0,01*	0,009*	0,0002*

Tabelle 10: t-Test (abhängige Stichproben) für T-Lymphozyten (CD3+), Vergleich des Ausgangswertes (Woche 0) mit dem jeweils wöchentlichen Wert (Woche 1 bis 5) für das gesamte Patientenkollektiv und für die Celecoxib- und Placebogruppe getrennt (*auf einem Niveau von $\alpha=0,01$ signifikant)

Dies bedeutet, dass der Anstieg der T-Lymphozyten in der Placebogruppe tendenziell etwas deutlicher, als in der Medikamentengruppe war (Abbildung 13).

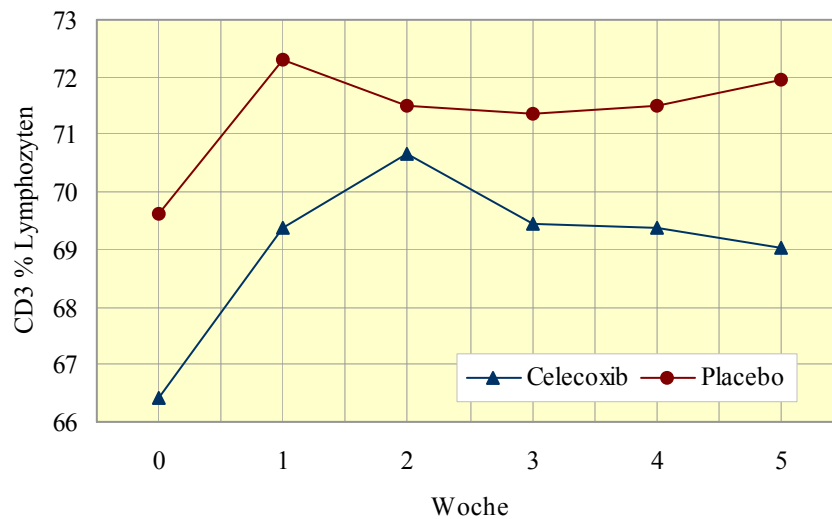


Abbildung 13: Mittelwerte der T-Lymphozyten (CD3+) in der Celecoxib- und in der Kontrollgruppe zu den 6 Beobachtungszeitpunkten (Woche 0 bis 5)

3.2.2 Zytotoxische T-Zellen (CD3+/8+)

In der nach Gruppen getrennten Varianzanalyse veränderten sich die zytotoxischen T-Zellen (CD3+/8+) in beiden Gruppen signifikant über die Zeit. Der Anstieg in der Celecoxibgruppe (Innersubjekteffekt „Zeit“: $F=2,95$, $df=2,8$, 47 , $p=0,04$) zeigte dabei einen quadratischen Kontrast, der Anstieg in der Placebogruppe (Innersubjekteffekt „Zeit“: $F=3,10$, $df=5$, 90 , $p=0,01$) dagegen einen linearen Verlauf.

Im t-Test für abhängige Stichproben ließ sich der Haupteffekt analog zu den Ergebnissen in der Varianzanalyse in der Celecoxibgruppe bei Woche 2 und 3 im Vergleich zum Ausgangswert ablesen. In der Placebogruppe wurde der Anstieg der zytotoxischen T-Zellen erst bei Woche 4 signifikant (Tabelle 11).

t-Test (abhängige Stichproben) für zytotoxische T-Zellen (CD3+/8+)						
		Woche 0-1	Woche 0-2	Woche 0-3	Woche 0-4	Woche 0-5
gesamt	t	-2,69	-4,07	-3,32	-4,66	-2,84
	df	43	40	38	37	37
	p	0,01*	0,0002*	0,002*	0,00*	0,007*
Celecoxib	t	-2,24	-3,17	-2,77	-2,69	-1,74
	df	21	19	18	17	17
	p	0,04	0,005*	0,01*	0,02	0,10
Placebo	t	-1,52	-2,56	-1,87	-3,83	-2,36
	df	21	20	19	19	19
	p	0,14	0,02	0,08	0,001*	0,03

Tabelle 11: t-Test (abhängige Stichproben) für zytotoxische T-Zellen (CD3+/8+), Vergleich des Ausgangswertes (Woche 0) mit dem jeweils wöchentlichen Wert (Woche 1 bis 5) für Celecoxib- und Placebogruppe getrennt (*auf einem Niveau von $\alpha=0,01$ signifikant)

Dies bedeutet, dass der Anstieg der zytotoxischen T-Zellen in der Medikamentengruppe tendenziell etwas schneller als in der Placebogruppe eingetreten ist (Abbildung 14).

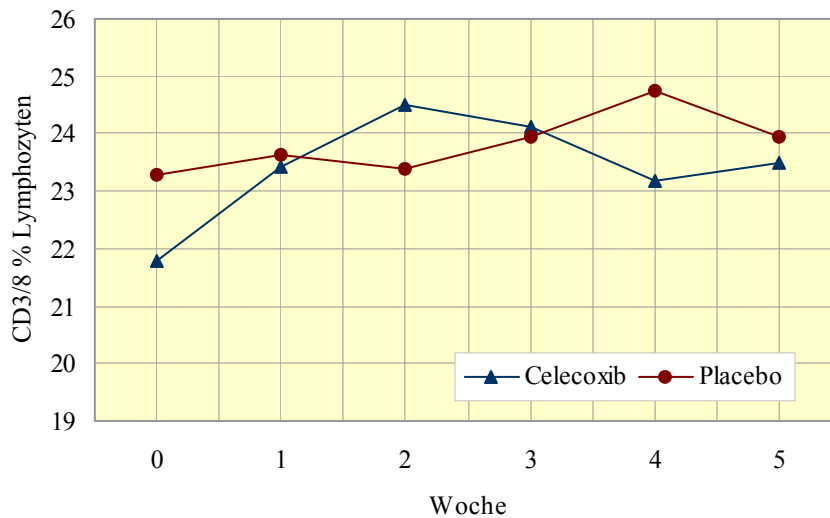


Abbildung 14: Mittelwerte der zytotoxischen T-Zellen (CD3+/CD8+) in der Celecoxib- und in der Kontrollgruppe zu den 6 Beobachtungszeitpunkten (Woche 0 bis 5)

3.2.3 B-Lymphozyten (CD19+)

Analysierte man den Verlauf der B-Zellen (CD19+) über die Zeit in nach Gruppen getrennter Varianzanalyse, so stellte sich ein signifikantes Abfallen in der Celecoxibgruppe dar (Innersubjekteffekt „Zeit“: $F=4,23$, $df=5, 75$, $p=0,002$, linearer Kontrast), dagegen ein nicht-signifikantes Abfallen in der Placebogruppe (Innersubjekteffekt „Zeit“: $F=2,12$, $df=2,5, 43$, $p=0,12$).

Im Wilcoxon-Test zeigten sich diese Effekte in der Celecoxibgruppe als Abnahme der B-Zellen gegenüber dem Ausgangswert in allen Wochen, außer in der 4. Woche. In der Placebogruppe konnte zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Abnahme eruiert werden (Tabelle 12).

Wilcoxon-Test für B-Lymphozyten (CD19+)						
		Woche 0-1	Woche 0-2	Woche 0-3	Woche 0-4	Woche 0-5
gesamt	Z	-2,79	-2,66	-3,50	-2,47	-3,49
	p	0,005*	0,008*	0,00*	0,01*	0,00*
Celecoxib	Z	-3,18	-3,06	-3,14	-1,98	-2,95
	p	0,001*	0,002*	0,002*	0,05	0,003*
Placebo	Z	-0,55	-0,64	-1,68	-1,53	-2,01
	p	0,58	0,52	0,09	0,13	0,04

Tabelle 12: Wilcoxon-Test für B-Lymphozyten, Vergleich des Ausgangswertes (Woche 0) mit dem jeweils wöchentlichen Wert (Woche 1 bis 5) für Celecoxib- und Placebogruppe getrennt (*auf einem Niveau von $\alpha=0,01$ signifikant)

Dies bedeutet, dass das Abfallen der B-Lymphozyten in der Celecoxibgruppe tendenziell etwas deutlicher war, als in der Placebogruppe (Abbildung 15).

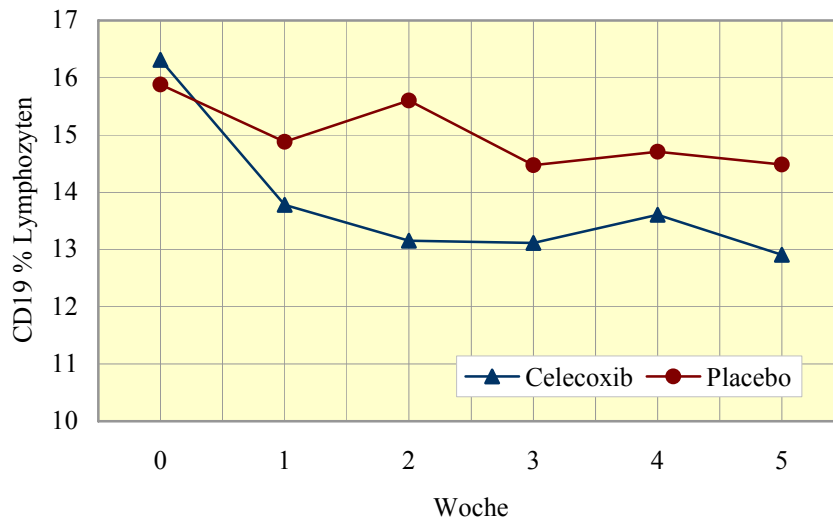


Abbildung 15: Mittelwerte der B-Lymphozyten (CD19+) in der Celecoxib- und in der Kontrollgruppe zu den 6 Beobachtungszeitpunkten (Woche 0 bis 5)

3.3 Zusammenhänge zwischen Psychopathologie und Immunologie

Zunächst wurden Korrelationen zwischen den Ausgangswerten in den einzelnen PANSS-Skalen und den Ausgangswerten der verschiedenen Immunparameter berechnet. Hier konnten keine signifikanten Zusammenhänge ermittelt werden. Dies besagt, dass besondere Ausprägungen in der Psychopathologie primär nicht mit Auffälligkeiten bei den Immunparametern einhergingen.

Weiter wurden die Veränderungen über die Zeit (jeweiliger Ausgangswert minus jeweiliger wöchentlicher Wert) bei denjenigen Parametern näher untersucht, die in der Varianzanalyse entweder einen signifikanten Zeiteffekt - optimalerweise kombiniert mit einem Gruppeneffekt - aufwiesen. So wurden die Veränderungen im PANSS gesamt mit den Veränderungen in den T-Lymphozyten, den zytotoxischen T-Zellen und den B-Lymphozyten im 5-wöchigen Verlauf korreliert, um die Frage zu beantworten, ob z.B. Patienten, die besonders gut auf die Therapie ansprachen, auch deutliche Veränderungen der Immunzellen aufwiesen.

Bei normalverteilten Daten wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet. War eine Datenreihe nicht normalverteilt, wurde auf den Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman ausgewichen.

Das Signifikanzniveau wurde wiederum nach Bonferroni auf $\alpha = 0,01$ korrigiert, da es sich auch hier um wiederholte Tests (5-facher Test) zur Beantwortung einer Fragestellung (Zusammenhang zwischen dem immunologischen Parameter und der Psychopathologie) handelte.

Die Korrelationen wurden zunächst für das gesamte Patientenkollektiv berechnet. Hier zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Verbesserung im PANSS gesamt und dem Anstieg der zytotoxischen T-Zellen bei Woche 2 ($r=-0,43$, $n=41$, $p=0,005$), zu keinem Zeitpunkt aber bei den T- oder B-Lymphozyten.

Wurden die Patienten in die Behandlungs- und Kontrollgruppe aufgeteilt, so fand sich wiederum eine signifikante Korrelation zwischen dem PANSS gesamt und den zytotoxischen T-Zellen, diesmal in den Wochen 2 und 4 und zwar ausschließlich in der Celecoxibgruppe (Woche 2: $r=-0,60$, $n=20$, $p=0,005$; Woche 4: $r=-0,63$, $n=18$, $p=0,005$), nicht jedoch in der Placebogruppe (Woche 2: $r=-0,13$, $n=21$, $p=0,58$; Woche 4: $r=0,05$, $n=20$, $p=0,85$). Auch für die T- und die B-Lymphozyten konnten in beiden Gruppen zu keinem Zeitpunkt signifikante Korrelationen mit dem PANSS gesamt ermittelt werden (Abbildung 16).

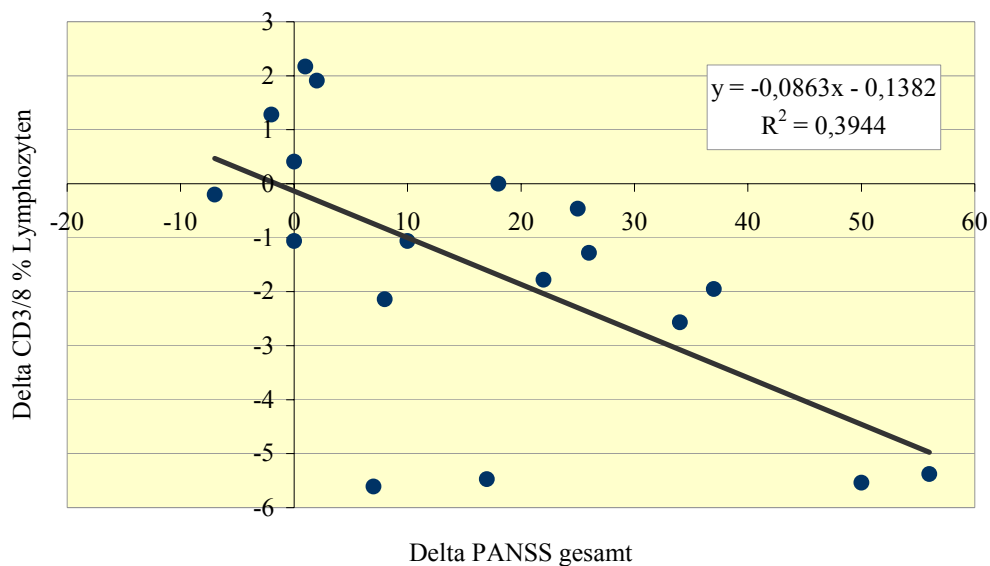


Abbildung 16: Korrelationen zwischen Delta PANSS gesamt (Ausgangswert minus wöchentlicher Wert) und Delta zytotoxische T-Zellen (Ausgangswert minus wöchentlicher Wert) in der Celecoxibgruppe bei Woche 4

Das Ergebnis besagt, dass eine ausgeprägte Verbesserung in der Gesamtpsychopathologie insgesamt bei denjenigen Patienten zu finden war, die einen besonders deutlichen Anstieg der zytotoxischen T-Zellen zeigten. Dieser Effekt war, wie die Aufteilung nach Gruppen zeigte, auf die Patienten der Celecoxibgruppe beschränkt.

Um zu überprüfen, ob die Vorbehandlung mit Psychopharmaka einen Einfluss auf die Ausgangswerte der einzelnen Immunparameter besitzt, wurden die Patienten in zwei Gruppen unterteilt. Als vorbehandelt galten diejenigen Patienten, die bis drei Monate vor Aufnahme in die Studie Psychopharmaka eingenommen hatten, die restlichen bildeten die Gruppe der nicht-vorbehandelten. Der t-Test für unverbundene Stichproben erbrachte für keinen der gemessenen Immunparameter einen Mittelwertunterschied. So konnte der Einfluss einer vorangegangenen Therapie mit Psychopharmaka auf die Ausgangswerte der einzelnen Lymphozytensubpopulationen ausgeschlossen werden. Daraus kann gefolgert werden, dass es sich bei den in unserer Studie gemessenen zeitlichen Veränderungen der Immunparameter um eher kurzfristige Effekte handeln musste.

Weiter wurde das Patientenkollektiv in chronisch Erkrankte und Patienten mit einer Erstmanifestation der schizophrenen Psychose aufgeteilt. Auch hier zeigte der t-Test für unverbundene Stichproben bei keiner der gemessenen Zellpopulationen einen Mittelwertunterschied zwischen den beiden Gruppen. Somit hatte auch die Dauer der Erkrankung keinen Einfluss auf die Ausgangswerte der einzelnen Immunparameter.

3.4. Vergleich von Respondern und Non-Respondern

Das Patientenkollektiv wurde in Responder und Non-Responder unterteilt. Als Kriterium für ein gutes Ansprechen auf die Therapie galt eine Reduktion der Gesamtpsychopathologie um mehr als 20 %. Insgesamt zählten 24 Patienten zu den Respondern, davon jeweils 12 in der Celecoxib- und in der Placebogruppe. 26 Patienten wurden der Gruppe der Non-Responder zugeordnet.

Untersucht werden sollte nun, ob diejenigen Patienten, die besonders gut auf die Therapie ansprachen, immunologische Besonderheiten im Vergleich zu den Non-Respondern bei Aufnahme in die Studie aufwiesen (Tabelle 13).

t-Test (unabhängige Stichproben) Responder/Non-Responder			
	T	df	p
Monozyten (CD14+)	1,00	44	0,32
NK-Zellen (CD16+/56+)	-2,44	43	0,02*
T-Lymphozyten (CD3+)	-0,39	43	0,70
Zytotoxische T-Zellen (CD3+/8+)	-1,36	43	0,18
T-Helferzellen (CD3+/4+)	0,32	43	0,75
CD5-positive B-Zellen (CD19+/5+)	-0,95	42	0,35

Tabelle 13: t-Test (unabhängige Stichproben) mit Vergleich von Respondern und Non-Respondern bei Woche 0 (*auf einem Niveau von $\alpha=0,05$ signifikant)

Signifikante Gruppenunterschiede zeigten sich im t-Test für unabhängige Stichproben bei Studienbeginn für die NK-Zellen (CD16+/56+). Der Mittelwert der NK-Zellen lag dabei in der Gruppe der Responder initial bei 11,06 % ($\pm 5,87$) verglichen mit 16,25 % ($\pm 8,19$) bei den Non-Respondern. Somit wiesen diejenigen Patienten, die gut auf die Therapie ansprachen, signifikant niedrigere Ausgangswerte auf, als die Patienten mit schlechterem Therapieerfolg. Im Verlauf glichen sich beide Gruppen jedoch bezüglich der NK-Zellen wieder aneinander an (Abbildung 17).

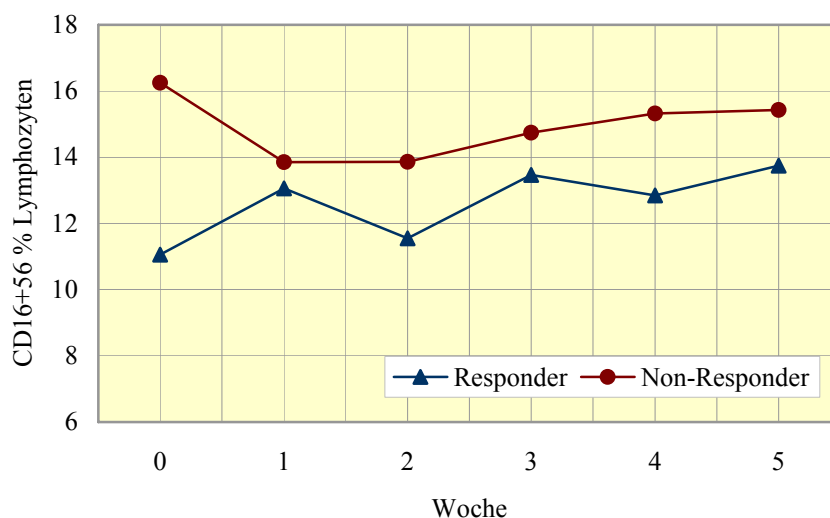


Abbildung 17: Mittelwerte der NK-Zellen (CD16+/56+) in der Gruppe der Responder und Non-Responder zu den 6 Beobachtungszeitpunkten (Woche 0 bis 5)

Für die weiteren Immunparameter (Monozyten, T-Lymphozyten mit den beiden Subpopulationen und CD5-positiven B-Lymphozyten) ließen sich keine Mittelwertunterschiede bei Studienbeginn feststellen (Tabelle 13).

Die B-Lymphozyten (CD19+) wurden wiederum aufgrund der nicht-Normalverteilung in einem nicht-parametrischen Test, dem Mann-Whitney-U-Test, gerechnet. Hier fand sich ein signifikanter Mittelwertunterschied bei Woche 0 zwischen der Gruppe der Responder und derjenigen der Non-Responder ($Z=2,08$, $p=0,04$). Der Mittelwert der B-Lymphozyten lag bei den Respondern initial bei 18,37 % ($\pm 7,24$) verglichen mit einem Ausgangswert von 13,92 % ($\pm 5,47$) bei den Non-Respondern. Diejenigen Patienten, die besonders gut auf die Therapie ansprachen, hatten dabei initial signifikant höhere B-Lymphozyten-Werte als die Patienten mit schlechterem Therapieerfolg. Wiederum gliederten sich beide Gruppen bezüglich der B-Lymphozyten im Verlauf aneinander an (Abbildung 18).

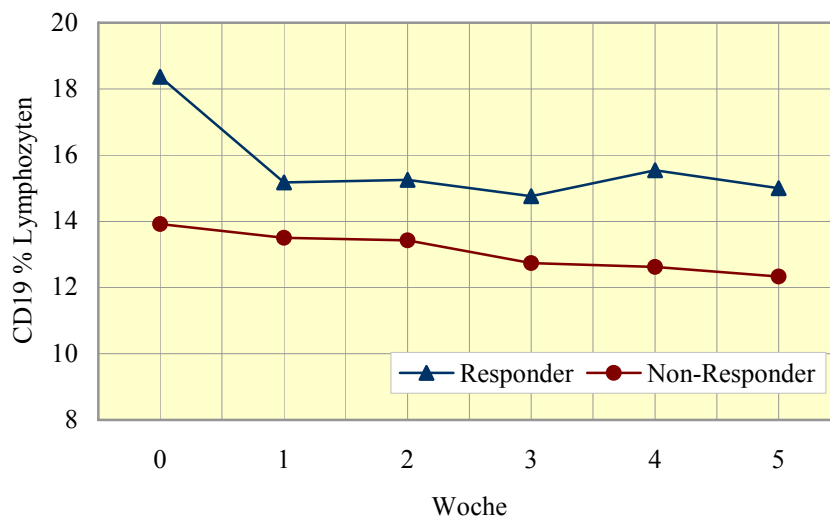


Abbildung 18: Mittelwerte der B-Lymphozyten (CD19+) in der Gruppe der Responder und Non-Responder zu den 6 Beobachtungszeitpunkten (Woche 0 bis 5)

Die Gruppe der Responder wurde schließlich nach Celecoxib- und Placebogruppe unterteilt. Im t-Test für unabhängige Stichproben wiesen die Patienten der Celecoxib- bzw. der Placebogruppe keine Gruppenunterschiede bezüglich der Ausgangswerte der einzelnen Immunparameter auf.

3.5. Qualitätskontrolle

Zum Zwecke der Qualitätskontrolle wurden die Natürlichen Killerzellen zu sämtlichen Beobachtungszeitpunkten zum einen mit der MultiSet™ Methode, die die größere Standardisierung aufweist und zum anderen mit der CellQuest™ Methode bestimmt. Die aus dem MultiSet™-Verfahren ermittelten Werte wurden auf die x-Achse, die Werte aus dem Cellquest™-Verfahren auf der y-Achse aufgetragen. Mit einem Regressions-

koeffizienten von 0,94 und einem Schnittpunkt der Regressionsgeraden bei 0,01 kann von einem sehr guten Ergebnis bezüglich der Übereinstimmung der ermittelten Werte gesprochen werden (Abbildung 19).

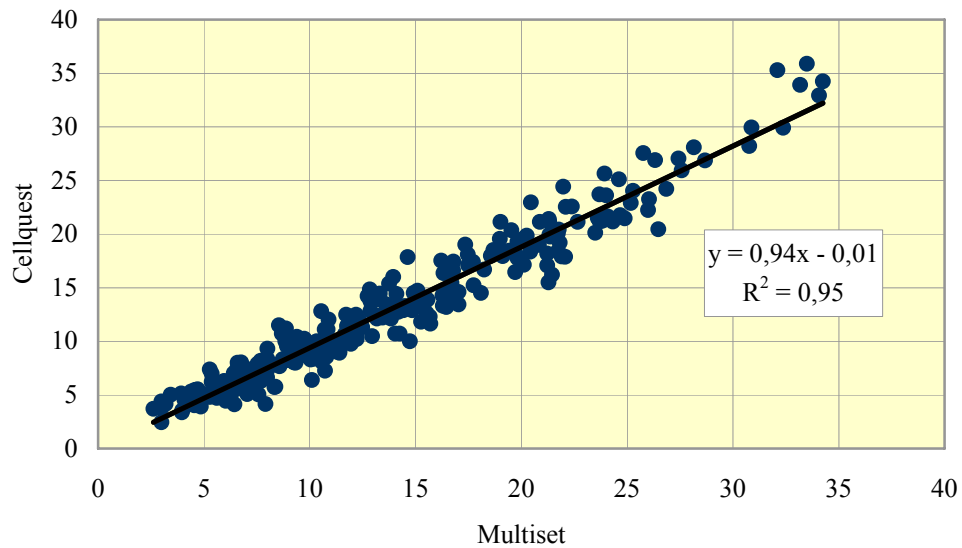


Abbildung 19: Vergleich der beiden verwendeten immunologischen Methoden MultiSet™ und Cell-Quest™ anhand der Doppeltbestimmung der Natürlichen Killerzellen

4 Diskussion

Unter der Annahme, dass entzündliche Prozesse in die Pathogenese der Schizophrenie involviert sind, sollte untersucht werden, ob schizophrene Patienten von der Gabe eines entzündungshemmenden Medikamentes zusätzlich zur neuroleptischen Therapie profitieren können. Alle 50 Studienpatienten erhielten das atypische Neuroleptikum Risperidon, das in der Therapie schizophrener Psychosen gut etabliert ist (Marder et al., 1994; Möller et al., 1998). Wie erwartet besserte sich die Psychopathologie des gesamten Patientenkollektivs über den Beobachtungszeitraum von 5 Wochen signifikant. In der Mitte des Beobachtungszeitraumes, besonders in den Wochen 2 bis 4, zeigten die Patienten, die den COX-2-Inhibitor Celecoxib erhalten hatten, eine zusätzliche Besserung der Gesamtsymptomatik der schizophrenen Psychose, verglichen mit der Patientengruppe, die ausschließlich neuroleptisch therapiert wurde. Bei Woche 5 glichen sich die beiden Gruppen bezüglich ihrer Gesamtpsychopathologie jedoch wieder aneinander an. Es kann also davon ausgegangen werden, dass die Gabe von Celecoxib eine deutlichere und schnellere Verbesserung der Gesamtsymptomatik der schizophrenen Psychose zur Folge hatte.

Über den genauen Mechanismus, der über eine antiinflammatorische Medikation zu einer Verbesserung der schizophrenen Symptomatik führt, kann nur spekuliert werden. Wie in der Einleitung beschrieben, sind vielfältige immunologische Auffälligkeiten bei schizophrenen Patienten beobachtet worden. In Zusammenschau der einzelnen Befunde etablierte sich die Hypothese, der Schizophrenie liege ein Ungleichgewicht der Th1/Th2-Helferzellen mit einem relativen Überwiegen der Th2-Immunantwort zugrunde. Untersuchungen zeigen, dass Prostaglandin E_2 in vitro über eine verminderte Produktion der Th1-Zytokine und eine erhöhte Produktion der Th2-Zytokine diesen Shift zum Th2-System bewirken kann (Snijdewint et al., 1993; Kaur et al., 1999). Weiter wurden erhöhte Plasmaspiegel an PGE_2 bei schizophrenen Patienten gefunden (Kaiya et al., 1989). Da PGE_2 der entscheidende Entzündungsmediator ist, dessen Synthese durch die Inhibition der Cyclooxygenase-2 gehemmt wird, ist es gut vorstellbar, dass Celecoxib über eine verminderte PGE_2 -Synthese zu einem Ausgleich im Th1/Th2-System führen kann. Tatsächlich bewirken NSAR in vitro auf der Ebene der Zytokinproduktion eine Erhöhung der Th1-Zytokine IL-2, IFN- γ und TNF- α und eine Verminderung der Th2-Zytokine IL-6 und IL-4 (Tsuboi et al., 1995). Da darüber hinaus Zytokine neuro-modulatorische Eigenschaften besitzen (Kronfol et al., 2000) und z.B. IL-6 eine Freisetzung von Dopamin und Serotonin im Hippocampus und präfrontalen Kortex induziert (Zalcman et al., 1994), ist es vorstellbar, dass eine Hemmung der Zytokinproduktion in einer Verbesserung psychopathologischer Symptome resultiert.

Leider ist die Wirkung von Celecoxib auf das Zentrale Nervensystem noch nicht ausreichend untersucht. Bekannt ist, dass die Cyclooxygenase-2 konstitutiv im Hirngewebe exprimiert ist und durch zusätzliche proinflammatorische Stimuli verstärkt gebildet

werden kann (Rossi Paccani et al., 2003). Dabei sind Regionen betroffen, die bekanntlich in die Pathologie der Schizophrenie involviert sind, wie z.B. der Hippocampus und die Amygdala (Breder und Saper, 1996). Darüber hinaus ist eine enge Verbindung von COX-2 mit dem glutaminergen Neurotransmittersystem beschrieben (Yamagata et al., 1993; Hewett et al., 2000). Da eine Unteraktivierung von NMDA-Rezeptoren bei der Pathogenese der Schizophrenie diskutiert wird (Carlsson et al., 1987), wäre es durchaus vorstellbar, dass COX-2-Inhibitoren über Einwirken auf das glutaminerge System die schizophrene Symptomatik verbessern.

Ohne Kenntnis des genauen Wirkmechanismus kann dennoch gefolgert werden, dass eine vermutlich entzündungsbedingte Überaktivierung der Cyclooxygenase-2 im Zentralen Nervensystem durch Celecoxib, eine Substanz, die gut ZNS-gängig ist, erfolgreich inhibiert werden kann.

Um die Auswirkungen der Therapie mit Risperidon und Celecoxib auf das zelluläre Immunsystem schizophrener Patienten zu untersuchen, wurden verschiedene Leukozytensubpopulationen im peripheren Blut bestimmt. Dies geschah parallel zur Erhebung der Psychopathologie in wöchentlichen Abständen. Im gesamten Patientenkollektiv zeigte sich eine signifikante Abnahme der B-Lymphozyten und gleichzeitig eine signifikante Zunahme der T-Lymphozyten, vorwiegend repräsentiert durch den Anteil an zytotoxischen T-Zellen über den Beobachtungszeitraum von 5 Wochen. Die restlichen Immunparameter blieben dagegen im Verlauf konstant. Für keine der gemessenen Zellpopulationen ergab sich ein signifikanter Gruppenunterschied zwischen den Patienten, die zusätzlich Celecoxib erhalten hatten, gegenüber denjenigen, die ausschließlich neuroleptisch therapiert wurden.

Für die Veränderungen der Immunparameter des gesamten Patientenkollektivs im Verlauf musste eine Einflussgröße vorhanden sein, die alle Patienten gemeinsam betraf. So liegt es nahe, zunächst die Auswirkung der neuroleptischen Therapie mit Risperidon auf das zelluläre Immunsystem schizophrener Patienten zu diskutieren. Aufgrund des Fehlens einer Kontrollgruppe im Studiendesign können dabei ausschließlich Aussagen über Veränderungen über die Zeit getroffen werden. Die Frage, ob unsere Patienten dabei initial hohe oder niedere Ausgangswerte bezüglich ihrer Zellpopulationen aufwiesen, kann leider nicht im Detail beantwortet werden. Zumindest bewegten sich die gemessenen Immunparameter innerhalb des durch die Labormethode vorgegebenen Referenzbereiches.

Ein zentrales Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist eine signifikante Abnahme der **B-Lymphozyten** in der gesamten Patientengruppe über die Zeit. Beschrieben von Potapova ist ein Abfallen initial erhöhter B-Lymphozyten unter neuroleptischer Therapie bei schizophrenen Patienten, wie es sich auch in der vorliegenden Studie zeigt (Potapova, 1985). Untersuchungen zu Veränderungen der Zytokine erbrachten ein Abfallen von IL-

6 bzw. dem löslichen Interleukin-6-Rezeptor unter Therapie mit verschiedenen Neuroleptika (Meas et al., 1995; Müller et al., 1997b). Da IL-6 für die Proliferation und Differenzierung der B-Zellen verantwortlich ist, würde man demnach auch eine Abnahme der B-Zellen unter Therapie erwarten. Dieses entspricht wiederum den vorliegenden Ergebnissen. Sieht man nun die B-Lymphozyten als Repräsentanten des Th2-Systems, so könnte ein initiales Überwiegen der B-Lymphozyten, das möglicherweise bei der Pathogenese der Schizophrenie eine Rolle spielt, durch die neuroleptische Therapie mit Risperidon ausgeglichen werden.

Im Gegensatz dazu fanden Masserini und Rogozhnikova jedoch ein Ansteigen der B-Lymphozyten unter länger dauernder neuroleptischer Therapie (Masserini et al., 1990; Rogozhnikova, 1993). Bei Rogozhnikova korrelieren die erhöhten B-Lymphozyten mit einer schlechteren Prognose und einer Aggravation der Erkrankung. Im Vergleich dazu zeigen unsere Daten ein besseres Ansprechen derjenigen Patienten auf die Therapie, die initial erhöhte B-Lymphozyten hatten (vergleiche Responder/Non-Responder). Unser Ergebnis lässt vermuten, dass die Erhöhung der B-Lymphozyten ursächlich in die Pathogenese der schizophrenen Psychose involviert ist, zumindest während des akuten Krankheitsschubes deutlich ist und der Genesungsprozesses mit einem Abfallen der B-Lymphozyten einhergeht.

Ein Grund für die teilweise divergierenden Vorbefunde ist sicherlich darin zu sehen, dass es sich bei den Neuroleptika um völlig unterschiedliche Substanzklassen mit eigenen biochemischen Eigenschaften handelt. Immunmodulatorische Effekte wurden dabei vor allem für Chlorpromazin und Clozapin beschrieben, weniger für Haloperidol (Pollmächer et al., 2000). Zu Risperidon liegen zum jetzigen Zeitpunkt nur sehr wenige Studien vor. So beschreibt Kim keine Auswirkung der Therapie mit Risperidon auf den Plasmaspiegel von IL-6 (Kim et al., 2001). Cazzullo berichtet über einen Anstieg von IL-10 während der Therapie mit Risperidon (Cazzullo et al., 2002). Beide Ergebnisse können das von uns beobachtete Abfallen der B-Lymphozyten nicht erklären.

Da verschiedene Autoren einen erhöhten Anteil an **CD5-positiven B-Lymphozyten** bei schizophrenen Patienten beschrieben, wurde diese Population auch bei unseren Patienten bestimmt. Die Autoren McAllister und Printz ziehen dabei Parallelen zu Autoimmunerkrankungen, bei denen diese B-Zell-Population ebenfalls erhöht ist, wie z.B. bei der rheumatoiden Arthritis, der Sklerodermie oder dem Sjögren's Syndrom (McAllister et al., 1989; Printz et al., 1999). Die Lymphozyten der B1-Population werden dabei für die Produktion von Rheumafaktoren, Einzelstrang-DNA-Antikörpern und anderen polyreaktiven oder spezifischen Autoantikörpern verantwortlich gemacht (Hardy et al., 1987; Casali et al., 1987; Pers et al., 1999). Wiederum kann bei unserer Datenlage keine vergleichende Aussage über die Höhe an CD5-positiven B-Lymphozyten gemacht werden, da eine Kontrollgruppe fehlt. Betrachtet man die in anderen Studien angegebenen Werte von CD5-positiven Zellen als Prozent aller B-Lymphozyten in der Erkrankungsgruppe (McAllister: 35,0% \pm 2,9; Printz: 41,0% \pm 16,2), so liegen die Werte unserer Pati-

enten ($12,6\% \pm 5,5$) deutlich darunter, was einen erhöhten Anteil an Lymphozyten der B1-Population eher unwahrscheinlich macht. Eine gesicherte Aussage kann allerdings nur über den Verlauf getroffen werden. Unter der Annahme, dass bei einer Untergruppe der schizophrenen Patienten ein autoimmunologischer Prozess an der Pathogenese der Erkrankung Anteil hat, wäre unter Therapie eine Abnahme der CD5-positiven B-Zellpopulation zu erwarten. Aus unseren Daten ergibt sich allerdings keine Änderung des Anteils an CD5-positiven B-Lymphozyten über die Zeit in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von McAllister und Printz. Da die B-Lymphozyten jedoch insgesamt - das gesamte Patientenkollektiv betrachtet - im Beobachtungszeitraum signifikant abnahmen, verminderte sich folglich auch die Anzahl der CD-5-positiven B-Zellen. Das Verhältnis der B1- zur B2-Population änderte sich dagegen nicht. Möglicherweise sind jedoch nur bei einem Teil der schizophrenen Patienten autoimmunologische Prozesse an der Entstehung schizophrener Symptome beteiligt, so dass sich durch einen allgemeinen Mittelwertvergleich eventuell keine Unterschiede erkennen lassen.

Selbstverständlich muss bedacht werden, dass das quantitative Erfassen von Lymphozytenpopulationen womöglich wenig über die Funktion oder den Aktivierungsgrad der jeweiligen Lymphozyten besagt. Wiederholt wurde beschrieben, dass durch neuroleptische Therapie die Produktion von Antikörpern durch aktivierte B-Zellen induziert werden kann. So werden verschiedene Neuroleptika für die vermehrte Produktion von Rheumafaktoren, antinukleären Antikörpern, AntiphospholipidAntikörpern oder Anti-Histon-Antikörpern im Serum schizophrener Patienten verantwortlich gemacht (Canoso et al., 1990; Chengappa et al., 1992; Zarrabi et al., 1979). Beobachtet wurde dieser Effekt vor allem unter Therapie mit Chlorpromazin, jedoch auch bei anderen Neuroleptika. Dagegen zeigte sich unter Therapie mit Risperidon eine Abnahme von IgG- oder IgM-Antikörpern (Nyulassy et al., 1993). Jahnova beschreibt, dass die Therapie mit Risperidon im Gegensatz zu anderen Neuroleptika die *in vitro* Produktion polyklonaler IgG- oder IgM-Antikörper bei schizophrenen Patienten nicht erhöht (Jahnova, 1994). Leider erfolgte keine weitere Spezifizierung der sezernierten Antikörper. Dennoch kann man diskutieren, ob möglicherweise die Therapie mit Risperidon nicht nur zu einer Abnahme der B-Lymphozyten-Zahl, sondern auch zu einer verminderten Funktion der B-Lymphozyten mit reduzierter (Auto-?)Antikörperproduktion führt. Weiter kann wiederum spekuliert werden, ob eine Überstimulation des Th2-Systems, die möglicherweise zur Krankheitsentstehung der Schizophrenie beiträgt, durch eine neuroleptische Therapie mit Risperidon ausgeglichen werden kann.

Ein weiteres zentrales Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist eine signifikante Zunahme der **T-Lymphozyten** in der gesamten Patientengruppe über die Zeit. Wiederum liegt die Vermutung nahe, dass das Neuroleptikum Risperidon, mit dem alle Patienten therapiert wurden, für diesen Effekt verantwortlich ist. Die Zunahme der T-Lymphozyten in unserem Patientenkollektiv wurde dabei vor allem durch einen signifikanten Anstieg der

Population der **zytotoxischen T-Zellen** hervorgerufen. Der Anteil der **T-Helferzellen** an den T-Lymphozyten nahm bei den untersuchten Patienten im Verlauf zwar auch zu, der Anstieg war jedoch nicht signifikant.

Analog zu unseren Ergebnissen wurde von Coffey ein Anstieg initial erniedrigter T-Lymphozyten unter neuroleptischer Therapie bei schizophrenen Patienten beschrieben (Coffey et al., 1983). Ebenfalls gibt es Vorbefunde bezüglich einer Zunahme der zytotoxischen T-Zellen schizophrener Patienten nach 3-monatiger Therapie mit Olanzapin (Bilici et al., 2003). Studien zum Zytokinsystem zeigen einen Anstieg des löslichen Interleukin-2 Rezeptors sowohl unter Therapie mit Risperidon (Maes et al., 1996) als auch unter Therapie mit verschiedenen anderen Neuroleptika (Müller et al., 1997b; Pollmächer et al., 2000). Da IL-2 ein wichtiger Wachstumsfaktor der T-Zellen ist, wäre in Folge mit einer Zunahme dieser Zellpopulation zu rechnen. Weiter wurde ein Anstieg von IL-12 unter Therapie mit Risperidon festgestellt (Kim et al., 2001). Als Aktivator der zytotoxischen T-Zellen müsste IL-12 demnach deren Zunahme bewirken.

Unsere Ergebnisse stehen also durchaus im Einklang mit denen vorangegangener Studien, die sich sowohl mit dem Einfluss einer neuroleptischen Medikation auf das zelluläre Immunsystem als auch auf das Zytokinsystem schizophrener Patienten beschäftigen. Unter Berücksichtigung der Th1/Th2-Hypothese entspräche ein Anstieg der zytotoxischen T-Zellen möglicherweise einer Stimulation des Th1-Systems mit verbesserter zellulärer Immunität bei schizophrenen Patienten unter der neuroleptischen Therapie mit Risperidon. In diesem Zusammenhang ist es nicht überraschend, dass die T-Helferzellen insgesamt keine signifikante Veränderung über die Zeit zeigten, da hier sowohl die zum Th1- als auch die zum Th2-System gehörenden Zellen enthalten sind.

Die Zellen des unspezifischen Immunsystems, die **Monozyten** und **NK-Zellen** zeigten bei unserem Patientenkollektiv keine signifikanten Veränderungen über die Zeit. Sperner-Unterweger berichtet, dass initial erniedrigte NK-Zellen bei Schizophrenen unter neuroleptischer Therapie anstiegen (Sperner-Unterweger et al., 1999). Interessant ist unsere Feststellung, dass Patienten, die bei Studienbeginn signifikant niedrigere Werte ihrer NK-Zellen aufwiesen, besonders gut auf die Therapie mit Risperidon ansprachen (vergleiche Responder/Non-Responder), auch wenn sich die Anzahl der NK-Zellen im zeitlichen Verlauf nicht signifikant änderte. Möglicherweise ist dieser Effekt in demselben Zusammenhang zu sehen wie der o.g. Anstieg der zytotoxischen T-Zellen. Die NK-Zellen sind dabei nicht nur Teil des unspezifischen Immunsystems, das bei der Schizophrenie eher als überaktiviert gilt, sondern gleichzeitig auch ausführendes Organ der spezifischen zellulären Immunität. Nimmt man nun an, dass der Schizophrenie eine Schwäche der zellulären Immunität zugrunde liegt, so könnte Risperidon über eine Erhöhung von IL-12 (Kim et al., 2001), das auch ein Aktivator der NK-Zellen ist, zu einem Ansteigen dieser Population führen. Der Effekt wäre wiederum eine Verbesserung

der zellulären Immunität, hervorgerufen durch einen Anstieg der NK-Zellen schizophrener Patienten durch das Neuroleptikum Risperidon.

Auch die Monozyten können einerseits als Teil der unspezifischen Abwehr gesehen werden, die bei schizophrenen Patienten eher als überstimuliert beschrieben werden (Wilke et al., 1996; Nikkila et al., 2001). Andererseits sind auch sie Effektoren der zellulären Immunität, die unter Therapie mit Neuroleptika möglicherweise verbessert wird. Vorstellbar wäre, dass sich diese Wirkungen gegenseitig aufheben und so für uns keine Veränderung der Monozytenzahl im Blut der untersuchten Patienten sichtbar wird. Des Weiteren ist auch hier wichtig zu erwähnen, dass die Anzahl der gemessenen Monozyten nicht unbedingt Rückschlüsse auf ihren Aktivierungsgrad zulässt. So wäre es eventuell interessanter, die Fähigkeit der Monozyten zur Zytokinproduktion unter neuroleptischer Therapie zu bestimmen.

Betrachtet man die beschriebenen Ergebnisse nochmals kritisch, so muss festgestellt werden, dass nicht sicher davon ausgegangen werden kann, dass das Neuroleptikum Risperidon für die beobachteten immunologischen Veränderungen der Studienpatienten verantwortlich ist. Immer stellt sich die Frage, ob die Veränderungen tatsächlich einen Therapieeffekt darstellen oder nur ein Epiphänomen der Erkrankung sind. Über den natürlichen Verlauf der Immunzellen eines Patientenkollektivs während eines 5-wöchigen stationären Aufenthaltes lassen sich keine Aussagen treffen. Eine Kontrollgruppe sowie vergleichbare Studien ohne antipsychotische Medikation liegen hier leider nicht vor. Geht man vom Zutreffen der Th1/Th2-Hypothese der Schizophrenie aus, so sind abgesehen von der Therapie mit Risperidon durchaus auch andere Mechanismen vorstellbar, die einen Shift in Richtung des Th1-Systems bewirken, wie zum Beispiel die Abnahme des psychosozialen Stresses während eines entlastenden stationär-psychiatrischen Aufenthaltes (Frommberger et al., 1997).

Nimmt man nun an, dass tatsächlich ein Zusammenhang zwischen der neuroleptischen Therapie und den beobachteten immunologischen Veränderungen besteht, so wirft sich die Frage auf, ob primär bestehende Auffälligkeiten im Immunsystem schizophrener Patienten durch die Therapie ausgeglichen werden, oder ob das Neuroleptikum die beschriebenen Veränderungen induziert, ohne dass diese ursächlich in der Pathogenese der Schizophrenie involviert sind. Für letzteres spricht, dass der Zusammenhang zwischen den klinischen und den immunologischen Daten in unserer Studie doch sehr schwach war. So konnten wir keine signifikanten Korrelationen zwischen den Ausgangswerten in den einzelnen PANSS-Skalen und den Ausgangswerten der einzelnen Immunparameter bei unseren Patienten finden. Beachtet man allerdings die Ergebnisse zu den Respondern versus Non-Respondern, so ließ sich doch ein Zusammenhang zwischen den Ausgangswerten der B-Lymphozyten und der NK-Zellen und dem Ansprechen auf die neuroleptische Therapie feststellen. Dies würde bedeuten, dass die Auffälligkeiten bei diesen beiden Parametern bei schizophrenen Patienten eventuell doch zur Krankheitsent-

stehung beitragen und die Therapie mit Neuroleptika einen ausgleichenden Effekt besitzt.

Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass es sich bei den beobachteten immunologischen Veränderungen wohl um kurzfristige Therapieeffekte handeln muss, da sich die Gruppe der chronisch erkrankten und psychopharmakologisch vorbehandelten Patienten nicht von der Gruppe der ersterkrankten und therapienaiven Patienten bezüglich der Ausgangswerte der einzelnen Lymphozytenpopulationen unterschied.

Bezüglich der Auswirkungen der Therapie mit Celecoxib auf das zelluläre Immunsystem der untersuchten Patienten können keine signifikanten Ergebnisse vorgelegt werden. Für keinen der gemessenen Immunparameter gab es einen signifikanten Gruppenunterschied zwischen der Medikamenten- und der Kontrollgruppe. Die statistischen Tests, die trotz fehlender Gruppenunterschiede in der Varianzanalyse durchgeführt wurden, hatten allenfalls beschreibenden Charakter. Mögliche Trends sollten herausgefiltert werden. Entsprechend kritisch müssen die erzielten Ergebnisse gewertet werden.

Diese bestanden in einer tendenziell etwas deutlicheren Abnahme der B-Lymphozyten der Patienten der Celecoxib- im Vergleich zu den Patienten der Placebogruppe. Des Weiteren war der Anstieg der zytotoxischen T-Zellen in der Medikamentengruppe etwas schneller eingetreten, als der in der Kontrollgruppe. Dagegen steht die deutlichere Zunahme der T-Lymphozyten in der Placebo- verglichen mit der Celecoxibgruppe.

Sieht man diese Ergebnisse im Kontext der Th1/Th2-Hypothese, so ließe sich vermuten, dass Celecoxib die hemmende Wirkung des Risperidons auf das Th2-System verstärkt, ausgedrückt durch eine deutlichere Abnahme der B-Lymphozyten. Andererseits würde durch Celecoxib möglicherweise die Th1-stimulierende Wirkung des Risperidon durch einen etwas schnelleren Anstieg der zytotoxischen T-Zellen unterstützt. Dieser könnte in Analogie zur schnelleren Verbesserung der Psychopathologie unter Therapie mit Celecoxib gesehen werden. Tatsächlich gab es eine signifikante, wenn auch nicht sehr ausgeprägte Korrelation zwischen der Verbesserung der schizophrenen Gesamtsymptomatik und dem Ansteigen der zytotoxischen T-Zellen in der Celecoxib- nicht jedoch in der Kontrollgruppe in der Mitte des Beobachtungszeitraumes. Dies bedeutet, dass diejenigen Patienten, die von der zusätzlichen Therapie mit Celecoxib profitieren konnten, durch ein stärkeres Ansteigen der zytotoxischen T-Zellen charakterisiert waren.

Ob der COX-2-Inhibitor Celecoxib dabei tatsächlich synergistische Effekte zu Risperidon bezüglich der Auswirkung auf das zelluläre Immunsystem schizophrener Patienten besitzt, bleibt zu vermuten. Bekannt ist, dass Prostaglandin E₂ ein breites Spektrum an B- und T-Zell-Funktionen inhibiert. So wird durch PGE₂ zum einen die Aktivierung und Proliferation von T-Lymphozyten gehemmt (Chouaib et al., 1985; Rincon et al., 1988) zum anderen die Funktion der B-Lymphozyten z.B. zur Produktion von Antikörpern

eingeschränkt (Roper und Phipps, 1992). Von einer Therapie mit einem NSAR würde man über die PGE₂-Inhibition folglich die Umkehrung dieser Effekte erwarten. Überraschenderweise zeigen in vitro Untersuchungen zu NSAR jedoch ebenfalls eine Reduktion der T- und B-Zell-Aktivierung. Dies legt die Vermutung nahe, dass an dem immun-suppressiven Effekt der NSAR auf Lymphozyten alternative Wirkmechanismen zu einer verminderten PGE₂-Synthese vorhanden sein müssen (Rossi Paccani et al., 2003).

Basierend auf diesen Vorbefunden wäre es daher gut vorstellbar, dass Celecoxib über eine verminderte B-Zell-Aktivierung die Abnahme der B-Lymphozyten bei unseren Patienten, die durch die neuroleptische Therapie bedingt ist, noch weiter verstärkt. Auf der Ebene der B-Zellen wäre somit ein synergistischer Effekt zu Risperidon nachzuweisen. Anders verhielte es sich bei den T-Lymphozyten, da Celecoxib hier die T-Zell-Funktionen hemmt, Risperidon dagegen zu einer Aktivierung dieser Zelllinie führt. Diese gegenläufigen Wirkeffekte würden erklären, weshalb die Zunahme der T-Zellen in der Celecoxibgruppe möglicherweise etwas geringer ausgeprägt war als in der Placebogruppe.

Insgesamt ist es wahrscheinlich, dass sich die Wirkung des Celecoxib vermutlich aufgrund des add-on Designs nur schwer auf die gemessenen Immunparameter abbilden lässt, zumal Risperidon selbst immunmodulatorische Eigenschaften besitzt. Problematisch ist zusätzlich die geringe statistische Power, die durch die relativ kleine Patientenzahl pro Gruppe bedingt ist. Erschwerend kommt hinzu, dass das Studiendesign nicht primär auf die Untersuchung der Immunparameter ausgerichtet war. Möglicherweise sind dies die Gründe, weshalb sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Celecoxib- und der Placebogruppe zeigten und sich Veränderungen allenfalls als Trends bemerkbar machten. Eventuell sind dabei durchaus Unterschiede vorhanden, die allerdings unter den gegebenen Bedingungen nur schwer zu beweisen sind. Inwiefern sich mögliche therapeutische Effekte von Celecoxib im ZNS schizophrener Patienten überhaupt im peripheren Blut widerspiegeln, bleibt dahingestellt.

Die Ergebnisse unserer Studie lassen folgern, dass das Messen von Leukozytenpopulationen im peripheren Blut schizophrener Patienten möglicherweise nicht die geeignete Methode darstellt, um Wirkungen einer Therapie mit Celecoxib in diesem Zusammenhang zu beschreiben. Somit erübrigt sich auch der Versuch, anhand des zellulären Immunsystems Schizophrener Patientengruppen zu definieren, die besonders gut von einer Therapie mit Celecoxib profitieren können, zumal es auch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Respondern der Celecoxib- bzw. der Placebogruppe bezüglich der Ausgangswerte der einzelnen Immunparameter gab. Demzufolge ist es bei zukünftigen Studien vermutlich sinnvoller, auf die Bestimmung der Zytokine überzugehen, da diese direkt die zelluläre Aktivität widerspiegeln und somit möglicherweise mehr Informationen liefern, als es das quantitative Erfassen von Zellpopulationen zulässt (Müller et al., 2004).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass Celecoxib ein vielversprechendes add-on-Therapeutikum in der Behandlung schizophrener Psychosen darstellt, da unsere Patienten von einer schnelleren und deutlicheren Verbesserung ihrer Psychopathologie unter diesem Medikament profitieren konnten. Selbstverständlich bedarf es weiterer Studien, um die Ergebnisse an einem größeren Patientenkollektiv zu reproduzieren und genauere Erkenntnisse über die geeignete Dosierung und die optimale Behandlungsdauer zu gewinnen.

Da COX-2-Inhibitoren als therapeutische Möglichkeit anderer neuropsychiatrischer Erkrankungen, wie z.B. dem M. Alzheimer (McGeer, 2000) diskutiert werden, ist es sehr gut vorstellbar, dass diese Medikamentengruppe auch bei weiteren psychiatrischen Erkrankungen erfolgreich eingesetzt werden könnte.

5 Zusammenfassung

Bisherige Untersuchungen auf dem Gebiet der Psychoneuroimmunologie zeigen auf verschiedenen Ebenen Auffälligkeiten im Immunsystem schizophrener Patienten. Es fanden sich u.a. Veränderungen im zellulären Immunsystem, Abweichungen in der Zytokinproduktion sowie das gehäufte Auftreten von Antikörpern gegen bestimmte Erreger, Hirnstrukturen oder allgemein autoreaktive Antikörper. Hieraus generierte sich die Annahme, dass entzündliche Vorgänge in die Pathogenese der Schizophrenie involviert sein könnten, möglicherweise durch einen Erreger oder autoimmunologisch bedingt. In den letzten Jahren etablierte sich die Hypothese, dass der Schizophrenie analog zu bestimmten Autoimmunerkrankungen ein Ungleichgewicht der Th1/Th2-Helferzellen mit einem relativen Überwiegen des Th2-Systems zugrunde liegt.

Unabhängig von der Ursache der beobachteten entzündlichen Veränderungen erschien es folgerichtig, eine antiinflammatorische Therapie zusätzlich zur etablierten Neuroleptikatherapie bei schizophrenen Patienten zu versuchen. Bei unserer Studie handelte es sich um eine prospektive, doppelblinde Parallelgruppenuntersuchung, bei der alle 50 Patienten mit dem Neuroleptikum Risperidon therapiert wurden. Nach dem Zufallsprinzip wurden die Patienten in zwei Gruppen geteilt. 25 Patienten erhielten den COX-2-Inhibitor Celecoxib in einer Dosis von 400 mg pro Tag, 25 weitere erhielten Placebo jeweils zusätzlich zum Neuroleptikum. Die Psychopathologie wurde in wöchentlichen Abständen mittels PANSS erhoben. Der Beobachtungszeitraum betrug 5 Wochen.

Um die Auswirkungen der Therapie mit Risperidon und Celecoxib auf das zelluläre Immunsystem der Studienpatienten zu untersuchen, wurden mittels Durchflusszytometrie Leukozytensubpopulationen im peripheren Blut bestimmt. Die Laboranalyse fand parallel zur Erhebung der Psychopathologie in wöchentlichen Abständen statt. Als Repräsentanten für das unspezifische Immunsystem wurden die Monozyten (CD14+) und NK-Zellen (CD16+/56+) gemessen. An Zellen des spezifischen Immunsystems wurden B-Lymphozyten (CD19+) mit der B1-Subpopulation (CD19+/5+) und T-Lymphozyten (CD3+) mit den Untergruppen zytotoxische T-Zellen (CD3+/8+) und T-Helferzellen (CD3+/4+) bestimmt.

Zusätzlich zur erwarteten Verbesserung der Psychopathologie der gesamten Stichprobe unter Therapie mit dem Neuroleptikum Risperidon profitierten die Patienten, die zusätzlich Celecoxib erhalten hatten, von einer schnelleren und ausgeprägteren Verbesserung der Gesamtpsychopathologie. Dieser Effekt war am deutlichsten in den Wochen 2 bis 4. Bei Woche 5 glichen sich die beiden Gruppen bezüglich der Gesamtsymptomatik wieder aneinander an. Unabhängig vom genauen Wirkmechanismus des Celecoxib auf die Behandlung psychiatrischer Symptome - sei es über eine verminderte PGE₂-Synthese oder über das glutaminerge System - kann von einer Effektivität der Substanz als add-on-Therapeutikum bei schizophrenen Psychosen ausgegangen werden.

Die gesamte Stichprobe zeigte eine signifikante Abnahme der B-Lymphozyten (CD19+) und gleichzeitig eine signifikante Zunahme der T-Lymphozyten (CD3+), repräsentiert v.a. durch den Anteil an zytotoxischen T-Zellen (CD3+/8+) im 5-wöchigen Verlauf. Dieser Effekt steht am ehesten in Zusammenhang mit der neuroleptischen Therapie mit Risperidon. Immunmodulatorische Eigenschaften sind für viele Neuroleptika beschrieben. So scheint Risperidon eine stimulierende Wirkung auf die zelluläre Immunität bei schizophrenen Patienten zu besitzen, im Gegensatz zu anderen Neuroleptika jedoch die humorale Immunität zu unterdrücken. Risperidon würde somit einer Überstimulation des Th2-Systems entgegenwirken, die mit der Pathogenese der Schizophrenie in Zusammenhang gebracht wird. Dies würde die These stützen, dass Autoimmunmechanismen ursächlich in die Entstehung der Schizophrenie involviert sind. Die Tatsache, dass diejenigen Patienten, die besonders gut auf die Therapie mit Risperidon ansprachen, initial signifikant höhere Werte der B-Lymphozyten (CD19+) und signifikant niedrigere Werte der NK-Zellen (CD16+/56+) aufwiesen, spricht ebenfalls dafür, dass immunologische Prozesse direkt an der Entstehung schizophrener Symptome beteiligt sind.

Die Therapie mit Celecoxib hatte keine signifikanten Auswirkungen auf das zelluläre Immunsystem der Studienpatienten bei allerdings geringer statistischer Power. Hier zeigte sich lediglich, dass bei denjenigen Patienten, die von der zusätzlichen Therapie mit Celecoxib profitieren konnten, ein stärkerer Anstieg der zytotoxischen T-Zellen nachweisbar war. Dies ließe vermuten, dass Celecoxib bezogen auf die verbesserte zelluläre Aktivität möglicherweise synergetische Effekte zu Risperidon aufweist. Eine Stimulation des Th1-Systems könnte so durch die zusätzliche Gabe von Celecoxib verstärkt werden.

Insgesamt zeigen unsere Daten, dass die Bestimmung von Leukozytenpopulationen im peripheren Blut schizophrener Patienten möglicherweise nicht die geeignete Methode darstellt, um Wirkungen einer Therapie mit Celecoxib auf das Immunsystem zu beschreiben oder Patientengruppen zu definieren, die besonders gut von einer Therapie mit Celecoxib profitieren können. Es erscheint daher sinnvoller, bei zukünftigen Studien eventuell auf die Untersuchung des Zytokinsystems überzugehen.

6 Literaturverzeichnis

Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S. (2000): Cellular and molecular immunology. WB Saunders company, Harcourt Brace Jovanovich Inc.

Arolt, V., Rothermundt, M., Wandinger, K.P., 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.

Bilici, M., Tekelioglu, Y., Efendioglu, S., Ovali, E., Ulgen, M. (2003): The influence of olanzapine on immune cells in patients with schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 27: 483-485.

Breder, C.D. and Saper C.B. (1996): Expression of inducible cyclooxygenase mRNA in the mouse brain after systemic administration of bacterial lipopolysaccharide. *Brain Res.* 713: 64-69.

Bruce, L.C., Peebles, A.M.S. (1903): Clinical and experimental observations on catatonia. *J. Mental. Sci.* 49: 614-628.

Canoso, R.T., de Oliveira, R.M., Nixon, R.A. (1990): Neuroleptic-associated auto-antibodies. A prevalence study. *Biol. Psychiatry* 27: 863-870.

Carlsson, S.L., Felten, D.L., Livnat, S., Felten, S.Y. (1987): Alterations of monoamines in specific central autonomic nuclei following immunization in mice. *Brain Behav. Immunol.* 1: 52-63.

Casali, P., Burastero, S.E., Nakamura, M., Inghirami, G., Notkins, A.L. (1987): Human lymphocytes making rheumatoid factor and antibody to ssDNA belong to Leu-1+ B-cell subset. *Science* 236: 77-81.

Cazzullo, C.L., Scarone, S., Grassi, B., Vismara, C., Trabattoni, D., Clerici, M., Clerici, M. (1998): Cytokines production in chronic schizophrenia patients with or without paranoid behaviour. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 22: 947-957.

Cazzullo, C.L., Sacchetti, E., Galluzzo, A., Panariello, A., Adorni, A., Pegoraro, M., Bosis, S., Colombo, F., Trabattoni, D., Zagliani, A., Clerici, M. (2002): Cytokine profiles in schizophrenic patients treated with risperidone: a 3-month follow-up study. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 26 : 33-39.

- Chengappa, K.N., Carpenter, A.B., Keshavan, M.S., Yang, Z.W., Kelly, R.H., Rabin, B.S., Ganguli, R. (1991) : Elevated IgG and IgM anticardiolipin antibodies in a subgroup of medicated and unmedicated schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry* 30: 731-735.
- Chengappa, K.N., Carpenter, A.B., Yang, Z.W., Brar, J.S., Rabin, B.S., Ganguli, R. (1992): Elevated IgG anti-histone antibodies in a subgroup of medicated schizophrenic patients. *Schizophr. Res.* 7: 49-54.
- Chouaib, S., Welte, K., Mertelsmann, R., Dupont, B. (1985): Prostaglandin E2 acts at two distinct pathways of T lymphocyte activation: inhibition of interleukin 2 production and down-regulation of transferrin receptor expression. *J. Immunol.* 135: 1172-1179.
- Coffey, C.E., Sullivan, J.L., Rice J.R. (1983): T lymphocytes in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 18: 113-119.
- Das, I. and Khan, N.S. (1998): Increased arachidonic acid induced platelet chemiluminescence indicates cyclooxygenase overactivity in schizophrenic subjects. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 58: 165-168.
- Dameshek, W. (1930): White blood cells in dementia praecox and dementia paralytica. *Arch. Neurol. Psychiatry* 24: 855.
- Decker, D., Schondorf, M., Bidlingmaier, F., Hirner, A., von Ruecker, A.A. (1996): Surgical stress induces a shift in the type-1/type-2 T-helper cell balance, suggesting down-regulation of cell-mediated and up-regulation of antibody-mediated immunity commensurate to the trauma. *Surgery* 119: 316-325.
- DeLisi, L.E., Goodman, S., Neckers, L.M., Wyatt, R.J. (1982): An analysis of lymphocyte subpopulations in schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry* 17: 1003-1009.
- DeLisi, L.E., Crow, T.J (1986): Is schizophrenia a viral or immunologic disorder? *Psychiatr. Clin. North Am.* 9: 115-132.
- Delves, P.J. and Roitt, I.M. (2000): The immune system. First of two parts. *N. Engl. J. Med.* 343: 37-49.
- Delves, P.J. and Roitt, I.M. (2000): The immune system. Second of two parts. *N. Engl. J. Med.* 343: 108-117.

- Denicoff, K.D., Rubinoff, D.R., Papa, M.Z., Simpson, C., Seipp, C.A., Lotze, M.T., Chang, A.E., Rosenstein, D., Rosenberg, S.A. (1987): The neuropsychiatric effects of treatment with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. *Ann. Intern. Med.* 107: 239-300.
- Falloon, I., Watt, D.C., Lubbe, K., MacDonald, A., Shepherd, M. (1978): N-acetyl-p-amino-phenol (paracetamol, acetaminophen) in the treatment of acute schizophrenia. *Psycholog. Med.* 8: 495-499.
- Finney, G.O.H. (1989): Juvenile onset diabetes and schizophrenia? *Lancet* 2: 1214-1215.
- FitzGerald, G.A. und Patrono, C. (2001): The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *N. Engl. J. Med.* 345: 433-442.
- Flesch, I.E., Hess, J.H., Huang, S., Aguet, M., Rothe, J., Bluethmann, H., Kaufmann, S.H. (1995): Early interleukin 12 production by macrophages in response to mycobacterial infection depends on interferon gamma and tumor necrosis factor alpha. *J. Exp. Med.* 181: 1615-1621.
- Frommberger, U.H., Bauer, J., Haselbauer, P., Fraulin, A., Riemann, D., Berger, M. (1997): Interleukin-6 (IL-6) plasma levels in depression and schizophrenia: comparison between the acute state and after remission. *Eur. Arch. Psychiatry and Clin. Neurosci.* 247: 228-232.
- Gallien, M., Schnetzler, J.P., Morin, J. (1977): Antinuclear antibodies and lupus cells in 600 hospitalised, phenothiazine treated patients. *Ann. Med. Psychol. Med.* 1: 237-248.
- Ganguli, R., Rabin, B.S. (1993): CD5 positive B lymphocytes in schizophrenia: no alteration in numbers or percentage as compared with control subjects. *Psychiatry Res.* 48: 69-78.
- Ganguli, R., Brar, J.S., Rabin, B.S. (1994a): Immune abnormalities in schizophrenia: evidence for the autoimmune hypothesis. *Harv. Rev. Psychiatry* 2: 70-83.
- Ganguli, R., Yang, Z., Shurin, G., Chengappa, R., Brar, J.S., Gubbi, A.V., Rabin, B.S. (1994b): Serum interleukin-6 concentration in schizophrenia: elevation associated with duration of illness. *Psychiatry Res.* 51: 1-10.

Ganguli, R., Brar, J.S., Chengappa, K.R., DeLeo, M., Yang, Z.W., Shurin, G., Rabin, B. (1995): Mitogen-stimulated interleukin-2 production in never-medicated, first episode schizophrenics – the influence of age of onset and negative symptoms. *Arch. Gen. Psychiatry* 52: 878.

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

Hardy, R.R., Hayakawa, K., Shimizu, M., Yamasaki, K., Kishimoto, T. (1987): Rheumatoid factor secretion from human Leu-1+ B cells. *Science* 236: 81-83.

Henneberg, A., Riedl, B., Dumke, H.O., and Kornhuber, H.H. (1990): T-lymphocyte subpopulations in schizophrenic patients. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 239: 283-284.

Hewett, S.J., Uliasz, T.F., Vidwans, A.S., Hewett, J.A. (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.

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.

Jahnova, E. (1994) : The effect of risperidone and ritanserin on human IgG and IgM synthesis in vitro. *Physiol. Res.* 43: 27-31.

Kaiya, H. (1987): Prostaglandin E1 treatment of schizophrenia. *J. Clin. Psychopharmacol.* 7: 357-358.

Kaiya, H., Uematsu, M., Ofuji, M., Nishida, A., Takeuchi, K., Nozaki, M., Idaka, E. (1989): Elevated plasma prostaglandin E2 levels in schizophrenia. *J. Neural Transm.* 77: 39-46.

Katz, N., Zemishlany, Z., Weizman, A. (2002): Ibuprofen and psychotic exacerbation. *Am. J. Psychiatry* 159: 1606-1607.

Kaur, K., Harris, S.G., Padilla, J., Graf, B.A., and Phipps, R.P. (1999): Prostaglandin E2 as a modulator of lymphocyte mediated inflammatory and humoral responses. *Adv. Exp. Med. Biol.* 469: 409-411.

- Kay, S.R., Fiszbein, A., Opler, L.A. (1987): The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 13: 261-276.
- Kim, Y.K., Lee, M.S., Suh, K.Y. (1998) : Decreased interleukin-2 production in Korean schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry* 43: 701-704.
- Kim, D.J., Kim, W., Yoon, S.J., Go, H.J., Choi, B.M., Jun, T.Y., Kim, Y.K. (2001): Effect of risperidone on serum cytokines. *Int. J. Neurosci.* 111: 11-19.
- Kirch, D.G. (1993): Infection and autoimmunity as etiologic factors in schizophrenia: A review and reappraisal. *Schizophr. Bull.* 19: 355-370.
- Kowalski, J., Blada, P., Kucia, K., Madej, A., Herman, Z.S. (2001): Neuroleptics normalize increased release of interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha from monocytes in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 50: 169-175.
- Kronfol, Z. und Remick, D.G: Cytokines and the brain (2000): implications for clinical psychiatry. *Am. J. Psychiatry* 157: 683-694.
- Lantz, M.S. and Giambanco, V. (2000): Acute onset of auditory hallucinations after initiation of celecoxib therapy. *Am. J. Psychiatry* 157: 1022-1023.
- Lapchak, P.A. (1992): A role for interleukin-2 in the regulation of striatal dopaminergic function. *Neuroreport* 3: 165-168.
- Lehmann-Facius, H. (1937): Über die Liquordiagnose der Schizophrenien. *Klin. Wochenschr.* 16: 1646-1648.
- Lin, A., Kenis, G., Bignotti, S., Tura, G.J.B., De Jong, R., Bosmans, E., Pioli, R., Altamura, C., Scharpé, S., Maes, M. (1998): The inflammatory response system in treatment-resistant schizophrenia: increased serum interleukin-6. *Schizophr. Res.* 32: 9-15.
- Maes, M., Bosmans, E., Calabrese, J., Smith, R., Meltzer, H.Y. (1995): Interleukin-2 and interleukin-6 in schizophrenia: effects of neuroleptics and mood stabilizers. *J. Psychiatr. Res.* 29: 141-152.
- Maes, M., Bosmans, E., Ranjan, R., Vandoolaeghe, E., Meltzer, H.Y., De Ley, M., Berghmans, R., Stans, G., Desnyder, R. (1996): Lower plasma CC16, a natural anti-inflammatory protein, and increased plasma interleukin-1 receptor antagonist in schizophrenia: effects of antipsychotic drugs. *Schizophr. Res.* 21: 39-50.

- Marder, S.R., Meibach, R.C. (1994): Risperidone in the treatment of schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 151: 825-835.
- Masserini, C., Vita, A., Basile, R., Morselli, R., Boato, P., Peruzzi, C., Pugnetti, L., Ferrante, P., and Cazzullo, C.L. (1990): Lymphocyte subsets in schizophrenic disorders. *Schizophr. Res.* 3: 269-275.
- McAllister, C.G., Rapoport, M.H., Pickar, D., Podruchny, T.A., Christison, G., Alphas, L.D., Paul, S.M. (1989): Increased number of CD5⁺ B-lymphocytes in schizophrenic patients. *Arch. Gen. Psychiatry* 46: 890-894.
- McGeer, P.L. (2000): Cyclooxygenase-2 inhibitors: rationale and therapeutic potential for Alzheimer's disease. *Drugs Aging* 17: 1-11.
- Menninger, K.A. (1919): Psychoses associated with influenza. *J. Am. Med. Assoc.* 72: 235-241.
- Mittleman, B.B., Castellanos, F.X., Jacobsen, L.K., Rapoport, J.L., Swedo, S.E., Shearer, G.M. (1997): Cerebrospinal fluid cytokines in pediatric neuropsychiatric disease. *J. Immunol.* 159: 2994-2999.
- Möller, H.-J., Gagiano, D.A., Addington, C.E., von Knorring, L., Torres-Plank, J.L., Gaussares, C. (1998) : Long-term treatment of schizophrenia with risperidone: an open-label, multicenter study of 386 patients. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 13: 99-106.
- Möller, H.-J., Laux, G., Deister, A. (2001) : *Psychiatrie und Psychotherapie*. Thieme Verlag Stuttgart (Duale Reihe).
- Moises, H.W., Schindler, L., Leroux, M., Kirchner, H. (1985): Decreased production of interferon alpha and interferon gamma in leucocyte cultures of schizophrenic patients. *Acta Psychiatr. Scand.* 72: 45-50.
- Molholm, H.B. (1942): Hyposensitivity to foreign protein in schizophrenic patients. *Psychiatr. Quarterly* 16: 565-571.
- Monteleone, P., Fabrazzo, M., Tortorella, A., Maj, M. (1997): Plasma levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha in chronic schizophrenia: effects of clozapine treatment. *Psychiatry Res.* 71: 11-17.

Müller, N., Ackenheil, M., Hofschuster, E., Mempel, W., Eckstein, R. (1991): Cellular immunity in schizophrenic patients before and during neuroleptic treatment. *Psychiatry Res.* 37: 147-160.

Müller, N. (1997a): Die Rolle des Zytokinnetzwerks im ZNS und psychische Störungen. *Der Nervenarzt* 68: 11-20.

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

Müller, N., Schlesinger, B.C., Hadjamu, M., Riedel, M., Schwarz, M., Primbs, J., Ackenheil, M., Wank, R., Gruber, R. (1998): Cytotoxic gamma/delta cells (γ/δ^+CD8^+) are elevated in unmedicated schizophrenic patients and related to the Blood-Brain-Barrier and the HLA allele DPA 02011. *Schizophr. Res.* 12: 69-71.

Müller, N., Riedel M., Ackenheil, M., Schwarz, M.J. (1999): The role of immune function in schizophrenia: an overview. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 249 Suppl. 4: 62-68.

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

Müller, N., Riedel, M., Scheppach, C., Brandstätter, B., Sokullu, S., Krampe, K., Ulmschneider, M., Engel, R., Möller, H.-J., Schwarz, M. (2002): Beneficial antipsychotic effects of celecoxib add-on therapy compared to risperidone alone in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 159: 1029-1034.

Müller, N., Ulmschneider, M., Scheppach, C., Schwarz, M.J., Ackenheil, M., Möller, H.-J., Gruber, R., Riedel, M. (2004): COX-2 inhibition as treatment approach in schizophrenia: immunological considerations and clinical effects of celecoxib add-on therapy. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 254: 14-22.

Nakano, Y., Nakamura, S., Hirata, M., Harada, K., Ando, K., Tabuchi, T., Matunaga, I., Oda, H. (1998): Immune function and lifestyle of taxi drivers in Japan. *Ind. Health* 36: 32-39.

Nikkilä, H.V., Müller, K., Ahokas, A., Rimon, R., Andersson, L.C. (2001): Increased frequency of activated lymphocytes in the cerebrospinal fluid of patients with acute schizophrenia. *Schizophr. Res.* 49: 99-105.

- Nyulassy, S., Jahnova, E., Keleova, A. (1993): Neuroleptics and the immune system. *Cesk. Psychiatr.* 89: 30-34.
- Oken, R.J. and Schulzer, M. (1999): At issue: schizophrenia and rheumatoid arthritis: the negative association revisited. *Schizophr. Bull.* 25: 625-638.
- Pers, J.O., Jamin, C., Predine-Hug, F., Lydyard, P., Youinou, P. (1999): The role of CD5-expressing B cells in health and disease (review). *Int. J. Mol. Med.* 3: 239-245.
- Pollmächer, T., Haak, M., Schuld, A., Kraus, T., Hinze-Selch, D. (2000): Effects of antipsychotic drugs on cytokine networks. *J. of Psychiatric Research* 34: 369-382.
- Potapova, V.A. (1985): B-Lymphocytes of the blood in schizophrenia: effect of psychotropic therapy. *Zh. Nevropatol. Psikiatr.*: 85: 1378-1381.
- Printz, D.J., Strauss, D.H., Goetz, R., Sadiq, S., Malaspina, D., Krolewski, J., and Gorman, J.M. (1999): Elevation of CD5⁺ B lymphocytes in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 46: 110-118.
- Ramarathinam, L., Niesel, D.W., Klimpel, G.R. (1993): Salmonella typhimurium induces IFN-gamma production in murine splenocytes. Role of natural killer cells and macrophages. *J. Immunol.* 150: 3973-3981.
- Ramchand, R., Wei, J., Ramchand, C.N., Hemmings, G.P. (1994): Increased serum IgE in schizophrenic patients who responded poorly to neuroleptic treatment. *Life Sci.* 54: 1579-1584.
- Rincon, M., Tugores, A., Lopez-Rivas, A., Silva, A., Alonso, M., De Landazuri, M.O. (1988) : Prostaglandin E2 and the increase of intracellular cAMP inhibit the expression of interleukin 2 receptors in human T cells. *Eur. J. Immunol.* 18: 1791-1796.
- Rogozhnikova, O.A. (1993): Dynamic changes in the indices of the B immunity system in patients with newly diagnosed schizophrenia during treatment. *Zh. Nevropatol. Psikiatr. Im. S. S. Korsakova.* 93: 65-68.
- Roos, B.-E. (1984): Schizophrenia and viral and autoimmune issues. *Psychopharmacology Bull.* 20: 514-518.
- Roper, R.L. and Phipps, R.P. (1992): Prostaglandin E2 and cAMP inhibit B lymphocyte activation and simultaneously promote IgE and IgG1 synthesis. *J. Immunol.* 149: 2984-2991.

- Rossi Paccani, S., Boncristiano, M., Baldari, C.T. (2003): Molecular mechanisms underlying suppression of lymphocyte responses by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Cell. Mol. Life. Sci.* 60: 1071-1083.
- Rothermundt, M., Arolt, V., Bayer, T.A. (2001): Review of immunological and immunopathological findings in schizophrenia. *Brain Behav. Immun.* 15: 319-339.
- Rudolf, S., Peters, M., Rothermundt, M., Arolt, V., Kirchner, H. (2002): The influence of typical and atypical neuroleptic drugs in the production of interleukin-2 and interferon-gamma in vitro. *Neuropsychobiology* 46: 180-185.
- Sasaki, T., Nanko, S., Fukuda, R., Kawate, T., Kunugi, H., Kazamatsuri, H. (1994): Changes of immunological functions after acute exacerbation in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 35: 173-178.
- Schwartz, M., Rochas, M., Toubi, E., Sharf, B. (1999): The presence of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in patients undergoing long-term neuroleptic treatment. *J. Psychiatry Neurosci.* 24: 351-352.
- Schwarz, M.J., Chiang, S., Müller, N., Ackenheil, M. (2001): T-helper-1 and T-helper-2 responses in psychiatric disorders. *Brain Behav. Immun.* 15: 340-370.
- Singh, V.K., Mehrotra, S., Agarwal, S.S. (1999): The paradigm of Th1 and Th2 cytokines: its relevance to autoimmunity and allergy. *Immunol. Res.* 20: 147-161.
- Snijdewint, F.G., Kalinski, P., Wierenga, E.A., Bos, J.D., Kapsenberg, M.L. (1993): Prostaglandin E2 differentially modulates cytokine secretion profiles of human T helper lymphocytes. *J. Immunol.* 150: 5321-5329.
- Spangelo, B.L., Judd, A.M., Isakson, P.C., MacLeod, R.M. (1989): Interleukin-6 stimulates anterior pituitary hormone release in vitro. *Endocrinology* 125: 575-577.
- Sperner-Unterwieser, B., Whitworth, A., Kemmler, G., Hilbe, W., Thaler, J., Weiss, G., Fleischhacker W.W. (1999): T-cell subsets in schizophrenia: a comparison between drug-naïve first episode patients and chronic schizophrenic patients. *Schizophr. Res.* 38: 61-70.
- Theodoropoulou, S., Spanakos, G., Baxevanis, C.N., Economou, M., Gritzapis, A.D., Papamichail, M.P., Stefanis, C.N. (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.

Tsuboi, I., Tanaka, H., Nakao, M., Shichijo, S., Itoh, K. (1995): Nonsteroidal anti-inflammatory drugs differentially regulate cytokine production in human lymphocytes: up-regulation of TNF, IFN-gamma and IL-2, in contrast to down-regulation of IL-6 production. *Cytokine* 7: 372-379.

Vasil'eva, E.F., Kushner, S.G., Abramova, L.I., Kaleda, V.G., Tsutsul'kovskaia, M.I. (2002): The changes of the function of lymphocytes natural killers in schizophrenics. *Zh. Nevrol. Psikiatr. Im. S. S. Korsakova*. 102: 30-36.

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

Vinogradov, S., Gottesman, I.I., Moises, H.W., Nicol, S. (1991): Negative association between schizophrenia and rheumatoid arthritis. *Schizophr. Bull.* 17: 669-678.

Wagner von Jauregg, J. (1926): Fieberbehandlung bei Psychosen. *Wien. Med. Wochenschr.* 76: 79-82.

Wilke, I., Arolt, V., Rothermund, M., Weitzsch, Ch., 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.

Winkler, S., Willheim, M., Baier, K., Schmid, D., Aichelburg, A., Graninger, W., Kremsner, P.G. (1998): Reciprocal regulation of Th1- and Th2-cytokine producing T cells during clearance of parasitemia in *Plasmodium falciparum* malaria. *Infect. Immun.* 66: 6040-6044.

Yamagata, K., Andreasson, K.I., Kaufmann, W.I., Barnes, C.A., Worley, P.F. (1993): Expression of mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids. *Neuron* 11: 371-386.

Yovel, G., Sirota, P., Mazeh, D., Shakhar, G., Rosenne, E., Ben-Eliyahu, S. (2000): Higher natural killer cell activity in schizophrenic patients: the impact of serum factors, medication and smoking. *Brain. Behav. Immun.* 14: 153-169.

Zalcman, S., Green-Johnson, J.M., Murray, L., Nance, D.M., Dyck, D., Anisman, H., Greenberg, A.H. (1994): Cytokine-specific central monoamine alterations induced by interleukin-1, -2, and -6. *Brain Res.* 634: 40-49.

Zarrabi, M.H., Zucker, S., Miller, F., Derman, R.M., Romano, G.S., Hartnett, J.A., Varma, A.O. (1979): Immunologic and coagulation disorders in chlorpromazine-treated patients. *Ann. Intern. Med.* 91: 194-199.

7 Anhang

7.1. Patientendaten

Nr.	Gruppe	Geschl.	Alter	Diagnose (DSM IV)	Erstm.	Episode	Dauer
1	1	2	61	paranoider Typ (295.30)	1	1	36
2	1	1	25	paranoider Typ (295.30)	2	2	20
3	2	1	39	undifferenzierter Typ (295.90)	2	4	102
4	1	1	39	paranoider Typ (295.30)	2	2	240
5	2	1	35	paranoider Typ (295.30)	2	2	72
6	2	1	48	paranoider Typ (295.30)	2	6	306
7	1	2	61	paranoider Typ (295.30)	2	2	96
8	2	2	65	paranoider Typ (295.30)	1	1	24
9	1	2	30	schizoaffektive Störung (295.70)	2	4	132
10	1	2	26	paranoider Typ (295.30)	1	1	2
11	2	2	41	undifferenzierter Typ (295.90)	2	5	252
12	2	2	41	paranoider Typ (295.30)	2	5	168
13	2	1	29	paranoider Typ (295.30)	1	1	5
14	1	1	35	schizophreniforme Störung (295.40)	2	3	84
15	1	1	24	paranoider Typ (295.30)	2	2	24
16	1	2	45	paranoider Typ (295.30)	1	1	2
17	2	2	32	schizoaffektive Störung (295.70)	1	1	1
18	2	2	18	undifferenzierter Typ (295.90)	2	2	27
19	2	1	24	paranoider Typ (295.30)	1	1	8
20	1	1	30	paranoider Typ (295.30)	2	2	12
21	2	2	31	desorganisierter Typ (295.10)	2	4	132
22	1	1	27	paranoider Typ (295.30)	2	3	108
23	2	2	22	paranoider Typ (295.30)	1	1	13
24	1	1	25	paranoider Typ (295.30)	2	3	24
25	2	1	27	paranoider Typ (295.30)	2	3	38
26	1	1	31	paranoider Typ (295.30)	2	2	180
27	2	1	19	desorganisierter Typ (295.10)	2	3	36
28	2	1	21	desorganisierter Typ (295.10)	1	1	24
29	2	2	63	paranoider Typ (295.30)	2	3	132
30	1	2	47	schizoaffektive Störung (295.70)	1	1	24
31	1	2	32	paranoider Typ (295.30)	2	7	84
32	2	1	40	paranoider Typ (295.30)	1	1	18
33	1	2	26	schizophreniforme Störung (295.40)	1	1	3
34	1	1	45	paranoider Typ (295.30)	2	21	300
35	2	2	45	schizoaffektive Störung (295.70)	2	6	480

36	1	1	61	schizoaffective Störung (295.70)	2	2	456
37	2	2	53	paranoider Typ (295.30)	2	5	240
38	1	1	24	desorganisierter Typ (295.10)	2	3	48
39	2	1	21	paranoider Typ (295.30)	2	2	26
40	2	2	40	residualer Typ (295.60)	2	8	240
41	1	2	40	paranoider Typ (295.30)	2	4	132
42	1	2	35	paranoider Typ (295.30)	1	1	120
43	2	1	18	desorganisierter Typ (295.10)	1	1	6
44	1	1	23	paranoider Typ (295.30)	1	1	12
45	2	2	50	undifferenzierter Typ (295.90)	2	4	216
46	1	1	24	paranoider Typ (295.30)	1	1	1
47	2	2	24	paranoider Typ (295.30)	1	1	2
48	1	2	56	paranoider Typ (295.30)	2	2	132
49	1	1	26	paranoider Typ (295.30)	1	1	1
50	2	2	39	paranoider Typ (295.30)	2	4	264

Tabelle 14: Patientendaten: Laufende Patientennummer; Gruppe: 1=Celexoxib, 2=Placebo; Geschlecht: 1=männlich, 2=weiblich; Alter des Patienten bei Studienende; Diagnose nach DSM-IV; Erstmanifestation: 1=ja, 2=nein; Krankheitsepisode; Dauer der Erkrankung in Monaten

7.2 PANSS-Manual: Bewertungsbogen

Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)
BEWERTUNGSBOGEN

Stanley R. Kay, Ph.D.
Lewis A. Opler, M.D., Ph.D.
Abraham Fiszbein, M.D.

PLUS-SKALA

P1. Wahnvorstellungen	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
P2. Formale Denkstörungen	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
P3. Halluzinationen	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
P4. Erregung	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
P5. Größenwahn	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
P6. Argwohn/Verfolgungswahn	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
P7. Feindseligkeit	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7

MINUS-SKALA

N1. Affektverarmung	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
N2. Emotionale Isolation	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
N3. Kontaktmangel	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
N4. Passiv-apathe Isolation	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
N5. Vermindertes abstraktes Denkvermögen	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
N6. Mangelnde Spontaneität und Gesprächsfähigkeit	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
N7. Stereotypes Denken	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7

PSYCHOPATHOLOGISCHE GLOBALSKALA

G1. Leibliche Befindungsstörungen	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G2. Angst	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G3. Schuldgefühle	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G4. Gespanntheit	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G5. Manieriertheit/Posieren	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G6. Depression	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G7. Verlangsamte Motorik	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G8. Unkooperativität	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7

G9. Ungewöhnliche Denkinhalte	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G10. Desorientierung	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G11. Aufmerksamkeitsschwäche	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G12. Verminderte Urteils- und Einsichtsfähigkeit	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G13. Gestörte Willensbildung	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G14. Mangelnde Impulskontrolle	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G15. Selbstbezogenheit	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7
G16. Aktive soziale Meidung	1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7

Abbildung 20: PANSS-Manual: Bewertungsbogen: Punktwerte 1=nicht vorhanden, 2=minimal, 3=leicht, 4=mittel, 5=mittelstark, 6=stark, 7=extrem vorhanden.

7.3 Labormaterialien

FACSCalibur™ Durchflusszytometer-System	BD*
FACSComp™ Software (V.4.1) zur Geräteeinstellung und -kalibrierung	BD*
MultiSET™ Software (V.1.1.1) zur Akquisition und Auswertung	BD*
CellQuest™ Software (V.3.1) zur Akquisition und Auswertung	BD*
FACSFlow™ Trägerflüssigkeit für die Durchflusszytometrie	BD*
FACSRinse™ Spül- und Reinigungslösung für das Durchflusszytometer	BD*
FACSafe™ Dekontaminationslösung für das Durchflusszytometer	BD*
CaliBRITE™ 3 Mikropartikel (unmarkiert, FITC, PE, PerCP)	BD*
CaliBRITE™ APC Mikropartikel zur Gerätekalibrierung	BD*
MultiTEST™ CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PerCP/CD4-APC Vierfarben-Reagenz	BD*
MultiTEST™ CD3-FITC/CD16+CD56-PE/CD45-PerCP/CD19-APC Vierfarben-Reagenz	BD*
Antikörper CD16-FITC	Pharmingen
CD14-PE	Pharmingen
CD19-PerCP	BD*
CD5-APC	Pharmingen
TruCOUNT™ Röhren zur Absolutzellzahlbestimmung	BD*
Falcon™-Einmal-Teströhren 5ml	BD*
Uti-Lyse™ Erythrozyten-Lyse-Reagenz	DAKO
Cyto-Trol™ Kontrollzellen	Coulter
CellWASH™ Wasch- und Präparierlösung für Zellen	BD*
Vortexmischer™ Genie 2	Scientific Industries
Mikropipetten 100-1000	Eppendorf
10-100	
0,5-10 µl	
Pipettenspitzen	Sarstedt
K3EDTA Blutentnahmeröhrchen	Sarstedt

*BD=BD Biosciences

7.4 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Constanze Scheppach
Geburtsdatum: 02.12.1972
Geburtsort: Ichenhausen

Schulbildung

1979-1983 Grundschule Ichenhausen
1983-1988 Simpert-Kraemer-Gymnasium Krumbach
1988-1993 Dossenberger-Gymnasium Günzburg
Juni 1993 Allgemeine Hochschulreife

Berufliche Bildung

1993-1995 Studium der Architektur, Fachhochschule Augsburg
1996-2003 Studium der Humanmedizin, LMU München
1999-2001 Experimenteller Teil der Doktorarbeit an der Psychiatrischen Klinik der LMU und dem immunologisch-rheumatologischen Forschungslabor der Medizinischen Poliklinik der LMU
Juni 2003 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Seit 2004 Ärztin im Praktikum und später Assistenzärztin am Städtischen Klinikum München Neuperlach, 4. Medizinische Abteilung (Hämatologie/Onkologie)

Veröffentlichungen

Müller, N., Riedel, M., Scheppach, C. et al.: Beneficial antipsychotic effects of celecoxib add-on therapy compared to risperidone alone in schizophrenia. Am. J. Psychiatry (2002) 159: 1029-1034.

Müller, N., Ulmschneider, M., Scheppach, C. et al.: COX-2 inhibition as a treatment approach in schizophrenia: immunological considerations and clinical effects of celecoxib add-on therapy. Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci. (2004) 254: 14-22.

7.5 Danksagung

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Dipl.-Psych. Norbert Müller für die freundliche Überlassung des Themas und die stets wohlwollende Begleitung beim Erstellen dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Rudolf Gruber für die Unterstützung während der gesamten experimentellen Arbeit im Labor und darüber hinaus für wertvolle Anregungen und bereichernde Diskussionen. Danke an Frau Margarethe Siwy für die vielen praktischen Tipps.

Herrn Dr. Michael Riedel danke ich für die Unterstützung beim Erlernen der Psychopathologie, Herrn Prof. Dr. Rolf Engel für die hilfreichen Ratschläge zur statistischen Auswertung.

Vielen herzlichen Dank an meine Freundinnen Frau Dr. Marion Letzel und Frau Alida Gillig für das Korrekturlesen der Arbeit und an meine Eltern und meine Großmutter für die Unterstützung meines Studiums.