

MOŽNÁ PROTEKTIVNÍ FUNKCE RH FAKTORU U SCHIZOFRENIE

POSSIBLE PROTECTIVE FUNCTION OF RH FACTOR IN SCHIZOPHRENIA

DAVID HOLUB^{1,4}, LUCIE BANKOVSKÁ MOTLOVÁ^{2,3,4}, EVA DRAGOMIRECKÁ^{3,4},
MABEL RODRIGUEZ³, MAREK PREISS^{3,4}, TOMÁŠ NOVÁK^{3,4}, JAN ČERMÁK^{3,4},
JAN LIBIGER^{1,6}, JAROSLAV FLEGR⁵

¹Lékařská fakulta Karlovy univerzity, Hradec Králové

²3. lékařská fakulta Karlovy univerzity, Praha

³Psychiatrické centrum Praha

⁴Centrum neuropsychiatrických studií, Praha

⁵Biologická sekce Přírodovědecké Fakulty Univerzity Karlovy, Praha

⁶Psychiatrická klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové

SOUHRN

Osoby s pozitivním Rh faktorem jsou více chráněny vůči patogenním vlivům zevního prostředí včetně poruch navozených latentní infekcí *Toxoplasma gondii*, stárnutím a patrně i únavou. Studie se zaměřila na podíl Rh faktoru na modifikaci klinického obrazu schizofrenie. V populaci 186 schizofrenních pacientů, účastníků denního stacionáře, jsme zjišťovali, zda RhD fenotyp ovlivňuje klinický obraz onemocnění u pacientů se schizofrenií vyšetřených na sérologickou přítomnost toxoplazmové infekce. Zjistili jsme, že RhD fenotyp vykazoval signifikantní vliv na obraz onemocnění u schizofrenních pacientů, zejména u žen. RhD-negativní ženy vykazovaly více pozitivních příznaků schizofrenie a větší míru zkreslení reality v PANSS škále než RhD-pozitivní ženy. U mužů ovlivňoval RhD fenotyp průběh onemocnění podstatně méně a obvykle opačným způsobem než u žen. Délka hospitalizace v počtu dní byla signifikantně delší u RhD-negativních žen oproti RhD-pozitivním ženám a byly jim ordinovány i vyšší dávky antipsychotik. Efekt RhD fenotypu na průběh schizofrenie nesouvisel s obdobným, již dříve popsáním efektem toxoplasmózy, tj. uplatňoval se jak u infikovaných, tak neinfikovaných pacientů. RhD-pozitivní fenotyp můžeme považovat za nadějný protektivní faktor zmírňující klinické projevy schizofrenie.

Klíčová slova: Rh faktor, schizofrenie, latentní toxoplazmóza, protektivní faktory

SUMMARY

Rh-positive factor subjects are better protected against pathogenic environmental factors including impairment associated with latent infection of *Toxoplasma gondii*, aging and possibly also tiredness. Our study was focused on contribution of Rh factor to schizophrenia clinical picture modification. In the population of 186 schizophrenia patients who attended day-treatment structured programme we investigated whether RhD phenotype has any clinical impact on clinical manifestation of schizophrenia patients who were tested for seropositivity to *Toxoplasma* infection. We found out that RhD phenotype was linked with significant impact on clinical presentation in schizophrenia patients especially in women. RhD-negative women showed more severe positive symptoms of schizophrenia and more pronounced reality distortion dimension in PANSS scale in comparison to RhD-positive women. The course of the illness was substantially less influenced by RhD phenotype in men. Length of hospital stay measured by number of days was significantly increased in RhD-negative women and they were prescribed also higher doses of anti-psychotics. The effect of RhD phenotype was independent on similar, already described, effect of toxoplasma infection, as it was observed both in *Toxoplasma*-infected and *Toxoplasma*-free patients. RhD-positive phenotype can be considered as a promising protective factor moderating clinical picture of schizophrenia.

Key words: Rh factor, schizophrenia, latent toxoplasmosis, protective factors

Holub D, Bankovska Motlova L, Dragomirecka E, Rodriguez M, Preiss M, Novak T, Čermák J, Libiger J, Fleger J. Možná protektivní funkce Rh faktoru u schizofrenie. *Psychiatrie* 2011;15(Suppl. 2):37-42.

Úvod

Schizofrenie je závažné, multifaktoriálně podmíněné a chronické neuropsychiatrické onemocnění, které postihuje přibližně 1 % dospělé populace Spojených států a Evropy (Torrey, Yolken, 2003). Předpokládá se, že v mnoha případech schizofrenie vzniká jako výsledek interakce genetické predispozice a vnějšího prostředí u vnímavých

jedinců, přičemž důležitou modifikující roli patrně sehrávají také neaditivní epistatické interakce¹⁾, včetně interakcí geny-prostředí (Leweke et al., 2004).

Nedávné studie ukázaly (Flegr et al., 2008, 2009, 2010a; Novotná et al., 2008), že jedním z faktorů ovlivňujících významně odpověď lidského organismu na určité negativní faktory je RhD fenotyp (tj. přítomnost D epitopu na povrchu červených krvinek

¹⁾ V důsledku epistatických interakcí působí určitá alela genu na fenotyp jedince pokaždé jinak, v závislosti na jevu genotypu i vlivech prostředí. Stejná alela může u jedince určitého genotypu riziko onemocnění zvyšovat, u jedince jiného genotypu (nebo v za jiných podmínek prostředí) ji naopak snižovat. Při neaditivních interakcích se účinky alel nesčítají, nýbrž potencují, nebo naopak částečně či úplně ruší.

podmíněná existencí alespoň jedné funkční alely RHD genu v genomu daného člověka) organizmu. Rh faktor (Rh systém) je díky velkému množství antigenu závažnou komplikací pro plod ženy senzitivované transfuzí nebo těhotenstvím (Westhoff, 2007). V evropské populaci se vyskytují ve srovnatelné frekvenci dvě hlavní varianty RHD genu. Osoby tzv. Rhesus pozitivní (RhD-pozitivní) mají alespoň jednu funkční alelu RHD genu a na povrchu svých červených krvinek mají díky tomu proteinový komplex, jehož součástí je RhD protein. Tento transmembránový komplex je s největší pravděpodobností molekulární CO₂ pumpa, jejíž specifčnost a biologická funkce zatím není známa (Biver et al., 2006; Kustu a Inwood, 2006). Rh komplex se také účastní na upevnění skeletu červených krvinek a jejich membrány tvořené dvojí vrstvou lipidů (Colin, 2002). Rh komplex sehrává rozhodující roli v utváření struktury buněčné membrány erytrocytů (Westhoff, 2007). Studie se zdravými dobrovolníky ukázaly, že Rh-pozitivní jedinci byli odolnější vůči negativním vlivům latentní toxoplasmózy (Novotná et al., 2008; Flegr et al., 2008). RhD-negativní vojenští řidiči nakažení *T. gondii* vykazovali signifikantně vyšší (konkrétně 2,6× vyšší) riziko autohavárie oproti řidičům RhD-pozitivním nebo nenakáženým (Flegr et al., 2009) a také u Rh-pozitivních matek nedocházelo k abnormálně vysokým nárůstům hmotnosti v prvních měsících gravidity pozorovaný u Rh-negativních matek (Kaňková et al., 2010). Osobnostní profil RhD-negativních osob se mění v reakci na nákazu toxoplazmou oproti RhD-pozitivním (Flegr et al., 2010a). Některé výsledky naznačují, že RhD fenotyp moduluje nejen vliv toxoplasmózy na lidský organizmus, zejména na lidskou psychiku, ale i vliv dalších negativních faktorů, například vliv stárnutí (Flegr et al., 2010a).

Cílem této práce bylo ověřit, zda RhD fenotyp ovlivňuje klinický obraz onemocnění u pacientů se schizofrenií. Pacienti denního stacionáře Psychiatrického centra Praha s diagnózou schizofrenního onemocnění a onemocnění schizofrenního spektra byli sérologicky otestováni na RhD fenotyp. Klinický projev byl hodnocen pomocí škál PANSS a hodnoty těchto škál a další parametry popisující klinický obraz onemocnění (délka hospitalizace, věk vypuknutí onemocnění, předepsané dávky léčiv, forma aplikace léčiv) byly porovnávány mezi skupinami RhD-pozitivních a RhD-negativních pacientů pomocí příslušných parametrických i neparametrických testů. Vzhledem k tomu, že mezi pacienty se schizofrenií bývá zvýšené zastoupení osob s latentní toxoplasmózou (Torrey a Yolken, 2003), a že případné rozdíly v klinickém obrazu schizofrenie u RhD-pozitivních a RhD-negativních pacientů by tedy mohly být způsobeny nikoli přímým efektem RhD fenotypu na průběh schizofrenie, ale již dříve popsaným protektivním efektem RhD-pozitivity proti negativním projevům latentní toxoplasmózy u subpopulace *Toxoplasma*-infikovaných pacientů, byly pokusné osoby vyšetřeny rovněž na toxoplasmózu a tento faktor byl zahrnut do příslušných analýz.

Materiál a metodika

Soubor

Zkoumaný soubor tvořili pacienti s poruchou schizofrenního spektra, kteří docházeli do šestitýdenního denního stacionáře pro schizofrenní pacienty ve fázi stabilizace a kteří souhlasili s účastí ve studii. Program probíhal mezi lednem 2006 a červnem 2010 (185 pacientů) v Psychiatrickém centru Praha. Počet hospitalizací v celém souboru se pohyboval mezi 1 a 13 (průměr = 2,64, SD = 2,76). Průměrný věk nemocných byl 28,3 roky (SD = 7,54 let).

Metoda

Tabulka 1: **Kompozitní skóry pětifaktorového modelu PANSS** (Lindenmayer et al., 1995)

Faktor	Položky PANSS
Negativní	citové oploštění, emocionální otažitost, špatné interpersonální porozumění, pasivní/apatická sociální otažitost, nedostatek spontaneity a plynulosti konverzace, motorická retardace, porucha vůle, autizmus, a aktivní vyhýbání se sociálnímu kontaktu
Pozitivní	bludy, pojmová dezorganizace, chování pod vlivem halucinací, velikášství, podezřívavost/perzekuce, manýrismus a pozérství, neobvyklé myšlenkové obsahy, porucha úsudku a náhledu chorobnosti
Kognitivní	poruchy abstraktního myšlení, stereotypní myšlení, dezorientace a poruchy pozornosti
Excitace	excitace, hostilita, nespolupráce a slabá kontrola impulzivitu
Deprese/úzkost	zabývání se tělesným stavem, úzkost, pocity viny, napětí a deprese

Program denního stacionáře a použité vyšetřovací metody jsou podrobně popsány v příspěvcích Bankovské Motlové et al. (2010) a Holuba et al. (2006b). Nemocní byli vyšetřeni standardním postupem a za pomoci strukturovaného interview PANSS (Kay et al., 1987) jedním ze spoluautorů studie (L.B.M., D.H. nebo J.Č.). Současně byly vypočteny skóry pro škálu pozitivních, negativních, obecných příznaků a celkový skór všech položek a kompozitní skóry pětifaktorového PANSS modelu podle Lindenmayera et al. (1995) (tabulka 1). Pětifaktorový model byl podrobně diskutován v pracích van der Gaag et al. (2006a, b).

Všichni pacienti byli kavkazské rasy a jejich diagnostické rozložení ukazuje tabulka 2. Pacienti byli standardně psychiatricky, somaticky i laboratorně vyšetřeni. Ze studie byli vyřazeni pacienti (n = 45), kteří odmítli účast ve studii, odmítli poskytnout vzorek krve nebo dle anamnestických údajů zneužívali alkohol či psychoaktivní látky. Všem pacientům byl ústně i písemně vysvětlen účel studie, pacienti podepsali informovaný souhlas s projektem, který schválila Etická komise PCP a Psychiatrické léčebny Bohnice. Kromě standardních anamnestických údajů se zaznamenaly sociodemografické deskriptory (nástup a trvání onemocnění, počet hospitalizací, trvání poslední hospitalizace, vzdělání). Pacienti ani vyšetřující neznali RhD fenotyp ani výsledek vyšetření na toxoplasmózu u pacientů. Odhad špatné terapeutické odpovědi byl založen na užívání klozapinu a denní dávce antipsychotika překračující doporučené dávkování podle konzervativních kritérií BNF (2010). 157 ze 186 pacientů (84,5 %) užívala antipsychotika druhé generace od počátku své první hospitalizace. Pro další analýzy byly denní dávky antipsychotik přepočítány na chlorpromazinový ekvivalent (CE) (Hung, 2007).

Stanovení Rh

Vyšetření RhD fenotypu (přítomnost RhD antigenu na membráně erytrocytu) se provádělo standardní sérologickou metodou z plné krve. Ke kapce krve na bílé skleněné destičce byla přidána kapka anti-D séra (lidské monoklonální anti-D reagens; Seraclo-ne®, ImmucorGamma Inc.) a sledovalo se, zda dojde k aglutinaci červených krvinek.

Tabulka 2: Diagnostický profil výzkumného souboru

		Schizofrenie (295,1; 295,2; 295,3)*	Schizofreni- formní a krátké psychotické poruchy (295,4; 298,8)	Poruchy s bludy (297,1)	Schizoafektivní poruchy (295,7)	Schizotypální porucha osobnosti (301,33)
Toxoplazma – nenakažení (N = 194)	Muži	49 (63,6 %)	22 (26,8 %)	0 (0 %)	5 (6,5 %)	1 (0,9 %)
	Ženy	31 (48,4 %)	21 (32,8 %)	0 (0 %)	12 (18,7 %)	0 (0 %)
Toxoplazma – infikovaní (N = 57)	Muži	16 (66,7 %)	6 (25,0 %)	2 (8,3 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
	Ženy	11 (52,4 %)	8 (38,0 %)	0 (0 %)	2 (9,5 %)	0 (0 %)

*DSM-IV-TR klasifikace (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition, Text Revision).

% představuje procentuální rozložení v řádku

Stanovení toxoplazmové infekce

Diagnóza latentní toxoplazmózy se opírala o sérologický průkaz specifických IgG anti-toxoplazmových protilátek (anti-TG). S ohledem na to, že latentní toxoplazmóza je celoživotním onemocněním, pokládali jsme potvrzení anti-TG protilátek IgG za spolehlivý indikátor přítomnosti živých parazitů v tkáňových cystách, které nevratně přetrvávají v mozkové tkáni nakažených osob (Montoya, Liesenfeld, 2004). Tento předpoklad vychází nejen z přirozeného neurotropismu TG během primární nákazy a parazitémie, ale také z klinické praxe s pacienty trpícími supresí imunitního systému (HIV, nádorová onemocnění, transplantace, imunodeficitní stavy) a reaktivace do té doby „spících“ bradyzoitů do různých forem toxoplazmové encefalitidy (Israelski, 1988; Montoya, Liesenfeld, 2004). Sérologická analýza vzorků krve probíhala v Národní referenční laboratoři ČR pro toxoplazmózu (Státní zdravotní ústav, Praha). Přítomnost anti-toxoplazmových IgG a IgM protilátek se prokazovala dvěma souběžnými metodami: ELISA (IgG: SEVAC, Praha, IgM: TestLine, Brno) a komplement fixačním testem (CFT) (SEVAC, Praha). CFT metoda v porovnání s ELISA spolehlivěji zachycuje „starší“ toxoplazmovou nákazu (Kodym et al., 2007). Titry protilátek proti TG v komplement-fixačním testu byly hodnoceny v rozmezí 1:4 až 1:1024. Všichni pacienti s pozitivním nálezem IgG protilátek pomocí ELISA (index pozitivity > 0,9) a pacienti s CFT titry rovnajícími se nebo vyššími než 1:8 byli považováni za toxoplazma-pozitivní a byli retestováni ELISA na IgM protilátky k vyloučení akutní toxoplazmózy. Pacienti (n = 9) s rozdílnými výsledky v CFT a ELISA byli pro nejasný sérologický status vyloučeni ze studie. Žádný vzorek neprokázal pozitivitu na IgM protilátky v ELISA ani neměl titer protilátek rovný nebo vyšší než 1:128. Tento nález jsme interpretovali tak, že v průběhu studie žádný z vyšetřovaných pacientů nevykazoval známky akutní toxoplazmózy.

Statistická analýza

Primárně jsme analyzovali efekt Rh faktoru na spojitou proměnnou závažnosti příznaků vyjádřenou skóry PANSS. Použili jsme vícerozměrné i jednorozměrné obecné lineární modely (GLM, General Linear Models) se souhrnnými, kompozitními i dílčími PANSS skóry jako závislými proměnnými a dvěma binárními proměnnými RhD fenotyp a pohlavím jako nezávislými faktory. V některých analýzách jsme mezi nezávislé proměnné zahrnuli i binární proměnnou toxoplazmóza. Rozložení některých závislých proměnných se odlišovalo od normálního rozložení i po log-transformaci. Proto jsme

souvislost mezi PANSS skóry a toxoplazmózou analyzovali i pomocí konzervativních neparametrických testů, jmenovitě parciálního Kendallova korelačního testu s kovariátou věku. Vzhledem k tomu, že některé z biologických faktorů včetně nákazy toxoplazmou ovlivňují chování mužů a žen fertillního věku jinak, v některých případech dokonce v opačném směru, (Flegr et al., 1996; Lindová et al., 2006; Lindová et al., 2010), prováděli jsme neparametrické testy pro obě pohlaví zvlášť.

Pro sekundární analýzy pátrající po dalších rozdílech mezi pacienty s toxoplazmózou a bez toxoplazmózy jsme vytvořili pět binárních proměnných, 1. schizofrenie v úzkém slova smyslu (kategorie DSM-IV-TR: 295.1; 295.2; 295.3) versus ostatní poruchy schizofrenního spektra (kategorie DSM-IV-TR: 295.4; 295.7; 297.1; 298.8; 301.33), 2. standardní versus vysoká dávka antipsychotika (denní dávka vyšší než 1000 mg chlorpromazinového ekvivalentu) (Hung, 2007), 3. terapeutická denní dávka antipsychotika versus vyšší než terapeutická dávka (denní dávka překračující doporučené maximum podle British National Formulary (2010)), 4. rezistentní formy schizofrenie (klozapin versus standardní antipsychotika), a 5. perorální versus depotní forma antipsychotické léčby (indikátor non-adherence v léčbě). Efekt RhD fenotypu na závažnost schizofrenních příznaků byl vypočítán pomocí mnohočetného GLM testu se závažností pozitivních, negativních a obecných příznaků škály PANSS jako závislými proměnnými, a dvěma (nebo třemi) binárními proměnnými, tj. RhD, pohlaví (a v některých modelech také séropozitivita na toxoplazmovou infekci), jako nezávislými binárními proměnnými. Vzhledem k odchýlkám od normality v rozložení některých závislých proměnných jsme k samostatným analýzám pro muže a ženy použili neparametrický Mannův-Whitneyův U-test. Výpočty logistické regrese, GLM, neparametrických testů a ověření normality distribuce dat a homogenity proměnných se prováděli pomocí software Statistica® v 8.0 a neparametrické Kendallovy testy pomocí speciálního excelovského listu, který je k dispozici na adrese <http://web.natur.cuni.cz/flegr/programy.php>.

Výsledky

Diagnostický profil sledovaného souboru je uveden v tabulce 2. Z celkového počtu 186 pacientů (101 mužů), bylo 90 Rh+ mužů (23 toxo pozit, 67 toxo negat), 72 Rh+ žen (9 toxo pozit, 63 toxo negat.), 11 Rh-mužů (1 toxo pozit 10 toxo negat) a 13 Rh- žen (4 toxo pozit 9 toxo negat), ovšem dvě Rh+ ženy neabsolvovaly PANSS. Dvačet čtyři (12,9%) RhD-negativních pacientů se schizofrenií bylo zachyceno ve zkoumaném vzorku 186 pacientů. Nezaznamenali jsme

Tabulka 3: Efekt pohlaví, věku, RhD a interakce pohlaví-RhD na charakteristiky schizofrenního onemocnění

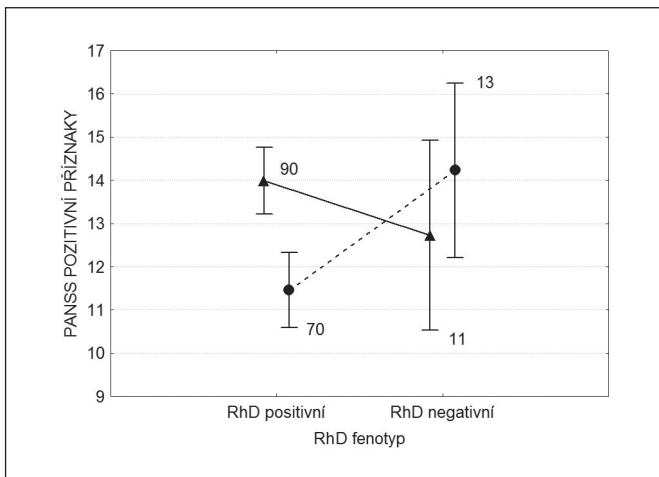
	Muži RhD+		Muži RhD-		Ženy RhD+		Ženy RhD-		Sex		RhD		sex-RhD	
	průměr	směr. odch.	průměr	směr. odch.	průměr	směr. odch.	průměr	směr. odch.	p	eta ²	p	eta ²	p	eta
pozitivní příznaky	13,99	4,04	12,73	3,07	11,46	3,08	14,23	4,53	0,527	0,002	0,352	0,005	0,014	0,033
negativní příznaky	18,70	5,28	17,55	5,94	14,91	5,39	15,62	4,74	0,016	0,032	0,847	0,000	0,429	0,003
obecné příznaky	32,28	6,48	32,00	6,31	28,71	6,53	32,46	6,73	0,280	0,006	0,227	0,008	0,161	0,011
celkové PANSS skóre	64,97	13,28	62,27	13,39	55,09	12,67	62,31	14,32	0,090	0,016	0,434	0,003	0,088	0,016
distorze reality	7,82	2,81	7,18	2,23	6,07	2,02	8,15	3,34	0,487	0,003	0,199	0,009	0,016	0,032
dezorganizace	8,46	2,28	8,73	1,90	7,47	2,36	8,00	1,83	0,475	0,003	0,841	0,000	0,208	0,009
psychomotorické ochuzení	18,42	5,09	17,55	5,94	14,59	5,28	14,59	5,28	0,010	0,036	1,000	0,000	0,441	0,003
negativní podškála	23,22	6,36	21,82	6,60	18,56	6,07	19,69	5,62	0,014	0,033	0,922	0,000	0,354	0,005
pozitivní podškála	17,62	5,17	16,09	3,75	13,96	4,29	17,77	5,60	0,349	0,005	0,282	0,006	0,012	0,034
kognitivní podškála	8,72	2,46	8,45	2,98	7,64	2,19	7,85	2,08	0,107	0,014	0,951	0,000	0,651	0,001
podškála excitace	4,96	1,63	5,09	1,22	4,51	1,21	5,46	2,18	0,915	0,000	0,104	0,015	0,222	0,008
podškála depresivity	10,44	3,38	10,82	3,49	10,41	3,35	11,54	3,15	0,641	0,001	0,312	0,006	0,612	0,001

Tabulka ukazuje výsledky GLM analýzy, konkrétně efekty pohlaví a RhD fenotypu na jednotlivé faktory PANSS a jednotlivé podškály 3-dimenzionálního a 5-dimenzionálního modelu PANSS příznaků. Tabulka ukazuje statistickou signifikanci (p) a sílu efektu (eta²). Signifikantní efekty (p < 0,05) jsou vyznačeny tučně.

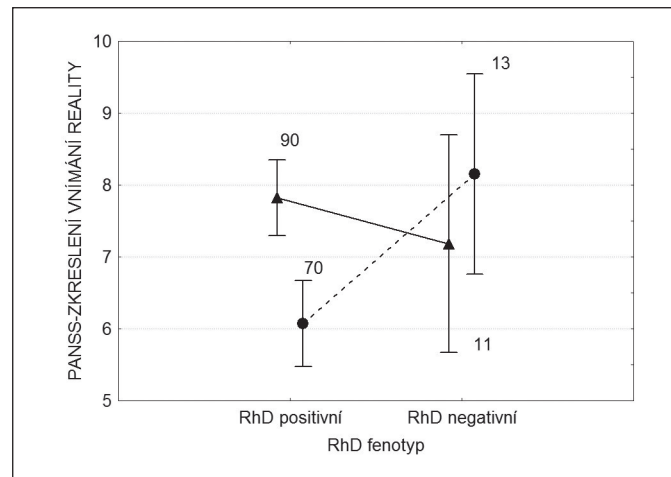
významné odchylky v četnosti RhD-negativních pacientů ($\chi^2 = 0,796$, $p = 0,372$) mezi muži a ženami: jedenáct mužů (10,89 %) a 13 žen (15,29 %) bylo RhD-negativních. Frekvence RhD fenotypu se významně nelišila mezi pacienty diagnostikovanými jako schizofrenie (12,24 %) a ostatními kategoriemi psychotické poruchy (13,79 %), ($\chi^2 = 0,049$, $p = 0,825$). Mezi Rh-positivními a Rh-negativními pacienty jsme nezachytili žádný významný rozdíl ve věku, nástupu onemocnění ani trvání poslední hospitalizace (věk: 28,4 vs. 28,4, $t = -0,02$, $p = 0,983$; nástup onemocnění: 23,3 vs. 24,6, $t = -0,96$, $p = 0,341$, počet dní hospitalizace: 56,1 vs. 73,6, $t = 1,28$, $p = 0,203$). Průměrný věk a věk propuknutí onemocnění byl u mužů nižší než u žen (věk: 27,5 vs. 29,5, $t = -1,91$, $p = 0,058$; nástup: 22,7 vs. 24,5, $t = -2,08$, $p = 0,039$); muži a ženy se nelišili, pokud jde o délku hospitalizace vyjádřenou v počtu dní (59,5 vs. 56,9, $t = 0,28$, $p = 0,781$).

Efekt RhD fenotypu na závažnost psychopatologických příznaků byl hodnocen pomocí jednorozměrných GLM testů s celkovým PANSS skórem a dílčími PANSS skóry (pozitivní, negativní, obecný) jako závislými proměnnými a dvěma binárními proměnnými (RhD fenotyp a pohlaví pacientů) jako nezávislými faktory. Tabulka 3 a obrázky 1 a 2 ukazují výsledky jednorozměrných testů: odlišnosti jednotlivých PANSS skóre mezi RhD-positivními a RhD-negativními pacienty a významnosti efektu RhD fenotypu, pohlaví a interakce RhD-pohlaví. Analýzy ukázaly, že efekty interakce RhD-pohlaví byly významné pro pozitivní škálu PANSS ($p = 0,013$), podškálu distorze reality ($p = 0,016$) a pozitivní skóre v kompozitním pětifaktorovém modelu (0,012); RhD-negativní pacienti-muži vykazovali nižší skóre v pozitivní škále PANSS, v podšále zkreslení reality a pozitivní podšále pětifaktorového modelu, zatímco RhD-negativní pacientky-ženy měly v těchto škálách vždy vyšší skóre (vše v porovnání s RhD-positivními ženami respektive muži). Stejně analýzy jsme zopakovali ve složitějším modelu se třemi nezávislými binárními proměnnými: RhD, pohlaví a toxoplazmóza (nakažení, nenakažení). Výsledky

těchto analýz ukázaly kvalitativně obdobné závěry – pozorovaný účinek RhD fenotypu na pozitivní příznaky zůstal významný a žádné další účinky nebo interakce nebyly nalezeny kromě slabého účinku RhD-pohlaví-toxoplazmové interakce na depresivní podškálu v pěti-faktorovém modelu ($p = 0,047$). Rozdíly mezi RhD-positivními a RhD-negativními pacienty v závažnosti psychopatologie jsme také analyzovali odděleně pro muže a ženy s použitím neparametrických testů. Tyto analýzy ukázaly významný efekt na psychopatologické skóre u žen: pozitivní škála PANSS ($Z_{\text{adj}} = -2,10$, $p = 0,035$), kompozitní škála zkreslení reality ($Z_{\text{adj}} = -2,19$, $p = 0,028$), pozitivní škála pětifaktorového modelu ($Z_{\text{adj}} = -2,39$, $p = 0,017$), a škála excitace pětifaktorového modelu ($Z_{\text{adj}} = -2,17$, $p = 0,030$), zatímco u mužských pacientů nebyl nalezen významný efekt; průměrné hodnoty viz tabulka 3. Průměrné denní dávky antipsychotik (vyjádřené v chlorpromazinovém ekvivalentu) byly nižší u RhD-negativních mužských pacientů a vyšší u RhD-negativních ženských pacientek oproti odpovídajícím kontrolám (GLM, interakce RhD-pohlaví: $p = 0,046$), avšak neparametrické analýzy samostatně provedené pro muže a ženy ukázaly, že asociace mezi RhD fenotypem a denní dávkou antipsychotika nebyla významná ani pro muže ($Z_{\text{adj}} = 1,18$, $p = 0,239$), ani pro ženy ($Z_{\text{adj}} = -1,71$, $p = 0,088$). RhD-negativní muži strávili nevýznamně nižší počet dní v nemocnici během jejich poslední hospitalizace (60,3 vs. 63,8, $Z_{\text{adj}} = -0,25$, $p = 0,801$), zatímco délka hospitalizace RhD-negativních žen byla významně delší (52,4 vs. 82,8, $Z_{\text{adj}} = 3,05$, $p = 0,003$) v porovnání s RhD-positivními muži i ženami. Nebyla nalezena žádná významná vazba mezi RhD genotypem a trváním schizofrenního onemocnění, počtem hospitalizací, diagnostickou jednotkou (schizofrenie vs. krátká psychotická porucha), rezistencí vůči léčbě (klozapin vs. standardní antipsychotická léčba), compliancí (perorální antipsychotika vs. injekční forma léčby depotním přípravkem) ani u mužů ani u žen.



Obrázek 1: Rozdíl ve skórech PANSS pozitivní škále u RhD-positivních a RhD-negativních mužů a žen. (Trojúhelníky označují hodnoty pro muže, kolečka pro ženy, chybové úsečky vyznačují 95 % konfidenční interval, čísla v grafu znamenají počet osob v jednotlivých skupinách).



Obrázek 2: Rozdíl ve skórech PANSS v kompozitní položce zkresení reality u RhD-positivních a RhD-negativních mužů a žen.

Diskuze a závěr

RhD fenotyp vykazoval významný vliv na obraz onemocnění u schizofrenních pacientů, zejména u žen. RhD-negativní ženy vykazovaly vyšší intenzitu pozitivních příznaků schizofrenie a větší míru dimenze zkresení skutečnosti než RhD-positivní ženy. U mužů ovlivňoval RhD fenotyp průběh onemocnění podstatně méně a opačným způsobem než u žen. V souladu s výše uvedenými výsledky získanými pomocí PANSS byla i data obsažená v lékařských záznamech pacientů – RhD-negativní ženy strávily výrazně větší počet dnů v nemocnici než RhD-positivní ženy a byly jim ordinovány i větší dávky léčiv než RhD-positivním ženám. U mužů byly opět pozorovány statisticky nesignifikantní posuny v opačném směru.

Získaná data týkající se žen jsou v souladu s dříve publikovanými výsledky ukazujícími, že RhD-positivita zatím neznámým mechanismem chrání lidský organismus proti projevům působení různých negativních vlivů, například projevům toxoplazmózy a patrně i některým vlivům stárnutí. RhD-positivní ženy vykazovaly významně mírnější pozitivní příznaky onemocnění i nižší míru dimenze zkresení reality a byly na psychiatrické klinice hospitalizovány kratší dobu než ženy RhD-negativní. Zatím není jasné, proč se obdobné protektivní účinky RhD-positivity neprojeví rovněž u mužských pacientů. Je možné pouze spekulovat, že opačný vliv RhD fenotypu na obraz schizofrenie u mužů a žen může souviset s opačným způsobem, jak se příslušníci obou pohlaví vyrovnávají se stresem (Lindová et al., 2010). Zatímco ženy zpravidla hledají podporu u druhých, jsou přátelštější a více kooperují, stresování muži se spíše stahují do sebe a omezují kooperativitu. Je možné, že RhD-positivní ženy, které jsou lépe chráněny proti některým vlivům schizofrenie než ženy RhD-negativní, jsou schopnější potlačit nebo alespoň zamaskovat některé příznaky schizofrenie, což pozitivně ovlivňuje nejen průběh léčby a například snižuje délku hospitalizace, ale i obraz jejich onemocnění získaný pomocí PANSS.

Vzhledem k očekávané vyšší prevalenci toxoplazmou infikovaných osob mezi schizofrenními pacienty (Torrey a Yolken, 2003) a vyšší vnímavosti RhD-negativních osob vůči nejrušnějším negativním projevům toxoplazmózy (Flegr et al., 2008) bylo možno spekulovat, že za závažnější projevy schizofrenie u RhD-negativních žen může ve skutečnosti nikoli samotný RhD fenotyp, ale interakce mezi toxoplazmózou a RhD fenotypem. Naše výsledky však tuto možnost nepotvrzují. Když jsme zahrnuli do GLM modelu jako

jednu z nezávislých proměnných i toxoplazmózu, síla efektu RhD fenotypu se prakticky nezměnila a jako signifikantní se neprojevila žádná interakce zahrnující jak RhD fenotyp, tak toxoplazmózu s výjimkou velmi slabého vlivu trojné interakce RhD-pohlaví-toxoplazmóza – vzhledem k tomu, že celý soubor obsahoval pouze jednoho RhD-negativního toxoplazmou infikovaného muže, však nemá cenu brát trojné interakce příliš v potaz. Navíc je známo, že toxoplazmóza ovlivňuje negativně průběh schizofrenie jak u žen, tak u mužů. Je proto obtížné vysvětlit, proč jsme protektivní efekt RhD-positivity pozorovali pouze u RhD-positivních žen, nikoli u RhD-positivních mužů (u kterých byly pozitivní příznaky schizofrenie spíše vážnější než u mužů RhD-negativních). Naše výsledky tedy ukazují, že RhD fenotyp ovlivňuje klinický obraz schizofrenie nezávisle na toxoplazmóze a že by tedy například protektivní vliv RhD-positivity bylo možno pozorovat i v populaci *Toxoplasma*-negativních žen.

Biologická funkce RhD komplexu na povrchu červených krvinek zatím není známá, proto je zcela předčasné spekulovat o mechanismu, jakým RhD-positivita chrání organismus proti působení některých škodlivých faktorů. Je však pravděpodobné, že změněná aktivita CO₂ pumpy na povrchu červených krvinek ovlivňuje koncentraci tohoto iontu i koncentraci kyslíku v některých oblastech mozku, což ovlivní metabolickou aktivitu v daných oblastech a tím může potencovat vliv některých faktorů (a neutralizovat vliv faktorů jiných) na některé neurofyziologické pochody.

Limitace této studie. Hlavním problémem této studie je, že schizofrenní pacienti zahrnutí do studie prošli velmi selektivním „sítím“. Do studie byli zahrnutí totiž pouze pacienti, kteří měli dobrý vzhled do svého onemocnění, rozhodli se účastnit stacionáře a navíc spolupracovali – byli ochotní se dobrovolně zúčastnit vědecké studie. Schizofrenní pacienti s vážnějšími formami onemocnění proto s velkou pravděpodobností nebyli zahrnutí do studie, což mohlo velmi výrazně ovlivnit získané výsledky. Je totiž možné, že například mezi RhD-negativními ženami je ve skutečnosti ještě větší zastoupení pacientek s vážnějšími projevy schizofrenie, než jak se jeví na základě studie, tyto pacientky se však studie odmítly zúčastnit. Není pravděpodobné, že by efekt síta v tomto případě mohl zapříčinit získání falešně pozitivních výsledků, tj. prokázání statisticky významného efektu, který ve skutečnosti neexistuje, je však možné, že část efektu naopak zamaskoval a že v případě, že by do studie byli automaticky zahrnutí všichni pacienti přijatí do psychiatrického zařízení

během určitého období, byl by efekt RhD-pozitivity silnější. Dalším problémem je poměrně nízký počet RhD-negativních osob (24) zahrnutých do této studie. Opět platí, že nízký počet experimentálních osob ve studii nemůže způsobit získání falešně pozitivních výsledků (pravděpodobnost získání falešně pozitivního výsledku popisuje hodnota p získaná ve statistickém testu a tato hodnota odráží nejen sílu pozorovaného efektu, ale i velikost a vyváženost analyzovaného souboru). Malý počet pokusných osob však může zapříčinit získání falešně negativních výsledků, v tomto případě například absence statisticky významných efektů RhD fenotypu u mužských pacientů. Studie je také limitovaná tím, že intra-rater a inter-rater reliabilita nebyla systematicky studovaná. Nedostatečná reliabilita však nezpůsobuje falešně pozitivní výsledky.

Závěr

Praktický dopad protektivního efektu RhD-pozitivity by mohl být poměrně významný. Naše výsledky ukazují, že u RhD negativních ženských pacientů lze očekávat horší odpověď na terapeutické

zásahy (a z toho vyplývající nutnost nasazení vyšších dávek psychofarmak) a celkově podstatně delší dobu nutné hospitalizace. V případě, že by byly schizofrenní pacientky při přijetí do psychiatrického zařízení rutinně otestovány levným (otestování jednoho pacienta se v současné době pohybuje pod 50 Kč) a rychlým sérologickým testem na RhD fenotyp, bylo by teoreticky možné přesněji a dříve zvolit pro pacienta vhodný léčebný program.

Financování: Článek byl sepsán s podporou výzkumného projektu č. 1M0517 a 0021620828 MŠMT ČR.

MUDr. David Holub
Noble's Hospital
Strang
Braddan
Isle of Man
IM4 4RJ British Isles
e-mail: holub.mail@gmail.com

LITERATURA

- Bankovská Motlová L, Dragomirecká E, Čermák J, Holub D. Frekvence relapsů a kvalita života absolventů denního stacionáře pro terapii psychózy: Výsledky ročního sledování. *Psychiatrie* 2010; 14 (Suppl. 2): 73-76.
- Biver S, Scohy S, Szpírer J, Szpírer C, Andre B, Marini AM. 2006: Physiological role of the putative ammonium transporter RhCG in the mouse. *Transfus Clin Biol* 13: 167-168.
- British National Formulary. British National Formulary number 59. 2010. London: British Medical Association and Royal Pharmaceutical Society of Great Britain.
- Fekadu A, Shibre T, Cleare AJ. 2010. Toxoplasmosis as a cause for behaviour disorders – overview of evidence and mechanisms. *Folia Parasitol* 57:105-113.
- Flegr J, Zitková S, Kodym P, Frynta D. 1996. Induction of changes in human behaviour by the parasitic protozoan *Toxoplasma gondii*. *Parasitology* 113:49-54.
- Flegr J, Havlíček J, Kodym P, Malý M, Smahel Z (2002). Increased risk of traffic accidents in subjects with latent toxoplasmosis: a retrospective case-control study. *BMC Infect Dis* 2; art-11.
- Flegr J. 2007. Effects of *Toxoplasma* on human behaviour. *Schizophr Bull* 33:757-760.
- Flegr J., Novotná M, Lindová J, Havlíček J. 2008. Neurophysiological effect of the Rh factor. Protective role of the RhD molecule against *Toxoplasma*-induced impairment of reaction times in women. *Neuroendocrinol Lett* 29, 475-481.
- Flegr J, Klose J, Novotná M, Berenreitterová M, Havlíček J. 2009. Increased incidence of traffic accidents in *Toxoplasma*-infected military drivers and protective effect RhD molecule revealed by a large-scale prospective cohort study. *BMC Infect Dis* 9: e72.
- Flegr J, Novotná M, Fialová A, Kolbeková P, Gašová Z. 2010a. The influence of RhD phenotype on toxoplasmosis- and age-associated changes in personality profile of blood donors. *Folia Parasitol* 57:143-150.
- Flegr J. 2010b. Influence of latent toxoplasmosis on the phenotype of intermediate hosts. *Folia Parasitol* 57:81-87.
- Holub D, Motlová L, Rodriguez M, Preiss M, Čermák J, Libiger J. 2006a. *Toxoplasma gondii* u schizofrenie. [(*Toxoplasma gondii* in Schizophrenia). (In Czech with English abstract)] *Psychiatrie* 10(2):81-87.
- Holub D, Motlová L, Rodriguez M, Dragomirecká E, Preiss M, Čermák J, Ungermanová M, Nechutná R, Kaňková S. Postnatal latent toxoplasmosis in schizophrenia: Cognitive and psychopathological Correlates. *Psychiatrie* 2006b; 10 (Suppl 3): 66-70.
- Hung GBK. 2007. A Comparison of two methods for calculating total anti-psychotic dose. *Hong Kong J Psychiatr* 17:87-90.
- Israelski DM, Remington JS. 1988. Toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS. *Infect Dis Clin North Am* 2:429-445.
- Kaňková Š, Šulc J, Flegr J. 2010. Increased pregnancy weight gain in women with latent toxoplasmosis and RhD-positivity protection against this effect. *Parasitology*.
- Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. 1987. The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull* 13:261-275.
- Kodym P, Malý M, Švandová E, et al. 2001. Toxoplasmosis in the Czech Republic 1923 - 1999: First case to widespread outbreak. *Int J Parasitol* 31:125-132.
- Kodym P, Machala L, Roháčová H, Širocká B, Malý M. 2007. Evaluation of a commercial IgE ELISA in comparison with IgA and IgM ELISAs, IgG avidity assay and complement fixation for the diagnosis of acute toxoplasmosis. *Clin Microbiol Infect* 13:40-47.
- Kustu S, Inwood W. 2006: Biological gas channels for NH₃ and CO₂: evidence that Rh (Rhesus) proteins are CO₂ channels. *Transfus Clin Biol* 13: 103-110.
- Leweke FM, Gerth CW, Koethe D, Klosterkötter J, Ruslanova I, Krivogorsky B et al. 2004. Antibodies to infectious agents in individuals with recent onset schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 254:4-8.
- Lindenmayer JP, Grochowski S, Hyman RB. 1995. Five-factor model of schizophrenia: replication across samples. *Schizophr Res* 14:229-234.
- Lindová J, Novotná M, Havlíček J et al. 2006. Gender differences in behavioural changes induced by latent toxoplasmosis. *Int J Parasitol* 36:1485-1492.
- Lindová J, Kuběna AA, Šturcová A, Krívohlavá R, Novotná M, Rubešová A, Havlíček J, Kodym P, Flegr J. 2010. Pattern of money allocation in experimental games supports the stress hypothesis of gender differences in *Toxoplasma gondii*-induced behavioural changes. *Folia Parasitol* 57:136-142.
- Montoya JG, Liesenfeld O. 2004. Toxoplasmosis. *Lancet* 363(9425):1965-1976.
- Novotná M, Havlíček J, Smith AP, Kolbeková P, Skallová A, Klose J, Gašová Z, Písačka M, Sechovská M, Flegr J. 2008. *Toxoplasma* and reaction time: Role of toxoplasmosis in the origin, preservation and geographical distribution of Rh blood group polymorphism. *Parasitology*, 135:1253-1261.
- Torrey EF, Yolken RH. 2003. *Toxoplasma gondii* and schizophrenia. *Emerg Infect Diseases* 9:1375-1380.
- van der Gaag M, Cuijpers A, Hoffman T, et al. 2006a. The five-factor model of the Positive and Negative Syndrome Scale I: confirmatory factor analysis fails to confirm 25 published five-factor solutions. *Schizophr Res* 85:273-279.
- van der Gaag M, Hoffman T, Remijsen M, et al. 2006b. The five-factor model of the Positive and Negative Syndrome Scale II: a ten-fold cross-validation of a revised model. *Schizophr Res* 85:273-279.
- Westhoff CM. 2007. The Structure and Function of the Rh antigen Complex. *Semin Hematol* 44(1):42-50.