



Wytwarzanie anionorodnika ponadtlenkowego przez granulocyty obojętnochłonne u chorych na chorobę afektywną dwubiegunową

Superoxide anion generation by granulocytes in bipolar affective disorder

TADEUSZ PIETRAS¹, PIOTR GAŁECKI²

- Z: 1. Kliniki Pneumonologii i Alergologii Instytutu Medycyny Wewnętrznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
2. Kliniki Psychiatrii i Zaburzeń Nerwicowych z Oddziałem Interwencji Kryzysowych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

STRESZCZENIE

Cel. Choroba afektywna dwubiegunowa związana jest zarówno z zaburzeniami neurotransmisji ośrodkowej, czynnikami genetycznymi, jak i zmianami strukturalnymi mózgowia. Celem pracy jest porównanie wytwarzania anionorodnika ponadtlenkowego przez granulocyty obojętnochłonne krwi obwodowej u chorych na chorobę afektywną dwubiegunową i osób zdrowych

Metoda. W badaniu wzięły udział 42 osoby chore na chorobę afektywną dwubiegunową (21 osób w czasie epizodu depresyjnego i 21 z epizodem manii) oraz 21 zdrowych ochotników. U pacjentów chorobę rozpoznano w oparciu o analizę historii choroby i badanie psychiatryczne. Aktywność granulocytarnej NADPH oksydazy mierzono w granulocytach krwi obwodowej za pomocą metody opracowanej przez Bellanite'a i wsp.

Wyniki. Wytwarzanie anionorodnika ponadtlenkowego było statystycznie wyższe u chorych na chorobę afektywną dwubiegunową w porównaniu z osobami zdrowymi ($13,9 \pm 4,4$ w grupie z epizodem depresji, $13,07 \pm 4$ w grupie osób z manią wobec $9,79 \pm 2,05$ w grupie kontrolnej, $p < 0,01$). Nie stwierdzono różnic w wytwarzaniu anionorodnika ponadtlenkowego u osób z epizodem depresji i epizodem manii.

Wnioski. W chorobie afektywnej dwubiegunowej stwierdza się zwiększoną aktywność oksydazy NADPH granulocytów obojętnochłonnych.

SUMMARY

Objectives. Bipolar affective disorder is associated with neurotransmission changes, genetic factors, and brain anatomy abnormalities. The aim of the study was to compare superoxide anion generation (NADPH oxidase) by whole blood neutrophilic granulocytes in patients with bipolar affective disorder and in healthy controls.

Methods. Participants in the study were 42 patients with bipolar affective disorder (21 in the course of a depressive episode and 21 during a manic episode), and 21 healthy volunteers. All the patients were enrolled in the study on the basis of their medical history and psychiatric examination. NADPH oxidase activity was examined in granulocytes harvested from peripheral blood. Superoxide anion generation was evaluated using the Bellanite et al. method.

Results. Superoxide anion generation by whole blood granulocytes was significantly higher in bipolar affective patients than in healthy controls ($13,9 \pm 4,4$ in the depressive subgroup and $13,07 \pm 4,59$ in manic patients vs. $9,79 \pm 2,05$ in the controls, $p < 0.01$). There were no differences between the depressive and manic subgroups.

Conclusion. Increased NADPH oxidase activity in blood neutrophilic granulocytes was found in bipolar affective disorder.

Słowa kluczowe: choroba afektywna dwubiegunowa / anionorodnik ponadtlenkowy / oksydaza NADPH

Key words: bipolar affective disorder / superoxide anion / NADPH oxidase

Choroba afektywna dwubiegunowa stanowi ważne zagadnienie współczesnej psychiatrii. Uważa się, że w jej patogenezie dużą rolę odgrywają czynniki genetyczne [1]. Podobnie jak w przypadku schizofrenii, w chorobie afektywnej dwubiegunowej stwierdza się drobne nieprawidłowości w budowie mózgowia i jego funkcjonowaniu [2, 3].

Powstaje pytanie, w jaki sposób czynniki genetyczne i stwierdzone w chorobie afektywnej dwubiegunowej zaburzenia w strukturze ośrodkowego układu ner-

wowego wpływają na funkcjonowanie umysłu człowieka i na powstanie zaburzeń procesów afektywnych i poznawczych. Jednym z możliwych sposobów wyjaśnienia obserwowanych zaburzeń psychicznych w przebiegu tej choroby jest udział nieprawidłowej neurotransmisji w ośrodkowym układzie nerwowym w patogenezie objawów choroby [4, 5]. Zaburzenia ośrodkowej neurotransmisji są przyczyną zarówno epizodów manii, jak i okresów obniżonego nastroju [4, 5]. Pośrednim dowodem potwierdzającym omawianą hipotezę jest

molekularny mechanizm działania leków normotymicznych, które w większości działają na wewnątrzkomórkowe mechanizmy przekazywania informacji [6, 7, 8]. Uważa się, że lit, karbamazepina i kwas walproinowy bezpośrednio hamują resyntezę fosfatydyloinozytolu. Leki te hamują również kinazę trzecią syntazy glikogenu [6, 7, 8]. Fosfatydyloinozytol pełni rolę prekursora diacyloglicerolu i trifosfoinozytolu – podstawowych wtórnych przekazników wewnątrzkomórkowych w ośrodkowym układzie nerwowym [6, 7, 8, 9]. Kwas walproinowy dodatkowo hamuje aktywność deacetylazy histonów, przez co nasila ekspresję wielu białek w ośrodkowym układzie nerwowym [6, 7]. Szczególną rolę przypisuje się hamowaniu przez leki normotymiczne kinazy trzeciej syntazy glikogenu [10]. Kinaza ta reguluje wiele szlaków transdukcji sygnału wewnątrz komórki nerwowej, wpływając na fosforylację licznych białek enzymatycznych oraz białek cytoszkieletu [10].

Kluczową rolę w funkcjonowaniu receptorów dla neuromediatorów odgrywają białka G [11]. Białka G są to przybłonowe GTPazy, które przenoszą sygnał wewnątrzkomórkowy od zewnątrzblonowego białka receptorowego związanego z ligandem do cykazy adenylanowej, fosfolipazy C lub innych enzymów wytwarzających wtórne przekazniki [11]. Zespół Spleissa w roku 1998 wykazał, że u osób chorych na chorobę afektywną dwubiegunową występują odmienności w ekspresji mRNA dla podjednostki alfa białka G w granulocytach obojętnochłonnych [5]. Zaburzenia w funkcjonowaniu białek G i nieprawidłowości transdukcji sygnału wskazują na ogólnoustrojowy charakter choroby afektywnej dwubiegunowej, ze szczególną przejawianiem się w obrębie ośrodkowego układu nerwowego. Zmieniona ekspresja białek G i nieprawidłowa regulacja na poziomie receptora jest, być może, jedną z przyczyn obserwowanych w chorobie drobnych nieprawidłowości anatomicznych i zaburzeń neurotransmisji. Na poziomie umysłu przejawia się to zaburzeniami w funkcjonowaniu mechanizmów regulujących nastroj, emocje, motywację oraz w mniejszym stopniu – procesy poznawcze.

CEL

Zakłada się, że ogólnoustrojowe zaburzenia w transmisji sygnału w obrębie receptorów komórkowych są jedną z możliwych przyczyn lub ważnym elementem patogenezy choroby afektywnej dwubiegunowej. Powstaje zatem pytanie, czy zjawisko to można oceniać analizując łatwo dostępny materiał biologiczny. Uznany i modelowym obiektem badań są granulocyty obojętnochłonne krwi obwodowej. Komórki te posiadają enzym oksydazę NADPH, który generuje anionorodnik nadtlenkowy (O_2^-) celem indukcji stresu oksydacyjnego, peroksydacji lipidów i w konsekwencji zabicia drobnoustrojów [12, 13]. Oksydaza NADPH jest wielopodjednostkowym enzymem, w skład którego wchodzi m.in. małe białka G [12, 13]. Precyzyjna regulacja en-

zymu zależy od wielu szlaków w obrębie komórki granulocytu, stąd zaburzenie w funkcjonowaniu któregośkolwiek z tych szlaków może przejawiać się nadmierną lub zmniejszoną aktywnością oksydazy NADPH. Pomiar aktywności oksydazy NADPH polega na oznaczeniu biosyntezy anionorodnika nadtlenkowego przez aktywne komórki granulocytów obojętnochłonnych.

W tej pracy¹ podjęto próbę odpowiedzi na następujące pytania:

1. Czy aktywność NADPH oksydazy w granulocytach obojętnochłonnych krwi obwodowej u osób chorych na chorobę afektywną dwubiegunową różni się od aktywności u ludzi zdrowych?
2. Czy wytwarzanie anionorodnika nadtlenkowego różni się w czasie epizodu depresji i epizodu manii u chorych na chorobę afektywną dwubiegunową?

BADANI I METODY

W badaniu zgodziły się wziąć udział 42 osoby (30 mężczyzn i 12 kobiet) z rozpoznaniem choroby afektywnej dwubiegunowej. U 21 osób (12 mężczyzn i 9 kobiet) rozpoznano epizod depresyjny, a u pozostałych 21 osób (18 mężczyzn i 3 kobiety) epizod manii lub hipomanii. Rozpoznanie uwzględniało kryteria badawcze klasyfikacji zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania w ICD-10 [14]. Pomocniczo, celem sprecyzowania rozpoznania, oceniono stan psychiczny wszystkich osób skalą depresji Hamiltona, skalą depresji Becka, a u chorych z epizodem manii lub hipomanii skalą manii Younga. Pacjenci włączeni do badań nie przyjmowali leków normotymicznych przez ostatnie 4 tygodnie przed pobraniem krwi do badań. Średnia wieku pacjentów wynosiła $52,3 \pm 12,6$ lat. Średni okres, jaki upłynął od pierwszego epizodu afektywnego choroby, wynosił $10 \pm 6,5$ lat. Grupę kontrolną stanowiło 21 zdrowych ochotników (14 mężczyzn i 7 kobiet). Średnia wieku w grupie kontrolnej wynosiła $45 \pm 10,2$ lat. Wszystkie osoby z grupy kontrolnej miały negatywny wywiad rodzinny w kierunku chorób psychicznych.

Osoby z pozytywnym wywiadem w kierunku uzależnienia od alkoholu lub innych substancji, z rozpoznaną padaczką, z napadem padaczkowym w wywiadzie, były wyłączone z badań. Wyłączono również osoby z klinicznymi oznakami choroby nerek, serca, cukrzycy i innych poważnych chorób ogólnoustrojowych. Osoby biorące udział w badaniu w okresie 7 dni poprzedzającym pobranie krwi nie przyjmowały takich leków, jak: leki przeciwdepresyjne, aspiryna i antybiotyki.

Wszystkie osoby zdrowe i chore paliły papierosy. Nie znaleziono bowiem osoby z chorobą afektywną dwubiegunową nie palącą tytoniu, spełniającej kryteria włączenia. W związku z tym, grupę porównawczą dobrano spośród osób zdrowych uzależnionych od nikotyny.

¹ Zgoda Komisji Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, decyzja nr RNN/76/03/KB.

Tablica 1. Generowanie anionorodnika ponadtlenkowego przez granulocyty obojętnochłonne u osób z chorobą afektywną dwubiegunową podczas epizodu depresji, epizodu manii i u osób zdrowych

	Generacja O ₂ [*] u osób z depresją w przebiegu CHAD	Generacja O ₂ [*] w grupie kontrolnej	Generacja O ₂ [*] u osób z manią lub hipomanią w przebiegu CHAD
Liczba badanych	21	21	21
Rozpiętość	8–23	6,7–15	6–21
Średnia arytmetyczna	13,9	9,79	13,37
Mediana	12,3	9,5	13,0
Odchylenie standardowe	4,4	2,05	4,59
Analiza statystyczna	t = 3,4 p < 0,01		t = 3,07 p < 0,01

CHAD – choroba afektywna dwubiegunowa.

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą testu t-Studenta.

Krew od badanych osób pobierano z żyły łokciowej do próbek z antykoagulantem (EDTA). Wytwarzanie anionorodników ponadtlenkowych oznaczono metodą Bellavite i wsp. [15]. Zasada badania polega na ocenie stopnia redukcji cytochromu c przez anionorodniki ponadtlenkowe generowane przez granulocyty pełnej krwi obwodowej. Dla każdej badanej próby wykonywano 2 oznaczenia. Zawartość pierwszej próbki stanowiła próba ślepa, w próbce drugiej oznaczano produkcję anionorodników ponadtlenkowych przez granulocyty spoczynkowe.

Obliczenia statystyczne wykonano na komputerze typu IBM PC przy wykorzystaniu pakietu zautomatyzowanej analizy statystycznej Statistica 5,1 PL (SN: SP8018052912G5). We wszystkich grupach sprawdzono normalność rozkładu oraz losowość próby. Wyliczono wartość średnią oraz odchylenie standardowe, współczynnik zmienności i istotność statystyczną stosując test t-Studenta dla prób niepowiązanych.

WYNIKI

Spoczynkowe generowanie anionorodnika ponadtlenkowego przez granulocyty krwi obwodowej u osób chorych na chorobę afektywną dwubiegunową z epizodem depresyjnym było istotnie statystycznie wyższe niż u osób zdrowych ($13,9 \pm 4,4$ w porównaniu z $9,79 \pm 2,05$, $p < 0,01$). W grupie z epizodem maniaki lub hipomaniaki spoczynkowe generowanie anionorodnika ponadtlenkowego było również istotnie statystycznie wyższe niż w grupie kontrolnej ($13,07 \pm 4,59$ w porównaniu z $9,79 \pm 2,05$, $p < 0,01$). Nie zaobserwowano różnic statystycznych między chorymi z epizodem depresyjnym i maniaki lub hipomaniaki ($p = 0,3$). Wyniki podano w jednostkach nmol/min/kom (tabl. 1).

OMÓWIENIE

Z przedstawionych wyników jednoznacznie wynika, że aktywność oksydazy NADPH u osób chorych na cho-

robę afektywną dwubiegunową jest znacznie wyższa niż w grupie kontrolnej.

Oksydaza NADPH jest wielopodjednostkowym enzymem zlokalizowanym w błonie komórek fagocytujących [16]. Aktywny enzym składa się z dwóch białek błonowych (heterodimeru) p22^{phox} i glikoproteiny gp91^{phox}. Miejsce katalityczne enzymu znajduje się w obrębie hemu w białku gp91^{phox}. Heterodimer ten jest jednak nieaktywny, jeśli nie są przyłączone do niego białka cytoplazmatyczne: p40^{phox}, p47^{phox} i p67^{phox}, oraz małe białko rac2 z rodziny białek G [16]. Regulacja aktywności oksydazy NADPH odbywa się zarówno poprzez małe białka G pokrewne białkom produktom onkogenu ras, jak i przez procesy fosforylacji i defosforylacji podjednostek enzymu przez kinazy (w tym kinazę białkową A, kinazę białkową C, kinazę kazeinową i kinazę tyrozynową) [16, 17]. Fosforylacja podjednostek powoduje przyłączenie białek cytoplazmatycznych do składników błonowych i w rezultacie aktywację enzymu.

Szczególną rolę przypisuje się kinazie 3 fosfoinozytoli, która reguluje aktywność kinazy białkowej C. Kinaza ta fosforyluje podjednostkę p47^{phox} oksydazy NADPH aktywując enzym [17]. Podjednostki p47^{phox} i p67^{phox} oksydazy NADPH mogą być jedynie aktywne po translokacji z cytoplazmy w pobliże błony komórkowej [18]. Proces ten jest zależny od fosforylacji przez kinazę białkową C [18]. W ośrodkowym układzie nerwowym kinaza białkowa C uczestniczy w mechanizmach plastyczności synaptycznej, procesach pamięci i jest ważnym elementem odpowiedzi na agonistę wielu receptorów, w tym: cholinergicznego receptora muskarynowego, alfa 1 adrenergicznego, H1 histaminowego, D2 receptora dla dopaminy i wielu innych [19]. Należy zwrócić uwagę, że plastyczność synaps i pamięć mają związek z mechanizmem „rozniecania” (*kindling*). Mechanizm ten jest wspólny zarówno w patogenezie padaczki, jak i choroby afektywnej dwubiegunowej [4, 7, 8, 20]. Również niektóre leki stosowane w leczeniu padaczki są często skuteczne w leczeniu choroby afektywnej dwubiegunowej (np. kwas walproinowy, karbamazepina) [4, 7, 8, 20]. Kinaza białkowa C aktywowana jest przez diacylglicerol, który powstaje przez rozpad

fosfatydyloinozytolu do trifosfoinozytolu i omawianego diacylglicerolu [21, 22]. Enzymem, który katalizuje tę reakcję jest fosfolipaza C [21, 22]. Aktywowana jest ona przez białka G oddziałujące z jednej strony z receptorem, z drugiej zaś z fosfolipazą. Fosfolipaza C stanowi kluczowy enzym w działaniu wielu receptorów w ośrodkowym układzie nerwowym [21, 22, 23]. Jak wspomniano, leki normotymiczne hamują resyntezę fosfatydyloinozytolu [7, 8]. Innym, nie mniej ważnym mechanizmem działania tych leków jest hamowanie aktywności fosfolipazy C poprzez kinazę trzecią syntazy glikogenu i fosforylację reszt serynowych [7, 8].

Kolejnym ważnym aspektem dla zrozumienia zwiększonej aktywności NADPH w granulocytach obojętnochłonnych u chorych na chorobę afektywną dwubiegunową jest funkcja białek G. Białka G stanowią dużą rodzinę białek regulujących funkcjonowanie receptorów. Obecnie wyróżnia się cztery podrodziny omawianych białek, w tym podrodzinę G_s , G_i , G_q i G_{12} [11]. Wykazano, że polimorfizm w obrębie genu kodującego białko G na chromosomie 22q12 ma związek z zapadalnością na chorobę afektywną dwubiegunową [24]. Znalezione także związki pomiędzy mutacjami w genie kodującym podjednostkę beta 3 białek G a chorobą afektywną dwubiegunową. Wykazano również, że leczenie litem wpływa na ekspresję białek G w granulocytach obojętnochłonnych i koreluje z poprawą kliniczną [25]. Stwierdzono także zmienioną ekspresję mRNA dla podjednostek białek G u chorych na chorobę afektywną dwubiegunową [5]. Związek białek G z chorobą afektywną dwubiegunową może tłumaczyć obserwowany przez nas wzrost aktywności NADPH oksydazy w granulocytach. Białka G regulują bowiem zarówno aktywność samej oksydazy, jak i funkcję wielu innych receptorów błonowych pośrednio wpływając na fosforylację cytoplazmatycznych podjednostek NADPH oksydazy i na jej aktywację. Zaburzenia w funkcjonowaniu regulacji wewnątrzkomórkowej mogą mieć związek zarówno ze zmianami anatomicznymi w mózgowiu chorych osób (zmianami neurorozwojowymi), jak i czynnikami genetycznymi, których udział udowodniono bezspornie w dwubiegunowych zaburzeniach nastroju [4].

Związek pomiędzy aktywnością obwodowych granulocytów a chorobą afektywną dwubiegunową może mieć zupełnie inną przyczynę, niż sugerowaną powyżej. W chorobie afektywnej dwubiegunowej następują zmiany w hormonalnej regulacji osi podwzgórze–przysadka–gruczoły obwodowe [25]. „Rozchwianie” hormonalne zmienia wydzielanie cytokin aktywujących granulocyty obojętnochłonne [25]. Jedną z nich może być czynnik martwicy nowotworów (TNF – *tumor necrosis factor*). W 2004 r. opisano związek pomiędzy polimorfizmem genu kodującego TNF a zapadalnością na chorobę afektywną dwubiegunową typu I [26]. Podanie interferonu alfa może indukować epizod maniakalny u chorych predysponowanych do zaburzeń nastroju [27]. Choroby infekcyjne, takie jak m.in. wirusowe zapalenie wątroby typu C, wiążące się z nadprodukcją

interferonu skorelowane są z wystąpieniem epizodu manii [27]. W roku 2004 ukazała się praca, z której wynika, że u osób z manią w okresie przed włączeniem leków podwyższone jest stężenie receptora dla interleukiny pierwszej, rozpuszczalnej formy antygenów CD4 i CD8, obniżone zaś stężenie interferonu gamma [28]. Nie wykazano różnic w stężeniu w surowicy interleukiny drugiej, czwartej i dziesiątej pomiędzy osobami zdrowymi a chorymi [28]. Zmniejszone stężenie interferonu gamma u osób chorych na chorobę afektywną dwubiegunową stwierdzono już w roku 2002 [29]. Nie ulega wątpliwości, że chorobie tej towarzyszą zmiany w immunoregulacji, których poznanie jest w chwili obecnej dalekie od systematyzacji. Być może, zaobserwowana przez nas zwiększona aktywność NADPH oksydazy w granulocytach ma związek z zaburzeniami immunoregulacji obserwowanymi w chorobie afektywnej dwubiegunowej, a nie z wpływem na wewnątrzkomórkowe szlaki transdukcji sygnału. Interpretację jednak utrudnia brak równoległego pomiaru stężenia wybranych cytokin w badanych przez nas grupach. Zaznaczyć należy jednak, że leki normotymiczne wpływają również na immunoregulację i biosyntezę cytokin [30, 31, 32]. Być może, wpływ na immunoregulację okaże się ważnym elementem punktu uchwytu działania tej grupy leków [30, 31, 32]. Nie można tłumaczyć zwiększonej aktywności granulocytów obojętnochłonnych w obserwowanej grupie chorych uzależnieniem od nikotyny, albowiem również osoby zdrowe paliły papierosy. Wiadomo jednak, że dym tytoniowy silnie aktywuje aktywność NADPH oksydazy granulocytów obojętnochłonnych [33, 34]. Proces ten odbywa się zarówno bezpośrednio przez toksyny dymu tytoniowego, jak i pośrednio przez nieswoisty wpływ prozapalny palenia [33, 34]. Należy jednak pamiętać o zwiększonej częstości zespołu uzależnienia od nikotyny u osób chorych na zaburzenia nastroju i u chorych na schizofrenię [35, 36].

Istotnym niedociągnięciem naszej pracy jest zbyt mała liczebność badanych grup, ażeby wysnuwać daleko idące wnioski i aby uwzględnić czynnik płci. Zasugerowana przez nas interpretacja wymagałaby pomiaru ekspresji białek G, kinaz, pomiaru procesu fosforylacji w granulocytach i oznaczenia surowiczego stężenia wybranych cytokin. Byłoby również interesujące skorelowanie aktywności NADPH oksydazy z poprawą lub pogorszeniem klinicznym, obserwacja przebiegu tej aktywacji w czasie, sprawdzenie wpływu leków normotymicznych na wytwarzanie anionorodnika ponadtlenkowego przez fagocyty. Wydaje się jednak mało prawdopodobne, że zwiększona aktywność granulocytów obojętnochłonnych zależy od fazy choroby, albowiem nie znaleziono różnic w tej aktywności pomiędzy osobami z epizodem depresji a chorymi z manią. W pracy brakuje porównawczej grupy chorych na chorobę afektywną dwubiegunową bez zaburzeń nastroju w chwili pobierania krwi do badań. Niestety, nie znaleziono takiej grupy osób, u których nie występowały choroby towarzyszące lub u których odstawienie

leków normotymicznych nie wiązałyby się z ryzykiem nawrotu choroby.

W pracy nie korelowano również aktywności NADPH oksydazy z wynikami uzyskanymi za pomocą skali depresji Hamiltona, skali depresji Becka i skali manii Younga. Skale te wykonano jako narzędzia pomocnicze celem sprecyzowania rozpoznania. Zbyt mała liczba chorych objętych badaniem nie upoważnia do obliczenia współczynników korelacji pomiędzy wynikami uzyskanymi za pomocą skal psychometrycznych a aktywnością oksydazy NADPH.

Praca stanowi jednak dla nas ważny przyczynek do dalszych poszukiwań badawczych.

WNIOSKI

1. U chorych na chorobę afektywną dwubiegunową zaobserwowano zwiększoną aktywność oksydazy NADPH granulocytów obojętnochłonnych wyizolowanych z krwi obwodowej.
2. Nie stwierdzono różnic w generowaniu anionorodnika ponadtlenkowego u osób w fazie depresji i fazy manii.

PIŚMIENNICTWO

1. Tsuchiya KJ, Byrne M, Mortensen PB. Risk factors in relation to an emergence of bipolar disorder: a systematic review. *Bipolar Disord* 2003; 3: 231–42.
2. Berns GS, Nemeroff CB. The neurobiology of bipolar disorder. *Am J Med Genet* 2003; 123: 76–84.
3. Post RM, Speer AM, Hough CJ, Xing G. Neurobiology of bipolar illness: implications for future study and therapeutics. *Ann Clin Psychiatry* 2003; 15: 85–94.
4. Dean B. The neurobiology of bipolar disorder: findings using human postmortem central nervous system tissue. *Aust N Z J Psychiatry* 2004; 38: 135–40.
5. Spleiss O, van Calker D, Scharer L, Adamovic K, Berger M, Gebicke-Haerter PJ. Abnormal G protein alpha(s) – and alpha(i2)-subunit mRNA expression in bipolar affective disorder. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 512–20.
6. Bauer M, Alda M, Priller J, Young LT. International Group for the Study of Lithium Treated Patients (IGSLI). Implications of the neuroprotective effects of lithium for the treatment of bipolar and neurodegenerative disorders. *Pharmacopsychiatry* 2003; 36 (supl 3): S250–4.
7. Harwood AJ. Neurodevelopment and mood stabilizers. *Curr Mol Med* 2003; 3: 472–82.
8. Harwood AJ, Agam G. *Biochem Pharmacol* 2003; 15 (66): 179–89.
9. Li X, Ketter TA, Frye MA. Synaptic, intracellular, and neuroprotective mechanisms of anticonvulsants: are they relevant for the treatment and course of bipolar disorders? *J Affect Disord* 2002; 69: 1–14.
10. Gould TD, Zarate CA, Manji HK. Glycogen synthase kinase-3: a target for novel bipolar disorder treatments. *J Clin Psychiatry* 2004; 65: 10–21.
11. Roberts DJ, Waelbroeck M. G protein activation by G protein coupled receptors: ternary complex formation or catalyzed reaction? *Biochem Pharmacol* 2004; 68: 799–806.
12. Takeya R, Sumimoto H. Molecular mechanism for activation of superoxide-producing NADPH oxidases. *Mol Cells* 2003; 16: 271–7.
13. Quinn MT, Gauss KA. Structure and regulation of the neutrophil respiratory burst oxidase: comparison with nonphagocyte oxidases. *J Leukoc Biol* 2004 (w druku, maszynopis dzięki uprzejmości autorów).
14. Klasyfikacja zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania w ICD-10. *Badawcze kryteria diagnostyczne*. Kraków, Warszawa: UniW Wyd Med „Vesalius”, IPiN; 1998.
15. Bellavite P, Dri P, Della Bianca V. The measurement of superoxide production by granulocytes in whole blood. A clinical test for the evaluation of phagocyte function and serum opsonic capacity. *Eur J Clin Invest* 1983; 13: 363–8.
16. Babior BM. NADPH oxidase. *Curr Opin Immunol* 2004; 16: 42–7.
17. Yamamori T, Inanami O, Nagahata H, Kuwabara M. Phosphoinositide 3-kinase regulates the phosphorylation of NADPH oxidase component p47(phox) by controlling cPKC/PKC delta but not Akt. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 316: 720–30.
18. Kitada M, Koya D, Sugimoto T, Isono M, Araki S, Kashiwagi A, Haneda M. Translocation of glomerular p47phox and p67phox by protein kinase C-beta activation is required for oxidative stress in diabetic nephropathy. *Diabetes* 2003; 52: 2603–14.
19. Sutton MA, Bagnall MW, Sharma SK, Shobe J, Carew TJ. Intermediate-term memory for site-specific sensitization in aplysia is maintained by persistent activation of protein kinase C. *J Neurosci* 2004; 24: 3600–9.
20. Ghaemi SN, Boiman EE, Goodwin FK. Kindling and second messengers: an approach to the neurobiology of recurrence in bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 1999; 45: 137–44.
21. Nalaskowski MM, Mayr GW. The families of kinases removing the Ca²⁺ releasing second messenger Ins(1,4,5)P₃. *Curr Mol Med* 2004; 4: 277–90.
22. Ochocka AM, Pawelczyk T. Isozymes delta of phosphoinositide-specific phospholipase C and their role in signal transduction in the cell. *Acta Biochim Pol* 2003; 50: 1097–110.
23. Delmas P, Crest M, Brown DA. Functional organization of PLC signalling microdomains in neurons. *Trends Neurosci* 2004; 27: 41–7.
24. Barrett TB, Hauger RL, Kennedy JL, Sadovnick AD, Remick RA, Keck PE, McElroy SL, Alexander M, Shaw SH, Kelsoe JR. Evidence that a single nucleotide polymorphism in the promoter of the G protein receptor kinase 3 gene is associated with bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2003; 8: 546–57.
25. Bauer M, London ED, Silverman DH, Rasgon N, Kirchner J, Whybrow PC. Thyroid, brain and mood modulation in affective disorder: insights from molecular research and functional brain imaging. *Pharmacopsychiatry* 2003; 36 (supl 3): S215–21.
26. Pae CU, Lee KU, Han H, Serretti A, Jun TY. Tumor necrosis factor alpha gene-G308A polymorphism associated with bipolar I disorder in the Korean population. *Psychiatry Res* 2004; 125: 65–8.
27. Hurlock EC 4th. Interferons: potential roles in affect. *Med Hypotheses* 2001; 56: 558–66.
28. Liu HC, Yang YY, Chou YM, Chen KP, Shen WW, Leu SJ. Immunologic variables in acute mania of bipolar disorder. *J Neuroimmunol* 2004; 150: 116–22.
29. Su KP, Leu SJ, Yang YY, Shen WW, Chou YM, Tsai SY. Reduced production of interferon-gamma but not interleukin-10 in bipolar mania and subsequent remission. *J Affect Disord* 2002; 71: 205–9.

30. Ichiyama T, Okada K, Lipton JM, Matsubara T, Hayashi T, Furukawa S. Sodium valproate inhibits production of TNF- α and IL-6 and activation of NF- κ B. *Brain Res* 2000; 857: 246–51.
31. Rapaport MH, Manji HK. The effects of lithium on ex vivo cytokine production. *Biol Psychiatry* 2001; 50: 217–24.
32. Verrotti A, Basciani F, Trotta D, Greco R, Morgese G, Chiarelli F. Effect of anticonvulsant drugs on interleukins-1, -2 and -6 and monocyte chemoattractant protein-1. *Clin Exp Med* 2001; 1: 133–6.
33. Noguera A, Batle S, Miralles C, Iglesias J, Busquets X, MacNee W, Agusti AG. Enhanced neutrophil response in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2001; 56: 432–7.
34. Iho S, Tanaka Y, Takauji R, Kobayashi C, Muramatsu I, Iwasaki H, Nakamura K, Sasaki Y, Nakao K, Takahashi T. Nicotine induces human neutrophils to produce IL-8 through the generation of peroxynitrite and subsequent activation of NF- κ B. *J Leukoc Biol* 2003; 74: 942–51.
35. de Leon J, Becona E, Gurpegui M, Gonzalez-Pinto A, Diaz FJ. The association between high nicotine dependence and severe mental illness may be consistent across countries. *J Clin Psychiatry* 2002; 63: 812–6.
36. de Leon J, Diaz FJ, Rogers T, Browne D, Dinsmore L. Initiation of daily smoking and nicotine dependence in schizophrenia and mood disorders. *Schizophr Res* 2002; 56: 47–54.

Adres: Dr Tadeusz Pietras, Klinika Pneumonologii i Alergologii Instytutu Medycyny Wewnętrznej Uniwersytetu Medycznego, ul. Kopcińskiego 22, 91-123 Łódź, tel./fax: (42) 6782129, e-mail: tad200@poczta.onet.pl; cital200@wp.pl