

Krzysztof Pietruczuk¹, Katarzyna Jakuszkowiak², Jerzy Landowski²,
Jacek M. Witkowski¹

¹Katedra i Zakład Fizjopatologii Akademii Medycznej w Gdańsku

²Klinika Chorób Psychiczych i Zaburzeń Nerwicowych Akademii Medycznej w Gdańsku

Porównanie wybranych parametrów układu immunologicznego u osób zdrowych i chorych na depresję

Comparison of chosen immune system parameters in patients suffering from depression and healthy donors

Abstract

Background. Depressive disorders are a serious and frequent challenge for contemporary medicine. The understanding of basic pathophysiological and etiological principles of depression is still poor. According to the immunological hypothesis of depression, dysregulation of nervous system may induce dysregulation of the immune system or vice versa. The aim of current study was to assess the differences in the mitochondrial membrane potential and in the level of activation antigens CD25 and CD69 between peripheral blood T lymphocytes of healthy people and people who suffer from depression.

Materials and methods. JC-1 — a fluorescent mitochondrial membrane potential probe — and flow cytometry were used for comparison of the levels of mitochondrial potential in the T cells of patients with diagnosed depressive episode (ICD-10 diagnostic criteria) and from healthy people. Flow cytometry was also used for assessment of phenotype differences.

Results. Mitochondrial potential in the lymphocytes of people who suffer from depression was decreased in comparison with healthy control, pointing at the possibility of impaired energy production in these cells. At the same time we observed a significant increase of percentages of both CD4⁺CD25⁺ and CD8⁺CD25⁺ as well as CD8⁺CD69⁺ lymphocytes in depressive patients, suggesting increased levels of lymphocyte activation associated with the disease.

Conclusions. There is an association between depression and the immune system state.

key words: depression, T cells, mitochondrial potential

Wstęp

Istnieje wiele teorii mówiących o patogenezie depresji — monoaminowa hipoteza depresji [1], hipoteza zmian adaptacyjnych w układach neuroprzekaźnikowych [2], teoria zachwianej równowagi cyklicznego AMP (cAMP, *cyclic adenosine monophosphate*) [3], zwiększonej aktywności osi „podwzgórze-przysadka mózgowa-nadnercza” (HPA), hipoteza immunologiczna depresji [4]

oraz zaburzenia plastyczności neuronalnej [5]. Wszystkie te teorie i hipotezy wzajemnie się uzupełniają. Podczas epizodu depresyjnego dochodzi do dysfunkcji osi stresowej limbiczno-podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej i do niemożności jej prawidłowej regulacji w następstwie sytuacji stresowych.

Zaburzenia afektywne, do których należy depresja, są przykładem uogólnionego zachwiania homeostazy organizmu. Zespoły depresyjne przypominają stres przewlekły: dochodzi w nich do wzrostu stężenia kortykoliberyny (CRF, *corticotropine releasing factor*) w płynie mózgowo-rdzeniowym, osłabionej odpowiedzi przysadki na CRF, stężenie kortyzolu w osoczu krwi jest często podwyższone, dochodzi do zmniejszenia liczby

Adres do korespondencji:
dr hab. med. Jacek M. Witkowski prof. nadzw. AMG
Katedra i Zakład Fizjopatologii, Akademia Medyczna
w Gdańsku, ul. Dębinki 7, paw. 24, 80–211 Gdańsk
tel.: (0 58) 349 15 10, faks: (0 58) 349 15 10
e-mail: jawit@amg.gda.pl

i wrażliwości receptorów glikokortykoidowych i w związku z tym do osłabienia hamowania zwrotnego w zakresie „osi stresowej” [6].

Objawy depresji często występują w innych chorobach somatycznych, których przebieg modyfikuje depresja. Chorzy z depresją są bardziej podatni na zakażenia. Z tego względu w ostatnich latach obserwuje się intensywny rozwój psychoneuroimmunologii. Termin ten po raz pierwszy zastosowali w 1964 roku amerykańscy badacze — Salomon i Moos [7]. Należy zaznaczyć, że pierwszą Nagrodę Nobla z dziedziny psychiatrii biologicznej przyznano za badania nad możliwością leczenia zaburzeń psychicznych za pomocą wpływu na układ odpornościowy. Otrzymał ją już w 1927 roku psychiatra austriacki, J. Wagner-Jauregg, za leczenie zaburzeń psychicznych występujących w przebiegu porażenia postępującego przez zakażenia malarią [7]. Znacznie później wykazano istnienie receptorów dla interleukiny 1 (IL-1, *interleukin 1*) w neuronach podwzgórze i hipokampa, co oznacza możliwy wpływ tej cytokiny na procesy neuronalne i zjawiska psychiczne [8].

Zgodnie z proponowaną od pewnego czasu immunologiczną teorią depresji, w chorobie tej funkcjonowanie układu odpornościowego jest zaburzone, co może być albo elementem patogenezy zmian w ośrodkowym układzie nerwowym i psychice, albo jej skutkiem. Sugeruje się także, co potwierdzają niektóre obserwacje, że leki przeciwdepresyjne wpływają nie tylko na układ nerwowy, ale powinny również regulować funkcje komórek układu immunologicznego. Zaburzenia czynności układu odpornościowego mogą więc stanowić jeden z ważnych mechanizmów pośredniczących, przy udziale którego w następstwie wydarzenia stresowego może dojść do wystąpienia epizodu depresji. Badania nad neuroimmunologią depresji prowadzone głównie w latach 90. XX wieku wskazują na istnienie u chorych na depresję cech patologicznej aktywacji i deficytów immunologicznych [9]. U chorych na depresję stwierdza się osłabioną odpowiedź proliferacyjną limfocytów [10, 11]. Może towarzyszyć jej nadmierna aktywacja nieswoistej gałęzi układu immunologicznego i mechanizmów procesu zapalnego pod postacią odpowiedzi ostrej fazy. Obserwuje się także zmiany poziomu glikozylacji białek ostrej fazy, przesunięcia we frakcji globulin oraz podwyższone stężenie białka CRP [12].

Mimo wspomnianego osłabienia proliferacji limfocytów T u chorych na depresję, na limfocytach T u osób z chorobą afektywną dwubiegunową wykazano wzrost ekspresji antygenów MHC klasy II (HLA-DR), CD25 i CD71 — markerów aktywacji tych komórek [13]. Nie stwierdzono natomiast istotnego wzrostu poziomu cząsteczek

CD69, co można tłumaczyć tym, że marker ten pojawia się jedynie we wczesnej fazie aktywacji komórek T, a choroby afektywne są chorobami przewlekłymi [13]. W ostatnich latach pojawia się coraz więcej doniesień świadczących o tym, że ciężkiej depresji może towarzyszyć wzmożona produkcja cytokin prozapalnych [14], co może się wiązać z wyżej wspomnianą aktywacją odpowiedzi ostrej fazy. Cytokiny prozapalne w dużym stężeniu mogą wpływać na zachowanie i stan psychiczny, co zaobserwowano u osób z chorobą nowotworową leczonych cytokinami [15]. Natomiast u pacjentów z depresją wykazano zwiększone stężenie w surowicy oraz produkcję *in vitro* cytokin prozapalnych IL-1, IL-6 oraz rozpuszczalnego receptora interleukiny 2 sIL-2R [16–18], a także podwyższone stężenia TNF- α , IL-8 [19] i IL-18 [20]. Uważa się, iż zwiększona produkcja cytokin prozapalnych może wywierać niekorzystne efekty, z jednej strony przez ich bezpośrednie działanie na mózg [21], a z drugiej przez zaburzenie odpowiedzi immunologicznej. Wspomniane wcześniej zmniejszenie aktywności proliferacyjnej limfocytów T u chorych na depresję z równoczesnymi cechami ich aktywacji może wskazywać na możliwość zaburzenia ich metabolizmu energetycznego (zwłaszcza upośledzonego działania mitochondriów), podobnego do sugerowanego jako element patogenezy zmieniający stan neuronów w chorobie depresyjnej i chorobie dwubiegunowej [22, 23], lub na zaburzenie równowagi między produkcją limfocytów w drodze proliferacji i ich fizjologiczną eliminacją w drodze apoptozy, w której zmiany mitochondrialne, w tym obniżenie potencjału błony mitochondrialnej, mają także zasadniczy udział [24]. Należy podkreślić, że w literaturze przedmiotu brakuje opracowań, w których wiąże się towarzyszące depresji zaburzenia czynności limfocytów z zakłóceniem czynności ich mitochondriów. Celem pracy było wykazanie różnic w regulacji funkcji limfocytów T między osobami zdrowymi a chorymi na depresję przez porównanie mitochondrialnego potencjału błonowego oraz ocenę zmian w poziomie markerów aktywacji komórek układu immunologicznego na badanych limfocytach.

Materiał i metody

Pacjenci i grupa kontrolna

W badaniach uczestniczyło 9 pacjentów w wieku 20–50 lat, u których zdiagnozowano depresję. Badane osoby leczyły się w I Klinice Chorób Psychiczych Akademii Medycznej w Gdańsku. Grupę kontrolną stanowiło 9 zdrowych osób bez objawów depresyjnych, odpowiadających grupie badanej pod względem wieku oraz rozkładu płci.

Wszystkie osoby wstępnie włączone do projektu poddano szczegółowemu wywiadowi internistycznemu i psychiatrycznemu. Z dalszych badań wykluczono osoby, u których stwierdzono ostre i przewlekłe schorzenia zapalne, a także: cukrzycę, hiperlipidemię/hipercholesterolemię (przyjmowanie statyn), alergię, chorobę niedokrwienną serca oraz chorobę nadciśnieniową. Pacjentów oraz grupę kontrolną kwalifikowano do dalszych badań po ocenie psychiatrycznej z użyciem formularza *Structural Clinical Interview for DSM-IV Disorders* (SCID) oraz na podstawie testów psychiatrycznych Becka oraz Hamiltona [25, 26]. Wszystkich badanych poinformowano o włączeniu ich do projektu. Wyrazili oni pisemną zgodę na udział w badaniu.

Oznaczanie zmian mitochondrialnego potencjału błonowego ($\Delta\Psi_m$) w limfocytach krwi obwodowej

Obwodową krew żylną pobierano od osób z obydwu grup zawsze w godzinach porannych, na czczo, na EDTA. Komórki jednojądrzaste krwi (PBMC, *peripheral blood mononuclear cell*) izolowano za pomocą techniki wirowania w gradiencie gęstości (Histopaque™, Sigma, USA). Fenotypową identyfikację limfocytów T oraz ocenę względnego poziomu polaryzacji mitochondriów przeprowadzano, stosując technikę cytometrii przepływowej. Do oznaczania depolaryzacji mitochondriów wykorzystywano znakowanie komórek kationowym barwnikiem JC1 ($C_{25}H_{27}Cl_4IN_4$), fluorescencyjną sondą potencjału mitochondrialnego [27]. Barwnik ten tworzy agregaty (fluoryzujące czerwono) jedynie w komórkach posiadających nieuszkodzone mitochondria o wysokim potencjale elektrycznym błony ($\Delta\Psi_m$). W przypadku depolaryzacji mitochondriów JC1 tworzy zielono fluoryzujące monomery. Komórki jednojądrzaste krwi barwiono $4 \mu M$ JC-1 i znakowano przeciwciałami anty CD8, CD4, CD19 w celu odróżnienia limfocytów T od pozostałych komórek obecnych w zawiesinie, w tym limfocytów B, NK i monocytów. Poziom polaryzacji mitochondriów w badanych komórkach oceniano jako parametr średniej intensywności (MFI, *mean fluorescence intensity*) ich czerwonej fluorescencji odpowiadającej stężeniu zagregowanej formy JC1. Oceniano także odsetek komórek o wysokiej komponente fluorescencji zielonej, odpowiadającej znacznej (apoptotycznej) depolaryzacji mitochondriów. Wielkość fluorescencji JC1 w postaci agregatów i monomerów oceniano, korzystając z cytometru przepływowego FACScan (Becton Dickinson, USA). W każdej próbce zbierano dane z 10 000 komórek i analizowano je za pomocą programu WinMDI 2.9™.

Fenotypowanie komórek PBMC

Izolowane PBMC znakowano przeciwciałami anty-CD4, anty-CD8 i anty-CD14 (w celu odróżnienia dwóch zasadniczych populacji limfocytów T ($CD4^+$ i $CD8^+$) oraz monocytów, a następnie przeciwciałami skierowanymi przeciwko markerom aktywacji limfocytów CD69 i CD25 lub odpowiednimi przeciwciałami kontrolnymi bez swoistości wobec antygenów leukocytarnych („kontrola izotypowa”), co umożliwiło cytometryczne porównanie odsetków komórek wykazujących ekspresję antygenów aktywacyjnych wśród limfocytów i monocytów osób zdrowych i chorych na depresję.

Analiza statystyczna

W celu statystycznego opisu otrzymanych wyników stosowano program Statistica v 5.0 PL StatSoft. Istotność obserwowanych różnic weryfikowano za pomocą testu *t* Studenta.

Wyniki

Ocena stopnia depresji z użyciem testu Becka oraz testu Hamiltona

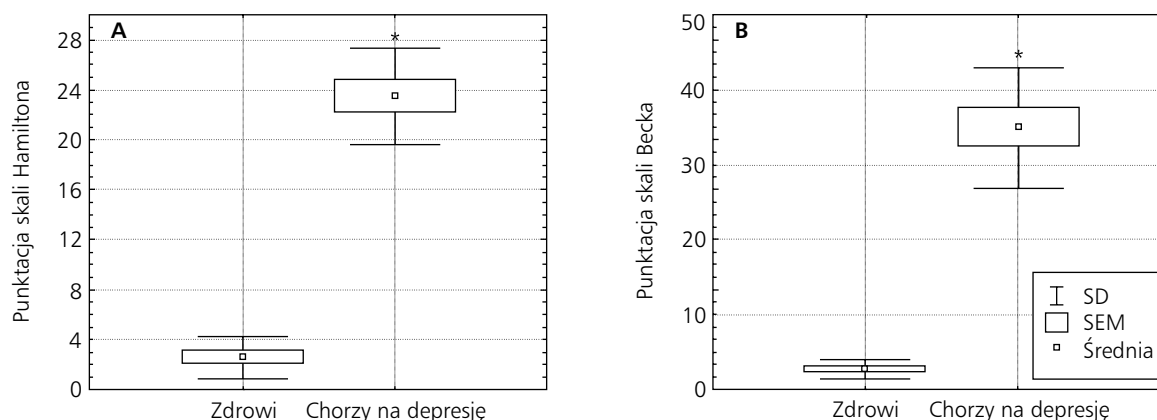
U pacjentów kwalifikowanych do badań za pomocą testów psychiatrycznych wykazywano znacznie wyższą punktację w obydwu skalach depresji w porównaniu z osobami zdrowymi. W skali Becka osoby zdrowe uzyskiwały średnio 2,6 pkt, a osoby chore — 35 pkt, natomiast w skali Hamiltona osoby zdrowe otrzymywały średnio 2,5 pkt, a osoby chore — 23,4 pkt (ryc. 1). Otrzymane wyniki potwierdzają właściwy dobór grup badanych.

Potencjały mitochondrialne limfocytów T u osób zdrowych i cierpiących na depresję

U chorych na depresję potencjał mitochondrialny limfocytów T oceniany jako wielkość fluorescencji zagregowanej formy JC1 jest istotnie obniżony w porównaniu z osobami zdrowymi (ryc. 2). Natomiast odsetek komórek, w których doszło do istotnego wzrostu zielonej fluorescencji monomerycznej formy JC1, i wielkość parametru MFI zielonej fluorescencji tych komórek nie różnią się w badanych grupach (ryc. 3).

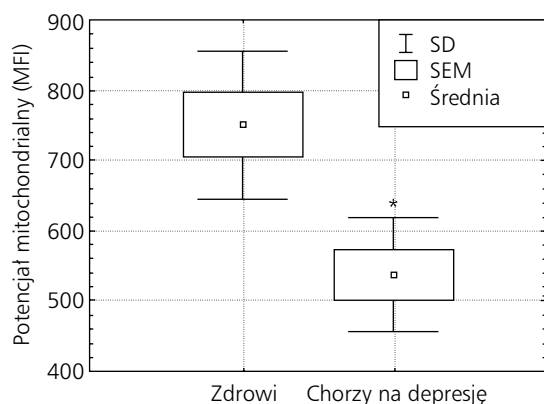
Fenotypowanie PBMC — markery aktywacji

Aby porównać stopień endogennej aktywacji limfocytów T, oceniano odsetki komórek wykazujących ekspresję markerów powierzchniowych CD69 oraz CD25. Oceniano komórki posiadające na swojej powierzchni antygeny $CD4^+$ lub $CD8^+$ (limfocyty T) oraz komórki $CD14^+$ (monocyty).



Rycina 1. Wyniki testów Becka i Hamiltona dotyczące stopnia nasilenia depresji w porównywanych grupach. Przyjęto następujące normy: dla skali Becka — 0–11 pkt, a dla skali Hamiltona — 0–7 pkt. Wykres typu „box-and-whisker” przedstawia średnie wartości, błąd standardowy (SEM, *standard error of measurement*) i odchylenie standardowe (SD, *standard deviation*); A) Test Becka (n = 9, *p < 0,05), B) Test Hamiltona (n = 9, *p < 0,05)

Figure 1. Beck and Hamilton scales Scores, concerning the severity of depression in both groups. The normal scores for Beck scale was 0–11 points and for Hamilton scale — 0–7 points. The box-and-whisker type diagrams shows mean values, standard error of measurement (SEM) and standard deviation (SD); A) Beck scale scores (n = 9, *p < 0.05), B) Hamilton scale scores (n = 9, *p < 0.05)



Rycina 2. Potencjał mitochondrialny limfocytów T u chorych na depresję jest istotnie obniżony w porównaniu z osobami zdrowymi. Wykres typu „box-and-whisker” przedstawia średnie wartości, błąd standardowy (SEM, *standard error of measurement*) i odchylenie standardowe (SD, *standard deviation*) potencjałów mitochondrialnych jako MFI dla zagregowanej formy JC1 (n = 9, *p < 0,05)

Figure 2. The mitochondrial potential of T lymphocytes in people with depression is markedly lower than in healthy people. The box-and-whisker type diagram shows mean values, standard error of measurement (SEM) and standard deviation of mitochondrial potential as MFI for JC1 aggregated form (n = 9, *p < 0.05)

U chorych na depresję obserwuje się porównywalny (dla obydwu populacji limfocytów około dwukrotny), statystycznie istotny wzrost odsetka komórek CD4⁺CD25⁺ oraz CD8⁺CD25⁺ w porównaniu z osobami zdrowymi (ryc. 4 A, B). Należy zauważyć,

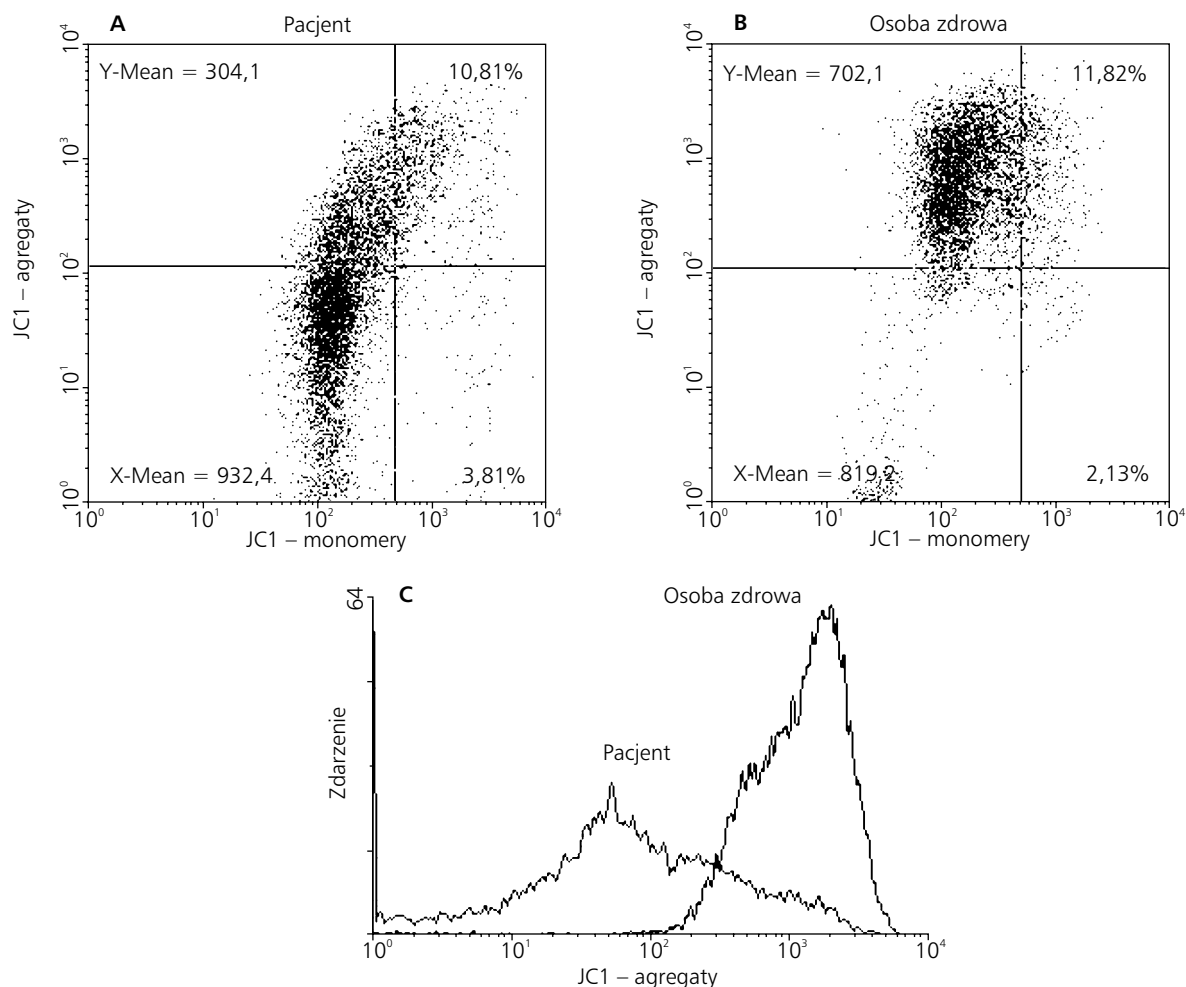
że odsetki komórek CD4⁺CD25⁺ u osób zarówno z depresją, jak i zdrowych są około 2–3 razy wyższe niż odpowiadające odsetki komórek CD8⁺CD25⁺.

Co interesujące, istotny wzrost odsetka komórek wykazujących ekspresję drugiego antygenu aktywacyjnego CD69 obserwuje się tylko w populacji limfocytów CD8⁺ osób chorych (ryc. 4 E). Odsetek komórek CD69⁺ w populacji CD4⁺ jest niższy niż wśród limfocytów CD8⁺ i nie różni się istotnie u osób chorych i zdrowych (ryc. 4 D).

W populacji monocytów CD14⁺ odsetki komórek wykazujących ekspresję obydwu antygenów aktywacyjnych są bardzo niskie i nie różnią się w grupie osób chorych i zdrowych (ryc. 4 C, F).

Dyskusja

W przedstawionych badaniach wykazano istnienie spoczynkowego zaburzenia czynności mitochondriów w limfocytach T u chorych na depresję, polegającego na istotnym obniżeniu ich potencjału błonowego ($\Delta\Psi_m$) w porównaniu z obserwowanym w limfocytach u osób zdrowych. Utrzymanie wysokiej wartości $\Delta\Psi_m$ jest niezbędne dla prawidłowego przebiegu energetycznych procesów mitochondrialnych, które prowadzą do powstania ATP. W związku z tym można się spodziewać, że produkcja ATP w limfocytach T chorych na depresję jest upośledzona, co może być podłożem ich obniżonej zdolności do proliferacji. Zjawisko to byłoby analogiczne do postulowanego dla neuronów chorych na depresję, co mogłoby wskazywać na prawdo-



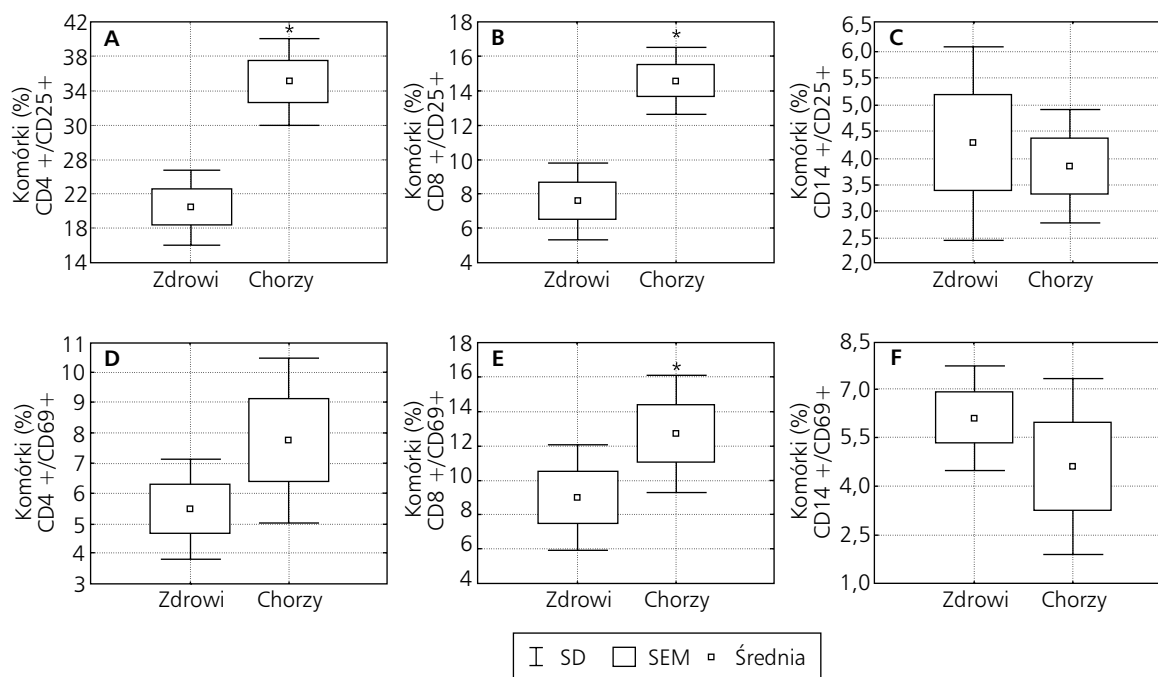
Rycina 3. Przykładowe wykresy punktowe „dot plot” fluorescencji czerwonej (oś rzędnych, JC1-agregaty) i zielonej (oś odciętych, JC1-monomery) barwionych JC1 limfocytów A) osoby zdrowej i B) cierpiącej na depresję. Podane wartości Y-Mean określają względną średnią wielkość fluorescencji (MFI) agregatów JC1 w badanej populacji komórek, X-Mean — wielkość MFI dla monomerów JC, a wartości procentowe — odsetek komórek o znacznie obniżonym potencjale mitochondrialnym. C) Przykładowy histogram wielkości fluorescencji zagregowanej formy JC1 przedstawiający poziomy potencjałów mitochondrialnych u osoby zdrowej i chorej

Figure 3. Examples of dot-plot type diagrams of red fluorescence (Y axis, JC1-aggregates) and green fluorescence (X axis, JC1-monomers) JC1 stained lymphocytes A) healthy person, B) person with depression. Y-mean values represent relative mean fluorescence (MFI) of JC1 aggregates in examined cell population, X-mean — MFI value for JC monomers and percentage values — percentage of cells with markedly lower mitochondrial potential. C) The example of histogram of fluorescence of JC1 aggregated form, showing levels of mitochondrial potential in healthy person and person with depression

podobnie uniwersalny defekt mitochondriów jako metaboliczne podłoże depresji. Z drugiej strony redukcja $\Delta\Psi_m$ jest znanym elementem wewnątrzkomórkowej ścieżki inicjacji procesu apoptozy. U chorych na depresję limfocyty mogą więc wykazywać zwiększoną podatność na indukcję apoptozy związanej z aktywacją i odpowiadać raczej „programowaną śmiercią” niż proliferacją na stymulację antygenową. Obydwie zarysowane powyżej możliwości należy zweryfikować doświadczalnie.

U osób chorych na depresję zaobserwowano także istotny wzrost odsetka komórek $CD4^+CD25^+$ oraz $CD8^+CD25^+$,

a w przypadku tej ostatniej populacji limfocytów również znamienny wzrost odsetka komórek — nosicieli innego „antygeny aktywacyjnego”, $CD8^+CD69^+$. Może to wskazywać na udział procesów aktywacji limfocytów T w patogenezie depresji, wymagający dalszych badań w kierunku oceny rzeczywistego znaczenia tego udziału. Zwłaszcza aktywacja komórek $CD8^+$ może wskazywać na rolę procesów cytotoksyczności zależnej od tej populacji limfocytów, prawdopodobnie także w stosunku do neuronów, których degenerację i śmierć uważa się za element patogenezy choroby [28]. Natomiast wzrost odsetka komórek $CD4^+CD25^+$ może



Rycina 4. Porównanie odsetka komórek wykazujących ekspresję markerów powierzchniowych CD25 (A–C) oraz CD69 (D–F) na komórkach CD4+ (A, D), CD8+ (B, E) oraz CD14+ (C, F) u osób zdrowych i chorych na depresję (* $p < 0,05$)

Figure 4. The comparison of percentage of cells with expression of surface markers CD25 (A–C) and CD69 (D–F) on CD4+ cells (A, D), CD8+ (B, E) and CD14+ (C, F) in healthy and depressed people (* $p < 0.05$)

wskazywać z jednej strony na aktywację także tej populacji limfocytów T — potencjalnie — na wzrost ich „pomocniczej” funkcji immunologicznej, obserwowany jako nadmierna produkcja autoprzeciwciał u chorych na depresję [29–31]. Z drugiej strony wśród komórek CD4+CD25+ znajduje się subpopulacja regulatorowych (supresorowych) limfocytów T i wzrost odsetka komórek o takich właśnie supresorowych właściwościach mógłby być odpowiedzialny (wraz z depolaryzacją mitochondriów) za obniżoną proliferację limfocytów T u chorych z depresją.

Mimo wykluczenia z badanej grupy osób wykazujących kliniczne cechy toczącego się ostrego procesu zapalnego, w porównaniu wielkości odczynu opadania erytrocytów (OB) wykazano statystycznie istotnie wyższą wartość tego parametru w grupie osób chorych w porównaniu z osobami zdrowymi. Należy podkreślić, że także w grupie chorych wartości OB mieściły się w zakresie normy. Obserwowany wzrost OB jest zgodny z opisywanym w tej chorobie wzrostem produkcji cytokin prozapalnych, co może mieć związek z wykazaną w pracy aktywacją limfocytów T [21–25].

Streszczenie

Wstęp. Zaburzenia depresyjne należą do najczęstszych problemów współczesnej medycyny. Układ immunologiczny i nerwowy wywierają na siebie wzajemnie modulujący wpływ, a więc zgodnie z immunologiczną hipotezą patomechanizmu depresji zaburzenia czynności układu nerwowego mogą mieć odbicie w zaburzeniach właściwości układu odpornościowego u chorych lub być ich skutkiem. Celem pracy było wykazanie różnic w potencjale błon mitochondrialnych limfocytów krwi obwodowej oraz w odsetku komórek T wykazujących ekspresję antygenów aktywacyjnych CD25 i CD69 między osobami zdrowymi a chorymi na depresję.

Materiał i metody. Badano komórki jednojądrzaste krwi (PBMC) wyizolowane z krwi obwodowej pacjentów z rozpoznaniem epizodu depresji (ICD-10) oraz od osób zdrowych. Za pomocą barwnika JC-1 i techniki cytometrii przepływowej badano poziom potencjału mitochondrialnego limfocytów.

Wyniki. U chorych na depresję stwierdzono, że potencjał mitochondrialny jest obniżony w porównaniu z osobami zdrowymi, co wskazuje na upośledzoną produkcję energii w badanych komórkach u osób chorych. Równocześnie zaobserwowano u chorych na depresję znaczny wzrost odsetka $CD4^+CD25^+$ oraz $CD8^+CD25^+$, co świadczy o aktywacji komórek tych dwóch populacji.

Wnioski. Istnieje związek między depresją a stanem układu immunologicznego.

słowa kluczowe: depresja, limfocyty T, potencjał mitochondrialny

PIŚMIENNICTWO

- Schildkraut J.J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am. J. Psychiatry* 1965; 122: 509–522.
- Vetulani J., Sulzer F. Action of various antidepressant treatments reduces reactivity of noradrenergic cAMP-generating system in limbic forebrain. *Nature* 1975; 257: 495–496.
- Achtel H. Disbalance of neuronal second messenger function in etiology of affective disorders: a pathophysiological concept hypothesizing defects beyond first messenger receptors. *J. Neural. Transm.* 1989; 75: 21–29.
- Licynio M.H., Wong M.L. The role of inflammatory mediators in the biology of major depression: central nervous system cytokines modulate the biological substrate of depressive symptoms, regulate stress-responsive systems, and contribute to neurotoxicity and neuroprotection. *Mol. Psychiatry* 1999; 4: 317–327.
- Jacobs B.L., Praag H., Gage F.H. Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. *Mol. Psychiatry* 2000; 5: 262–269.
- Pużyński S., Rybakowski J. Neurobiologia zaburzeń psychicznych. W: Bilikiewicz A., Pużyński S., Rybakowski J., Wciórka J. (red.). *Psychiatria*, t. 1. Urban & Partner, Wrocław 2002: 158.
- Bilikiewicz A., Pużyński S., Rybakowski J., Wciórka J. *Psychiatria*, tom 1. Urban & Partner, Wrocław 2002.
- Breder C.D., Dinarello C.A., Saber C.B. Interleukin-1 immunoreactive innervation of the human hypothalamus. *Science* 1988; 240: 321–324.
- Rybakowski J. Neuroimmunologia zaburzeń psychicznych. W: Bilikiewicz A., Pużyński S., Rybakowski J., Wciórka J. (red.). *Psychiatria*, t. 1. Urban & Partner, Wrocław 2002: 208.
- Kronfeld Z. Lymphocyte function in melancholia. *Life Sci.* 1983; 33: 241–247.
- Schleifer S.J. Lymphocyte function in major depressive disorder. *Arch. Gen. Psychiatry* 1984; 41: 484–486.
- Maes M. Acute phase protein alteration in major depression: review. *Rev. Neurosci.* 1993; 4: 407–416.
- Breunis M., Kupka R., Nolen A., Suppes T. High Numbers of Circulating Activated T Cells and Raised Levels of Serum IL-2 Receptor in Bipolar Disorder. *Biol. Psychiatry* 2003; 53: 157–165.
- Corcos M., Guilbaud O., Hjalmarsson L., Chambry J., Jeammet P. Cytokines and depression: an analogic approach. *Biomed. Pharmacother.* 2002; 56 (2): 105–110.
- Capuron L., Ravaud A., Gualde N. i wsp. Association between immune activation and early depressive symptoms in cancer patients treated with interleukin-2-based therapy. *Psychoneuroendocrinology* 2001; 26 (8): 797–808.
- Maes M., Scharpe S., Meltzer H.Y. i wsp. Relationships between interleukin-6 activity, acute phase proteins, and function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in severe depression. *Psychiatry Res.* 1993; 49 (1): 11–27.
- Maes M., Bosmans E., Meltzer H.Y., Scharpe S., Suy E. Interleukin-1 beta: a putative mediator of HPA axis hyperactivity in major depression? *Am. J. Psychiatry* 1993; 150 (8): 1189–1193.
- Maes M., Meltzer H.Y., Bosmans E. i wsp. Increased plasma concentrations of interleukin-6, soluble interleukin-6, soluble interleukin-2 and transferrin receptor in major depression. *J. Affect. Disord.* 1995; 34 (4): 301–309.
- Mikova O., Yakimova R., Bosmans E., Kenis G., Maes M. Increased serum tumor necrosis factor alpha concentrations in major depression and multiple sclerosis. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2001; 11 (3): 203–208.
- Kokai M., Kashiwamura S., Okamura H., Morita Y. Plasma interleukin-18 levels in patients with psychiatric disorders. *J. Immunother.* 2002; 25 (supl. 1): S68–71.
- Pietruczuk K., Jakuszkowiak K., Nowicki Z., Witkowski J.M. Cytokiny w regulacji snu i jego zaburzeniach. *Sen* 2003; 3 (4): 127–133.
- Lee A.L., Ogle W.O., Sapolsky R.M. Stress and depression: possible links to neuron death in the hippocampus. *Bipolar. Disord.* 2002; 4 (2): 117–128.
- Nihon, Shinkei, Seishin, Yakurigaku, Zasshi. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorders. *Japanese Journal of Psychopharmacology* 2005; 25 (2): 61–72.
- Kajta M. Apoptosis in the central nervous system: mechanisms and protective strategies. *Pol. J. Pharmacol.* 2004; 56: 689–700.
- Hamilton M. A rating scale for depression. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1960; 23: 56–62.
- Bailey J., Coppen A. A comparison between the Hamilton Rating Scale and the Beck Inventory in the measurement of depression. *Br. J. Psychiatry* 1976; 128: 486–489.
- Cossarizza A., Baccarani-Contri M., Kalashnikova G., Franceschi C. A new method for the cytofluorimetric analysis of mitochondrial membrane potential using the J-aggregate forming lipophilic cation 5,5',6,6'-tetrachloro-1,1',3,3'-tetraethylbenzimidazolylcarbocyanine iodide (JC-1). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993; 197 (1): 40–45.
- Lee A.L., Ogle W.O., Sapolsky R.M. Stress and depression: possible links to neuron death in the hippocampus. *Bipolar. Disord.* 2002; 4 (2): 117–128.
- Wheatland R. Chronic ACTH autoantibodies are a significant pathological factor in the disruption of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in chronic fatigue syndrome, anorexia nervosa and major depression. *Med. Hypotheses* 2005; 65 (2): 287–295.
- Carta M.G., Loviselli A., Hardoy M.C., Massa S., Cadeddu The link between thyroid autoimmunity (antithyroid peroxidase autoantibodies) with anxiety and mood disorders in the community: a field of interest for public health in the future. *BMC Psychiatry* 2004; 4: 25.
- Horning M., Amsterdam J.D., Kamoun M., Goodman D.B. Autoantibody disturbances in affective disorders: a function of age and gender? *J. Affect. Disord.* 1999; 55 (1): 29–37.