

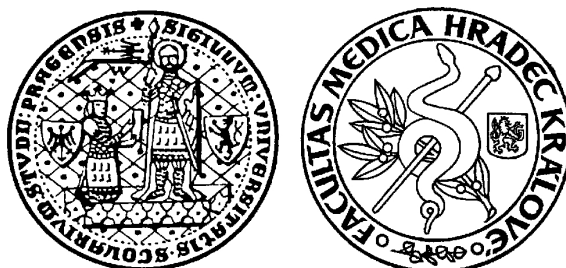
Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové

DISERTAČNÍ PRÁCE

MUDr. David Holub

Praha, 2011

Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové



LATENTNÍ TOXOPLASMÓZA JAKO RIZIKOVÝ  
FAKTOR VZNIKU SCHIZOFRENIE A MODULÁTOR  
JEJÍHO PRŮBĚHU

LATENT TOXOPLASMOSIS AS A RISK FACTOR  
FOR THE DEVELOPMENT OF SCHIZOPHRENIA  
AND A MODULATOR OF ITS COURSE

Doktorská disertační práce

MUDr. David Holub

Doktorský studijní program: Psychiatrie

Školitel: Prof. MUDr. Jan Libiger, CSc.

Školitel specialista: Prof. MUDr. Jaroslav Flegr, CSc.

Praha, 2011

Obhajoba dne .....

## PODĚKOVÁNÍ

S upřímnou úctou a vděčností tímto děkuji přednostovi Psychiatrické kliniky v Hradci Králové **prof. MUDr. Janu Libigerovi, CSc.** za vše, co jsem se od něj mohl za dobu svého studia naučit. Vážím si zejména toho, že mne v roli školitele průběžně a ochotně poskytoval odborné vedení, konzultace, osobní i věcné rady a především trvalou a mnohostrannou podporu při práci na výzkumném projektu. Jeho nakažlivý zápal, zvědavost, průběžné „infuze entusiasmů“ a schopnost věřit okrajovým hypotézám sehrály důležitou úlohu v dokončení práce a přispěly k mému odbornému růstu. Velké poděkování náleží také školiteli specialistovi **prof. RNDr. Jaroslavu Flegrovi, CSc.** z Katedry parazitologie Přírodovědecké fakulty University Karlovy v Praze, který mi předal mnoho cenných interdisciplinárních vědomostí, seznámil s „pravidly hry v rámci vědeckého a akademického průmyslu“, základy vědecké práce a inspiroval mne svojí nezdolností zejména vůči dlouhodobě nepřesvědčivým průběžným výsledkům. Za skvělou spolupráci a asistenci děkuji také svým dlouholetým a trpělivým spolupracovníkům, bez jejichž pomoci bych se v přípravě a realizaci výzkumného projektu neobešel, jmenovitě jsou to: **doc. MUDr. Lucie Bankovská Motlová, Ph.D., doc. PhDr. Marek Preiss, Ph.D., PhDr. Eva Dragomirecka, Ph.D., MUDr. Jan Čermák, prof. MUDr. Jiří Horáček, Ph.D., PhDr. Mabel Rodriguez, MUDr. Tomáš Novák, Martina Ungrmanová, Alena Panochová a Radyka Nechutná** z Psychiatrického centra Praha a **RNDr. Petr Kodym, CSc. a Blanka Širocká** z Referenční laboratoře pro toxoplasmosu Státního zdravotního ústavu. Jsem zavázán rovněž vedení Psychiatrického centra Praha, jmenovitě jejímu řediteli **prof. MUDr. Cyrilu Höschlovi, DrSc., FRCPsych**, za velkorysé vytvoření podmínek k uskutečnění výzkumného projektu.

Výzkumná část dizertační práce vznikla za podpory **výzkumných záměrů MŠMT ČR 1M0517, MSM 21620816 a MŠMT ČR 0021620828.**

Zvláštní poděkování patří mojí ženě Alici, a také Barboře a Kryštofovi, za pochopení a podporu, díky které mi tuto práci umožnili dokončit.

Práci věnuji památce prof. MUDr. Lubomíra Hanzlíčka, DrSc., jehož celostní a respektující přístup k lidem, kteří onemocněli psychózou, představuje i dnes inspirující maximum psychiatrické profese. Psychiatrické otázky toxoplasmózy patřily k jedné z mnoha oblastí, které prof. Hanzlíček rozpracoval.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, ze kterých jsem ve své práci čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Karlova má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona. Dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat. Souhlasím také se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy v Praze.

V Praze dne 11. června 2011

MUDr. David Holub

Copyright © David Holub, 2011

## Obsah

1. Přehled použitých zkratké.....	6
2. Souhrn.....	7
3. Summary .....	8
4. Úvod do problematiky.....	9
4.1 <i>Toxoplasma gondii</i> .....	10
4.1.1 <i>Toxoplasma gondii</i> – historická poznámka .....	12
4.1.2 <i>Toxoplasma gondii</i> – životní cyklus .....	13
4.1.3 Klinické projevy toxoplazmózy .....	17
4.1.4 Epidemiologie toxoplazmózy .....	17
4.1.5 Kongenitální toxoplazmóza .....	19
4.1.6 Manipulační hypotéza .....	20
4.1.7 Diagnostika toxoplazmové infekce.....	21
4.1.8 <i>Toxoplasma</i> a imunitní mechanismy .....	22
4.1.9 Léčba toxoplazmové infekce, vakcinace, prevence..	23
4.2 Schizofrenie a <i>Toxoplasma gondii</i> .....	25
4.3 Nálezy podporující možnou patogenetickou souvislost mezi toxoplazmovou infekcí a schizofrenním onemocněním	
4.3.1 Nálezy epidemiologické.....	30
4.3.2 Nálezy experimentální.....	31
4.3.3 Nálezy klinické.....	31
4.3.4 Nálezy morfologické.....	32
4.3.5 Hypotéza selektivní lokalizace tkáňových cyst v CNS .	33
4.4 Mechanismy působení latentní toxoplasmózy.....	35
4.5 Dosud nezodpovězené otázky.....	36
5. Cíle disertační práce.....	37
6. Materiál a metodika	
6.1 Soubor.....	37
6.2 Hodnotící instrumenty.....	38
6.3 Vyšetření TG.....	41
6.4 Statistická analýza.....	42
7. Výsledky	
7. 1 Vliv latentní toxoplasmózy na psychopatologii.....	43
7. 2 Vliv latentní toxoplasmózy na kognitivní funkce.....	47
7. 3 Vliv latentní toxoplasmózy na klinické charakteristiky.....	47
7. 4 Korelace mezi trváním infekce a závažností schizofrenní symptomatiky.....	48
8. Diskuse.....	51
9. Závěry.....	55
10. Použitá literatura.....	57
11. Příloha A – publikace relevantní k předkládané výzkumné práci.....	70
12. Příloha B – obrázek vztahující se k textu.....	97

## 1. Přehled použitých zkratk

AVLT	Auditory Verbal Learning Test (Paměťový test učení)
BNF	British National Formulary
CE	Chlorpromazine Equivalent (chlorpromazinový ekvivalent)
CFT	Complement Fixation Test (Komplement fixační test)
CMV	Cytomegalovirus
CPT	Conner's Continuous Performance Test (Connerův test stálosti pozornosti)
DSM-IV	Diagnostický a statistický manuál duševních poruch Americké psychiatrické společnosti (APA)
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FES	first-episode schizophrenia (pacient s první epizodou schizofrenie)
GAF	Global Assessment of Functioning (škála k posouzení psychického, pracovního a sociálního fungování)
GLM	General Linear Models
HSV1	Herpes Simplex Virus 1
IgG+/IgG-	séropozitivita/séronegativita – sérologický průkaz specifických anti-TG protilátek
Indexová hospitalizace	Poslední hospitalizace před vstupem do studie
KYNA	Kynurenic Acid (kynurenová kyselina)
MRI	Magnetic Resonance Imaging (zobrazovací vyšetření magnetickou rezonancí)
PANSS	Positive and Negative Symptoms Scale
PCP	Psychiatrické centrum Praha
RBANS	Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status
SANS	Scale for the Assessment of Negative Symptoms
TG	<i>Toxoplasma gondii</i>
TG+/TG-	sérologická přítomnost/nepřítomnost specifických anti-TG protilátek IgG
VBM	voxel-based morphometry
WAIS-R	Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised (neuropsychologické vyšetření)

## 2. Souhrn

Schizofrenie je závažné, multifaktoriálně podmíněné a chronické onemocnění. Identifikace etiologických faktorů, jejich vzájemná interakce a interakce etiologických faktorů s genetickou predispozicí patří spolu s určením doprovodných patogenetických vlivů ke stěžejním úkolům účelné prevence, diagnostiky i léčby tohoto devastujícího onemocnění. *Toxoplasma gondii* (TG) patří k infekčním agens s nejpřesvědčivějším „schizofrenogenním“ potenciálem. Tato celoživotní parazitóza je některými autory považovaná za rizikový faktor pro vznik schizofrenie. Dosavadní výzkumné studie však nezachytily konzistentní klinický projev schizofrenních pacientů nakažených TG. V našem výzkumném projektu jsme porovnali symptomový profil, kognitivní výkon a odpověď na léčbu u TG nakažených a nenakažených schizofrenních pacientů, abychom určili, nakolik společný výskyt schizofrenie a TG modifikuje klinický projev a charakteristiky schizofrenního onemocnění. Sérologicky jsme vyšetřili na přítomnost specifických anti-toxoplazmových protilátek celkem 251 pacientů s poruchou schizofrenního spektra, kteří byli postupně přijati v letech 2000-2010 do Psychiatrického centra Praha. Nakažených bylo celkem padesát sedm pacientů (22.7%). Zjistili jsme, že schizofrenní pacienti nakažení *Toxoplasmou* strávili oproti nenakaženým nemocným více dní během své poslední hospitalizace ( $p=0,003$ ; průměrný rozdíl 32.9 dní). Schizofrenní onemocnění propuklo přibližně o rok dříve u nakažených mužů a o tři roky později u nakažených žen, což odpovídá odlišným křivkám incidence toxoplasmózy u mužů (ranější nákaza) a u žen (dvojfázový průběh s druhým maximem ve fertilním období) v České republice. Nakažení a nenakažení schizofrenní pacienti se lišili v závažnosti příznaků kvantifikovaných pomocí škály PANSS ( $p=0,032$ ). Post hoc testování ukázalo, že všichni infikovaní pacienti měli vyšší skóry v pozitivní škále PANSS, nakažení schizofrenní muži navíc vykazovali vyšší hladinu psychopatologie v celkovém PANSS skóru, ve faktoru distorze reality a dezorganizace a v kompozitních skórech pětifaktorového modelu negativních a kognitivních příznaků. Dřívější práce ukázaly, že koncentrace IgG protilátek klesá s trváním infekce (Kodym et al., 2007). Vyšší hodnoty v položkách pozitivních a negativních příznaků a v příznacích dezorganizace hodnocených PANSS škálou byly u pacientů nakažených TG spojené s nižšími titry anti-TG protilátek. Tato souvislost naznačuje, že závažnost schizofrenních příznaků přibývá s trváním toxoplazmové infekce. Výsledky naší studie poukazují na to, že toxoplazmová infekce může být rizikovým faktorem pro vznik závažnějších forem schizofrenie a svědčí pro kumulativní efekt latentní toxoplasmózy ve vztahu k závažnosti především produktivních schizofrenních příznaků. Schizofrenie spojená s toxoplasmózou může představovat odlišný podtyp patogenetického procesu. Teoreticky může toxoplasmóza vest k horším léčebným výsledkům, vyššímu riziku relapse, farmakorezistenci, nedostatečné spolupráci při léčbě a horšímu psychosociálnímu fungování. Domníváme se proto, že je oprávněné u schizofrenních pacientů podrobně studovat dlouhodobý dopad latentní toxoplasmózy. Změny navozené TG v průběhu schizofrenie mohou opravňovat k zařazení screeningových opatření, vyšetřování anti-TG protilátek a aktivnějším preventivním, diagnostickým a léčebným intervencím. K nim by hypoteticky mohlo patřit nasazení antiparazitární léčby jako augmentace standardní antipsychotické léčby, použití adjuvantní protizánětlivé léčby k modulaci imunitní odezvy vůči toxoplazmové infekci nebo použití antipsychotik s nejvyšším inhibičním potenciálem vůči TG (např. haloperidol). Existuje široká škála účinných preventivních zásahů, které zabraňují v přenosu TG: užívání rukavic při kontaktu s půdou, dostatečné tepelné zpracování masa vyjma mikrovlnných troub, mytí kuchyňských nožů po zpracování masa, ovoce a zeleniny a časté mytí rukou. K dalším opatřením patří snížení počtu divoce žijících koček, ochrana krmiva pro hospodářská zvířata před kontaminací kočičím trusem a povinné očkování koček proti toxoplasmóze.

### 3. Summary

#### Latent toxoplasmosis as a risk factor for schizophrenia development and modulator of its course

Schizophrenia is serious, multifactorial and chronic disease. The crucial tasks to introduce effective preventive, diagnostic and treatment measures is to identify etiology factors, their interaction and etiology factors-genetic predisposition interactions. TG (*Toxoplasma gondii*) is the most promising infectious candidate with „schizophrenogenic“ potential. Toxoplasmosis is a lifelong parasitosis considered as a risk factor to schizophrenia. No consistent clinical pattern has been detected in *Toxoplasma*-infected schizophrenia patients as yet. We assessed symptom profile, cognitive performance and treatment response of *Toxoplasma*-infected and *Toxoplasma*-free schizophrenia patients to determine whether co-occurrence of schizophrenia and *Toxoplasma* infection modifies clinical presentation and the course of schizophrenia. We screened for anti-*Toxoplasma* antibodies in 251 patients with schizophrenia spectrum disorder consecutively admitted to Prague Psychiatric Centre between 2000 and 2010. Fifty-seven patients were infected (22.7%). Infected patients spent more days in hospital during their last admission compared to uninfected ones ( $p=0,003$ ; mean difference 32.9 days). Schizophrenia started approximately one year earlier in infected men and about 3 years later in infected women. This corresponds to sex related toxoplasmosis incidence curves in the Czech Republic. Infected and uninfected patients differed in severity of symptoms measured with the Positive and Negative Symptom Scale (PANSS),  $p=0,032$ . The post hoc tests showed that all infected patients scored higher in positive subscale of PANSS and infected men scored higher also in Total PANSS score, and negative, reality distortion, disorganisation and cognitive scores. The concentration of IgG anti-*Toxoplasma* antibodies decreases with the duration of of infection (Kodym et al., 2007). Higher PANSS scores of positive, negative and disorganised psychopathology were associated with the low titres of anti-*Toxoplasma* antibodies. It indicates that severity of schizophrenic symptoms in our sample relates to the duration of the *Toxoplasma* infection. Our findings suggest that toxoplasmosis may lead to a more severe positive schizophrenic psychopathology and perhaps less favourable course of schizophrenia. Toxoplasmosis-associated schizophrenia may represent a distinct subtype of pathogenetic process. We believe that the long-term effect of toxoplasmosis in schizophrenia needs a more careful investigation because it may result in poorer outcomes, such as higher risk for relapse, incomplete treatment response, insufficient adherence to treatment or poor psychosocial functioning. The toxoplasmosis-associated changes in the course of psychotic illness may provide a rationale for the inclusion of anti-*Toxoplasma* antibodies screening programmes and more assertive preventive, educational and diagnostic measures. Highly effective interventions to prevent TG transmission include the use of gloves while having interactions with soil, adequate cooking of meat before consumption except using microwave ovens, washing kitchen knives after cutting meat, fruits and vegetables, and frequent hand washing. Other interventions include reduction of feral cat populations, protection of livestock feed from contamination by cat faeces and mandatory vaccination of cats for toxoplasmosis.



#### 4. Úvod do problematiky

Schizofrenie je závažné onemocnění s chronickým průběhem, pro které je charakteristická mnohotvárnost psychopatologie, průběhu i odpovědi na léčbu. Mnohočetné jsou pravděpodobně i etiologické procesy, které k onemocnění vedou (Seifertová, Libiger, Švestka, Mohr, Motlová, 2008). Předpokládá se **multifaktoriální** etiologie s **mnohočetnými patogenetickými** vlivy přispívajícími ke vzniku schizofrenie. Exprese symptomů choroby je důsledkem vzájemné **interakce** mezi vnitřní genetickou dispozicí a vnějšími faktory negenetické povahy. Potenciální souvislost mezi psychotickým onemocněním a virovou, bakteriální nebo parazitární infekcí centrálního nervového systému badatele zajímá více než 80 let (v roce 1926 publikoval Karl Menninger v *Am J Psychiatry* práci *Influenza and schizophrenia. An analysis of post-fluential „dementia praecox*). V současné době se zkoumají infekce s možným „schizofrenogenním“ potenciálem (Torrey, Yolken, 2003). Jako nejslibnějším infekční agens s patogenetickým vztahem vůči onemocnění schizofrenního spektra se jeví *Toxoplasma gondii* (TG). Tento intracelulární parazit může u predisponovaných jedinců spouštět psychotický proces nebo modulovat průběh onemocnění (Flegr, 2010)

Souvislost mezi akutní toxoplasmózou a příznaky psychiatrických onemocnění byly hojně zkoumané v Československu od 40. do 80. let minulého století (Hanzlíček, 1962; Jírovec et al., 1957). Petrovický s Vojtěchovským (1955) měli za to, že se vliv nenápadně se rozvíjejících procesů toxoplasmózy na vyšší nervovou činnost podceňuje. Usuzovali, že nejrůznější psychické alterace vznikají jako důsledek proběhlé infekce CNS. Toxoplasmou oslabený terén již není schopen zvládat různé nároky zevního či vnitřního prostředí a selhává, u některých nemocných trvale narušuje CNS a činí jej tak vulnerabilnějším ke vzniku duševní choroby (Petrovický a Vojtěchovský, 1955). Infekce TG byla považovaná za pravděpodobný etiologický faktor u některých psychóz (Vojtěchovská et al., 1956). K renesanci zájmu o výzkum TG ve vztahu ke schizofrenii přispěla systematická práce Fullera Torreye a Yolkena (1995, 2000, 2003, 2006, 2007, 2008). V současnosti se klinickým dopadem neurotropní infekce TG zabývá vzrůstající počet výzkumníků v Číně, České republice, Etiopii, Německu, Spojených státech, Turecku, Velké Británii a dalších zemích (Bachmann et al., 2005; Flegr, 2003, 2010; Gu et al., 2001; Holub, 2006a, 2006b, 2008; Leweke et al., 2004; Qiuying et al., 1999; Schwarz and Hunter, 2007; Wang et al., 2006; Yuksel, 2010). Je však zapotřebí zdůraznit, že přestože

behaviorální studie na zdravých dobrovolnících přinesly pozoruhodné výsledky (Flegr, 2010), výzkum TG u schizofrenie je dosud sporadický a v úplném počátku. Malý počet dosud provedených studií znemožňuje spolehlivě určit, zda se schizofrenní pacienti, kteří jsou současně celoživotními nositeli toxoplazmových cyst, vyznačují charakteristickým psychopatologickým obrazem nebo průběhem schizofrenního onemocnění. Existuje rozsáhlý výzkum, který na zvířecích modelech (nejčastěji hlodavcích) přesvědčivě prokázal, že parazit cíleně navozuje charakteristické změny chování laboratorních zvířat (Webster a McConkey, 2010) a také potvrdil, že přítomnost cyst v mozkové tkáni laboratorních zvířat způsobuje zánětlivé nebo neurodegenerativní změny selektivních oblastí mozku (Hermes et al., 2008).

*Toxoplasma*-pozitivní schizofrenní pacienti se v dosavadních studiích prezentovali rozmanitou a širokou škálou příznaků (Bachmann et al, 2005; Gu et al, 2001; Li et al, 1999; Wang et al, 2006). **Tabulka 1** shrnuje studie, které různými diagnostickými nástroji posuzovaly dopad toxoplazmové nákazy u schizofrenie z hlediska psychopatologických změn. Výzkum latentní toxoplazmózy u schizofrenie může zodpovědět na některé etiopatogenetické otázky a pomoci rozšířit repertoár preventivních, diagnostických a léčebných opatření u tohoto devastujícího onemocnění.

#### **4.1 *Toxoplasma gondii***

Prvok *Toxoplasma gondii* je v rozvinutých zemích patrně nejrozšířenějším lidským parazitem. Prvok v bezpříznakové formě postihuje nejméně třetinu světové populace (Havlík et al., 1990; Jones et al., 2001). Člověk je vedlejší (paratenický) hostitel nepohlavních stadií toxoplazmózy. Tento vysoce úspěšný intracelulární parazit vykazuje zvýšenou afinitu k mozkové tkáni člověka, ve které je schopen celoživotně přežít díky specifickým rysům imunitní protiparazitární obrany v CNS (Krejsek a Kopecký, 2004). Doposud byla latentní toxoplazmóza považovaná za neškodnou a bezpříznakovou infekci, jejíž dlouhodobé klinické dopady byly opomíjeny.

**Tabulka 1: Studie TG u schizofrenních pacientů: korelace ELISA anti-TG protilátek a psychopatologických a kognitivních funkcí**

Autor	Počet a typ pacientů se schizofrenií	Použité nástroje	Výsledek	Komentář
Gu et al., 2001	135 FES	SANS WAIS-R	Pozitivní korelace IgG protilátek s celkovým skóre a jednotlivými položkami škály SANS. Vysoké hladiny anti-TG IgA protilátek u FES pozitivně korelovaly s kognitivními dysfunkcemi ve WAIS-R.	Korelace TG infekce s negativními příznaky a kognitivním narušením.
Boronow et al., 2002	229 stabilních ambulantních pacientů se schizofrenií a schizoafektivní poruchou.	PANSS RBANS	Nenalezeny významné asociace mezi TG infekcí a PANSS skóry. Naopak TG séropozitivita podstatně zvyšovala úroveň kognitivního narušení ve srovnání s věkově odpovídajícími neinfikovanými pacienty s obdobnou mírou psychotických příznaků.	U psychotických pacientů infikovaných TG byly nalezeny pouze kognitivní poruchy, nikoliv psychopatologické rozdíly v porovnání s neinfikovanými. Kognitivní deficit byl také nalezen u psychotických pacientů infikovaných virem HSV1 a CMV.
Bachmann et al., 2005	34 FES, pacienti dosud nemedikovaní nebo léčeni maximálně dva týdny.	PANSS	IgM, IgG a IgA protilátky pozitivně korelovaly s negativními příznaky a celkovým PANSS skóre.	TG infekce měla vztah převážně k negativním příznakům. Autoři spekulují, zda přítomnost specifických anti-TG protilátek akutní fáze (IgM) u FES pacientů nenaznačuje vliv akutní TG infekce na schizofrenní psychopatologii.
Wang et al., 2006	600 hospitalizovaných pacientů FES a schizofrenního spektra.	PANSS	Rozdíly v jednotlivých psychopatologických doménách a celkovém skóre mezi IgG+ a IgG- podskupinami nebyl významný. IgG+ podskupina pacientů ale vykazovala statisticky významně vyšší skóre v pětifaktorovém kompozitním skóre (pozitivní, kognitivní a excitace) a vyšší skóre v pozitivní podškále a nižší skóre v negativní podškále PANSS oproti IgG- podskupině. Autoři také zjistili vyšší prevalenci IgG anti- <i>Toxoplasma</i> protilátek u schizofrenní populace v porovnání s kontrolními skupinami (bipolární porucha, zdravá populace).	

*Zkratky vysvětleny na další straně*

CMV – Cytomegalovirus; FES – pacienti s první epizodou schizofrenie (first-episode schizophrenia); HSV1 – Herpes Simplex Virus 1; IgG+/IgG- (IgG séropozitivita/séronegativita) – sérologický průkaz specifických anti-TG IgG protilátek; PANSS – Positive and Negative Syndrome Scale; RBANS - Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status; SANS – Scale for the Assessment of Negative Symptoms; TG – *Toxoplasma gondii*; WAIS-R – Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised (neuropsychologické vyšetření).

#### 4.1.1 *Toxoplasma gondii* – historická poznámka

Parazitického prvoka *Toxoplasma gondii* (TG) poprvé objevili Nicolle a Manceaux v roce 1908 v Tunisu u severoafrického stepního hlodavce gundiho saharského (*Ctenodactylus gundi*). Ve stejném roce nezávisle na nich Splendore v Brazílii izoloval TG v mozku králíka. Nález parazitických tkáňových cyst v sítnici 11-ti měsíčního chlapce s hydrocefalem, levostranným mikroftalmem a degenerativními ložisky v oblasti žluté skvrny českým oftalmologem Janků (1923) zůstal z neznámých důvodů dlouho bez povšimnutí. Československá tradice studia toxoplazmózy (Janků, 1923; práce Jírovce, Vojtěchovského a Kozara, 1955, 1957) spolu s nálezem zvýšené toxoplazmové positivity IDT (intradermálního testu s toxoplasminem) u psychiatrické populace rozběhly od počátku 50. let v našem odborném tisku „vlnu toxoplazmatické inflace“ hojně popisující kazuistiky, léčebné efekty a psychické alterace ve vztahu k této neurotropní infekci (Hanzlíček, 1962). Kromě nálezů významně vyšší positivity intradermálního testu u psychotiků poutala *Toxoplasma* zájem psychiatrů u pacientů s pseudoneurastenickými a depresivními příznaky (Höschl a Balon, 1980). Hanzlíček (1962) předjímal v současnosti převládající multifaktoriální pojetí schizofrenie a koncepci interakce genetické predispozice k psychotickému onemocnění a negenetických faktorů vnějšího prostředí (Kirch, 1993). Konstatoval, že „je zcela možné, že probíhající aktivní toxoplazmóza narušuje CNS, podobně jako jiná agens a na takto oslabeném terénu mohou pak ostatní noxy, včetně psychogenních, snáze působit“. Na základě rozboru epidemiologických dat však dospěl k závěru, že pro psychiatrii a etiologii duševních nemocí má toto infekční onemocnění jen podružný význam, neboť toxoplazmová séropozitivita podle něj spíše odráží hygienické podmínky psychiatrických zařízení a aktivní toxoplazmová infekce bývá vzácná (Hanzlíček, 1962). Zájem psychiatrů o toxoplazmózu v Československu/České republice zcela opadl a sleduje celosvětový trend, kdy se výzkumem TG u duševních poruch zabývá pouze několik málo pracovišť. Torrey et al (2007) provedl analýzu 11 epidemiologických studií u schizofrenní populace publikovaných mezi lety 1957-

1980. Jak však případně uvádí Flegr (2010), vzrůstá v poslední době počet článků, které se věnují latentní toxoplasmóze. Užitím klíčových slov toxoplasm\* AND (behavi\* OR psychol\* OR personalit\* OR psychiatri\* OR schizophr\*) ve vyhledávači Web of Knowledge se ukázalo, že v letech 1990-1994 byly publikované 3 články, v letech 1995-1999 články 4, v letech 2000-2004 vyšlo 25 článků a v letech 2005-2009 se otisklo již 45 článků. Podobně rychle přibývají dílčí, nepřímé a podpůrné nálezy, jež doplňují etiopatogenetické poznatky o roli latentní toxoplasmózy u schizofrenie. Aktualizovaný a podrobný přehled výzkumných prací k tématu toxoplasmózy a schizofrenie shrnuje webová stránka Stanley Medical Research Institute ([www.stanleyresearch.org](http://www.stanleyresearch.org)). Webová stránka prof. Flegra shrnuje práce publikované k tomuto tématu na Přírodovědecké fakultě University Karlovy ([web.natur.cuni.cz/flegr](http://web.natur.cuni.cz/flegr)). V poslední době vyšla samostatná speciální čísla odborných časopisů věnovaná cíleně vztahu toxoplasmózy a schizofrenie/duševních poruch (**Schizophrenia Bulletin 2007; 33(3)** a **Folia Parasitologica 2010; 57**).

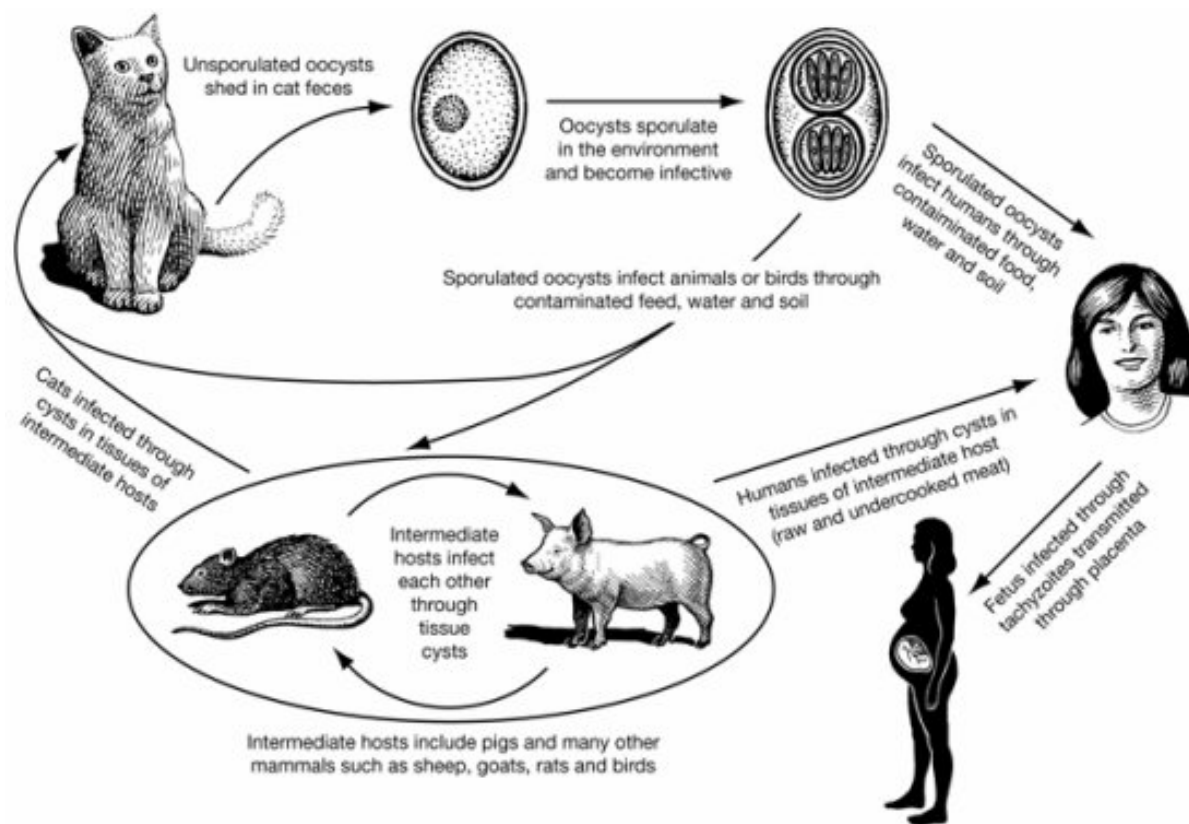
#### **4.1.2 *Toxoplasma gondii* – životní cyklus**

Toxoplasmóza (morbus Janků, Janků disease) je parazitární onemocnění zvířat způsobené kokcií *Toxoplasma gondii*, které je přenosné na člověka (zoonóza) (Strhársky et al, 2009), a to jak kongenitálně, tak i postnatálně. Obligátně intracelulární parazit je kosmopolitně rozšířený a je schopen infikovat prakticky všechny teplotně obratlovce (ptáky a savce). Odhaduje se, že v současnosti je infikováno 30-60% celkové lidské populace (Holliman, 1997). Člověk je vedlejší (paratenický) hostitel nepohlavních stadií toxoplasmózy. Studie na tkáňových kulturách ukázaly, že patogen selektivně napadá více gliové buňky a zejména astrocyty než samotné neurony (Creuzet et al., 1998). Imunitní systém zvládá u imunokompetentních osob fázi akutní parazitózy a aktivní tachyzoity potlačí do formy pomalu se množících bradyzoitů uvnitř tkáňových cyst. Latentní toxoplasmózu lze proto definovat jako celoživotní přítomnost tkáňových cyst s potenciálně reaktivovatelnými prvky v mozkové a svalové tkáni (Dubey, 1998).

Životní cyklus názorně přibližuje popularizující text Carla Zimmera (2005), *Vládce parazit*: „Toxoplazma není příliš vybíravá a najde si cestu téměř do jakéhokoliv typu buňky. Jakmile napadne buňku, začne se žít a rozmnožovat. Poté, co se rozdělí na množství nových kopií, buňku roztrhne a z ní se vysypou noví paraziti připravení napadnout další buňky. Po několika dnech změní parazit taktiku a místo napadání buněk si utváří cysty. V každé z nich se ukryje několik stovek jedinců. Pokaždé když se jedna z cyst otevře, paraziti z jejích útrob napadnou další buňky a vytvoří nové toxoplazmy. Jejich potomci si hbitě vytvoří nové cysty a zmizí v nich. Čekají pak i dlouhá léta, než jejich hostitele uloví kočka. V kočičím těle se znovu probudí, začnou se dělit, vytvoří samčí a samičí pohlavní formy, páří se, vytváří oocysty a cyklus se znovu opakuje“.

Složitý biologický cyklus parazita se podařilo zkompletovat teprve před 40 lety (Hutchison et al., 1969). Cyklus se vyznačuje střídáním pohlavní a nepohlavní fáze a neobejde se bez zapojení mezihostitele (**Obrázek 1**).

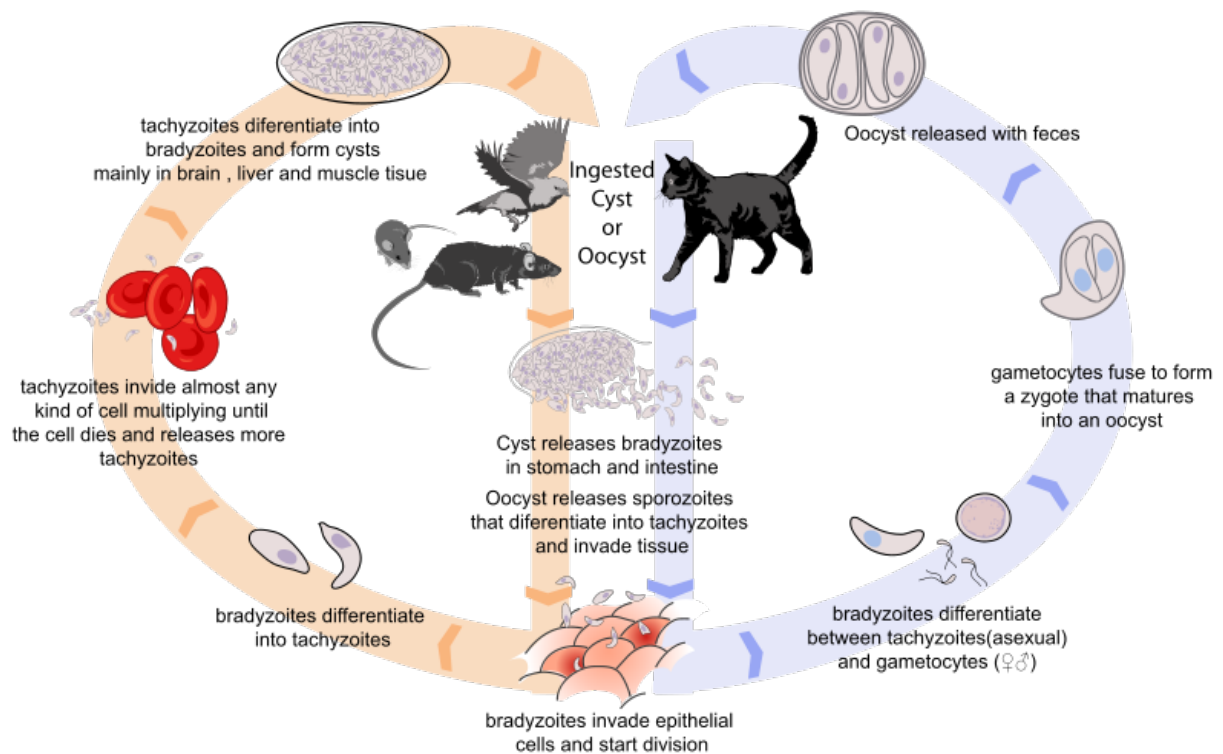
**Obrázek 1: Životní cyklus prvoka *Toxoplasma gondii***



Konečným hostitelem nákazy je kočka a kočkovité šelmy, které vylučují trusem oocysty schopné dlouhodobě přežít ve vnějším prostředí (nejčastěji půdě).

Ve střevním epitelu kočky domácí (*Felis catus*) začíná pohlavní fáze tvorbou oocyst. Kočka může být infikována pouze jednou za život a období, po které vylučuje oocysty se sporozoity, je odhadováno na několik týdnů (v této době kočky často trpí průjmami). Oocysty se výkaly dostávají se do vnějšího prostředí, nejčastěji půdy, kde dozrávají, sporulují a stávají se tak infekční. V půdě může oocysta zůstat infekční po dobu více než jednoho roku. Oocysty naopak ničí teplo (nad 60°) (Couvreur a Desmons, 1988). Mezihostiteli jsou převážně drobní hlodavci, ale patří sem také člověk a hospodářská zvířata chovaná pro produkci masa nebo mléka (skot, ovce, kozy, králíci, kuřata atd.). U nekočkovitých mezihostitelů se TG vyskytuje pouze ve formě latentních tkáňových cyst (obsahujících bradyzoity) zachycených především ve svalové a mozkové tkáni, ale také v dalších orgánech (např. v játrech, srdci atd.). Nepohlavní fáze začíná v okamžiku, kdy teplokrevný živočich pozře pozře oocysty. V trávicím traktu se oocysty uvolňují na sporozoity, jež jsou ve fázi akutní parazitémie rozesety krevním řečištěm do buněk různých tkání a orgánů a intenzivně se zde množí. Rozmnožování probíhá vždy intracelulárně. V akutní fázi se přeměňují na stadium tachyzoitů (nazývané někdy též endozoiti nebo trophozoiti). Ve tkáních se za účasti masivní protiparazitární obrany přeměňují na tkáňové cysty obklopené odolnou membránou, obsahující bradyzoity (také nazývané jako cystozoiti nebo merozoiti) (**Obrázek 2**), kteří jsou charakterističtí pro latentní formu toxoplazmózy (Jones et al, 2003). Přestože je parazit schopen infikovat buňky nejrůznějších tkání hostitele, napadá nejčastěji svalovou a mozkovou tkáň (Hutchison et al, 1971), kde se také vyskytuje nejvíce cyst. Tkáňové cysty ničí teplo (nad 60°) nebo mráz (méně než -9°) (Couvreur a Desmons, 1988). Pokud tkáňové cysty mezihostitele pozře kočkovitá šelma, životní cyklus TG se uzavírá, z cyst se v trávicím traktu uvolňují bradyzoiti, kteří se přeměňují na tachyzoity, kteří infekčně napadají střevní epitel kočky. Z tachyzoitů vznikají gamonti, kteří dozrávají na mikrogametocyty a makrogametocyty, jejichž splynutím vznikají oocysty.

**Obrázek 2: Jednotlivé životní formy (infekční stádia) *Toxoplasma gondii***



Lidé se tedy mohou nakazit buď oocystami od kočky nebo tkáňovými cystami z masa infikovaného zvířete nebo přes placentu vrozenou kongenitální formou toxoplazmózy. Kočky se mohou nakazit všemi třemi infekčními stádii (životními formami) toxoplazmy: sporozoity, tachyzoity i bradyzoity. Jejich infektivita se však liší: zatímco infektivita tachyzoitů a sporozoitů je nižší než 30%, po pozření bradyzoitů vylučovaly kočky oocysty téměř ve všech případech (Dubey a Frenkel 1976).

Přestože rozsáhlé poznatky o vlivu TG na laboratorní zvířata poskytují důležitá vodítka pro výzkum latentní toxoplazmózy u člověka, podrobná diskuse těchto nálezů přesahuje rozsah této práce. Souhrnný přehled specifických změn chování nakažených zvířat podává například Websterová (2007, 2010). Doposud byla latentní toxoplazmóza považovaná za neškodnou, inaparentní a bezpříznakovou infekci, jejíž dlouhodobé klinické dopady byly opomíjeny. Navzdory velkým pokrokům v poznání toxoplazmózy a její diagnostiky, není její problematika zdaleka vyřešena. Ukazuje se, že latentní toxoplazmóza má dopad především na dlouhodobé chování člověka (Flegr et al, 1996, 2010). Nedořešená zůstává otázka reaktivace latentní infekce u imunodeficitních pacientů a těhotných žen, sérologický monitoring dárců a příjemců transplantovaných orgánů (Strhársky et al, 2009). V poslední době se objevují práce mapující vliv latentní toxoplazmózy na tělesnou hmotnost těhotných



žen, podíl synů nakažených matek, lidské chování, osobnostní charakteristiky a psychomotorické reakce (Flegr et al, 2005; Flegr, 2007; Kaňková et al, 2007; Lindová et al, 2006; Skallová et al, 2006). Dopad latentní toxoplazmózy na duševní poruchy a zejména schizofrenní onemocnění je předmětem této práce.

#### **4.1.3 Klinické projevy toxoplazmózy**

Akutní toxoplazmóza u člověka probíhá většinou pod obrazem běžného virového onemocnění (někdy se podobající infekční mononukleóze), za které bývá často chybně zaměňována. Nákaza se většinou projevuje mírnými a nespecifickými příznaky a obvyklými projevy jsou zduření mízních uzlin na krku a šíji, subfebrilie, nepřiměřená unavitelnost, malátnost, bolesti hlavy a svalů. Tyto příznaky ve většině případů během několika týdnů vymizí. Někdy je u neléčených osob průběh provleklý a ke zlepšení stavu dochází za několik měsíců, jindy převládá vegetativní symptomatologie, poruchy spánku a emoční labilita (Havlík et al., 1990). Po odeznění příznaků akutní infekce přežívá parazit celoživotně v člověku ve formě tkáňových cyst. Většinu nakažených osob tedy tvoří nositelé latentní formy infekce, u kterých se neprojevují žádné klinické příznaky parazitózy (Jíra, 1983). U imunokompetentních osob je TG obecně považovaná za asymptomatického a neškodného obyvatele především nervové a svalové tkáně (Havlíček et al., 2001). Největší riziko představuje toxoplazmóza pro plod v akutní fázi pro dosud nenakažené těhotné ženy.

#### **4.1.4 Epidemiologie toxoplazmózy**

Prvek *Toxoplasma gondii* je v rozvinutých zemích patrně nejrozšířenějším lidským parazitem. V bezpříznakové formě postihuje nejméně třetinu světové populace (Havlík et al., 1990; Jones et al., 2001). Za její globální rozšíření zřejmě odpovídá nízká tkáňová a hostitelská specifita a rozmanité možnosti přenosu (Webster, 2001). V České Republice je ročně nahlášeno přibližně 400–800 případů akutní toxoplazmózy a zhruba 90 případů dětí infikovaných vrozenou toxoplazmózou. Prevalence toxoplazmózy se zvyšuje s věkem a liší se v různých geografických a kulturních oblastech. Záležit především na klimatu, hygienických podmínkách, úpravě potravin, kuchařských zvyklostech nebo přítomnosti koček v domácnosti. Geografické odchylky v séroprevalenci TG korelují s potravními a hygienickými zvyklostmi a ukazují na rozhodující význam orálně-alimentární cesty přenosu infekce

(Cook et al., 2000). Významnou roli v šíření infekce v přírodě a mezi lidmi sehrává také expozice infikovaným kočkám vylučujících oocysty (Tuetsch et al., 1979). Promořenost se pohybuje zpravidla v řádu desítek procent dospělé populace (Lappalainen et al., 1992; Lebech et al.; Buffolano et al., 1996; Jíra, 1983). V České Republice se dlouhodobě pohybuje okolo 30% (Jíra, 1983), v některých zemích dosahuje výše až 80% (Desmonts et al., 1974). V České republice byla na základě vyšetření 3342 sér zjištěna průměrná seroprevalence 35,5% (31% mužů a 39,9% žen) (Kodym a spol.1995). V České republice prevalence mírně klesá ve větších městech (Kodym et al., 2001).

Člověk se nakazí požitím nebo manipulací s nedostatečně tepelně upraveným masem (jakýmkoliv masem, nejčastěji vepřovým, jehněčím a králíčím, z divoce žijících zvířat je zoonotickým zdrojem například zajíc), které obsahuje tkáňové cysty. Druhým způsobem nákazy představují oocysty přechodně vylučované nakaženými kočkami, které kontaminují potravu nebo pitnou vodu, a též cesta ruka-ústa z kontaminované půdy a písku. Méně časté je šíření dýchacími cestami kapénkovou infekcí, spojivkovým vakem, oděrkami a rankami v kůži při manipulaci s infekčním materiálem a po kousnutí infikovaným zvířetem. (Havlík et al., 1990). K rizikovému chování zvyšující pravděpodobnost nákazy patří ošetřování infikovaných zvířat, jejich stahování, vyvrhování a úprava masa. Toxoplazmové infekce si naprostá většina nakažených není vědoma a je obtížné stanovit přesnou cestu přenosu. Toxoplazmová séroprevalence vzrůstá s věkem a mezi pohlavími se významně neliší. Seroprevalenci v jednotlivých věkových kategoriích shrnuje následující přehled (Kodym et al., 1995):

věková kategorie (roky)	pozitivita (%)		
	muži	ženy	celkem
0 - 4	13,7	26,9	20,3
5 - 9	26,1	29,4	27,7
10 - 14	21,6	33,7	27,7
15 - 19	28,3	39,2	33,8
20 - 29	36,6	40,2	38,4
30 - 39	28,4	44,9	36,7
40 - 49	35,6	46,9	41,3
50 - 59	34,4	41,9	38,2
60+	33,2	35,4	34,3
<b>celkem</b>	<b>31,0</b>	<b>39,9</b>	<b>35,5</b>

Bližší rozpracování epidemiologie *Toxoplasmy*, adaptace hostitele na infekci, adaptace parazita, manipulační teorie a rizikové a protektivní faktory toxoplazmové nákazy překračují rámec této klinicky zaměřené práce a jsou dostupné na webových stránkách prof Flegra (<http://web.natur.cuni.cz/flegr/>). Aktualizované výsledky medicínského výzkumu toxoplazmové infekce se zaměřením na psychiatrické poruchy shrnuje webová stránka Stanley Medical Research Institute ([www.stanleyresearch.org](http://www.stanleyresearch.org)).

#### **4.1.5 Kongenitální toxoplazmóza**

Samostatnou kapitolu představuje přenos TG z matky na dítě. Prevalence kongenitální toxoplazmózy se při porodu pohybuje mezi 1-10 na 10 000 živě narozených dětí (Guerina et al., 1994; Jenum et al., 1998; Lebech et al., 1999). Riziko infekce plodu je velmi nízké, pokud se matka toxoplazmou nakazí alespoň 3 měsíce před početím, naopak infikací gravidní ženy přechází parazit přibližně v polovině případů transplacentárně do fetálního oběhu (Montoya et al., 2004). Nákaza TG v prvním a někdy i v druhém trimestru gravidity ústí v závažnou kongenitální toxoplazmózu (nezralost, hydrocefalus, mikroftalmie, bilaterální chorioretinitida, kalcifikace v mozku), intrauterinní úmrtí plodu a spontánní potrat. Infekce ve třetím trimestru vede k porodu nepostížených novorozenců, u kterých se však mohou v pozdějším věku projevit některé následky infekce, např. poškození zraku (Dunn et al., 1999; Daffos et al., 1988). V minulosti byl vliv latentní toxoplazmózy na plod podceňován, avšak nedávné práce prokázaly vliv infekce matky na významné zmenšení plodu, prodloužení těhotenství a také na posun pohlavního indexu narozených dětí ve prospěch chlapců toxoplazma pozitivních matek (Kaňková, 2005). Děti nakažených matek také vykazovaly zpoždění psychomotorického vývoje, méně spaly přes den a byly hodnocené jako citlivější (Vavřínová, 2006). Přehledným způsobem problematiku dopadu toxoplazmové infekce matky na dítě shrnuje diplomová práce Vavřínové (2006).

Infekce matky jsou obecně považovaná za jeden z rizikových faktorů pro vznik schizofrenie (Remington a Klein, 2006). Plod vystavený zarděnkám, *Toxoplasmě*, viru Herpes simplex typu 2, chřipce a dalším infekcím s vyšším rizikem rozvine neurovývojovou poruchu. Brown a Patterson (2011) shrnují ve své přehledové práci dosavadní studie, které se zabývají vztahem infekcí matky během gravidity a schizofrenním onemocněním dětí z těchto těhotenství. K patogenním mechanismům

navozujících teratogenezi a neurovývojové změny řadí Brown a Patterson (2011) mateřské cytokiny, hypertermii, hypoxii plodu a nespecifické léky proti nachlazení, jako například aspirin.

Brown et al. (2005) a Mortensen et al. (2007) dokumentují vyšší incidenci schizofrenie u matek s vyšším titrem IgG anti-TG protilátek. Díky relativně nízké incidenci primoinfekcí TG během gravidity se má za to, že jen malá část séropozitivních matek byla infikovaná v průběhu těhotenství a většina ze studovaných žen se nakazila před početím. Z tohoto důvodu by se měly ženy preventivně a paušálně vyšetřovat před dosažením reprodukčního věku.

#### **4.1.6 Manipulační hypotéza**

Infekce TG je klasickým modelem pro studium manipulační hypotézy. Specifické změny chování laboratorních zvířat s latentní toxoplazmózou lze považovat za specifickou adaptaci parazita (Havlíček et al., 2001). Kokcidie TG se potřebuje dostat ze svého mezihostitele, zpravidla hlodavce, do svého definitivního hostitele, jímž je výlučně kočkovitá šelma. V mezihostiteli prvok vytváří zejména v mozku a svalech klidová stadia tkáňových cyst, ve kterých nezůstává pasivní. *Toxoplasma* ovlivňuje chování mezihostitele tak, aby se stal snažší kořistí predátora a zvýšil tak svoji šanci dostat se do střeva kočky.

Přestože je účelem manipulační aktivity parazita zvýšit pravděpodobnost přenosu na dalšího hostitele, jsou v mnoha případech změny v chování parazitovaných jedinců buď pouze vedlejším produktem onemocnění a nebo adaptací hostitele na negativní působení parazita. Protože evoluce parazita a hostitele neprobíhala odděleně, ale ve vzájemných interakcích, je velmi obtížné rozhodnout, co je příčinou pozorovaných změn v chování. Přestože chování parazitovaných zvířat bylo objektem zájmu mnoha studií, poměrně malé množství prací se zabývá behaviorálními následky parazitárních infekcí u člověka (Flegr et al, 1996).

Lidé si ztěží všimnou, že se v nich něco odehrává. V nejhorším případě připomíná vpád toxoplazmy lehkou chřipku. V době, kdy se parazit stáhne do své poklidné cysty, nezaznamená jej zdravý člověk už vůbec. Toxoplazma manipuluje imunitním systémem hostitele velmi obratně. Kdyby se paraziti množili divoce a zničili všechny buňky v těle, ocitli by se brzy v mrtvole namísto v živém hostiteli. A tu by asi ztěží chtěla kočka lovit. Proto toxoplazma udržuje svého hostitele naživu a manipuluje jeho imunitním systémem, aby ji samotnou držel zkrátka (Zimmer, 2005).

#### **4.1.7 Diagnostika toxoplazmové infekce**

Laboratorní diagnostika toxoplasmózy je založená na sérologickém vyšetření (Komplement fixační reakce – KFR; nepřímý imunofluorescenční test – IFT; Sabin-Feldmanův neutralizační test – SFT; ELISA; Avidita IgG – pevnost vazby mezi antigenem a protilátkou; proteinová analýza protilátek - Western-blot; latexová aglutinace; Imunosorbent Agglutination Assay - ISAGA), histologickém vyšetření tkáně, lymfatických uzlin a placenty, přímém důkazu parazitární DNA metodami molekulární biologie (Polymerase Chain Reaction, PCR) a na izolaci TG pokusem na laboratorních myších (Remington et al, 2004). Rutinní laboratorní diagnostika se opírá především o nepřímé metody sérologického průkazu protilátek proti TG. V současné době mají v diagnostice toxoplasmózy dominantní postavení metody enzymové imunoanalýzy (ELISE, ELISA capture), metody proteinové analýzy (Western-blot) a metody molekulárně biologické (PCR, real-time PCR) (Strhářsky et al, 2009). Díky pestrým projevům akutní toxoplasmózy a závažnosti příznaků sahající od bezpříznakových forem k život ohrožujícím stavům je diagnostika toxoplasmózy na základě klinických příznaků problematická. Diagnózu akutní toxoplasmózy pomáhají určit jako pomocné metody sonografie, magnetická rezonance, počítačová tomografie, oční a neurologické vyšetření (Strhářsky et al, 2009). Kombinací vhodných testů na stanovení jednotlivých tříd imunoglobulinů a sledováním dynamiky tvorby protilátek lze odlišit akutní stádium od latentní-neaktivní infekce (Ondriska et al, 2000). Důležitým markerem fáze infekce jsou hladiny jednotlivých typů protilátek. V akutní fázi infekce dochází k strmému vzestupu hladiny protilátek typu IgM , IgA a k pozvolnému vzestupu protilátek typu IgG. Pro chronickou fázi infekce je charakteristická přítomnost protilátek typu IgG, zatímco protilátky typu IgA a IgM

obvykle vymizí do devíti měsíců od nákazy (Kodym, Tolarová 1998). Nízké hladiny IgM protilátek však mohou přetrvávat i více než 12 měsíců po infekci. Pro posouzení nálezů u akutní toxoplasmózy je nutné opakovat vyšetření hladiny protilátek s časovým odstupem 2-3 týdnů mezi jednotlivými odběry. IgG protilátky se ve vysokých hladinách objevují při primoinfekci po sérokonverzi, nižší hladina IgG protilátek přetrvává dlouhodobě po odeznění infekce. Protilátky IgG dosahují vrcholu po 6 měsících a poté pozvolna klesají. V nízkých titrech často přetrvávají celý život. Avidita protilátek IgG je veličina vyjadřující pevnost vazby mezi antigenem a protilátkou. V počáteční fázi se protilátky k antigenům infekčních agens nevážou příliš pevně, jejich avidita je nízká (tzv. nízkoavidní protilátky, index avidity < 30%). V průběhu infekce imunitní odpověď vyzrává a avidita protilátek narůstá, u méně než 5% přetrvává dlouhodobě produkce nízkoavidních protilátek (Remington et al, 2004). Přítomnost IgA protilátek indikuje akutní infekci, nepřetrvávají tak dlouho jako IgM a nereagují zkříženě s revmatoidním faktorem. Protilátky IgE se tvoří v akutní fázi toxoplasmózy. Doba, po kterou jsou zjištělné v séru, je kratší než doba positivity IgM a IgA. Specifické IgE jsou vhodnějším markerem akutní fáze infekce. Stanovení celkových protilátek se provádí metodou KFR (komplement fixační reakce). Používání KFR slouží jako paralelní metoda k prověření výsledků ELISA a díky odlišnému principu umožňuje odhalit případné nespécifické a falešně negativní/pozitivní výsledky (Strhářský et al, 2009). Na základě předchozích studií zkoumajících dynamiku titru protilátek (Kodym et al, 2007) vyplývá, že přinejmenším statisticky platí, že koncentrace anti-TG protilátek IgG klesá s trváním infekce.

Do budoucích studií by bylo nápomocné doplnit sérologickou diagnostiku o stanovení celkového počtu CD4+ lymfocytů, jejichž hodnota klesá pod 200 v ml krve při reaktivaci infekce (Walker et al, 2005).

#### **4.1.8 *Toxoplasma* a imunitní mechanismy**

Téma disertační práce neumožňuje podrobněji rozpracovat samostatnou oblast imunologie toxoplasmózy. Interakce mezi infekčním agens (TG) a imunitním systémem lidského hostitele je dynamický a proměnlivý proces ovlivněný mnoha faktory na straně agens i hostitele. Ze strany TG je křehká rovnováha infekční agens-imunitní systém ovlivněna invazivitou kmene TG (rychlostí průniku do výhodných orgánových kompartmentů hostitelské buňky); schopností přímo a aktivně narušovat jednotlivé imunitní mechanismy a také schopností unikát do buněčných

kompartementů, kde je parazit chráněn (TG vytváří parazitární vakuoly). Cílem tachyzoitů je aktivně se ukrýt v jaderné buňce, kde mají možnost přežití, výživy a replikace. Kompetence imunitního systému hostitele infekci efektivně zvládnout je dána geneticky s vysokou mírou interindividuální variability, v optimálním případě je dosaženo maximální eliminace škodlivého působení agens s minimálním poškozením hostitele. Také aktuální stav imunitního systému (např. cytokinové vyladění) se podílí na tom, jak úspěšně hostitelský organismus kontroluje TG. Křehká rovnováha může být snadno a s různou intenzitou narušena. Výsledkem je aktivní poškozující infekce, poškození hostitele vlastními efektorovými obrannými mechanismy, nebo nejčastěji kombinace obojího. U lidí dochází k disseminaci parazita krevní a lymfatickou cestou do různých tkání. Charakter lézí a jejich osud závisí na vaskularizaci té které tkáně a regeneračním potenciálu konkrétních buněk. U imunokompetentních jedinců vzniká efektivní, dlouhotrvající, avšak nesterilní imunita (chronická latentní infekce). Klíčovou roli při útlumu intracelulárního parazita sehrává buněčná imunita (cytotoxické T-lymfocyty: CD8+) (Medková, 2006).

#### **4.1.9 Léčba toxoplazmové infekce, vakcinace a prevence**

Latentní asymptomatická toxoplasmóza se standardně neléčí. Léčba se nezačíná ani u imunokompetentních osob s uzlinovou formou prvoinfekce, jež nevykazují žádné příznaky, akutní infekce spontánně přechází do latentní formy. Aktivní léčba se nasazuje pouze u těhotných žen, novorozenců, dětí s vrozenou toxoplasmózou, infikovaných dětí mladších pěti let jako prevence chorioretinitidy, imunodeficitních osob, které vykazují reaktivaci toxoplazmózy, a v případech oční toxoplasmózy. K léčbě se nejčastěji používá kombinace pyrimetaminu (Daraprim) a sulfonamidu (Sulfadiazin), spolu s kyselinou listovou coby protektivní faktor proti útlumu krvetvorby. U těhotných se podává pouze spiramycin (Rowamycin). U očních forem se užívá klindamycin (Dalacin). Léčba působí pouze na tachyzoidy, stimuluje přechod akutní infekce do latentní formy a zmírňuje rozsah tkáňového poškození.

#### **Vakcinologie**

Díky složité struktuře parazita, jeho antigenní různorodosti, měnícím se antigenním profilu v souvislosti s jeho vývojovým stádiem a intracelulární lokalizaci doposud nebyla v humánní medicíně vyvinutá účinná a bezpečná vakcína (Strhářský et al, 2009). Cílem současného vývoje očkovacích látek a imunoterapeutických postupů je

schopnost předejít vzniku intrauterinních nákaz a ochránit plod protilátkami imunizované matky. Vzhledem k antigenní diverzitě parazita během vývojového cyklu a zapojení různých imunitních mechanismů v čase i místě infekčního procesu se předpokládá nutnost multiantigenní vakcíny (molekulární genetika, celulární mikrobiologie, imunologie). Vakcinologie je zaměřena na definování použitelných antigenů (sérotypově konzervativní sekvence, zasažení tachy- i bradyzoitů) a možnost indukce optimálně vyvážené imunity s převahou buněčné imunitní obrany (adjuvancia, rekombinantní cytokiny) (Medková, 2006).

### **Preventivní a hygienická opatření**

Existuje široká škála účinných preventivních zásahů, které zabraňují v přenosu TG: užívání rukavic při zahradničení nebo jiném kontaktu s půdou, mytí rukou po těchto činnostech, dostatečné tepelné zpracování masa (1 h při 50°C) nebo kratší dobu při vyšších teplotách inaktivuje TG tkáňové cesty. Ohřívání nakaženého masa v mikrovlnných troubách nezaručuje zahubení parazita. Zmrazení masa na 2 dny při teplotách -20°C je dostatečné ke zničení parazita. Změna kuchyňských návyků jako je mytí kuchyňských nožů po zpracování masa, ovoce a zeleniny a časté mytí rukou má významný dopad na snížení přenosu TG. K dalším opatřením patří snížení počtu divoce žijících koček, ochrana krmiva pro hospodářská zvířata před kontaminací kočičím trusem a povinné očkování koček proti toxoplazmóze. Studie případů a kontrol (case-control study) z let 2002 a 2007 určila, že k rizikovým faktorům pro nákazu toxoplazmózou ve Spojených státech patřila především konzumace syrového mletého hovězího masa, polosyrového jehněčího masa, lokálně vyráběného vařeného, sušeného nebo uzeného masa, práce s masem, pití nepasterizovaného kozího mléka nebo chování tří a více koťat. Riziko také významně narůstalo u osob, které požíli syrové ústřice, škeble nebo mušle (Jones et al, 2009). Úspěšná preventivní opatření by měla vzít v úvahu, že konzumace syrového nebo nedovařeného masa a manipulace s koťaty opakovaně představuje rizikový faktor toxoplazmové nákazy.

Člověk může k infekci přijít třemi způsoby. Buď a) přímým kontaktem s infekčními oocystami, např. při čištění kočičího záchodku, při práci se zemí, při hře na písku, b) při konzumaci syrové kontaminované zeleniny nebo vody (nákaza touto cestou je málo frekventovaná), nebo c) konzumací syrového nebo nedostatečně tepelně zpracovaného masa, které obsahuje tkáňové cesty



(největší riziko nákazy představuje maso králíčí a skopové, u vepřového masa je riziko nákazy nižší).

K nákaze toxoplasmózou může dojít i během těhotenství, kdy je infekce přenesena transplacentárně z matky na plod. Vzácně dochází k přenosu toxoplasmózy například transfúzí infikované krve nebo transplantací. Rozumným opatřením se ukazuje vyšetření protilátek proti TG před plánovaným těhotenstvím nebo v jeho ranném období. Ve vztahu k hygienickým opatřením přetrvává optimismus a naděje v jejich úspěšné prosazení živí jejich praktická a finanční nenáročnost. To také může vysvětlovat, že ve Spojených státech podstatně poklesla séroprevalence vůči TG z původních 14,1% (u osob ve věku 12-49 let v letech 1988-1994) na hodnotu 9,0% (ve stejné věkové skupině v letech 1999-2004) (Nutter et al, 2004).

#### **4.2 Schizofrenie a *Toxoplasma gondii***

Schizofrenní symptomy se obvykle nemanifestují dříve než v období pozdní adolescence nebo časně dospělosti, avšak patoplastický proces pravděpodobně začíná již v časných fázích vývoje mozku. Prenatální/perinatální mozková tkáň je vnímavá k poškození jakoukoliv infekcí včetně toxoplazmové. Brown et al. (2005) prokázali prenatální expozici toxoplazmóze jako rizikový faktor pro rozvoj schizofrenie na základě vyšetření mateřských protilátek proti toxoplazmóze z archivovaných vzorků mateřských sér reprezentativní populace. Mortensen et al. (2005) rovněž zaznamenali v sérologické analýze dánské populace intrauterinní toxoplazmovou infekci jako rizikový faktor pro rozvoj schizofrenie. Kromě uvedených studií s dospělými osobami se prováděla analýza vzorků sér těhotných žen odebraných krátce před porodem, u jejichž dětí se později rozvinula schizofrenie nebo jiné psychotické onemocnění. Zvýšené titry protilátek třídy IgM (nikoliv IgG) proti TG u matek, u jejichž dětí se později rozvinula schizofrenie naznačují, že matky v průběhu těhotenství prodělaly aktivní infekci nebo měly přetrvávající IgM protilátky. Ukazuje se, že nejen prenatální, ale i postnatální expozice toxoplasmóze je možným rizikovým faktorem: prospektivní 28letá katamnestická studie podporuje hypotézu o roli postnatálních infekcí v některých případech schizofrenie (Rentakallio et al., 1997).

V **Tabulce 2** jsou uvedeny publikované články a abstrakta do roku 1980, které srovnávají toxoplazmové protilátky u psychiatrických hospitalizovaných pacientů

s kontrolní populací. Většina těchto studií nespécifikovala diagnostická kritéria pro schizofrenii a definice kontrolních skupin byla vágní. **Tabulka 3** uvádí pozdější sérologické studie prováděné od roku 1999, které ve všech případech detekují protilátky metodou ELISA a diagnostika schizofrenie je v souladu se současnými diagnostickými kritérii. Ve všech studiích vykazovaly skupiny nemocných schizofrenií vyšší titry antitoxoplasmových protilátek oproti kontrolním skupinám a ve 3 studiích s prvními epizodami schizofrenie, které proběhly v Číně a Německu, byly rozdíly statisticky významné. Lewekeho studie (2004) poprvé rozdělila skupinu nemocných s první epizodou schizofrenie na podskupinu dosud farmakologicky neléčených a podskupinu léčených. Hladiny protilátek se u podskupiny léčených antipsychotiky nacházely mezi hladinami dosud neléčených nemocných a kontrolní skupinou. Antipsychotická léčba tedy zřejmě snížila hladiny protilátek. Leweke et al. (2004) kromě sérových protilátek zjišťoval u nemocných s první epizodou schizofrenie hladiny antitoxoplasmových protilátek v mozkomíšním moku. Hladiny protilátek v mozkomíšním moku vycházely významně vyšší než u zdravých osob ( $p < 0.0001$ ). Po přeléčení se u pacientů s první epizodou hladiny specifických antitoxoplasmových protilátek v mozkomíšním moku snížily a jejich hodnota se pohybovala mezi koncentrací u dosud neléčených pacientů (vysoká) a koncentrací u kontrolní zdravé skupiny (nízká) (podobně jako se po přeléčení snížily u titru sérových protilátek) (Torrey et al., 2003). Nález zvýšených titrů protilátek proti TG a CMV v Lewekeho studii (2004) nelze považovat za pouhý následek nespécifického zvýšení hladiny protilátek v rámci imunitní aktivace, protože protilátky proti dalším posuzovaným lidským herpetickým virům (HSV-1, HSV-2, EBV, VZV, HHV-6) zvýšené nebyly. V čínské studii (Gu et al., 2001) se 160 nemocnými první epizodou schizofrenie byly ze zkoumaných protilátek u 9 neurotropních infekcí pouze IgG proti TG jako jediné významně zvýšené ( $p=0.01$ ). Navíc byly u pacientů s vysokými titry IgG protilátek proti TG zachyceny závažnější negativní symptomy v celkovém skóru i jednotlivých položkách SANS. Hladina IgA protilátek proti TG také pozitivně korelovala s horšími kognitivními výsledky ve WAIS-R.

**Tabulka 2: Studie toxoplazmových protilátek u psychiatrických pacientů do roku 1980.**

(Upraveno podle Torrey a Yolken, 2003)

Rok	Autoři	Stát	Použitý test	Diagnóza pacientů	% pacientů s pozitivním i protilátkami	% kontrolních vyšetřených s pozitivními protilátkami	p hodnota
1953	Kozar	Polsko	Kožní test	Psychiatři hospitalizovaní pac. všech dg.	52% (495/961)	25% (170/681) Zdraví dobrovolníci 18-60 let	<0.0001
1956	Vojtěchovská et al.	Československo	Kožní test	Hospitalizovaní pac. s "psychózou"	59% (68/116)	30% (obecná populace, odhad)	<0.0001
1956	Wende	Východní Německo	Barvový test	Hospitalizovaní pac. se schizofrenií	8% (3/38)	5% (24/520) (hospit. pacienti s neurologickými poruchami)	0.418
1957	Jirovec et al.	Československo	Kožní test	Hospitalizovaní pac. se schizofrenií	48% (238/501)	29% (286/970) (obecná populace)	<0.0001
1958	Buente llo	Mexiko	Barevné změny u ryb	Hospitalizovaní pac. se schizofrenií	68% (32/47)	0% (0/60) (obecná populace)	<0.0001
1958	Cagliaris	Itálie	Barvový test	Hospitalizovaní pac. se schizofrenií	21% (13/61)	15% (12/81) (obecná populace)	0.376
1961	Cook a Derrick	Austrálie	Barvový test Kompletní fixační test	Hospitalizovaní pac. se schizofrenií	36% (19/53) 11% (6/53)	24% (obecná populace) 13% (obecná populace)	0.053 0.840
1962	Yegerov et al.	SSSR	Kožní test Kompletní fixační test	Hospitalizovaní pac. se schizofrenií	19% (7/37) 32% (12/37)	4% (1/25) 28% (7/25) (nemocniční personál)	0.124 0.784
1962	Avlaidov	Bulharsko	Kožní test Kompletní fixační test	Psychiatři hospitalizovaní pac. nespecif.	26% (5/19) 21% (3/14)	3% (1/35) (sterilizované ženy) 9% (3/34) (sterilizované ženy)	0.017 0.339
1966	Berengio et al.	Itálie	Barvový test	Hospitalizovaní pac. se schizofrenií	14% (76/560)	4% (49/1200) (obecná populace)	<0.0001
1966	Roch a Varela	Mexiko	Barvový test	Schizofrenie, typ léčby nespecifik.	86% (836/973)	30% (4,411/14,689) (obecná populace)	<0.0001
1968	Garrido a Redondo	Španělsko	Kompletní fixační test	Hospitalizovaní pac. se schizofrenií	44% (17/39)	29% (147/500) (obecná populace)	0.072
1979	Garcia	Kuba	Kožní test	Psychiatři hospitalizovaní pac.	60% (60/100)	30% (30/100) (obecná populace)	<0.0001

**Tabulka 3: Studie toxoplazmových protilátek u psychiatrických pacientů od roku 1999. (Upraveno podle Torrey a Yolken, 2003 a doplněno)**

Rok	Autoři	Stát	Použitý test	Diagnóza pacientů	% pacientů s pozitivními protilátkami	% kontrolních vyšetřených s pozitivními protilátkami	p hodnota
1999	Qiuying et al.	Čína	ELISA	Hospitalizovaní pac.se schizofrenií	14% (22/152)	10% (41/396) Běžná populace stejného regionu pravidel.zdravot.prohlídka	0.181
2001	Gu et al.	Čína	ELISA	1 epizoda schizofrenie	33% (45/135)	9% (4/43) Normální populace odpovídající věkem, pohlavím a místem narození	0.002
2001	Yolken et al.	Německo	ELISA: IgG or IgM	1 epizoda schizofrenie	42% (16/38)	11% (3/27) Normální populace odpovídající věkem, pohlavím a socioekonomickým stavem	0.007
2002	Boronow et al.	USA	ELISA	Ambulantní schizofrenní nemocní	12% (28/229)	7% (7/100) Normální populace odpovídající věkem	0.147
2003	Leweke et al.	Německo	ELISA	1 epizoda schizofrenie dosud neléčených pac.	36% (13/36)	14% (10/73) Normální populace odpovídající věkem, pohlavím a socioekonomickým stavem	<0.007
2003	Torrey a Yolken	Irsko	ELISA	Hospitalizovaní pac.se schizofrenií	60 (31/52)	45 (9/20) Nemocniční zaměstnanci	0.299
2004	Bachman et al.	Německo	ELISA	1 epizoda schizofrenie	Neuvedeno. Důraz na analýzu hladin IgG a IgM protilátek ve vztahu k míře psychopatologie		

Vysoké titry IgG protilátek proti TG byly spojené s nižším antipsychotickým účinkem klozapinu (nižší pokles celkového skóre BPRS a SANS), zatímco účinnost chlorpromazinu zůstala hladinou toxoplazmových protilátek neovlivněna. Výsledky heidelbergské studie (Bachmann et al., 2005) se 34 nemocnými s první epizodou schizofrenie ukázaly, že celkové skóre PANSS na počátku hospitalizace korelovalo s hladinou IgG protilátek proti TG. Hladinu IgM protilátek predikovalo vyšší skóre negativních příznaků v PANSS, vyšší skóre v Straussově-Carpenterově škále a pozitivní rodinná anamnéza psychiatrického onemocnění (definovaného jako jakékoliv duševní onemocnění vyžadující hospitalizaci).

Studie v tkáňových kulturách prokázaly, že některá antipsychotika (haloperidol) a thymostabilizátory (kyselina valproová) inhibují množení toxoplazmy (Jones-Brando et al., 2003). Užití dobře tolerované antitoxoplazmové léčby (trimethoprim-sulfamethoxazol) jako doplňující léčba ke standardní antipsychotické farmakoterapii v nekontrolované studii přispěla k poklesu schizofrenní symptomatologie u nemocných sérologicky pozitivních vůči toxoplazmě (Torrey et al., 2003). Ukazuje se, že antipsychotická medikace a kouření cigaret mění imunitní odpověď vůči infekčním nákazám u schizofrenních nemocných (Hinze-Selch et al., 2001). Přestože jsou údaje o účincích atypických antipsychotik na imunitní systém sporadické, jsou potvrzeny imunosupresivní účinky (haloperidol, clozapin) i účinky imunostimulační (fenothiaziny) (Song et al., 2003). Potlačení protiparazitárních imunitních mechanismů může reaktivovat TG. K předpokládaným imunosupresivním vlivům u nemocných se schizofrenií patří nejen dlouhodobá antipsychotická léčba, ale i vlastní schizofrenní onemocnění a neurotransmitterové změny ovlivňující imunokompetentní buňky (Bachmann et al., 2005). Také endogenní retroviróvá infekce může modulovat imunitní systém a aktivací TG představovat spouštěč psychotického onemocnění (Karlsson et al., 2001). V etiopatogenetickém řetězci schizofrenie hraje dopaminergní systém důležitou roli a existují práce, které svědčí pro schopnost infekcí indukovaného cytokinu IL-2 inhibovat in vivo unilaterální nigrostriatální dopaminové neurony (De Sarro, et al. 1990). Skallová et al. (2005) prokázali, že selektivní inhibitor zpětného vychytávání dopaminu GBR 12909 (1-[2-[bis(4-fluorofenyl)metoxy]-etyl]-4-[3-fenylpropyl]piperazin) významně ovlivňoval chování laboratorních myší, a to odlišně u infikovaných a zdravých samců. GBR 12909 neměl vliv na chování samic.

### **4.3 Nálezů podporující možnou patogenetickou souvislost mezi toxoplazmovou infekcí a schizofrenním onemocněním**

#### **4.3.1 Nálezů epidemiologické**

- 1) Vyšší výskyt TG séropozitivity u osob s nedávno prodělanou psychotickou epizodou v porovnání s nepychotickou kontrolní skupinou (Bachmann et al., 2005; Dickerson et al., 2009; Gu et al., 2001; Leweke et al., 2004; Li et al., 1999; Torrey and Yolken, 2003; Wang et al., 2006; Yolken et al., 2001).
- 2) Vysoká prevalence TG séropozitivity u pacientů s první epizodou schizofrenie dosud neléčených antipsychotiky (drug-naïve) (Leweke et al, 2004).
- 3) Vyšší prevalence latentní TG infekce zaznamenaná specificky pro schizofrenii, ale nikoliv pro bipolární poruchu (Wang et al, 2006).
- 4) Metaanalýza zahrnující téměř 4000 pacientů se schizofrenií zřetelně dokumentující vyšší prevalenci séropozitivity vůči TG u schizofrenních pacientů oproti zdravým kontrolám (odds ratio 2.73; u prvních epizod schizofrenie dokonce 2.54). Autoři současně dodávají, že síla efektu (effect size) pro latentní toxoplazmózu je u schizofrenie podstatně větší než u jakéhokoliv známého kandidátského genu nebo rizikového faktoru prostředí (Torrey et al, 2007). Tento přesvědčivý epidemiologický nález nelze vysvětlit pouze jako artefakt antipsychotické léčby.
- 5) Významné zvýšení hladiny anti-TG specifických IgG protilátek před propuknutím schizofrenie (hazard ratio = 1.24,  $p < 0,01$ ). Zvýšení titru protilátek začínalo přibližně tři roky před propuknutím onemocnění s vrcholem šest měsíců před rozvinutím onemocnění (Niebuhr et al, 2008).
- 6) Významně vyšší hladiny anti-TG specifických IgG protilátek u séropozitivních osob vysoce ohrožených vznikem psychotického onemocnění (ultra-high risk individuals for psychosis) vykazovaly závažnější psychotické příznaky (Amminger et al, 2007).
- 7) Statisticky významně vyšší prevalence latentní TG infekce u psychiatrických pacientů trpících afektivní, obsedantně-kompulzivní poruchou, u pacientů s poruchou osobnosti, Parkinsonovou chorobou a se zvýšenou mírou suicidality (Arling et al., 2009; Fekadu et al., 2010; Hinze-Selch et al., 2010).
- 8) Hladiny antitoxoplazmových protilátek v mozkomíšním moku u nemocných s první epizodou schizofrenie vycházely významně vyšší oproti neschizofrenním osobám ( $p < 0.0001$ ) – spolu se zvýšením titrů sérových protilátek (Leweke et al., 2004).
- 9) Rizikový faktor toxoplazmózy matky a intrauterinní toxoplazmové infekce pro rozvoj schizofrenie (Brown a Patterson, 2011).

10) Chov koček v dětství jako rizikový faktor pro rozvoj schizofrenie nebo bipolární afektivní poruchy v dospělosti (Torrey et al, 2000).

#### **4.3.2 Nálezy experimentální**

11) Manipulační hypotéza: parazit cíleně mění chování napadeného organismu takovým způsobem, že zvyšuje šanci na svůj přenos z mezihostitele do konečného hostitele, kde svůj životní cyklus uzavírá. TG prokazatelně mění chování napadených myší, krys a dalších hlodavců a převrací jejich instinktivní strach z kočičího zápachu v jeho ztrátu nebo dokonce přitažlivost (Berdoy et al, 2000; Webster et al, 2010).

12) Haloperidol a selektivní inhibitory zpětného vychátní dopaminu zmírňovaly TG navozené poruchy chování myší a potkanů (Jones-Brando et al. 2003; Skallová et al., 2006; Webster et al., 2006).

13) Antipsychotika inhibují růst TG *in vitro* (Jones-Brando et al, 2003). Antiprotozoární potenciál psychofarmak se mezi jednotlivými léky značně lišil: haloperidol byl podstatně účinnější než trimethoprim (standardní anti-toxoplazmový preparát), kyselina valproová a valproát sodný měly obdobné inhibiční účinky jako trimethoprim na reprodukci *Toxoplasmy*. Nižší inhibiční schopnosti než trimethoprim vykazovaly také chlorpromazin, flufenazin, risperidon, klozapin, quetiapin a karbamazepin. Lithium nemělo vůči *T. gondii* žádný inhibiční potenciál.

14) Preferenční lokalizace tkáňových cyst u laboratorních zvířat a jejich nejčastější výskyt v limbickém systému – amygdale a nucleus accumbens (Berdoy et al, 1995; Di Cristina et al, 2008; Gonzalez et al, 2007; Hermes et al, 2008; Unno et al, 2008; Vyas et al, 2007; Webster, 2007; Webster a McConkey, 2010).

15) Selektivní úbytek parenchymu nervové tkáně v hipokampu, periaqueduktální a periventrikulární šedé hmotě mozkové u myší (Hermes et al, 2008);

#### **4.3.3 Nálezy klinické**

16) Změny chování a osobnostních rysů u infikovaných neschizofrenních osob (Flegr, 2007; Lindová et al. 2006 a 2010; Skallová et al., 2005).

17) Kognitivní změny u nepsychotické populace: prodloužení jednoduchého reakčního času v dvojité zaslepené studii u zdravých dárců krve se séropozitivitou vůči TG vůči séronegativním (Havlíček et al, 2001); zvýšené riziko účasti na dopravní nehodě u osob nakažených TG (Flegr et al, 2002; 2009; Yereli et al, 2006; Kocazeybek et al, 2009). Možným vysvětlením pro zhoršený „výkon v dopravních

situacích“ mohou být poruchy pozornosti, pracovní paměti nebo změny v úrovni bdělosti (Holub et al, 2006).

18) Vztah mezi vyšším celkovým skóre PANSS a hladinou IgG protilátek vůči TG a kladná korelace negativních PANSS příznaků a hladiny IgM protilátek u prvních epizod schizofrenie (Wang et al, 2006).

19) Kognitivní dysfunkce u schizofrenních nemocných se sérologickou pozitivitou IgG protilátek oproti sérologicky negativním (Boronow et al, 2002).

20) Autopsie (subjektivní svědectví výzkumníků o dopadu toxoplazmové infekce na jejich vlastní chování a prožívání) (Flegr, 2010; Yolken, 2010).

21) Rozdíly v promořenosti TG mezi jednotlivými státy vysvětlující významnou část variability v neuroticismu a vyhýbání se nejistotě pro danou populaci v korelační studii (Lafferty, 2006).

#### **4.3.4 Nález morfolické**

22) Selektivní úbytek šedé hmoty mozkové o TG séropozitivních schizofrenních pacientů zejména v kaudatu, středním cingulu, talamu a okcipitální kůře oboustranně, jednostranně pak vlevo v mozečkových hemisférách - zachycený při vyšetření MRI a následné voxel-based morphometry (VBM) analýze (Horáček et al, 2011). Uvedené anatomické oblasti se podílejí na rozvoji pozitivních příznaků, příznaků excitace a dezorganizace (Su et al, 2009; Whitford et al, 2005).

23) Kongenitální toxoplazmóza je spojená se závažnými neuropsychiatrickými a očními příznaky (Carruthers a Suzuki, 2007). Kongenitální toxoplazmóza vykazuje selektivní poškození nervové tkáně charakterizované mnohočetnými nekrotickými ložisky a mikrogliovými noduly v oblastech mozkové kůry, bazálních ganglií a někdy periventrikulárních oblastí, včetně periaqueduktální a periventrikulární vaskulitidy (Montoya a Liesenfeld, 2004).

24) Toxoplazmová encefalitis jako součást reaktivace oportunních infekcí u pacientů trpících HIV, nádorovým onemocněním, podstupujících transplantaci nebo léčených imunosupresivou (Montoya, 2004; Liesenfeld, 2004) vykazuje mnohočetné léze nejčastěji lokalizované na přechodu šedé a bílé hmoty mozkové kůry, v bazálních gangliích, mozkovém kmeni a mozečku (Gendelman et al, 2005).

25) Rentgenologický nález extrapineálních kalcifikací u TG séropozitivních dobrovolníků bez psychotických příznaků (Kolář et al, 1969) ukazoval na specifickou lokalizaci mnohočetných kalcifikací (degenerativní procesy tkáňových cyst) v



temporální krajině, dále v oblasti frontální, parietální a okcipitální. Solitární kalcifikace byly nejčastěji v parietální krajině.

#### **4.3.5 Hypotéza selektivní lokalizace tkáňových cyst v CNS**

Teoretickým předpokladem identifikovatelného psychopatologického profilu nakažených schizofrenních pacientů byla hypotéza preferenční kolonizace CNS. Selektivní umístění tkáňových cyst by podle této hypotézy s větší pravděpodobností přispívalo k určitým trendům v psychopatologickém profilu a symptomových „shlucích“. Pro tvrzení, že tkáňové cysty nejsou v mozkové tkáni schizofrenních pacientů lokalizované nahodile a libovolně, nýbrž že přednostně osidlují určité favorizované mozkové struktury, dosud neexistuje přímý histopatologický průkaz z mozků schizofrenních nemocných (Conejero-Goldberg et al, 2003). S ohledem na omezenou rozlišovací schopnost současných zobrazovacích metod a nemožnost potvrdit/vyvrátit selektivní napadání oblastí CNS toxoplazmovými cystami u živých pacientů, opíráme se v našem předpokladu specifické lokalizace tkáňových toxoplazmových cyst o následující nepřímé nálezy:

- 1) Přirozený neurotropismus TG a selektivní volba „imunoprivilegovaných“ míst mozkové tkáně následující po generalizované parazitémii akutní fáze infekce (Dubey, 1998);
- 2) Preferenční lokalizace tkáňových cyst u laboratorních zvířat (Hermes et al, 2008; Webster a McConkey, 2010). Předchozí studie zaznamenaly převažující záchyt mozkových cyst v čichovém bulbu, amygdale, nucleus accumbens, mozkové kůře, mozečku, bazálních gangliích, septohippokampálních a perihippokampálních oblastech (Gonzalez et al, 2007; Vyas et al, 2007; Di Cristina et al, 2008; Unno et al, 2008). V nedávné studii Hermes et al (2008) zaznamenal úbytek mozkového parenchymu a zánětlivé změny především v oblasti hippocampu, periaqueduktální a periventrikulární šedi mozkové. Specifické osídlení je také v souladu s manipulační hypotézou, tj pouze specifický zásah a cílené působení parazita vede ke specifickým změnám chování meziphoste, nejčastěji hlodavce, který ztrácí adaptivní strach z kočkovitých šelem. Důležité behaviorální projevy včetně sociálního chování zůstávají u nakažených hlodavců nenarušené (Berday et al, 1995; Webster, 2007). Amygdala a nucleus accumbens sehrávají důležitou úlohu ve fyziologii strachu, který

je nejvýznamněji ovlivněn v animálních toxoplazmových modelech (Webster a McConkey, 2010);

3) Kongenitální toxoplasmóza se vyznačuje specifickými lokalizacemi nekrotických, zánětlivými granulomatózními perivaskulárními změnami, hojením s kalcifikací a sklerotizací (Werner et al, 1981);

4) Toxoplazmová encefalitis jako součást reaktivace oportunních infekcí u pacientů trpících HIV, nádorovým onemocněním, podstupujících transplantaci nebo léčených imunosupresivou (Montoya, 2004; Liesenfeld, 2004) vykazuje mnohočetné léze nejčastěji lokalizované na přechodu šedé a bílé hmoty mozkové kůry, v bazálních gangliích, mozkovém kmeni a mozečku (Gendelman et al, 2005);

5) Rentgenologický nálezní extrapineálních kalcifikací. Mnohočetné intrakraniální kalcifikace vznikají u celé řady patologických stavů (ateroskleróza intrakraniálních artérií, pseudohypoparathyreóza), ale také jako součást přirozené neurodegenerace v průběhu stárnutí. Mnohočetné kalcifikace doprovázejí některé infekce (neurocysticercóza, TORCH infekce), nejčastěji jsou však spojené s cerebrální toxoplasmózou jako součást kalcifikace degenerujících tkáňových cyst. Kolář et al (1969) zjistil, že TG séropozitivní dobrovolníci bez psychotických příznaků vykazovali statisticky významně vyšší přítomnost extrapineálních kalcifikací oproti séronegativním. Mnohočetné intrakraniální extrapineální kalcifikace se nejčastěji nacházely v temporální krajině, dále v oblasti frontální, parietální a okcipitální. Solitární kalcifikace byly u TG nakažených lokalizované nejčastěji v parietální krajině.

6) Selektivní úbytek šedé hmoty mozkové o TG séropozitivních schizofrenních pacientů zejména oboustranně v kaudatu, středním cingulu, talamu a okcipitální kůře, jednostranně vlevo v mozečkových hemisférách zachycený při analýze MRI (Horáček et al, 2011). Uvedené anatomické oblasti se podílejí na rozvoji pozitivních příznaků, příznaků excitace a dezorganizace (Su et al, 2009; Whitford et al, 2005).

#### 4.4 Mechanismy působení latentní toxoplazmózy

Dosavadní práce uvádějí jako možné mechanismy působení chronické toxoplazmové infekce ve vztahu k patofyziologii schizofrenie:

- a) Neurovývojové změny zrajícího mozku v případě prenatální/perinatální/časné postnatální toxoplazmové infekce (Amori et al, 2009; Conejero-Goldberg et al, 2003; Dantzer et al, 2008);
- b) Přímé a selektivní poškození neuronů, gliových buněk a astrocytů (Carruthers a Suzuki, 2007; Cotter et al, 2001; Creuzet et al, 1998; Doyle et al, 2002; Halonen et al, 1996; Gonzalez et al, 2007; Peterson et al, 1993);
- c) Sekundární poškození nervové tkáně cytokiny (Conejero-Goldberg et al, 2003);
- d) Neurotransmitterové změny: zvýšení dopaminergní aktivity ať již vlastní aktivitou parazita (schopnost TG produkovat dopamin ) nebo neuromodulací dopaminergní neurotransmise IL-2 a dalšími prozánětlivými vytkány trvale produkované živými parazity (Flegr et al, 2003; Gaskell et al, 2009; Novotná et al, 2005; Schwarcz and Hunter, 2007; Skallová et al, 2005);
- e) Neuromodulující vliv metabolismu *Toxoplazmy* a schopnost TG produkovat homology tyroxin hydroxylázy (Gaskell et al, 2009; Stibbs, 1985);
- f) Nález dvou genů kódujících v TG enzymy tyroxin hydroxylázu a phenylalanin hydroxylázu. Enzym metabolizuje fenylalanin a preferenčně tyrosin a vede k produkci L-DOPA (Schwarcz and Hunter, 2007).
- g) Chronická produkce gama-interferonu a chronická aktivace indoleaminu 2,3-dioxygenázy (IDO), která zvyšuje koncentrace kynurenové kyseliny (KYNA) a následně alteraci glutamátergní, nikotinergní, dopaminergní a serotonergní neurotransmise (Webster a McConkey, 2010);
- h) Zvýšená koncentrace KYNA podílejí se na nadměrné inhibici glutamátergní a nikotinergní neurotransmisi, které sehrávají významnou úlohu u kognitivních dysfunkcí schizofrenního onemocnění (Schwarcz a Hunter, 2007);
- i) Dysregulace endokanabinoidového systému (Yuksel et al, 2010);
- j) Autoimunitní reakce (Conejero-Goldberg et al, 2003);
- k) Vzájemná aktivace TG a retrovirové infekce (Torrey and Yolken, 2003);
- l) Abnormality vylučování testosteronu (Flegr et al, 2008);

- m) Specifická lokalizace tkáňových cyst v mozku nakažených laboratorních zvířat (teoreticky i člověka) se pokládá za jeden z mechanismů cíleného behaviorálního působení, např. útlum strachu (Webster a McConkey, 2010);
- n) Ve vztahu ke schizofrenii vstupují do hry rozmanité deficity imunitní odpovědi, imunosupresivní efekt antipsychotik (Song et al, 2000) na straně jedné, a inhibiční antitoxoplazmový efekt některých antipsychotik na straně druhé (Jones-Brando et al, 2003).
- o) Na obecné úrovni se u latentní toxoplasmózy předpokládá chronické působení tkáňových cyst v CNS a dlouhodobých neurofyziologických dopadů anti-parazitární imunitní odpovědi, jež u nemocných se zvýšenou genetickou vulnerabilitou vedou k výraznějším chemickým i histologickým změnám mozkové tkáně.

#### **4.5 Dosud nezodpovězené otázky**

Toxoplazmový výzkum čelí celé řadě otázek, které by se mohly stát podkladem budoucích výzkumných projektů:

- a) Znamená sérologický průkaz protilátek vždy přítomnost živých parazitů v CNS? (zobrazovací metody CNS)
- b) Je nález mozkových cyst anatomicky náhodný nebo lze identifikovat specifické preferenční lokalizace? (zobrazovací metody CNS). Neurozobrazovací metody (MRI) mají potenciál vnést nové souvislosti k pochopení neurofyziologie latentní toxoplasmózy u schizofrenie a u duševních poruch obecně.
- c) Koreluje prevalence latentní toxoplazmózy s prevalencí schizofrenního onemocnění, případně charakteristikami a průběhem onemocnění? Přesvědčivá epidemiologická data o vlivu TG na riziko vzniku schizofrenie mají korelativní nikoliv příčinnou povahu. Vysoká prevalence latentní toxoplazmózy u ne-psychotické populace poukazuje na význam interakce mezi TG a dalšími patogenetickými faktory.
- d) Imunologický profil nakažených schizofrenních nemocných a variabilita imunitních markerů ve vztahu k aktivitě a úspěšnosti toxoplazmové infekce.
- e) Kontrola virulence jednotlivých kmenů TG.
- f) Kontrola anti-toxoplazmového působení antipsychotik a dalších psychotropních léků.
- g) Bližší porozumění etiopatogenezi toxoplazmové infekce a její neurobiologii.

## 5. Cíle disertační práce

Hlavním cílem disertační práce je identifikovat psychopatologické a kognitivní odlišnosti mezi podskupinou TG nakažených a nenakažených pacientů schizofrenního spektra. Přidruženým cílem naší práce je zkoumat vztah toxoplazmové infekce a dalších charakteristik schizofrenního onemocnění: věk nástupu, počet hospitalizací, délku poslední hospitalizace, odpověď na farmakologickou léčbu a compliance ve vztahu k toxoplazmové infekci. Na základě předchozích klinických studií (**Tabulka 1**) jsme jako primární cíle stanovili, že sérologický průkaz anti-TG IgG protilátek u schizofrenních pacientů bude pozitivně korelovat s vyššími skóry na pozitivní škále PANSS a vyššími skóry v kompozitních položkách kognice a excitace pětifaktorového modelu podle Lindenmayera et al (1995). Předpokládali jsme současně horší kognitivní výkon TG nakažených pacientů v testech AVLT a CPT. Ohniskem našeho výzkumného projektu byla **postnatální latentní toxoplasmóza** (asymptomatické „spící“ stadium infekce parazitem *Toxoplasma gondii* provázená dostatečnou koncentrací IgG protilátek). Klinický význam **akutní toxoplasmózy** (záchyt specifických IgM a IgA protilátek obvykle doprovázený příznaky onemocnění) nebyl předmětem našeho zájmu.

## 6. Materiál a metodika

### 6.1 Soubor

Zkoumaný soubor tvořili pacienti s poruchou schizofrenního spektra (**Tabulka 4**), kteří byli hospitalizováni v Psychiatrickém centru Praha. Z celkového počtu 251 pacientů bylo 141 (56,18%) mužů a 110 (43,82%) žen (průměrný věk=28,3, SD=7,6 let). Konečný soubor se skládal z pacientů dvou samostatných výzkumných programů: a) skrínigového programu vyšetřování schizofrenních pacientů pomocí zobrazovacích metod CNS, který probíhal mezi zářím 2000 a lednem 2006 (66 pacientů), b) programu šestitýdenního denního stacionáře pro pacienty schizofrenního spektra ve fázi stabilizace, jež probíhal mezi lednem 2006 a červnem 2010 (185 pacientů). **Obrázek 3** (viz příloha 12 na konci textu) zachycuje způsob výběru pacientů a jednotná vstupní a vylučující kritéria pro oba podsoubory. Statisticky nevýznamně zvýšená prevalence TG u pacientů v podsouboru neurozobrazovacích metod (25.5% vs. 21.5%;  $\chi^2=0,474$ ,  $p=0,491$ ) byla jedinou zachycenou odlišností mezi dvěma podsoubory. V době zařazení do studie se věk

pacientů pohyboval mezi 17 a 53 roky a schizofrenní onemocnění trvalo průměrně 54.9 (SD=65.9) měsíců. Počet hospitalizací se pohyboval mezi 1 a 13 (průměr=2.64, SD=2.76).

## 6.2 Hodnotící instrumenty

Všichni pacienti byli před vstupem do obou programů PCP vyšetřeni a na základě strukturovaného interview byla v souladu s diagnostickými kritérii DSM-IV stanovena diagnóza. Všichni pacienti byli kavkazské rasy a diagnostické rozložení ukazuje **Tabulka 4**. Rozložení vzdělání ukazuje **Tabulka 5**. Pacienti byli standardně psychiatricky, somaticky i laboratorně vyšetřeni k tomu, aby došlo k vyloučení tělesných/neurologických onemocnění a zneužívání alkoholu nebo psychoaktivních látek. 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). Závažnost schizofrenních příznaků se hodnotila pomocí strukturovaného interview PANSS škály (Kay et al, 1987) jedním ze spoluautorů studie (L.M.D, D.H. nebo J.Č.). Ke stanovení kognitivních abnormalit byli pacienti vyšetřeni pomocí CPT a AVLT. Pacienti i vyšetřující neznali serologický status pacientů. Odhad špatné terapeutické odpovědi byl založen na užívání klopazinu a denní dávce antipsychotika překračující doporučené dávkování podle BNF (2010). Dvacet pacientů neužívalo žádná antipsychotika (8.0 %) a většině ostatních pacientů byla nasazená léčba antipsychotiky druhé generace během jejich první hospitalizace (**Tabulka 6**).

Pro další analýzy byly denní dávky antipsychotik přepočítány na chlorpromazinový ekvivalent (CE) (Hung, 2007). Podle standardního postupu (Kay et al, 1987) byly vypočteny skóry pro škálu pozitivních, negativních, obecných příznaků a celkový skór všech položek. Současně byly vypočítány kompozitní skóry pětifaktorového PANSS modelu podle Lindenmayera et al (1995) (**Tabulka 7**). Diskuse optimálního pětifaktorového modelu u schizofrenie viz van der Gaag et al. (2006a, b).

**Tabulka 4: 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)	Schizoafektiv- ní poruchy  (295.7)	Schizotypální porucha osobnosti  (301.33)
<i>Toxoplasma</i> - nenakažení (N=194)	Muži	68 (63.0%)	30 (27.8%)	0 (0%)	9 (8.3%)	1 (0.9%)
	Ženy	42 (48.8%)	28 (32.6%)	0 (0%)	16 (18.6%)	0 (0%)
<i>Toxoplasma</i> - infikovaní (N=57)	Muži	22 (66.7%)	9 (27.3%)	2 (6.0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Ženy	12 (50.0%)	9 (37.5%)	0 (0%)	3 (12.5%)	0 (0%)

\*DSM-IV-TR klasifikace (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4<sup>th</sup> Edition, Text Revision*). % představuje procentuální rozložení v řádku

**Tabulka 5: Vzdělání a rozložení toxoplazmové infekce**

Typ vzdělání		Základní	Učňovské	Střední škola	Vysoká škola
<i>Toxoplasma</i> - nenakažení (N=192)	Muži	19 (17.9%)	11 (10.4%)	60 (56.6%)	16 (15.1%)
	Ženy	11 (12.8%)	5 (5.8%)	50 (58.1%)	20 (23.3%)
<i>Toxoplasma</i> - infikovaní (N=57)	Muži	6 (18.1%)	8 (24.2%)	10 (30.3%)	9 (27.3%)
	Ženy	1 (4.2%)	1 (4.2%)	15 (62.5%)	7 (29.1%)

**Tabulka 6: Přehled antipsychotické léčby ve výzkumném souboru**

Antipsychotikum	Rozpětí denní dávky (mg)	Počet pacientů
Olanzapin	5 – 30	105 (41.8%)
Risperidon	2 – 8	51 (20.3%)
Klozapin	150 – 700	28 (11.1%)
Quetiapin	200 - 1000	28 (11.1%)
Aripiprazol	10 – 30	13 (5.2%)
Paliperidon	3 – 12	6 (2.4%)
Ziprasidon	80-160	6 (2.4%)
Kombinace antipsychotik*		22 (8.8%)
Bez léčby		20 (8.0%)

*\*všechny kombinace byly kombinacemi atypických antipsychotik s typickými (k výše neuvedeným patřily amisulprid, flupenthixol, flufenazin, haloperidol, perfenazin, sulpirid)*

**Tabulka 7: Kompozitní skóry pětifaktorového modelu PANSS**

(Lindenmayer et al., 1995)

Faktor	Položky PANSS
Negativní	citové oploštění, emocionální odtažitost, špatné interpersonální porozumění, pasivní/apatická sociální odtažitost, nedostatek spontaneity a plynulosti konverzace, motorická retardace, porucha vůle, autismus, a aktivní vyhýbání se sociálnímu kontaktu
Pozitivní	bludy, pojmová dezorganizace, chování pod vlivem halucinací, velikášství, podezíravost/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 impulsivity
Deprese/ úzkost	zabývání se tělesným stavem, úzkost, pocity viny, napětí, a deprese



### 6.3 Vyšetření TG

Diagnóza latentní toxoplasmózy se opírala o sérologický průkaz specifických IgG anti-toxoplazmových protilátek. S ohledem na to, že latentní toxoplasmóza 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 toxoplasmózu (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 hodnocené v rozmezí 1:4 až 1:1024. Všichni pacienti s pozitivním nálezem IgG protilátek pomocí ELISA (index positivity > 0,9) a pacienti s CFT titry rovnající se nebo vyšší než 1:8 byli považováni za toxoplazma-positivní a byli retestováni ELISA na IgM protilátky k vyloučení akutní toxoplasmózy. Pacienti 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 titr protilátek rovný nebo vyšší než 1:128. Tento nález jsme interpretovali tak, že v průběhu studie žádný z vyšetřovaných pacientů nevykazoval známky akutní toxoplasmózy. Odlišení akutní toxoplasmózy v ELISA a CFT z IgG protilátek někdy bývá obtížnější, avšak průkaz specifických IgG protilátek se opakovaně ukazuje jako vysoce senzitivní a specifická metoda a výsledek je zřídka problematický (Hofgärtner et al, 1997). Relaps akutní toxoplasmózy u imunosuprimovaných pacientů s pozitivním titrem anti-toxoplazmových IgG protilátek navozených dřívější toxoplazmovou infekcí (nejčastěji toxoplazmová encefalitis) ukazuje, že pozitivita specifických IgG protilátek v séru odkazuje na přítomnost živých parazitů v nervové tkáni.

## 6.4 Statistická analýza

Primárně jsme analyzovali efekt TG 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 TG-sérologický stav a pohlaví jako nezávislými faktory. Rozložení některých proměnných se odlišovalo od normálního rozložení i po log-transformaci. Proto jsme souvislost mezi PANSS skóry a toxoplasmosou analyzovali i pomocí konzervativních neparametrických testů, jmenovitě parciálního Kendallova korelačního testu s kovariantem věku. V hledání již popsaného efektu toxoplasmózy na psychopatologii vyjádřenou pomocí PANSS skóre lze užít citlivějších jednostranných testů. Abychom demonstrovali robustnost výsledků, použili jsme pouze konzervativnější dvoustranné testy a Bonferonniho korekce pro mnohočetné testování pro všechny proměnné. Samostatná analýza mužů a žen vycházela z poznatků, že změny chování navozené TG se konzistentně liší nebo mají dokonce opačný efekt u mužů a u žen, podobně jako je pohlavně odlišný efekt TG na zvířecích modelech (Flegr et al, 1996; Lindová et al, 2006; Lindová et al, 2010).

Pro sekundární analýzy pátrající po dalších rozdílech mezi pacienty s toxoplasmosou a bez toxoplasmosy 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 1000mg 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 toxoplazmy na tyto binární proměnné byl analyzován pomocí logistické regrese s věkem, pohlavím a TG séropozitivitou jako nezávislými proměnnými. Výpočty logistické regrese, GLM, neparametrických testů a ověření normality distribuce dat a homogenity proměnných se prováděli pomocí software Statistica ® v 8.0.

## 7. Výsledky

V experimentální části práce jsme v našem souboru prokázali latentní toxoplasmózu u 33 mužů (23.4%) a 24 žen (21.6%). Rozdíl v prevalenci mezi pohlavími nebyl statisticky významný ( $\chi^2=0,114$ ,  $p=0,737$ ). Podobně jsme nezaznamenali statisticky významný rozdíl v prevalenci toxoplazmové séropozitivity mezi dvěma podsoubory (pacienti z programu neurozobrazovacích metod a z denního stacionáře) ( $\chi^2=0,474$ ,  $p=0,491$ ) ani při porovnání skupiny pacientů se schizofrenií (34; 23,6 %) oproti ostatním pacientů s poruchou schizofrenního spektra (23; 21,5%), ( $\chi^2=0,118$ ,  $p=0,854$ ).

### 7. 1 Vliv latentní toxoplasmózy na psychopatologii

Zčásti jsme potvrdili výsledky předchozí psychopatologické studie Wanga et al. (2006). **Tabulky 9 a 10** ukazují výsledky post hoc testů: rozdíly v jednotlivých celkových a kompozitních skórech PANSS škály mezi TG nakaženými a nenakaženými pacienty s použitím parametrických a neparametrických testů. Pacienti s latentní toxoplasmózou vykazovali vyšší skóry na pozitivní škále ( $p=0,017$ ) a trend k významnosti na kompozitní škále excitace pětifaktorového modelu ( $p=0,089$ ). Na rozdíl od předchozí pilotní čínské studie (Wang et al., 2006) jsme v naší studii nezaznamenali rozdíly mezi *Toxoplasma*-infikovanými a neinfikovanými schizofrenními pacienty v negativní podškále PANSS ani v negativní nebo kognitivní 5-ti faktorové kompozitní škále. Vícerozměrný GLM test ukázal vysoce významný efekt pohlaví ( $p=0,00007$ ) a významný efekt toxoplasmózy ( $p=0,0317$ ). Efekt interakce pohlaví a toxoplasmózy významný nebyl ( $p=0,228$ ). Výsledky naší studie ukázaly (v souladu s předchozími nálezy u laboratorních zvířat a u neschizofrenní lidské populace) na pohlavní rozdíly a často opačný efekt latentní toxoplasmózy na obě pohlaví - *Toxoplazmou* infikovaní muži trpící poruchou schizofrenního spektra vykazovali oproti ženám:

- a) vyšší hodnoty ve škále negativních příznaků PANSS
- b) vyšší hodnoty v 5-ti faktorové kompozitní škále distorze reality
- c) vyšší hodnoty v 5-ti faktorové kompozitní škále dezorganizace
- d) vyšší hodnoty v 5-ti faktorové kompozitní škále distorze reality
- e) vyšší hodnoty v 5-ti faktorové kognitivní kompozitní škále

**Tabulka 8: Popisná statistika charakteristik onemocnění a PANSS hodnost**

	Popisná statistika: (průměry)							
	muži- negativ	s.d. (muži -)	muži- pozitiv	s.d. (muži +)	ženy- negativ	s.d. (ženy -)	ženy- pozitiv	s.d. (ženy+)
Věk nástupu psychózy (roky)	22.67	6.08	23.48	6.30	24.36	6.54	27.03	7.45
Délka poslední hospitalizace (dny)	53.02	38.93	64.85	54.94	46.89	34.77	80.25	126.28
Počet hospitalizací	2.92	4.40	3.00	2.62	2.78	2.92	2.08	1.59
Chlorpromazino vý ekvivalent (mg)	498.34	332.68	582.30	430.10	489.29	310.00	534.62	406.76
PANSS pozitivní škála	12.98	4.45	14.88	4.19	12.07	4.00	13.92	7.80
PANSS Negativní škála	17.85	6.27	19.34	5.94	15.19	6.46	13.67	5.88
PANSS obecná škála	31.77	7.45	33.19	7.05	29.89	8.07	31.08	12.25
PANSS celkový skór	62.90	15.62	67.41	13.69	57.48	16.28	58.67	23.16
PANSS distorze reality	7.12	2.86	8.34	3.02	6.71	2.72	7.25	4.80
PANSS dezorganizace	8.09	2.63	8.75	2.38	7.58	2.67	8.08	3.57
PANSS - psycho-motoric. ochuzení	17.72	5.93	18.84	5.75	14.96	6.30	13.46	5.79
PANSS 5_negativní	22.50	7.38	23.68	6.99	19.23	7.53	17.33	6.95
PANSS 5_pozitivní	16.77	5.60	18.13	5.40	15.107	5.38	17.08	10.06
PANSS 5_kognitivní	8.32	2.59	9.23	2.60	7.68	2.58	7.46	2.96
PANSS 5_vzrušení	5.07	1.70	5.48	2.47	4.80	1.46	5.33	2.04
PANSS 5_depresivní	10.24	3.07	10.29	3.56	10.67	3.45	11.46	4.90

*PANSS 5\_X označuje kompozitní faktory pětifaktorového modelu PANSS škály.*

**Tabulka 9: Efekt pohlaví, věku, toxoplasmózy a interakce pohlaví-toxoplazmóza na charakteristiky schizofrenního onemocnění**

	Výsledky GLM analýz:: velikost účinku (effect sizes) ( $\eta^2$ ) a hladiny významnosti (p)							
	eta pohlaví	p pohlaví	eta toxo	p toxo	eta pohlaví toxo	p pohlaví-toxo	eta věk	p věk
Věk nástupu psychózy (roky)	0.031	<b>0.006</b>	0.006	0.227	0.020	<b>0.026</b>	0.466	<b>0.000</b>
Délka poslední hospitalizace (dny)	0.002	0.544	0.031	<b>0.006</b>	0.006	0.219	0.003	0.420
Počet hospitalizací	0.008	0.158	0.005	0.263	0.001	0.700	0.140	<b>0.000</b>
Chlorpromazino vý ekvivalent (mg)	0.001	0.588	0.006	0.258	0.000	0.739	0.001	0.732
PANSS pozitivní škála	0.008	0.152	0.023	<b>0.017</b>	0.000	0.900	0.025	<b>0.013</b>
PANSS Negativní škála	0.073	<b>0.000</b>	0.000	0.942	0.009	0.129	0.002	0.507
PANSS obecná škála	0.012	<b>0.089</b>	0.003	0.400	0.000	0.957	0.018	<b>0.037</b>
PANSS celkový skór	0.035	<b>0.004</b>	0.003	0.360	0.001	0.614	0.021	<b>0.023</b>
PANSS distorze reality	0.013	<b>0.074</b>	0.010	0.114	0.001	0.606	0.042	<b>0.001</b>
PANSS dezorganizace	0.010	0.115	0.005	0.257	0.000	1.000	0.031	<b>0.006</b>
PANSS psycho-motor. ochuzení	0.077	<b>0.000</b>	0.001	0.603	0.007	0.183	0.008	0.173
PANSS 5_negativní	0.072	<b>0.000</b>	0.001	0.673	0.007	0.204	0.006	0.248
PANSS 5_pozitivní	0.011	<b>0.099</b>	0.009	0.136	0.001	0.574	0.044	<b>0.001</b>
PANSS 5_kognitivní	0.037	<b>0.003</b>	0.002	0.464	0.007	0.192	0.006	0.245
PANSS 5_vzrušení	0.002	0.439	0.012	<b>0.089</b>	0.000	0.818	0.000	0.809
PANSS 5_depresivní	0.008	0.161	0.002	0.522	0.003	0.428	0.010	0.117

Tabulka ukazuje výsledky parametrických (GLM) analýz. Významné výsledky a trendy ( $p < 0.1$ ) jsou tučně zvýrazněny.

**Tabulka 10: Efekt pohlaví, věku, toxoplasmózy a interakce pohlaví-toxoplasmóza na charakteristiky schizofrenního onemocnění**

	Výsledky Kendallových analýz: účinek (Tau) a hladiny významnosti (p)			
	Tau muži	p muži	Tau ženy	p ženy
Věk nástupu psychózy (roky)	-0.004	0.947	0.169	<b>0.009</b>
Délka poslední hospitalizace (dny)	0.059	0.306	0.157	<b>0.015</b>
Počet hospitalizací	0.081	0.158	-0.052	0.418
Chlorpromazinový ekvivalent (mg)	0.068	0.247	0.004	0.627
PANSS pozitivní škála	0.157	<b>0.006</b>	0.010	0.873
PANSS Negativní škála	0.105	<b>0.067</b>	-0.100	0.122
PANSS obecná škála	0.078	0.172	-0.027	0.684
PANSS celkový skór	0.123	<b>0.032</b>	-0.023	0.724
PANSS distorze reality	0.142	<b>0.014</b>	-0.037	0.574
PANSS dezorganizace	0.115	<b>0.046</b>	0.034	0.597
PANSS psychomotoric. ochuzení	0.070	0.225	-0.106	0.103
PANSS 5_negativní	0.076	0.188	-0.098	0.134
PANSS 5_pozitivní	0.092	0.110	0.016	0.807
PANSS 5_kognitivní	0.140	<b>0.015</b>	-0.055	0.396
PANSS 5_vzrušení	0.078	0.174	0.097	0.136
PANSS 5_depresivní	-0.009	0.883	0.023	0.720

*Tabulka ukazuje výsledky neparametrické analýzy (částečná Kendallová korelace s věkem coby kovariátem). Významné výsledky a trendy ( $p < 0.1$ ) jsou tučně zvýrazněny. PANSS 5\_X označuje kompozitní faktory pětifaktorového modelu PANSS škály.*

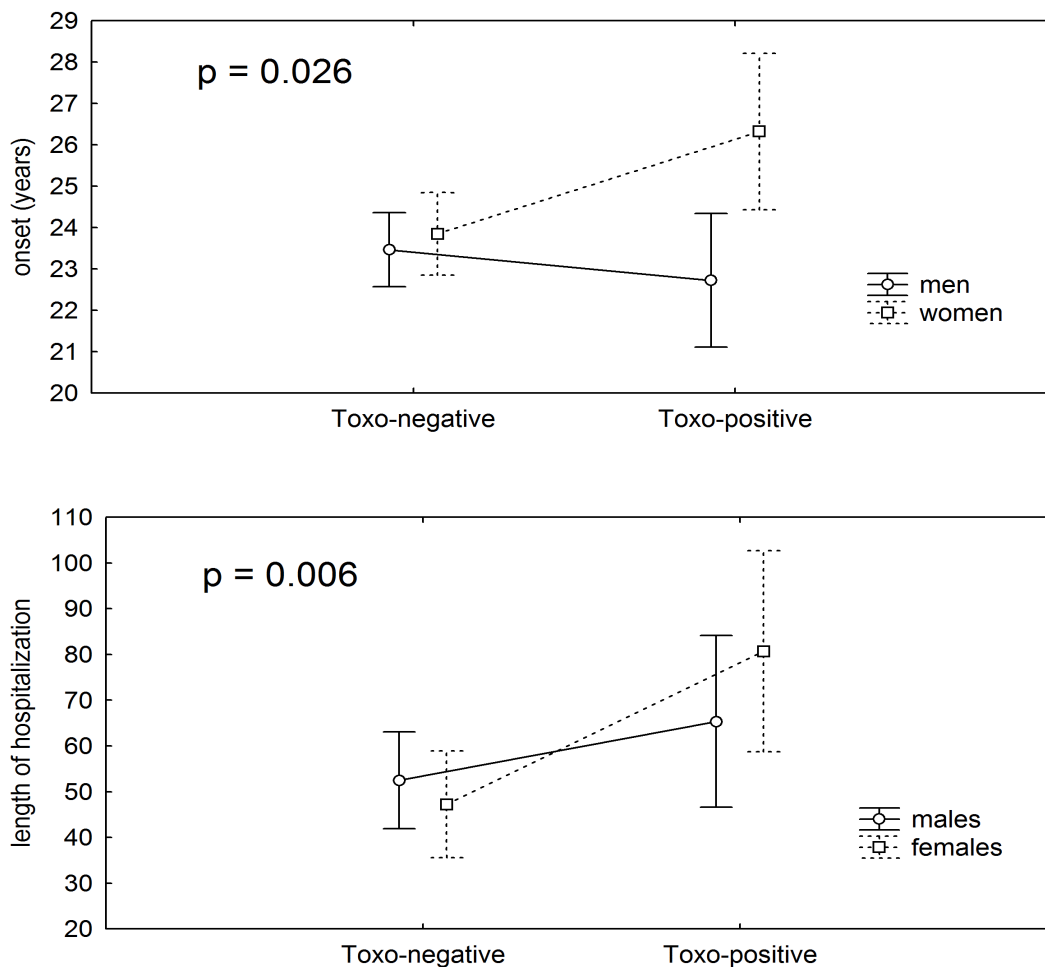
## 7. 2 Vliv latentní toxoplasmózy na kognitivní funkce

Nepotvrdili jsme rozdíly v kognitivním výkonu mezi *Toxoplasma* nakaženou a nenakaženou podskupinou: výkonnost v počítačové verzi Connerova CPT a klasické administraci AVLT se mezi oběma skupinami významně nelišila. Při zahrnutí interakce TG-pohlaví do výpočtů jsme však zaznamenali významný efekt. Narušení v položce CPT Comission (nadměrné reagování na nevýznamný podnět) ( $p=0,058$ ) u nakažených mužů i žen společně s pohlavně odlišnými abnormitami v položce CPT Detectability (schopnost rozlišování signálu a šumu) ( $p=0,0496$ ) a CPT Block T-score (změna výkonnosti v průběhu celého testu) ( $p=0,041$ ) však nebyly významné po provedení Bonferroniho korekce pro mnohočetné statistické testování.

## 7. 3 Vliv latentní toxoplasmózy na klinické charakteristiky

**Tabulka 9** a **obrázek 4** shrnují výsledky efektu toxoplasmózy na věk nástupu schizofrenie, délku indexové hospitalizace (poslední hospitalizace před vstupem do studie), počet hospitalizací celkem a průměrné denní dávky antipsychotik vyjádřených v CLP ekvivalentu. **Tabulka 10** obsahuje výsledky robustnějších neparametrických testů provedených samostatně pro muže a ženy. Korelace toxoplasmózy s binárními klinickými parametry nebo parametry odezvy na léčbu se nepotvrdila: úzce definovaná schizofrenie versus schizofrenní spektrum ( $p= 0,806$ ,  $OR=0,926$ ,  $C.I._{.95} = 0,499-1,717$ ), denní dávky antipsychotika nižší versu vyšší než 1000mg CLP ekvivalentu ( $p= 0,743$ ,  $OR=1,112$ ,  $C.I._{.95} = 0,587-2,109$ ), preskripce klopazinu versus jiných ne-klopazinových antipsychotik ( $p= 0,674$ ,  $OR=0,807$ ,  $C.I._{.95} = 0,295-2,209$ ), perorální antipsychotická versus depotní léčba ( $p= 0,628$ ,  $OR=1,346$ ,  $C.I._{.95} = 0,403-4,499$ ). Zaznamenali jsme pouze trend překročení maximálních denních dávek antipsychotika u TG nakažených nemocných ( $p= 0,065$ ,  $OR=1,992$ ,  $C.I._{.95} = 0,954-4,159$ ). Také průměrné denní dávky antipsychotika vyjádřené v chlorpromazinovém ekvivalentu (CE) byly u pacientů infikovaných toxoplasmou nesignifikantně vyšší (600mg versus 487mg;  $p=0,09$ ).

**Obrázek 4: Rozdíl nástupu schizofrenního onemocnění (nahore) a trvání poslední hospitalizace ve dnech (dole) mezi TG nakaženými a nenakaženými muži a ženami**



*Věk nástupu onemocnění a délka pobytu v nemocnici byla kontrolována pro věk pacienta. Svislé přímkové označují 95% interval spolehlivosti. Hodnota  $p$  ukazuje hladinu významnosti interakce TG-pohlaví počítanou pomocí GLM.*

#### 7. 4 Korelace mezi trváním infekce a závažností schizofrenní symptomatiky

Řešili jsme otázku, zda pozorovaný efekt TG na schizofrenní příznaky odráží patogenní působení probíhající latentní toxoplasmózy nebo spíše reziduální následek akutní toxoplasmózy proběhlé v minulosti. K zodpovězení této otázky jsme využili analýzu dynamiky titrů protilátek (Kodym et al, 2007), ze kterých vyplývá, že přinejmenším statisticky platí, že koncentrace anti-TG protilátek IgG klesá s trváním infekce. K tomuto účelu jsme provedli analýzy pouze v subpopulaci schizofrenních pacientů, kteří jsou současně nakaženi toxoplazmou. Záporná korelace mezi PANSS



skóry a koncentrací anti-TG protilátek (klesání koncentrace protilátek, nárůst PANSS skóru) by svědčila pro kumulativní efekt latentní toxoplasmózy, kladná korelace (zvýšení koncentrace protilátek, nárůst PANSS skóru) by pak odrážela odeznívající následek dříve proběhlé akutní toxoplasmózy. **Tabulka 11** a **obrázek 5** ukazují, že při provedení parciální korelace podle Kendallové mezi PANSS skóry a koncentrací IgG protilátek se zahrnutím věku pacientů jako kovariátu, korelovaly negativně čtyři souhrnné a kompozitní skóry (škála pozitivních příznaků, podškála dezorganizace, kompozitní faktor pozitivních příznaků a vzrušení v pětifaktorovém modelu). Koncentrace anti-toxoplazmových protilátek korelovala negativně s hladinou psychopatologie v podškálách pozitivních příznaků, dezorganizace a excitace, což znamená, že uvedená psychopatologie narůstala s trváním toxoplazmové infekce.

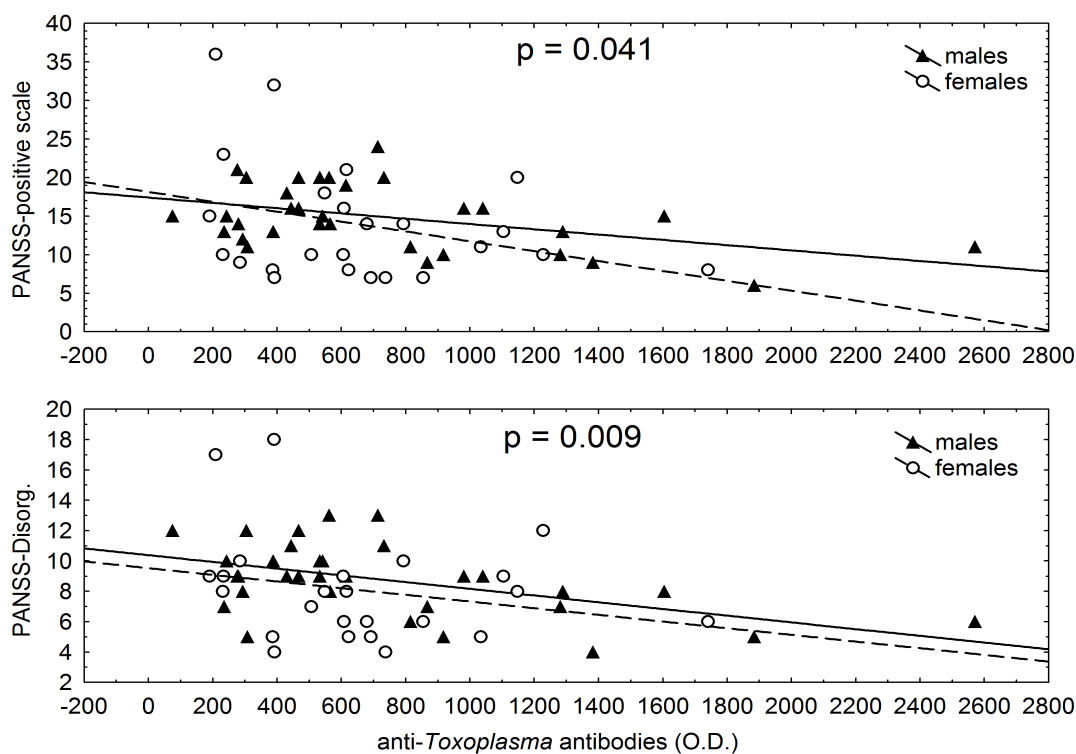
Parciální Kendallová regrese dále naznačila, že může existovat pozitivní asociace mezi pravděpodobností, že pacient trpí pouze krátkou nebo přechodnou psychotickou poruchou a hladinou anti-TG protilátek (**Tabulka 11**). Samostatná analýza u 32 mužů a 24 žen zde zachytila nevýznamnou korelaci u mužů, ale vysoce signifikantní u žen (**Tabulka 11**). Takový výsledek je v souladu s opačným působením toxoplasmózy na muže a ženy (Flegr et al, 1996; Lindová et al, 2006; Lindová et al, 2010). Vyšší hladina anti-toxoplazmových protilátek (statisticky významně u žen) byla spojená s vyšší pravděpodobností diagnózy akutní psychotické poruchy. Naopak nižší hladiny anti-toxoplazmových protilátek (tedy delší trvání latentní toxoplasmózy) se s vyšší pravděpodobností vyskytovaly u pacientů s diagnózou schizofrenie v užším diagnostickém pojetí oproti pacientům s širší diagnózou poruch schizofrenního spektra. Lze se domnívat, že vlastní schizofrenní onemocnění se rozvíjí za spolupůsobení dlouhodobé latentní toxoplazmové infekce. Alternativní výklad uvedeného nálezu (vyšší titry specifických IgG protilátek u akutních psychotických poruch) odkazuje na dříve popsané kasuistiky akutní toxoplasmózy pod obrazem schizofreniformní poruchy, stejně tak jako že ne každá akutní psychotická porucha ústí v definitivní schizofrenní onemocnění.

**Tabulka 11: Částečná Kendallova korelace mezi PANSS skóry a koncentrací anti-Toxoplasma protilátek u Toxoplasma-infikovaných pacientů.**

	Tau všichni	p všichni	Tau muži	p muži	Tau ženy	p ženy
PANSS pozitivní příznaky	-0.188	<b>0.041</b>	-0.197	0.114	-0.199	0.174
PANSS negativní příznaky	0.026	0.774	-0.045	0.717	0.146	0.319
PANSS obecné příznaky	-0.090	0.329	-0.127	0.308	-0.093	0.524
PANSS celkový skór	-0.080	0.384	-0.102	0.412	-0.020	0.890
PANSS distorze reality	-0.157	<b>0.087</b>	-0.141	0.256	-0.167	0.254
PANSS dezorganizace	-0.241	<b>0.009</b>	-0.288	<b>0.021</b>	-0.162	0.266
PANSS psychomotoric. ochuzení	0.027	0.770	-0.050	0.687	0.133	0.364
PANSS 5_negativní	0.018	0.844	-0.064	0.612	0.111	0.448
PANSS 5_pozitivní	-0.198	<b>0.033</b>	-0.195	0.123	-0.159	0.276
PANSS 5_kognitivní	-0.074	0.424	-0.105	0.407	0.010	0.944
PANSS 5_vzrušení	-0.197	<b>0.033</b>	-0.063	0.616	-0.361	<b>0.013</b>
PANSS 5_depresivní	0.038	0.678	0.087	0.491	-0.065	0.656
Krátké/přechodné psychotic.poruchy	0.096	0.291	-0.090	0.457	0.414	<b>0.004</b>

Významné výsledky a trendy ( $p < 0.1$ ) jsou tučně zvýrazněny. Analýza byla kontrolována pro proměnou věk coby matoucí proměnnou (confounder). PANSS 5\_X označuje kompozitní faktory pětifaktorového modelu PANSS škály.

**Obrázek 5: Korelace mezi koncentrací anti-Toxoplasma IgG protilátek a škálou pozitivních příznaků PANSS (nahore), a mezi koncentrací anti-Toxoplasma IgG protilátek a dimenzí dezorganizace škály PANSS (dole).**



Hodnota  $p$  ukazuje hladinu významnosti účinku toxoplazmózy počítanou pomocí GLM.

## 8. Diskuse

V naší práci jsme potvrdili výsledky dosud největší psychopatologické studie čínských autorů (Wang et al, 2006) pokud jde o škálu pozitivních příznaků PANSS a faktor excitace pětifaktorového modelu PANSS. Na rozdíl od čínských kolegů jsme v naší studii nenalezli rozdíly mezi TG nakaženou a nenakaženou skupinou pokud jde o škálu negativních příznaků a kognitivní kompozitní položku pětifaktorového modelu. Naopak jsme zaznamenali u nakažených pacientů vyšší hodnoty položky dezorganizace pětifaktorového modelu. Domníváme se, že jedním z možných vysvětlení uvedených nálezů je rozdíl ve zkoumané populaci pacientů schizofrenního spektra: čínská studie byla prováděná na populaci hospitalizovaných pacientů zatímco náš soubor sociálně fungujících nemocných v určité preselekcii spíše vyloučil nemocné s převahou negativních příznaků, pro které mohlo být náročnější docházet do denního stacionárního programu. Jedním z dalších možných objasňujících faktorů odlišného symptomového profilu byly často opačné trendy v působení toxoplazmové infekce mezi muži a ženami našeho souboru (**Obrázek 4, Tabulka 9, 10**), které odpovídají výsledkům předchozích studií pozorovaného pohlavně odlišného efektu latentní toxoplasmózy (Flegr et al, 1996; Lindová et al, 2006; Lindová et al, 2010) a mohly v celkovém hodnocení oslabovat efekt TG infekce na pohlavně nerozlišený soubor. Podrobnější rozbor odhalil, že podsoubor nakažených mužů vykazoval kromě signifikantně vyšších hodnot celkového PANSS skóru a hodnot na škále pozitivních příznaků, také vyšší hladinu psychopatologie na škále negativních příznaků, distorze reality a dezorganizace PANSS, a v kognitivní kompozitní položce pětifaktorového modelu (**Tabulka 10**). U žen pravděpodobnost diagnózy akutní nebo přechodné psychotické poruchy (kategorie DSM-IV-TR: 295.4; 298.8) vzrůstala s vyšší hladinou anti-TG protilátek, což znamená, že nízké hladiny anti-TG protilátek byly s větší pravděpodobností spojené s diagnózou rozvinuté diagnózy schizofrenie v užším slova smyslu. Statistická souvislost poklesu koncentrace anti-TG protilátek IgG s trváním infekce (Kodym et al, 2007) může naznačovat, že je zapotřebí delší doby k rozvinutí těch forem schizofrenie, na jejichž vzniku se může podílet TG, coby důsledek dlouhodobého působení toxoplazmové infekce. Pozitivní příznaky, příznaky dezorganizace a excitace u pacientů našeho výzkumného souboru negativně korelovaly s koncentrací anti-TG protilátek a podporují hypotézu, že psychopatologie nabývá na závažnosti s délkou působení latentní toxoplasmózy. Alternativním výkladem by bylo vysvětlení, že ne každá akutní forma psychotické poruchy vždy ústí

do schizofrenie v užším slova smyslu. Některé kasuistiky prezentovaly schizofrenní symptomatiku u pacientů s akutní toxoplasmózou a toxoplazmovou encefalitidou u nemocných s HIV (Kramer, 1966; Israelski, Remington, 1988). Příznaky paranoidních a bizarních bludů, sluchových a zrakových halucinací, dezorganizace řeči a poruchy myšlení lze mylně považovat za příznaky schizofrenie nebo schizofrenoformní poruchy (Torrey a Yolken, 2003; Wang et al, 2006). V naší studii u nakažených pacientů převažovaly pozitivní příznaky, příznaky dezorganizace a excitace. Navzdory předchozím nálezům kognitivních poruch u nepsychotické populace (Havlíček et al, 2001) i u schizofrenních pacientů (Boronow et al, 2002) jsme nezaznamenali přesvědčivé kognitivní odchylky u TG nakažených pacientů. Odchylky v psychopatologickém profilu nakažených pacientů samozřejmě mohou odrážet jiné biologické, například morfologické charakteristiky CNS. Do současné doby scházely studie zkoumající strukturální změny CNS u schizofrenních pacientů infikovaných TG. Horáček et al (2011) ve své nedávné studii analyzující CNS vyšetření magnetickou rezonancí zjistil významný pokles objemu šedé hmoty mozkové u nakažených schizofrenních pacientů, zejména v kaudatu, středním cingulu, thalamu a okcipitální kůře oboustranně a levostranně v mozečku.

#### *Klinické a demografické charakteristiky psychotického onemocnění*

Naše studie jako první publikovala souvislost mezi TG infekcí a trváním schizofrenie. Zjistili jsme, že schizofrenie propukla o jeden rok dříve u nakažených mužů a přibližně o tři roky později u nakažených žen v porovnání s nenakaženými pacienty. Vrcholu toxoplazmové sérokonverze dosahuje americká populace mezi 15 a 35 lety (Jackson a Hutchison, 1989) a adolescentní muži bývají nakaženi dříve než ženy (Beverley et al, 1976). Podobně v české populaci se většina osob nakazí do věku 9 let. U žen však vidíme dvojfázový průběh, kdy incidence nákazy TG infekcí narůstá zprvu v ranném dětství a podruhé ve fertilním období žen, tj. mezi 25 a 35 lety (Kodym et al, 2001). Naše výsledky poukazují na časnější rozvoj psychotického onemocnění u mužů a pozdější u žen v porovnání s nenakaženými pacienty našeho souboru.

Hypoteticky předpokládáme existenci alespoň dvou patoplastických procesů: jednoho zcela nezávislého na TG a druhého bezprostředně souvisejícího s trvalou infekcí a komplexní anti-parazitární imunitní odpovědí spojenou s dysregulací dopaminergního a serotonergního neurotransmiterového systému (Hinze-Selch et al,

2007) a s neurodegenerativními změnami. Předpokládáme, že TG nakažení muži rozvíjejí patoplastický proces vázaný na TG infekci dříve a nástup psychotického onemocnění je proto časnější. U žen naopak může pozdější infekce TG přispívat k opoždění nástupu psychotického onemocnění u TG-nakažené podskupiny žen. Mezi nenakaženou podskupinou mužů a nenakaženou podskupinou žen je rozdíl v nástupu onemocnění minimální (**obrázek 4**). Dále jsme zjistili, že u TG nakažených pacientů (a především žen) je psychiatrická hospitalizace stráví delší a jejich průměrná denní dávka antipsychotika nesignifikantně vyšší. Lze se domnívat, že latentní toxoplasmóza u schizofrenie může vést k nepříznivé interakci a komplikovat úzdravu psychotického onemocnění. Dosavadní studie stabilně ukazují, že u žen schizofrenie propuká později a že schizofrenie s pozdním začátkem propuká větší měrou u žen (Hafner, 2003; Howard et al, 2000). Je zapotřebí zdůraznit, že žádná z předchozích studií nesledovala toxoplazmovou nákazu a nelze tedy vyloučit, že k pozorovanému opožděnému nástupu psychotické poruchy u žen kromě dalších faktorů přispívá také toxoplazmová infekce.

#### *Omezení studie*

Velikost vzorku TG nakažených pacientů byla podstatně menší než jsme předpokládali na základě předchozích epidemiologických studií prevalence TG u schizofrenie (Torrey a Yolken, 2003) a promořenosti toxoplazmovou infekcí v české populaci (Kodym et al., 2001). Prevalence TG byla nižší zejména v podsouboru pacientů denního stacionáře. Vysvětlením by mohla být pre-selekce pacientů (vylučující nemocné se závažnější – produktivní i deficitní - psychopatologií nebo nižší úrovní fungování, bohužel kvantifikace pomocí například GAF škály nebyla prováděná). Teoretickým vysvětlením nižšího zastoupení TG pozitivních pacientů denního stacionáře by mohl být koncept „manipulace chování hostitele“ – v tomto případě odrazující nakažené schizofrenní pacienty od absolvování denního stacionáře po propuštění z nemocnice. Víme, že nakažení muži (univerzitní studenti bez schizofrenních příznaků) jsou více podezřívaví oproti nenakaženým mužům (Flegr, 2010). Celkem 40 pacientů (14%) odmítlo sérologické vyšetření krve, nemohli jsme testovat hypotézu o vyšším podílu TG nakažených pacientů se závažnější podezřívavostí nebo jinými schizofrenními příznaky u podskupiny odmítající účast v denním stacionáři. Volba antipsychotika nebo lékové kombinace ovlivňují manifestaci pozitivních příznaků a trvání délky léčby a představují faktor

komplikující interpretaci (confounding factor). Většina našich pacientů užívala antipsychotika druhé generace (**Tabulka 6**). Je známo, že haloperidol a další psychotropní látky inhibovali *in vivo* dělení TG (Jones-Brando et al, 2003) a antipsychotika současně různým způsobem modulují imunitní odpověď (Hinze-Selch et al, 2007) a potenciálně oslabují protiparazitární obranu. Kromě anamnestického dotazníku zjišťujícího přítomnost chronických infekcí nebo imunitně podmíněných onemocnění jsme neprováděli cílená imunologická vyšetření (například vyšetření cytokinů a dalších složek účastných na obraně proti TG). Abnormity a dysregulace imunitního systému u schizofrenních poruch a nálezy zánětlivých markerů (Bayer et al, 2001; Greer et al, 2005) poukazují na to, že protiparazitární imunita sehrává důležitou úlohu a lze předpokládat, že se spolupodílí na míře patogenního působení TG. Jednou z možných hypotéz je také odlišný potenciál jednotlivých antipsychotik zasahovat do metabolismu TG a jejího životního cyklu. Je také známo, že jednotlivé kmeny TG mají odlišný virulentní potenciál s jinými klinickými projevy (Xiao et al, 2009), který však nelze sérologicky odlišit. Studie byla dvojitě slepá s ohledem na sérologický status pacienta. S ohledem na to, že trvala několik let, PANSS škálování prováděli tři psychiatři, kteří byli v rámci jiných studií zaškoleni do standardizovaného používání PANSS škály. Za omezení studie lze pokládat to, že nebyl proveden test shody mezi jednotlivými vyšetřujícími (interrater reliability). Možné odlišnosti ve škálování mezi jednotlivými psychiatry mohl vést k falešně negativním výsledkům v PANSS skórování, nikoliv však k systematickému bias nebo falešně pozitivním výsledkům. Podobně variabilita antipsychotické medikace, imunomodulačních změn navozených TG a virulenci kmenů TG je v tomto typu studie nesnadné kontrolovat, ale všechny tyto proměnné mohou přispívat k variabilitě dat, nikoliv falešnému potvrzení testované hypotézy o vztahu mezi toxoplazmovou séropozitivitou a závažností psychopatologie. Budoucí rozsáhlejší studie by měly mít za cíl kontrolovat uvedené zdroje variability.

K metodologickému omezení studie patří také nemožnost tkáňové cysty přímo morfologicky prokázat *in vivo* a potvrdit tak teoretický předpoklad, že jejich lokalizace v mozkové tkáni schizofrenních pacientů není nahodilá a libovolná, nýbrž že dochází k přednostnímu osídlení a celoživotní perzistenci v určitých favorizovaných mozkových strukturách. Selektivní umístění tkáňových cyst by napomohlo k vysvětlení určitých trendů v psychopatologickém profilu a symptomových „shluků“ u toxoplazmou nakažených schizofrenních pacientů. Pro tvrzení o specifické lokalizaci

tkáňových toxoplazmových cyst však dosud neexistuje ani histopatologický průkaz z pitevních vyšetření mozků schizofrenních pacientů (Conejero-Goldberg et al, 2003). S ohledem na omezenou rozlišovací schopnost současných zobrazovacích metod a nemožnost potvrdit/vyvrátit selektivní CNS lokalizaci tkáňových TG cyst u živých pacientů, opíráme se v našem předpokladu o nepřímé nálezy (přirozený neurotropismus TG a volba „imunoprivilegovaných míst“; selektivní napadání CNS u laboratorních zvířat; preferenční lokalizace tkáňových změn u kongenitální toxoplazmózy; lokalizace oportunní reaktivace toxoplazmové encefalitis u pacientů s HIV; lokalizace extrapineálních kalcifikací u TG-pozitivních zdravých dobrovolníků vyšetřených Rtg; lokalizace úbytku šedé mozkové hmoty u TG-pozitivních schizofrenních pacientů oproti nenakaženým v MRI).

Studie byla také limitovaná nemožností ověřit skutečnou dobu trvání schizofrenie (trvání neléčené psychózy) před prvním kontaktem s psychiatrickými službami a při výpočtech jsme byli odkázáni na věk pacientů v době první hospitalizace.

## **9. Závěry**

Pacienti s poruchou schizofrenního spektra nakažení TG vykazovali výraznější pozitivní příznaky, příznaky dezorganizace a excitace. Negativní korelace mezi závažností pozitivních příznaků a příznaků dezorganizace a nízkých titrů anti-TG protilátek podporují hypotézu o kumulativním efektu chronické toxoplazmové infekce na individuální psychopatologii. Experimentální část práce nepotvrdila predikci kognitivních změn u schizofrenních pacientů nakažených TG. Důležitým poznatkem se ukázala souvislost TG infekce s nástupem schizofrenního onemocnění a s délkou indexové hospitalizace. Závažnost příznaků narůstá s trváním infekce, což svědčí pro to, že toxoplazmová infekce modifikuje podobu psychopatologie spíše než závažnost příznaků ovlivňuje pravděpodobnost nákazy TG infekcí. Pohlavní rozdíly v nástupu a trvání psychotického onemocnění a odlišnosti v léčebné odpovědi také naznačují, že TG může u některých forem schizofrenie působit jako modifikátor symptomového projevu nebo nezávislý rizikový faktor. Delší trvání hospitalizace TG nakažených pacientů vede k úvahám o přímých ročních finančních nákladech na léčbu schizofrenie.

Celá řada otázek toxoplazmového výzkumu zůstává nadále nezodpovězených a budoucí výzkum by se měl zaměřit na podrobnější a úplnější pochopení patogenetických mechanismů latentní toxoplazmózy, roli imunitních procesů a také

identifikace protektivních faktorů, k nimž patří například Rh faktor, který vykazuje pozoruhodné a nadějně ochranné vlastnosti proti toxickým vlivům *Toxoplazmy* (Flegr et al., 2008, 2009; Novotná et al., 2008). Bude zapotřebí také ověřit, zda podobně jako v animálních modelech osidluje TG specifické preferenční lokalizace v CNS nebo zda je neurotropismus TG neselektivní.

Přestože není latentní toxoplasmóza léčitelná, jeví se jako oprávněné nasadit anti-TG léčbu v akutních i pozdních stádiích psychotického onemocnění coby augmentaci standardní antipsychotické léčby (Dickerson et al, 2009; Shibre et al, 2009) nebo využití schopnosti antipsychotik a antimanických preparátů inhibovat růst a množení TG (Leweke et al, 2004; Jones-Brando et al, 2003; Webster et al, 2006) k ovlivnění průběhu onemocnění zejména v akutní fázi. Modulace protitoxoplazmové imunity rovněž vyžaduje další pozornost a pochopení toho, jak lze zlepšit průběh schizofrenního onemocnění nebo předejít rozvoji jeho chronických forem (Hinze-Selch et al, 2007). Naše studie potvrzuje, že výzkum dlouhodobého efektu latentní toxoplasmózy u schizofrenie si zaslouží větší pozornost. Je zapotřebí vyloučit, zda TG nepřispívá k horším léčebným výsledkům, nezvyšuje riziko relapsu, rezistenci k léčbě, nedostatečné compliance nebo horšímu psychosociálnímu fungování. Změny spojené s latentní toxoplasmózou v rámci schizofrenního onemocnění by mohly být podkladem rozhodnutí zařadit sérologické vyšetření anti-TG protilátek IgG mezi základní vyšetření, zohlednit léčebné strategie a asertivněji zavést edukativní a preventivní opatření.



## 10. Použitá literatura

Amminger GP, McGorry PD, Berger GE, Wade D, Yung AR, Phillips LJ, Harrigan SM, Francey SM, Yolken RH. Antibodies to infectious agents in individuals at ultra-high risk of psychosis. *Biol Psychiatry* 2007; 61(10):1215-7.

Amori L, Wu HQ, Marinozzi M, Pellicciari R, Guidetti P, Schwarcz R. Specific inhibition of kynurenate synthesis enhances extracellular dopamine levels in the rodent striatum. *Neuroscience* 2009; 159:196–203.

Arling T, Yolken RH, Lapidus M, Langenberg P, Dickerson FB, Zimmerman SA, Balis T, Cabassa JA, Scrandis DA, Tonelli LH, Postolache TT. *Toxoplasma gondii* antibody titres and history of suicide attempts in patients with recurrent mood disorders. *J Nerv Ment Dis* 2009; 197:905–908.

Bachmann S, Schröder J, Bottmer C, Torrey EF, Yolken RH. Psychopathology in First-Episode Schizophrenia and Antibodies to *Toxoplasma gondii*. *Psychopathology* 2005; 38:87-90.

Bayer TA et al. Review of Immunological and Immunopathological Findings in Schizophrenia. *Brain, Behavior, and Immunity* 2001; 15 :319-339.

Berdoy M, Webster JP, Macdonald DW. Parasite altered behaviour: is the effect of *Toxoplasma gondii* on *Rattus norvegicus* specific? *Parasitology* 1995; 111:403–409.

Berdoy M, Webster JP, Macdonald DW. Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc R Soc Lond, Ser B Biol Sci* 2000; 267:1591–1594.

British National Formulary. *British National Formulary number 59*. London: British Medical Association and Royal Pharmaceutical Society of Great Britain; 2010.

Brown AS, Schaefer CA, Quesenberry CP, Liu L, Babulas V, Susser ES. Maternal exposure to toxoplasmosis and risk of schizophrenia in adult offspring. *Am J Psychiatry* 2005; 162:767-773.

Brown AS, Patterson PH. Maternal Infection and Schizophrenia. Implications from Prevention. *Schizophr Bull* 2011; 37(2):284-290.

Carruthers VB, Suzuki Y. Effects of *Toxoplasma gondii* infection on the brain. *Schizophr Bull* 2007; 33:745–751.

Conejero-Goldberg C, Torrey EF, Yolken RH. Herpesviruses and *Toxoplasma gondii* in orbital frontal cortex of psychiatric patients. *Schizophr Res* 2003; 60:65–69.

Cotter DR, Pariante CM, Everall IP. Glial cell abnormalities in major psychiatric disorders: the evidence and implications. *Brain Res Bull* 2001; 55:585–95.

Couvreur J, Desmons G. *Toxoplasmosis, Parasitic Infections in Pregnancy and the Newborn*, Edited by MacLeod C., Oxford University Press 1988; 112-142.

Creuzet C, Robert F, Roisin MP, Van Tan H, Benes C, Dupouy-Camet J, et al. Neurons in primary cultures are less efficiently infected by *Toxoplasma gondii* than glial cells. *Parasitol Res* 1998; 84:25–30.

Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9:46–56.

Di Cristina M, Marocco M, Galizi R, Proietti C, Spaccapelo R, Crisanti A. Temporal and spatial distribution of *Toxoplasma gondii* differentiation into bradyzoites and tissue cyst formation in vivo. *Infect Immun* 2008; 76:3491–3501.

Dickerson F, Stallings C, Origoni A, et al. Increased prevalence of antibodies to *Toxoplasma* in recent onset psychosis. *Schizophr Bull* 2009; 35(Suppl 1):75-76.

Doyle C, Deakin JFW. Fewer astrocytes in frontal cortex in schizophrenia, depression and bipolar disorder. *Schizophr Res* 2002; 53:106.

Dubey JP, and Frenkel JK. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. J Protozool 1976; 23:537-546.

Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. Clin Microbiol Rev Apr 1998; 267-299.

Fekadu A, Shibre T, Cleare AJ. Toxoplasmosis as a cause for behaviour disorders – overview of evidence and mechanisms. Folia Parasitol 2010; 57:105–113.

Flegr J, Zitková S, Kodym P, Frynta D. Induction of changes in human behaviour by the parasitic protozoan *Toxoplasma gondii*. Parasitology 1996; 113:49-54.

Flegr J, Havlicek J, Kodym P, Maly M, Smahel Z. Increased risk of traffic accidents in subjects with latent toxoplasmosis: a retrospective case-control study, BMC Infectious Diseases 2002; 2:1-6.

Flegr J, Preiss M, Klose J, Havlíček J, Vitáková M, Kodym P. Decreased level of psychobiological factor novelty seeking and lower intelligence in men latently infected with the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*. Dopamine, a missing link between schizophrenia and toxoplasmosis? Biol Psychol 2003; 63:253-268.

Flegr J, Hrdá S, Kodym P. Influence of latent asymptomatic toxoplasmosis on body weight of pregnant women. Folia Parasitol 2005; 52:199-204.

Flegr J. Effects of *Toxoplasma* on human behaviour. Schizophr Bull 2007; 33:757–760.

Flegr J, Lindová J, Kodym P. Sex-dependent toxoplasmosis-associated differences in testosterone concentration in humans. Parasitology 2008; 135:427–431.

Flegr J, Novotná M, Lindová J, Havlíček J. Neurophysiological effect of the Rh factor. Protective role of the RhD molecule against *Toxoplasma*-induced impairment of reaction times in women. Neuroendocrinology Letters 2008; 29(4):475-481.

Flegr J, Kloze J, Novotná M, Berenreitterová M, Havlíček J. 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 2009; Dis 9:e72.

Flegr J. Influence of latent toxoplasmosis on the phenotype of intermediate hosts. Folia Parasitol 2010; 57:81-87.

Gaskell EA, Smith JE, Pinney JW, Westhead DR, McConkey GA. A unique dual activity amino acid hydroxylase in *Toxoplasma gondii*. PLoS One 2009; 4(3):e4801.

Gendelman HE, Grant I, Everall IP, Lipton SA, Swindells S. (Eds.) The Neurology of AIDS. Opportunistic infections of the nervous system in AIDS. London: Oxford University Press, 2nd edition 2005; 509.

Gonzalez LE, Rojnik B, Urrea F, Urdaneta H, Petrosino P, Colasante C, Pino S, Hernandez L. *Toxoplasma gondii* infection lower anxiety as measured in the plus-maze and social interaction tests in rats. A behavioral analysis. Behav Brain Res 2007; 177:70–79.

Greer JM et al. Immune dysregulation and self-reactivity in schizophrenia: Do some cases of schizophrenia have an autoimmune basis? Immunology and Cell Biology 2005; 83(1):9-17.

Gu H, Yolken RH, Phillips M, et al. Evidence of *Toxoplasma gondii* infection in recent-onset schizophrenia. Schizophr Res 2001 ;49:53.

Hafner H. Gender differences in schizophrenia. Psychoneuroendocrinology 2003; 28 (suppl 2):17 – 54.

Halonen SK, Lyman WD, Chiu FC. Growth and development of *Toxoplasma gondii* in human neurons and astrocytes. J Neuropathol Exp Neurol 1996; 55:1150-6.

Hanzlíček L. Podíl toxoplazmózy v psychiatrii. Doktorská dizertační práce. Praha, VÚPs, 1962; 15.

Havlík J et al. Infektologie, učebnice pro lékařské fakulty. Avicenum: Praha 1990; 345-7.

Hermes G, Ajioka JW, Kelly KA, et al. Neurological and behavioral abnormalities, ventricular dilatation, altered cellular functions, inflammation, and neuronal injury in brains of mice due to common, persistent, parasitic infection. *Journal of Neuroinflammation* 2008 doi:10.1186/1742-2094-5-48.

Hinze-Selch D, Däubener W, Erdag S, Wilms S. The diagnosis of a personality disorder increases the likelihood for seropositivity to *Toxoplasma gondii* in psychiatric patients. *Folia Parasitol* 2010; 57:129–135.

Hofgärtner WT, Swanzy SR, Bacina RM, et al. Detection of Immunoglobulin G (IgG) and IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii*: Evaluation of Four Commercial Immunoassay Systems. *J Clin Microbiol* 1997; 35(12):3313–3315.

Holliman RE. Toxoplasmosis, behavior and personality. *J Infect* 1997; 35:105–110.

Holub D, Motlová L, Rodriguez M, Preiss M, Čermák J, Libiger J. *Toxoplasma gondii* u schizofrenie. [(*Toxoplasma gondii* in Schizophrenia.) (In Czech with English abstract)] *Psychiatrie* 2006a; 10(2):81-87.

Holub D, Motlová L, Rodriguez M, Dragomirecká E, Preiss M, Čermák J, Ungermanová M, Nechutná R, Kaňková Š. Postnatal latent toxoplasmosis in schizophrenia: Cognitive and psychopathological Correlates. *Psychiatrie* 2006b; 10 (Suppl 3): 66-70.

Holub D, Motlová L, Dragomirecká E, Novák T, Čermák J, Rodriguez M, Preiss M, Ungermanová M, Panochová A, Flegr J. Vigilance/sustained attention abnormalities in subjects with latent toxoplasmosis. *Psychiatrie* 2008; 12 (suppl. 3):10-16.

Horáček J, Flegr J, Tintěra J, Verebová K, Španiel F, Novák T, Brunovský M, Bubeníková-Valešová V, Holub D, Páleníček T, Höschl C. Latent toxoplasmosis reduces gray matter density in schizophrenia but not in controls. Voxel-based-morphometry (VBM) study. *W J Biol Psychiatr* 2011 (doi:10.3109/15622975.2011.573809).

Höschl C, Balon R. Výsledky psychiatrického vyšetřování nemocných toxoplasmosou. *Čas Lék čes* 1980;119:366-68.

Howard R, Rabins PV, Seeman MV et al. Late-Onset Schizophrenia and Very-Late-Onset Schizophrenia-Like Psychosis: An International Consensus. *Am J Psychiatry* 2000; 157:172-178.

Hung GBK. A Comparison of Two Methods for Calculating Total Antipsychotic Dose. *Hong Kong J Psychiatr* 2007; 17:87-90.

Hutchison WM, Dunachie JF, Siim JC, Work K. Life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Br Med J* 1969; 4(5686):806.

Hutchison WM, Dunachie JF, Work K, Siim JC. The life cycle of the Coccidian parasite, *Toxoplasma gondii*, in the domestic cat. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1971; 65:380-399.

Israelski DM, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS. *Infect Dis Clin North Am* 1988; 2:429–445.

Janků, J. Pathogenesa a patologická anatomie tak nazvaného vrozeného kolobomu žluté skvrny v oku normálně velikém, mikrophthalmickém s nálezem parazitu v sítnici. *Čas Lek Čes* 1923; 39-43:1021-1027, 1054-1059, 1081-1085, 1111-1115, 1138-1143.

Jírovec O, Jíra J, Fuchs V, Peter R. Studien mit dem Toxoplasmintest. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene* (1. orig) 1957;169:129–59.

Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M, McQuillan G, Navin T, McAuley JB. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. *Am J Epidemiol* 2001; 154:357-365.

Jones J, Lopez A, Wilson M. Congenital Toxoplasmosis. *American Family Physician* 2003; 67:2131-2138.

Jones-Brando L, Torrey EF, Yolken R. Drugs used in the treatment of schizophrenia and bipolar disorder inhibit the replication of *Toxoplasma gondii*. *Schizophr Res* 2003; 62:237-44.

Jones JL, Dargelas V, Roberts J, Press C, Remington JS, Montoya JG. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in the United States. *Clin Infect Dis* 2009; 49(6):878-84.

Kaňková Š. Vliv latentní toxoplasmózy na průběh těhotenství. Diplomová práce, Česká přírodovědná bibliotéka, Praha. 2005.

Kirch DG. Infection and autoimmunity as etiologic factors in schizophrenia: A review and reappraisal. *Schizophr Bull* 1993;19:355-70.

Kocazeybek B, Oner YA, Turksoy R, Babur C, Cakan H, Sahip N, Unal A., Oza slan A., Kilic S, Saribas S, Asian M, Taylan A, Koc S, Dirican A, Uner HB, Oz V, Ertekin C, Kucukbasmaci O, Torun MM. Higher prevalence of toxoplasmosis in victims of traffic accidents suggest increased risk of traffic accident in *Toxoplasma*-infected inhabitants of Istanbul and its suburbs. *Forensic Sci Int* 2009; 187:103-108.

Kodym P, Malý M, Švandová E, et al. Toxoplasmosis in the Czech Republic 1923 - 1999: First case to widespread outbreak. *Int J Parasitol*. 2001; 31:125-132.

Kodym P, Machala L, Roháčová H, Širocká B, Malý M. 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*. 2007; 13:40-47.

Kolář J, Švarzberger F, Anton J, Jíra J, Jírovec O, Bozděch V. Vztah mezi intrakraniálními kalcifikacemi a diagnostickými testy na toxoplazmózu. *Čs Radiol* 1969; 4(23):145-153.

Krejsek J, Kopecký O. Klinická imunologie. Nucleus Hradec Králové 2004; 534-540.  
Lafferty KD. Can the common brain parasite, *Toxoplasma gondii*, influence human culture? *Proc R Soc Lond Ser B Biol Sci* 2006; 273:2749–2755.

Leweke FM, Gerth CW, Koethe D, Klosterkötter J, Ruslanova I, Krivogorsky B, et al. Antibodies to infectious agents in individuals with recent onset schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2004; 254:4-8.

Li QY, Luo XN, Li L, Tong F. [Comparative study on *Toxoplasma* infection in patients with schizophrenia and affective disorder. *Med J Wuhan Univ (In Chinese)*] 1999; 20:222-223.

Lindenmayer JP, Grochowski S, Hyman RB. Five-factor model of schizophrenia: replication across samples. *Schizophr Res* 1995; 14:229-234.

Lindová J, Novotná M, Havlíček J, et al. Gender differences in behavioural changes induced by latent toxoplasmosis. *Int. J. Parasitol* 2006; 36:1485–1492.

Lindová J, Kuběna AA, Šturcová A, Křivohlavá R, Novotná M, Rubešová A, Havlíček J, Kodým P, Flegr J. Pattern of money allocation in experimental games supports the stress hypothesis of gender differences in *Toxoplasma gondii*-induced behavioural changes. *Folia Parasitol* 2010; 57:136–142.

Medková Z. Imunologie toxoplazmózy. XII. Konference Problémy toxoplazmózy. Národní referenční laboratoř pro toxoplazmózu Centra epidemiologie a mikrobiologie Státního zdravotního ústavu, 13. prosince 2006.

Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet* 2004; 363(9425):1965–1976.



Mortensen PB, Norgaard-Pedersen B, Waltoft BL et al. *Toxoplasma gondii* as a risk factor for early-onset schizophrenia: analysis of filter paper blood samples obtained at birth. *Biol Psychiatry* 2007; 61:688-693.

Menninger KA. Influenza and schizophrenia. An analysis of post-influenzal "dementia praecox" as of 1918, and five years later. *Am J Psychiatr* 1926; 5:469.

Niebuhr DW, Millikan AM, Cowan DN, Yolken R, Li Y, Weber NS. Selected infectious agents and risk of schizophrenia among U.S. Military personnel. *Am J Psychiatry* 2008; 165:99–106.

Novotná M, Hanušová J, Klose J, Preiss M, Havlíček J, Roubalová K, Flegr J. Probable neuroimmunological link between *Toxoplasma* and cytomegalovirus infections and personality changes in the human host. *BMC Infect Dis* 2005; 5:e54.

Novotná M, Havlíček J, Smith AP, Kolbeková P, Skallová A, Klose J, Gašová Z, Písacka M, Sechovská M, Flegr J. *Toxoplasma* and reaction time: Role of toxoplasmosis in the origin, preservation and geographical distribution of Rh blood group polymorphism. *Parasitology* 2008, 135:1253-1261.

Nutter FB, Dubey JP, Levine JF, Breitschwerdt EB, Ford RB, Stoskopf MK. Seroprevalences of antibodies against *Bartonella henselae* and *Toxoplasma gondii* and fecal shedding of *Cryptosporium spp*, *Giardia spp*, and *Toxocara cati* in feral and pet domestic cats. *J Am Vet Med Assoc* 2004; 225:1394-1398.

Ondriska F, Jalili N, Čatár G. The diagnostic procedures in toxoplasmosis. *Bratisl Lek Listy* 2000; 101(5):294-301.

Peterson PK, Gekker G, Hu S, Chao CC. Intracellular survival and multiplication of *Toxoplasma gondii* in astrocytes. *J Infect Dis* 1993; 168:1472–1478.

Petrovický O, Vojtěchovský M. Klinický obraz získané toxoplazmosy z neurologického a psychiatrického hlediska. *Čas Lék Čes* 1955; 94:1-10.

Qiuying L, Xiaonian L, Li L, et al. The control study of schizophrenia and affective disorders and *Toxoplasma* infections. *Acta Academiae Medicinae Hubei* 1999; 20:223–5.

Remington JS, Thulliez P, Montoya JG. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J Clin Microb* 2004; 42(3):941-945.

Remington JS, Klein JO. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. 2006; 6th Philadelphia, PA: Elsevier Saunders.

Schwarcz R, Hunter CA. *Toxoplasma gondii* and schizophrenia: linkage through astrocyte-derived kynurenic acid? *Schizophr Bull* 2007; 33:652–653.

Seifertová D, Praško J, Horáček J, Höschl C (Ed.). *Postupy v léčbě psychických poruch*, 2. vydání. Praha: Academia Medica Pragensis, 2008.

Skallová A, Novotná M, Kolbeková P, Gašová Z, Veselý V, Sechovská M, Flegr J. Decreased level of novelty seeking in blood donors infected with *Toxoplasma*. *Neuroendocrinol Lett* 2005; 26:480–486.

Skallová A, Kodým P, Frynta D, Flegr J. The role of dopamine in *Toxoplasma*-induced behavioural alterations in mice: an ethological and ethopharmacological study. *Parasitology* 2006; 133:1–11.

Song C, Lin AH, Kenis G, Bosmans E, Maes M. Immunosuppressive effects of clozapine and haloperidol: enhanced production of the interleukin-1 receptor antagonist. *Schizophr Res* 2000; 42:157–164.

Stibbs HH. Changes in brain concentrations of catecholamines and indoleamines in *Toxoplasma gondii* infected mice. *Ann Trop Med Parasitol* 1985; 79:153–157.

Strhársky J, Maďarová L, Klement C. Laboratorná diagnostika toxoplasmózy. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2009; 58(2):51-52.

Su L, Wei D, Xiaoqi H, Lijun J, et al. Association of Cerebral Deficits With Clinical Symptoms in Antipsychotic-Naive First-Episode Schizophrenia: An Optimized Voxel-Based Morphometry and Resting State Functional Connectivity Study. *Am J Psychiatr* 2009; 166(2):196-206.

Torrey EF, Yolken RH. Could schizophrenia be a viral zoonosis transmitted from house cats? *Schizophr Bull* 1995; 21:167–71.

Torrey EF, Rawlings R, Yolken RH. The antecedents of psychoses: a case-control study of selected risk factors. *Schizophr Res* 2000; 46:17–23.

Torrey EF, Yolken RH. *Toxoplasma gondii* and schizophrenia. *Emerg Infect Diseases*. 2003; 9:1375-1380.

Torrey EF, Bartko JJ, Lun ZR, Yolken RH. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Bull* 2007; 33:729–736.

Unno A, Suzuki K, Xuan X, Nishikawa Y, Kitoh K, Takashima Y. Dissemination of extracellular and intracellular *Toxoplasma gondii* tachyzoites in the blood flow. *Parasitol Int* 2008; 57:515–518.

van der Gaag M, Cuijpers A, Hoffman T, et al. 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* 2006a; 85:273 -279.

van der Gaag M, Hoffman T, Remijsen M, et al. The five-factor model of the Positive and Negative Syndrome Scale II: a ten-fold cross-validation of a revised model. *Schizophr Res* 2006b; 85:273 -279.

Vavřinová R. Vliv latentní toxoplazmózy matky na postnatální vývoj potomků. Diplomová práce, Česká přírodovědná bibliotéka, Praha. 2006.

Vojtěchovská M, Vojtěchovský M, Petruš M. Některé parazitologické problémy u duševně nemocných. *Čas Lék Čes* 1956; 95:559–66.

Vyas A, Kim SK, Sapolsky RM. The effects of *Toxoplasma* infection on rodent behavior are dependent on dose of the stimulus. *Neuroscience* 2007; 148:342–348.

Walker M, Zunt JR. Parasitic central nervous system infections in immunocompromised hosts. *Clin Infect Dis* 2005; 40:1005-1015.

Wang HL, Wang GH, Li QY, Shu C, Jiang MS, Guo Y. Prevalence of *Toxoplasma* infection in first-episode schizophrenia and comparison between *Toxoplasma*-seropositive and *Toxoplasma*-seronegative schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand* 2006; 114:40-48.

Webster JP, Lamberton PH, Donnelly CA, Torrey EF. Parasites as causative agents of human affective disorders? The impact of anti-psychotic, mood-stabilizer and antiparasite medication on *Toxoplasma gondii*'s ability to alter host behaviour. *Proc R Soc Lond [Biol]* 2006; 273:1023–1030.

Webster JP. The effect of *Toxoplasma gondii* on animal behavior: playing cat and mouse. *Schizophr Bull* 2007; 33:752–756.

Webster JP, McConkey GA. *Toxoplasma gondii*-altered host behaviour: clues as to mechanism of action. *Folia Parasitol* 2010; 57:95–104.

Werner H, Masihi KN, Senk U. Latent *Toxoplasma* infection as a possible risk factor for CNS disorders. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg I Abteilung Originale A* 1981; 250:368–375.

Whitford TJ, Farrow TF, Gomes L, Brennan J, Harris AW, Williams LM. Grey matter deficits and symptom profile in first episode schizophrenia. *Psychiatry Res* 2005; 139:229-238.

Yereli K, Balcioglu IC, Ozbilgin A. Is *Toxoplasma gondii* a potential risk for traffic accidents in Turkey? *Forensic Sci Int* 2006; 163:34–37.

Yolken RH, Bachmann S, Rouslanova I, Lillehoj E, Ford G, Torrey EF, Schroeder J. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in individuals with first-episode schizophrenia. *Clinical Infectious Diseases* 2001; 32:842-844.

Yolken RH, Torrey EF. Infectious agents and gene-environmental interactions in the aetiopathogenesis of schizophrenia. *Clin Neurosci Res.* 2006; 6:97–109.

Yolken RH, Torrey EF. Are some cases of psychosis caused by microbial agents? A review of the evidence. *Mol Psychiatry.* 2008; 13:470–479.

Yolken, R. Research Links Parasite In Cats To Mental Illness. Radio Interview with prof. Robert Yolken, Weekend All Things Considered, 19. června 2010. Washington, D.C.: National Public Radio.

Yuksel P, Alpay N, Babur C, et al. The role of latent toxoplasmosis in the aethiopathogenesis of schizophrenia – the risk factor or an indication of a contact with cat? *Folia Parasitol* 2010; 57:121-128.

Zimmer C. Vládce parazit. Pohled do světa nejnebezpečnějších tvorů planety. Praha: Paseka. 2005.

## 11. Příloha A – publikace relevantní k předkládané výzkumné práci

1. **Holub D**, Motlová L, Rodriguez M, Preiss M, Čermák J, Libiger J. *Toxoplasma gondii* u schizofrenie. *Psychiatrie* 2006; 10(2): 81-87.

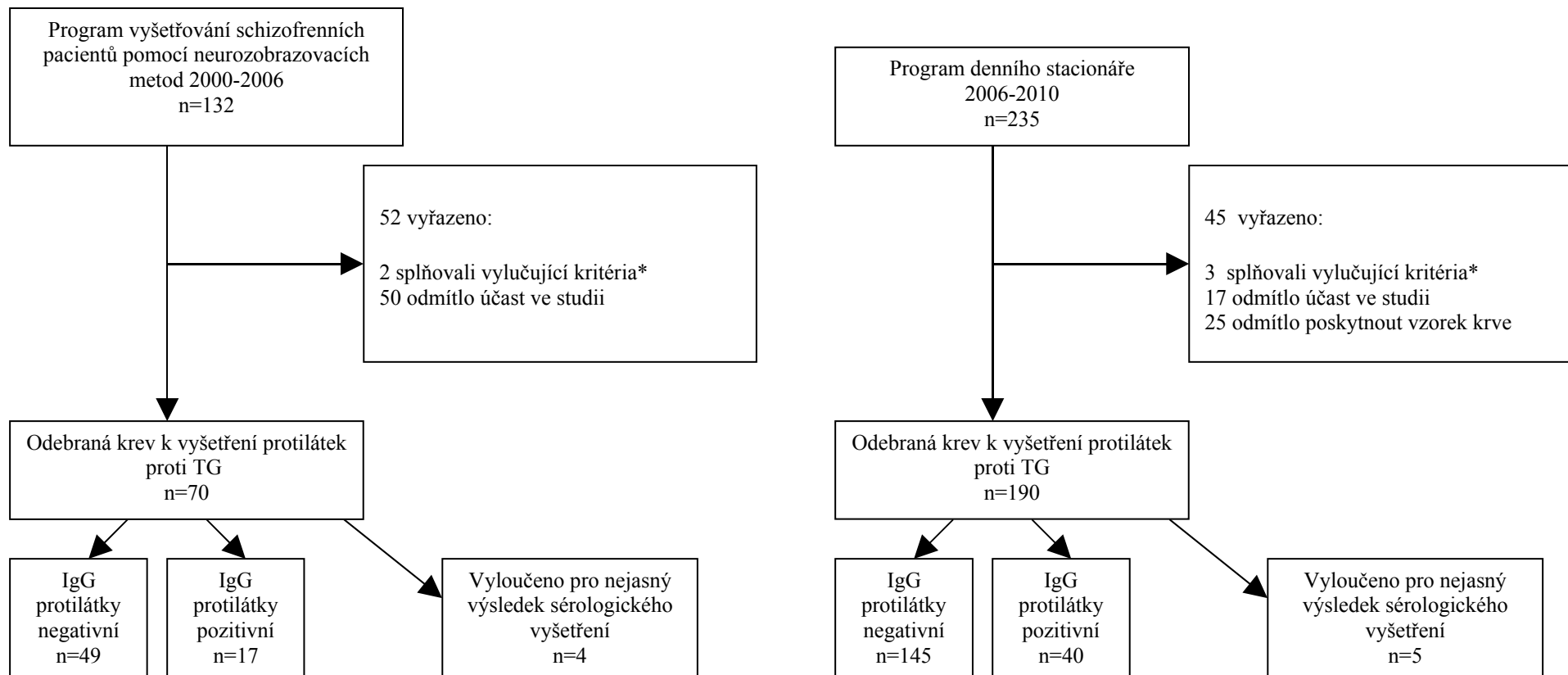
2. **Holub D**, Motlová L, Rodriguez M, Dragomirecká E, Preiss M, Čermák J, Ungermanová M, Nechutná R, Kaňková Š. Postnatal latent toxoplasmosis in schizophrenia: Cognitive and psychopathological Correlates. *Psychiatrie* 2006; 10 (Suppl 3): 66-70.

3. **Holub D**, Motlová L, Dragomirecká E, Novák T, Čermák J, Rodriguez M, Preiss M, Ungermanová M, Panochová A, Flegr J. Vigilance/sustained attention abnormalities in subjects with latent toxoplasmosis. *Psychiatrie* 2008; 12 (suppl. 3): 10-16.

4. Horacek J, Flegr J, Tintera J, Verebova K, Spaniel F, Novak T, Brunovsky M, Bubenikova-Valesova V, **Holub D**, Palenicek T, Höschl C. Latent toxoplasmosis reduces gray matter density in schizophrenia but not in controls. Voxel-based-morphometry (VBM) study. *W J Biol Psychiatr* 2011, doi:10.3109/15622975.2011.573809).

## 12. Příloha B – obrázek vztahující se k textu

Obrázek 3: Postup při výběru pacientů a vylučující kritéria (flow diagram)



\*Vylučující kritéria tvořilo zneužívání psychoaktivních látek (303.x, 304.x, 305.x; DSM-IV-TR), neurologické poruchy, imunodeficitní stavy a všechny poruchy, které narušují výkon v PC testu (např. zrakové poruchy)