

# Biologické markery schizofrenie – stručný přehled a některé aktuální poznatky

**prof. MUDr. Ladislav Hosák, Ph.D.**

Psychiatrická klinika, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Biomarker je charakteristika, která je objektivně měřitelná a hodnotitelná jako indikátor fyziologických biologických procesů, chorobných procesů nebo léčebné odpovědi. Může být definován na úrovni molekulární, buněčné, orgánové nebo systémové. Z hlediska svého zaměření se biomarkery dělí na diagnostické, prediktivní, terapeutické, preventivní či profylaktické. Biomarker je tedy biologický indikátor, který by nám měl pomoci správně předvídat, diagnostikovat, léčit a předcházet danému onemocnění. V případě schizofrenie není v současné době k dispozici žádný biomarker, který by byl využitelný v rámci běžné klinické praxe. Nyní probíhá intenzivní výzkum, jako nadějně se jeví potenciální biomarkery v oblasti genetiky, epigenetiky, metabolomiky, elektrofyzologie a imunologie. Schizofrenie je onemocnění komplexní, bude třeba hledat „panely“ biomarkerů, nikoliv ojedinělé nálezy.

**Klíčová slova:** schizofrenie, biomarker, diagnostika, léčba.

## Biomarkers of schizophrenia – a brief review and the recent knowledge

Biomarker is a characteristic which is objectively measurable and assessable as the indicator of physiological biological processes, disease pathophysiology or treatment response. It may be defined at the molecular, cellular, organ or systemic levels. Biomarkers are divided into diagnostic, predictive, therapeutic, preventative and prophylactic ones. Thus, biomarker is an indicator which should help us correctly predict, diagnose, treat and prevent a given disease. In case of schizophrenia, no biomarker which can be applied in a routine clinical practice is recently available. An intensive research is going on, potential biomarkers in the field of genetics, epigenetics, metabolomics, electrophysiology and immunology seem to be promising. Schizophrenia is a complex disease, „panels“ of biomarkers instead of individual isolated findings should be sought for.

**Key words:** schizophrenia, biomarker, diagnostics, treatment.

## Biologický marker (biomarker)

Dle Pracovní skupiny pro definování biomarkerů při Národním ústavu zdraví ve Spojených státech „biomarker je charakteristika, která je objektivně měřitelná a hodnotitelná jako indikátor fyziologických biologických procesů, chorobných procesů nebo léčebné odpovědi“. Biomarker může být definován na úrovni molekulární, buněčné, orgánové nebo systémové. Měl by zvýšit naše znalosti biologických mechanismů daného onemocnění. Biomarker by měl být validní (platný vzhledem ke skutečnosti), reliabilní (asociován s danou diagnózou), plausibilní (etiopatogeneticky srozumitelný), re-

produkovatelný (při opakovaném hodnocení), senzitivní (úspěšný v zachycování přítomnosti sledovaného stavu) a specifický (úspěšný v odhalování nepřítomnosti sledovaného stavu), častý v populaci nemocných a měl by mít vysokou effect size (velikost svého účinku). Aby byl daný biomarker uplatnitelný v běžné klinické praxi, jeho senzitivita a specifita by měly dosahovat alespoň hodnot 0,85–0,90 (1). Z hlediska svého zaměření se biomarkery dělí na diagnostické, prediktivní, terapeutické, preventivní či profylaktické. Biomarkery bývají alternativně označovány v literatuře jako intermediární fenotyp, endo-fenotyp, náhradní příznak nebo časný marker

léčebné odpovědi. Konkrétně u schizofrenie by biomarker měl také pomoci řešit její patofyziologickou a klinickou heterogenitu (2). Stručně shrnuto – biomarker je biologický indikátor, který by nám měl pomoci správně předvídat, diagnostikovat, léčit a předcházet danému onemocnění.

## Poznatky o biologických markerech schizofrenie na počátku našeho století

Pracovní skupina Světové federace společností biologické psychiatrie (WFSBP) v roce 2009 publikovala konsenzuální přehled diagnostických markerů schizofrenie (3). Bylo zahrnuto

226 původních vědeckých prací z této oblasti. Ty se týkaly například dopaminu, glutamátu, kyseliny gama-aminomáselné, genetiky, genové exprese, neuroanatomie, neurofyziologie, neurokognice, neuromotoriky, neuroimunologie a mozkomíšního moku. Autoři závěrem konstatovali, že v současné době není k dispozici žádný dostatečně specifický a senzitivní biologický marker schizofrenie, který by mohl sloužit diagnostickým účelům.

Obdobně Prata et al. (4) o pět let později uvedli, že navzdory padesáti letům výzkumu nebyly doposud nalezeny žádné biomarkery, které by byly využitelné při diagnostice nebo léčbě schizofrenie. Biomarkery předpokládané v současnosti nejsou dostatečně validizovány, projevuje se jednoznačná publikační systémová chyba (přednostně jsou publikovány studie s pozitivními nálezy) a terminologie v dané oblasti je zmatená. Jako statisticky nejnadějnější biomarker u schizofrenie včetně její terapie se jeví být alela C bodového (SNP) polymorfismu 6672G/C genu hlavního histokompatibilního komplexu HLA-DQB1, která predikuje riziko agranulocytózy po klopazinu (OR 16,8 pro CC vs CG + GG). Klopazin se podává téměř výhradně u schizofrenie. Senzitivita uvedeného biomarkery je však velmi nízká, pouze 21,5 %, což se pro používání v běžné klinické praxi nejeví jako dostatečné.

## Nové poznatky

Mirzakhanián a spolupracovníci (2) se domnívají, že nejnadějnější jsou a budou výsledky výzkumu biomarkerů schizofrenie v oblasti genetiky, zobrazování mozku, neuroendokrinologie, patofyziologie zánětu, elektrofyziologie a neurokognice. Uvádějí, že většina výzkumu byla doposud orientována na hledání jediného biomarkery schizofrenie („one fits all approach“), avšak tato strategie se neukázala být plodná. Mnohem přínosnější bude hledání kombinací různých biomarkerů, které by mohly být využity v diagnostice, léčbě nebo prevenci daného onemocnění.

Jedním z inovativních přístupů je hledání biomarkerů schizofrenie v oblasti epigenetiky. Aberg et al. (5) v rámci celomethylomové asociční studie (Methylome-Wide Association Study; MWAS) vyšetřili 759 nemocných schizofrenií a 738 zdravých dobrovolníků ve Švédsku. Jako hodnocená tkáň byla použita směs krevních tělísek, červených a bílých krvinek, jelikož ob-

dobný výzkum na mozkových neuronech in vivo provádět nelze. Vyšetřována byla methylace CpG ostrůvků DNA na 68 000 000 místech u každého výzkumného subjektu. Pokud je gen v oblasti promotoru methylován, obvykle je potlačována jeho exprese, a tím i tvorba výsledného proteinu. Statisticky významný rozdíl mezi nemocnými a zdravými byl nalezen na 25 místech DNA, a to i po Bonferroniho statistické korekci mnohočetných porovnávání. Nejvýznamnější odlišnost v methylaci byla nalezena na genu FAM63B ( $P = 2,3 \times 10^{-10}$ ), kdy tento gen má vztah k neuronální diferenciaci a expresi genů se vztahem k dopaminu. Řada jiných významných nálezů odpovídala anamnestickému stavu hypoxie nebo infekce u nemocných schizofrenií. Jiné odchylky methylace oproti zdravým lidem byly nalezeny v genu RELN, změny funkce tohoto genu také bývají spojovány s hypoxií. Celkově se jednalo o jednu z prvních MWAS u velkého souboru nemocných schizofrenií. Autoři podotýkají, že uvedené vyšetřování methylomu je minimálně invazivní a levné. Navíc pokud jde o gen RELN, výsledky studie byly obdobné jako u hodnocení stejného genu z mozku u schizofrenie post mortem. Lze konstatovat, že výsledky popsaného výzkumu byly schopny zachytit methylomový odraz anamnestických environmentálních inzultů („signature“) a přispívají k testování hypotéz etiopatogeneze schizofrenie. Na základě výsledků MWAS, pokud budou potvrzeny dalšími šetřeními, by například bylo možno identifikovat etiopatogenetické subtypy schizofrenie, které pak mohou mít odlišnou prognózu a léčbu.

Guidotti et al. (6) nepochybnují význam epigenetických nálezů jakožto potenciálních biomarkerů schizofrenie. Ty mají mít zásadní vliv na klinické projevy a průběh onemocnění. Jelikož však schizofrenie má postupně zhoršující se průběh, má malý smysl studovat tyto faktory post mortem. Současné poznatky ukazují, že epigenetický výzkum lymfocytů je relevantní i pro duševní poruchy. Dle Guidottiho et al. je vhodné provádět epigenetické studie lymfocytů u schizofrenie, doprovázené vyšetřeními PET, fMRI a kognitivních funkcí u stejných osob. Takto lépe porozumíme vztahu nálezů u lymfocytů a funkce mozku u schizofrenie. Autoři uvádějí, že epigenetické změny lymfocytů mohou mít význam již po narození, kdy řada epigenetických změn probíhá již v děloze. Zajímavé by bylo

studovat lymfocyty během léčby schizofrenie různými psychofarmaky při současném hodnocení klinického stavu pacienta. Také by bylo přínosem studovat lymfocyty osob rizikových pro schizofrenii nebo s prodromy schizofrenie v jejich dalším klinickém vývoji. Epigenetické poznatky získané výzkumem lymfocytů opět mohou pomoci rozdělit schizofrenii na různé podskupiny, které by se pak mohly léčit odlišnými způsoby.

Al Awam et al. (7) vidí jako perspektivní biomarker schizofrenie metabolom a proteom. Předchozí výzkum odhalil změny krevních hladin fosforylovaných proteinů a vybraných apolipoproteinů u schizofrenie oproti zdravým lidem. Ve studii Al Awama et al. byla srovnávána metabolická a proteomická data 26 nemocných se schizofrenií a stejného počtu zdravých dobrovolníků stejného věku a pohlaví v Německu. Největší odlišnosti mezi uvedenými skupinami subjektů byly nalezeny, pokud jde o 2-piperidin kyselinu karboxylovou, 6-deoxy-mannofuranózu, galaktózový oxim a peptid m/z3177. Tyto látky mohou mít vliv na vývoj mozku, monoaminergní neurotransmisi a tvorbu bioaktivních aminokyselin, GABA a druhotných posílů a mohou vykazovat interakci s COMT (catechol-O-methyltransferáza). Al Awam et al. uzavírají, že v rámci výzkumu metabolomu a proteomu je možno úspěšně hledat diagnostické biomarkery schizofrenie. Zdůrazňují, že tato metoda je minimálně invazivní. Výsledky studií však musí být replikovány na velkých souborech. Je vhodné zkoumat metabolom a proteom také během času, v závislosti na léčbě. Tyto poznatky nám pomohou při zjišťování etiopatogeneze schizofrenie. Postup má být takový, že nejdříve je nutno zkoumat mnoho různých metabolitů a proteinů současně, získat nadějně výsledky, a pak se na ně zaměřit v následných, již více specifických studiích. V budoucnu snad takto bude nalezen profil (panel) metabolických a proteomických biomarkerů schizofrenie. Je otázkou, zda se při úspěšné léčbě tyto biomarkery budou normalizovat? Schizofrenie nemá být srovnávána jen se stavem duševního zdraví, ale také s jinými významnými duševními poruchami.

Sérové koncentrace proteinů jako biomarker schizofrenie zkoumali Xiong et al. (8). Sérový proteom by mohl sloužit jako diagnostický a prediktivní biomarker schizofrenie. Detekovány byly látky, které mají vztah k neurovývoji, výživě neu-

ronů, neurotransmisi, poranění neuronů a neuroimunologii. Konkrétně bylo vyšetřováno 278 nemocných schizofrenií, 240 osob s poruchou nálady a 260 zdravých dobrovolníků v Číně. Zjišťovány byly sérové hladiny nervového růstového faktoru  $\beta$ -NGF, jiného nervového růstového faktoru BDNF, interleukinu IL-6 a dále látek TNF- $\alpha$ , interferon- $\gamma$ , protein vážící kalcium S100 $\beta$ , myelinový protein MBP a gliální fibrilární kyselinový protein GFAP. Nemocní se schizofrenií se statisticky významně odlišovali ve hladinách látek BDNF, MBP, GFAP, IL-6, S100 $\beta$  a  $\beta$ -NGF od obou dalších vyšetřovaných skupin. Autoři uzavírají, že tyto nálezy mohou být využity při lepší diagnostice schizofrenie a sledování jejího klinického průběhu. Stejně tak nám mohou pomoci při odhalování etiopatogeneze schizofrenie. Xiong et al. zdůrazňují, že při hledání proteomických biomarkerů nemá být sledována jen jediná látka, ale celý panel těchto látek.

Fuggetta et al. (9) studovali kvantitativní záznam EEG jakožto biomarker pravděpodobnosti rozvoje psychózy. Autoři v úvodu své práce uvádějí, že nadměrné vyjádření schizotypních rysů osobnosti zvyšuje pravděpodobnost rozvoje psychózy, v uvedené oblasti výzkumu však zatím nebyly zjištěny žádné prediktivní biomarkery. Dále píší, že kvantitativní EEG mozkové kůry je ovlivněno aktivitou řady subkortikálních neurotransmiterových systémů různých oblastí mozku, kdy tyto poznatky mohou být využity ve výzkumu příčin psychotických poruch. Fuggetta et al. vyšetřovali 16 osob s nízkou schizotypií a 16 jedinců s vysokou schizotypií, zachycovali klidové EEG se zavřenými očima z celé oblasti hlavy. U osob s vysokou mírou schizotypie byla nalezena takzvaná thalamokortikální dysrytmie, což je desynchronizace oscilace thalamu a mozkové kůry. Ta poškozuje kognitivní procesy, bývá nacházena u řady neuropsychiatrických chorob včetně schizofrenie. Autoři uzavírají, že tyto biomarkery kvantitativního EEG mohou napomoci lékařům identifikovat ty jedince s vysokou schizotypií, kteří mají vysoké riziko rozvoje psychózy. Je také možno zkoumat, jak se uvedené parametry mění během léčby psychotické poruchy.

Arai et al. (10) studovali karbonylový stres jakožto biomarker schizofrenie. Uvedli, že indikátorem karbonylového stresu je kumulace toxických reaktivních dikarbonylů (methylglyoxal) v krvi. Tyto látky poškozují enzymy, pak

se například hromadí plazmatický pentosidin a naopak chybí pyridoxal v séru. Karbonylový stres navozuje nízká aktivita genu GLO1 vlivem jeho polymorfizmů. Karbonylový stres pak může souviset s hostilitou, emočním stažením, manýrováním, negativními příznaky a kognitivním deficitem u schizofrenie dle výzkumu uvedených autorů z roku 2010. Arai et al. navrhuje studovat u schizofrenie dva biomarkery – pentosidin a pyridoxal. Takto by se odlišila specifická podskupina schizofrenie, spojená s karbonylovým stresem. V budoucnu se mají hledat léky, které zvyšují expresi genu GLO1, případně může pomoci doplňování pyridoxalu do séra (vitaminu B6). Tyto poznatky snad v budoucnu napomohou personalizované léčbě schizofrenie.

Singh et al. (11) se zamýšleli nad roli C-reaktivního proteinu u schizofrenie. Uvedli, že o významu zánětu v etiopatogenezi schizofrenie se uvažuje již desítky let. Předpokládá se, že stresové mechanismy aktivují chronický mírný zánět. Ten pak může poškozovat mikrovaskulární systém mozku a omezovat krevní průtok, to způsobuje dysbalanci neurotransmiterů. C-reaktivní protein (CRP) je nespecifickým markerem zánětu. Již třicet dvě studie zkoumaly CRP v séru/plazmě jako biomarker schizofrenie, kdy třicet studií nalezlo zvýšenou hladinu CRP u schizofrenie. Není však jasné, zda jde o patofyziologickou souvislost, či vedlejší nález? Také není zjevné, nakolik užívaná antipsychotika ovlivnila hladinu CRP? Autoři uzavřeli, že hodnocení krevní hladiny CRP jakožto potenciálního diagnostického markeru schizofrenie je vhodné, je však nutno také měřit hladiny cytokinů (IL-1 $\beta$ , IL-6) a polymorfismy genů ve vztahu k CRP (1q21–23).

Je nutno uvést, že prezentované práce se jen okrajově či spíše vůbec nezabývají možným vlivem medikace na sledované parametry (epigenetika, metabolom, proteom, imunologie). Přitom například antipsychotika epigenetický stav mění (12). Antipsychotika rovněž ovlivňují hodnoty imunologických parametrů (13). V dalším výzkumu je třeba vzít tento faktor v úvahu.

## Současný přehled studií krevních biomarkerů schizofrenie

Lai et al. (14) vypracovali přehled studií týkajících se biomarkerů schizofrenie se zaměřením na biologické markery krevní. Konstatovali, že doposud žádný z biomarkerů schizofrenie není

vhodný v běžné klinické praxi. Hledání biologických markerů v krvi je výhodné proto, že biopsie mozku nejsou eticky hajitelné a zobrazovací metody mozku jsou finančně nákladné. Pro další výzkum schizofrenie jsou nadějně následující krevní biomarkery – neurotrofní faktor BDNF, proteiny spojené se zánětem a imunitou, látky ve vztahu k neurochemii (monoaminy, glutamát), substance ve vztahu k oxidativnímu stresu, nálezy týkající se epigenetiky a mikroRNA a proteomika jako celek.

## Biomarkery v oblasti neurozobrazovacích metod

Metaanalýzu v oblasti neurozobrazovacích biomarkerů u schizofrenie publikovali Kambeitz et al. (15). Zpracovali celkem 38 studií (1 602 pacientů a 1 637 zdravých dobrovolníků). Ty se týkaly zejména různých modalit magnetické rezonance mozku. Autoři dospěli k závěru, že navzdory klinické heterogenitě schizofrenie, uvedené metody jsou schopny odlišit nemocné se schizofrenií od zdravých dobrovolníků na základě funkčních a strukturálních změn mozku se senzitivitou a specificitou přibližně 80 %. To se týká například celkového menšího objemu mozku, zvětšení mozkových komor, poklesu objemu hipokampu nebo poklesu objemu mozkové kůry.

## Směry dalšího výzkumu

Na základě uvedených poznatků se lze domnívat, že v následujícím výzkumu je vhodné řídit se těmito doporučeními:

- Opakovaně vyšetřovat biomarkery u stejných jedinců během vývoje onemocnění a jeho léčby.
- U rizikových jedinců hledat biomarkery predikující konverzi do psychózy.
- Hledat biomarkery u jednotlivých podtypů schizofrenie.
- Všechny výzkumy biomarkerů je třeba registrovat a poté publikovat jejich výsledky, podobně jako u studií farmakologických.
- Studie o výsledcích výzkumu biomarkerů by měly mít jednotnou strukturu, aby byly srovnatelné.
- Je třeba terminologii užívat konzistentně, aby byly výsledky jednotlivých studií srovnatelné.
- Zkoumat jednotlivá etnika zvlášť.
- Studie replikovat.
- Kombinovat studie typu GWAS (celogennomové asociační studie) a MWAS (celo-

methylohmové asociační studie) a současně analyzovat transkriptom u schizofrenie.

- Nemocné s podobnými profily biomarkerů zkoumat a léčit zvlášť oproti jiným skupinám pacientů.

## Závěr

„Poselství“ tohoto přehledového článku pro čtenáře je možno shrnout do následujících bodů:

- Je nepravděpodobné, aby pro schizofrenii existoval jeden „univerzální“ biomarker, biomarkery budou zřejmě mnohočetné a multidimenzionální.
- Je třeba vyšetřovat a zkoumat profily (baterie) biomarkerů pro diagnostiku i individuální (personalizovanou) léčbu.
- Aktuálně se jako nadějný jeví biomarkery epigenetické a metabolické.

- V ideálním případě by biomarkery měly být snadno, rychle, levně a neinvazivně měřitelné v podmínkách běžné klinické praxe, a to u každého nemocného schizofrenií.
- Vhodné by bylo zavést biomarkery do budoucích diagnostických a terapeutických manuálů schizofrenie.

*Podporováno grantem AZV Ministerstva zdravotnictví ČR č. 16-27243A.*

## LITERATURA

1. <https://www.psychiatry.org/> (Consensus Report of the APA Work Group on Neuroimaging Markers of Psychiatric Disorders).
2. Mirzakhani H, Singh F, Cadenhead KS. Biomarkers in psychosis: an approach to early identification and individualized treatment. *Biomark Med* 2014; 8: 51–57.
3. Stöber GS, Ben-Shachar D, Cardon M, Falkai P, Fonteh AN, Gawlik M, et al. Schizophrenia: From the brain to peripheral markers. A consensus paper of the WFSBP task force on biological markers. *World J Biol Psych* 2009; 10: 127–155.
4. Prata D, Mechelli A, Kapur S. Clinically meaningful biomarkers for psychosis: A systematic and quantitative review. *Neurosci Biobehav Reviews* 2014; 45: 134–141.
5. Aberg KA, McClay JL, Nerella S, Clark S, Kumar G, Chen W, et al. Methylome-Wide Association Study of Schizophrenia. Identifying Blood Biomarker Signatures of Environmental Influents. *JAMA Psychiatry* 2014; 71: 255–264.
6. Guidotti A, Auta J, Davis JM, Dong E, Gavin DP, Grayson DR, et al. Toward the Identification of Peripheral Epigenetic Biomarkers of Schizophrenia. *J Neurogenet* 2014; 28: 41–52.
7. Al Awam K, Haussleiter IS, Dudley E, Donev R, Brüne M, Juckel G, et al. Multiplatform metabolome and proteome profiling identifies serum metabolite and protein signatures as prospective biomarkers for schizophrenia. *J Neural Transm* 2015; 122: S111–S122.
8. Xiong P, Zeng Y, Wu Q, Huang DXH, Zainal H, Xu X, et al. Combining Serum Protein Concentrations to Diagnose Schizophrenia: A Preliminary Exploration. *J Clin Psychiatry* 2014; 75: e794–e801.
9. Fuggetta G, Bennett MA, Duke PA, Young AMJ. Quantitative electroencephalography as a biomarker for prodromal schizophrenia. *Schizophr Res* 2014; 153: 68–77.
10. Arai M, Miyashita M, Kobori A, Toriumi K, Horiuchi Y, Ito-kawa M. Carbonyl stress and schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* 2014; 68: 655–665.
11. Singh B, Chaudhuri TK. Role of C-reactive protein in schizophrenia: An overview. *Psychiatry Research* 2014; 216: 277–285.
12. Hosák L, Kovařík A, Ustohal L, Látalová K. Duševní poruchy – epigenetické mechanismy jejich vzniku a farmakologické léčby. *Psychiatrie pro praxi* 2015; 16: 45–48.
13. Kay YC, Ko CY, Wang SC, Liu YP. Protective Effects of Quetiapine on Metabolic and Inflammatory Abnormalities in Schizophrenic Patients during Exacerbated Stage. *Chin J Physiol* 2016 (v tisku).
14. Lai C, Scarr E. Biomarkers in schizophrenia: A focus on blood based diagnostics and therapeutics. *World Journal of Psychiatry* 2016 (v tisku).
15. Kambeitz J, Kambeitz-Ilankovic L, Leucht S, Wood S, Davatzikos C, Malchow B, et al. Detecting Neuroimaging Biomarkers for Schizophrenia: A Meta-Analysis of Multivariate Pattern Recognition Studies. *Neuropsychopharmacology* 2015; doi:10.1038/npp.2015. 22.