

Mit. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 7 (1985) 263–270

Universitätsklinik für Neurologie: Vorstand Prof. Dr. F. Gerstenbrand, Institut für Medizinische Chemie und Biochemie, Universität Innsbruck (Vorstand: Prof. Dr. H. Wachter)

Neopterin, ein neuer Parameter in der Malariadiagnostik ?

E. Schmutzhard, D. Fuchs, A. Hausen, G. Reibnegger, H. Wachter

Einleitung

Neopterin, ein Pyrazino — (2, 3-d) — pyrimidinderivat, entsteht durch Biosynthese aus Guanosintriphosphat. Sowohl in vitro als auch in vivo kann Neopterin bei Aktivierung des zellulären Immunsystems gefunden werden, und zwar wird es von durch T-Lymphozyten stimulierten Makrophagen freigesetzt (Fuchs et al. 1982, Huber et al. 1983).

Gamma-Interferon konnte als das die Neopterinexkretion aktivierende Agens der Makrophagen identifiziert werden (Huber et al. 1984). Bei verschiedenen Krankheiten, die mit einer Aktivierung des zellulären Immunsystems einhergehen, wie zum Beispiel virale Infektionen, Autoimmunerkrankungen, Transplantationsabstoßungsreaktionen, verschiedene maligne Tumoren, konnte eine gute Korrelation zwischen Neopterausscheidung und Aktivität der Erkrankung gefunden werden.

Das Ziel dieser Studie war, das Verhalten der Neopterausscheidung im Harn bei Malariapatienten zu untersuchen, und möglicherweise dadurch über Immunvorgänge bei einer Malariainfektion neue, wenngleich auch indirekte Hinweise zu erhalten. Zusätzlich sollte die Möglichkeit der Neopterausscheidung in Bezug auf die Früherkennung einer zu erwartenden Transfusionsmalaria untersucht werden.

Patienten und Methoden

136 Patienten mit parasitologisch gesicherter Malaria (*Plasmodium falciparum* Infektionen) mit einem mittleren Alter von 8,6 Jahren (6 Monaten bis 54 Jahren, 70 männliche und 66 weibliche Patienten) wurden in die Studie aufgenommen. Die Harnproben wurden unverzüglich nach der parasitologischen Diagnose gesammelt, vor Tageslicht geschützt und tiefgefroren bis zur Analyse aufbewahrt.

Gleichzeitig wurde die Körpertemperatur gemessen und die Patienten auf konkomitierende Erkrankungen klinisch untersucht.

Insgesamt wurden 191 Harnproben gesammelt, da bei mehreren Patienten Verlaufskontrollen durchgeführt wurden. Zusätzlich wurden Harnproben von 23 gesunden Tansaniern, die aus denselben ländlichen Verhältnissen wie die Patienten kamen, zu Kontrollzwecken gesammelt. Bei 18 dieser 23 Gesunden wurde auch ein Blutausschick untersucht.

Die Dichte der Parasitämie wurde folgendermaßen dokumentiert:

*** schwere Infektion (mehr als 10% der roten Blutkörperchen parasitiert)

** mäßige Infektion (1—10% der roten Blutkörperchen parasitiert).

* milde Infektion (weniger als 1% der roten Blutkörperchen parasitiert).

Neopterin und Kreatinin wurden im Harn automatisch mittels Hochdrucksflüssigkeitschromatographie gemessen (HAUSEN et al. 1982).

Die Neopterin Spiegel im Harn wurden auf Kreatinin bezogen und mit denen von 417 gesunden Österreichern verglichen (HAUSEN et al. 1982 b).

Mögliche Beziehungen zwischen der Neopterinausscheidung und verschiedenen klinischen Parametern bzw. Patientenmerkmalen wie Alter, Parasitendichte, Körpertemperatur, Dauer der Symptome, Medikation, wurden mittels einer multiplen linearen Regressionsanalyse geprüft (BEST et al. 1976).

Ergebnisse

Die Neopterinausscheidung im Harn war in 185 der 191 Harnproben (96,9%) erhöht. Die Abbildungen 1 und 2 zeigen die Ergebnisse entsprechend dem Alter und Geschlecht. Die Abbildungen 3 und 4 demonstrieren den Effekt der Körpertemperatur und Parasitendichte auf die Neopterinausscheidung. Die Beziehung zwischen der Dauer der Symptome und der mittleren Neopterinausscheidung im Harn sowie der Einfluß einer vorausgehenden Antimalariatherapie auf die Neopterinausscheidung im Harn sind bildlich nicht dargestellt. Es scheint eine positive Korrelation zwischen Neopterinausscheidung und Körpertemperatur bzw. Parasitämiedichte sowie eine negative Korrelation mit dem Patientenalter zu bestehen. Keinerlei Korrelation kann zwischen den Neopterin Spiegeln und der Dauer der Symptome bzw. einer vorausgehenden Medikamentengabe beobachtet werden. Eine genaue statistische Analyse dieser Beziehungen mittels der multiplen linearen Regressionsanalyse zeigt jedoch deutlich, daß lediglich der Einfluß des Alters auf die Neopterinausscheidung bei simultaner Betrachtung aller Variablen statistisch signifikant ist, wie in Tabelle 1 gezeigt wird.

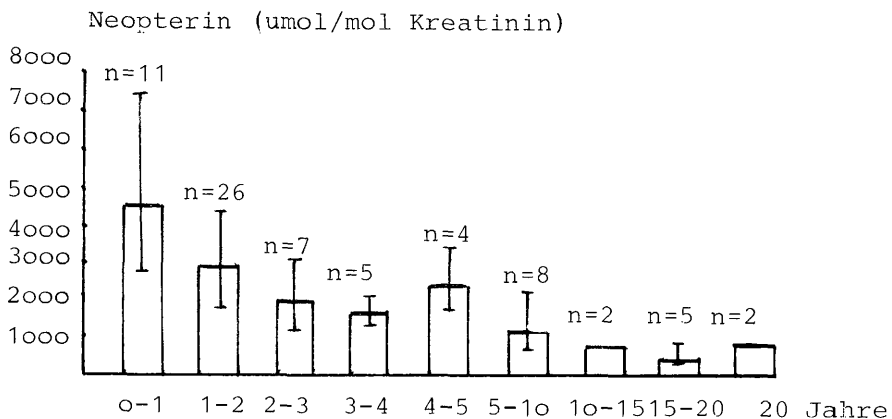


Abb. 1: Mittlere Neopterinwerte (e^x) und Standardabweichung (e^{x+s} , e^{x-s}) männlicher Malariapatienten, $n = 70$

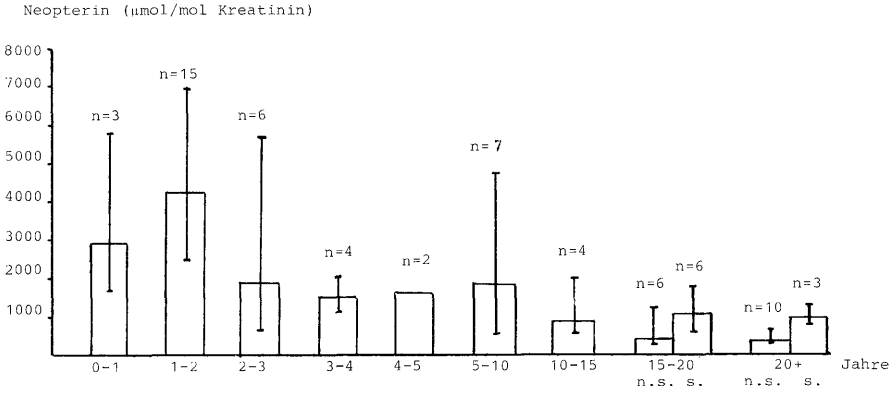


Abb. 2: Mittlere Neopterinwerte im Harn (e^x) und Standardabweichung (e^{x+s} , e^{x-s}) bei weiblichen Malaria-Patienten, $n = 66$.

n. s. nicht schwanger, s. schwanger

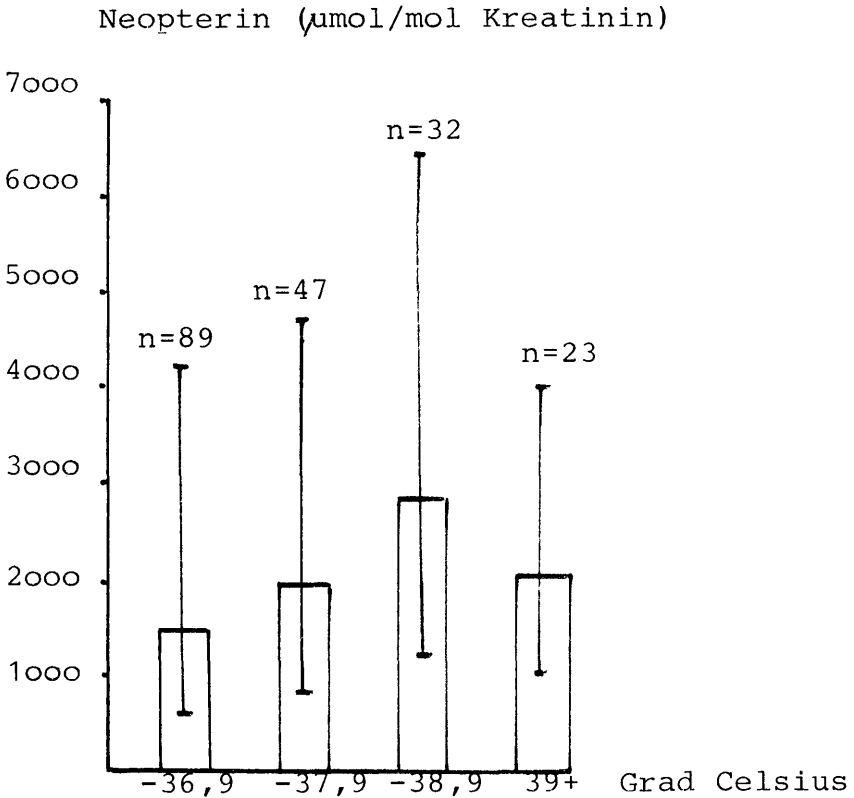


Abb. 3: Mittlere Neopterinwerte (e^x) und Standardabweichung (e^{x+s} , e^{x-s}) bei Malaria-Patienten mit verschiedener Körpertemperatur, $n = 191$

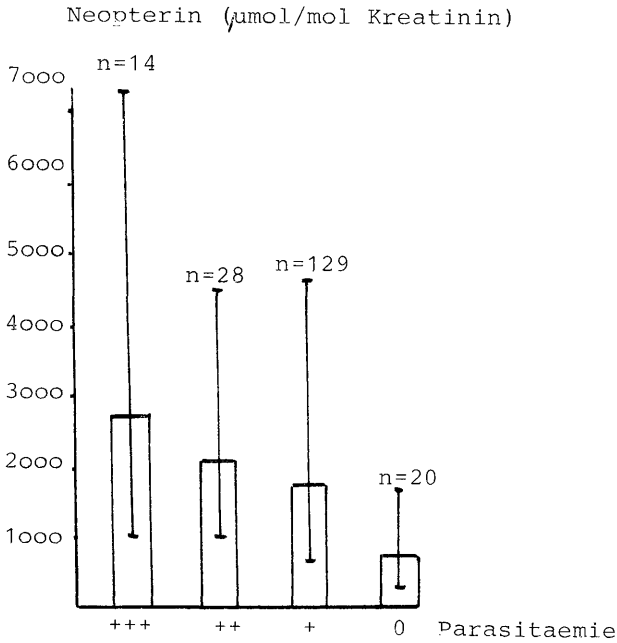


Abb. 4: Mittlere Neopterinwerte (e^x) und Standardabweichung (e^{x+s} , e^{x-s}) bei Malaria-patienten mit verschiedener Parasitämiedichte, $n = 191$

Kovariate	Signifikanz*
Alter	0,00001
Blutausstrich	0,23
Dauer der Symptome	0,25
Körpertemperatur	0,075
Medikation	0,34

* Null-Hypothese: Keine Korrelation

Tabelle 1: Multiple Regressionsanalyse zur Korrelierung der (logarithmischen) Neopterinwerte mit verschiedenen Kovariaten bei Malaria.

Die scheinbar positive Korrelation zwischen Neopterinwerten und Körpertemperatur oder der Parasitämiedichte stellt also eine bloße Reflexion der Tatsache dar, daß die Körpertemperatur und die Parasitendichte umso höher sind, je jünger die Patienten sind. Dies wird in den Tabellen 2 und 3 gezeigt.

Körpertemperatur ° C	mittleres Alter	n
— 36,9°	13,1 J (10 M — 54 J)	89
37 — 37,9°	6,9 J (7 M — 21 J)	47
38 — 38,9°	3,9 J (6 M — 20 J)	32
39 +	2,4 J (15 M — 3,5 J)	23

Tabelle 2: Mittleres Alter von Malariapatienten mit verschiedener Körpertemperatur n = 191

Parasitämdichte	mittleres Alter	n
***	3,3 J (7 M — 15 J)	13
**	4,4 J (13 M — 22 J)	18
*	9,3 J (6 M — 54 J)	105

Tabelle 3: Mittleres Alter von Malariapatienten mit verschiedener Parasitämdichte n = 136

Schwangere Frauen zeigen ein unterschiedliches Verhalten bei der Neopterin-ausscheidung im Harn im Falle einer Malariainfektion. Wie in Abbildung 3 zu sehen ist, ist die Neopterin-ausscheidung bei schwangeren Frauen im Falle von Malaria deutlich höher als bei nicht schwangeren Frauen.

Abbildung 5 zeigt die Neopterin-ausscheidung im Harn von 23 offensichtlich gesunden Tanzaniern. Es soll ausdrücklich darauf hingewiesen werden, daß die parasitämischen Personen keine Malariasymptome zeigten. Parasitämische Personen zeigten eine deutlich erhöhte Neopterin-ausscheidung im Harn im Vergleich zu nicht parasitämischen Probanden.

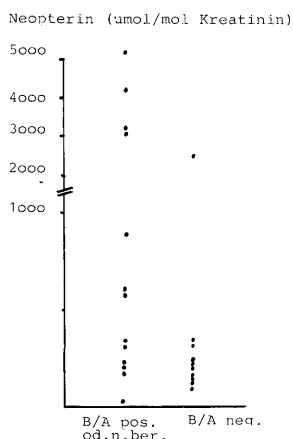


Abb. 5: Neopterinwerte in gesunden, symptomfreien Tanzanierern, mit oder ohne Parasitaemie, n = 23

Diskussion

Die Immunantwort bei Malariaerkrankungen involviert sowohl zelluläre als auch humorale Mechanismen. In nicht immunen oder semi-immunen Patienten verursacht eine akute Infektion mit Malariaparasiten eine sofortige zelluläre Immunantwort. Es bedarf wiederholter und fortlaufender Malariainfektionen über einen Zeitraum bis zu fünf Jahren, daß der Organismus genügend Antikörper (IgG) bildet, um schwere Malariainfektionen — zumindest mit einer hohen Wahrscheinlichkeit — zu unterdrücken. Je höher also der Antikörperspiegel (IgG) gegen Plasmodien (in ihrer Merozoitenform) im Organismus ist, umso weniger werden zelluläre Immunmechanismen auf eine neuerliche Herausforderung durch Malariaparasiten reagieren. Einheimische Menschen, die ein endemisches Gebiet für längere Zeit verlassen, verlieren ihre IgG-Antikörper aufgrund des Mangels fortlaufender Stimulation, sodaß sie nach einer Rückkehr in das Endemiegebiet sich — in Bezug auf ihre Immunantwort — wie nicht-immune oder semi-immune Patienten verhalten.

Unsere Resultate demonstrieren in einem sehr hohen Prozentsatz eine, durchschnittlich extrem, erhöhte Neopterinausscheidung im Harn bei Malariapatienten. Die statistische Auswertung zeigt, daß das Alter der dominierende Faktor ist, der den größten Einfluß auf die Höhe der Neopterinwerte ausübt.

Schwangere Frauen zeigen eine höhere Neopterinausscheidung als nicht schwangere Frauen desselben Alters.

Diese Beobachtungen bestätigen unser Wissen über die Immunsituation und Immunantwort bei Malariaerkrankungen, die vorwiegend von Tierversuchen abgeleitet wurde (WYLER, 1983, PLAYFAIR, 1982, JAJAWARDENA et al., 1982).

Die Beobachtung, daß symptomfreie parasitämische Personen eine klare Erhöhung der Neopterinausscheidung im Harn zeigen, könnte von großer klinischer und praktischer Bedeutung sein.

I. C. GUERRERO et al. (1983) berichteten über eine sehr hohe Sterblichkeitsrate der Transfusionsmalaria in den Vereinigten Staaten von Amerika und sie schlägt vor, daß Personen, die auch nur im weitesten Sinne gefährdet erscheinen, vom Blutspenden auszuschließen seien.

Im Lichte der eben beschriebenen Studie glauben wir vorschlagen zu dürfen, daß lediglich jene gefährdeten Personen vom Blutspenden auszuschließen seien, die eine erhöhte Neopterinausscheidung im Harn zeigen.

Zusammenfassung

Bei 136 tansanianischen Patienten (insgesamt 191 Proben) mit parasitologisch nachgewiesener Malaria wurde die Neopterinausscheidung im Harn mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie bestimmt. Mögliche Beziehungen zwischen der Neopterinausscheidung und verschiedenen klinischen Parametern bzw. Patientenmerkmalen (Alter, Parasitendichte, Körpertemperatur, Dauer der Symptome, Medikation) wurden mittels einer multiplen linearen Regressionsanalyse geprüft. In 185 der 191 Harnproben (96,9%) wurde eine erhöhte Neopterinausscheidung im Harn gefunden. Eine hochsignifikante negative Korrelation ($r = 0,0001$) konnte zwischen Neopterin-ausscheidung und Alter gefunden werden. Bei den übrigen Parametern konnte keine Korrelation festgestellt werden. Auffällig war die deutlich höhere Neopterin-ausscheidung bei schwangeren Frauen verglichen mit nicht schwangeren Patienten gleichen Alters.

23 gesunde Tansanianer wurden als Kontrollgruppe untersucht. Bei 18 wurde ein Blutausstrich abgenommen, der in 8 Fällen — trotz Symptommfreiheit — ein positives Ergebnis einer Parasitämie brachte. Diese zeigten eine deutlich höhere Neopterausscheidung als jene mit negativem Blutausstrich.

Alle diese Beobachtungen liefern Argumente dafür, daß die Immunsituation bei Malaria sich beim Menschen ähnlich wie im Tiermodell verhält, in welchem die bisherige Kenntnis der Immunsituation bei Malaria gewonnen wurde.

In nicht immunen oder semi-immunen Malariapatienten überwiegen zelluläre Immunmechanismen, während nach langdauernder, regelmäßiger Stimulierung durch Malariaparasiten die humorale Immunantwort zunehmend an Bedeutung gewinnt.

Einen weiteren interessanten Aspekt unserer Studie stellt die Beobachtung dar, daß gesunde, aber symptomlose Parasitenträger eine eindeutige Erhöhung der Neopterausscheidung zeigen, was im Hinblick auf die hohe Mortalitätsrate bei Transfusionsmalaria möglicherweise von vielversprechender klinischer Relevanz sein könnte.

Summary

The immune response to malarial infection involves cellular and humoral mechanisms. The activation of the cellular immunresponse leads to the release of Neopterin. In 136 tanzanian patients with malaria (*P. falciparum*) urinary neopterin excretion was measured by high pressure liquid chromatography (HPLC), 96,9% of the specimens showed elevated urinary neopterin excretion. A highly significant negative correlation ($r = 0,0001$) could be found by means of multiple linear regression analysis between urinary neopterin excretion and age, whereas no significant correlation could be detected between neopterin values and other parameters like body temperature, density of parasitaemia, duration of symptoms and preceding medication, when analyzed simultaneously. A group of 23 healthy tanzanian subjects was taken for control purposes. 8 of them had a silent parasitemia, resulting in elevated urinary neopterin excretion compared with the nonparasitemic subjects. Pregnant malarial patients had higher urinary neopterin values than nonpregnants of the same age. All these observations suggest that in holoendemic areas the cellular immune mechanisms predominate during the first years of life, whereas the humoral immune response gains weight only through continuous challenge by repeated malarial infections.

The finding that symptomfree parasitemic subjects have elevated urinary neopterin values could possibly be of a promising clinical relevance when considering the high fatality rate of transfusionsmalaria.

Literatur

- BEST, W. R., BECKTEL, J. J., SINGLETON, J. W., KERN, F. (1976): Development of a Crohn's disease index. *Gastroenterol.* 70, 439—444
- FUCHS, D., HAUSEN, A., HUBER, C., MARGREITER, R., REIBNEGGER, G., SPIELBERGER, M., WACHTER, H. (1982): Pteridinausscheidung als Marker für alloantigen-induzierte Lymphozytenproliferation. *Hoppe-Syler Z. Physiol. Chem.* 363, 661—663
- GUERRERO, J., WENIGER, B. C., SCHULTZ, M. G. (1983): Transfusion Malaria in the United States, 1972—1981. *Med.* 99, 221—226
- HAUSEN, A., FUCHS, D., KÖNIG, K., WACHTER, H. (1982): Determination of neopterin in human urine by reversed phase high performance liquid chromatography. *Chromatogr.* 227, 67—70

- HAUSEN, A., WACHTER, H. (1982): Pteridines in the assesment of neoplasia. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 20, 593—602
- HUBER, C., FUCHS, D., HAUSEN, A., MARGREITER, R., REIBNEGGER, G., SPIELBERGER, M., WACHTER, H. (1983): Pteridines as a new marker to detect human T-cells activated by allogeneic or modified self major histocompatibility complex (MHC) determinants. *J. Immunol.*, 1047—1050
- HUBER, Ch., BATCHELOR, R., FUCHS, D., HAUSEN, A., LANG, A., NIEDERWIESER, D., REIBNEGGER, G., SWETLY, P., TROPFMAIR, J., WACHTER, H. (1984): Immune response-associated production of Neopterin *J. Exp. Med.* 160, 310—316
- JAYAWARDENA, A. N., MURPHY, D. B., JANEWAY, C. A., GERSHON, R. K. (1982): T-cell mediated Immunity in Malaria. *J. Immunol.* 129, 377—381
- PLAYFAIR, J. H. L. (1982): Immunity to Malaria. *Br. Med. Bull.* 38, 153—159
- WYLER, D. (1983): Malaria-resurgence, resistance and research. *N-Engl. J. Med.* 308, 16, 934—940

KORRESPONDENZADRESSE:

Dr. E. Schmutzhard
Universitätsklinik für Neurologie
Anichstraße 35, A-6020 Innsbruck.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie](#)

Jahr/Year: 1985

Band/Volume: [7](#)

Autor(en)/Author(s): Schmutzhard Erich, Fuchs Dietmar, Hausen Arno, Reibnegger Gilbert, Wächter Helmut

Artikel/Article: [Neopterin, ein neuer Parameter in der Malariadiagnostik? 263-270](#)