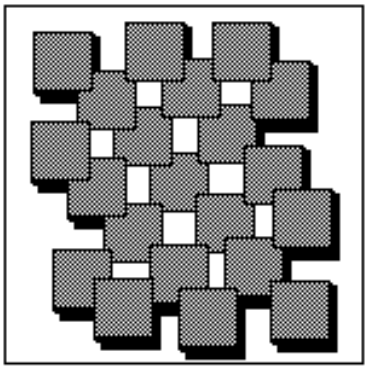
ISSN 0394 3291

Caleidoscopio



Guglielmo Bedarida†
Alessandro Lizioli

La neopterina nella pratica clinica

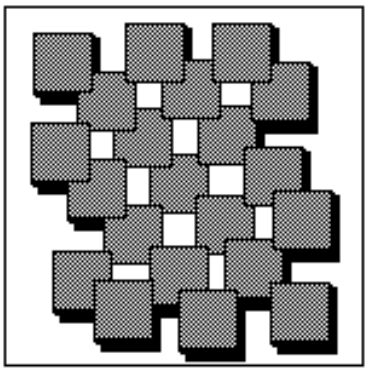
60

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

MEDICAL
SYSTEMS S.P.A.

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. (010) 83401
Stampato a Genova 1991.

Caleidoscopio



Guglielmo Bedarida†
Alessandro Lizioli

La neopterina nella pratica clinica

Servizio di Immunoematologia e
Centro Trasfusionale
Ospedale Maggiore
Lodi

60

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

MEDICAL
SYSTEMS S.P.A.

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. (010) 83401
Stampato a Genova 1991.

Editoriale

Negli ultimi anni si è registrato un grande interesse intorno alla utilità clinica del dosaggio della neopterina in numerose condizioni patologiche e per riassumere lo stato attuale delle conoscenze presentiamo questo volume monografico che ne fa una sintesi e vuol rappresentare un momento di riflessione sull'argomento.

La neopterina è una molecola prodotta in grosse quantità da parte dei monociti/ macrofagi umani in risposta alla stimolazione con gamma interferon.

La determinazione della neopterina in vivo offre una utile possibilità per il monitoraggio dello stato di attivazione del sistema immune cellulo-mediato di qui l'uso e l'utilità per il monitoraggio di malattie autoimmuni.

Il dosaggio di questa molecola ha trovato inoltre interessanti applicazioni in campi quali le malattie infettive ed in particolare le infezioni virali (e tra queste l'epatite non A non B e l'infezione da HIV) e nelle malattie proliferative dove, mentre risulta praticamente solo auspicabile la possibilità di screening con l'uso di marcatori tumorali, è invece possibile il loro uso nella valutazione del successo terapeutico, il rischio di processi metastatici e la prognosi.

La presentazione degli Autori è, in questa occasione, un evento per me doloroso e triste. Il dottor Lizioli, Suo allievo, tratteggierà meglio la figura del Professore Bedarida che purtroppo ci ha lasciati, tuttavia vorrei fare una breve e parziale annotazione personale per testimoniare la stima che ho per il Professor Bedarida e la simpatia che ha sempre contraddistinto i nostri rapporti.

Conobbi il Professor Bedarida nel 1983, anno in cui iniziammo la pubblicazione di questa collana, e da allora ho seguito i tanti problemi di salute che si accanirono ripetutamente su di Lui.

Ebbene, nonostante questi eventi ed i consigli dei sanitari che lo avevano in cura, il Professor Bedarida ha continuato a lavorare con un ritmo ed un entusiasmo che solo chi fa del proprio lavoro uno scopo di vita, una missione e lo considera non una necessità ma una fonte di conoscenza e di arricchimento per sé e per gli altri può spiegare. E sono queste le persone che lasciano un Segno e di cui si sente, purtroppo, la mancanza.

La pubblicazione di questa monografia postuma vuol essere un tributo all'uomo ed allo studioso ed un modo per ricordare la Sua attività di Medico e Studioso.

Il Professor Bedarida si era laureato in Medicina presso l'Università di Roma, quindi aveva iniziato la frequenza presso la Clinica Medica dell'Università di Pavia occupandosi di immunoematologia. Specializzatosi prima in Malattie del sangue e quindi in Igiene, aveva conseguito la libera docenza in Ematologia.

Dopo un'importante esperienza presso l'Istituto di immunoematologia del Centro Hayem di Parigi sotto la direzione del Professor J. Bernard, era rientrato per dirigere l'Istituto Trasfusionale AVIS di Pavia. Vi era stata quindi una parentesi trascorsa presso l'Istituto di Genetica Medica dell'Università di Torino, prima di essere chiamato quale Primario dell'Ospedale Maggiore di Lodi dove si era occupato non solo dell'Immunoematologia e della Trasfusione ma anche della Immunopatologia, delle anemie da causa genetica e della coagulazione.

Il Professor Bedarida ha attuato, insieme ai suoi collaboratori numerose ricerche nel campo delle epatiti post-trasfusionali, degli immunocomplessi e del virus dell'immunodeficienza acquisita che lo hanno portato a pubblicare oltre centoventi lavori su riviste nazionali ed internazionali, collaborando tra l'altro, nell'ambito dell'immunoematologia, al Trattato di Medicina Interna del Professor P. Introzzi.

Il dottor Lizioli ha lavorato presso la Sezione di Malattie Infettive dell'Ospedale Maggiore di Lodi occupandosi della clinica dell'infezione da HIV e di protocolli sperimentali di terapia anti-infettiva. Ha frequentato la Divisione di Parassitologia e Micologia Medica presso l'Ospedale Pitié Salpétrière di Parigi diretta dal Professor Gentilini.

Si occupa di Informatica Medica con particolare riferimento alla progettazione e sviluppo di cartelle cliniche computerizzate. Nel contempo si è occupato degli aspetti immunologici dell'infezione da HIV sotto la diretta guida del Prof. Bedarida presso il Centro di Immunoematologia dell'Ospedale Maggiore di Lodi.

In tale sede ha contribuito allo sviluppo di nuove metodiche per la determinazione precoce di anticorpi anti-HIV; ha elaborato e nel contempo sostenuto la divulgazione dell'indice CD4/neopterina quale fattore diagnostico e di follow-up terapeutico nell'infezione da HIV.

Sergio Rassu

Introduzione

Questo lavoro è stato voluto ed incoraggiato dal Prof. Guglielmo Bedarida. Durante la sua stesura, precisamente agli inizi dell'anno 1989 il Prof. Bedarida è mancato improvvisamente lasciando un enorme vuoto negli affetti e nelle menti di quanti hanno lavorato e vissuto con lui.

Quando ho iniziato a frequentare il suo Servizio di Immunologia l'infezione da HIV era al suo primo apparire; con lui, esperto di infezioni da HBV e HDV, intrapresi la lunga (e non ancora conclusa) battaglia per la diagnosi precoce dell'infezione da HIV, ma mai dimenticando, per suo espresso desiderio, i soggetti già colpiti dal virus.

Insieme alla Sezione di Malattie infettive, infatti, ci siamo occupati della stadiazione della malattia da HIV, che, a nostro avviso, ha nella neopterina la sua migliore guida. Già dal 1986 il Prof. Bedarida utilizzava la determinazione della neopterina serica nelle infezioni da HBV e da HIV (allora primissimi casi osservati).

L'intensificarsi dei casi di AIDS e l'esigenza di nuovi markers sierologici per il follow-up dei pazienti HIV positivi spinse il Professore all'approfondimento di questo marcatore immunologico. Io entrai a far parte della sua équipe in un momento di particolari esigenze clinico immunologiche e trovai un Guglielmo Bedarida agguerrito e nel pieno fervore creativo.

Il suo ultimo contributo alla ricerca fu lo sviluppo di una nuova metodica per la determinazione precoce degli anticorpi anti-HIV (articolo apparso su AIDS 1989; 3: 613-614). Ho desiderato terminare questo lavoro di revisione della letteratura concernente la neopterina per regalare al Professore il piccolo pensiero di un suo allievo. Spero sia gradito.

Alessandro Lizioli

Principi della difesa immunologica

L'Uomo nasce, si sviluppa e muore in un ambiente popolato da molte altre specie viventi che combattono, a loro volta, una incessante lotta per la sopravvivenza; il continuo contatto con batteri, funghi, virus, protozoi ossia forme di vita parassitiche e non, ha condotto gli organismi superiori a sviluppare numerosi e complessi meccanismi di difesa, e non ultimo di tolleranza, verso agenti che la scienza medica definisce infettivi. La difesa immunologica ha la sua più complessa espressione nell'immunità umana che vede implicati due fondamentali sistemi di protezione: l'immunità naturale o innata e l'immunità indotta o acquisita.

Per immunità naturale si intende la capacità di difesa dell'organismo sviluppata filogeneticamente, ossia non stimolata da contatti con agenti estranei. L'influenza del fenotipo su questo tipo di immunità è stata dimostrata dagli esperimenti di J.W. Gowen ed è per tale sua caratteristica che viene anche detta "immunità costitutiva o genetica".

Contrariamente all'immunità acquisita, questa appare completamente aspecifica, cioè non legata ad alcun tipo di antigene.

Per immunità acquisita si intende, invece, una complessa catena di eventi che viene selettivamente esaltata dal tipo di antigene incontrato (specificità); questa forma di immunità è responsabile della "memoria immunologica" ossia della efficace protezione dell'organismo, nei confronti di agenti infettivi già "incontrati"; tale caratteristica manca, invece, al tipo naturale. Il sistema di difesa innato degli organismi superiori, prevede l'uso di due meccanismi interdisciplinari: i fattori umorali ed i fattori cellulari.

Come possiamo osservare nella tabella 1, i fattori umorali studiati sono essenzialmente quattro: il lisozima, la properdina, l'interferone e gli anticorpi naturali.

Nella stessa tabella sono riassunte le principali caratteristiche di queste molecole.

Il meccanismo di fondamentale importanza dei fattori cellulari della difesa immunologica, è rappresentato dalla fagocitosi, la cui accomunanza con l'immunità innata e quella acquisita assicura l'eliminazione degli antigeni estranei presenti nell'organismo.

Poichè la fagocitosi è un sistema di difesa presente già ai bassi livelli della scala filogenetica, essa precede tutte le forme più perfezionate di difesa, ma, nonostante ciò, non si esaurisce fine a sè stessa, essendosi perfettamente integrata con le funzioni più evolute, quale l'anticorpopoiesi.

Con brevi parole possiamo descrivere la fagocitosi come l'inglobamento e la digestione di elementi particolati (self o not-self) da parte di alcuni tipi di cellule denominati fagociti. Essa dipende dall'adesione particella-fagocita, la quale è, a sua volta, favorita da anticorpi (opsonine) e complemento che aumentano l'idrofobia della superficie della particella da fagocitare e favoriscono l'agglutinazione. Tra le opsonine ritroviamo gli anticorpi naturali (fattori umorali) i quali, assenti alla nascita, compaiono ed aumentano con l'età a partire dal 3°-4° mese di vita ed il cui incremento deriva da un probabile contatto dell'organismo con antigeni esterni (1).

Il termine generico di fagocitosi racchiude in sé tutti quei fenomeni biochimici di inglobamento e distruzione di particelle; di conseguenza con il nome di "fagociti" si identificano quelle cellule che possiedono corredi enzimatici e strutture citoplasmatiche in grado di espletare funzioni di ingestione e degradazione di materiale glicoproteico.

Se in termini di "azione distruttiva" è corretto racchiudere sotto tale etichetta sia i granulociti neutrofili che la grande famiglia dei monociti / macrofagi, è, invece, molto restrittivo relegare i monociti al ruolo di semplici spazzini del sistema difensivo dell'organismo.

La maggiore velocità di degradazione delle particelle fagocitate espressa dai granulociti, non deve far pensare ad una maggiore efficienza di quest'ultimi nei confronti dei monociti; in realtà il monocito non è più lento per difetto di corredo enzimatico o altri impacci di sorta, bensì perché la sua funzione elettiva è quella di metabolizzare gli antigeni fagocitati al fine di esporli sulla superficie del plasmalemma e permetterne il riconoscimento da parte delle cellule deputate all'innesco della risposta immunitaria. Donde il nome, come si vedrà anche più avanti, di "cellule presentanti l'antigene (APC: Antigen Presenting Cell) destinato ai monociti (e non solo a loro).

Il ruolo dei monociti / macrofagi è, in sostanza, un esempio molto efficace di incastro tra immunità innata (gradino più basso dell'ontogenesi) ed immunità costituita (meccanismo più evoluto): un ponte tra il semplice (ma importante) ruolo di "pulitori" dei granulociti, ed il raffinato (ma delicato) meccanismo di "registi" dei linfociti.

Biochimica	Properdina Via alternativa del complemento	Lisozima	Interferone	Anticorpi naturali
Attività prevalente	Gruppo di proteine necessitano il Mg^{++} e complemento. Termolabile	Attività enzimatica di demolizione dei peptidoglicani	Famiglia di proteine tripsino sensibili e termostabili	Immunoglobuline con costante di sedimentazione 19 S.
Sito di produzione	Gram negativi e virus	Gram positivi	Batteri e virus	Batteri Gram negativi
Specificità	Non noto	Monociti/macrofagi	Linfociti e cellule infettate	Ignoto
	Bassa	Bassa	Media	Discreta

Tabella 1. Fattori umorali dell'immunità.

Cooperazione tra immunità umorale e cellulare: ruolo delle cellule T e dei macrofagi

Il ruolo più importante nell'immunità umorale è senza dubbio sostenuto dagli anticorpi, naturali o acquisiti (con questo termine si intende la comparsa di anticorpi in seguito a stimolazione con un antigene specifico) che siano.

Gli anticorpi, o immunoglobuline (OMS 1964), sono presenti in tutte le specie di Vertebrati e vengono prodotte in seguito a contatto con sostanze estranee all'organismo (not-self); di conseguenza ogni sostanza capace di produrre anticorpi viene denominata antigene.

Fin dagli anni '50 era noto che le cellule ad attività anticorpopoietica erano rappresentate dalle plasmacellule.

Ciò che non era spiegabile, consisteva nella comparsa di tali cellule solo vari giorni dopo la stimolazione antigenica; più tardi Gowans ha potuto stabilire che le cellule antigene-sensibili sono i piccoli linfociti (2).

In seguito si accertò che tali cellule erano funzionalmente differenti e che tale differenza era dovuta al sito della loro maturazione: il timo per i linfociti denominati T, la Borsa di Fabrizio (o strutture equivalenti) per i linfociti B. La piena attività immunogena di un antigene, cioè la capacità di indurre una risposta da parte del sistema immunitario, dipende dalla collaborazione tra tre tipi di cellule, i linfociti T e B e una classe di fagociti denominati macrofagi (3): questo complesso viene comunemente detto complesso induttivo.

Le cellule linfocitarie (B e T) devono reagire con l'antigene legato al macrofago per poter indurre una risposta immune; questo spiega il termine di cellula presentatrice d'antigene che normalmente viene dato al macrofago. Per indurre l'anticorpopoiesi è fondamentale la moltiplicazione dei linfociti B, mentre linfociti T e macrofagi non vanno incontro a tale processo. La tabella 2 mostra le differenze tra i vari tipi cellulari.

Il meccanismo generale dell'induzione prevede una captazione dell'antigene da parte dei macrofagi (non necessariamente mediante fagocitosi) i quali, senza metabolizzarlo, lo propongono ai linfociti associato ad un antigene di membrana (self) che permette il riconoscimento da parte del linfocita interessato il quale, a sua volta, deve presentare un proprio antigene come garanzia del self.

Tali antigeni di membrana, specifici per ciascuna cellula che obbligatoriamente intervengono nel processo di riconoscimento dell'antigene estraneo, sono acquisiti nel corso della maturazione cellulare, espressi come fenotipo del Complesso Maggiore di Istocompatibilità MHC (gene HLA: Human Leukocyte Antigens), il quale codifica per tre classi di proteine: le molecole di classe I che fungono da segnale di riconoscimento

	T	B
Sede di maturazione	Timo	Strutture Borsa equivalenti
Recettori per Ag	Non note	Ig di membrana
Secrezione anticorpi	No	Si (plasmacellule)
Recettori per Ig	No	Si
Funzioni adiuvanti	Si	No
Capacità cooperativa	Si	No
Capacità di differenziazione	No	Si

Tabella 2. Alcune delle principali differenze tra linfociti T e linfociti B.

nella presentazione degli antigeni eterologhi, le molecole di classe II interessate nella cooperazione con linfociti T e B, e le molecole di classe III che sono proteine solubili e costituiscono la via alternativa del Complemento.

Le cellule accessorie devono, pertanto, avere sulla membrana citoplasmatica quegli antigeni di seconda classe, denominati Ia (Immune response Antigens), come segno di riconoscimento. Oltre agli antigeni del MHC, i linfociti T, in particolare, esprimono ulteriori antigeni di membrana indispensabili alla collaborazione cellulare; tali molecole vengono acquisite nel corso della maturazione e vengono denominate "classi di differenziazione" (Cluster of Differentiation: CD). Sulle varie cellule del sistema immunitario ognuna di tali classi è specifica per un clone cellulare a funzione determinata.

La CD 4 e la CD 8 sono due classi che caratterizzano, nel sangue periferico, due popolazioni di linfociti T a funzione differente; la CD 4 viene espressa da linfociti a funzione "adiuvante" (helper / inducer), la CD 8 da linfocti a funzione "soppressiva" (suppressor / cytotoxic). I linfociti CD4+ riconoscono l'antigene not-self solo se è presentato dal MHC di classe II (4), mentre i CD8+ riconoscono l'antigene solo se espresso insieme all'antigene MHC di classe I (5).

Il meccanismo della cooperazione cellulare nella risposta anticorpale non è stato ancora ben chiarito, tuttavia si pensava che non fosse necessaria l'unione fisica tra cellule T e B, ma che la cellula T rilasciasse fattori umorali che contribuissero a indurre la proliferazione delle cellule B.

Secondo Feldmann (6) un fattore secreto dalle cellule T, staccatosi dalla loro membrana, si fissa alla membrana del macrofago mediante l'Fc ove si complessa con parte dell'antigene da presentare; ciò fatto, si avrebbe una concentrazione dell'aptene (parte dell'antigene che reagisce con gli anticorpi) sulla membrana del macrofago che si combina con il linfocita B.

Tale concentrazione permetterebbe un riarrangiamento degli antigeni di membrana del linfocita B stesso con conseguente proliferazione e sua trasformazione in plasmacellula. Tale teoria non prevedeva, però, la presenza del MHC, scoperto in seguito, che richiede questa sorta di duplice segnale: riconoscimento da parte del B-linfocita dell'antigene eterologo e, contemporaneamente, riconoscimento del linfocita B da parte del T-linfocita mediante l'antigene di istocompatibilità (Fig 1).

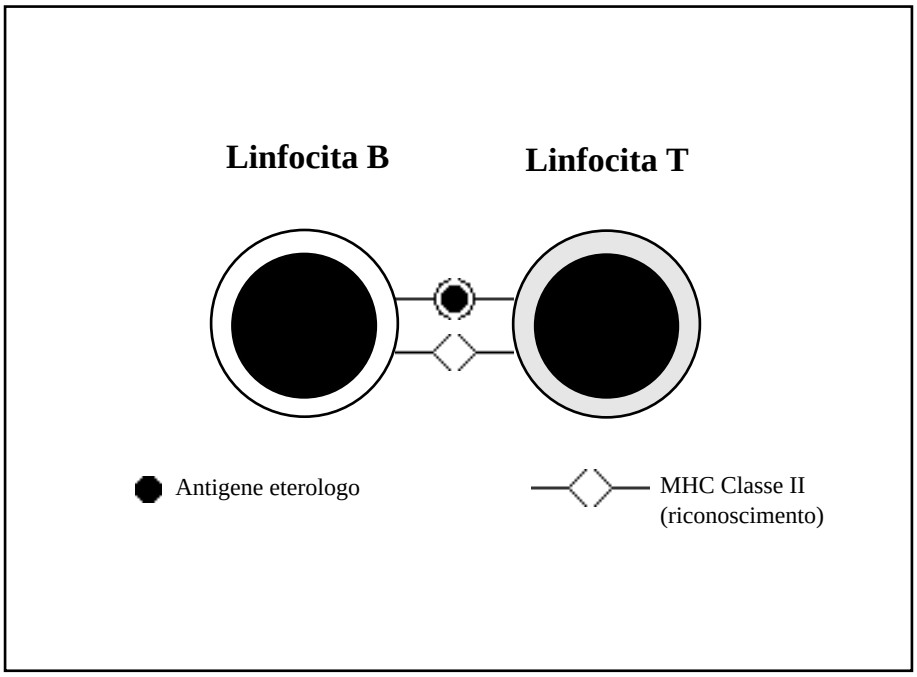


Figura 1. Riconoscimento cellulare tra linfociti T e B. La presentazione di un antigene eterologo deve essere accompagnata dall'esposizione del MHC di classe II come garanzia del "self".

Fattori che mediano la collaborazione

Quanto descritto nel paragrafo precedente è il primo passo, nella risposta immunitaria, della via che porta alla costruzione di anticorpi specifici da parte delle plasmacellule. Condizioni necessarie per innescare la proliferazione dei B-linfociti sono: la presentazione dell'antigene da processare ai T-linfociti di classe helper (1° segnale) e la sintesi e liberazione, da parte dei macrofagi, di Interleuchina 1 (LAF: Lymphocyte Activating Factor) per l'attivazione degli stessi linfociti CD4 (2° segnale) (Fig. 2).

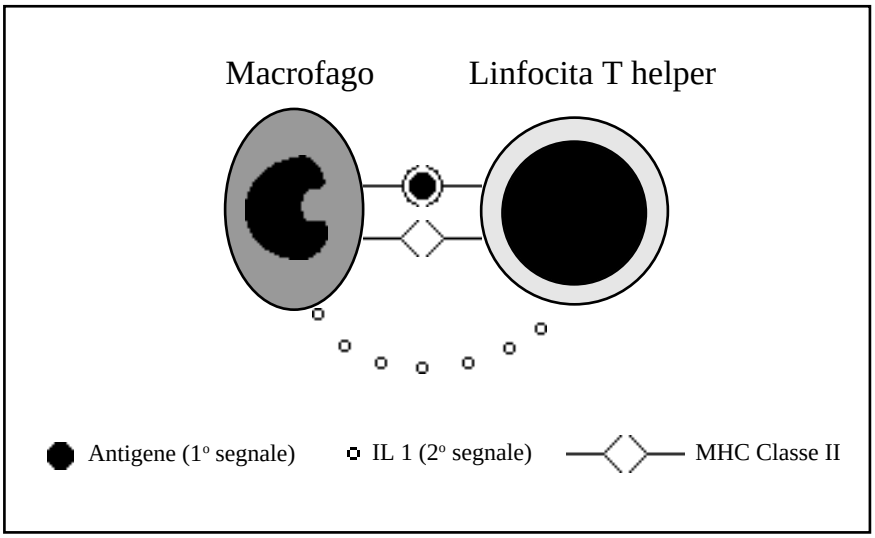


Figura 2. Presentazione ed attivazione. La presentazione dell'antigene eterologo da parte del macrofago costituisce, insieme alla liberazione di interleuchina 1 (IL 1), il segnale per l'attivazione del linfocita T helper.

Completato tale processo i linfociti T helper producono interleuchina 2 (TSF: Thymocyte Stimulating Factor) la quale consente e mantiene la proliferazione del clone cellulare implicato. Importante segnalare che si tratta di una stimolazione autocrina, ossia l'IL2 regola sia la propria produzione, sia l'espressione dei suoi recettori (feedback). In seguito a tale attivazione si ha la liberazione di fattori solubili che stimolano l'espansione clonale e la differenziazione dei linfociti B, come il BCGF (B Cell Growth Factor) (Fig. 3).

Accanto ai fattori specifici per la produzione di anticorpi rilasciati dai linfociti T,

vengono liberate numerose molecole (linfochine) che sono attive sulle cellule macrofagiche. Il significato di ciò è la segnalazione a tali cellule di potenziare il loro compito, sia in termini qualitativi (aumento dell'attività fagica) che in termini quantitativi (chemiotassi ed inibizione della migrazione).

In particolare la secrezione di Interferon gamma (IFNγ), come è stato dimostrato (7), aumenta la sintesi di perossido di idrogeno nei macrofagi potenziando così il loro potere distruttivo nei confronti delle molecole fagocitate.

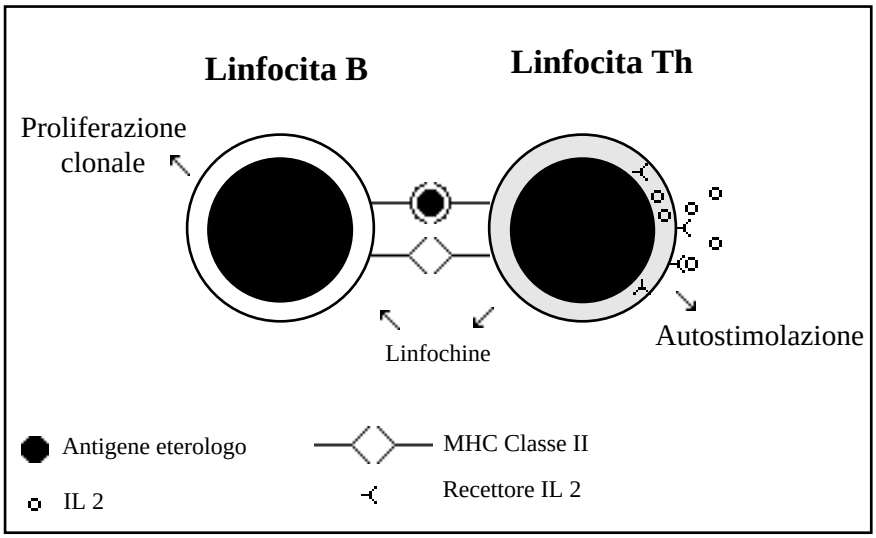


Figura 3. Autostimolazione e cooperazione tra i linfociti T e B. L'attivazione del T helper comporta la liberazione di interleuchina 2 e la comparsa di recettori per l'IL 2 sulla membrana stessa del linfocita T, allo scopo di mantenerne l'attivazione che, mediante linfochine, induce la proliferazione dei linfociti B.

Generalità sulle pteridine

Tra le varie molecole che le cellule implicate nella risposta immune sintetizzano, alcune sono necessarie al potenziamento della fagocitosi, come precedentemente avevamo accennato. Tali sostanze fanno parte della famiglia delle pteridine, una serie di molecole che, nei Vertebrati superiori, ha come suo più comune rappresentante l'acido folico (8). Con il termine pteridine, però si indica genericamente qualsiasi composto he contenga l'anello pteridinico (Fig. 4); Pfleiderer ha proposto, invece, di indicare con il termine di pterine tutte quelle pteridine che posseggono un gruppo aminico in posizione 2 ed un gruppo ossidrilico in posizione 4 (2,amino 4,idrossipteridine) (9).

Le pterine naturali in forma non coniugata sono presenti negli Invertebrati e,

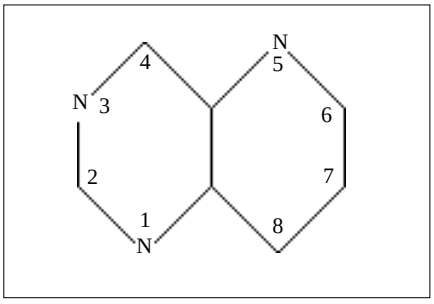


Figura 4. Struttura dell'anello pteridinico.

precisamente, sono gran parte rappresentate nei pigmenti rossi, gialli ed aranciati delle ali delle farfalle (leucopterina, xantopterina, eritropterina e sepiapterina); in tali animali non hanno un ruolo ben preciso, anzi si pensa costituiscano un materiale di rifiuto data la loro fissazione irreversibile.

Più utili sono, invece, le pterine presenti negli occhi di altri insetti ove, pur non partecipando al processo della visione, fungono da filtro per i raggi UV; similare il ruolo svolto da tali sostanze nella pelle di Pesci, Anfibi e Rettili in quanto partecipano alla sintesi della melanina. Negli organismi superiori, assumono il ruolo di cofattori di enzimi e, nel caso di pterine coniugate, quello di enzimi stessi (acido folico).

Da esperimenti condotti su larve di insetti si è potuto osservare come le pterine derivino direttamente dal catabolismo delle purine; in particolare la Guanosina trifosfato (GTP) è lo specifico precursore di questi composti per intervento della GTP ciclo idrolasi (10).

Tale enzima rompe l'anello imidazolico e trasforma la GTP in 2, amino 6, idros-

sipirimidina; quest'ultima subisce, a livello del ribosio, un riarrangiamento con saldatura dell'anello e conseguente trasformazione in 7, 8 diidroneopterina trifosfato (Fig. 5).

La perdita del gruppo fosforico e la assunzione della configurazione sterica -destro- comporta la trasformazione in D-neopterina substrato dell'enzima diidroneopterina sintetasi che agisce epimerizzandola in forma -levo e riducendole il gruppo idrossile: la molecola che ne risulta prende il nome di L-eritro 5, 6, 7, 8 tetraidrobiopterina (BH4) (Fig. 6) (11).

Questa biopterina funge da donatore di protoni nella idrossilazione della fenilalanina in tirosina negli epatociti e nella idrossilazione della tirosina in L-DOPA e del triptofano in 5, idrossitriptofano nei tessuti preposti alla sintesi delle catecolamine.

Dopo essere stata utilizzata dalle idrossilasi (fenilalanina idrossilasi e tirosina idros-

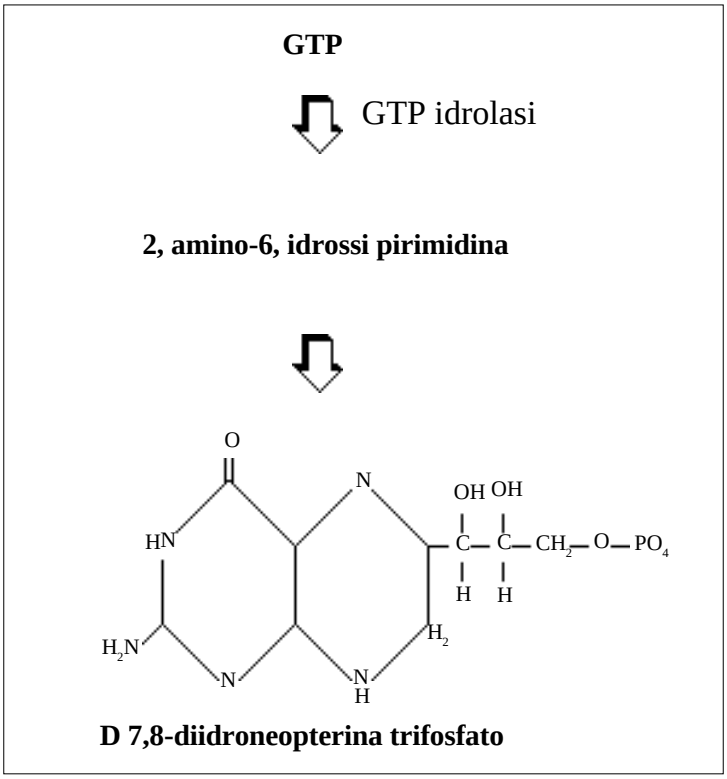


Figura 5. Sintesi della diidroneopterina a partire dalla guanosina trifosfato, catalizzata dall'enzima GTP-idrolasi. GTP=guanosina trifosfato.

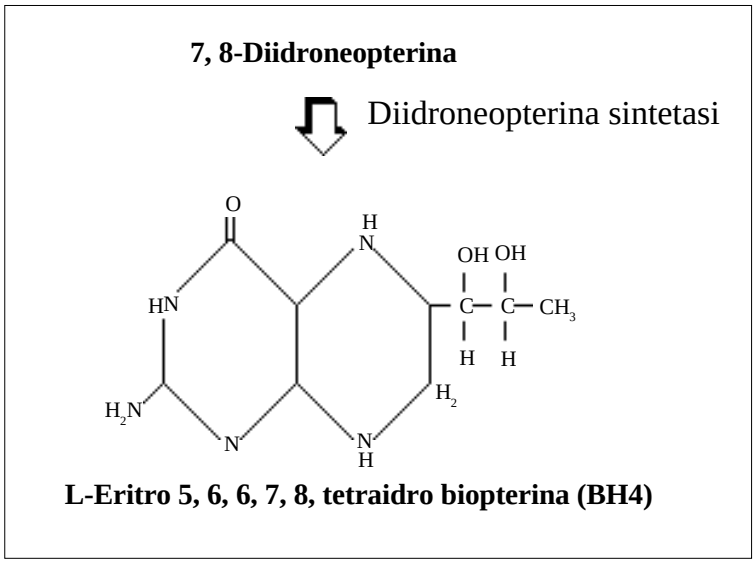


Figura 6. Sintesi della Biopterina a partire dalla diidroneopterina, catalizzata dall'enzima diidroneopterina-sintetasi.

silasi, rispettivamente), la BH4 si riduce a BH4 chinoide la quale, per intervento della diidro-pteridina reduttasi (DHPR) ritorna allo stato ossidato.

Già nel 1978 è stato riportato un caso di iperfenilalaninemia in un bambino con errore congenito del metabolismo delle pterine. Questo caso ha aperto le porte all'utilizzo delle pterine quali marcatori dei deficit enzimatici che sono alla base delle malattie del metabolismo. In particolare la riduzione dell'attività della DHPR è la causa di un disordine metabolico noto come iperfenilalaninemia maligna che è riscontrabile nell' 1-3% dei neonati iperfenilalaninemici; in tale patologia si ha l'accumulo di diidroneopterina per isomerizzazione spontanea della BH4 chinoide, che non può essere ossidata.

Questo accumulo interferisce con le funzioni di cofattore della BH4 ed, inoltre, con il metabolismo dei folati (12, 25). A tutt'oggi si conosce anche un ulteriore blocco nella formazione di BH4 rappresentato dal deficit di cicloidrolasi, il quale impedisce la trasformazione del GTP a diidroneopterina trifosfato (NH_2P_3).

In tale disordine le concentrazioni urinarie della neopterina (NH_2) e della biopterina (BH4) sono basse. Da tutto ciò si comprende come la pratica pediatrica si possa giovare della determinazione delle pterine e della DHPR per la diagnosi precoce delle iperfenilalaninemie.

Applicazioni cliniche del dosaggio della neopterina

Sebbene la biochimica della neopterina sembri portare alla conclusione che il suo utilizzo ai fini medici sia esclusivamente di pertinenza neuropediatrica, in realtà le applicazioni di questo metabolita si estendono anche ad altri campi della medicina generale. Si può affermare che tre sono le condizioni cliniche in cui si osservano innalzamenti della neopterina serica od urinaria:

1. patologie alla cui base troviamo l'attivazione dell'immunità cellulo-mediata;
2. situazioni di alterata funzione renale che portano ad innalzamento della neopterina serica, con normale rapporto neopterina / creatinina urinarie;
3. diagnosi differenziale di fenilchetonurie che hanno, però, un'incidenza estremamente bassa.

Di queste tre condizioni si prenderà in ampia considerazione solamente la prima. Infatti, della terza si è già discorso nel paragrafo precedente e la sua utilità resta confinata a pochi casi clinici, mentre la seconda applicazione riveste un significato secondario; in effetti, tale alterazione dipende, essenzialmente, dall'alterata funzione di filtrazione del rene, quindi la neopterina subisce lo stesso accumulo ematico di altri metaboliti cellulari (creatinina, azoto, ecc.).

Tuttavia, proprio in casi di rigetto di trapianti renali si è assistito ad un precoce innalzamento dei valori di neopterina urinaria; questo ha, in un certo senso, sviato i sospetti, facendo assumere al rene il ruolo di primo indiziato nella ricerca delle possibili cause di elevata neopterinuria (13).

Al fine di far luce sulle possibili cause, i livelli serici di neopterina e di Interferone gamma sono stati contemporaneamente determinati durante il decorso post-trapianto.

Si osservò che, sia pure distinti in termini quantitativi, gli incrementi di neopterina si accompagnavano sia ad infezioni (14), sia a rigetti, mentre i livelli di INF aumentavano solo durante le infezioni.

Questo potrebbe essere spiegato come una produzione estremamente localizzata di IFNγ nei rigetti, con impossibilità di passaggio di questa grande molecola nel circolo, cosa che può accadere invece alla neopterina, date le sue più piccole dimensioni.

Queste osservazioni portarono a considerare l'elevazione della neopterina come il prodotto della attivazione dell'immunità cellulo mediata, in accordo con gli eventi, se si considera che tali variazioni precedono di parecchi giorni sia le infezioni intercorrenti, sia la ben più temibile "graft versus host disease".

L'entità patogenetica di fondo che porta all'aumento della sintesi di neopterina è, come detto, l'intervento del sistema immunitario, prova ne siano le numerose osservazioni che ora si descriveranno, in cui la neopterina è indice precoce, seppure non specifico dell'una o dell'altra patologia, della lotta che vede protagonisti linfociti e cellule presentanti l'antigene (APC: antigen presenting cells).

Malattie infettive

Infezioni virali

Fin dal 1979 apparvero, in letteratura, indicazioni riguardanti gli elevati livelli di neopterina urinaria in casi di infezioni virali; ad esempio, furono osservati in 4 ragazzi con varicella già 1-2 giorni prima della comparsa dell'esantema.

Similmente furono riscontrati alti valori di neopterinuria durante infezioni rubeoliche ed influenzali (15).

Alti livelli di neopterina serica sono stai riscontrati invariabilmente in soggetti con epatiti virali; tali livelli erano comunque più alti di quelli riscontrati in altre patologie epatiche non sostenute da virus. In particolare un'elevata neopterinemia distingue le epatiti croniche non A non B asintomatiche dalle epatopatie croniche di altra natura anch'esse pauci-sintomatiche (es. steatosi) (16).

I livelli di neopterina sono anche indicativi di risoluzione delle infezioni, come nel caso delle citomegalovirosi ove il declino della neopterina coincide con la comparsa, nel siero, di anticorpi specifici anti-CMV (17).

Dai dati esposti, si può concludere come la neopterina sia un potente marcatore di infezioni virali utilizzabile anche per la diagnosi di patologie sostenute da virus sconosciuti.

Dell'infezione da HIV e del ruolo della neopterina come marcatore degli stadi della malattia si parlerà più diffusamente in seguito.

Infezioni batteriche e protozoarie

Una neopterinuria elevata venne riscontrata nell' 84% dei pazienti con tubercolosi polmonare (18), correlando con l'attività della malattia, potendo quindi utilizzare la neopterina nel monitoraggio terapeutico; in modo similare si hanno alti valori in casi di lebbra (19), sebbene alcuna differenza fu osservata tra la forma lepromatosa e quella tubercoloide.

Studi condotti su pazienti con o senza complicanze settiche durante i loro ricoveri in Unità di Terapia Intensiva affermarono il valore diagnostico / predittivo della neopterina nel differenziare sia i pazienti che avrebbero sviluppato complicanze settiche, sia coloro che sarebbero sopravvissuti alle sepsi (20).

Livelli estremamente elevati di neopterinuria furono osservati in pazienti con infezioni malariche in regioni non endemiche. Fu allora condotto uno screening anche in regioni oloendemiche; i risultati mostrarono come i livelli di neopterina urinaria erano considerevolmente più bassi nei soggetti malarici, ma provenienti da aree endemiche, se confrontati con quelli di soggetti di età, sesso e stadio di infezione simile, ma provenienti da regioni a bassa o nulla endemia (21).

Malattie autoimmuni

Artrite reumatoide

L'attività clinica dell'artrite reumatoide è stata correlata con i livelli di neopterina in recenti studi pilota; valori significativamente elevati di neopterina furono riscontrati in pazienti con AR in stadio I rispetto a quelli riscontrati in pazienti con osteoartrosi non infiammatorie.

Correlando i livelli di neopterinuria con quelli di VES, proteina-C, emoglobina, con la presenza del fattore reumatoide e con la conta dei leucociti fu dimostrato, mediante analisi multifattoriale, che la triade neopterina, proteina-C e VES è il miglior fattore predittivo dell'attività clinica della malattia, ed il contributo della neopterina è statisticamente dominante (22).

La produzione di neopterina a livello locale nelle articolazioni colpite da AR è stata dimostrata confrontando i dati provenienti da liquidi sinoviali di pazienti con AR e quelli di pazienti con patologie non infiammatorie; ad avvalorare tale ipotesi fu la conferma che i livelli di neopterina sinoviale erano molto più alti di quelli ematici.

Colite ulcerosa e Morbo di Crohn

Il confronto tra la neopterinuria e i comuni marcatori della colite ulcerosa ha confermato il significativo apporto della neopterina alla pratica clinica quale fattore di prognosi ed attività della malattia. Parimenti, si è osservata la medesima funzione nel Morbo di Crohn, ove è stato dimostrato come si possa ugualmente utilizzare la triade neopterina, ematocrito e frequenza delle scariche alvine in luogo del più complesso CDAI (Crohn' disease activity index) (23, 24).

Tiroiditi autoimmuni

Da ricerche condotte su pazienti con differenti tipi di patologie tiroidee, venne stabilito che livelli di neopterina elevati correlano con forme di tireotossicosi autoimmuni e che tali livelli si normalizzano durante il trattamento, in concomitanza con gli ormoni tiroidei. Dopo tali risultati, è stato proposto di utilizzare la neopterina come fattore discriminativo tra tiroiditi autoimmuni e non-autoimmuni ed, ancora, come marcatore nel monitoraggio della terapia (26).

Malattie proliferative

Numerose neoplasie vedono implicata la neopterina in qualità di marcatore, sia pure aspecifico, dei processi proliferativi; le neoplasie più studiate con questo indice di attivazione immunologica sono quelle ginecologiche, dal cancro ovarico alla neoplasia della cervice uterina. Anche in tali disordini, la neopterina (urinaria o sierica) si è dimostrata in grado di differenziare neoplasie a decorso nettamente sfavorevole da quelle più benigne (27, 28).

In malattie proliferative di competenza ematologica, l'elevazione della neopterinemia ha spesso preannunciato disordini gravi quali leucemie mielocitiche, linfomi non-Hodgkin e mielomi, inoltre si è rivelato un ottimo e sensibile indicatore nel folow-up terapeutico.

Nell'ambito dei tumori genitourinari (prostata soprattutto), polmonari e gastrointestinali la neopterina assume, secondo diversi Autori, un ruolo diagnostico che varia dal 50 al 70 % dei casi (29).

La neopterina urinaria si è scoperto essere un indicatore di ripresa dei melanomi maligni in soggetti precedentemente sottoposti ad exeresi chirurgica. L'aumento di neopterina permette di individuare i pazienti a rischio che, sia pure clinicamente silenti, hanno metastasi cerebrali, epatiche o polmonari da melanoma maligno (45).

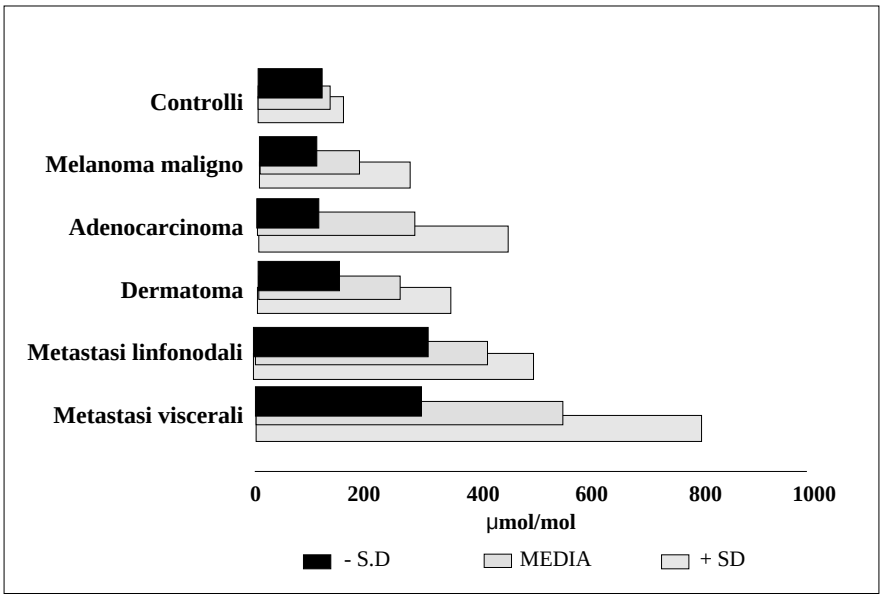


Figura 6 bis. Valori di neopterina urinaria in alcuni tumori maligni. (da Autori vari.) Valori di Neopterina espressi in µmol per mol di creatinina).

Ruolo dei perossidi nella fagocitosi

Il ruolo assunto dai granulociti e monociti nei processi di difesa anti infettiva si riassume, secondo le più semplici cognizioni di immunologia, nel meccanismo di fagocitosi delle particelle estranee all'organismo.

Tale evento, di estrema importanza nell'economia biocentrica di un organismo, precede filogeneticamente l'anticorpopoiesi e, come è già stato detto, non può essere assolutamente sostituito da quest'ultima; anzi affermiamo che l'immunità umorale è il perfezionato sistema di riconoscimento e memoria degli antigeni not-self che ottimizza il processo di eliminazione di questi ultimi; per usare il linguaggio dell'informatica possiamo comparare la fagocitosi ad una sorta di hardware per cui è stato messo a punto un software specifico (algoritmo ottimale) rappresentato dall'immunità umorale.

Tale concatenamento di eventi è ancor più evidenziato se si tiene presente il ruolo svolto dai monociti / macrofagi che, a differenza dei più primitivi granulociti, non si limitano a distruggere gli antigeni, ma ne analizzano la struttura prima per poterla presentare alle cellule competenti dell'immunità umorale (donde il nome di APC: antigen presenting cells).

Non ci soffermeremo sulle tecniche di adesione ed endocitosi, volendo portare l'attenzione sui meccanismi di uccisione dei batteri che le cellule fagocitiche attuano una volta completato il processo di ingestione.

Essenzialmente i processi attraverso i quali avviene l'inattivazione batterica possono riassumersi in due categorie: 1) sistemi ossigeno dipendenti e 2) sistemi ossigeno indipendenti (fig 7).

Sistemi ossigeno dipendenti

- Radicali superossido
- Perossidi
- Ossigeno singoletto

Sistemi ossigeno indipendenti

- Lattoferrina
- Lisozima
- Proteasi

Figura 7. Sistemi ossigeno dipendenti ed indipendenti.

I sistemi ossigeno indipendenti, com'è intuibile, utilizzano enzimi (proteasi, lisozima, ecc.) come fattori destruenti gli schizomiceti, mentre i sistemi ossigeno dipendenti sono indotti dall'attivazione dei neutrofili qualora una diversa sostanza alteri la carica di superficie della loro membrana cellulare.

Tale attivazione porta (che si espleti o no la fagocitosi) allo switch delle NADPH ossidasi associate al plasmalemma, con conseguente riduzione dell'O_2 a radicale superossido ($O_{2.}$). In presenza di superossido dismutasi, due molecole di superossidi portano alla formazione di perossido di idrogeno il quale serve come base per altre reazioni che hanno come risultato la produzione di ossigeno singoletto, molecola altamente reattiva che va a scompaginare la delicata struttura dei protidi e nuclidi batterici (Fig. 8).

La cellula fagocitante si difende dai suoi stessi prodotti tossici (H_2O_2, ossigeno singoletto, ecc) mediante catalasi (che scindono il perossido di H in acqua e O_2) e molecole "scavengers" (spazzine) che reagiscono con i radicali formatisi per annullarne la reattività (es. glutatione).

L'importanza dei perossidi è, quindi, parallela all'importanza che assume la fagocitosi nell'ambito delle difese immunologiche, tant'è che tali sostanze sono strettamente controllate sia dalla stessa cellula mononucleata, sia dalle cellule accessorie del sistema immune.

La neopterina come co-fattore enzimatico

La sintesi di perossido d'idrogeno all'interno dei macrofagi è controllata dalla produzione di Interferone Gamma (INF γ) (7); quest'ultimo è prodotto dai linfociti attivati e fa parte delle numerose linfochine liberate in corso di stimolazione antigenica (v. pag. 12). La produzione di perossidi è resa possibile mediante la degradazione del triptofano ad acido nicotinico onde generare NAD e NADP noti accettori di elettroni.

Tale metabolismo possiede due vie principali: una via prevede la trasformazione del triptofano, da parte dell'enzima indoloamina 2, 3, diossigenasi (IOD) la cui produzione è indotta dall'INFγ, in chinureina, quest'ultima in acido antranilico che viene poi idrossilato in posizione 3 per terminare ad acido nicotinico; l'altra via, dalla chinureina passa alla 3 OH chinureina, poi all'acido 3 OH antranilico e segue come la prima (Fig. 8). E' stato dimostrato (30) come la prima via è dominante nei macrofagi, mentre la seconda nei fibroblasti e cellule HeLa.

L'idrossilazione dell'acido antranilico, nei macrofagi, è catalizzata dall'enzima acido antranilico 3 idrossilasi che possiede come cofattore la tetraidroneopterina, la quale

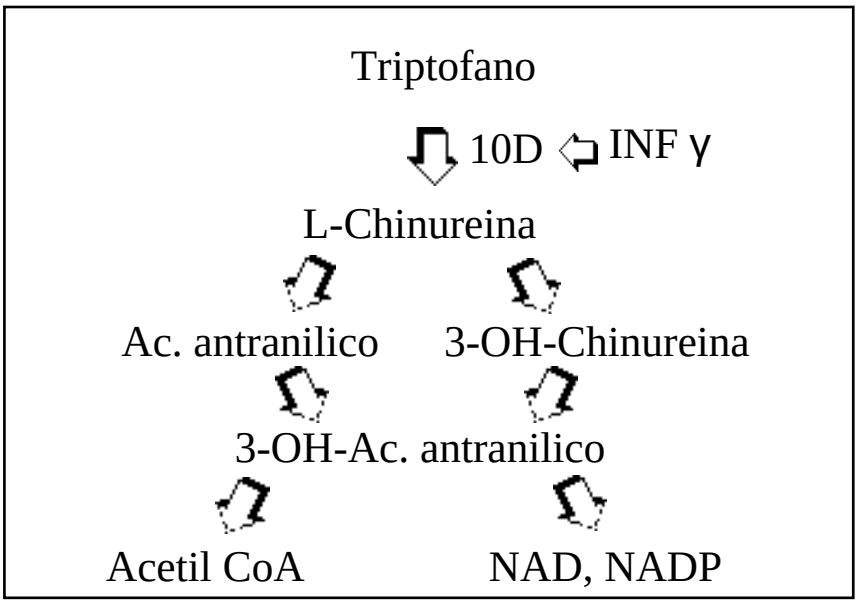


Figura 8. Trasformazione del triptofano in NAD.

espleta, quindi, un importante ruolo di regolazione all'interno del meccanismo della distruzione delle particelle fagocitate; essa, inoltre, non venendo metabolizzata in quanto coenzima, si riversa nel torrente circolatorio per diffusione e la sua titolazione sierica o urinaria diventa un parametro quantitativo dell'attività del sistema immunitario in toto. Infatti, da studi recenti è emerso come la produzione di neopterina da parte dei macrofagi sia direttamente associata alla produzione di INFγ (30) da parte dei linfociti T e quindi come l'aumento di questa nel siero rifletta l'attivazione della popolazione T linfocitaria da parte di molteplici insulti immuni (31).

Tutto questo è ben compreso osservando che l'azione dell'INFγ si espleta in due punti chiave:

1) a livello della GTP cicloidrolasi con la formazione di neopterina;
2) a livello dell'enzima IOD con relativa degradazione del triptofano.

Studi recentissimi (32) hanno però dimostrato come la produzione di questi due enzimi sia legata non solo all'INFγ, ma anche alla presenza di lipopolisaccaridi della parete batterica e Tumor Necrosis Factor alpha (TNFα), ovvero, più correttamente, alla collaborazione tra questi.

In tutti i casi il controllo della produzione dei perossidi è in parte svolto dall'enzima IOD ed in parte dalla neopterina, in pratica a monte e a valle rispettivamente del punto di biforcazione della via di degradazione del triptofano.

Riassumendo, il controllo linfocitario della fagocitosi è unico nei fibrociti (enzima IOD) e doppio nei macrofagi / monociti (IOD + neopterina), segno dell'importanza della regolazione dei rapporti tra le cellule immunocompetenti (fig. 9).

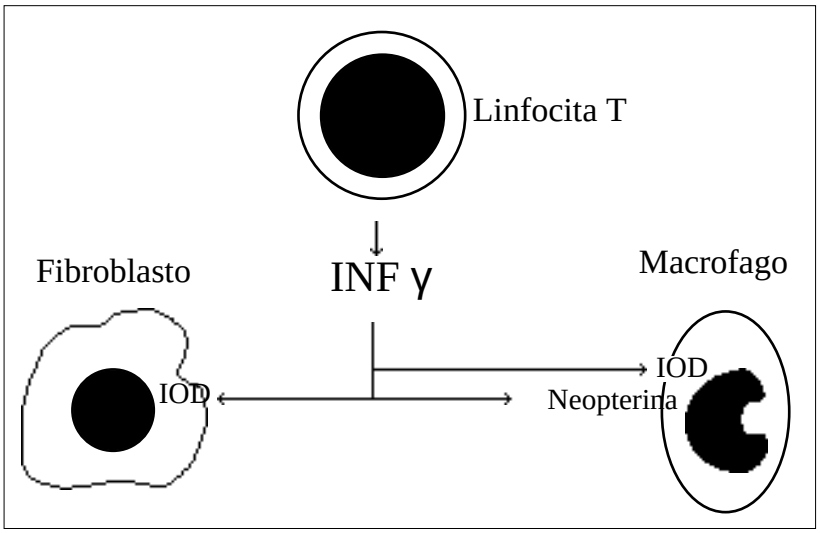


Figura 9. Regolazione della fagocitosi. L'interferone γ liberato dai linfociti T controlla con gli enzimi IOD e diidroneopterina sintetasi, regolando così la produzione di NAD.

L'infezione da HIV: aspetti immunopatogenetici

Il virus dell'immunodeficienza umana acquisita (HIV) appartiene alla famiglia dei Retroviridae i quali possiedono tutti una caratteristica comune: la presenza di un enzima particolare (Trascrittasi Inversa) in grado di costruire DNA a partire direttamente dall'RNA virale. L'HIV possiede un'attività citotossica diretta, con formazione di cellule giganti che vanno incontro a degenerazione. Le proprietà biologiche dell'HIV si potrebbero così riassumere:

- tropismo specifico per la linea T linfocitaria CD4+ (Mc Dougall 1985), ma anche per macrofagi ed alcune cellule del sistema nervoso centrale;
- presenza di Trascrittasi Inversa;
- assenza di capacità trasformante;
- attività citopatica sui linfociti T;
- non reattività crociata con i componenti di HTLV I e HTLV II (46).

L'alterazione clinica più eclatante osservata nei soggetti colpiti dall'infezione da HIV è la profonda alterazione dell'immunità cellulo-mediata, caratterizzata da una grave disfunzione e deplezione dei linfociti T helper (linfociti CD4+). L'HIV è anche responsabile di manifestazioni di ordine ematologico, quali trombocitopenia ed anemia, quest'ultima meno frequente (47). Costantemente è presente un'alterazione delle immunoglobuline sieriche che si rende evidente sia al dosaggio nefelometrico con uno spiccato incremento delle IgG, sia all'elettroforesi con un'ipergammaglobulinemia a larga base d'impianto.

Quest'ultima alterazione è anch'essa correlabile con la disfunzione dei linfociti CD4+, che di riflesso induce una risposta anticorpale imponente, ma del tutto aspecifica.

La diretta responsabile del legame tra HIV e linfociti helper è la molecola CD4 (48) la quale è coinvolta nel riconoscimento degli antigeni di superficie del virus; pertanto, il legame tra il virus ed il linfocita CD4+ è altamente specifico, pur essendo possibile il legame con i recettori di membrana di altre popolazioni cellulari (macrofagi e cellule del SNC), in quanto è ammessa una discreta somiglianza tra le molecole delle CD ed i complessi maggiori di istocompatibilità.

Sebbene il riscontro ultimo nei soggetti colpiti dall'HIV sia la diminuzione del numero dei linfociti T4, a tale fenomeno si perviene solo dopo un susseguirsi di eventi che alterano direttamente la collaborazione tra le cellule immunocompetenti; la presenza di antigeni virali costantemente espressi sulla superficie di cellule informatrici quali i linfociti T4, porta alla incessante stimolazione ed attivazione delle cellule accessorie quali macrofagi e APC che si ritrovano impegnate in un tentativo di clivaggio dell'HIV senza possibilità di successo, di conseguenza le possibili invasioni da germi opportunisti non trovano un apparato difensivo efficiente in grado di contrastarle.

La neopterina come marker dell'infezione da HIV

Gli studi finora esposti hanno dimostrato il legame esistente tra linfociti T e macrofagi / monociti; i primi, tramite molecole di "colloquio", regolano l'attività degli ultimi e gli ultimi, tramite i loro metaboliti (TNF, neopterina ed altri), inibiscono o accentuano l'attività linfocitaria. Quella da HIV è il prototipo di un tipo di infezione che provoca una costante attivazione dei linfociti T con conseguente aumento della neopterina nel siero (33) per continua stimolazione dei macrofagi da parte dell'INFγ (34).

In accordo con il concetto ormai diffuso che prima di essere una malattia da immunodeficienza l'infezione da HIV è una sindrome da immunoattivazione, il nostro gruppo, sulla scorta dell'esperienza dei colleghi austriaci, principali studiosi delle pteridine, ha intrapreso diversi studi sul ruolo diagnostico della neopterina in corso di tale infezione.

Da studi preliminari (35) condotti su un piccolo numero di pazienti, osservammo che la neopterina correlava meglio del numero dei CD4 con la stadiazione Walter Reed e quindi, con la progressione della malattia. Utilizzando, in seguito, casistiche più ampie, confermammo tali preliminari osservazioni (36), sebbene riscontrammo che la neopterina era poco differenziativa negli stadi di asintomaticità o paucisintomaticità dell'infezione.

In effetti, non ci era possibile distinguere nelle prime fasi della malattia, un paziente in via di peggioramento da un paziente stazionario, nonostante venne dimostrato come i livelli di neopterinemia correlassero con la stadiazione istologica dell'infezione da HIV (37). Un indice che, invece, si adattava molto meglio con la progressione clinica, trovammo essere il rapporto CD4+ / neopterina (38, 39).

Tale indice, che orientativamente va da un valore medio di 80 nei pazienti asintomatici fino a ridursi a 1 in quelli con AIDS conclamato, possiede il vantaggio di includere sia l'andamento della immunodepressione come calo dei CD4+, che la loro immunoattivazione rappresentata dall'elevazione della neopterina; infatti tale rapporto esprime le migliaia di cellule per moli di neopterina, quindi, un parametro prezioso ed efficace nel monitoraggio della storia naturale ed anche della terapia con farmaci antiretrovirus sperimentali (40, 41).

In più recenti lavori, riguardanti però piccole casistiche, abbiamo analizzato il rapporto CD4 / neopterina in correlazione con l'andamento dell'antigenemia p24, anch'esso marker della progressione verso l'AIDS (42); in tali studi (43) si è potuto osservare come la presenza o assenza dell'antigene p24 si rifletta non solo sulla diminuzione dei CD4, ma anche sull'immunostimolazione dei linfociti e conseguente loro attacco da parte del virus. Fuchs e coll. (44) hanno recentemente provato, inoltre, come il rapporto CD4 / neopterina sia un marcatore prognostico migliore della neopte-

rina stessa, confermando il ruolo importante svolto da questi due parametri come segni laboratoristici della storia naturale dell'infezione da HIV.

Nel maggio 1990 ci è pervenuto un lavoro condotto da Fahey e coll. (49) il quale ha effettuato uno studio di coorte su più di 400 pazienti positivi al test per la ricerca degli anticorpi anti-HIV, clinicamente asintomatici, dal punto di vista immunologico.

Oltre a ormai noti parametri quali CD4+, CD8+, rapporto CD4/CD8, gli Autori hanno preso in considerazione recenti marcatori prognostici annoverando, oltre alla β2 - microglobulina ed all'antigenemia p24, anche neopterina e IL2 solubile; le conclusioni di questi ricercatori sono essenzialmente due: innanzitutto i markers sierologici hanno il pregio di poter essere testati in un secondo tempo (previo congelamento del siero), soddisfacendo anche le esigenze di zone non attrezzate alla citofluorimetria; secondariamente, β2 e neopterina si sono dimostrate le sostanze endogene a miglior significato predittivo di AIDS sia da sole che, con miglior risultato, in combinazione con il numero totale dei CD4+.

Bibliografia

1. Clerici E, Villa ML: Immunologia Generale. 1987 V edizione. Eds UTET / USES. Torino.
2. Gowans JL: Lymphocytes. Harvey Lect Ser 64, pg 87. 1970.
3. Katz DH, Benacerraf B: The regulatory influence of activated T cells on B cell responses to antigen. Adv Immunol 1972; 15: 1.
4. Kensky AM, Reiss CS, Mier JW, et al: Long-term human cytolytic T cell lines allospecific for HLA DR6 antigens are OKT4+. Proc Nat Acad Sci USA 1982; 79: 2365.
5. Robertson M: The present state of recognition. Nature 1985; 317: 768.
6. Feldman M, Nossal JGV et al in Transplant Rev 1972; 13: 19.
7. Nathan CF: Peroxide and pteridine: a hypotesis on the regulation of macrophage antimicrobial activity by interferon gamma. Interferon 1986; 7: 125 143.
8. Blacley RL in Neuberger A, Tatum E (Eds): The biochemistry of Folic Acid and Related Pteridines. 1969, North Holland, Amsterdam.
9. Pfleiderer W in Chemistry and Biology of Pteridines (Eds). 1975 de Gruyter . Berlin.
10. Nichol CA, Smith GK, Dutch DS: Biosynthesis and metabolism of tetrahydrobiopterin and molybdopterin. Ann Rev Biochem 1986; 54: 729 764.
11. Marchetti M. in Enciclopedia Medica Italiana (Eds) 1985 vol 12 col. 1997. UTET / USES Torino.
12. Giovannini M, Longhi R, Parini R, et al in Schwarz Tiene Manuale di Pediatria (Eds) 1988 cap 15 pg 22. IV ed. Ambrosiana Milano.
13. Woloszczuk W, Schwarz M, Havel M et al: Neopterin and Interferon gamma serum levels in patients with heart and kidney transplantation. J Clin Chem Clin Biochem 1986; 24: 729 734.
14. Woloszczuk W, Troppmair J, Leiter E, et al: Relationship of interferon gamma and neopterin levels during stimulation with alloantigens in vivo and in vitro. Transplant 1986; 41: 716 719.
15. Wachter H, Hausen A, Grassmayr K: Eroehte Ausscheidung von Neopterin im Harn von Patienten mit malignen Tumoren un mit Viruserkrankungen. Hoppe Seyler's Z Physiol Chem 1979; 360: 1957 1960.
16. Prior C, Fuchs D, Hausen A, et al: Potential of urinary neopterin excretion in differentiating chronic non A non B hepatitis from fatty liver. Lancet 1987; ii: 1235 1237.
17. Reibnegger G, Fuchs D, Grubaner G, Hausen A, Wachter H: Neopterin excretion during incubation period, clinical manifestation and reconvalescence of viral infection. In: Pfleiderer W, Wachter H, Curtius HC Eds. Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines. Vol 3. Berlin New York W. de Gruyter 1984; 433 437.
18. Fuchs D, Hausen A, Kofler M, et al: Neopterin as an index of immune response in patients with tuberculosis. Lung 1984; 162: 337 346.

19. Schmutzhard E, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H: Evaluation of urinary neopterin, a marker of cell mediated immune response, in patients with leprosy. East Afr Med J 1986; 577 580.
20. Strohmaier W, Redl H, Schlag G, Inthorn D: Elevated D-erytro-Neopterin levels in intensive care patients with septic complications. Crit Care Med 1987; 15: 757 760.
21. Reibnegger G, Fuchs D, Hausen A, et al: The dependence of cell-mediated immune activation in malaria on age and endemicity. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1987; 81: 729 733.
22. Reibnegger G, Egg D, Fuchs D, et al: Urinary neopterin reflects clinical activity in patients with rheumatoid arthritis. Arthrit Reum 1986; 29: 1063 1070.
23. Fuchs D, Granditsch G, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H: Urinary neopterin excretion in coeliac disease. Lancet 1983; ii: 463 464.
24. Prior C, Bollbach R, Fuchs D, et al: Urinary neopterin, a marker of clinical activity in patients with Crohn's disease. Clin Chim Acta 1986; 155: 11 12.
25. Smith I: The hyperphenylanalinemias. In: LLoyd JK, Scriver CR Eds. Genetic and metabolic disease. London Butterworths 1985: 166 200.
26. Shwedes U, Teuber J, Schmidt R, Usadel KH. In: Acta Endocrinol 1986; 111: 51 52.
27. Reibnegger G, Bichler A, Dapunt O, et al: Neopterin as a prognostic indicator in patients with carcinoma of the uterine cervix. Cancer Res 1986; 46: 950 955.
28. Reibnegger G, Hetzel H, Fuchs D, et al: Clinical significance of neopterin for prognosis and follow-up in ovarian cancer. Cancer Res 1987; 47: 4977 4981.
29. Aulitzky W, Frick J, Fuchs D, et al: Significance of urinary neopterin in patients with malignant tumors of the genitourinary tract. Cancer Res 1985; 55: 1052 1055.
30. Werner ER, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H: Proposed biochemical function of tetrahydroneopterin in interferon gamma activated macrophages. In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines. Vol 5 Berlin New York W de Gruyter. 1987: 143 152.
31. Bitterlich G, Szabo G, Werner ER, et al: Selective induction of mononuclear phagocytes to produce neopterin by interferons. Immunobiol 1988; 176: 228 235.
32. Wernwer-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D, et al: Tumor Necrosis Factor alpha and Lipopolysaccaride Enhance Interferon-induced Tryptophan Degradation and Pteridine Synthesis in Human Cells. Pteridines 1989: 370.
33. Fuchs D, Husen A, Reibnegger G, et al: Neopterin as a marker for activated cell-mediated immunity: application in HIV infection. Immunol Today 1988; 9: 150 155.
34. Fuchs D, Hausen A, Hengster P, et al: In vivo activation of CD4+ cells in AIDS. Science 1986.
35. Crocchiolo P, Bedarida G, Lizioli A, et al: Immune response to HIV infection: role of different immunological parameters in disease staging and prognosis. In: Int. Symposium" The immune response to viral infections" Abst Book. Firenze 1988.
36. Lizioli A, Crocchiolo P, Panzeri MP, et al: Serum Neopterin Level (SNL): most significant results in HIV staging if correlated with CD4+ subsets. Biol Chem Hoppe-Seyler. 1989; 370: 389.
37. Crocchiolo P, Lizioli A, Cantaluppi P, et al: Valore diagnostico e prognostico del livello di neopterina serica (SNL) correlato con reperti istologici di pazienti HIV positivi. In: AIDS e Sindromi correlate. II Convegno Nazionale. Milano 1988.

38. Crocchiolo P, Lizioli A, Bedarida G, Panzeri MP: CD4+:neopterin ratio significantly improves correlation with the Walter Reed Staging System if compared with CD4+ and neopterin considered separately. AIDS 1988; 2: 481 482.
39. Crocchiolo P, Bedarida G, Lizioli A, Panzeri MP, Cambié G: Diagnostic and prognostic significance of different immunological parameters and their correlation with the Walter Reed Foundation Staging System (WRS). In: Int. Symposium on AIDS. Final Acts vol. 1. S. Marino 1988.
40. Crocchiolo P, Arcidiacono I, Lizioli A, et al: Role of serum neopterin level in the follow-up of AZT treated patients with HIV infection. In: IV Int. Conference on AIDS. Abst Book n. 2. Stockholm 1988.
41. Crocchiolo P, Arcidiacono I, Lizioli A, et al: Monitoring of HIV infected and AZT treated subjects by different virological and seroimmunological parameters. In: Present and future in the therapy of infections. 2nd Int. Meeting. Abst Book. Punta Ala 1988.
42. Lange JMA, Paul DA, Huisman HG, et al: Persistent HIV antigenaemia and decline of HIV core antibodies associated with transition to AIDS. Brit Med J 1986; 293: 1459 1462.
43. Crocchiolo P, Lizioli A, Bedarida G, et al: CD4+ / neopterin ratio correlates with p24 antigenaemia in HIV infected patients. In: Ve Conférence Internationale sur le SIDA. Abst Book. Montréal 1989.
44. Fuchs D, Spira TJ, Hausen A, et al: Neopterin as predictive marker for disease progression in human immunodeficiency virus-1 infection. In: Ve Conférence Internationale sur le SIDA. Abst Book. Montréal 1989.
45. Mura P, Barriere M, Papet Y, Reiss D: The clinical significance of urinary neopterin in follow-up of patients after exeresis of a malignant melanoma. Pteridines 1989; 1: 19-21.
46. Saal JG, Schneider EM, Muller C, Waller HD: HTLV 1 related agent and non-Hodgkin lymphomas in married couple. Lancet 1987; i: 686.
47. Hersh EM, Mansel PWA, Renben JM, et al: Immunological characterizations of patients with AIDS, AIDS-Related Symptom Complex and related life-style. Cancer Res 1984; 44: 5894.
48. Klatzmann D, Champagne E, Chamaret S, et al: T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. Nature 1984; 312: 767.
49. Fahey JL, Taylor JMG, Detels R, et al.: The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type 1. N Engl J Med 1990; 322 (3): 166-172.

Indice

Istruzioni per gli Autori..... pag. 2
Editoriale..... » 3
Introduzione..... » 5
Principi della difesa immunologica ..... » 6
Cooperazione tra immunità umorale e cellulare: ruolo delle
cellule T e dei macrofagi ..... » 9
Fattori che mediano la collaborazione..... » 12
Generalità sulle pteridine ..... » 14
Applicazioni cliniche del dosaggio della neopterina ..... » 17
Malattie infettive ..... » 18
Infezioni virali..... » 18
Infezioni batteriche e protozoarie ..... » 18
Malattie autoimmuni..... » 19
Artrite reumatoide ..... » 19
Colite ulcerosa e morbo di Crohn ..... » 19
Tiroiditi autoimmuni ..... » 19
Malattie proliferative..... » 20
Ruolo dei perossidi nella fagocitosi ..... » 21
La neopterina come cofattore enzimatico ..... » 23
L'infezione da HIV: aspetti immunopatogenetici..... » 25
La neopterina come marker dell'infezione da HIV..... » 26
Bibliografia ..... » 28
Indice ..... » 31
Volumi pubblicati nella collana Caleidoscopio..... » 33
Volumi pibblicati nella collana Caleidoscopio letterario ..... » 34
Volumi pubblicati nella collana Caleidoscopio (Ed. Spagnola)..... » 34
Pandora ..... » 35
Tribuna Biologica e Medica..... » 35
The Medical Systems Voice..... » 36
Migliorare Sempre ..... » 37
Concorso di Pittura "La scoperta dell'America"..... » 38
Caleidoscopio edizione spagnola (Istrucciones) ..... » 39

Ringraziamento

Un ringraziamento particolare al **Dr. F. D'Agostino** che mi ha cortesemente concesso di terminare la stesura di questo lavoro ed alla **Dr.ssa Maria Pia Panzeri** per avermi aiutato nella revisione definitiva e per aver fornito i dati di laboratorio di tutte le nostre pubblicazioni.

Medical Systems S.p.A. Editore

TECNOLOGIA con Amore

Volumi pubblicati nella collana Caleidoscopio

1. **Rassu S.:** ***Principi generali di endocrinologia.*** **Gennaio '83**
2. **Rassu S.:** ***L'ipotalamo endocrino.*** **Giugno '83**
3. **Rassu S.:** ***L'ipofisi.*** **Dicembre '83**
4. **Alagna., Masala A.:** ***La prolattina.*** **Aprile '84**
5. **Rassu S.:** ***Il pancreas endocrino.*** **Giugno '84**
6. **Fiorini I., Nardini A.:** ***Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza).*** **Luglio '84.**
7. **Rassu S.:** ***L'obesita'.*** **Settembre '84**
8. **Franceschetti F., Ferraretti A.P, Bolelli G.F., Bulletti C.:*****Aspetti morfofunzionali dell'ovaio.*** **Novembre '84.**
9. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (1).*** **Dicembre '84.**
10. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima.*** **Gennaio'85.**
11. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda.*** **Febbraio '85.**
12. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima.*** **Aprile '85.**
13. **Nacamulli D, Girelli M.E, Zanatta G.P, Busnardo B.:** ***Il TSH.*** **Giugno '85.**
14. **Facchinetti F. e Petraglia F.:** ***La ß-endorfina plasmatica e liquorale.*** **Agosto '85.**
15. **Baccini C.:** ***Le droghe d'abuso (1).*** **Ottobre '85.**
16. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda.*** **Dicembre '85.**
17. **Nuti R.:** ***Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale.*** **Febbraio '86**
18. **Cavallaro E.:** ***Ipnosi: una introduzione psicofisiologica.*** **Marzo '86.**
19. **Fanetti G.:** ***AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti.*** **Maggio '86.**
20. **Fiorini I., Nardini A.:** ***Toxoplasmosi, immunologia e clinica.*** **Luglio '86.**
21. **Limone P.:** ***Il feocromocitoma.*** **Settembre '86.**
22. **Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.:** ***Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici.*** **Novembre '86.**
23. **Bolcato A.:** ***Allergia.*** **Gennaio '87.**
24. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio enzimoimmunologico e fluoroimmunologico.*** **Febbraio '87.**
25. **Carani C.:** ***Patologie sessuali endocrino-metaboliche.*** **Marzo '87.**
26. **Sanna M., Carcassi R., Rassu S.:** ***Le banche dati in medicina.*** **Maggio '87.**
27. **Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.:** ***L'amenorrea.*** **Giugno '87.**
28. **Zilli A., Pagni E., Piazza M.:** ***Il paziente terminale.*** **Luglio '87.**
29. **Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.:** ***Patologie prostatiche.*** **Settembre '87.**
30. **Cingolani M.:** ***Manuale di ematologia e citologia ematologica.*** **Novembre '87.**
31. **Kubasik N.P.:** ***Ibridomi ed anticorpi monoclonali.*** **Gennaio '88.**
32. **Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.:** ***Diagnostica del carcinoma mammario.*** **Febbraio '88.**
33. **Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnessi L., Isidori A.:*****Neuroendocrinologia dello stress.*** **Marzo '88.**

34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: ***La fecondazione in vitro.*** **Maggio '88.**
35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: ***Il gozzo nodulare.*** **Giugno '88.**
36. Baccini C.: ***Le droghe d'abuso (2).*** **Luglio '88.**
37. Piantino P., Pecchio F.: ***Markers tumorali in gastroenterologia.*** **Novembre '88.**
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: ***Le leucemie acute infantili.*** **Gennaio '89.**
39. Sommariva D., Branchi A.: ***Le dislipidemie.*** **Febbraio '89.**
40. Butturini U., Butturini A.: ***Aspetti medici delle radiazioni.*** **Marzo '89.**
41. Cafiero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: ***Diagnostica delle neoplasie colo-rettali.*** **Aprile '89.**
42. Palleschi G.: ***Biosensori in Medicina.*** **Maggio '89.**
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: ***HTLV-I.*** **Giugno '89.**
44. Fanetti G.: ***Emostasi: fisiopatologia e diagnostica.*** **Luglio '89.**
45. Contu L., Arras M..: ***Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie.*** **Settembre '89.**
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: ***Immunologia dell'occhio.*** **Ottobre '89.**
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E. : ***Infezioni opportunistiche in corso di AIDS.*** **Gennaio '90.**
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P. : ***La coriogonadotropina umana.*** **Febbraio '90.**
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: ***L'immunologia del diabete mellito*****. Marzo '90.**
50. Cappi F.: ***La trasfusione di sangue: terapia a rischio*****. Aprile '90.**
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: ***I micobatteri.*** **Maggio '90.**
52. Montecucco C.M., Caporali R., De Gennaro F.: ***Anticorpi antinucleo.*** **Giugno '90.**
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: ***Le macchine in terapia intensiva.*** **Luglio '90.**
54. Goracci E., Goracci G.: ***Gli allergo-acari.*** **Agosto '90.**
55. Rizzetto M.: ***L'epatite non A non B (tipo C).*** **Settembre '90.**
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: ***Infezione da HIV-1:patogenesi ed allestimento di modelli animali.*** **Ottobre '90.**
57. La Vecchia C. ***Epidemiologia e prevenzione del cancro (I).*** **Gennaio '91.**
58. La Vecchia C. ***Epidemiologia e prevenzione del cancro (II).*** **Febbraio '91.**
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., e Basaglia G., Gennari D.: ***Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti.*** **Marzo '91.**
60. Bedarida G., Lizioli A.: ***La neopterina nella pratica clinica.*** **Aprile 1991.**

Caleidoscopio

Rivista mensile di Medicina

anno 9, numero 60

user

Direttore Responsabile
Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari
Tel. Fax e Modem (079) 270464

Responsabile Commerciale
Alessandra Pater

Consulenti di Redazione
Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Segretaria di Direzione
Fiorella Gaggero

Servizio Abbonamenti
Elisabetta Ricci
Giuseppe Gambetta

Editore
Medical Systems S.p.A.
TECNOLOGIA

Via Rio Torbido, 40
16165 Genova (Italy)
Tel. (010) 83401 (7 linee r.a.) Numero Verde 1678 01005 (senza prefisso);
Telex 270310 Ideal I.
Telefax (010) 809737- 802257.
La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Caleidoscopio -Ed. Spagnola-
Caleidoscopio letterario, Pandora, Tribuna Biologica e Medica,
The Medical Systems Voice.

Stampa
ATA-Azienda Tipografi Associati
Via G. Torti, 32 C Rosso
16143 Genova - Tel. 010 503320

Registrazione Tribunale di Sassari n. 189 del 6/11/84
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989

Finito di stampare: Aprile 1991
Sped. in Abb. Post. gr. IV/70%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Associata all'USPI
Unione Stampa Periodica Italiana

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:
"L'ECO DELLA STAMPA"
Via Compagnoni, 28 - Milano

SAGGIO FUORI COMMERCIO ESENTE IVA E BOLLA DI ACCOMPAGNAMENTO (Art. 4 - 3/8/6 DPR 627/78)