

## Hoofdstuk 1

Neopterine is voor het eerst in 1963 geïsoleerd uit bijenlarven (1), uit bijen en uit honing (2). Oorspronkelijk wilde H. Rembold deze nieuwe stof, 2-amino-4-hydroxy-(erythro-1',2',3'-trihydroxypropyl)-pteridine, novapterin noemen, om aan te geven dat het een nieuw (latijn: novum) molecule was geïsoleerd uit bijen honing (Latijn: Apis) en met een pterin structuur. De stof werd uiteindelijk "neopterin" genoemd om duidelijk te maken dat het mogelijk de start van een nieuw (Grieks: neo) tijdperk in pteridine onderzoek kon zijn.

Na de identificatie van een verhoogde concentratie van een pteridine als fluorescerende component in de urine van muizen met een Ehrlich ascites tumor in vergelijking met gezonde muizen, werd de overeenkomstige substantie geïsoleerd en gekarakteriseerd uit de urine van mensen. Hierbij werd vastgesteld dat de fluorescerende component welke vroeger geobserveerd werd in de urine van patiënten met een melanoom, neopterine was. Wachter en medewerkers vonden een verhoogde concentratie neopterine uitscheiding in de urine zowel bij groepen patiënten met verschillende kwaadaardige afwijkingen als bij patiënten met virale aandoeningen (3). In vitro studies (4,5,6) lieten zien dat menselijke monocyten/macrofagen neopterine produceren na stimulering met interferon- $\gamma$ . Deze lymfokine wordt geproduceerd door geactiveerde T cellen. Andere cellen kunnen geen meetbare concentraties neopterine produceren na stimulering. Daarom lijkt neopterine productie nauw samen te gaan met de activering van het cellulaire immuun systeem. Deze in vitro experimenten komen overeen met verschillende klinische studies. Hoge neopterine concentraties worden gevonden bij verschillende inflammatoire ziekten en bepaalde maligniteiten en kunnen gemeten worden in serum en urine. Bepaling van de neopterine concentratie in serum en urine van deze patiënten kan aanwijzingen geven over het verloop van de ziekte en het resultaat van de behandeling daar de concentratie snel daalt en normaliseert (7). Patiënten met een immunostimulerende behandeling laten een verhoogde concentratie neopterine zien, waarschijnlijk door de inductie van een immune regulerend systeem die het vrij komen van interferon- $\gamma$  stimuleert. De laatste jaren zijn nieuwe fysiologische functies van neopterine ontdekt zoals het induceren en versterken van de cytotoxiciteit, het induceren van apoptose en de rol van antioxidant (8).

## Hoofdstuk 2

Herhaaldelijk is aangetoond dat in de huid van psoriasis patiënten immuun activatie plaats vindt en bijgevolg leidt tot interferon- $\gamma$  productie door T lymfocyten (9). Fuchs en medewerkers hebben de resultaten beschreven van serum en urine bij zeven patiënten met psoriasis (10). Zij vonden verhoogde neopterine spiegels en een significante correlatie met de ernst van de psoriasis uitgedrukt in de "psoriasis area and severity index" (PASI). Onze resultaten kunnen deze bevindingen niet bevestigen. Wij stelden vast dat de productie en uitscheiding van neopterine door monocyten/macrofagen bij patiënten met een milde tot ernstige psoriasis niet altijd voldoende is om te kunnen meten.

## Hoofdstuk 3

Geactiveerde macrofagen zouden tumor groei kunnen stimuleren. Bij verschillende kwaadaardige aandoeningen zijn verhoogde neopterin concentraties in serum en urine vastgesteld (11). Wij hebben door middel van Radio-Immuno-Assay bij patiënten met mycosis fungoides en Sézary syndroom neopterine gemeten. De resultaten werden vergeleken met patiënten met psoriasis, atopisch eczeem en gezonde personen. De neopterine concentraties waren significant verhoogd bij patiënten met mycosis fungoides in vergelijking met patiënten met psoriasis vulgaris, atopisch eczeem en gezonde controles ( $P < 0.05$ ). Er was geen significant verschil tussen patiënten met een Sézary syndroom en psoriasis vulgaris, atopisch eczeem en gezonde personen ( $P > 0.05$ ). Hoge waarden voor serum neopterine concentraties in deze studie wijzen op de aanwezigheid van geactiveerde T lymfocyten bij patiënten met mycosis fungoides en bevestigen de mening dat langdurige studies hulpvol zouden kunnen zijn in het bepalen van het nut van de neopterine concentratie gedurende de behandeling, voor het vaststellen van een relaps en het effect van de therapie. In het geval van Sézary syndroom zouden meer patiënten moeten geëvalueerd worden.

## Hoofdstuk 4

Neopterine, geproduceerd door interferon- $\gamma$  gestimuleerde macrofagen, is een marker voor CMI activiteit en kan hulpvol zijn om lepra in reactie vast te stellen. Wij hebben neopterine waarden in eenmalige serum monsters van lepra patiënten met en zonder reactie, vergeleken met gezonde controles en zo mogelijk opeenvolgende serum monsters van patiënten met en zonder reactie over een langere tijd. Eenmalige serum neopterine waarden van patiënten met

een reversal reaction (RR) en patiënten met een erythema nodosum leprosum (ENL) waren significant hoger dan bij onbehandelde patiënten. Neopterine waarden van opeenvolgende serum monsters van patiënten met en zonder reactie over lagere tijd genomen lieten zien dat bij RR en ENL de waarde van de neopterine concentratie overeen kwam met het voorkomen van een reactie. De neopterine concentraties daalden over het algemeen na behandeling met corticosteroiden. De neopterine waarde in het serum van patiënten met lepra in reactie kan een nuttige laboratorium parameter zijn om de aanvang, de progressie, invloed van de therapie en genezing vast te stellen. Bij patiënten die reeds Prednison kregen waren de serum neopterine waarden zoals verwacht relatief laag. Bij patiënten niet in reactie waren de serum neopterine waarden onder de 10 nmol/L. Deze studie laat zien dat serum neopterine waarden over het algemeen stijgen gedurende de ontwikkeling van een reactie en dalen tijdens immunosuppressieve therapie. Enkele patiënten niet in reactie lieten eveneens een verhoging zien van de neopterine productie wat het belang van het klinisch beeld benadrukt. Deze bevindingen laten zien dat een prospectieve studie, waarbij serum neopterine waarden vergeleken worden met andere immunologische markers nuttig kan zijn voor het vroeg vaststellen van een reactie. Een dergelijke studie zou eveneens hulpvol kunnen zijn om het verschil vast te stellen tussen een RR reactie en een relaps, een onderscheid dat soms moeilijk te maken is.

## Hoofdstuk 5

Sarcoidose is een inflammatoire multiorgaan ziekte met een onbekende etiologie en gekarakteriseerd door infiltratie van T lymfocyten mononucleaire fagocyten en door de vorming van granulomen in de aangedane organen (12). Tot zo ver zijn er geen parameters bekend die verergering van het ziektebeeld bij long sarcoidose kunnen voorspellen. Bepaling van serum neopterine laat zien dat er bij onbehandelde acute sarcoidose hogere concentraties neopterine voorkomen dan bij gezonde personen. Het meten van de serum neopterine concentratie kan van diagnostische waarde zijn bij long sarcoidose daar dit over het algemeen de aanwezigheid of afwezigheid van een granulomateus proces weergeeft (13). Wij hebben bij patiënten met long sarcoidose en long tuberculose de serum neopterine waarde vergeleken met twee andere biologische parameters: serum angiotensin-converting enzyme (ACE) en lysozyme (LZM). Wij vonden een duidelijk verschil met de drie parameters tussen acuut en chronische sarcoidose. Bepaling van neopterine en ACE kan van hulpvol zijn bij het

differentiëren tussen de twee ziektebeelden. Verhoogde serum ACE waarden werden gevonden zowel bij acute als chronische long sarcoidose. Verhoogde serum neopterine waarden werden alleen gevonden bij een acute vorm van sarcoidose. Serum neopterine concentratie lijkt de belangrijkste parameter bij het vervolgen van een patiënt met chronische sarcoidose tijdens behandeling. Eveneens kan het van belang zijn om een relaps te voorkomen. Er waren geen significant verhoogde serum waarden bij de acute of bij de chronische vorm van sarcoidose voor LZM. Ook bij acute long tuberculose werden dezelfde hoge waarden voor neopterine gevonden als bij acute long sarcoidose wat wijst op activiteit van de macrofaag bij beide ziektebeelden.

## Hoofdstuk 6

De leishmaniasis zijn een groep van ziekten veroorzaakt door *Leishmania* soorten. Daar leishmania een intracellulaire parasiet is, is de verdediging van de gastheer afhankelijk van T cel activiteit. T cellen vervullen een anti-leishmania rol bij de produktie van lymfokinen zoals TNF- $\alpha$  en interferon- $\gamma$  (14,15). In antwoord op signalen welke geïnitieerd zijn door deze factoren zullen geïnfecteerde cellen moleculen produceren die micro-organismen doden, zoals het reactieve zuurstof molecuul (ROI) en stikstofdioxide (NO) (16). Tijdens de immuun respons tegen *Leishmania* spelen macrofagen een belangrijke rol. Macrofagen die blootgesteld zijn aan interferon- $\gamma$  produceren grote hoeveelheden neopterine. Neopterine op zijn beurt is een goede indicator van de cel gemedieerde immuniteit (17). Serologische testen voor VL reageren langzaam op een behandeling en testen voor het aantonen van parasieten zoals lymfklier-, beenmerg- of milt aspiraten zijn niet praktisch voor een vervolgstudie. Alle patiënten met huid leishmaniasis hebben normale waarden voor neopterine voor behandeling; dit is nooit eerder aangetoond en ook de DAT-titer is normaal. Alle patiënten met VL hebben verhoogde serum neopterine waarden en de DAT-titers zijn eveneens positief. Bij patiënten met VL welke vervolgd worden tijdens behandeling dalen de neopterine concentraties tot waarden beneden de bovenste normaal grens (10 nmol/L). Deze studie laat zien dat het meten van serum neopterine concentraties tijdens de behandeling van VL nuttig kan zijn om het effect van de therapie te vervolgen. Dit is mogelijk niet het geval bij gelijktijdige HIV infectie. Uitgebreid studies om de waarde van neopterine te evalueren als een marker van behandeling zijn aan te bevelen.

## Hoofdstuk 7

Serum neopterine waarden geven een nuttig beeld wat betreft de klinische activiteit van een ziekte bij snelle en acute veranderingen. De uitgebreidheid en activiteit van een infectie met intracellulaire bacteriën zoals tuberculose, lepra en leishmania komen significant overeen met de verhoogde neopterine concentraties in het serum (18,19). Alhoewel serum neopterine niet ziekte specifiek is geeft een verhoogde serum neopterine concentratie boven de bovengrens van de normaal waarde (10 nmol/L) een aanwijzing omtrent de activiteit van de cel gemedieerde immuniteit (20). Het vervolgen van serum neopterine concentraties gedurende het verloop van een infectie ziekte kan nuttig zijn om de activiteit van de ziekte en de invloed van de therapie te bepalen (21). De dipstick hier beschreven is een gemakkelijk uit te voeren test voor semi-quantitatief onderzoek van serum neopterine concentraties bij patiënten met inflammatoire aandoeningen. Een interne controle bevestigt de resultaten van de test. Door zijn degelijkheid en eenvoud lijkt deze dipstick test zeer geschikt voor toepassingen buiten een ziekenhuis.

Referenties: zie chapter 8 'Summary and Conclusions'