

CONTRIBUIÇÃO DA NEOPTERINA PARA O ESTUDO DA PATOLOGIA INFECCIOSA DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

AVALIAÇÃO NO SORO E NO LÍQUIDO CÉFALO-RAQUÍDEO *

J. G. Saraiva da Cunha ¹
A. Mota Pinto ²
M. A. Santos Rosa ³

A. Meliço-Silvestre ⁴
R. Carrington da Costa ⁵
A. J. A. Robalo Cordeiro ⁶

¹ Assistente Hospitalar de Infeciologia dos HUC e Assistente Convidado da Faculdade de Medicina de Coimbra. Bolseiro do INIC.

² Assistente Estagiária da Faculdade de Medicina de Coimbra. Investigadora do INIC e da JNICT.

³ Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina de Coimbra. Investigador do INIC e da JNICT.

⁴ Professor Agregado da Faculdade de Medicina de Coimbra e Director da Clínica de Doenças Infecciosas dos HUC.

⁵ Professor Catedrático da Faculdade de Medicina de Coimbra e Director da Unidade de Cuidados Intensivos Polivalentes dos HUC.

⁶ Professor Catedrático da Faculdade de Medicina de Coimbra e Director do Serviço de Pneumologia dos HUC e do Centro de Imunologia da Faculdade de Medicina de Coimbra.

Clínica de Doenças Infecciosas dos Hospitais da Universidade de Coimbra
(Director Prof. Doutor A. Meliço-Silvestre)

Centro de Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
(Director Prof. Doutor Robalo Cordeiro)

INTRODUÇÃO

A Neopterina (NPT), pertencente ao grupo das pterinas, e constituindo, conjuntamente com os folatos, o grupo das pteridinas, é um derivado do Trifosfato de Guanosina (TPG), através da acção da ciclohidrolase do TPG.^{9, 23} Até ao momento apenas foi demonstrada a sua existência no homem e em primatas.¹⁴

O TPG dá origem ao D-7,8 Trifosfato de Dihidroneopterina (NH_2P_3), que é um precursor da neopterina (surgindo esta, provavelmente, por reacções não enzimáticas), e da biopterina (Fig. 1). Esta última é um cofactor natural da hidroxilação de três aminoácidos (tirosina, fenilalanina e triptofano), conduzindo à produção de neurotransmissores (serotonina e dopamina).^{9, 23} A deficiência de biopterina provoca o desaparecimento destes neurotransmissores, hiperfenilalaninemia e atraso mental, que caracterizam a entidade clínica denominada fenilcetonúria atípica, ou variante.⁹

A célula monocítica/macrofágica é a fonte específica de neopterina.²² O macrófago pode sintetizar NH_2P_3 , mas difere do linfócito por não conter a enzima sintetase de 6-Piruviltetrahydropterina (SPT) necessária à síntese de Tetrahydrobiopterina (BH_4).⁹ Por este facto, o macrófago, quando activado, apenas segrega neopterina, pois é desprovido da capacidade de sintetizar biopterina, devendo, também, ter-se em conta que o mecanismo de «feed-back» negativo que a biopterina exerce sobre a enzima ciclohidrolase do TPG se encontra prejudicado.⁶

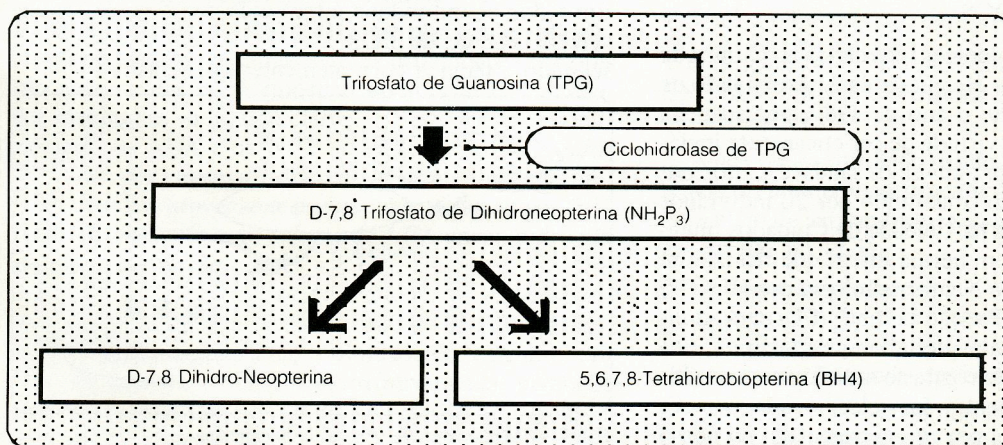


Fig. 1 — Via metabólica da Neopterina

São essencialmente os factores derivados de linfócitos T activados que estimulam o macrófago a produzir neopterinina. Destes factores, é o Interferão Gama (IFN-G) aquele que mais activamente induz este fenómeno;²² existem, no entanto, outros factores, nomeadamente o Interferão Alfa (IFN-A), quando produzido em doses elevadas,^{22, 14} e os Lipopolissacáridos (LPS).³⁹

Além do macrófago, nenhuma outra célula da linha hematopoiética mostrou ser capaz de produzir neopterinina, nomeadamente, o linfócito B, o neutrófilo, o linfócito «Natural Killer» (NK) e células da linha tumoral (com excepção das células subclonais monocíticas U937).¹⁴ Outros indutores da actividade macrofágica, como o zimozan, o «Colony Stimulating Factor» do granulócito/macrófago e o Interferão Beta (IFN-B) não induzem a produção de neopterinina pelos macrófagos.¹⁴

A neopterinina é considerada um marcador da vertente celular do sistema imunitário, essencialmente do eixo linfócito T/macrófago.²²

O antigénio, ao ser apresentado ao linfócito T, através da célula apresentadora de antigénio, induz o linfócito T a libertar IFN-G que, ao activar os macrófagos, leva à produção de neopterinina (Figura 2). Até ao momento, não foi definida qualquer função precisa da neopterinina na vertente celular da imunidade, embora tenha sido sugerido que ela possa ter uma acção anti-folato sobre os microrganismos de localização intracelular (acção aparentada à das sulfamidas e trimetoprima).²³

Presentemente, o doseamento da neopterinina no soro e, ou, na urina tem sido utilizado em várias situações da patologia humana,^{14, 23} nomeadamente em:

- Episódios de rejeição em doentes transplantados (rim, medula óssea, coração);
- Infecções víricas (citomegalovírus, vírus Epstein-Barr, Herpes simplex, hepatite, rubéola);
- Infecções bacterianas (tuberculose, lepra, septicemia);
- Parasitoses (malária, tripanossomíase);
- Doenças autoimunes (artrite reumatóide, anemia hemolítica, doença de Crohn, tiroidite, diabetes autoimune);
- Neoplasias (leucemias, linfomas, carcinoma do ovário e brônquico);
- Patologia variada (colite ulcerosa, sarcoidose, fenilcetonúria, insuficiência renal, doença de Kawasaki, celiacua, esclerose em placas).

O aparecimento recente da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA) permitiu um novo campo de utilização do doseamento de neopterinina, quer no soro quer na urina, sendo mesmo sugerido que a sua avaliação possa ser um dos melhores indicadores da evolução e do prognóstico da infecção pelos Vírus da Imunodeficiência Humana - HIV.^{3, 12, 13, 25, 31, 42}

O doseamento da neopterinina tem sido efectuado, conforme já se afirmou, fundamentalmente no soro e na urina, e aplicado no estudo da patologia que se acompanha de alterações imunitárias sistémicas. Contudo, pouca atenção tem sido dada às alterações imunitárias locais, que resultam da existência de uma compartimentação do sistema imunitário, nomeadamente a nível do Líquido Céfaloraquídeo (LCR). Este facto motivou-nos a efectuar o doseamento da neopterinina, não só no soro, como também no LCR, a fim de testar a sua utilidade em patologia infecciosa do Sistema Nervoso Central (SNC), comparativamente aos métodos correntemente utilizados no seu diagnóstico.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram seleccionados 70 doentes internados na Clínica de Doenças Infecciosas dos Hospitais da Universidade de Coimbra (HUC), durante o ano de 1989, por suspeita de infecção do SNC. Em virtude de ser eticamente inviável a obtenção de LCR em indivíduos saudáveis, utilizou-se um grupo de controlo constituído por 20 indivíduos (5 com tétano, internados na Unidade de Cuidados Intensivos dos HUC*, e 15 com hérnia discal que realizaram mielografia no Serviço de Neuroradiologia dos HUC**) e aos quais foi efectuada Punção Lombar (PL) para administração intratecal de gamaglobulina anti-tetânica, nos primeiros, e de produto de contraste radiológico, nos últimos. Este grupo de doentes foi seleccionado por ser aquele em que uma PL é por rotina executada no nosso hospital e porque neles o LCR raramente apresenta alterações significativas.

Em todos os indivíduos foram colhidos 5 cc de sangue venoso, e 8 cc de LCR através da realização de PL, segundo a técnica correntemente aconselhada.²⁸

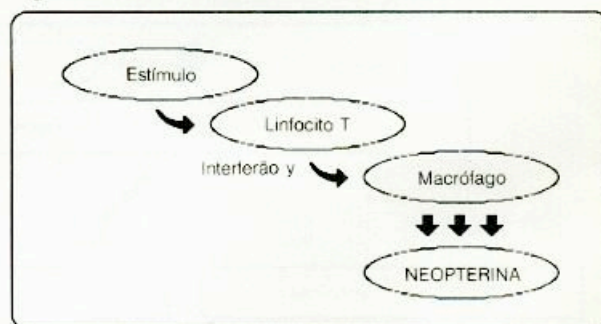


Fig. 2 — Mecanismo de síntese da Neopterinina.

* Director Prof. Carrington da Costa

** Director Dr. Sousa Fernandes

Para o doseamento de NPT, o sangue foi imediatamente centrifugado, sendo o soro protegido da luz com papel de estanho e congelado a 40° C negativos até ser analisado. O LCR foi também centrifugado (após separação para contagem celular), retirando-se 0,5 cc de sobrenadante, que foi protegido da luz e congelado nas mesmas condições até ser analisado ao mesmo tempo que o respectivo soro. O tempo entre a colheita e a análise foi sempre inferior a 6 meses e os produtos biológicos apenas foram descongelados uma vez ao serem analisados. O restante sobrenadante foi utilizado na realização das análises bioquímicas (proteínas totais, glicose, adenosinadesaminase) e serológicas (VDRL, Rosa Bengala, Wright), e o sedimento para o exame bacteriológico, de acordo com a suspeita clínica.¹⁷

Para o doseamento de neopterina, quer no soro quer no LCR, utilizámos um método radioimunológico comercial (RIAcid® - Henning, Berlin).³⁶

Nas análises bioquímicas do LCR foram utilizados os métodos do ácido sulfossalicílico para o doseamento das proteínas (g/l), o enzimático automatizado da glicose-oxidase para a glicose (g/l), e o método colorimétrico de Galanti e Giusti para a Adenosinadesaminase (ADA), expressa em unidades internacionais por litro (UL).¹⁵ Usou-se uma câmara de Fuchs-Rosenthal para a contagem diferencial de leucócitos (n.º/mm³).

Os valores definidos por grupo, excepto quando devidamente assinalados, são apresentados como média ± desvio padrão (X ± SD). Na análise estatística dos resultados foram utilizados o teste t de «Student» entre médias e a regressão linear simples entre os parâmetros individuais no LCR e no soro, considerando-se significativos os valores de p inferiores a 0,05.

RESULTADOS

O resumo dos principais parâmetros dos 20 doentes utilizados como grupo de controlo (CTL) são apresentados no Quadro I. Como se pode verificar, exceptuando a idade, não se registam grandes variações entre os doentes com tétano e os com hérnia discal, pelo que consideraremos estes 20 doentes como um grupo homogéneo. Os valores discretamente mais elevados das proteínas no LCR, nos doentes com tétano, justifica-se pela sua idade avançada, sem que tenha obrigatoriamente significado patológico, pois as proteínas aumentam fisiologicamente

cerca de 19% por cada década de vida, após os 40 anos.⁴ Os valores de NPT no soro e LCR nos indivíduos de controlo são semelhantes aos referidos na literatura, incluindo o aumento dos valores no soro dos doentes mais idosos.^{11, 43}

Os restantes 70 doentes, internados por suspeita de infecção do SNC, foram subdivididos, consoante o diagnóstico definitivo, em vários subgrupos dos quais se apresentam o respectivo número, sexo e idade (Quadro II).

Os germes isolados nos doentes com Meningites Bacterianas (MB) foram a *Neisseria meningitidis* (2 casos), o *Streptococcus pneumoniae* (4 casos), a *E. coli* (1 caso), o *Staphylococcus albus* (1 caso) e a *Pseudomonas spp* (1 caso). Três destes doentes eram portadores de «shunts» de derivação ventrículo-peritoneal. Nos casos de Encefalite (ENC) apenas foi possível identificar o agente etiológico em 3 doentes: vírus *Herpes simplex*, vírus do sarampo e vírus da parotidite epidémica. Nas Meningites Linfocitárias (ML), determinou-se, num doente, que o agente causal foi a *Leptospira*.

Nos restantes casos não foi possível determinar o agente etiológico, quer por antibioterapia prévia, quer por dificuldades no acesso a um laboratório de virulogia.

Nos casos de meningismo a leptospirose foi a causa em 3 doentes, a pielonefrite em 2, e a febre escaro-nodular, a brucelose, a pneumonia e a sinusite, em apenas um doente cada.

QUADRO II: Distribuição dos doentes consoante a patologia, sexo e idade

Diagnóstico	N.º	Sexo	Idade (X ± SD)
Meningite bacteriana (MB)	17	M=9; F=8	42 ± 18
Meningite linfocitária (ML)	11	M=9; F=2	19 ± 8
meningismo (m)	9	M=4; F=5	48 ± 20
Neurobrucelose (NB)	8	M=6; F=2	44 ± 17
Encefalite (ENC)	6	M=1; F=5	16 ± 5
Infecção HIV (HIV+)	6	M=5; F=1	41 ± 7
Neoplasias (NEO)	3	M=3	62 ± 22
Neurocisticercose (NCS)	3	M=2; F=1	53 ± 6
Vasculite (VASC)	2	M=1; F=1	50 ± 14
Meningite tuberculosa (MT)	2	M=1; F=1	26 ± 15
Sífilis (SIF)	2	M=1; F=1	64 ± 0
Neurosífilis (NS)	1	M=1	48

QUADRO I: Características do Grupo de Controlo

	Sexo	Idade	LCR				Soro		
			PROT	GLI	CEL	NPT	ADA	NPT	ADA
Tétano n=5	M=4 F=1	79 ± 7	0,52 ± 0,31	0,77 ± 0,26	1 ± 0	4,3 ± 2	0,95 ± 0,64	12,1 ± 6,2	14,7 ± 3,7
Hérnia Discal n=15	M=6 F=9	43 ± 16	0,45 ± 0,20	0,63 ± 0,14	1,3 ± 0,8	3,3 ± 1	0,38 ± 0,4	5,6 ± 1,5	16,2 ± 4,6
TOTAL n=20	M=10 F=10	52 ± 21	0,47 ± 0,23	0,69 ± 0,18	1,2 ± 0,7	3,6 ± 1,4	0,54 ± 0,53	6,5 ± 4,1	15,8 ± 4,3

Nas neoplasias inclui-se um doente com linfoma, um com leucemia linfóide crónica e um outro, com metastização na coluna vertebral de um tumor gástrico.

Dos 6 doentes com infecção HIV (4 por HIV1 e 2 por HIV2), 4 encontravam-se no estadio IV-C1, 1 no estadio IV-D e 1 no estadio II da classificação do CDC.³³ As infecções, ou tumores oportunistas presentes nestes doentes foram a tuberculose ganglionar e pericárdica, a pneumonia por *Pneumocystis carinii* e o linfoma imunoblástico. Verificaram-se 3 óbitos, sendo o valor de neopterin no LCR nestes casos (127 ± 96 nmol/l) superior aos dos sobreviventes ($30,2 \pm 44,8$ nmol/l). O doente do estadio II apresentava um valor de neopterin no LCR ($2,7$ nmol/l) dentro dos limites da normalidade.

Os valores de proteínas, glicose, número de leucócitos, neopterin e ADA no LCR, assim como os de neopterin e ADA no soro são apresentados nas Figuras 3 a 9. Calcularam-se para cada grupo de patologia os quocientes LCR/Soro de neopterin e ADA, que se mostram na Fig. 10. Nos 2 doentes com Meningites Tuberculosas (MT) efectuaram-se três punções lombares de controlo, com cerca de 10 dias de intervalo, após o início da terapêutica com tuberculostáticos; os valores da neopterin encontrados no LCR e no soro são apresentados na Fig. 11.

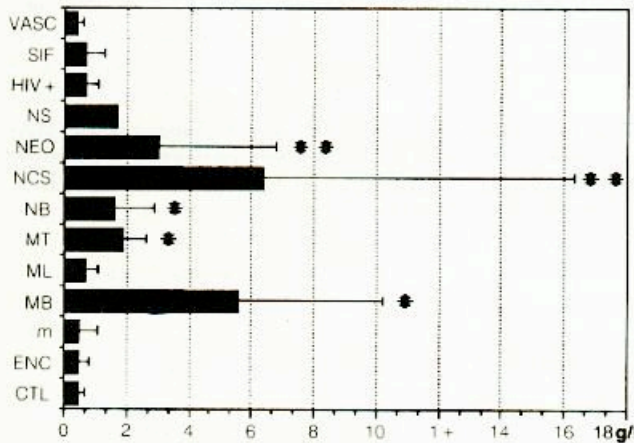


Fig. 3 — Proteínas totais no LCR. (●●● p<0,01; ●● p<0,001)

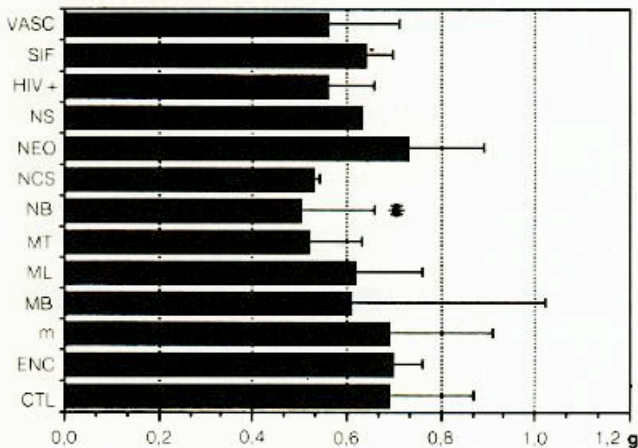


Fig. 4 — Glicose no LCR (● p<0,05)

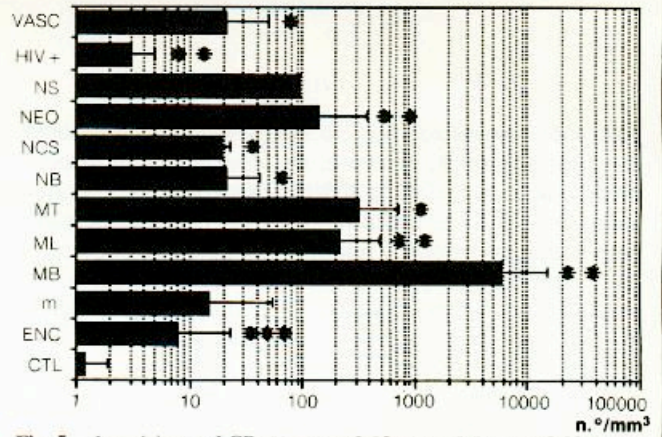


Fig. 5 — Leucócitos no LCR. (●●● p<0,05; ●● p<0,01; ● p<0,001)

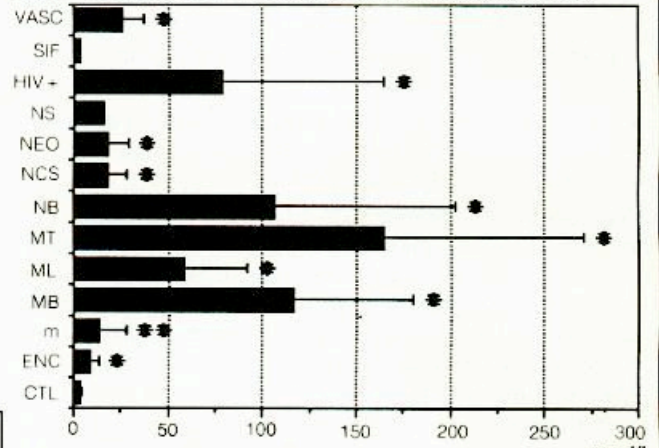


Fig. 6 — Neopterin no LCR. (●● p<0,01; ● p<0,001)

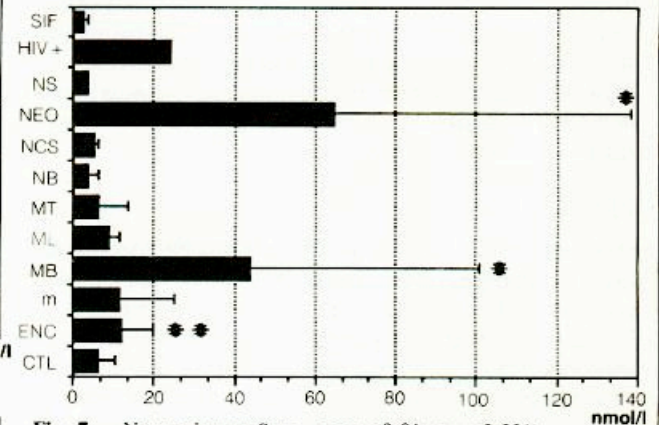


Fig. 7 — Neopterin no Soro. (●● p<0,01; ● p<0,001)

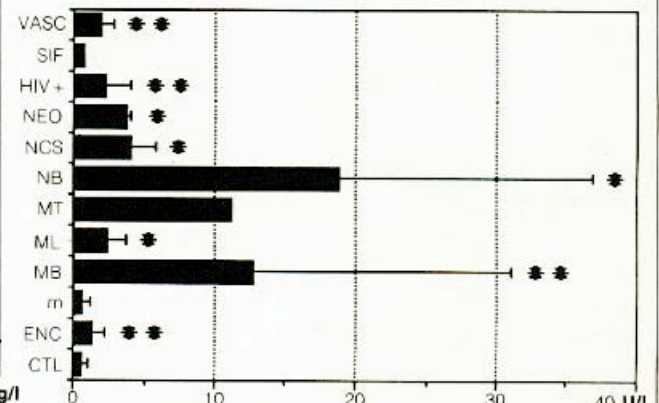


Fig. 8 — Adenosinadesaminase no LCR. (●● p<0,01; ● p<0,001)

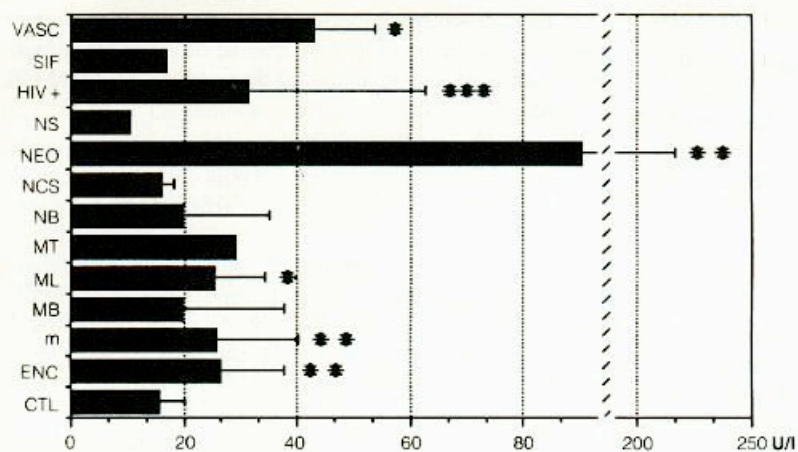


Fig. 9 — Adenosinadesaminase no Soro.
(*** p<0,05; ** p<0,01; * p<0,001)

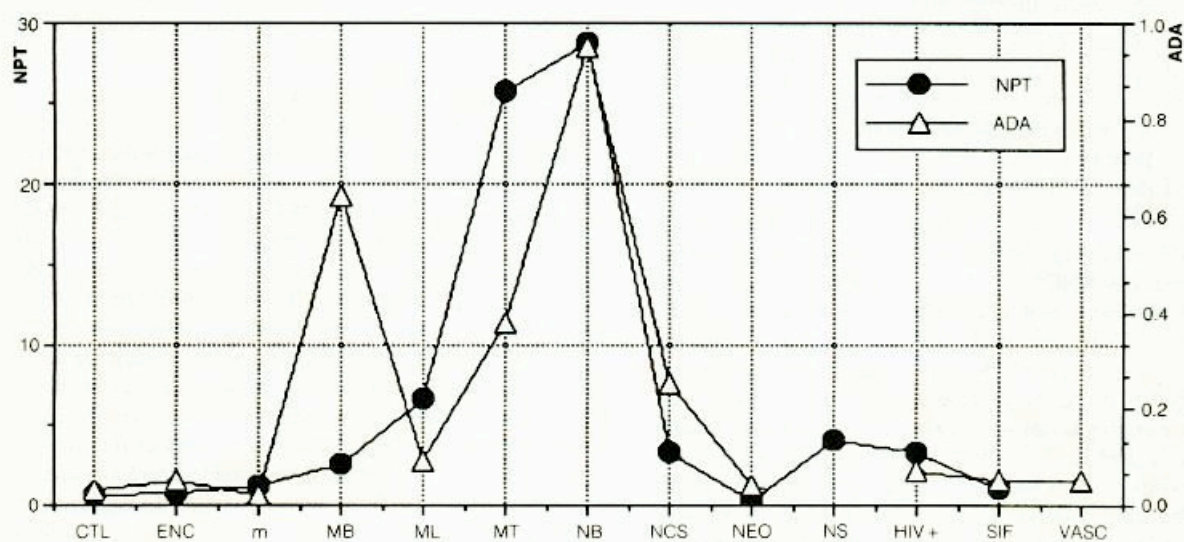


Fig. 10 — Relação LCR/Soro da Neopterin e ADA.

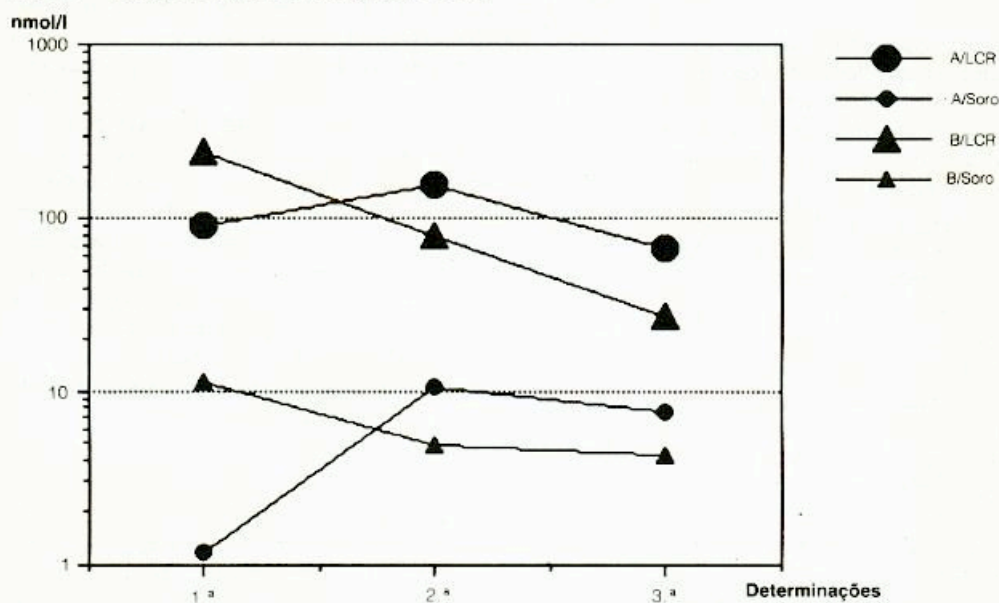


Fig. 11 — Perfil Evolutivo de dois Doentes com Meningite Tuberculosa (MT)

DISCUSSÃO

Os valores obtidos, neste estudo, dos parâmetros habitualmente analisados quando se procede ao estudo bioquímico e citológico do LCR em patologia infecciosa do SNC (proteínas, glicose, leucócitos), não diferiram dos esperados.²⁷ A marcada elevação das proteínas nos doentes com Neurocisticercose (NCS), deve-se ao facto de 2 casos apresentarem hidrocefalia, necessitando de «shunt» ventrículo-peritoneal.

Relativamente ao número de leucócitos, encontrou-se um valor superior ao esperado nos doentes com Meningismo (m) e com Neoplasias (NEO), resultando do facto de no primeiro grupo estar incluído 1 caso de sinusite com celulite retrobulbar e, no segundo, uma metastização na coluna vertebral de um tumor gástrico, situações que justificam a existência de pleocitose no LCR.²⁹

Os valores de glicose apenas se revelaram significativamente diminuídos na Neurobrucelose (NB) ($t=2,581$; $p=0,0155$), confirmando o afirmado por outros Autores, que referem a pouca utilidade do seu doseamento, excepto, em casos pontuais, em que os restantes testes no LCR se apresentem de interpretação duvidosa.²⁴

Até ao momento, a determinação de neopterinina no LCR nunca foi efectuada num leque tão variado de patologia infecciosa do SNC como o do presente estudo. A escassa literatura existente refere-se apenas à meningoencefalite vírica,¹¹ esclerose em placas,¹¹ malária cerebral²¹ e infecção HIV.^{16, 38} Outros Autores têm-se preocupado fundamentalmente com as técnicas de colheita e avaliação da neopterinina nos variados produtos biológicos, incluindo o LCR.^{19, 20, 23, 43} O aparecimento de um «kit» comercial para doseamento de neopterinina por radioimunoanálise veio facilitar o seu estudo, um vez que não só a colheita é simplificada, como também se podem avaliar simultaneamente vários produtos biológicos.

Os valores de neopterinina encontrados no LCR em infecções víricas do SNC (meningoencefalites e infecção HIV) coincidem com os dados existentes na literatura.^{20, 38} Relativamente às restantes infecções não existem dados que nos possam servir de termo de comparação, sendo os nossos, presentemente, originais.

A marcada elevação de neopterinina no LCR em situações tão variadas como a MB ($t=7,889$; $p<0,0001$), MT ($t=9,158$; $p<0,0001$), NB ($t=4,967$; $p<0,0001$) e ML ($t=7,503$; $p<0,0001$), retira a este teste poder discriminativo, pelo que será de pouca utilidade no diagnóstico clínico corrente. No entanto, ela mostra ter uma grande utilidade na confirmação da existência de uma resposta imunitária local, perfeitamente diferenciada da resposta imunitária sistémica, o que confirma a teoria da presença de uma compartimentação imunitária no SNC com tradução no LCR,⁵ como se pode facilmente perceber ao analisar a relação LCR/Soro na Figura 10, em que se chega a atingir, na NB, o valor máximo de 28,8. Exceptuando os doentes pertencentes aos grupos de controlo (0,55), encefalites (0,74) e neoplasias (0,27), encontramos

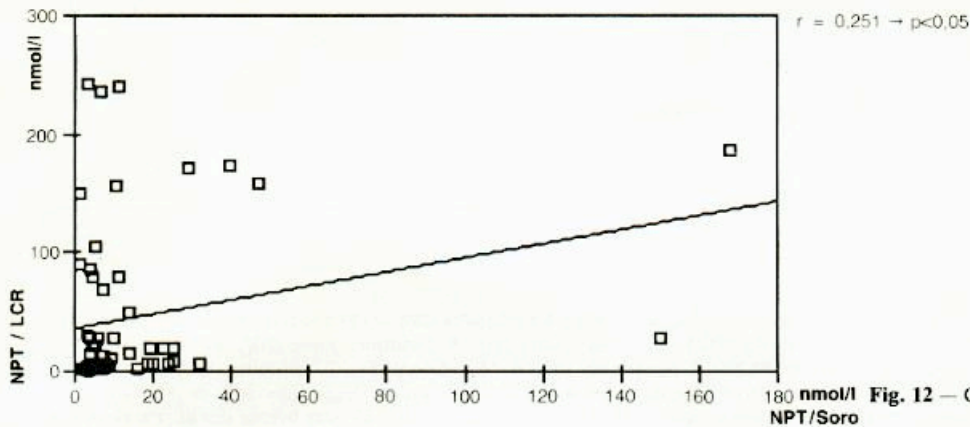
uma relação sempre superior a 1, o que apenas se poderá explicar por síntese local, já que se desconhece a existência de qualquer mecanismo de transporte Soro/LCR da neopterinina.

O estímulo que induz a síntese local tem origem diferenciada: nas meningites bacterianas são os constituintes da parede da bactéria (polissacarídeos e lipopolissacarídeos) que activam os macrófagos existentes no LCR;³⁹ na restante patologia, em que a imunidade celular desempenha um papel importante, o estímulo será o INF-G produzido localmente pelos linfócitos T activados.²² Com efeito, níveis elevados de interferão gama foram demonstrados no LCR na fase inicial das meningoencefalites víricas²⁶ e, também, no derrame pleural de etiologia tuberculosa.³⁵ As células do plexo coroideu são a estrutura da barreira hematoencefálica, que funciona como célula apresentadora de antígeno ao linfócito T.³⁰

Através do presente estudo não foi possível saber-se se a NPT consegue ultrapassar a barreira hematoencefálica íntegra. A relação Soro/LCR da neopterinina nos indivíduos do grupo de controlo (1,8) é francamente inferior à da albumina (237) ou da alfa-1 antitripsina (228), moléculas de peso molecular 69000 e 52000, respectivamente,⁴ que dificilmente passam a barreira e que têm síntese hepática. Desta forma, esta baixa relação tanto pode significar que a NPT consegue passar a barreira, como pode traduzir síntese local. No entanto, uma molécula de baixo peso molecular como a NPT é de presumir que passe facilmente a barreira nos dois sentidos, pelo menos sempre que ela perca a sua integridade. A existência de uma correlação significativa entre os valores de NPT no soro e LCR ($r=0,251$; $p<0,05$) (Fig. 12) e entre a NPT e as proteínas no LCR ($r=0,395$; $p<0,001$) assim o sugere.

Na infecção pelo HIV obtivemos, como em estudos prévios,³⁸ valores crescentes de neopterinina no LCR consoante a progressão da doença, embora a nenhum dos nossos doentes tivesse sido diagnosticada qualquer infecção do SNC. Isto significa a existência de um processo infeccioso ou imunitário fruste do SNC que pode passar facilmente despercebido. É bem conhecido o tropismo neurológico dos vírus HIV¹ e a precocidade da invasão do SNC, que conduz à existência frequente de uma encefalopatia subclínica, apenas se revelando, tardiamente, como demência associada à SIDA, e cuja tradução nos parâmetros bioquímicos e citológicos do LCR é habitualmente escassa.¹⁸ A presença desta encefalopatia pode ser, assim, facilmente detectada através da verificação de uma progressiva elevação dos valores de neopterinina no LCR, o que agravaria substancialmente o prognóstico destes doentes.

O doseamento de neopterinina no soro e/ou na urina de doentes com SIDA demonstrou todo o seu valor como factor prognóstico, comparativamente a outros parâmetros, como a contagem de linfócitos CD4+ ou a relação CD4+/CD8+, afirmando alguns Autores que seria,



de todos o melhor indicador do grau de evolução da doença.^{3, 12, 13, 25, 31, 42}

A ADA é uma enzima que cataliza a desaminação hidrolítica irreversível da (deoxi)adenosina conduzindo à produção de (deoxi)inosina e amônia, sendo fundamental no metabolismo dos ácidos nucleicos e encontrando-se amplamente distribuída nos tecidos humanos.⁴⁰ Até ao momento, tem sido utilizada clinicamente no diagnóstico da tuberculose pleural, pericárdica, peritoneal e meníngea, através da constatação de valores elevados nos respectivos líquidos de derrame.² No entanto têm sido encontrados resultados falsos positivos em situações muito diversas, como infecções bacterianas ou neoplasias linfóides.^{32, 41} A deficiência congénita desta enzima está associada a uma forma grave de imunodeficiência com compromisso, fundamentalmente, dos linfócitos T.¹⁰

A ADA no LCR estava aumentada nos doentes com meningite bacteriana, meningite tuberculosa e neurobrucelose, confirmando dados já disponíveis.^{7, 34, 37} Contrariamente à neopterina, a ADA mantém valores relativamente baixos nas meningoencefalites víricas. A relação LCR/Soro da ADA encontrada no presente estudo em indivíduos pertencentes ao grupo de controlo, MB, MT e ML é idêntica à referida por Donald e col.⁷

Se excluirmos os casos de MB (que raramente apresentam problemas de diagnóstico), as dificuldades maiores são encontradas no diagnóstico diferencial das chamadas meningites «a líquido claro».²⁷ Neste grupo, a determinação de ADA e da NPT no LCR apresenta alguma utilidade, por conseguir diferenciar as meningoencefalites víricas das provocadas por micobactérias ou por *Brucella*. Nas primeiras, os valores de ADA encontrados são sistematicamente inferiores a 6 U/l, enquanto, nas últimas, este valor é ultrapassado em todos os pacientes na fase aguda da doença (sensibilidade de 100%, especificidade de 20%). A baixa especificidade do teste diminuiu, no entanto, o valor. Comparativamente, níveis de neopterina no LCR superiores a 15 nmol/l apresentam uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 57%, resultando, portanto, na existência de menos falsos positivos que o anterior.

A correlação existente entre os valores de neopterina e de ADA no LCR ($r=0,514$; $p<0,001$) e no soro ($r=0,773$; $p<0,001$) são dados a ter em conta quando se procura explicar a fisiopatologia da ADA nas infecções do SNC, que tem sido motivo de grande controvérsia.⁸ Não deixa de ser curioso, também, verificar-se algum paralelismo entre os valores da relação LCR/Soro destas duas substâncias (Fig. 10). A discrepância existente nas MB fica a dever-se ao facto de neopterina no soro destes doentes apresentar valores significativamente superiores aos do grupo de controlo ($t=3,007$; $p=0,0056$) contrariamente ao que se verifica com a ADA ($t=0,936$; $p=NS$). Este facto poderá explicar-se por uma maior permeabilidade da barreira para a neopterina produzida localmente, ou poderá residir na circunstância de a MB se acompanhar, não raras vezes, de septicemia, sendo esta uma das patologias em que foi demonstrada elevação da neopterina sérica.¹⁴

No 2 doentes com MT, que foi possível estudar seriadamente, verificou-se que, cerca de um mês após o início da terapêutica, se mantinham valores de neopterina elevados no LCR (Fig. 11), embora fosse evidente a sua diminuição, não nos sendo possível prever qual a data da sua normalização.

CONCLUSÕES

- 1 O doseamento da neopterina no LCR nas infecções do SNC não constitui um método laboratorial de utilização clínica corrente.
- 2 A sua maior utilidade reside na comprovação da existência de uma compartimentação imunológica no SNC, para além de ser um bom indicador da resposta imunitária celular no LCR.
- 3 Os doentes infectados pelo vírus HIV são aqueles em que a determinação da neopterina no LCR se revelou mais útil, ao permitir prever mais precocemente quais os que iriam evoluir de modo desfavorável.
- 4 Nas meningites «a líquido claro» a determinação da ADA e da neopterina no LCR mostrou alguma utilidade na diferenciação das meningoencefalites víricas das provocadas por *Mycobacterium tuberculosis*, ou *Brucella*.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Dário da Costa, Director do Laboratório Central dos HUC, onde foram realizados os testes bioquímicos, serológicos e bacteriológicos no LCR.

À Dr.^a Ermelinda Gaspar, Investigadora do Instituto de Patologia Geral da Universidade de Coimbra (Director Prof. Doutor R. Azevedo-Bernarda), por ter procedido ao doseamento da ADA.

RESUMO

Procedeu-se ao doseamento da Neopterina (NPT) no soro e Líquido Céfalo-Raquídeo (LCR) de 70 doentes com o diagnóstico de Meningite Bacteriana (MB) - 17, Meningite Linfocitária (ML) - 11, Meningismo (m) - 9, Neurobrucelose (NB) - 8, Infecção HIV (HIV+) - 6, Encefalite (ENC) - 6, Neurocisticercose (NCS) - 3, Neoplasias (NEO) - 3, Sífilis (SIF) - 2, Vasculite (VASC) - 2, Meningite Tuberculosa (MT) - 2 e Neurosífilis (NS) - 1, com a finalidade de testar a sua utilidade na patologia infecciosa do Sistema Nervoso Central (SNC). Estabeleceu-se como Controlo (CTL) um grupo de 20 doentes, 5 com tétano e 15 com hérnia discal. Paralelamente foram analisados parâmetros bioquímicos e citológicos (proteínas totais, glicose, número de leucócitos), bacteriológicos e serológicos no LCR, assim como a Adenosinadesaminase (ADA) no soro e LCR. No grupo de controlo a NPT no LCR apresentou o valor de $3,6 \pm 1,4$ nmol/l e no soro $6,5 \pm 4,1$ nmol/l. Exceptuando os doentes com sífilis, todos os restantes apresentaram NPT no LCR significativamente superior à do CTL. No soro apenas a MB, ENC e NEO tinham valores superiores ao normal. A relação LCR/Soro da NPT no CTL foi 0,55, tendo ultrapassado o valor 1 em todos os grupos, com excepção da ENC e NEO, e sendo o valor máximo (28,8) encontrado na NB, significando marcada síntese local e confirmando a sua utilidade como indicador da resposta imunitária celular e da compartimentação imunológica no SNC. Encontraram-se correlações significativas entre a NPT no soro e LCR ($r=0,251$; $p<0,05$), NPT e proteínas no LCR ($r=0,395$; $p<0,001$), NPT e leucócitos no LCR ($r=0,297$; $p<0,01$), NPT e ADA no LCR ($r=0,514$; $p<0,001$). Nas meningites assépticas a determinação da ADA e da NPT no LCR mostrou alguma utilidade, ao contribuir para diferenciar as meningoencefalites víricas das causadas por *Mycobacterium tuberculosis* ou *Brucella*. Nos 3 doentes HIV+ que faleceram os valores de NPT (127 ± 96 nmol/l) no LCR foram superiores aos dos sobreviventes ($30,2 \pm 44,8$ nmol/l), o que poderá indicar que a NPT representa um teste a ter em conta na monitorização da evolução e no prognóstico destes doentes.

SUMMARY

We have determined Neopterin (NPT) in serum and Cerebrospinal Fluid (LCR) of 70 patients with the diagnosis of Bacterial Meningitis (MB) - 17, Aseptic Meningitis (ML) - 11, Meningismus (m) - 9, Neurobrucellosis (NB) - 8, HIV Infection (HIV+) - 6, Encephalitis (ENC) - 6, Neurocysticercosis (NCS) - 3, Neoplasia (NEO) - 3, Syphilis (SIF) - 2, Vasculitis (VASC) - 2, Tuberculous Meningitis (MT) - 2 and Neurosyphilis (NS) - 1, for testing its utility in the diagnosis of infections of the central nervous system (SNC). As a group of control (CTL) we selected 20 patients, 5 with tetanus and 15 with protrusion of intervertebral disks. At the same time the biochemical and citological (proteins, glucose, leukocytes), bacteriologic and serologic parameters in the LCR were analysed, as well as Adenosine Deaminase (ADA) in serum and LCR. In the control group NPT in the LCR was $3,6 \pm 1,4$ nmol/l and in the serum $6,5 \pm 4,1$ nmol/l. With the exception of patients with SIF, all the others presented NPT in the LCR significantly superior to the CTL. In the serum only MB, ENC and NEO had levels

superior to the normal. The relation LCR/Serum of NPT in the CTL was 0,55, being superior to 1 in all the others groups, with the exception of ENC and NEO. The greatest value (28,8) was found in NB, meaning intense local synthesis and confirming the utility of NPT as an indicator of cellular immune response and -immunological compartmentalization- in the SNC. We found significant correlations between LCR and serum NPT ($r=0,251$; $p<0,05$), NPT and proteins in the LCR ($r=0,395$; $p<0,001$), NPT and leukocytes in the LCR ($r=0,297$; $p<0,01$) and NPT and ADA in LCR ($r=0,514$; $p<0,001$). In the aseptic meningitis group the determination of ADA and NPT in the LCR proved some utility, because of its contribution to the differential diagnosis of viral from tuberculous or brucellar meningoencephalitis. In the three patients HIV+ who died the level of NPT in the LCR (127 ± 96 nmol/l) was superior to those who survived ($30,2 \pm 44,8$ nmol/l), meaning that NPT might be a useful test for the monitoring of the evolution and prognosis of these patients.

LISTA DE ACRÓNIMOS

ADA	Adenosinadesaminase	LPS	Lipopolissacarídeos	PL	Punção Lombar
BH4	Tetrahydrobiopterina	m	Meningismo	RIA	Radio Immunological Assay
CDC	Centers for Diseases Control (USA)	MB	Meningite Bacteriana	SIDA	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
CTL	Controlo	ML	Meningite Linfocitária	SIF	Sífilis
ENC	Encefalites	MT	Meningite Tuberculosa	SNC	Sistema Nervoso Central
HIV	Human Immunodeficiency Virus	NB	Neurobrucelose	SPT	Sintetase de 6-Piruviltetrahydropterina
HUC	Hospitais da Universidade de Coimbra	NCS	Neurocisticercose	TPG	Trifosfato de Guanosina
IFN-A	Interferão alfa	NEO	Neoplasia	VASC	Vasculite
IFN-B	Interferão beta	NH ₂ P ₃	D-7,8 Trifosfato de Dihidroneopterina	VDRL	Veneral Disease Research Laboratory
IFN-G	Interferão gama	NPT	Neopterina		
LCR	Líquido Céfalo-Raquídeo	NS	Neurosífilis		

BIBLIOGRAFIA

- 1 Black, P H — HTLV-III, AIDS, and the Brain, *N Engl J Med*, 1985, **313**: 1538-1540.
- 2 Blake, J; Berman, P — The use of Adenosine Deaminase Assays in the Diagnosis of Tuberculosis. *S Afr Med J*, 1982, **62**: 19-21.
- 3 Blau, N; Curtius, H-C — Neopterin and AIDS. *Clin Chem*, 1988; **34**: 2184-2185.
- 4 Davson, H; Welch, K; Segal, M B — The Physiology and Pathophysiology of the Cerebrospinal Fluid, Churchill Livingstone, Edinburgh, 1987: pp 583-656.
- 5 De Micco, C; Toga, M — Le Statut Immunitaire du Système Nerveux Central. *Rev Neurol (Paris)*, 1988; **144**: 776-788.
- 6 Dhondt, J L; Darras, M; Crinquette, J — Unconjugated Pteridines in Bronchoalveolar Lavage as Indicators of Alveolar Macrophage Activation. *Chest*, 1989; **95**: 348-351.
- 7 Donald, P R; Malan, C; Van der Walt, A; Shoeman, J F — The Simultaneous Determination of Cerebrospinal Fluid and Plasma Adenosine Desaminase Activity as a Diagnostic aid in Tuberculous Meningitis. *S Afr Med J*, 1986; **69**: 505-507.
- 8 Donald, P R; Malan, C; Shoeman, J F — Adenosine Deaminase Activity as a Diagnostic aid in Tuberculosis Meningitis. *J Infect Dis*, 1987; **156**: 1040-1042.
- 9 Editorial — Neopterin in Clinical Medicine. *Lancet*, 1988; i: 509-511.
- 10 Edwards, N L — Immunodeficiencies Associated with Errors in Purine Metabolism. *Med Clin North Am*, 1985; **69**: 505-518.
- 11 Friedrikson, S; Link, H; Eneroth, P — CSF Neopterin as Marker of Disease Activity in Multiple Sclerosis. *Acta Neurol Scand*, 1987; **75**: 352-355.
- 12 Fuchs, D; Banekovich, M; Hausen, A *et al* — Neopterin Estimation Compared with the Ratio of T-Cell Subpopulation in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus-1. *Clin Chem*, 1988; **34**: 2415-2417.
- 13 Fuchs, D; Dierich, M P; Wachter, H *et al* — Predicting AIDS. *Br Med J*, 1988; **297**: 1543.
- 14 Fuchs, D; Hausen, A; Reibnegger, G; Werner, E R — Neopterin as a Marker for Activated Cell-Mediated Immunity: Application in HIV Infection. *Immunol Today*, 1988; **9**: 150-155.
- 15 Giusti, G; Galanti, B — Adenosine Deaminase, In: Methods of Enzymatic Analysis, Bergmeyer H U Ed Third Edition, Verlag Chemie, Weinheim, 1984: pp 315-323.
- 16 Habibi, P; Strobel, S; Smith, I; Brett, E M — Neurodevelopmental Delay and Focal Seizures as Presenting Symptoms of Human Immunodeficiency Virus I Infection. *Eur J Pediatr*, 1989; **148**: 315-317.
- 17 Health and Public Policy Committee, American College of Physicians — The Diagnostic Spinal Tap. *Ann Intern Med*, 1986; **104**: 880-885.
- 18 Hollander, H — Cerebrospinal Fluid Normalities and Abnormalities in Individuals Infected with Human Immunodeficiency Virus. *J Infect Dis*, 1988; **158**: 855-858.
- 19 Howells, D W; Hyland, K — Direct Analysis of Tetrahydrobiopterin in Cerebrospinal Fluid by High-Performance Liquid Chromatography with Redox Electrochemistry: Prevention of Autoxidation During Storage and Analysis. *Clin Chim Acta*, 1987; **167**: 23-30.
- 20 Howells, D W; Smith, I; Hyland, K — Estimation of Tetrahydrobiopterin and other Pterins in Cerebrospinal Fluid Using Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography with Electrochemical and Fluorescence Detection. *J Chromatogr*, 1986; **381**: 285-294.
- 21 Howells, D W; Smith, I; Hyland, K — Dihydroneopterin and CNS Infection. *Lancet*, 1987; i: 686-687.
- 22 Huber, C H; Batchelor, J R; Fuchs, D; Hausen, A — Immune Response-Associated Production of Neopterin. Release from Macrophages Primarily under Control of Interferon-Gamma. *J Exp Med*, 1984; **160**: 310-316.
- 23 Hyland, K; Howells, D W — Analysis and Clinical Significance of Pterins. *J Chromatogr*, 1988; **429**: 95-121.
- 24 Hyward, R A; Shapiro, M F; Oye, R K — Laboratory Testing on Cerebrospinal Fluid, a Reappraisal. *Lancet*, 1987; i: 1-4.
- 25 Krämer, A; Wiktor, S Z; Fuchs, D; Goedert, J J — Neopterin: A Predictive Marker of Acquired Immune Deficiency Syndrome in Human Immunodeficiency Virus Infection. *J Aids*, 1989; **2**: 291-296.
- 26 Lebon, P; Boutin, B; Dulac, O; Ponsot, G; Arthuis, M — Interferon Gamma in Acute and Subacute Encephalitis. *Br Med J*, 1988; **296**: 9-11.
- 27 Leonard, J M — Cerebrospinal Fluid Formula in Patients with Central Nervous System Infection. *Neurol Clin*, 1986; **4**: 3-11.
- 28 Marton, K I; Gean, A D — The Spinal Tap: a New Look at an Old Test. *Ann Intern Med*, 1986; **104**: 840-848.
- 29 McGee, Z A; Kaiser, A B — Acute Meningitis. In: Principles and Practice of Infectious Diseases, Mandell, G L; Douglas, R G; Bennett, J E (Eds). 2nd Edition, John Wiley & Sons, New York, 1985: pp 560-573.
- 30 Nathanson, J A; Chun, L L Y; — Immunological Function of the Blood-Cerebrospinal Fluid Barrier. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989; **86**: 1684-1688.
- 31 Perna, M; Nitsch, F; Santelli, G; Marfella, A — Urinary Neopterin, a Useful Marker for AIDS? *Lancet*, 1985; i: 1048.
- 32 Pettersson, T; Ojala, K; Weber, T H — Adenosine Deaminase in the Diagnosis of Pleural Effusions. *Acta Med Scand*, 1984; **215**: 299-304.
- 33 Pinching, A J — The Spectrum of Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection: Routes of Infection, Natural History, Prevention and Treatment. *Clin Immunol Allergy*, 1986; **6**: 467-488.
- 34 Ribera, E; Martinez-Vazquez, J M; Ocaña, I; Segura, R M; Pascual, C — Activity of Adenosine Desaminase in Cerebrospinal Fluid for the Diagnosis and Follow-up of Tuberculous Meningitis in Adults. *J Infect Dis*, 1987; **155**: 603-607.
- 35 Ribera, E; Ocaña, I; Martinez-Vazquez, J M; Rossel, M; Español, T; Ruibal, A — High Level of Interferon Gamma in Tuberculous Pleural Effusion. *Chest*, 1988; **93**: 308-311.
- 36 Rokos, H; Bienhaus, G; Gadow, A; Rokos, K — Determination of Neopterin and Reduced Neopterin by Radioimmunoassay. In: Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines, 1985; **4**: 73-84.
- 37 Saraiva da Cunha, Pereira, E; Mello-Silvestre, A; Azevedo-Bernarda, R; Carrington da Costa, R — Neurobrucellosis: Another Cause of Increased Cerebrospinal Fluid Adenosine Deaminase. *J Infect Dis*, (Aceite para publicação).
- 38 Smith, I; Howells, D W B; Kendall, B; Levinsky, R; Hyland, K — Folate Deficiency and Demyelination in AIDS. *Lancet*, 1987; i: 215.
- 39 Troppmair, J; Nachbaur, K; Herold, M *et al* — In-vitro and In-vivo Studies on the Induction of Neopterin Biosynthesis by Cytokines, Alloantigens and Lipopolysaccharide (LPS). *Clin Exp Immunol*, 1988; **74**: 392-397.
- 40 Van der Weyden, M B; Kelley, W N — Human Adenosine Deaminase - Distribution and Properties. *J Biol Chem*, 1976; **251**: 5448-5456.
- 41 Vidal, R P; Aran, X; Broquetas, J — High Adenosine Deaminase Activity Level in Pleural Effusion. *Chest*, 1986; **90**: 625.
- 42 Wachter, H; Fuchs, D; Hausen, A; Reibnegger, G — Who Will Get AIDS? *Lancet*, 1986; ii: 1216-1217.
- 43 Werner, E R; Bichler, A; Wachter, H — Determination of Neopterin in Serum and Urine. *Clin Chem*, 1987; **33**: 62-66.