

Estudos de neopterin na sarcoidose

Neopterin studies in sarcoidosis

A. MOTA PINTO⁽¹⁾, M. A. SANTOS ROSA⁽²⁾, C. P. LEITE⁽³⁾ e A. J. A. ROBALO CORDEIRO⁽⁴⁾

CENTRO DE IMUNOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DE COIMBRA E CENTRO DE PNEUMOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA (CNC3-INIC)
3049 COIMBRA CODEX - PORTUGAL.

RESUMO

A Neopterin (NPT) tem sido referida como um marcador da activação das células T, sendo libertada pelos macrófagos após a estimulação por diferentes mediadores imunitários, nomeadamente pelo interferão gama. Atendendo ao facto que a sarcoidose é caracterizada por uma alveolite pulmonar linfocitária, com linfócitos T activados e macrófagos alveolares, e que não existem critérios precisos para definir a actividade da doença, estudaram-se os níveis de neopterin no soro e no Líquido de Lavagem Broncoalveolar (LLBA) de doentes com sarcoidose.

A determinação da neopterin foi levada a cabo por um método radioimunológico ("Henning RIAcid") no soro e no LLBA de 25 doentes com sarcoidose e de 18 controlos.

Verificou-se um aumento significativo dos níveis de neopterin no soro e no LLBA dos doentes com sarcoidose, quando comparados com os dos controlos. Este facto foi particularmente evidente nos estádios II e III no soro e no estadio III no LLBA.

Os Autores concluem pelo interesse do estudo da neopterin na sarcoidose e os resultados parecem indicar que os níveis de neopterin no soro e no LLBA possam constituir um bom marcador da actividade da doença.

SUMMARY

Neopterin (NPT) has been reported as a marker of human T-cell activation, being released by macrophages upon stimulation by several immune factors, namely by gamma interferon. Since sarcoidosis is characterized by pulmonary lymphocytic alveolitis with activated T-lymphocytes and alveolar macrophages and there are no precise criteria to define disease activity, we studied serum and Bronchoalveolar Lavage Fluid (LLBA) neopterin levels in patients with sarcoidosis.

Neopterin assay was performed by radioimmunoassay ("Henning RIAcid") in serum and LLBA of 25 patients with sarcoidosis and 18 controls.

There was a significant increase of serum and LLBA neopterin levels in patients with sarcoidosis when compared with controls. This fact was particularly evident in stage II and III on serum, and stage III on LLBA.

The Authors conclude for the interest of neopterin studies on sarcoidosis and the results indicate that neopterin levels in serum and LLBA could be a good marker of disease activity.

(¹) Assistente Estagiária da Faculdade de Medicina de Coimbra (Imunologia).

(²) Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina de Coimbra (Imunologia).

(³) Assistente Graduado de Pneumologia dos HUC.

(⁴) Director do Centro de Imunologia da FMC e do Serviço de Pneumologia dos HUC.

INTRODUÇÃO

A neopterinina (NPT) é um composto de baixo peso molecular, do grupo das pteridinas, e deriva biossinteticamente do Trifosfato de Guanosina (TPG) [2]. O TPG, através de uma reacção enzimática, dá origem ao Trifosfato de Neopterinina (NH₂P₃) que é um precursor de biopterina (uma coenzima na hidroxilação de ácidos aminados, e associada à biossíntese de neurotransmissores) e de NPT, por reacções não enzimáticas [4].

Os monócitos/macrófagos são a fonte específica de produção de NPT [2, 4]. É quase exclusivamente através da estimulação do sistema imunitário que se dá esta produção. O antigénio, através de células apresentadoras, induz o linfócito T a libertar interferão gama que, ao activar os macrófagos, os leva a libertar NPT [5, 13].

Assim, a neopterinina pode considerar-se um marcador da activação da vertente celular da resposta imunitária, no eixo linfócito T/macrófago, reflectindo o seu doseamento uma avaliação dos processos mediados imunologicamente [2, 4].

A sarcoidose pulmonar activa cursa, geralmente, com uma alveolite, observando-se um aumento do número de linfócitos T e de macrófagos alveolares, encontrando-se estes dois tipos celulares activados [7, 8]. Os linfócitos T activados libertam mediadores, nomeadamente o interferão gama, mobilizando e activando os macrófagos [6, 11, 12, 15].

Uma vez que as reacções inflamatória e imunitária são caracterizadas por fenómenos locais, levando, neste caso, a uma compartimentação pulmonar [7], propusemo-nos estudar os níveis de neopterinina no soro e no Líquido de Lavagem Broncoalveolar (LLBA) — por este ser considerado um dos meios de avaliação de doenças pulmonares por recolha de células efectoras do sistema imunitário e de produtos bioquímicos [1, 9] — de doentes com sarcoidose e de indivíduos clinicamente normais, referidos como controlos. Analisamos, desta forma, o interesse da NPT como marcador da actividade da sarcoidose [3, 10].

MATERIAL E MÉTODOS

Estudamos 18 indivíduos, considerados clinicamente normais (controlos) e 25 doentes com sarcoidose pulmonar. Dos doentes com sarcoidose, 7 encontravam-se no estadio I, 10 no estadio II e 8 no estadio III, segundo os critérios de estadiamento adoptados pelo Serviço de Pneumologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra (H.U.C.).

No grupo de controlo não havia indivíduos fumadores e no grupo de sarcoidose havia 7 fumadores com uma pequena carga tabágica (1-2 maços-ano). Excepto os doentes no estadio I, todos estavam sujeitos a corticoterapia.

No doseamento de NPT, quer no soro, quer no LLBA, utilizamos um método radioimunológico comercial - "Henning RIAcid".

O sangue foi centrifugado e o soro recolhido foi armazenado a -20°C.; o LLBA, após centrifugação e recolha do sobrenadante, foi congelado nas mesmas condições do soro.

O soro e o LLBA foram apenas descongelados para se efectuar o doseamento de NPT e não se mantiveram congelados por períodos superiores a 6 meses.

RESULTADOS

Verificou-se um aumento significativo da concentração de NPT no soro e no LLBA dos portadores de sarcoidose, quando comparada com a do grupo de controlo (Fig. 1). Este aumento era mais intenso no soro

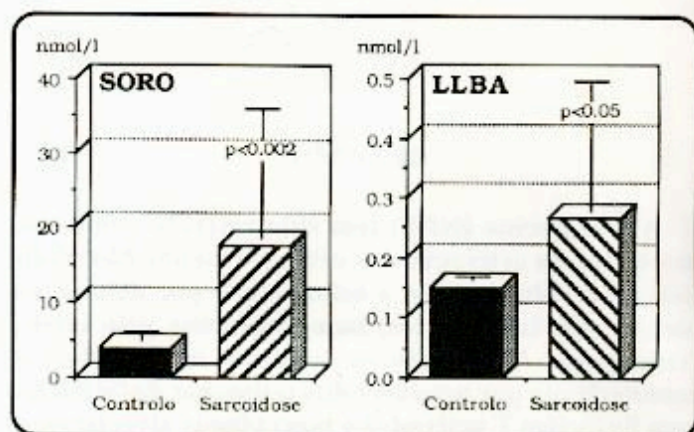


FIG. 1 — Níveis no soro e no LLBA de Neopterinina na Sarcoidose

($p < 0,002$) do que no LLBA ($p < 0,05$), condicionando aumentos percentuais (delta %) de 342% e de 77%, respectivamente.

Tendo em conta o estadiamento clínico da sarcoidose observou-se um aumento estatisticamente significativo da NPT no soro em relação aos três estadios, embora o significado fosse inferior ($p < 0,01$) no estadio I (Fig. 2).

No entanto, ao ser efectuada o mesmo estudo no LLBA, apenas no estadio III se conseguiu demonstrar um aumento de NPT ($p < 0,005$) (Fig. 3), mesmo assim inferior ao encontrado no soro para o mesmo estadio ($p < 0,001$). Este facto ficou-se a dever, não ao aumento de dispersão dos resultados (uma vez que os desvios standard eram semelhantes quando analisados em relação à média), mas a um aumento percentual da concentração média de NPT inferior no LLBA (delta = 165% no LLBA e 603% no soro).

Foi ainda possível fazer o estudo da evolução da concentração de NPT no LLBA de 4 doentes com sarcoidose (1 no estadio I, 2 no II e outro no III) (Fig. 4).

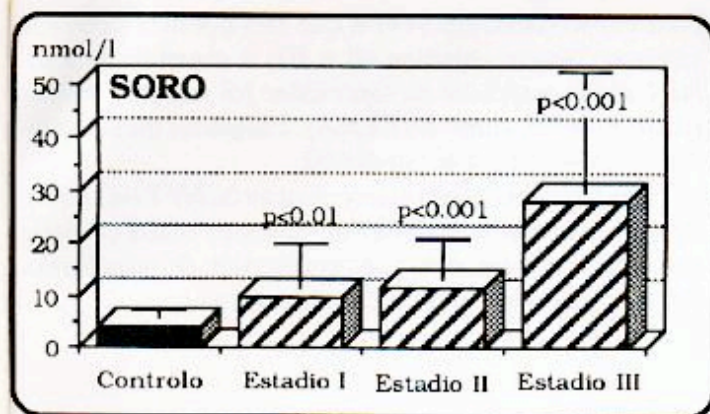


FIG. 2 — Níveis de NPT no soro, de acordo com o estadio da sarcoidose.

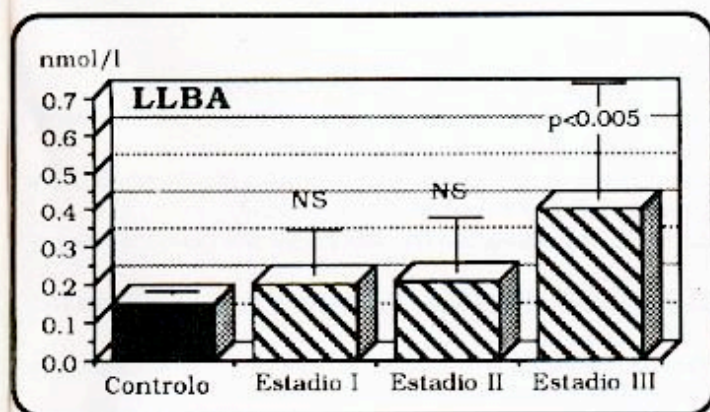


FIG. 3 — Níveis NPT no LLBA, de acordo com o estadio da sarcoidose.

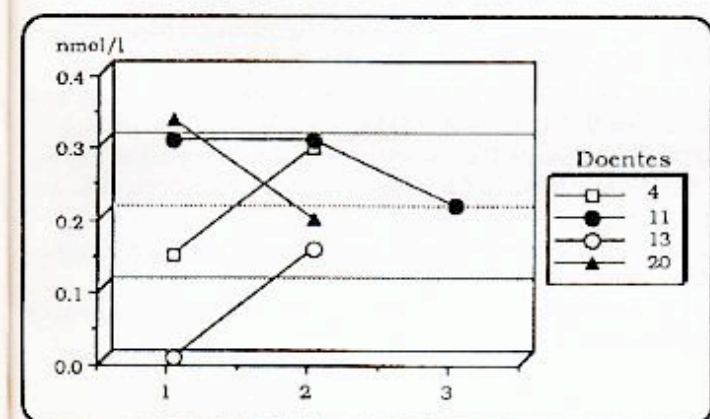


FIG. 4 — Evolução analítica temporal da NPT no LLBA

O estudo da evolução permitiu constatar que os níveis de NPT subiram, em dois casos, da primeira para a segunda determinação, diminuíram, num caso, da primeira para a segunda e no doente em que foi possível obter 3 determinações seriadas constatou-se uma estabilização entre a primeira e a segunda determinações e, na terceira, uma diminuição acentuada da concentração de NPT.

Estas variações, tanto quanto foi possível avaliar, traduziram a evolução clínica dos doentes, correspondendo o aumento do nível de NPT a um agravamento clínico da sarcoidose e a diminuição a uma melhoria clínica. Não foi possível constatar influências directas da corticoterapia nos níveis de NPT no LLBA.

Influência do hábito tabágico:

Sabendo-se que o fumo do tabaco pode influenciar a actividade metabólica do macrófago alveolar [16], tentou-se avaliar até que ponto esta influência poderia conduzir à estimulação da produção de NPT pelos macrófagos.

Contudo, dada a exiguidade da amostra, não foi possível obter resultados suficientemente elucidativos. Assim, dos 7 fumadores com sarcoidose, 4 encontravam-se no estadio I e 3 no estadio II, cujos níveis de NPT no LLBA foram comparados com os de 2 não fumadores do estadio I e 6 do estadio II, respectivamente; resultou não ser possível evidenciar qualquer acção estimuladora do fumo do tabaco na síntese de NPT pelos macrófagos alveolares, tanto nos sarcoidóticos inscritos no estadio I (NPT no LLBA dos fumadores = $0,185 \pm 0,116$, contra $0,16 \pm 0,16$ nos não fumadores) como no estadio II (NPT no LLBA dos fumadores = $0,13 \pm 0,11$, contra $0,2 \pm 0,16$ nos não fumadores).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Conforme se pode verificar, os níveis de NPT encontravam-se elevados, quer no soro, quer no LLBA, dos doentes com sarcoidose. No entanto, a elevação no soro era mais evidente, atingindo significado estatístico em todos os estadios da doença, contrariamente ao verificado no LLBA.

Atendendo a estes factos entendeu-se oportuno determinar a sensibilidade da NPT sérica e do LLBA como marcadores de sarcoidose (Fig 5). A sensibilidade foi, quando aplicada ao grupo sarcoidótico em

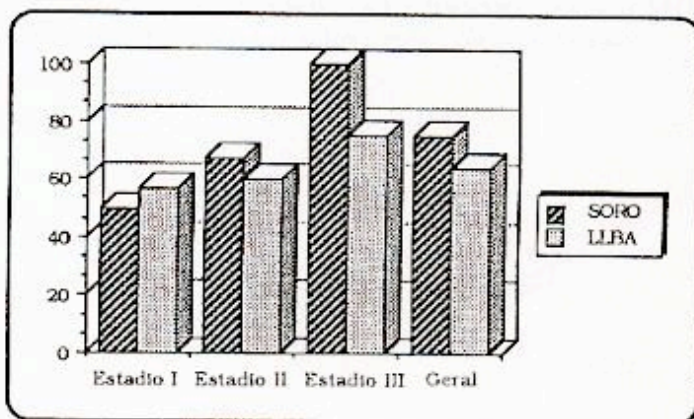


FIG. 5 — Sensibilidade dos níveis de Neopterin na Sarcoidose.

geral, de 76% no soro e de 65% no LLBA. Aliás, a sensibilidade da NPT no soro foi, genericamente, superior à do LLBA, exceptuando os casos correspondentes ao estadio I, nos quais a NPT no LLBA mostrou maior sensibilidade, ainda que relativamente baixa (59%).

Desta forma, salientam-se como conclusões principais a elevação da NPT no soro e no LLBA dos portadores de sarcoidose, aumentos particularmente evidentes nos estadios II e III, apesar do tratamento

com corticosteróides [14] a que tais doentes estavam sujeitos. Nestes estadios (II e III) a sensibilidade da NPT como marcador da sarcoidose foi superior a 60% (tanto no soro, como no LLBA), chegando mesmo aos 100% no soro para o estadio III.

A análise seriada da concentração da NPT no LLBA de 4 portadores de sarcoidose, mostrou perfis evolutivos diferentes que parecem representar, de uma forma fidedigna, a evolução clínica da doença.

BIBLIOGRAFIA

- [1] DHONDT J.L.; DARRAS M.; CRINQUETTE J.: Unconjugated Pteridines in Bronchoalveolar Lavage as Indicators of Alveolar Macrophage Activation. *CHEST*: 95,348-351, 1989.
- [2] EDITORIAL: Neopterins in Clinical Medicine. *LANCET*: 1,509-511, 1988.
- [3] EKLUND A.; BLASCHKE E.: Elevated Serum Neopterin Levels in Sarcoidosis. *LUNG*: 164,325-332, 1986.
- [4] FUCHS D.; HAUSEN A.; REIBGNEGGER G.; WERNER E.R.: Neopterin as a Marker for Activated Cell-mediated Immunity Application in HIV Infection. *IMMUNOLOGY TODAY*: 9,150-155, 1988.
- [5] HUBER CH.; 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.*: 160,310-316, 1984.
- [6] HUNNINGHAKE G.W.; HEMKEN C.; BRADY M.; MONICK M.: Immune Interferon is a Growth Factor for Lung Fibroblasts. *AM. REV. RESPIR. DIS.*: 134,1025-1028, 1986.
- [7] KEOGH B.A.; HUNNINGHAKE G.W.; LINE B.R.; CRYSTAL R.G.: Alveolitis of Pulmonary Sarcoidosis. *AM REV RESPIR DIS*: 128,256-265, 1983.
- [8] LACRONIQUE J.; TRAORE B.M.; FEGNARD J.; MARSAC J.: Urinary Neopterin in the Management of Patients with Pulmonary Sarcoidosis: a Follow-up Study. In *BIOCHEMICAL AND CLINICAL ASPECTS OF PTERIDINES*: Vol. 5,269-277, 1987.
- [9] MOTA PINTO A.; SANTOS ROSA M.A.; LEITE A.C.P.; ROBALO CORDEIRO A.J.A.: Neopterin Studies on Bronchoalveolar Lavage Fluid. *EUR RESPIR J*: 2, SUPL 8,847, 1989.
- [10] PRIOR C.; FRANK A.; FUCHS D.; HAUSEN A.; WACHTER H.: Urinary Neopterin Excretion in Pulmonary Sarcoidosis: Correlation to Clinical Course of the Disease. *CLIN CHIM ACTA*: 177,211-220, 1988.
- [11] PRIOR C.; FRANK A.; FUCHS D.; HAUSEN A.; WACHTER H.: Immunity in Sarcoidosis. *LANCET*: 741, 1987.
- [12] ROBINSON B.W.; McLEMORE T.L.; CRYSTAL R.: Gamma Interferon is Spontaneously Released by Alveolar Macrophages and Lung T Lymphocytes in Patients with Pulmonary Sarcoidosis. *J CLIN INVEST*: 75,1488-1495, 1985.
- [13] TROPPEMAYR J.; NACHBAUR K.; HEROLD M.; HUBER CH.: In-vitro and in-vivo Studies on the Induction of Neopterin Biosynthesis by Cytokines, Alloantigens and Lipopolysaccharides (LPS). *CLIN EXP IMMUNOL*: 74,392-397, 1988.
- [14] TURNER-WARWICK M.; McALLISTER W.; LAWRENCE R.; BRITTEN A.; HASLAM P.L.: Corticosteroid Treatment in Pulmonary Sarcoidosis: do Serial Lavage Lymphocyte Counts, Serum Angiotensin Converting Enzyme Measurements, and Gallium-67 Scans help Management?. *THORAX*: 41,903-913, 1986.
- [15] VENET A.; HANSE A.J.; SALTINI C.; ROBINSON B.W.; CRYSTAL R.: Enhanced Alveolar Macrophage Mediated Antigen-Induced T Lymphocyte Proliferation in Sarcoidosis. *J CLIN INVEST*: 75,293-301, 1985.
- [16] ROBALO CORDEIRO A.J.A.; BAGANHA M.F.; SANTOS ROSA M.A. E OUTROS: Aspectos Bioquímicos e Imunológicos da Repercussão do Tabaco sobre o Aparelho Respiratório. *MED TORAC*: 5, SUPL, 37-53, 1982.