

NEOPTERIN

Den Aktivierungsgrad des Immunsystems erfassen

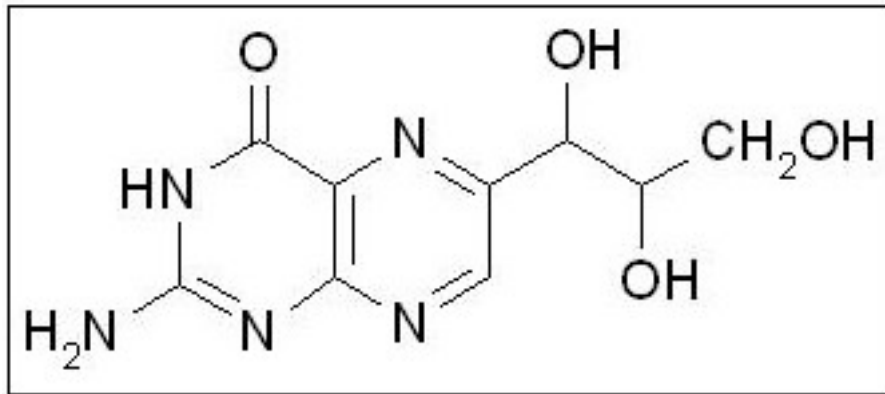


Abb. 1: Neopterin (D-erythro-1', 2', 3'-Trihydroxypropylpterin)

Neopterin ist eine niedermolekulare Substanz (Molmasse 253 Da), die während der zellulären Immunreaktion vermehrt gebildet wird (Abb. 1). Neopterin ist biologisch stabil und kann in Körperflüssigkeiten des Menschen wie Serum, Plasma, Urin oder Liquor cerebrospinalis (CSF) einfach bestimmt werden. Das zelluläre Immunsystem ist bei der Entstehung und dem Verlauf verschiedenster Erkrankungen von zentraler Bedeutung, dazu gehören vor allem virale Infektionen, Autoimmunsyndrome und andere entzündliche Erkrankungen sowie Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantation und bösartige Tumorerkrankungen. Neben der Wertigkeit als labordiagnostische Messgröße geben neueste Befunde Hinweise auf eine mögliche biologische Rolle von Neopterinverbindungen.

Die besondere laboratoriumsdiagnostische Bedeutung des Neopterin liegt darin, dass durch seine Bestimmung der Aktivierungszustand des zellulären Immunsystems empfindlich und aus zellfreiem Material erfasst wird. Die Neopterinbestimmung ist besonders gut für eine Prognoseeinschätzung bei Patienten mit HIV Infektion, bei Patienten mit Polytrauma und Sepsis und bei malignen Tumoren geeignet. Neueste Studien zeigen, dass die Neopterinbestimmung auch bei Patienten mit kardiovaskulärem Risiko beste prognostische Information liefert. Der Neopterinpiegel ist auch zum Therapiemonitoring bei den genannten Patientengruppen und bei anderen entzündlichen Erkrankungen gut geeignet. Als Monitoring von Transplantatempfängern stellt die Neopterinbestimmung einen empfindlichen Weg dar, immunologische Komplikationen wie Abstoßungskrisen oder Virusinfektionen früh zu erkennen. Mit der Neopterinbestimmung kann auch die Unterscheidung von viralen und bakteriellen Infektionen verbessert werden, da besonders bei akuten Virusinfektionen ein früher Anstieg des Neopterinpiegels beobachtet wird. Aus demselben Grund wird das Neopterin screening auch erfolgreich zur Verbesserung der Infektionsicherheit im Blutspendewesen eingesetzt. Diese Informationsbroschüre fasst weitere Details zur Bedeutung der Neopterinbestimmung in der klinisch- chemischen Laboratoriumsdiagnostik zusammen.

(Diese Monographie ist unter www.brahms.de erhältlich)

1. Einleitung

Erhöhte Neopterinpiegel in Körperflüssigkeiten, z.B. Serum und Harn, von Patienten stehen im Zusammenhang mit Erkrankungen, an denen die zelluläre Immunantwort beteiligt ist [1-7], dazu gehören beispielsweise Infektionen (virale Infektionen inklusive HIV-Infektion und Infektionen mit intrazellulär lebenden Bakterien und Parasiten), Autoimmunerkrankungen und andere entzündliche Erkrankungen sowie Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantation und bestimmte maligne Tumorerkrankungen. Das zelluläre Immunsystem ist bei diesen unterschiedlichen Krankheitsprozessen an der Pathogenese beteiligt oder vom zugrunde liegenden Geschehen betroffen. Es ist daher sehr eng mit dem Verlauf dieser Erkrankungen verknüpft, sodass ein großes laboratoriumsdiagnostisches Interesse besteht, den Aktivierungsgrad des Immunsystems zu erfassen. Die Neopterinbestimmung in Serum, Plasma oder Urin, aber auch anderen Körperflüssigkeiten, ermöglicht es, dieses Ziel auf einfache aber umso empfindlichere Weise aus zu erreichen.

2. Zusammenhang zwischen Immunaktivierung, Zytokinfreisetzung und Neopterinbildung

2.1. Immunologische und biochemische Grundlagen der Neopterinbildung

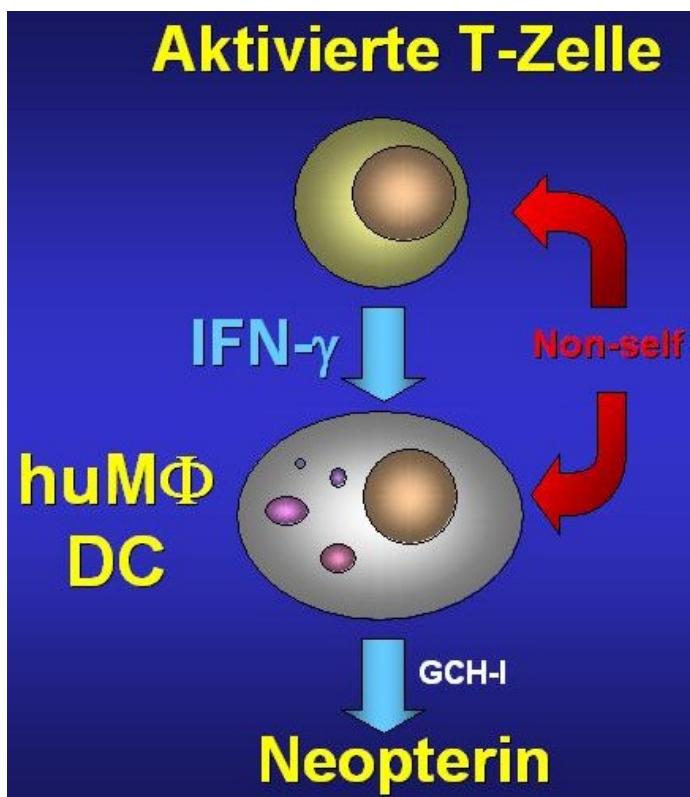


Abb. 2: Immunreaktion und Neopterinbildung: Während der zellulären Immunantwort setzen aktivierte T-Zellen des TH1-Subtyps das Zytokin Interferon- γ frei, das in menschlichen Makrophagen (M Φ) und dendritischen Zellen (DC) die Bildung von Neopterin über das Enzym GTP-Zyklohydrolase I (GCH-I) stimuliert.

Wenn fremde oder modifizierte eigene Zellstrukturen von Lymphozyten im Rahmen der angeborenen oder erworbenen Immunität erkannt werden, so produzieren sie verschiedene Mediatorstoffe, sogenannte Zytokine. Darunter ist das Glykoprotein Interferon- γ eines der wichtigsten. Interferon- γ

wird vor allem von T-Lymphozyten und natürlichen Killerzellen freigesetzt und ist für die antimikrobielle und antitumorale Aktivität des Immunsystems von besonderer Bedeutung. Im Makrophagen des Menschen regt besonders Interferon- γ die Produktion und Freisetzung von Neopterin an (Abb. 2) [8].

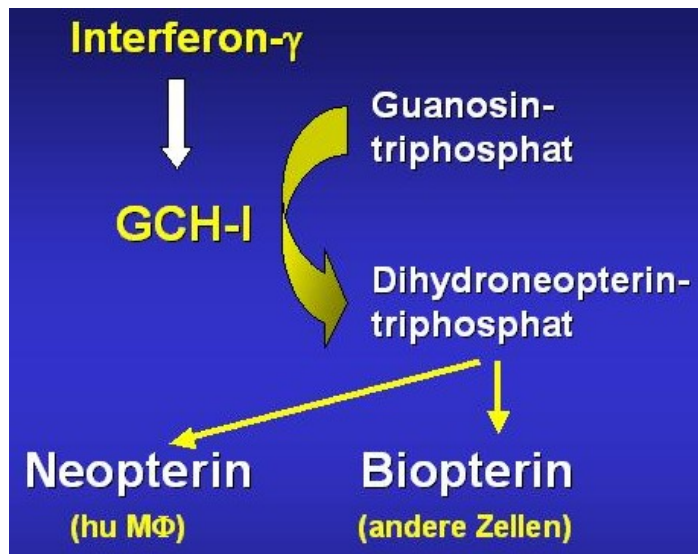


Abb. 3: Bildung des Neopterin aus Guanosintriphosphat (GTP): Zyklohydrolase I (GCH-I) spaltet GTP zur Bildung von 7,8-Dihydro-neopterin-triphosphat, woraus sich bei humanen Makrophagen aufgrund einer relativen Defizienz des Enzyms 6-Pyruvoyltetrahydropterin Synthase (PTPS) nach Dephosphorylierung und Oxidation Neopterin und 7,8-Dihydroneopterin auf Kosten von Biopterinderivaten bilden.

Neopterin, 6-D-erythro-Trihydroxypropylpterin (Abb. 1), ist mit einer Molmasse von 253 Da eine niedermolekulare Substanz, die durch das Schlüsselenzym der Pteridinbiosynthese, GTP-Zyklohydrolase I, aus Guanosintriphosphat (GTP) biosynthetisiert wird. GTP-Zyklohydrolase spaltet dabei Guanosintriphosphat zur Bildung des Zwischenprodukts 7,8-Dihydroneopterin-triphosphat (Abb. 3). Zum Unterschied zu anderen Zellen und Spezies haben humane Monozytenzellen nur eine geringe Aktivität des Tetrahydrobiopterin bildenden Enzyms, Pyruvoyltetrahydropterin Synthase, sodass anstelle von Biopterinderivaten nahezu ausschließlich Neopterin und 7,8-Dihydroneopterin synthetisiert und freigesetzt werden [9]. Neben den aus peripheren Blutzellen generierten Makrophagen sind auch aus peripheren Blutzellen differenzierte dendritische Zellen zur Neopterinbildung befähigt [10]. Relevante Mengen von Neopterin werden nur in Körperflüssigkeiten des Menschen und bei Primaten beobachtet. Ebenso werden in Kulturflüssigkeiten anderer Zellen als humaner Monozyten, wenn überhaupt, nur geringe Mengen von Neopterin gebildet, bei diesen Zellen ist der bei weitem überwiegende Anteil Biopterin. In Zellkulturen von humanen Makrophagen oder der myelomonozytären Zelllinie THP-1 wurde Interferon- γ als das wesentliche Zytokin identifiziert, das zu einer direkten Stimulation der Neopterinbildung führt [11]. Andere Zytokine wie verschiedene Interleukine sowie Phagozytose-steigernde Faktoren wie Zymosan sind dazu nicht in der Lage. Auch Tumor Nekrose Faktor- α kann direkt nur eine geringgradige Neopterinbildung auslösen, verstärkt aber die Interferon-induzierte Neopterinbildung [12]. Anders als bei Makrophagen bewirken bei dendritischen Zellen nicht nur Interferon- γ sondern auch die Typ1 Interferone - α und - β eine vergleichbare Neopterinbildung [10]. In peripheren Blutzellen wurde der Einfluss von verschiedenen Th1-Typ (= Interferon- γ und Interleukin-12) und Th2-Typ (Interleukin-4 und -10) Zytokinen untersucht. Aus den Ergebnissen ist zu schließen, dass Th-1 Typ Zytokine die Wirkung des Interferon- γ verstärken können, während Th2-Typ Zytokine eine hemmende Wirkung auf die Neopterinbildung ausüben [13]. Diese Beobachtungen führen zu dem zusammenfassenden Ergebnis, dass das

Ausmaß der Neopterinbildung die Summe der positiv- und negativ-regulierenden Einflüsse auf die mit Interferon- γ aktivierte Monozyten/Makrophagenpopulation widerspiegelt.

Da Interferon- γ , das vor allem durch aktivierte T-Lymphozyten gebildet wird, der entscheidende Stimulus für die Neopterinbildung ist, kommt natürlich dem Aktivierungsgrad der T-Lymphozyten, und dabei vor allem den so bezeichneten Th1-Typ Zellen, die für die Bildung von Interferon- γ und Interleukin-2 hauptverantwortlich sind (Abb. 2), eine entscheidende Rolle zu [14]. Stimuli, die die Aktivierung dieser T-Zellsubpopulation beeinflussen, regulieren damit indirekt auch das Ausmaß der Makrophagenaktivierung und damit die Neopterinbildung. So führt die exogene Zufuhr von Interleukin-2 zu peripheren mononukleären Zellen oder auch in vivo zu einer Steigerung der Neopterinbildung via Aktivierung und Expansion von T-Zellen, obwohl für dieses Zytokin kein direkter Einfluss auf die Neopterinbildung durch Monozyten/Makrophagen bekannt ist. Ebenso ist z.B. Interleukin-12 in der Lage, die Neopterinbildung zu steigern. Im Gegensatz dazu vermindern Immunsuppressiva wie Cyclosporin-A, die die Zytokinbildung durch T-Zellen hemmen, auch die Neopterinbildung.

Interessanterweise wurde aber auch bei Patienten mit Mendel'scher Anfälligkeit für eine mykobakterielle Infektion (Mendelian susceptibility to mycobacterial disease, MSMD), einer Erkrankung die mit einem Defekt der Interleukin-12/Interferon- γ Signalkaskade einhergeht, erhöhte Neopterin Spiegel beschrieben [15], obwohl bei manchen dieser Patienten keine Interferon- γ Aktivität nachweisbar war. Diese Befunde sind ein Hinweis dafür, dass auch durch andere Stimuli als Interferon- γ , vermutlich vor allem Typ-1 Interferone oder über Toll-like Rezeptoren mediierte Wege [16], die Neopterinbildung ausgelöst werden kann. Dabei könnte der Feedback Kontrolle der Pteridinsynthese durch das sogenannte „GTP Zyklohydrolase I feedback regulatory protein, GFRP“ eine gewisse Rolle zukommen, da dieses Protein z.B. durch Lipopolysaccharid unterdrückt wird und im Gegenzug die Aktivität von GTP-Zyklohydrolase gesteigert wird [17].

Die Aussagekraft des Neopterin Spiegels ist der direkten Bestimmung von Interferon- γ überlegen, da Neopterin biologisch inert ist und seine Halbwertszeit im menschlichen Organismus nur von seiner renalen Ausscheidung bestimmt wird [18]. Die biologische Halbwertszeit und damit die labordiagnostische Zugänglichkeit von Zytokinen wie Interferon- γ wird hingegen durch verschiedenste Vorgänge beeinflusst. So wird freigesetztes Interferon- γ sehr rasch an Zielstrukturen gebunden oder durch lösliche Rezeptoren neutralisiert. Aus diesem Grund erreichen lokal gebildete Zytokine oft nicht den Blutkreislauf und entziehen sich somit einer exakten Erfassung durch die Laboratoriumsdiagnostik [19]. Darüber hinaus spiegelt der Neopterinwert nicht nur die Wirkungen eines einzelnen Zytokins wider, sondern ermöglicht die Erfassung der Summe der Wirkung immunologischer Netzwerke und Regelkreise auf die Population der Monozyten/Makrophagen und dendritischen Zellen [13]. Die Erfassung dieser vielfältigen Kooperationen zwischen immunkompetenten Zellen ist auch die Basis für den besonderen Stellenwert der Neopterinbestimmung in der immunologischen Diagnostik.

Außerhalb von Prozessen, die mit einem aktivierten zellulären Immunsystem einhergehen, werden erhöhte Neopterin Spiegel auch bei einem seltenen Stoffwechseldefekt der Biopterin-Biosynthese, der

atypischen Phenylketonurie (PKU), beobachtet und auch zur Differentialdiagnose herangezogen [20]. Dieser Stoffwechseldefekt ist wie die klassische PKU mit erhöhten Phenylalaninspiegeln im Blut verbunden und wird üblicherweise in den ersten Lebensmonaten eines Kindes diagnostiziert. Die Inzidenz des angeborenen Defektes, der zur Erhöhung des Neopterin in Körperflüssigkeiten führt, liegt bei weniger als 1 je 1 Million Geburten.

2.2. Neopterinderivate und Radikal-vermittelte Prozesse

Interferon- γ ist ein sehr potenter antimikrobieller und antitumoraler Mediator des Immunsystems. Dabei ist vor allem seine Wirkung als Stimulus für die Freisetzung von toxischen Sauerstoffverbindungen von Bedeutung [21]. Tatsächlich existiert eine enge Korrelation zwischen der Neopterinbildung und der Fähigkeit von Monozyten/Makrophagen, reaktive Sauerstoffverbindungen freizusetzen [21]. Da Interferon- γ einer der stärksten Trigger für die Freisetzung dieser reaktiven Sauerstoffmetabolite ist [22], kann die Neopterinbildung auch als indirekte Messgröße für das Ausmaß an immunologisch ausgelöstem oxidativen Stress gewertet werden [23, 24]. Neopterin selbst scheint eine wichtige Rolle in der Wechselwirkung zwischen den toxischen Reaktionspartnern des aktivierten Makrophagen spielen zu können: Einerseits sind Neopterinverbindungen in der Lage, die Wirkung oxidierender Stoffe zu beeinflussen, z.B. wurde anhand von Chemilumineszenzuntersuchungen nachgewiesen, dass Neopterin ein effizienter Multiplikator der Effekte verschiedener reaktiver Substanzen wie H_2O_2 , HOCl, Chloramin und Peroxynitrit (ONOO^- , ein Effektormolekül des Stickstoffmonoxid, NO) ist, während andererseits 7,8-Dihydroneopterin als Scavenger wirkt [25-28]. Diese Befunde legen eine neue physiologische Bedeutung der Bildung von Neopterinverbindungen nahe, nämlich als endogene Regulatoren von zytotoxischen Effektorfunktionen der aktivierten Makrophagen [23].

Da die Bildung des Neopterin in hohen Konzentrationen eine spezifische Eigenschaft der Makrophagen und dendritischen Zellen von Primaten ist, stellt sich die Frage, wozu diese Zellen diese zusätzliche Fähigkeit erworben haben. Eine der bedeutendsten zytotoxischen Reaktionen von mit Interferon- γ stimulierten Makrophagen ist die Bildung von Stickstoffmonoxid (NO) aus Arginin durch die induzierbare NO-Synthase (iNOS). Dieser Mechanismus ist für verschiedenste Spezies bekannt, konnte aber z.B. beim Menschen bisher nur eingeschränkt nachgewiesen werden [29]. iNOS benötigt für seine volle Funktion Tetrahydrobiopterin als Kofaktor, das in aktivierten humanen Makrophagen aufgrund der Neopterinbildung nur wenig bis gar nicht zur Verfügung steht. So erscheint es plausibel, dass dieser unzureichend oder überhaupt nicht vorhandene zytotoxische Mechanismus beim menschlichen Makrophagen durch die zusätzliche Produktion von Neopterin kompensiert werden könnte [30]. Darüber hinaus wurde gefunden, dass Neopterin auch die Wirkung des toxischen iNOS Produkts Peroxynitrit (ONOO^-) zu verstärken in der Lage ist [31]. ONOO^- kann aus der Reaktion von NO mit Superoxidanion entstehen, und diese beiden Reaktionspartner können gleichzeitig durch iNOS auftreten, wenn das Enzym durch einen Mangel an Tetrahydrobiopterin entkoppelt ist.

Neben der physikalisch-chemischen Reaktion scheinen Neopterinderivate aber auch generell mit biologischen Vorgängen zu interferieren, die durch ein Redoxgleichgewicht reguliert werden. In vitro steigern Neopterinverbindungen z.B. die Expression des nukleären Faktors κB [32, 33] ebenso wie die Gene für Tumor Nekrose Faktor- α , iNOS und für das interzelluläre Adhäsionsmolekül ICAM-1 [34-36]. Die dabei involvierten Signalübertragungswege wirken pro-inflammatorisch. Diese Beobachtungen stimmen gut mit früheren Befunden überein, dass die Neopterinbildung in Makrophagen seine eigene Synthese sowie eine Entzündungsreaktion insgesamt verstärkt [37, 38]. Auf ähnlichen Wegen wird u. a. auch die Erythropoetinbildung gehemmt [39] und der programmierte Zelltod durch Neopterin, Dihydroneopterin und andere Pterinderivate wie 6-Formylpterin ausgelöst bzw. verstärkt [40-42]. Neueste Befunde weisen sogar darauf hin, dass Neopterin und Dihydroneopterin in der Lage sind, die Expression von Onkogenen zu beeinflussen [43] und diese Verbindungen somit direkt mit dem malignen Geschehen verknüpft sein könnten.

3. Neopterinbestimmung in Körperflüssigkeiten

Neopterin und 7,8-Dihydroneopterin werden während der Immunreaktion in einem konstanten Verhältnis gebildet und treten daher auch im peripheren Blut nur gemeinsam auf, wobei das Verhältnis zwischen Neopterin und 7,8-Dihydroneopterin im für das Routinelabor relevanten venösen Blut etwa 1 : 2 beträgt, im arteriellen Blut (und damit auch im Urin) ist der Überschuss an 7,8-Dihydroneopterin größer, und das Verhältnis errechnet sich als 1 : 3 [44, 45]. Für die Routineanwendung in der klinisch-chemischen Laboratoriumsdiagnostik ist nur die Bestimmung des Neopterin, nicht aber des 7,8-Dihydroneopterin zweckmäßig [46, 47]. Neopterin ist in Körperflüssigkeiten ausreichend stabil, sodass eine Anwendung der Neopterinbestimmung im Routinelabor ohne Schwierigkeiten möglich ist. Hingegen ist 7,8-Dihydroneopterin chemisch labil und wird durch Oxidation abgebaut, sodass nur sehr stringente präanalytische Auflagen zu verwertbaren Messergebnissen führen können. Die niedermolekulare Substanz Neopterin wird über die Niere ausgeschieden, und Änderungen der Neopterin Spiegel im Serum führen zu einer analogen Änderung der Neopterin Spiegel im Harn [48]. Unter der Voraussetzung einer weitgehend normalen Nierenfunktion ergibt sich damit eine gleichwertige Sensitivität der Neopterinbestimmung im Serum und Harn zur Erfassung zellulär-immunologischer Aktivierungsvorgänge. Aufgrund einer geringen Photolabilität des Neopterin [49, 50], muss Probenmaterial beim Transport und bei der Lagerung vor direkter Sonneneinstrahlung geschützt werden. Im Allgemeinen reicht ein Einwickeln der Probengefäße in z.B. Alu-Folie aus, alternativ dazu können auch dunkle Probengefäße verwendet werden.

3.1. Bestimmung in proteinhaltigen Körperflüssigkeiten

In Serum, Plasma und anderen proteinhaltigen Körperflüssigkeiten wie Liquor cerebrospinalis, Pankreassaft, Galle oder Ascites wird der Neopterin Spiegel vorteilhaft mittels Immunoassay (z.B. ELISA oder Radioimmunoassay) bestimmt [51, 52]. Die Neopterin Konzentrationen in Serum und Plasma unterscheiden sich nicht. Für eine Einfachbestimmung mittels Immunoassays reichen je nach Empfindlichkeit des Testes 20 - 100 μl Serum, Plasma oder Liquor aus. Der Neopteringehalt in

Serum- und Plasmaproben ist bei Raumtemperatur 3 Tage stabil [50], sodass auch ein ungekühlter Probenversand per Post möglich ist. Für die Lagerung bis zu einer Woche reicht Kühlung bei 4°C aus, für einen längeren Zeitraum müssen Proben eingefroren werden (-20°C für 3 Monate). Mehrmalige Tau- und Gefrierzyklen müssen auf jeden Fall vermieden werden, sie können zu einer Veränderung des Neopteringehalts führen. Wird der Neopteringehalt im Gallensaft bestimmt [53], so empfiehlt es sich, die Proben zuerst mit physiologischer Kochsalzlösung (0.9 % wässriger NaCl Lösung) im Verhältnis 1 : 11 zu verdünnen.

Die Verwendung von Hochdruckflüssigkeitschromatographie für die Bestimmung der Neopterinkonzentration in proteinhaltigen Flüssigkeiten kann nicht uneingeschränkt durchgeführt werden. Da das Ansäuern des Probenmaterials mit z.B. Trichloressigsäure zur teilweisen Oxidation von 7,8-Dihydroneopterin und damit einer Zunahme des Neopterin führt, muss beim Ausfällen des Serum/Plasmaproteins auf saure Reagenzien verzichtet werden. Als Alternative bieten sich z.B. Ultrafiltration der Proben oder die Verwendung von Azetonitril als Fällungsreagenz an [54].

3.2. Harnbestimmung

Für die Bestimmung des Neopterin in Harnproben wird üblicherweise ein Hochdruckflüssigkeitschromatographie-(HPLC)-Verfahren an reversed phase C18 mit Sörensen-Phosphatpuffer (0,015 M, pH = 6.4) als Laufmittel eingesetzt (Flussrate 1,0 ml/min.), das eine rasche, empfindliche und genaue Messung erlaubt und den Anforderungen der Qualitätskontrolle klinisch-chemischer Untersuchungen entspricht [47, 49]. 100 µl Urin werden mit 1000 µl Elutionspuffer gemischt, der 2g/L EDTA enthält, um eventuelles Sediment aufzulösen. Neopterin wird durch Fluoreszenzmessung (Anregungsmaximum: 353 nm, Emissionsmaximum: 438 nm) und Kreatinin durch Messung der UV-Absorption bei 235 nm erfasst. Nach jedem Analysentag (= bis zu 150 Proben) wird die Säule mittels eines 20 minütigen Gradienten von Puffer über Wasser zu 100% Methanol, danach für 20 Minuten auf Methanol, gefolgt von einem Gradienten über Wasser zurück zum Puffer (innerhalb von weiteren 20 Minuten) gereinigt. Immunologische Methoden sind der HPLC Methode gleichwertig. Für die Neopterinbestimmung in Harnproben mittels Immunoassays ist aber zu berücksichtigen, dass die beobachteten Konzentrationen wesentlich höher als im Serum und über einen großen Bereich verteilt sind, da zu den immunologisch bedingten Konzentrationsveränderungen auch noch die physiologische Harnverdünnung kommt. Deshalb empfiehlt sich, Harnproben vor der Untersuchung mit physiologischer Kochsalzlösung 1 : 100 zu verdünnen.

Für Reihenuntersuchungen ist es zweckmäßig anstelle des 24h Harns den ersten Morgenharn zu verwenden, wobei physiologische Konzentrationsschwankungen durch den Bezug auf Kreatinin als interner Standard ausgeglichen werden. Die Quotienten Neopterin pro Kreatinin werden dann üblicherweise in der Dimension µmol Neopterin/mol Kreatinin ausgedrückt. Auch wenn die absoluten Neopterinkonzentrationen (pro Liter Harn) keinen geschlechtsspezifischen Unterschied zeigen, sind die Neopterin pro Kreatinin Quotienten aufgrund der bei Frauen geringeren Kreatininkonzentrationen

bei Frauen höher (Tabelle 1). Sie unterliegen einem Tagesrhythmus, wobei im ersten Morgenharn höhere Quotienten (zirka +20%) gefunden werden als während des Tages.

Tabelle 1: Normwerte des Neopterin (Mittelwerte \pm Standardabweichungen und 95. bzw. 97,5. Perzentile) in verschiedenen Körperflüssigkeiten

Harnneopterin ($\mu\text{mol/mol}$ Kreatinin):

Alter	Männer	97,5 %	Frauen	97,5 %
19-25	123 \pm 30	195	128 \pm 33	208
26-35	101 \pm 33	182	124 \pm 33	209
36-45	109 \pm 28	176	140 \pm 39	239
46-55	105 \pm 36	197	147 \pm 32	229
56-65	119 \pm 39	218	156 \pm 35	249
> 65	133 \pm 38	229	151 \pm 40	251

Serumneopterin (nmol/L):

Alter	Männer/Frauen	95 %
<19	6.8 \pm 3.6	13.5
19-75	5.3 \pm 2.7	8.7
>75	9.7 \pm 5.0	19.0

Neopterin im Liquor cerebrospinalis (nmol/L):

Alter	Männer/Frauen	95 %
20-60	4.2 \pm 1.0	5.5

Für eine Einfachbestimmung mittels HPLC werden 100 μl Harn benötigt. Wie Serum und Plasma sind auch Harnproben bei normaler Tages- oder Raumtemperatur mindestens 3 Tage stabil, für die Lagerung bis zu einer Woche reicht eine Kühlung bei 4°C aus. Für einen längeren Zeitraum müssen Proben eingefroren werden. Oftmalige Tau- und Gefrierzyklen sind zu vermeiden.

3.3. Normwerte

Die im Serum bzw. Plasma gefundenen Neopterinwerte unterscheiden sich nicht und liegen durchschnittlich bei 5.2 \pm 2.5 nmol/L Neopterin (Tabelle 1) [51]. Die Normalwerte und oberen Toleranzgrenzen (97.5th Perzentile) zeigen eine Altersabhängigkeit, die eine Einteilung in drei Altersklassen notwendig macht (Tabelle 1). Die Neopterinkonzentrationen im Liquor cerebrospinalis (CSF) sind etwas niedriger als jene im Serum oder Plasma [55].

Die im ersten Morgenharn gefundenen Neopterinkonzentrationen liegen durchschnittlich bei etwa 1500 nmol/L, die Kreatininkonzentrationen bei 12 mmol/L, sodass sich die Normwerte bei Gesunden als 125 \pm 35 μmol Neopterin/mol Kreatinin errechnen. Die Normwerte und oberen Toleranz-grenzen

des Harnneopterin sind bei klinisch gesunden Personen, teilweise bedingt auch durch die unterschiedliche Kreatininausscheidung, geringfügig alters- und geschlechtsabhängig (Tabelle 1).

Die renale Clearance von Neopterin ist ähnlich der von Kreatinin, sodass eine renale Störung die Neopterin-pro-Kreatinin-Konzentrationen im Harn nur wenig beeinflusst [48]. Zum Unterschied dazu sind die Neopterinspiegel im Blut bis zu einem gewissen Grad von der Nierenfunktion abhängig, d.h. bei verminderter Ausscheidung akkumuliert Neopterin im Blut, und urämische Patienten weisen aus diesem Grund teilweise extrem hohe Neopterinspiegel in Serum und Plasma (200 nmol/L und mehr) auf [56]. Bei Patienten mit offensichtlich eingeschränkter Nierenfunktion ist daher eine mögliche verminderte Neopterinausscheidung zu berücksichtigen.

Tabelle 2: Kurzaufstellung von Anwendungsbereichen für die Neopterinbestimmung

Infektionen

Erhöhtes Neopterin vor allem bei viralen Infektionen und Infektionen mit intrazellulär lebenden Bakterien und Parasiten
Besondere Bedeutung zur Prognosebeurteilung von HIV Infizierten
Differentialdiagnostische Hilfestellung zur Unterscheidung von Infektionen mit Bakterien vs. Viren
Prognostische Aussagekraft bei Patienten mit Sepsis

Autoimmunerkrankungen und andere entzündliche Erkrankungen

Erhöhtes Neopterin bei rheumatoider Arthritis, systemischer Lupus erythematosus, Wegener'sche Granulomatose, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa in Abhängigkeit vom Schweregrad
Differentialdiagnostische Hilfestellung zur Unterscheidung z.B. von rheumatoider Arthritis versus Osteoarthritis
Prognostische Beurteilung von Patienten mit kardiovaskulärem Risiko

Maligne Erkrankungen

Erhöhtes Neopterin praktisch bei allen Tumorsituationen (gynäkologischen und hämatologischen Neoplasien, Bronchus- und Prostatakarzinom, gastrointestinalen Tumoren, malignes Melanom) in Abhängigkeit vom Schweregrad
Vor allem zur Prognosebeurteilung und Verlaufs- und Therapiekontrolle

Transplantation

Immunologischen Komplikationen wie Abstoßungsreaktionen und Infektionen werden durch ansteigende Neopterinspiegel angezeigt
Neopterinmessung in bestimmten Körperflüssigkeiten (Galle, Pankreassaft) zur Erhöhung der Spezifität der Aussage

Therapiekontrolle

Immunmodulierende Therapie mit z.B. Zytokinen oder Biologicals
Erfassung des Behandlungserfolgs bei Erkrankungen, die zu erhöhten Neopterinwerten führen (z.B. antiretrovirale Therapie der HIV Infektion, antibakterielle Therapie bei Tuberkulose)

Blutspenderscreening

Zum Ausschluss von akuten Infektionen von vor allem viralen Erregern durch erhöhte Neopterinspiegel

4. Anwendung der Neopterinbestimmung

In Tabelle 2 ist eine Kurzaufstellung von Anwendungsbereichen angegeben, für die ein sinnvoller Einsatz der Neopterinbestimmung als labordiagnostische Messgröße gezeigt wurde. Die folgenden Kapitel enthalten eine ausführlichere Darstellung der Wertigkeit des Neopterin in diesen Bereichen.

4.1. Infektionen

Im Rahmen der Abwehrtätigkeit des Organismus gegen Zellen, die von Viren, intrazellulär lebenden Bakterien bzw. Parasiten oder Pilzen befallen sind, werden verschiedene Kompartimente des Immunsystems aktiviert. Neben dem natürlichen Immunsystem ist für die Abwehr von infizierten oder maligne transformierten Zellen vor allem das zelluläre (= Th1-Typ) Immunsystem verantwortlich. Dabei sind die Th1-Typ Zytokine Interleukin-2 als Wachstumsfaktor für T-Lymphozyten und Interferon- γ als Initiator der zytotoxischen Reaktion zentral beteiligt. Daneben können vor allem jene entzündlichen Prozesse, die durch Endotoxine Gram-negativer Erreger hervorgerufen werden, zur Aktivierung von T-Lymphozyten und Bildung von Interferon- γ führen. Daher ergeben sich bei Infektionen mit den angeführten Erregern, sowie bei chronischen bakteriellen Infektionen und bei Patienten mit Sepsis und Trauma erhöhte Neopterin Spiegel in Körperflüssigkeiten.

4.1.1. Virale Infektionen

Bei akuten viralen Infektionen sind die Neopterinkonzentrationen praktisch bei allen Patienten erhöht. Dies gilt für Patienten mit akuter Hepatitis A und B [57] ebenso wie bei Patienten mit Epstein-Barr-Virus Infektion (Mononukleose) und Cytomegalievirus Infektion [58, 59] sowie mit Masern [60, 61]. Ebenso werden bei Patienten mit schwerem akuten respiratorischem Syndrom (SARS) und mit Dengue Virus Infektion durchwegs erhöhte Neopterin Spiegel gefunden [62, 63], wobei die Höhe des Neopterin Spiegels gut mit der Krankheitsaktivität korreliert und eine prognostische Einschätzung des Krankheitsverlaufs erlaubt. Bei ersten Untersuchungen noch vor Verfügbarkeit eines spezifischen Tests für eine Infektion mit Hepatitis C Virus (HCV) wurde bei Patienten mit chronischer non-A/non-B-Hepatitis signifikant höhere Neopterinwerte auf als Patienten mit nicht infektiöser Fettleber beschrieben [64]. Die Neopterinbestimmung kann aber auch nach der Etablierung von Testsystemen für Anti-HCV Antikörper eine Hilfestellung als zusätzlicher differentialdiagnostischer Parameter geben. Untersuchungen an HCV Antikörper positiven Blutspendern zeigten, dass der Neopterin Spiegel signifikant mit dem Ergebnis der Polymerasekettenreaktion (PCR) einhergeht [65].

Ein ähnlicher Verlauf der Neopterin Spiegel ergibt sich bei der experimentellen Infektion von Rhesus Makaken mit dem zu HIV analogen simianen Immundefizienzvirus SIV [71]. Auch hier steigen die Neopterin Spiegel nach erfolgter Inokulation des SIV innerhalb von zirka 5 Tagen an, noch bevor es zur Serokonversion kommt. Danach bleiben die Neopterin Spiegel in der Mehrheit der Patienten oberhalb des Ausgangswertes und korrelieren mit dem Verlauf der Infektion. Außerdem wurde ein Zusammenhang zwischen dem Virulenzgrad und der Höhe des Neopterin Spiegels beim Patienten beobachtet [72].

Bei viralen Infekten steigt der Neopterinpiegel üblicherweise schon vor dem Auftreten von ersten Symptomen und vor messbarer Antikörperbildung an, nach erfolgter Serokonversion fallen die Neopterinpiegel ab und kehren in der Rekonvalenzphase innerhalb weniger Tage in den Normbereich zurück (Abb. 4). Die Verläufe der Neopterinkonzentrationen unterscheiden sich dabei nicht wesentlich zwischen akuten Infektionen mit dem DNA Virus CMV, dem RNA Virus bei Rubella oder dem lymphotropen Retrovirus HIV-1 [59, 66-68].

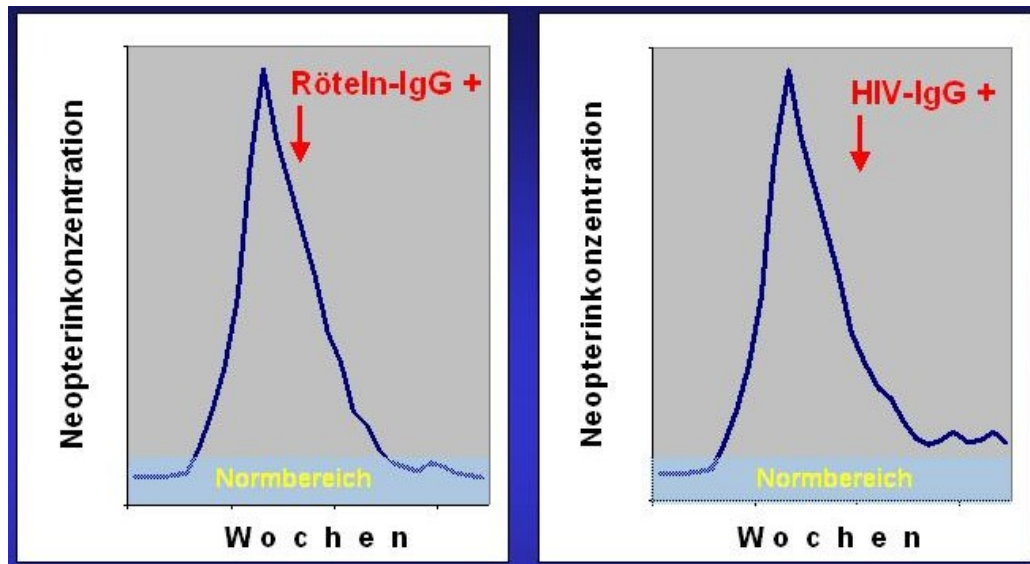


Abb. 4: Schematischer Verlauf der Neopterinpiegel bei einem Patienten während einer akuten Rubella Virus Infektion (links, vgl. [67]) und während einer akuten HIV Infektion (rechts, vgl. [68]): In beiden Fällen erfolgt der Neopterinanstieg vor Serokonversion (IgG+), nach einer akuten HIV Infektion kehren aber in der Regel die Neopterinpiegel zum Unterschied zur Rubella Virus Infektion nach der Serokonversion nicht in den Normbereich zurück.

4.1.1.1. Infektionen mit dem humanen Immundefizienz Virus (HIV)

Bei nahezu 100% der Patienten mit AIDS werden erhöhte Neopterinpiegel in Serum und Harn gefunden, aber auch in früheren Stadien der HIV Infektion sind die Neopterinkonzentrationen bereits erhöht [1]. Der Verlauf der Neopterinpiegel in der akuten Phase einer HIV Infektion ist vor allem in der Phase vor Serokonversion ähnlich zu anderen Virusinfektionen, aber im Gegensatz dazu normalisiert sich bei HIV Infizierten der Neopterinpiegel danach nicht vollständig [68].

Bei etwa 80% der Infizierten bleibt der Neopterinpiegel auch nach erfolgter Serokonversion außerhalb des Normbereichs [68-70], d.h., dass die nachfolgende asymptomatische Phase der Infektion bei fast allen unbehandelten Betroffenen mit einem chronisch erhöhten Neopterinpiegel einhergeht. Mit fortschreitender Erkrankung steigen die Neopterinpiegel weiter an, sodass bei AIDS-Patienten die höchsten Neopterinkonzentrationen in Harn und Serum gefunden werden (Abb. 5).

Neopterin hat sich als ein besonders gut geeigneter Parameter zur Vorhersage des Verlaufs einer HIV-Infektion etabliert [69, 70, 73-76]. Auch hier wird, wie bei anderen Erkrankungen, eine Progression der Erkrankung von höheren (weiter steigenden) Neopterinkonzentrationen angekündigt.

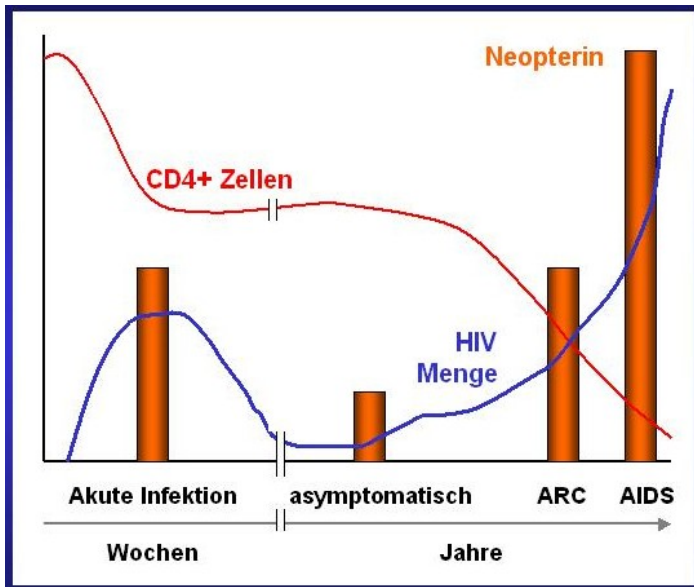


Abb. 5: Schematischer Verlauf der Neopterin-Spiegel (Säulen) bei HIV-Infizierten: Nach der akuten Infektion bleiben bei zirka drei Viertel der HIV-Infizierten auch während der asymptomatischen Phase der Infektion die Neopterin-Spiegel erhöht, bei Krankheitsprogression (AIDS related complex = ARC, AIDS) steigen die Spiegel weiter an. Die Zahl der CD4+ T-Zellen (rot) verhalten sich in der Regel reziprok zu den Neopterinwerten, hingegen ergibt sich eine direkte Korrelation zu den Ergebnissen der quantitativen Bestimmung der HIV-mRNA (HIV-Menge, blau) mittels Polymerase-Kettenreaktion.

Der Neopterin-Spiegel erlaubt schon im Frühstadium der Infektion eine gute Beurteilung von HIV-Infizierten bezüglich des Risikos einer bevorstehenden Verschlechterung der Erkrankung bis hin zu AIDS (Abb. 6).

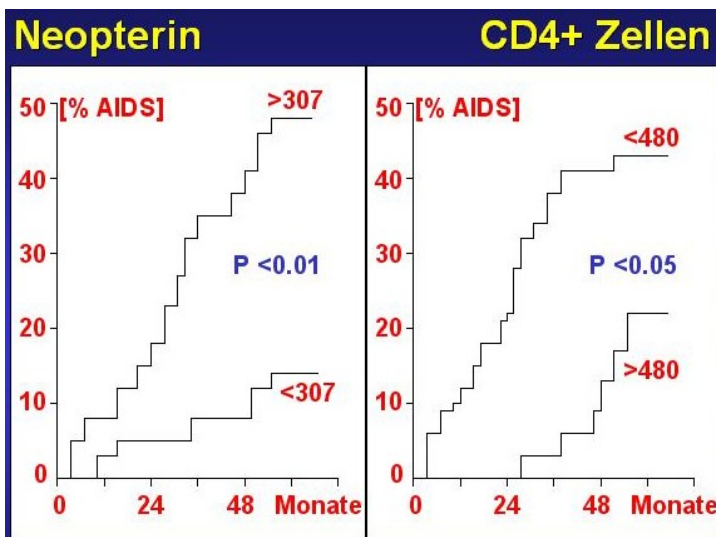


Abb. 6: Prognostische Wertigkeit der Neopterin-Spiegel bei HIV-Infizierten: innerhalb der Beobachtungszeit von 72 Monaten entwickelten Patienten mit niedrigeren Neopterinausgangskonzentrationen (<307 µmol Neopterin/mol Kreatinin im Urin) seltener AIDS als jene mit höheren Neopterin-Spiegeln (links), vgl. [69]. In den selben Patienten waren niedrigere CD4+ Zahlen (<480/mm³) mit schnellerer Krankheitsprogression verbunden (rechts).

Die prognostische Wertigkeit des Neopterin ist dabei zumindest gleichwertig der Aussage der CD4+ T-Zellzahl und liefert auch zusätzliche Information zur quantitativen Bestimmung der Virusmenge mittels HIV-RNA-PCR [75, 76]. Aus einer multivariaten Analyse ergibt sich, dass die „unspezifische“ Neopterinbestimmung für eine prognostische Aussage sogar der Bestimmung der „HIV-spezifischen“ Viruslast überlegen ist [76]. In dieser Studie wurde auch gefunden, dass das Risiko einer mit HIV infizierten Person eine klinisch aktive Tuberkulose zu entwickeln schon 6 Monate vor dem Abfall der Zahl der CD4+ T-Zellzahl und dem Anstieg der Viruslast durch den ansteigenden Neopterin-Spiegel vorhergesagt werden kann (Tabelle 3).

Eine erfolgreiche Behandlung der HIV-Infektion mit antiretroviralen Therapien führt zu einem Abfall der Neopterin-Spiegel [77], der sich innerhalb weniger Tage einstellt. Bereits nach einer Woche war bei HIV-

Infizierten, die mit Zidovudin (Azidothymidin) behandelt wurden, ein Plateau auf ca. 50% des Ausgangswertes erreicht (Abb. 7). Interessant ist, dass für verschiedene Inhibitoren der reversen Transkriptase durchaus Unterschiede gefunden werden, wie stark sie die Neopterinspiegel zu beeinflussen [78]. Die gleichzeitige Behandlung der Patienten mit hoch aktiver antiretroviraler Therapie inklusive Protease Inhibitoren führt zu einem noch stärkerem Abfall der Neopterinspiegel, der auch mit der Verringerung der Viruslast korreliert ist [79, 80].

Tabelle 3: Prädiktoren für eine Krankheitsprogression bei Patienten mit HIV Infektion, vgl. [76]. Verschiedene Kovariate wurden als Kandidatprediktoren angeboten, HIV-1 RNA wurde jedoch nicht in das multivariate Modell aufgenommen (Die Modellrechnung wurde für Alter und Geschlecht angepasst).

Prädiktoren einer Krankheitsprogression innerhalb von 6 Monaten; p <0.001)

	P	Hazard Ratio	Konfidenzintervall
CD4+ T Zellzahl	0.0155	0.617	0.418-0.912
Neopterin	0.0089	1.067	1.021-1.115
Leukozytenzahl	0.0534	0.819	0.669-1.003
Symptomatische Erkrankung	0.0170	0.555	0.342-0.900
Asymptomatische Erkrankung	0.548	0.640	0.149-2.748
Endogenes Interferon	0.0241	1.004	1.001-1.008

Die HIV Infektion führt auch zu einem signifikanten Anstieg der Neopterinkonzentrationen im CSF, der weitgehend mit den Serumspiegeln korreliert [81, 82]. Darüber hinaus besteht ein enger Zusammenhang zwischen der Neopterinkonzentration im CSF und dem Auftreten von neuropsychiatrischen Veränderungen bei Patienten. Bei HIV-assoziiierter Demenz kommt es zu einer zusätzlichen intrathekalen Bildung von Neopterin, sodass die Neopterinspiegel im CSF höhere Konzentrationen erreichen als jene im Serum [81, 82]. Durch das Monitoring von Neopterinspiegeln im CSF lässt sich unter anderem auch die Effizienz antiretroviraler Therapie über die Blut-Hirnschranke verfolgen [78, 83].

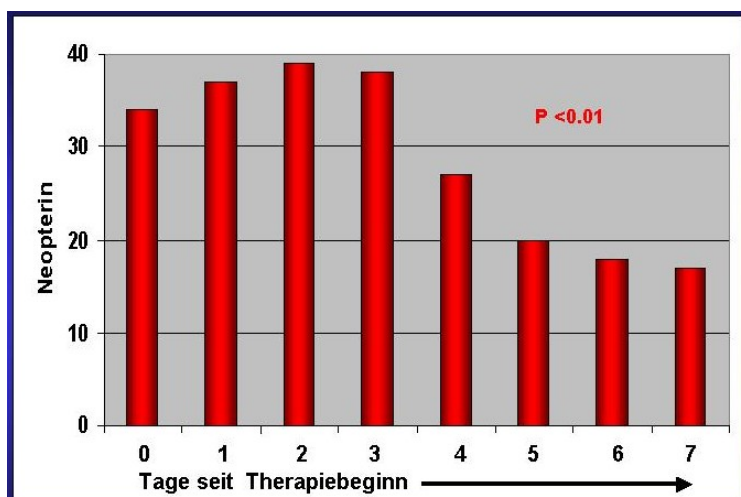


Abb. 7: Schematischer Verlauf der Neopterinspiegel bei HIV Infizierten unter Therapie mit Zidovudin (AZT, Azidothymidin, AZT):

Bei Ansprechen der Therapie fallen die Neopterinspiegel innerhalb weniger Tage ab (vgl. [77]).

Der enge Zusammenhang der HIV Infektion und AIDS Erkrankung mit der Neopterinbildung ist vermutlich durch die besondere Bedeutung des aktivierten Immunsystems in der HIV Pathogenese bestimmt [84, 85]: Die gesteigerte Neopterinbildung weist einerseits auf das durch die HIV Infektion aktivierte Immunsystem hin, andererseits treibt die Aktivierung infizierter Zellen die HIV Vermehrung weiter, und aktivierte Zellen werden leichter mit HIV infiziert. Außerdem ist Neopterin selbst in der Lage ist, die Vermehrung von HIV zu triggern und scheint damit ein relevanter Faktor in der Pathogenese der AIDS Erkrankung zu sein [86, 87]. Das chronisch aktivierte Immunsystem bei HIV Infizierten ist maßgeblich am Fortschreiten der Erkrankung beteiligt zu sein, da sich z.B. die Entstehung von Anämie, Kachexie und auch der Immundefizienz als eine Folge der proliferationshemmenden Strategien des Immunsystems präsentiert [88, 89].

4.1.2. Infektionen mit Parasiten und intrazellulären Bakterien

Erhöhte Neopterinkonzentrationen wurden bei Infektionen mit intrazellulär lebenden Bakterien und Parasiten wie bei Tuberkulose [90, 91], Lepra [92, 93], Melioidose [94], Malaria [95, 96] und bei Bruzellose [97] und Schistosomiasis [98] beschrieben. Bei Patienten mit pulmonaler Tuberkulose korreliert die Höhe des Neopterinspiegels in Serum/Plasma, Harn und im Pleuraerguss sowohl mit der Ausdehnung als auch mit der Aktivität der Erkrankung [90, 91]. In der Therapiekontrolle reagiert der Neopterinspiegel rascher auf eine Änderung im Krankheitsverlauf als andere üblicherweise eingesetzte Methoden [90]. Bei unbehandelter Lepra sind die Neopterinspiegel bei multibazillärer Lepra höher als bei paucibazillärer Lepra, während sich die Spiegel des C-reaktiven Proteins (CRP) zwischen diesen beiden Patientengruppen nicht unterscheiden [93]. Nahezu alle Patienten mit akuter Malaria weisen erhöhte Neopterinspiegel auf [94], darüber hinaus werden sogar auch bei Kindern mit nur geringgradiger Parasitämie erhöhte Neopterinspiegel gefunden. Durch experimentelle Infektion mit *Plasmodium falciparum* wurde außerdem ein zeitlicher Zusammenhang zwischen der Vermehrung des Erregers und dem Ansteigen der Neopterinspiegel im Serum nachgewiesen [99]. Es zeigte sich auch, dass der Anstieg des Neopterin der Fieberreaktion teilweise zuvorkommt.

4.1.3. Differentialdiagnose zwischen viralen und bakteriellen Infekten

Die Neopterinbestimmung kann auch die Differentialdiagnose zwischen viralen und bakteriellen Infekten unterstützen [100]. Im Gegensatz zu den stark erhöhten Neopterinspiegeln bei Patienten mit Virusinfektionen, werden bei akuten bakteriellen Infektionen üblicherweise normale oder nur leicht erhöhte Neopterinkonzentrationen gefunden. Protrahierte bakterielle Infektionen hingegen führen häufig zu erhöhten Neopterinwerten. Es zeigt sich, dass die Neopterinbestimmung sogar besser zwischen akuten viralen und bakteriellen Infektionen unterscheidet als die Leukozytenzahl oder die Blutsenkungsgeschwindigkeit [100], obwohl diese beiden Standardmessgrößen für die Differentialdiagnose der Infektionen in dieser Untersuchung herangezogen wurden.

Ähnlich günstige Ergebnisse für die Unterscheidung von bakteriellen und viralen Infektionen ergeben sich aus der Kombination von Neopterin mit dem CRP (Abb. 8) [101]. Während der Anstieg der Neopterinspiegel bei viralen Infektionen der unteren Atemwege wesentlich drastischer ausfällt als bei

bakteriellen Infekten, verhält sich das CRP genau umgekehrt. Bei einem CRP zu Neopterin Quotienten von 3 mg/nmol ergibt sich die beste Trennschärfe zwischen den beiden Krankheitskategorien [61].

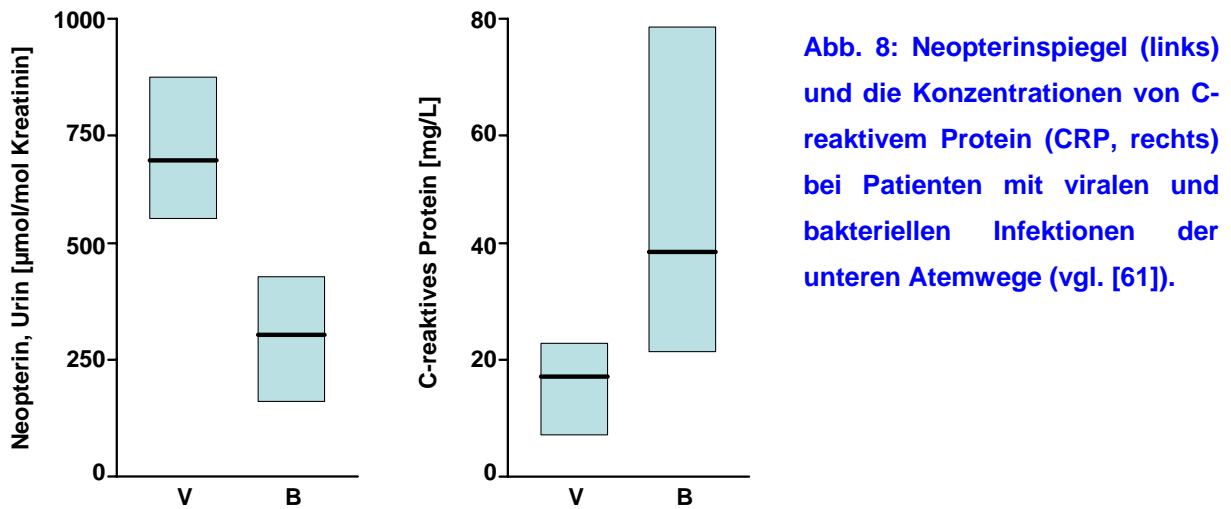


Abb. 8: Neopterinpiegel (links) und die Konzentrationen von C-reaktivem Protein (CRP, rechts) bei Patienten mit viralen und bakteriellen Infektionen der unteren Atemwege (vgl. [61]).

4.1.4. Polytrauma und Sepsis

Bei traumatisierten bzw. postoperativen Patienten in Intensivstationen liefert der Neopterinpiegel im Serum einen Hinweis auf mögliche bevorstehende septische Komplikationen: Nach Ploytrauma werden im Vergleich zu aseptischen Patienten signifikant höhere Neopterinpiegel bei den Patienten gefunden, die im späteren Verlauf eine Sepsis entwickeln [101-103]. Ebenso ist der Neopterinwert bei septischen Patienten, die nicht überleben, im Vergleich zu überlebenden höher.

Ähnliche Ergebnisse wurden bei akuter Pankreatitis gefunden [104, 105], auch hier ist bereits der bei der Aufnahme der Patienten gemessene Neopterinpiegel ein signifikanter Prädiktor für das Über-

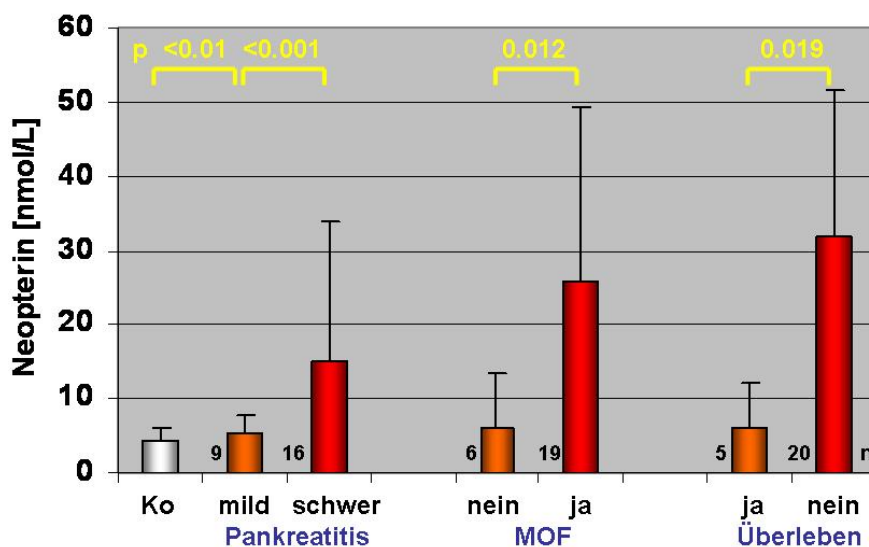


Abb. 9: Neopterinkonzentrationen im Plasma als prognostischer Marker bei 25 Patienten mit Pankreatitis im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Ko) und eingeteilt nach dem Schweregrad (links), Multiorganversagen (mitte) und Überleben (rechts) (vgl. [104]).

leben (Abb. 9). Die Wertigkeit der Aussagekraft des Neopterinpiegels lag dabei über der des CRP [104].

4.1.5. Cerebrale Infektionen

Neopterin penetriert durch die Blut-Hirnschranke, sodass sich üblicherweise ein Zusammenhang zwischen dem Neopterinpiegel im Blut und im CSF ergibt (vgl. Kapitel 4.1.1.1.1 HIV Infektion) [81]. Kommt es jedoch z.B. während einer Infektion zu einer intrathekalen Neopterinbildung, so spiegeln die NeopterinKonzentrationen im CSF die intrathekale Krankheitsaktivität sehr empfindlich wider. So wurden z.B. bei Patienten mit akuter Neuroborreliose teilweise extrem hohe Neopterinpiegel im CSF (> 100 nmol/L) gefunden [106], die während antibakterieller Therapie eng mit dem Therapieerfolg assoziiert sind. Im Serum dieser Patienten kann man hingegen meistens nur Veränderungen innerhalb des Normbereiches beobachten. Analog dazu werden bei Encephalitiden viraler und bakterieller Genese hohe Neopterinpiegel im CSF gefunden [107]. Da in Abwesenheit einer systemischen Infektion die Neopterinpiegel im Serum normal sind, kann der Neopterinpiegel z.B. bei Kindern mit Fieberkrämpfen eine Hilfestellung für die Differentialdiagnose liefern [107, 108]. Im CSF von Kindern mit einer durch eine autoimmune Encephalomyelitis komplizierten Maserninfektion wurden höhere Neopterinpiegel im Vergleich zu nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankungen beschrieben, die Konzentrationen aber niedriger als bei Kindern mit Infektionen des zentralen Nervensystems [60].

4.2. Autoimmunerkrankungen und andere entzündliche Erkrankungen

Bei Autoimmunerkrankungen folgen die Neopterinpiegel dem schubartigen Krankheitsverlauf und zeigen die Schwere der Erkrankung empfindlich und zuverlässig an. In gleichem Maß werden therapeutische Effekte durch Änderungen der NeopterinKonzentration rasch angezeigt.

4.2.1. Rheumatoide Arthritis

Patienten mit rheumatoider Arthritis weisen erhöhte Neopterinpiegel im Serum/Plasma und Urin auf, die mit der Ausdehnung der Erkrankung korrelieren [109, 110]. Die durchschnittlichen NeopterinKonzentrationen bei Patienten mit rheumatoider Arthritis im Stadium I sind bereits signifikant höher als bei Patienten mit Osteoarthritis, somit kann die Neopterinbestimmung auch hier die Differentialdiagnose unterstützen. Im fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung werden höhere Neopterinwerte gefunden. Noch stärker ausgeprägt als die Stadiumabhängigkeit ist aber die Abhängigkeit der NeopterinKonzentrationen von der klinischen Aktivität der Erkrankung (Abb. 10).

Da die Neopterinpiegel auch bei Verlaufskontrollen der rheumatoiden Arthritis sehr sensitiv Änderungen der Krankheitsaktivität anzeigen, ist die Bestimmung des Neopterin zur Erfassung der Phasen, bei denen eine Therapie zu erfolgen hat, von großem praktischen Nutzen. Besonders sei darauf hingewiesen, dass bei Patienten mit rheumatoider Arthritis die NeopterinKonzentration in der Synovialflüssigkeit noch bessere Aussagekraft hat als jene im Harn oder Serum [110]. Sie sind höher

als im Serum/Plasma, und somit ergibt sich ein abfallender Gradient der Neopterinkonzentrationen vom Ort der Bildung bis in die Zirkulation.

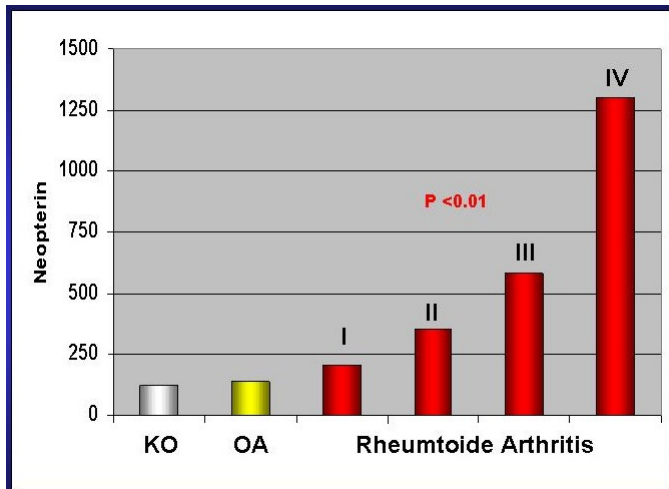


Abb. 10: Neopterinspiegel bei Patienten mit rheumatoider Arthritis: Patienten mit rheumatoider Arthritis haben erhöhte Werte im Vergleich zu Kontrollen (KO) und Patienten mit Osteoarthrose (OA). Bei Patienten mit rheumatoider Arthritis ergibt sich eine ausgeprägte Assoziation zwischen höheren Neopterinspiegeln und der Krankheitsaktivität (Score I - IV) (vgl. [109]).

4.2.3. Systemischer Lupus erythematosus

Bei aktivem systemischen Lupus erythematosus (SLE) sind die Neopterinkonzentrationen in Urin und Serum stark erhöht und folgen eng der Krankheitsaktivität (Abb. 11) [111, 112]. Bei einer multivariaten Analyse mehrerer Standardlaborparamater und verschiedener Immunaktivierungsmarker wie löslicher Tumor Nekrose Faktor Rezeptor, löslicher Interleukin-2 Rezeptor und lösliches CD8 ergab sich Neopterin zusammen mit der Blutsenkungsgeschwindigkeit als beste Kombination zur Erfassung der Krankheitsaktivität bei SLE-Patienten [113].

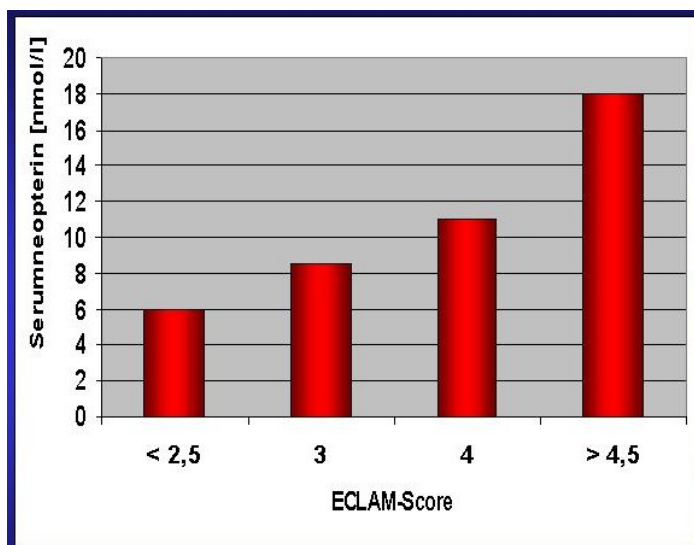


Abb. 11: Neopterinspiegel verglichen mit der klinischen Aktivität (ECLAM, European Consensus Lupus Activity Score) bei systemischem Lupus erythematosus (vgl. [111]).

4.2.4. Wegener'sche Granulomatose, Dermatomyositis

Etwa zwei Drittel der Patienten mit Wegener'scher Granulomatose weisen erhöhte Neopterinkonzentrationen im Serum auf. Der Neopterinspiegel korreliert dabei eng mit der Krankheitsaktivität, dem Birmingham Vaskulitis Aktivitätsscore [114]. Ähnliches gilt für Patienten, die an Dermatomyositis leiden [114], wo sich wiederum eine Korrelation mit der Krankheitsaktivität ergibt. Vor allem bei Patienten mit Polymyositis werden sehr hohe Neopterinspiegel beobachtet.

4.2.5. Entzündliche Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts

Analog zu rheumatoider Arthritis und SLE sind die Neopterinkonzentrationen bei entzündlichen Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes wie Morbus Crohn [115], ulzerativer Colitis [116] oder Zöliakie [117] eng mit der klinischen Aktivität assoziiert. So liefert z.B. bei Patienten mit Morbus Crohn ein Aktivitätsscore, das sich auf den Neopterinspiegel und nur zwei weitere Parameter, Hämatokrit und Stuhlfrequenz, stützt, gleich gute Ergebnisse für die Klassifikation der Patienten wie z.B. der gut etablierte aber wesentlich aufwändigere Crohn's Disease Activity Index (CDAI) [118]. Bei den entzündlichen Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes ist die Bestimmung des Neopterin dabei zur Behandlungskontrolle besonders hilfreich, so beobachtet man z.B. bei Kindern mit Zöliakie unter Gluten-freier Diät einen sukzessiven Abfall der Neopterinspiegel [117].

4.2.6. Lungensarkoidose

Bei Patienten mit aktiver Lungensarkoidose ist der Neopterinspiegel erhöht, dabei steigen die Neopterinkonzentrationen bei höheren röntgenologischen Stadien sowohl im Serum als auch im Harn stärker an [118]. In der Verlaufskontrolle wird eine klinische Besserung allgemein von fallenden, eine Verschlechterung der Erkrankung hingegen von weiter ansteigenden Neopterinspiegeln angezeigt.

4.2.7. Gingivitis und Parodontose

Bei sonst gesunden Blutspendern wurde beobachtet, dass Zahnfleischentzündungen mit erhöhter Neopterinbildung einhergehen [119]. Bei Patienten mit Zahnfleischentzündung haben jene mit einer größeren Zahl befallener Zähne höhere Neopterinspiegel im Speichel als andere, während sich die Harnneopterinkonzentration zwischen den Gruppen nicht unterscheiden [120]. Weiters wurde bei verschiedenen Erkrankungen des Kauapparates beschrieben, dass die Neopterinkonzentrationen im Speichel von Patienten mit Zahnfleischentzündung bis zu 51 nmol/L erreichten, die nach erfolgreicher Behandlung auf durchschnittlich 1.77 nmol/L abfielen [121].

4.2.8. Multiple Sklerose und andere Erkrankungen des Zentralnervensystems

Bei multipler Sklerose scheint vor allem der Bestimmung der NeopterinKonzentrationen im CSF ein besonderer Stellenwert zuzukommen. Sie sind bei einer Verschlechterungsphase des Krankheitsverlaufs signifikant höher als in stabilen Phasen der Erkrankung [122]. Wichtig ist dabei unter anderem, dass im Gegensatz zu Patienten mit multipler Sklerose bei Patienten mit amyotropher Lateralsklerose die Neopterin Spiegel im Serum und CSF völlig normal bleiben [123]. Besonderen Stellenwert hat die Neopterinbestimmung bei der Therapie von multipler Sklerose mit Interferon- β erlangt. Diese Behandlung führt zu einem drastischen Anstieg der Neopterin Spiegel [124] und ist damit besonders gut für pharmakodynamische Untersuchungen geeignet (Abb. 12) [125].

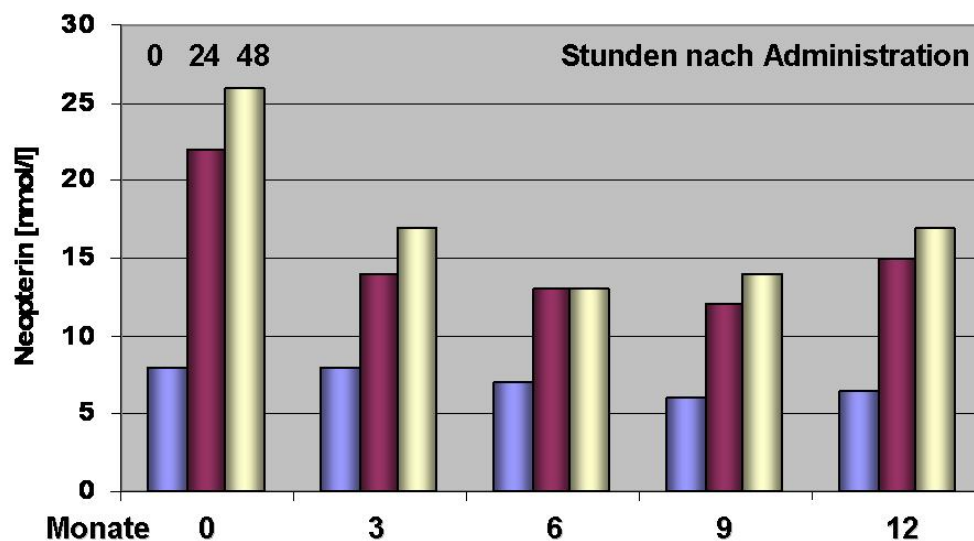


Abb. 12: Monitoring der Therapie mit Interferon- β 1 α bei Patienten mit multipler Sklerose über 1 Jahr (vor = 0, 24 und 48 Stunden nach Injektion von Interferon- β , vgl. [125]).

Bei Patienten mit Guillain-Barré Syndrom ist der Anstieg der Neopterin Konzentration im CSF noch wesentlich stärker ausgeprägt als bei Patienten mit multipler Sklerose [126]. Dabei spiegelt ein Absinken der Neopterin Spiegel eine Verbesserung des klinischen Verlaufs wider.

Bei verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen wie Mb. Alzheimer, Mb. Huntington, Mb. Parkinson und bei Trisomie 21 (Down Syndrom) wurden erhöhte Neopterin Konzentrationen im Urin, Serum/Plasma und CSF beschrieben [127-130]. Sie spiegeln die pro-inflammatorische Aktivität bei diesen Erkrankungen wider, aber interessanterweise ist in der Regel die Neopterin Konzentration im Serum/Plasma höher als jene im CSF, so dass eine vermehrte Produktion von Neopterin außerhalb des Gehirns wahrscheinlich ist. Im Verlauf von Mb. Alzheimer steigen die Neopterin Spiegel weiter an, während z.B. der Spiegel des CRP sogar abfällt [131]. Bei Patienten mit Mb. Huntington wurde eine prognostische Wertigkeit der Neopterin Konzentration beschrieben [128].

4.2.8. Erkrankungen des Herz/Kreislaufsystems

Personen mit einem erhöhten Risiko für Arteriosklerose weisen höhere Neopterinpiegel auf als solche mit geringem Risiko, die gefundenen Veränderungen der Neopterinkonzentrationen bewegen sich aber nur geringfügig außerhalb des Normalwertbereiches für gesunde Kontrollen [132]. Allerdings kommt es bei Patienten nach einem Myokardinfarkt zu einem transienten Anstieg der Neopterinpiegel [133]. Mehrere Studien haben inzwischen gezeigt, dass der Neopterinkonzentration nicht nur bei symptomatischen Patienten sondern auch bei Patienten mit stabiler koronarer Herzerkrankung eine prädiktive Wertigkeit zukommt, auch wenn die Neopterinpiegel meist nur knapp außerhalb des Normbereichs liegen [134-136]. Die prognostische Wertigkeit des Neopterin ist dabei unabhängig von anderen Messgrößen wie z.B. dem CRP [137, 138]. Unter Statintherapie wird ein Absinken der Neopterinpiegel beobachtet [139], trotzdem behält das Neopterin seine prognostische Aussagekraft [140]. Interessanterweise weisen Raucher niedrigere Neopterinkonzentrationen als Nichtraucher auf [139, 141], und möglicherweise existiert eine genetische Prädisposition für höhere Neopterinpiegel durch einen Polymorphismus des Toll-like Rezeptor 4 [142].

Tabelle 4: Komplikationsrate bei Patienten mit kardiovaskulärem Risiko und Neopterinkonzentrationen ≥ 12.11 nmol/L (= 4. Quartil) bei der Erstuntersuchung bzw. 4 Monate danach im Vergleich zur Kontrollgruppe mit Neopterin < 12.11 nmol/L [140]*

	Hazard Ratio	Konfidenzintervall	P-Wert
Erstuntersuchung			
Tod	1.86	1.24 – 2.77	0.003
Myokardinfarkt	1.35	1.03 – 1.79	0.03
Tod oder Myokardinfarkt	1.48	1.17 – 1.87	0.001
4 Monate nach Erstuntersuchung			
Tod	2.39	1.43 – 3.99	0.001
Myokardinfarkt	1.53	1.03 – 2.28	0.04
Tod oder Myokardinfarkt	1.67	1.21 – 2.31	0.002

*Die Modellrechnung wurde für verschiedenste Variablen inklusive Alter, Geschlecht, Diabetes mellitus, Hochdruck, Rauchverhalten, C-reaktives Protein und Statintherapie angepasst.

Eine enge Korrelation existiert üblicherweise zwischen den Konzentrationen des Neopterin und der nicht-proteinogenen Aminosäure Homocystein [143]. Homocystein ist wie Neopterin ein kardiovaskulärer Risikofaktor, der meist durch unzureichende Zufuhr von B-Vitaminen verursacht wird [144]. Werden B-Vitamine supplementiert, sinken die Homocysteinspiegel in den Normbereich ab, während Immunaktivierungsmarker wie Neopterin nicht beeinflusst werden [145, 146].

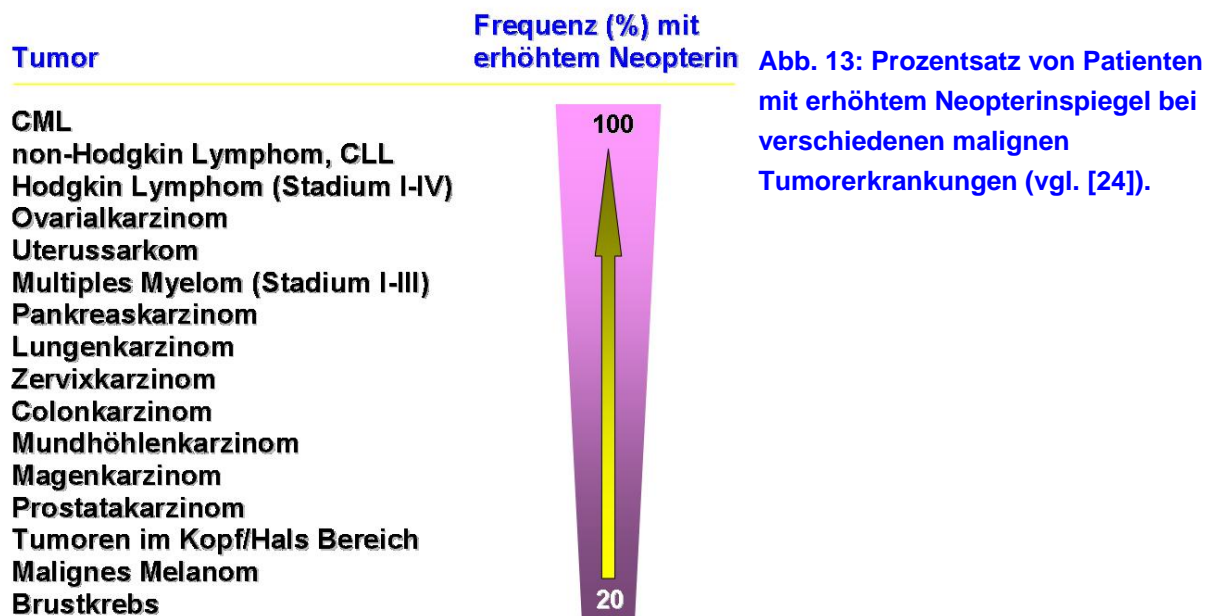
Patienten mit dilatierter Kardiomyopathie weisen erhöhte Neopterinpiegel auf, wobei diese mit dem Stadium der Erkrankung korrelieren [147]. Darüber hinaus ergibt sich ein Zusammenhang zwischen dem Neopterinpiegel und dem Ausmaß der Herzinsuffizienz. Kinder mit Kawasaki Erkrankung zeigen ebenfalls erhöhte Neopterinkonzentrationen [148], wobei die Effizienz einer Immunglobulintherapie

durch Verlaufskontrolle der Neopterinpiegel erkennbar ist. Patienten mit akutem rheumatischem Fieber haben zu einem hohen Prozentsatz erhöhte NeopterinKonzentrationen in Serum/Plasma [149]. In diesem Fall korreliert die Höhe des Neopterinpiegels mit dem Risiko des Patienten, einen Herzklappenschaden zu entwickeln.

Aus den Neopterinbefunden wurden verschiedene Modelle für ein besseres Verständnis der Pathogenese von Herzerkrankungen entwickelt. Am besten belegt scheinen dabei jene Überlegungen zu sein, die dem Neopterin eine Bedeutung als pro-inflammatorischer Mediator zuschreiben. Da Neopterin oxidierende Prozesse verstärken kann [150], ist es offensichtlich auch in der Lage, z.B. über die Induktion des nukleären Faktor kB pro-inflammatorische Zytokinkaskaden zu verstärken [32, 33] und kann damit zur Atherogenese beitragen. Auf diesem Weg könnte es auch zu einem erhöhten Verbrauch des Antioxidantienpools inklusive antioxidativer Vitamine kommen. Auch im Langendorff'schen Tiermodell des perfundierten Rattenherzens wird beobachtet, dass die Zugabe von Neopterin zur Perfusionslösung die Herztätigkeit signifikant beeinflusst [151].

4.3. Maligne Erkrankungen

Neopterin wird durch Zellen des Immunsystems aber nicht durch Tumorzellen gebildet. Daher ist Neopterin kein Tumormarker im eigentlichen Sinn: T-Zell-Aktivierung, wahrscheinlich ausgelöst durch maligne entartete Zellen, führt zu Zytokinproduktion und Aktivierung von Makrophagen und dendritischen Zellen und schließlich zur Neopterinfreisetzung. Die Sensitivität der Neopterinbestimmung hängt stark von der Lokalisation der malignen Erkrankung ab (Abb. 13) [152, 153].



So weisen nahezu alle Patienten mit hämatologischen Neoplasien erhöhte Neopterinpiegel auf, während etwa bei Patienten mit Brustkrebs kaum erhöhte Neopterinwerte gefunden werden. Generell sind die NeopterinKonzentrationen in Körperflüssigkeiten von Patienten mit malignen Tumorerkrankungen aber umso höher, je größer die Ausdehnung der Erkrankung bzw. die

Tumormasse ist (Abb. 14) und je höher das Risiko einer Krankheitsprogression ist. Deshalb liegt die Stärke des Neopterin bei malignen Erkrankungen nicht im sogenannten "Tumorscreening", sondern in der Prognosebeurteilung und in der Therapiekontrolle [152].

Eine signifikante prognostische Wertigkeit des prätherapeutischen Neopterinpiegels im Urin, Serum/Plasma oder Azites wurde z.B. bei Patienten mit gynäkologischen und hämatologischen Neoplasien, bei Bronchus-, Prostata- und hepatozellulären Karzinomen, bei gastrointestinalen Tumoren aber auch bei kutanen Lymphomen und beim malignen Melanom gefunden [154-162]. In der Tumornachsorge zeigte sich ein enger Zusammenhang zwischen einer Normalisierung der Neopterinpiegel und einem komplikationslosen Verlauf, während eine nicht vollständige Entfernung des Tumors oder ein Wiederaufflammen des malignen Geschehens mit erhöhten oder weiter ansteigenden Neopterinpiegeln einhergeht [154, 155]. Die Neopterinbestimmung bietet sich aus diesem Grund als zusätzliches Monitoring in der Tumornachsorge an, wobei ein Ansteigen des Neopterinpiegels einen Hinweis für die Durchführung weiterer diagnostischer Maßnahmen liefert. Daneben kann aber die Neopterinbestimmung auch bei der Diagnosestellung als zusätzlicher Indikator für die Unterscheidung zwischen gutartigen und bösartigen Tumorerkrankungen dienen [163].

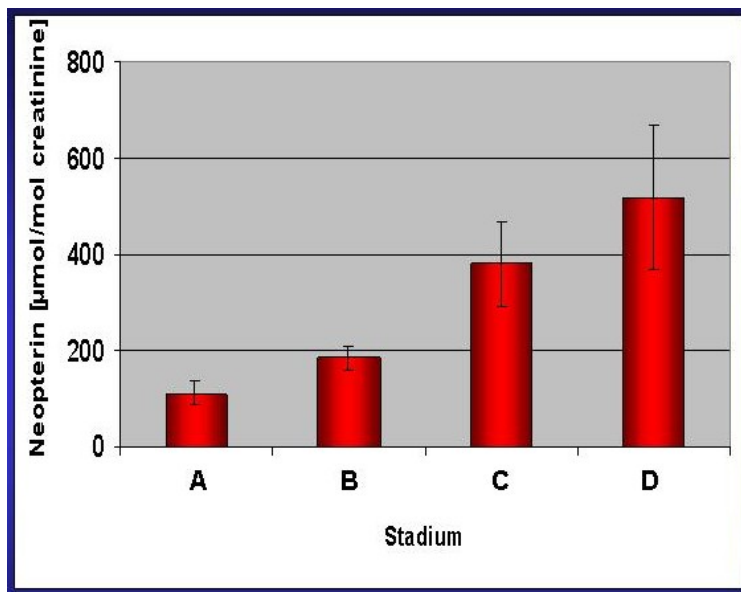


Abb. 14: Bei Patienten mit malignen Tumoren (gezeigtes Beispiel: Prostatakarzinom) steigen die Neopterinpiegel (Mittelwert + S. D.) mit dem Stadium (Stadien A – D) an. Höhere Werte sagen einen ungünstigeren Krankheitsverlauf vorher.

Erhöhte Neopterinpiegel bei verschiedenen Tumorerkrankungen weisen auf die Bedeutung der Immunaktivierung für den klinischen Verlauf der Tumorerkrankung hin. Wie bei HIV Infizierten werden wiederum Assoziationen zwischen den Neopterinpiegeln und dem Auftreten von Anämie und Kachexie gefunden [164, 165], die auf die Rolle inhibitorischer Zytokine bei der Pathogenese dieser Symptome hinweisen. Dieselben Zytokine, die für die Neopterinbildung hauptverantwortlich sind, scheinen auch für das Entstehen von Anämie und Gewichtsverlust von zentraler Bedeutung zu sein [166]. Neueste Befunde weisen darauf hin, dass der Neopterinstoffwechsel möglicherweise sogar direkt mit dem malignen Geschehen verknüpft sein könnte, und zwar über eine Interferenz mit intrazellulären Signalübertragungswegen, die durch oxidativen Stress beeinflusst werden. So sind Neopterin und Dihydroneopterin in der Lage, die Expression von Onkogenen zu fördern [28].

Eine besondere Bedeutung scheint dem Zusammenhang zwischen Neopterinbildung und Tryptophanabbau durch das Enzym Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) zuzukommen. Beide enzymatischen Prozesse werden im Rahmen der zellulären (= Th1 Typ) Immunantwort vor allem durch das pro-inflammatorische Zytokin Interferon- γ ausgelöst [167]. IDO baut dabei die essentielle Aminosäure Tryptophan ab, und auf diesem Weg ist das Immunsystem in der Lage, das Wachstum von Keimen oder auch von malignen Zellen effizient zu unterdrücken. Allerdings wird dadurch auch die Immunreaktion beeinträchtigt und so verlieren z.B. T-Lymphozyten ihre Reaktionsfähigkeit [168]. So wird verständlich, warum ein erhöhter Neopterin Spiegel bei einem Tumorpatienten nicht etwa mit einer längeren Lebenserwartung sondern umgekehrt sogar mit einer ungünstigeren Überlebenswahrscheinlichkeit einhergeht.

4.4. Verlaufskontrolle nach Organtransplantation

Bei Patienten, die allogene Transplantate solider Organe (Niere, Leber, Pankreas bzw. Herz) erhalten haben, ist die tägliche Neopterinbestimmung während des stationären Krankenhausaufenthalts ein geeigneter und auch empfindlicher Weg zur frühzeitigen Erkennung immunologischer Komplikationen wie Abstoßungsreaktionen oder viraler Infekte [169]. Bereits durchschnittlich 2 Tage, teilweise sogar bis zu 7 Tage vor dem Auftreten klinischer Komplikationen steigen die Neopterin Konzentrationen signifikant an (Abb. 15).

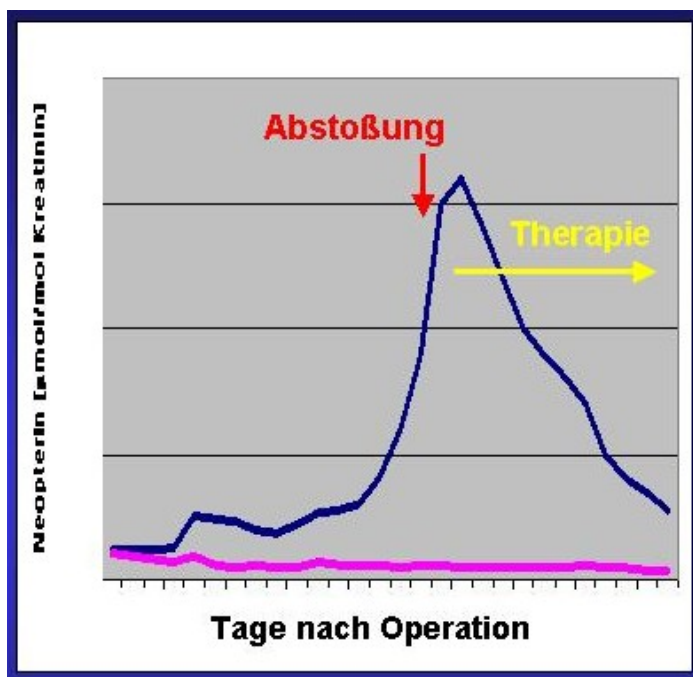


Abb. 15: Schematischer Verlauf der Neopterin Spiegel bei einem Patienten nach Nierentransplantation (blau), im Vergleich zu einem komplikationslosen Verlauf (violett).

Abstoßungskrisen werden durchschnittlich 2 Tage vorher durch ansteigende Neopterin Spiegel angekündigt, vgl. [96], die erfolgreiche therapeutische Unterdrückung der Abstoßungsreaktion führt zu einem Abfall der Neopterin Spiegel.

Steigende Neopterinwerte können aber nur als Hinweis für eine bevorstehende immunologische Komplikation gewertet werden und müssen durch weitere differential-diagnostische Maßnahmen abgeklärt werden. In Langzeituntersuchungen wurde festgestellt, dass auch das Langzeitüberleben eines Transplantats mit der Höhe des Neopterin Spiegels während des stationären Aufenthalts nach erfolgter Transplantation assoziiert ist [170]. Kürzeres Überleben von Nierentransplantaten ist demnach mit höheren Neopterin Spiegeln assoziiert. Jedenfalls sollte die frühzeitige Vorhersage von

akuten Abstoßungsreaktionen mittels nicht-invasiver Techniken wie der Neopterinbestimmung eine Optimierung der immunsuppressiven Therapie ermöglichen und damit die Langzeittransplantatfunktion verbessern helfen [171].

Wird die Neopterinbestimmung aus dem Serum oder Plasma zur Verlaufsuntersuchung bei Patienten nach Nierentransplantationen eingesetzt, empfiehlt es sich, einen Quotienten zwischen Neopterin und Kreatinin (ähnlich der Vorgangsweise bei der Neopterinbestimmung aus dem Morgenharn) zu berechnen. Auf diesem Weg ist es möglich, Änderungen der Neopterinpiegel, die nicht aufgrund immunologischer Vorgänge entstehen, sondern durch eine gestörte Nierenfunktion hervorgerufen werden, weitgehend zu berücksichtigen.

Das Monitoring von Transplantationspatienten durch die Neopterinbestimmung in Körperflüssigkeiten wie Galle und Pankreassaft erlaubt weitere differentialdiagnostische Hinweise. So ermöglicht die Bestimmung des Neopterin im Pankreassaft [172] präzisere Aussagen bei Patienten, die parallel ein Nieren-Pankreas Transplantat erhalten, in welchem Organ eine Abstoßungsreaktion im Entstehen ist. In ähnlicher Weise gestattet das parallele Neopterinmonitoring in Gallenflüssigkeit und Serum bei lebertransplantierten Patienten eine Entscheidungshilfe für die Unterscheidung von Abstoßungsreaktion und Infektion bei lebertransplantierten Patienten [53].

Bei knochenmarkstransplantierten Patienten ist die Knochenmarksaplasie von erniedrigten Neopterinwerten begleitet [173]. Die hämatologische Rekonstitution wird durchschnittlich 7 Tage vorher durch steigende Neopterinwerte angezeigt. Vor und während viraler Infekte bzw. Graf-versus-Host-(GvH)-Reaktionen steigen die Neopterinwerte stark an [173, 174]. Die Neopterinbestimmung in Serum/Plasma und Urin ist demnach bei der Kontrolle von knochenmarkstransplantierten Patienten zur Unterscheidung komplikationsloser Verläufe von solchen verbunden mit viralen Infekten oder mit GvH-Reaktionen geeignet.

4.5. Immunmodulierende Therapie und Behandlungskontrolle

Aufgrund seiner Bildung im Rahmen der Aktivierung des zellvermittelten Immunsystems eignet sich Neopterin, therapeutische Maßnahmen, die den Aktivierungszustand des zellulären Immunsystems verändern, zu verfolgen. Insbesondere bei Therapien mit Zytokinen wie Interferonen, Interleukinen und Tumor Nekrose Faktor- α besteht eine von der Dosis abhängige Stimulation der Neopterinbildung, sodass die Neopterinverlaufskontrolle zur Optimierung immunmodulierender Therapien herangezogen werden kann [175]. Daneben wird die Neopterinbestimmung vor allem bei Patienten mit multipler Sklerose eingesetzt, um die biologische Wirksamkeit und Bioverfügbarkeit unterschiedlicher Interferon- β Präparate zu testen und zu vergleichen [124, 125, 176].

Neben einem Monitoring von therapeutischen Maßnahmen, die direkt auf das Immunsystem abzielen, ist es mit der Neopterinbestimmung auch möglich, Therapieeffekte zu erfassen, die nur indirekt zu einer Veränderung des Immunaktivierungsgrades führen, sofern die zugrundeliegende Krankheit zu erhöhten Neopterinpiegeln führt und die Neopterinwerte mit der Krankheitsaktivität assoziiert sind. So führt in der Regel nur eine erfolgreiche operative Entfernung eines Malignoms zu einem Abfall des Neopterin [154]. Bei mit HIV infizierten Patienten führt die antiretrovirale Behandlung mit Inhibitoren der reversen Transkriptase zu einem rapiden Abfall der Neopterinpiegel [177], der bei der

Behandlung mit Kombinationstherapien mit Proteaseinhibitoren (hoch aktive antiretrovirale Therapie, HAART) noch verstärkt wird [80]. Ebenso führt eine erfolgreiche antibakterielle Behandlung z.B. einer Tuberkuloseinfektion zu einem Neopterinabfall [90, 178], sodass es möglich ist, die Effektivität der Behandlung zu kontrollieren oder die Compliance von Patienten zu überwachen. Ähnliche Ergebnisse wurden bei Patienten mit z.B. akutem rheumatischem Fieber [147], Lyme Neuroborreliose [106] oder Autoimmunerkrankungen unter entsprechender Behandlung beschrieben.

4.6. Transfusionsmedizin

Bei der Transfusion von Blut bzw. Blutprodukten besteht immer ein gewisses Risiko, infektiöse Keime bzw. auch maligne entartete Zellen zu übertragen. Gegenwärtig werden nur einige wenige spezifische Antikörpertests gegen die gefährlichsten Erreger, nämlich HIV und Hepatitis-Viren, routinemäßig durchgeführt, da beim Spendenscreening aus logistischen Gründen nur eine begrenzte Anzahl spezifischer Tests möglich ist. Darüber hinaus stünde für verschiedene Erreger gar kein entsprechender Test zur Verfügung. Ein sogenannter "unspezifischer" Test, wie die Bestimmung von Neopterin, bietet den Vorteil, verschiedenste Erreger mit nur einer Untersuchung und trotzdem mit relativ großer Empfindlichkeit zu erfassen. Infektionen mit Viren, Retroviren, intrazellulär lebenden Bakterien sowie auch Autoimmunprozesse, und verschiedene maligne Erkrankungen führen zu einer Aktivierung des zellulären Immunsystems und somit zur verstärkten Neopterinbildung. Eingehende Untersuchungen beweisen, dass sich der Neopterintest tatsächlich sehr gut als zusätzlicher Screeningtest im Blutspendewesen eignet [119].

Durch das zusätzliche Neopterinscreening werden Blutspender mit Infektionskrankheiten erkannt und das Risiko einer Übertragung einer breiten Palette gefährlicher Pathogene signifikant verringert. Dabei ist besonders hervorzuheben, dass der Neopterin Spiegel schon in der Frühphase einer Infektion erhöht ist, noch bevor spezifische Antikörper gebildet sind (siehe Kapitel Infektionen).

Die Neopterinbestimmung wird im österreichischen Bundesland Tirol bereits seit 1986 auf Verordnung der Landesregierung mit Erfolg bei allen Blutspenden durchgeführt. Im Jahr 1994 wurde diese Maßnahme auf ganz Österreich ausgedehnt. In der Zwischenzeit wurde bestätigt, dass das zusätzliche Neopterinscreening von Blutspenden tatsächlich in der Lage ist, das Übertragungsrisiko von akuten Virusinfektionen zu verringern. So wurde in Blutspenden mit erhöhtem Neopteringehalt (>10 nmol/L) eine etwa 17-fach höhere Frequenz von Spendern gefunden, die an einer akuten CMV Infektion litten [179], ohne dass diese bei der vorangegangenen anamnestischen Untersuchung aufgefallen sind, d.h., dass auch bei asymptomatischem Verlauf der CMV Infektion der Neopterinanstieg bereits vor Serokonversion beginnt [180] und CMV-IgM Seropositivität mit den höchsten Neopterin Spiegeln einhergeht (Abb. 16).

Ähnliche Beobachtungen im Bezug auf CMV wurden auch aus dem Institut für Transfusionsmedizin in Lübeck berichtet [181]. In ähnlicher Weise war bei Spendern mit erhöhtem Neopterin das Auftreten einer akuten Epstein-Barr-Virus und Parvovirusinfektion 3 - 6 mal höher als in der Gruppe mit normalem Neopterin [182], und auch Spender mit positivem Nachweis des Hepatitis C Virus mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden in der Gruppe mit erhöhtem Neopterin Spiegel cirka 7-mal häufiger gefunden als in der Gruppe mit normalem Neopterin [183]. Schließlich wurde mittels PCR

gefunden, dass auch in Serokonversionspanels die HIV Infektion bereits früh durch einen erhöhten Neopterin Spiegel angezeigt wird [184].

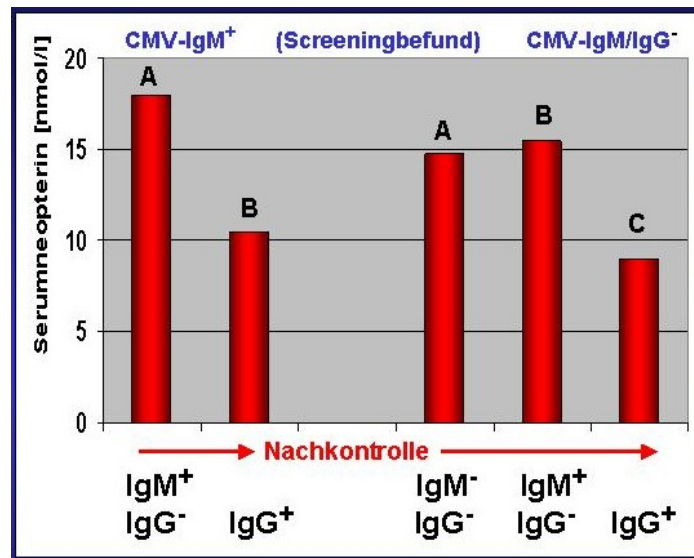


Abb. 16: Neopterin Spiegel bei Blutspendern und asymptomatische akute CMV Infektion: bei Blutspendern mit Neopterin Spiegeln oberhalb von 10 nmol/l werden zirka 5% akute CMV Infektionen mittels CMV-IgM Screenings gefunden (CMV-IgM +, A) [180], nach vollständiger Serokonversion fallen die Werte bei diesen Spendern zum Großteil in den Normbereich ab (IgG+ B). Bei Spendern mit erhöhtem Neopterin Spiegel fanden sich auch solche, die noch vollständig seronegativ für CMV waren (CMV-IgM/IgG -, A), aber bei einer Nachkontrolle CMV-IgM + wurden (B) und danach auch CMV-IgG + (C) wurden. Die CMV Infektion wurde somit nicht nur vor IgG-Serokonversion sondern auch noch vor detekrierbarem IgM durch einen erhöhten Neopterin Spiegel erfassbar.

Neben der Anwendung der Neopterinbestimmung im Blutspendenscreening wurde Neopterin auch als zusätzliche Screeningmethode für Knochenspender vorgeschlagen [185]. Dadurch wird dabei vor allem die Erkennung von malignen Erkrankungen und von Infektionen beim Spender unterstützt.

4.6. Tiermodelle

Relevante Neopterin Konzentrationen werden nur beim Menschen und beim Primaten gefunden [186], allerdings ist es mit den heute zur Verfügung stehenden wesentlich empfindlicheren immundiagnostischen Verfahren durchaus möglich, messbare Konzentrationen von Neopterin z.B. in Hunden darzustellen [187]. Abgesehen davon ist es natürlich möglich, im Mausmodell mit rekonstituiertem humanen Immunsystem auch die Neopterinbildung zu induzieren [188]. Aber abgesehen von Untersuchungen an Rhesus Makaken vor allem im Zusammenhang mit der SIV Infektion [71], gibt es nur wenige veröffentlichte Daten über Untersuchungen des Neopterinstoffwechsels in anderen Tiermodellen. An Hunden wurde gezeigt, dass die durch Vakzinierung ausgelöste Immunstimulation durch Veränderung der Neopterin Spiegel angezeigt wird [189]. Eine weitere Studie beschrieb, dass Stress die Neopterin Spiegel bei Schweinen ansteigen lässt [190].

4.7. Neopterin *in vitro* Assays

Werden periphere mononukleäre Blutzellen (PBMC) aus einer Spenderblut isoliert und durch Mitogene wie Phytohämagglutinin oder Concanavalin A stimuliert, so setzen die dabei angeregten T-Zellen Zytokine wie Interleukin-2 und Interferon- γ frei [13]. In einem nächsten Schritt induziert Interferon- γ die Neopterinbildung in den in PBMC ebenfalls enthaltenen Makrophagen. So erlaubt dieses Modell, das Ausmaß des Stimulationsvorgangs und der Interaktion zwischen humanen T-Zellen und Makrophagen durch die einfache Bestimmung des Neopteringehalts in der Nährlösung zu quantifizieren (Abb. 17).

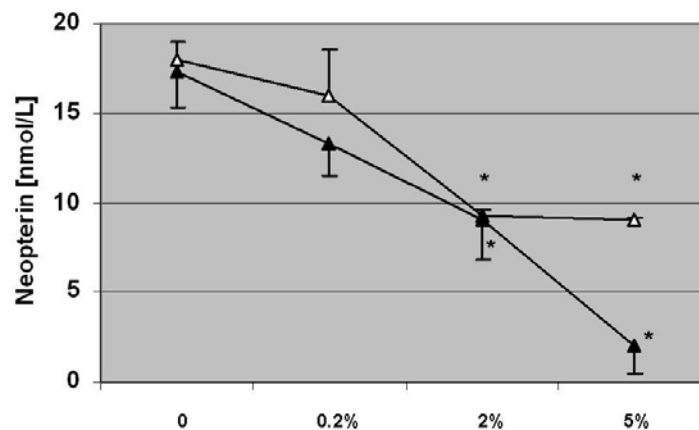


Abb. 17: Anwendung der Neopterinbestimmung zur Erfassung immunmodulierender Wirkung von verschiedenen Teststoffen wie z.B. Medikamenten, pflanzlichen Wirkstoffen oder Nahrungsmittelinhaltsstoffen. Periphere mononukleäre Blutzellen von Blutspendern werden mit Mitogenen wie Phytohaemagglutinin (gefüllte Dreiecke) oder Concanavalin A (leere Dreiecke) stimuliert, und das Ausmaß der Neopterinbildung ohne und mit steigenden Konzentrationen des Teststoffs (z.B. Johanniskraut Extrakt) wird verglichen (vgl [192]).

Da die zelluläre Immunreaktion in der Pathogenese verschiedenster Erkrankungen involviert ist, kann dieses Modell u.a. dazu verwendet werden, nach Stoffen zu suchen, die diesen Typ der Immunreaktion verändern können, z.B. unterdrücken konventionelle Immunsuppressiva die Neopterinbildung. Aber auch entzündungshemmende und antioxidative Inhaltsstoffe von z.B. pflanzlichen Präparaten können die Neopterinbildung hemmen [191, 192].

Ein ähnliches Testsystem unter Verwendung der myelomonozytären Zelllinie THP1- erlaubt, es mithilfe der Neopterinbestimmung den Einfluss von Wirkstoffen auf Zellen der Makrophagenlinie zu quantifizieren [193]. Effekte von entzündungshemmenden Wirkstoffen werden am besten mit durch Lippopolysaccharid (1 μ g/ml) stimulierten Zellen durchgeführt. Dieser *in vitro* Ansatz wurde auch erfolgreich für den Einsatz zur Austestung auf bakterielle Pyrogene in für den Menschen bestimmten Präparaten eingesetzt [194].

4.8. Korrelation mit Indolamin 2,3-Dioxygenase

Wie die Neopterinbildung durch GTP-Zyklohydrolase I induziert Interferon- γ auch den Abbau von Tryptophan zu Kynurenin durch das Enzym Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO). So findet sich *in vitro* [13] und auch *in vivo* ein enger Zusammenhang zwischen Neopterinkonzentration und der Kynurenin zu Tryptophan Ratio, die ein Maß für die Aktivität des IDO Enzyms darstellt [195]. IDO ist ein effizienter Mechanismus des Immunsystems, die Vermehrung von Keimen aber auch von malignen Zellen zu unterdrücken, da der selektive Abbau der essentiellen Aminosäure Tryptophan die Proteinsynthese beeinträchtigt. Die wachstumshemmende Wirkung des Tryptophanabbaus macht aber nicht vor normalen Zellen halt, tatsächlich werden als Nebenwirkung auch die Entwicklung und Vermehrung von z.B. T-Lymphozyten oder erthroiden Vorläuferzellen vermindert. Der bei entzündlichen Erkrankungen entstehende Tryptophanmangel erschwert auch die Biosynthese des Neurotransmitters Serotonin (5-Hydroxytryptamin) [196]. So erlaubt es die Kenntnis über den Zusammenhang zwischen IDO Aktivität und Neopterinbildung, verschiedene klinische Aspekte des Neopterin besser zu verstehen. So wird z.B. klarer, warum ein erhöhter Neopterinspiegel bei HIV Infizierten oder bei Tumorpatienten eine ungünstige Prognose bedeutet. Er zeigt den Versuch des Immunsystems an, sich gegen Infektion oder gegen ein malignes Geschehen zu wehren, gleichzeitig treten aber Immundefizienz, Anämie und auch Gewichtsverlust und Kachexie als eine Nebenwirkung der Immunreaktion auf. Dadurch wird auch verständlich, warum Patienten mit erhöhten Neopterinspiegeln häufig zu neuropsychiatrischen Abnormalitäten neigen [197-199]. Die gleichzeitige Störung des Tryptophan- und Serotoninhaushalts spielt dabei eine nicht unbedeutende Rolle. Durch die enge Immunbiologische Verknüpfung zwischen Neopterinbildung durch GTP-Zyklohydrolase und Tryptophanabbau durch IDO erscheint es durchaus gerechtfertigt, bei Patienten mit erhöhten Neopterinkonzentrationen in Urin, Serum/Plasma oder CSF davon auszugehen, dass parallel dazu bei diesen Patienten auch eine erhöhte IDO Aktivität vorliegt. Allerdings ist nur die Neopterinbildung spezifisch für humane monozytäre und dendritische Zellen spezifisch, während eine Vielzahl von anderen Zellpopulationen eine induzierbare IDO Aktivität aufweisen. Diese mangelnde Zellspezifität hat allerdings den Vorteil, dass die Bestimmung der IDO Aktivität nahezu uneingeschränkt auf andere Spezies/Tiermodelle übertragbar ist.

5. Literatur

1. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER, Dierich MP, Wachter H. Neopterin as a marker for activated cell-mediated immunity: Application in HIV infection. *Immunol Today* 1988;9:150-5.
2. Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER. Neopterin as marker for activation of cellular immunity: Immunologic basis and clinical application. *Adv Clin Chem* 1989;27:81-141.
3. Fuchs D, Weiss G, Reibnegger G, Wachter H. The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation in transplantation, inflammatory, infectious and malignant diseases. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1992;29:304-41.
4. Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Weiss G, Werner-Felmayer G. Neopterin: Biochemistry-Methods-Clinical Application, Walter deGruyter, Berlin, New York, 1992.
5. Fuchs D, Weiss G, Wachter H. Neopterin, biochemistry and clinical use as a marker for cellular immune reactions. *Int Arch Allergy Immunol* 1993; 101:1-6.
6. Hamerlinck FF. Neopterin: a review. *Exp Dermatol* 1999;8:167-76.
7. Murr C, Widner B, Wirleitner B, Fuchs D. Neopterin as a marker for immune system activation. *Curr Drug Metabol* 2002;3:175-87.
8. Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, Hausen A, Lang A, Niederwieser D, Reibnegger G, Swetly P, Troppmair J, Wachter H. Immune response-associated production of neopterin - Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *J Exp Med* 184;160:310-6.
9. Werner ER, Werner-Felmayer G, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Yim JJ, Pfeleiderer W, Wachter H. Tetrahydrobiopterin biosynthetic activities in human macrophages, fibroblasts, THP-1 and T 24 cells. GTP-cyclohydrolase I is stimulated by interferon-gamma, 6-pyruvoyl tetrahydropterin synthase and sepiapterin reductase are constitutively present. *J Biol Chem* 1990;265:3189-92.
10. Wirleitner B, Reider D, Ebner S, Böck G, Widner B, Jaeger M, Schennach H, Romani N, Fuchs D. Monocyte-derived dendritic cells release neopterin. *J Leukocyte Biol* 2002;72:1148-53.
11. Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H. Neopterin formation and tryptophan degradation by a human myelomonocytic cell line (THP-1). *Cancer Res* 1990;50:2863-7.
12. Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H. Tumour necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide enhance interferon-induced tryptophan degradation and pteridine synthesis in human cells. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1989;370:1063-9.
13. Weiss G, Murr C, Zoller H, Haun M, Widner B, Ludescher C, Fuchs D. Modulation of neopterin formation and tryptophan degradation by Th1- and Th2-derived cytokines in human monocytic cells. *Clin Exp Immunol* 1999;116:435-40.
14. Maggi E, Parronchi P, Manetti R, Simonelli C, Piccinni MP, Ruggi FS, De Carli M, Ricci M, Romagnani S. Reciprocal regulatory role of IFN- γ and IL-4 on the in vitro development of human Th1 and Th2 clones. *J. Immunol* 1992;148:2142-8.
15. Sghiri R, Feinberg J, Thabet F, Dellagi K, Boukadida J, Ben Abdelaziz A, Casanova JL, Barbouche MR. Gamma interferon is dispensable for neopterin production in vivo. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005;12:1437-41.
16. Weighardt H, Holzmann B. Role of Toll-like receptor responses for sepsis pathogenesis. *Immunobiology* 2007;212:715-22.
17. Werner ER, Bahrami S, Heller R, Werner-Felmayer G. Bacterial lipopolysaccharide down-regulates expression of GTP cyclohydrolase I feedback regulatory protein. *J Biol Chem* 2002;277:10129-33.
18. Fuchs D, Stahl-Hennig C, Gruber A, Murr C, Hunsmann G, Wachter H. Neopterin--its clinical use in urinalysis. *Kidney Int Suppl* 1994;47:S8-11.
19. Diez-Ruiz A, Tilz GP, Zangerle R, Baier-Bitterlich G, Wachter H, Fuchs D. Soluble receptors for tumour necrosis factor in clinical laboratory diagnosis. *Eur J Haematol* 1995;54:1-8.
20. Niederwieser A, Curtius HC, Bettoni O, Bieri J, Schircks B, Viscontini M, Schaub J. Atypical phenylketonuria caused by 7,8-dihydroneopterin synthetase deficiency. *Lancet* 1979;1: 131-3.
21. Nathan CF. Peroxide and pteridine: a hypothesis of the regulation of macrophage antimicrobial activity by interferon-gamma. In: *Interferon*, vol.7, Gresser J, ed., Academic Press, London, 1986;125-43.
22. Nathan CF, Murray HW, Wiebe ME, Rubin BY. Identification of interferon-gamma as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. *J Exp Med* 1983;158:670-89.
23. Fuchs D, Baier-Bitterlich G, Wede I, Wachter H. Reactive oxygen and apoptosis. In: *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses*. Scandalios J, ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1996: 139-67.

24. Murr C, Fuith LC, Widner B, Wirleitner B, Baier-Bitterlich G, Fuchs D. Increased neopterin concentrations in patients with cancer: indicator of oxidative stress? *Anticancer Res* 1999;19:1721-8.
25. Weiss G, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER, Werner-Felmayer G, Semenz E, Dierich MP, Wachter H. Neopterin modulates toxicity mediated by reactive oxygen and chloride species. *FEBS Lett* 1993;321:89-92.
26. Wede I, Widner B, Fuchs D. Neopterin derivatives modulate toxicity of reactive species on *Escherichia coli*. *Free Rad Res* 1999;31:381-8.
27. Herpfer I, Greilberger J, Ledinski G, Widner B, Fuchs D, Jürgens G. Neopterin and 7,8-dihydroneopterin interfere with low density lipoprotein oxidation mediated by peroxynitrite and/or cooper. *Free Radical Res* 2002;36:509-20.
28. Duggan S, Rait C, Platt A, Giese S. Protein and thiol oxidation in cells exposed to peroxy radicals is inhibited by the macrophage synthesised pterin 7,8-dihydroneopterin. *Biochim Biophys Acta* 2002;1591:139-145.
29. Schneemann M, Schoedon G, Hofer S, Blau N, Guerrero L, Schaffner A. Nitric oxide is not a constituent of the antimicrobial armature of human mononuclear phagocytes. *J Infect Dis* 1993;167:1358-63.
30. Fuchs D, Murr C, Reibnegger G, Weiss G, Werner ER, Werner-Felmayer G, Wachter H. Nitric oxide synthase and antimicrobial armature of human macrophages. *J Infect Dis* 1994;169:224.
31. Widner B, Baier-Bitterlich G, Wede I, Wirleitner B, Fuchs D. Neopterin derivatives modulate the nitration of tyrosine by peroxynitrite. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;248:341-6.
32. Hoffmann G, Schobersberger W, Frede S, Pelzer L, Fandrey J, Wachter H, Fuchs D, Grote J. Neopterin activates transcription factor nuclear factor-kB in vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1996; 391:181-4.
33. Cirillo P, Pacileo M, DE Rosa S, Calabrò P, Gargiulo A, Angri V, Granato-Corigliano F, Fiorentino I, Prevede N, DE Palma R, Mauro C, Leonardi A, Chiariello M. Neopterin induces pro-atherothrombotic phenotype in human coronary endothelial cells. *J Thromb Haemost* 2006;4:2248-55.
34. Schobersberger W, Hoffmann G, Grote J, Wachter H, Fuchs D. Induction of inducible nitric oxide synthase expression by neopterin in vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1995;377:461-4.
35. Hoffmann G, Frede S, Kenn S, Smolny M, Wachter H, Fuchs D, Grote J, Rieder J, Schobersberger W. Neopterin-induced tumor necrosis factor-alpha synthesis in vascular smooth muscle cells in vitro. *Int Arch Allergy Immunol.* 1998;116:240-5.
36. Hoffmann G, Rieder J, Smolny M, Seibel M, Wirleitner B, Fuchs D, Schobersberger W. Neopterin-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in type II-like alveolar epithelial cells. *Clin Exp Immunol* 1999;118:435-40.
37. Barak M, Merzbach D, Gruener N. Interleukin-2 and neopterin-induced neopterin release from peripheral blood mononuclear cells. *Scand J Clin Lab Invest* 1990;50:705-14.
38. Barak M, Gruener N. Neopterin augmentation of tumor necrosis factor production. *Immunol Lett* 1991;30:101-6.
39. Schobersberger W, Jelkmann W, Fandrey J, Frede S, Wachter H, Fuchs D. Neopterin-induced suppression of erythropoietin production in vitro. *Pteridines* 1995;6:12-6.
40. Baier-Bitterlich G, Fuchs D, Murr C, Reibnegger G, Werner-Felmayer G, Sgonc R, Böck G, Dierich MP, Wachter H. Effect of 7,8-neopterin on tumor necrosis factor- α induced programmed cell death. *FEBS Lett* 1995;95:227-32.
41. Schobersberger W, Hoffmann G, Hobisch-Hagen, Böck G, Völkl H, Baier-Bitterlich G, Wirleitner B, Wachter H, Fuchs D. Neopterin and 7,8-dihydroneopterin induce apoptosis in the rat alveolar epithelial cell line L2. *FEBS Lett* 1996;397:263-8.
42. Nonogawa M, Sommani P, Arai T, Endo N, Pack SP, Kodaki T, Kotake Y, Makino K. Chemical natures of 6-formylpterin nucleoside analogs. *Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)* 2007;51:227-8.
43. Überall F, Werner-Felmayer G, Schubert C, Grunicke HH, Wachter H, Fuchs D. Neopterin derivatives together with cyclic guanosine monophosphate induce c-fos gene expression. *FEBS Lett* 1994;352:11-4.
44. Fuchs D, Milstien S, Krämer A, Reibnegger G, Werner ER, Goedert JJ, Kaufman S, Wachter H. Urinary neopterin concentrations vs total neopterins for clinical utility. *Clin Chem* 1989;35:2305-7.
45. Weiss G, Glaser K, Kronberger P, Ambach E, Fuchs D, Bodner E, Wachter H. Distinct distributions of D-erythro-neopterin in arteries and veins and its recovery by an enterohepatic circulation. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1992;373:289-94.
46. Fuchs D, Werner ER, Wachter H. Soluble products of immune activation: Neopterin. In: Rose RR, deMacario EC, Fahey JL, Friedman H, Penn GM. eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 4th ed. Washington, D.D., American Society for Microbiology, 1992;251-5.
47. Schroecksnadel K, Winkler C, Fuchs D. Method for urinary neopterin measurements by HPLC. J

- Biochem Biophys Methods 2006;66:99-100.
48. Fuchs D, Stahl-Hennig C, Gruber A, Murr C, Hunsmann G, Wachter H. Neopterin - its clinical use in urinalysis. *Kidney Int* 1994;46:8-11.
 49. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H: Automated routine estimation of neopterin in human urine by HPLC on reversed phase. *Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines (Vol.1)*. Edited by H Wachter, HC Curtius, W Pfeleiderer. Walter de Gruyter, Berlin-New York, 1982, pp67-79.
 50. Laich A, Neurauder G, Wirleitner B, Fuchs D. Degradation of serum neopterin during day- and sunlight exposure. *Clin Chim Acta* 2002;322:175-87.
 51. Werner ER, Bichler A, Daxenbichler G, Fuchs D, Fuith LC, Hausen A, Hetzel H, Reibnegger G, Wachter H. Determination of neopterin in serum and urine. *Clin Chem* 1987;33:62-6.
 52. Mayersbach P, Augustin R, Schennach H, Schönitzer D, Werner ER, Wachter H, Reibnegger G. Commercial enzyme-linked immunosorbent assay for neopterin detection in blood donations compared with RIA and HPLC. *Clin Chem* 1994;40:265-6.
 53. Hausen A, Aichberger C, Königsrainer A, Weiss G, Margreiter R, Wachter H. Biliary and urinary neopterin concentrations in monitoring liver allograft recipients. *Clin Chem* 1993;39:45-7.
 54. Flavall EA, Crone EM, Moore GA, Gieseg SP. Dissociation of neopterin and 7,8-dihydroneopterin from plasma components before HPLC analysis. *J Chromatogr B* 2008 (im Druck).
 55. Hagberg L, Dotevall L, Norkrans G, Wachter H, Fuchs D. Cerebrospinal fluid neopterin concentrations in central nervous system infection. *J Infect Dis* 1993;168:1285-8.
 56. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER, Dittrich P, Wachter H. Neopterin levels in long term hemodialysis. *Clin Nephrol* 1988;177:1-6.
 57. Reibnegger G, Auhuber I, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Prior C, Werner ER, Wachter H. Urinary neopterin levels in acute viral hepatitis. *Hepatology* 1988;8:771-4.
 58. Kern P, Rokos H, Dietrich M. Raised serum levels and imbalances of T-lymphocyte subsets in viral diseases, acquired immune deficiency and related lymphadenopathy syndromes. *Biomed Pharmacother* 1984;38:407-11.
 59. Schennach H, Hessenberger G, Mayersbach P, Schönitzer D, Fuchs D. Acute cytomegalovirus infections in blood donors are indicated by increased serum neopterin concentrations. *Med Microbiol Immunol* 2002;191: 115-8.
 60. Griffin DE, Ward BJ, Jauregui E, Johnson RT, Vaisberg A. Immune activation during measles: interferon gamma and neopterin in plasma and cerebrospinal fluid in complicated and uncomplicated disease. *J Infect Dis* 1990;161:449-53.
 61. Ip M, Rainer TH, Lee N, Chan C, Chau SSL, Leung W, Leung MF, Tam TK, Antonio GE, Lui G, Lau TK, Hui DSC, Fuchs D, Renneberg R, Chan PKS. Value of serum procalcitonin, neopterin, and C-reactive protein in differentiating bacterial from viral etiologies in patients presenting with lower respiratory tract infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59:131-6.
 62. Zheng B, Cao KY, Chan CPY, Choi JWY, Leung W, Leung M, Duan ZH, Gao Y, Wang M, Di B, Hollidt JM, Bergmann A, Lehmann M, Renneberg I, Tam JSL, Chan PKS, Cautherley GWH, Fuchs D, Renneberg R. Serum neopterin for early assessment of severity of severe acute respiratory syndrome. *Clin Immunol* 2005;116:18-26.
 63. Chan CPY, Choi JWY, Cao KY, Wang M, Gao Y, Zhou DH, Di B, Xu HF, Leung M, Bergmann A, Lehmann M, Cautherley GWH, Fuchs D, Renneberg R, Zheng B. Serum Neopterin for early assessment of severity of dengue virus infection. *J Infect* 2006;53:152-8.
 64. Prior C, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Reibnegger G, Werner ER, Vogel W, Wachter H. Potential of urinary neopterin excretion differentiating chronic non-A, non-B hepatitis from fatty liver. *Lancet* 1987;ii:1235-7.
 65. Schennach H, Schoenitzer D, Fuchs D. Association between chronic hepatitis C virus infection and increased neopterin concentrations in blood donations. *Clin Chem* 1998;44:2225-6.
 66. Tilg H, Margreiter R, Scriba M, Marth C, Niederwieser D, Aulitzky W, Spielberger M, Wachter H, Huber C. Clinical presentation of CMV infection in solid organ transplant recipients and its impact on graft rejection and neopterin excretion. *Clin Transplantation* 1987;1:37-43.
 67. Zaknun D, Weiss G, Glatzl J, Wachter H, Fuchs D. Neopterin levels during acute rubella in children. *Clin Infect Dis* 1993;17:521-2.
 68. Zangerle R, Schönitzer D, Fuchs D, Möst J, Dierich MP, Wachter H. Reducing HIV transmission by seronegative blood. *Lancet* 1992;339:130-1.
 69. Fuchs D, Spira TJ, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER, Werner-Felmayer G, Wachter H. Neopterin as a predictive marker for disease progression in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Clin Chem* 1989;35:1746-9.
 70. Fahey JL, Taylor JM, Detels R, Hofmann B, Melmed R, Nishanian P, Giorgi JV. The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type 1. *New Engl J Med* 1990;322:166-172.

71. Fendrich C, Lüke W, Stahl-Hennig C, Herchenröder O, Fuchs D, Wachter H, Hunsmann G. Urinary neopterin concentrations in rhesus monkeys after infection with simian immunodeficiency virus mac strain 251. *AIDS* 1989;3:305-7.
72. Fuchs D, Albert J, Asjö B, Fenyö EM, Reibnegger G, Wachter H: Association between serum neopterin concentrations and in vitro replicative capacity of HIV-1 isolates. *J Infect Dis* 1989;160:724-5.
73. Zangerle R, Fuchs D, Reibnegger G, Fritsch P, Wachter H: Markers for disease progression in intravenous drug users infected with HIV-1. *AIDS* 1991;5:985-91.
74. Krämer A, Biggar RJ, Hampl H, Friedman RM, Fuchs D, Wachter H, Goedert JJ. Immunologic markers of progression to acquired immunodeficiency syndrome are time-dependent and illness-specific. *Am J Epidemiol* 1992;136:71-80.
75. Zangerle R, Steinhuber S, Sarcletti M, Dierich MP, Wachter H, Fuchs D, Möst J: Serum HIV-1 RNA levels compared to soluble markers of immune activation to predict disease progression in HIV-1 infected individuals. *Int Arch Allergy Immunol* 116: 228-239, 1998
76. Mildvan D, Spritzler J, Grossberg SE, Fahey JL, Johnston DM, Schock BR, Kagan J. Serum neopterin, an immune activation marker, independently predicts disease progression in advanced HIV-1 infection. *Clin Infect Dis* 2005;40:853-8.
77. Hutterer J, Armbruster C, Wallner G, Fuchs D, Vetter N, Wachter H. Early changes of neopterin concentrations during treatment of human immunodeficiency virus infection with zidovudine. *J Infect Dis* 1992;165:783-4.
78. Hagberg L, Norkrans G, Gisslen M, Wachter H, Fuchs D, Svennerholm B. Intrathecal immunoactivation in patients with HIV-1 infection is reduced by zidovudine but not by didanosine. *Scand J Infect Dis* 1996;28:329-33.
79. Collier AC, Coombs RW, Schoenfeld DA, Bassett RL, Timpone J, Baruch A, Jones M, Facey K, Whitacre C, McAuliffe VJ, Friedman HM, Merigan TC, Reichman RC, Hooper C, Corey L. Treatment of human immunodeficiency virus infection with saquinavir, zidovudine, and zalcitabine. AIDS Clinical Trials Group. *N Engl J Med* 1996;334:1011-7.
80. Zangerle R, Widner B, Quirchmair G, Neurauter G, Sarcletti M, Fuchs D. Effective antiretroviral therapy reduces degradation of tryptophan in patients with HIV-1 infection. *Clin Immunol* 2002;104:242-7.
81. Fuchs D, Chiodi F, Albert J, Asjö B, Hagberg L, Hausen A, Norkrans G, Reibnegger G, Werner ER, Wachter H. Neopterin concentrations in cerebrospinal fluid and serum of individuals infected with HIV-1. *AIDS* 1989;3:285-8.
82. Brew BJ, Bhalla RB, Paul M, Gallardo H, McArthur JC, Schwartz MK, Price RW. Cerebrospinal fluid neopterin in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Ann Neurol* 1990;28:556-60.
83. Sinclair E, Ronquillo R, Lollo N, Deeks SG, Hunt P, Yiannoutsos CT, Spudich S, Price RW. Antiretroviral treatment effect on immune activation reduces cerebrospinal fluid HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008;47:544-52.
84. Fuchs D, Wachter H: Neopterin - ein Marker für den zellulären Immunstatus - Bedeutung bei AIDS, ARC und AIDS-Risikogruppen. *AIDS - Acquired Immune Deficiency Syndrome - Symposium Wien 1985*. Edited by F Gschnait, K Wolff. Wien-New York, Springer Verlag, 1985, pp 96-127.
85. Fuchs D, Hausen A, Hoefler E, Schönitzer D, Werner ER, Dierich MP, Hengster P, Reibnegger G, Schulz T, Wachter H: Activated T-cells in addition to LAV/HTLV-III infection: A necessary precondition for development of AIDS. *Cancer Detect Prevent* 1987;suppl1:583-7.
86. Baier-Bitterlich G, Fuchs D, Zangerle R, Baeuerle PA, Werner ER, Fresser F, Überall F, Baier G, Wachter H. Transactivation of the HIV-1 promoter by 7,8-dihydroneopterin in vitro. *AIDS Res Human Retrovir* 1997;13:173-8.
87. Baier-Bitterlich G, Wachter H, Fuchs D. Role of neopterin and 7,8-dihydroneopterin in human immunodeficiency virus infection: marker for disease progression and pathogenic link. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1996;13:184-93.
88. Fuchs D, Zangerle R, Artner-Dworzak E, Weiss G, Fritsch P, Tilz GP, Dierich MP, Wachter H. Association between immune activation, changes of iron metabolism and anaemia in patients with HIV-infection. *Eur J Haematol* 1993;50:90-4.
89. Fuchs D, Malkovsky M, Reibnegger G, Werner ER, Forni G, Wachter H: Endogenous release of interferon-gamma and diminished response of peripheral blood mononuclear cells to antigenic stimulation. *Immunol Lett* 1989;23:103-8.
90. Fuchs D, Hausen A, Kofler M, Kosanowski H, Reibnegger R, Wachter H: Neopterin as an index of immune response in patients with tuberculosis. *Lung* 1984;162:337-46.
91. Cok G, Parildar Z, Basol G, Kabaroglu C, Bayindir U, Habif S, Bayindir O. Pleural fluid neopterin levels in tuberculous pleurisy. *Clin Biochem* 2007;40:876-80.
92. Schmutzhard E, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H. Is neopterin, a marker of cell

- mediated immune response, helpful in classifying leprosy. *East Afr Med J* 1986;63:577-80.
93. Silva EA, Iyer A, Ura S, Lauris JR, Naafs B, Das PK, Vilani-Moreno F. Utility of measuring serum levels of anti-PGL-I antibody, neopterin and C-reactive protein in monitoring leprosy patients during multi-drug treatment and reactions. *Trop Med Int Health* 2007;12:1450-8.
 94. Brown AE, Dance DAB, Chaowagul W, Webster HK, White NJ. Activation of immune responses in melioidosis patients as assessed by urinary neopterin. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1990;84:583-4.
 95. Reibnegger G, Boonpucknavig V, Fuchs D, Hausen A, Schmutzhard E, Wachter H. Urinary neopterin is elevated in patients with malaria. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1984;78:545-6.
 96. Kern P, Hemmer CJ, Van Damme J, Gruss HJ, Dietrich M. Elevated tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 serum levels as markers for complicated plasmodium falciparum malaria. *Am J Med* 1989;87:139-43.
 97. Diez-Ruiz A, Al-Amrani M, Weiss G, Gutierrez-Gea F, Wachter H, Fuchs D: Increased interferon-gamma and neopterin concentrations in patients with acute brucellosis. *J Infect Dis* 1993;167:504-5.
 98. Zwingenberger K, Harms G, Feldmeier H, Müller O, Steiner A. Liver involvement in human schistosomiasis. *Acta Tropica* 1988;45:263-75.
 99. Brown AE, Herrington DA, Webster HK, Clyde DF, Szein MB, Davis JR, Beier MS, Edelman R. Urinary neopterin in volunteers experimentally infected with plasmodium falciparum. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 1992;86:134-6.
 100. Denz H, Fuchs D, Hausen A, Huber H, Nachbaur D, Reibnegger G, Thaler J, Werner ER, Wachter H. Value of urinary neopterin in the differential diagnosis of bacterial and viral infections. *Klin Wochenschr* 1990;68:218-22.
 101. Ruokonen E, Ilkka L, Niskanen M, Takala J. Procalcitonin and neopterin as indicators of infection in critically ill patients. *Acta Anaesthesiol Scand* 2002;46:398-404.
 102. Strohmaier W, Redl H, Schlag G, Inthorn D. D-erythro-neopterin plasma levels in intensive care patients with and without septic complications. *Crit Care Med* 1987;15:757-60.
 103. Hensler T, Sauerland S, Lefering R, Nagelschmidt M, Bouillon B, Andermahr J, Neugebauer EA. The clinical value of procalcitonin and neopterin in predicting sepsis and organ failure after major trauma. *Shock* 2003;20:420-6.
 104. Kaufmann P, Tilz GP, Demel U, Wachter H, Kreijs JG, Fuchs D: Neopterin plasma concentrations predict the course of severe acute pancreatitis. *Clin Chem Lab Med* 1998;36:29-34.
 105. Uomo G, Spada OA, Manes G, Feola B, Misso S, Cavallera A, Rabitti PG. Neopterin in acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1996;31:1032-6.
 106. Dotevall L, Fuchs D, Reibnegger G, Wachter H, Hagberg L. Cerebrospinal fluid and serum neopterin levels in patients with Lyme neuroborreliosis. *Infection* 1990;18:210-4.
 107. Kölfen W, Korinthenberg R, Teuber J. Intrathecal production of neopterin in meningitis in childhood. *Klin Paediatr* 1990;202:399-403.
 108. Zaknun D, Zaknun J, Unsinn K, Wachter H, Fuchs D. Interferon gamma-induced formation of neopterin and degradation of tryptophan in cerebrospinal fluid of children with meningitis but not with febrileconvulsions. *Pteridines* 1994;5:102-6.
 109. Reibnegger G, Egg D, Fuchs D, Günther R, Hausen A, Werner ER, Wachter H. Urinary neopterin reflects clinical activity in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1986;29:1063-70.
 110. Märker-Alzer D, Diemer O, Strümper R, Rohe M. Neopterin production in inflamed knee joints: high levels in synovial fluids. *Rheumatol Int* 1986;6: 151-4.
 111. Samsonov MY, Tilz GP, Egorova O, Reibnegger G, Balabanova RM, Nassonov EL, Nassonova VA, Wachter H, Fuchs D. Serum soluble markers of immune activation and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1995;4:29-32.
 112. Lim KL, Jones AC, Brown NS, Powell RJ. Urine neopterin as a parameter of disease activity in patients with systemic lupus erythematosus: comparisons with serum sIL-2R and antibodies to dsDNA, erythrocyte sedimentation rate, and plasma C3, C4, and C3 degradation products. *Ann Rheum Dis* 1993;52:429-35.
 113. Nassonov EL, Samsonov MY, Tilz GP, Beketova TV, Semenкова EN, Baranov A, Wachter H, Fuchs D. Serum concentrations of neopterin, soluble interleukin 2 receptor, and soluble tumor necrosis factor receptor in Wegener's granulomatosis. *J Rheumatol* 1997;24:666-70.
 114. Samsonov MY, Nassonov EL, Tilz GP, Geht BM, Demel U, Gurkina GT, Shtutman VZ, Guseva AG, Wachter H, Fuchs D. Elevated serum levels of neopterin in adult patients with polymyositis/dermatomyositis. *Brit J Rheumatol* 1997;36:656-60.
 115. Reibnegger G, Bollbach R, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Prior C, Rotthauwe HW, Werner ER, Wachter H. A simple index relating clinical activity in Crohn's disease with T cell activation: Hematokrit, frequency of liquid stools and urinary neopterin as parameters. *Immunobiology* 1986;173:1-11.

116. Niederwieser D, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Reibnegger G, Wachter H, Huber C. Neopterin as a new biochemical marker in the clinical assessment of ulcerative colitis. *Immunobiology* 1985;170:320-6.
117. Fuchs D, Granditsch G, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H: Urinary neopterin excretion in coeliac disease. *Lancet* 1983; ii:463-4.
118. Prior C, Frank A, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Reibnegger G, Werner ER, Wachter H. Immunity in sarcoidosis. *Lancet* 1987; ii:741.
119. Hönlinger M, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Schönitzer D, Werner ER, Reissigl H, Dierich MP, Wachter H. Serum-Neopterinbestimmung zur zusätzlichen Sicherung der Bluttransfusion. *Deutsch Med Wochenschr* 1989; 114:172-6.
120. Vrecko K, Staedtler P, Mischak I, Maresch L, Reibnegger G. Periodontitis and concentrations of the cellular immune activation marker neopterin in saliva and urine. *Clin Chim Acta* 1997;268:31-40.
121. Pradeep AR, Kumar MS, Ramachandraprasad MV, Shikha C. Gingival crevicular fluid levels of neopterin in healthy subjects and in patients with different periodontal diseases. *J Periodontol.* 2007;78:1962-7.
122. Fredrikson S, Link H, Eneroth P. CSF neopterin as marker of disease activity in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1987;75:352-5.
123. Westarp ME, Fuchs D, Bartmann P, Hoff-Jørgensen R, Clausen J, Wachter H, Kornhuber HH. Amyotrophic lateral sclerosis - an enigmatic disease with B-cellular and anti-retroviral immune responses. *Eur J Med* 1993;2:327-32.
124. Bagnato F, Pozzilli C, Scagnolari C, Bellomi F, Pasqualetti P, Gasperini C, Millefiorini E, Galgani S, Spadaro M, Antonelli G. A one-year study on the pharmacodynamic profile of interferon-beta1a in MS. *Neurology* 2002;58:1409-11.
125. Scagnolari C, Duda P, Bagnato F, De Vito G, Alberelli A, Lavalpe V, Girardi E, Durastanti V, Trojano M, Kappos L, Antonelli G. Pharmacodynamics of interferon beta in multiple sclerosis patients with or without serum neutralizing antibodies. *J Neurol* 2007;254:597-604.
126. Bansil S, Mithen FA, Singhal BS, Cook SD, Rohowsky-Kochan C. Elevated neopterin levels in Guillain-Barré syndrome. Further evidence of immune activation. *Arch Neurol* 1992;49:1277-80.
127. Leblhuber F, Walli J, Demel U, Tilz GP, Widner B, Fuchs D: Increased serum neopterin concentrations in patients with Alzheimer's disease. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:429-431
128. Leblhuber F, Walli J, Jellinger K, Tilz GP, Widner B, Laccone F, Fuchs D. Activated immune system in patients with Huntington's disease. *Clin Chem Lab Med* 1998;36:747-750
129. Widner B, Leblhuber F, Fuchs D. Increased neopterin production and tryptophan degradation in advanced Parkinson's disease. *J Neural Transm* 2002;109:181-189
130. Coppus AW, Fekkes D, Verhoeven WM, Tuinier S, Egger JI, van Duijn CM. Plasma amino acids and neopterin in healthy persons with Down's syndrome. *J Neural Transm* 2007;114:1041-5
131. Blasko I, Knaus G, Weiss E, Kemmler G, Winkler C, Falkensammer G, Griesmacher A, Würzner R, Marksteiner J, Fuchs D. Cognitive deterioration in Alzheimer's disease is accompanied by increase of plasma neopterin. *J Psych Res* 2007;41:694-701
132. Weiss G, Willeit J, Kiechl S, Fuchs D, Jarosch E, Oberhollenzer F, Reibnegger G, Tilz GP, Gerstenbrand F, Wachter H. Increased concentrations of neopterin in carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1994;106:263-71.
133. Melichar B, Gregor J, Solichova D, Lukes J, Tichy M, Pidman V. Increased urinary neopterin in acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1994;40:338-9.
134. Auer J, Berent R, Labetanig E, Eber B. Serum neopterin and activity of coronary artery disease. *Heart Dis* 2001;3:297-301. Garcia-Moll X, Cole D, Zouridakis E, Kaski JC. Increased serum neopterin: a marker of coronary artery disease activity in women. *Heart* 2000;83:346-50.
135. Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Quiles J, Roy D, Kaski JC. Elevated serum neopterin predicts future adverse cardiac events in patients with chronic stable angina pectoris. *Eur Heart J* 2005;26:457-63.
136. Adachi T, Naruko T, Itoh A, Komatsu R, Abe Y, Shirai N, Yamashita H, Ehara S, Nakagawa M, Kitabayashi C, Ikura Y, Ohsawa M, Yoshiyama M, Haze K, Ueda M. Neopterin is associated with plaque inflammation and destabilisation in human coronary atherosclerotic lesions. *Heart* 2007;93:1537-41.
137. van Haelst PL, Liem A, van Boven AJ, Veeger NJ, van Veldhuisen DJ, Tervaert JW, Gans RO, Zijlstra F. Usefulness of elevated neopterin and C-reactive protein levels in predicting cardiovascular events in patients with non-Q-wave myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2003;92:1201-3.
138. Kaski JC, Consuegra-Sanchez L, Fernandez-Berges DJ, Cruz-Fernandez JM, Garcia-Moll X, Marrugat J, Mostaza J, Toro-Cebada R, González-Juanatey JR, Guzmán-Martínez G; on behalf of the SIESTA Investigators. Elevated serum neopterin levels and adverse cardiac events at 6

- months follow-up in Mediterranean patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Atherosclerosis* 2008 (im Druck).
139. Walter RB, Fuchs D, Weiss G, Walter TR, Reinhart WH. HMG-CoA reductase inhibitors are associated with decreased serum neopterin levels in stable coronary artery disease. *Clin Chem Lab Med*. 2003;41:1314-9.
 140. Ray KK, Morrow DA, Sabatine MS, Shui A, Rifai N, Cannon CP, Braunwald E. Long-term prognostic value of neopterin: a novel marker of monocyte activation in patients with acute coronary syndrome. *Circulation* 2007;115:3071-8.
 141. Diamondstone LS, Tollerud DJ, Fuchs D, Wachter H, Brown LM, Maloney E, Kurman CC, Nelson DL, Blattner WA. Factors influencing serum neopterin and beta 2-microglobulin levels in a healthy diverse population. *J Clin Immunol* 1994;14:368-74.
 142. Kiechl S, Lorenz E, Reindl M, Wiedermann CJ, Oberhollenzer F, Bonora E, Willeit J, Schwartz DA. Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis. *N Engl J Med* 2002;347:185-92.
 143. SchroECKSnadel K, Frick B, Winkler C, Leblhuber F, Wirleitner B, Fuchs D. Hyperhomocysteinemia and immune activation. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1438-43.
 144. McCully KS. Homocysteine, vitamins, and vascular disease prevention. *Am J Clin Nutr* 2007;86:1563S-8S.
 145. Frick B, Gruber B, SchroECKSnadel K, Leblhuber F, Fuchs D. Homocysteine but not neopterin declines in demented patients on B vitamins. *J Neural Transm* 2006;113:1815-9.
 146. Bleie Ø, Semb AG, Grundt H, Nordrehaug JE, Vollset SE, Ueland PM, Nilsen DW, Bakken AM, Refsum H, Nygård OK. Homocysteine-lowering therapy does not affect inflammatory markers of atherosclerosis in patients with stable coronary artery disease. *J Intern Med* 2007;262:244-53.
 147. Samsonov M, Fuchs D, Reibnegger G, Belenkov JN, Nassonov EL, Wachter H. Patterns of serological markers for cellular immune activation in patients with dilated cardiomyopathy and chronic myocarditis. *Clin Chem* 1992;38:678-80.
 148. Iizuka T, Minatogawa Y, Suzuki H, Itoh M, Nakamine S, Hatanaka Y, Uemura S, Koike M. Urinary neopterin as a predictive marker of coronary artery abnormalities in Kawasaki syndrome. *Clin Chem* 1993;39/4:600-4.
 149. Samsonov MY, Tilz GP, Pisklakov VP, Reibnegger G, Nassonov EL, Nassonova VA, Wachter H, Fuchs D. Serum-soluble receptors for tumor necrosis factor- α and interleukin-2, and neopterin in acute rheumatic fever. *Clin Immunol Immunopathol* 1995;74:31-4.
 150. SchroECKSnadel K, Frick B, Winkler C, Fuchs D. Crucial role of interferon- γ and stimulated macrophages in cardiovascular disease. *Curr Vascular Pharmacol* 2006;4:205-13.
 151. Margreiter JE, Schlager A, Schobersberger W, Balogh A, Balogh D, Lindner KH, Fuchs D. Exogenous neopterin causes cardiac contractile dysfunction in the isolated perfused rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 32, 1265-1274, 2000
 152. Reibnegger G, Fuchs D, Fuith LC, Hausen A, Werner ER, Werner-Felmayer G, Wachter H. Neopterin as a marker for activated cell-mediated immunity: Application in malignant disease. *Cancer Detect Prevent* 1991;15:483-90.
 153. Melichar B, Solichová D, Freedman RS. Neopterin as an indicator of immune activation and prognosis in patients with gynecological malignancies. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16:240-52.
 154. Reibnegger GJ, Bichler AH, Dapunt O, Fuchs DN, Fuith LC, Hausen A, Hetzel H, Lutz H, Werner ER, Wachter H. Neopterin as a prognostic indicator in patients with carcinoma of the uterine cervix. *Cancer Res* 1986;46:950-5.
 155. Reibnegger G, Hetzel H, Fuchs D, Fuith LC, Hausen A, Werner ER, Wachter H. Clinical significance of neopterin for prognosis and follow-up in ovarian cancer. *Cancer Res* 1987; 47:4977-81.
 156. Lewenhaupt A, Ekman P, Eneroth P, Eriksson A, Nilsson B, Nordström L. Serum levels of neopterin as related to the prognosis of human prostatic carcinoma. *Eur Urol* 1986;12:422-5.
 157. Kawasaki H, Watanabe H, Yamada S, Watanabe K, Suyama A. Prognostic significance of urinary neopterin levels in patients with hepatocellular carcinoma. *Tohoku J Exp Med* 1988;155:311-8.
 158. Prommegger R, Widner B, Murr C, Unger A, Fuchs D, Salzer GM. Neopterin: a prognostic variable in operations for lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2000;70:1861-4.
 159. Murr C, Bergant A, Widschwendter M, Heim K, SchröCKSnadel H, Fuchs D. Neopterin is an independent prognostic parameter in females with breast cancer. *Clin Chem* 1999;45:1998-2004.
 160. Rao V, Ryggen K, Aarhaug M, Dai HY, Jørstad S, Moen T. Extracorporeal photochemotherapy in patients with cutaneous T-cell lymphoma: is clinical response predictable? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006;20:1100-7.
 161. Weinlich G, Murr C, Richardsen L, Winkler C, Fuchs D. Decreased serum tryptophan concentration predicts poor prognosis in malignant melanoma patients. *Dermatology* 2007;214:8-14.

162. Volgger B, Aspisirengil C, Genser-Krimbacher E, Ciresa-Koenig A, Daxenbichler G, Fuchs D, Windbichler G, Marth C. Prognostic significance of TPA versus SCC-Ag, CEA and neopterin in carcinoma of the uterine cervix. *Cancer Lett* 2008 ;262:183-9.
163. Bayram M, Boyunaga H, Diribas K, Ozer G, Akgul EO, Erbil MK. The detection of urinal neopterin concentration increases the efficiency of cervical smear in the diagnosis of cervical cancer. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2004;47:125-8.
164. Denz H, Fuchs D, Huber H, Nachbaur D, Reibnegger G, Thaler J, Werner ER, Wachter H. Correlation between neopterin, interferon-gamma and haemoglobin in patients with haematological disorders. *Eur J Haematol* 1990;44:186-9.
165. Denz H, Fuchs D, Hausen A, Huber H, Nachbaur D, Reibnegger G, Thaler J, Werner ER, Wachter H. Value of urinary neopterin in the differential diagnosis of bacterial and viral infections. *Klin Wochenschr* 1990;68:218-22.
166. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER, Werner-Felmayer G, Dierich MP, Wachter H. Immune activation and the anaemia associated with chronic inflammatory disorders. *Eur J Haematol* 1991;46:65-70.
167. Schroecksadel K, Wirleitner B, Winkler C, Fuchs D. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clin Chim Acta* 2006;364:82-90.
168. Mellor AL, Munn DH. IDO expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism. *Nat Rev Immunol* 2004;4:762-74.
169. Margreiter R, Fuchs d, Hausen A, Huber C, Reibnegger G, Spielberger M, Wachter H. Neopterin as a new biochemical marker for diagnosis of allograft rejection. *Transplantation* 1983;36:650-3.
170. Reibnegger G, Aichberger C, Fuchs D, Hausen A, Spielberger M, Werner ER, Margreiter R, Wachter H. Posttransplant neopterin excretion in renal allograft recipients - A reliable diagnostic aid for acute rejection and a predictive marker of long - term graft survival. *Transplantation* 1991;52:58-63.
171. Chin GK, Adams CL, Carey BS, Shaw S, Tse WY, Kaminski ER. The value of serum neopterin, interferon-gamma levels and interleukin-12B polymorphisms in predicting acute renal allograft rejection. *Clin Exp Immunol* 2008;152:239-44.
172. Königsrainer A, Reibnegger G, Öfner D, Klima G, Tauscher T, Margreiter R. Pancreatic juice neopterin excretion - reliable marker for detection of pancreatic allograft rejection. *Transplant Proc.* 1990;22:671-2.
173. Niederwieser D, Huber C, Gratwohl A, Bannert P, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Speck B, Wachter H. Neopterin as a new biochemical marker in the clinical monitoring of bone marrow transplant recipients. *Transplantation* 1984;38:497-500.
174. Hempel L, Körholz D, Nussbaum P, Bönig H, Burdach S, Zintl F. High interleukin-10 serum levels are associated with fatal outcome in patients after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1997;20:365-8.
175. Gastl G, Aulitzky W, Tilg H, Nachbaur K, Troppmair J, Flener R, Huber C. A biological approach to optimize interferon treatment in hairy cell leukemia. *Immunobiology* 1986;172:262-8.
176. Casoni F, Merelli E, Bedin R, Sola P, Bertolotto A, Faglioni P. Is serum neopterin level a marker of responsiveness to interferon beta-1a therapy in multiple sclerosis? *Acta Neurol Scand* 2004;109:61-5.
177. Hutterer J, Armbruster C, Wallner G, Fuchs D, Vetter N, Wachter H. Early changes of neopterin concentrations during treatment of human immunodeficiency virus infection with zidovudine. *J Infect Dis* 1992;165:783-4.
178. Hosp M, Elliott AM, Raynes JG, Mwinga AG, Luo N, Zangerle R, Pobee JO, Wachter H, Dierich MP, McAdam KP, Fuchs D. Neopterin, beta 2-microglobulin, and acute phase proteins in HIV-1-seropositive and -seronegative Zambian patients with tuberculosis. *Lung* 1997;175:265-75.
179. Hönlinger M, Fuchs D, Reibnegger G, Schönitzer D, Dierich MP, Wachter H. Neopterin screening and acute cytomegalovirus infections in blood donors. *Clin Investig* 1992;70:63.
180. Schennach H, Hessenberger G, Mayersbach P, Schönitzer D, Fuchs D. Acute cytomegalovirus infections in blood donors are indicated by increased serum neopterin concentrations. *Med Microbiol Immunol* 2002;191:115-8.
181. Ziemann M, Krueger S, Maier AB, Unmack A, Goerg S, Hennig H. High prevalence of cytomegalovirus DNA in plasma samples of blood donors in connection with seroconversion. *Transfusion* 2007;47:1972-83.
182. Schennach H, Mayersbach P, Schönitzer D, Fuchs D, Wachter H, Reibnegger G. Increased prevalence of IgM antibodies to Epstein-Barr virus and parvovirus B19 in blood donations with above-normal neopterin concentration. *Clin Chem* 1994;40: 2104-5.
183. Schennach H, Schoenitzer D, Fuchs D. Association between chronic hepatitis C virus infection and increased neopterin concentrations in blood donations. *Clin Chem* 1998;44:2225-6.
184. Nübling CM, Chudy M, Volkens P, Löwer J. Neopterin levels during the early phase of human

- immunodeficiency virus, hepatitis C virus, or hepatitis B virus infection. *Transfusion* 2006;46:1886-91.
185. Peters KM, Leusch HG, Bruchhausen B, Schilgen M, Markos-Pusztai S. neopterin determinations in the screening for spongiosa donors. *Z Orthop Grenz* 1990;128:453-6.
 186. Duch DS, Bowers SW, Woolf JH, Nichol CA. Biopterin cofactor biosynthesis: GTP cyclohydrolase, neopterin and biopterin in tissues and body fluids of mammalian species. *Life Sci* 1984;35:1895-901.
 187. Stang BV, Koller LD. Neopterin values in selected groups of normal animals. *Res Vet Sci* 1998;65:87-8.
 188. Strasser A, May B, Teltscher A, Wistrela E, Niedermüller H. Immune modulation following immunization with polyvalent vaccines in dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 2003;94:113-21.
 189. Breineková K, Svoboda M, Smutná M, Vorlová L. Markers of acute stress in pigs. *Physiol Res* 2007;56:323-9.
 190. Amadori A, Wirleitner B, Diez-Ruiz A, Veronesi A, Chieco-Bianchi L, Fuchs D. Neopterin production in SCID mice injected with human peripheral blood mononuclear cells. *Immunobiology* 2001;203:642-9.
 191. Wirleitner B, SchroECKSnadel K, Winkler C, Schennach H, Fuchs D. Resveratrol suppresses interferon-gamma-induced biochemical pathways in human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Immunol Lett* 2005;100:159-63.
 192. Winkler C, Wirleitner B, SchroECKSnadel K, Schennach H, Mur E, Fuchs D. St. John's wort (*Hypericum perforatum*) counteracts cytokine-induced tryptophan catabolism in vitro. *Biol Chem* 2004;385:1197-202.
 193. Neurauter G, Wirleitner B, Laich A, Schennach H, Weiss G, Fuchs D. Atorvastatin suppresses interferon-gamma-induced neopterin formation and tryptophan degradation in human peripheral blood mononuclear cells and in monocytic cell lines. *Clin Exp Immunol* 2003;131:264-7.
 194. Peterbauer A, Eperon S, Jungi TW, Werner ER, Werner-Felmayer G. Interferon-gamma-primed monocytoid cell lines: optimizing their use for in vitro detection of bacterial pyrogens. *J Immunol Methods* 2000;233:67-76.
 195. SchroECKSnadel K, Wirleitner B, Winkler C, Fuchs D. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clin Chim Acta* 2006;364:82-90.
 196. Widner B, Laich A, Sperner-Unterweger B, Ledochowski M, Fuchs D. Neopterin production, tryptophan degradation and mental depression: what is the link? *Brain Behav Immun* 2002;16:590-5.
 197. SchroECKSnadel K, Fiegl M, Winkler C, Denz HA, Fuchs D. Diminished quality of life in patients with cancer correlates with tryptophan degradation. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007;133:477-85.
 198. Schubert C, Hong S, Natarajan L, Mills PJ, Dimsdale JE. The association between fatigue and inflammatory marker levels in cancer patients: a quantitative review. *Brain Behav Immun* 2007;21:413-27.
 199. Paddison J, Hill A, Fuchs D, Booth RJ. Peritoneal inflammation and fatigue experiences following colorectal surgery: a pilot study. *J Psychoneuroendocrinol* 2008;33:446-54.