

Zakład Embriologii. Instytut Biologii. Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
Kierownik: doc. dr hab. Michał Górski
Wojskowy Szpital Okręgowy w Lublinie

Michał GÓRSKI, Cecylia WĄSIK

Test redukcji błękitu nitrotetrazolowego granulocytów obojętnochłonnych w wirusowym zapaleniu wątroby

Тест редукции нитротетразоловой лазури, инертноабсорбционных гранулоцитов
при вирусном воспалении печени

Nitroblue Tetrazolium Reduction Test in Acute Viral Hepatitis

Rozpoznawanie całego szeregu schorzeń i uszkodzeń toksycznych wątroby pomimo wprowadzenia wielu metod badań czynnościowych oraz badania morfologicznego wątroby stwarza duże trudności. Podstawową rolę w diagnostyce ostrego wirusowego zapalenia wątroby mają badania enzymatyczne. Ocena histologiczna i histochemiczna tkanki wątroby wybitnie rozszerza możliwości diagnostyczne. Również cały szereg badań biochemicznych, immunologicznych, wirusologicznych oraz badań czynnościowych wątroby ułatwia postawienie prawidłowego rozpoznania (1, 6, 8, 15, 16, 17).

Wśród wyliczonych metod badawczych niektóre są wybitnie pracochłonne, wymagają specjalnej aparatury lub mogą być wykonywane jedynie w specjalistycznych pracowniach. Inne zaś badania nie stwarzają większych trudności. Do takich badań należy test redukcji błękitu nitrotetrazolowego przez granulocyty obojętnochłonne (test NBT).

Początkowo uważano, że wyniki testu NBT w schorzeniach wirusowych nie odbiegają od normy i że jest to jedna z metod różnicowania schorzeń bakteryjnych od wirusowych. Jednak okazało się, że granulocyty obojętnochłonne mogą być stymulowane nie tylko przez bakterie i ich toksyny, lecz również przez cały szereg substancji: niektóre leki (11), przez kompleksy immunoglobulin z antygenem (12), przez patologiczne metabolity powstałe w czasie resorpcji martwych tkanek w zawałach (7, 14), po urazach lub operacjach (10). Również w ciąży może wystąpić znaczne podwyższenie wartości testu NBT. Niektórzy autorzy tłumaczą to zjawisko działaniem antygenów płodu, który jest traktowany przez organizm matki jako tkanka przeszczepu allogenicznego (13).

W dostępnym piśmiennictwie napotkano tylko pojedyncze prace omawiające zachowanie się testu NBT w wirusowym zapaleniu wątroby (2, 3). W związku z tym postanowiono przebadać odczyn redukcji błękitu nitrotetrazolowego w tym schorzeniu.

MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto 305 chorych leczonych w latach 1975—1977 z powodu wirusowego zapalenia wątroby w Wojskowym Szpitalu Okręgowym w Lublinie oraz w Wojewódzkim Szpitalu w Rzeszowie (146 przypadków z tego szpitala opracował mgr Janusz Ostropolski).

Chorem pobierano krew zawsze pomiędzy godz. 7.00 a 8.00. Test NBT wykonywano według metody Parka z niewielkimi modyfikacjami własnymi. Równocześnie wykonywano oznaczenia aktywności aminotransferazy alaninowej i asparaginianowej jak również próby tymolowej, poziomu bilirubiny, morfologię z obrazem Schillinga oraz odczyn opadania krwinek czerwonych. W niektórych przypadkach przeprowadzono również badanie na obecność antygeny Australia.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I Dyskusja

Wartość testu NBT najwyższa w pierwszym tygodniu choroby zmniejsza się z biegiem czasu i w czwartym tygodniu osiąga wartości tylko nieco wyższe od prawidłowych. Zdecydowanie różnią się wartości testu NBT w trzech pierwszych tygodniach od wartości w późniejszych okresach choroby, nawet wtedy, gdy przebieg schorzenia był długotrwały i występowały powikłania (tab. 1 i 2).

Tab. 1. Wartość testu NBT w zależności od czasu trwania choroby
The value of the NBT-test depending on the duration of the disease

Czas trwania choroby	Liczba chorych	Średnia wartość testu NBT w %
1 tydzień	43	35,6
2 tygodnie	63	27,5
3 tygodnie	31	21,0
1 miesiąc	87	11,4
2 miesiące	57	10,8
Powyżej 2 miesięcy	24	12,7
Łącznie do 3 tygodni	137	28,6
Powyżej 3 tygodni	168	11,4
Łącznie	305	19,1

Zwiększenie ilości granulocytów NBT-dodatnich w ostrej fazie schorzeń wirusowych obserwowali również inni autorzy (4, 5). Przy czym nawrót wartości testu NBT do wartości prawidłowych po przebytej ostrej infekcji grypowej następował po 6—8 tygodniach (5).

Stwierdzono, że istnieje odwrotna korelacja pomiędzy wartością testu NBT a leukocytozą i neutrocytozą. Przy najwyższych wartościach testu NBT leukocytoza, a zwłaszcza neutrocytoza jest najniższa (tab. 3).

Brak jest korelacji pomiędzy wartościami testu NBT a wartościami opadania krwinek czerwonych. Nie znaleziono również zależności pomię-

Tab. 2. Grupy chorych według wartości testu NBT
Groups of patients according to the NBT-test values

Wartość testu NBT	Liczba przypadków		
	do 3 tygodni	powyżej 3 tygodni	łącznie
Do 15	32	131	163
16—30	49	37	86
31—45	28	—	28
Powyżej 45	28	—	28
Łącznie	137	168	305

dzy wartościami testu a aktywnością aminotransferaz alaninowej i asparaginianowej w surowicy krwi w grupie chorych do trzech tygodni. Jeżeli natomiast zestawimy wartości testu NBT wszystkich chorych w ciągu całego okresu choroby, to występuje znaczna różnica pomiędzy poziomem aminotransferaz u chorych, u których wartości testu NBT są niższe od 15%, a pozostałą grupą chorych o wartości testu powyżej 15%. Zależność ta wynika jednak z tego, że grupę o najniższych wartościach testu NBT stanowią głównie chorzy po przebytej ostrej fazie schorzenia oraz rekonwalescenci, u których poziom aminotransferaz powrócił lub powraca do normy.

Podobną zależność zauważono pomiędzy wartościami testu NBT a wartościami próby tymolowej oraz poziomem bilirubiny w surowicy krwi. Hellum i Solberg (3) uważają, że bilirubina nie może być czynnikiem stymulującym granulocyty, gdyż w przypadku żółtaczki poza wątrobowej nie obserwuje się podwyższenia wartości testu NBT. Autorzy ci przedstawili 14 przypadków wirusowego zapalenia wątroby, wśród których 12 chorych miało podwyższoną wartość testu NBT, a średnia ilość granulocytów NBT-dodatnich u tych chorych wynosiła 30%. W grupie chorych z marskością wątroby, przewlekłym zapaleniem wątroby jak również żółtaczką spowodowaną niedrożnością przewodów żółciowych wartości testu NBT były prawie zawsze normalne. Wyniki naszych badań, jeżeli rozpatrujemy oddzielnie grupę chorych w pierwszych 3 tygodniach i oddzielnie pozostałych chorych, również nie wykazują korelacji pomiędzy wartościami testu NBT a poziomem bilirubiny w surowicy krwi.

Nie zauważono różnic w wartościach testu NBT w grupie chorych, którzy leczeni byli kortykosterydami w porównaniu z grupą, która nie otrzymywała tych leków. Kortykosterydy powodują zmniejszenie liczby granulocytów NBT-dodatnich. Należy sądzić, że brak różnic pomiędzy tymi dwoma grupami może wynikać z tego, że kortykosterydy otrzymywali chorzy, u których przebieg schorzenia był ciężki oraz u których znajdowano wysokie wartości aminotransferaz, utrzymujące się przez dłuższy okres. Być może, wartości testu NBT u tych chorych, jeźeliby nie stosowano leczenia kortykosterydami, byłyby znacznie wyższe.

Tab. 3. Wartości niektórych wskaźników krwi w zależności od czasu trwania choroby oraz wartości testu NBT
 Values of some blood rates depending on the disease duration and the NBT-test values

Czas trwania choroby	Wartości testu NBT w %	Liczba chorych w grupie	Wartości średnie oraz błędy standardowe							odczyn opadania krwinek czerwonych
			leuko-cytoza	neutro-cytoza	ALAT	AspAT	bilirubina w surowicy krwi	próba tymolowa		
Do 3 tygodni	do 15	32	5,7 ± 1,20	3,1 ± 0,70	1130 ± 280	480 ± 135	4,7 ± 1,02	6,9 ± 2,44	11,0/20,0	
	16-30	49	5,7 ± 0,96	2,7 ± 0,47	1120 ± 203	550 ± 110	6,1 ± 1,46	10,5 ± 3,00	9,2/17,0	
	31-45	28	5,3 ± 1,18	2,3 ± 0,51	1030 ± 252	430 ± 120	5,5 ± 1,42	11,2 ± 4,05	12,5/26,9	
	powyżej 45	28	4,9 ± 1,02	2,2 ± 0,47	1190 ± 257	520 ± 120	5,0 ± 1,15	10,6 ± 3,33	13,6/26,2	
Łącznie	28,60	137	5,5 ± 1,07	2,6 ± 0,53	1120 ± 242	500 ± 120	5,4 ± 1,28	9,8 ± 3,15	11,2/21,6	
Powyżej 3 tygodni	do 15	131	6,6 ± 0,78	3,5 ± 0,43	195 ± 35	71 ± 14	1,8 ± 0,32	5,2 ± 1,00	10,1/17,9	
	16-30	37	6,0 ± 1,44	3,3 ± 0,73	388 ± 148	202 ± 84	1,8 ± 0,52	4,4 ± 1,61	10,5/17,4	
	11,45	168	6,5 ± 0,92	3,5 ± 0,49	238 ± 60	100 ± 29	1,8 ± 0,36	5,0 ± 1,13	10,2/17,8	
Cały okres choroby	do 15	163	6,4 ± 0,86	3,4 ± 0,48	378 ± 83	151 ± 38	2,4 ± 0,45	5,5 ± 1,28	10,3/18,3	
	16-30	86	5,8 ± 1,16	3,0 ± 0,58	805 ± 179	400 ± 99	4,2 ± 1,05	7,9 ± 2,40	9,8/17,2	
	31-45	28	5,3 ± 1,18	2,3 ± 0,51	1030 ± 252	430 ± 120	5,5 ± 1,42	11,2 ± 4,05	12,5/26,9	
	powyżej 45	28	4,9 ± 1,02	2,2 ± 0,47	1190 ± 242	520 ± 120	5,0 ± 1,15	10,6 ± 3,33	13,6/26,2	
Łącznie	19,1	305	6,1 ± 0,98	3,1 ± 0,50	630 ± 142	280 ± 70	3,4 ± 0,77	7,15 ± 2,03	10,6/19,5	

Porównując wyniki naszych badań z wynikami przedstawionymi przez Helluma i Solberga (3), należy stwierdzić, że średnie wartości testu NBT są podobne: 28,6% oraz 30,0%. Również powrót ilości granulocytów NBT-dodatnich do normy przedstawia się analogicznie. Średnia wartość testu NBT powyżej 3 tygodni choroby w naszym materiale wynosiła 11,4%. W materiale Helluma i Solberga (3) wartości testu powracały do normy w 5—22 dni po ustąpieniu żółtaczk. Jednak tak w naszym materiale, jak i w materiale Helluma i Solberga obserwowano bardzo duże różnice wartości skrajnych: 3—68% oraz 9—51%. Ten duży rozrzut wyników znacznie obniża wartość testu NBT i dlatego niektórzy autorzy uważają, że test NBT nie spełnia warunków, by stać się badaniem rutynowym (9).

Nie znaleziono różnic w wartościach testu NBT pomiędzy grupą chorych, u których wykryto antygen Australia, a pozostałymi chorymi. Ponieważ badanie to nie było jednak wykonane we wszystkich przypadkach, trudno jest ustalić korelację pomiędzy wynikami testu NBT tych dwóch grup chorych.

Zwiększenie liczby granulocytów NBT-dodatnich w wirusowym zapaleniu wątroby nie jest łatwe do jednoznacznego wytłumaczenia. Mechanizm stymulacji granulocytów obojętnochłonnych może polegać tu na działaniu produktów rozpadu uszkodzonych i martwych komórek wątroby, podobnie jak w zawałach mięśnia sercowego oraz po urazach i zabiegach operacyjnych. Również kompleks antygen—przeciwciało może stymulować granulocyty w wirusowym zapaleniu wątroby. Zagadnienie to wymaga dalszych badań i obserwacji.

Wnioski

1. W pierwszych 3 tygodniach wirusowego zapalenia wątroby wartość testu NBT jest wyraźnie podwyższona (średnia wartość testu wynosi 28,6%).

2. Liczba granulocytów NBT-dodatnich maleje w miarę upływu czasu trwania choroby i zbliża się do wartości prawidłowych w większości przypadków po 3 tygodniach od zachorowania.

3. Brak jest korelacji w ostrej fazie schorzenia pomiędzy wartością testu NBT a wartością odczynu opadania krwinek czerwonych i próby tymolowej, poziomem bilirubiny oraz aktywnością aminotransferazy alaninowej i asparaginianowej w surowicy krwi. Natomiast przy wyższych wartościach testu NBT obserwuje się najniższe wartości leukocytozy i neutrocytozy.

PIŚMIENNICTWO

1. Boroń P.: *Problemy Współ. Med. Wewn.* 2, 48—52, 1975.
2. Hellum K. B.: *Scand. J. Infect. Dis.* 9, 269—276, 1977.
3. Hellum K. B., Solberg C. O.: *Lancet* 1, 1181, 1973.
4. Humbert J. R., Marsks M. J., Hathaway W. S., Thoren Ch. H.: *Pediatrics* 48, 259—267, 1971.
5. Jarstrand C.: *Scand. J. Infect. Dis.* 9, 5—7, 1977.
6. Krawczyński K.: *Prz. Epid.* 31, 141—159, 1977.
7. Lauter C. B., El Khatib M. R., Rising J. A., Robin E.: *An. Intern. Med.* 79, 59—62, 1973.
8. Madaliński K.: *Prz. Epid.* 30, 469—478, 1976.
9. Mims J. W.: *N. Engl. J. Med.* 278, 49, 1972.
10. Ninane G., Schmitz A.: *Lancet* 2, 174, 1974.
11. Norden C. W., Reese R.: *N. Engl. J. Med.* 287, 254, 1972.
12. Pachman L. M., Jayanetra P., Rothberg R.: *Pediatrics* 52, 823—830, 1973.
13. Ramsdale E. H., Mowbray J. F.: *Lancet* 1, 1246—1247, 1973.
14. Shafar J., Behr G., Rusius J.: *J. Clin. Path.* 27, 399—401, 1974.
15. Sowa J.: *Pol. Tyg. Lek.* 32, 71—72, 1977.
16. Tołwińska I.: *Pol. Tyg. Lek.* 32, 1425—1428, 1977.
17. Węgiec A.: *Pol. Tyg. Lek.* 32, 1943—1945, 1977.

Otrzymano 25 VII 1978.

РЕЗЮМЕ

У 305 больных вирусным воспалением печени определено значение теста редукции нитротетразоловой лазури. На протяжении первых трех недель болезни, у больных замечено значительное увеличение количества инертноабсорбционных NBT-положительных гранулоцитов. Не обнаружено соотношения между значением теста NBT и значениями реакции оседания эритроцитов, уровнем билирубина, а также активностью аланиновой и аспарагиновой аминотрансферазы в сыворотке крови в период первых трех недель болезни. Зато в позднейший период болезни при низших значениях теста NBT, обнаружено низшее значение энзимов повреждения. Обнаружено также обратное соотношение между лейкоцитозом, нейтроцитозом и значениями теста NBT.

SUMMARY

The values of NBT-test in 305 cases of viral hepatitis have been analysed. The highest values of this test occurred in the first 3 weeks. No correlation between the number of NBT-positive granulocytes and the reaction of red blood cells sedimentation, the values of serum bilirubin, together with the alanine transaminase and asparagine transaminase activity, in the early phase of viral hepatitis has been found. However, in the later phases of the disease at lower values of NBT-test, lower values of these transaminase have been found. A reverse correlation between the number of NBT-positive granulocytes and leukocytosis together with neutrocytosis has been found.