

PRACE POGLĄDOWE

Mjr dr med. RYSZARD GAJDOSZ

ZASTOSOWANIE TESTU REDUKCJI BŁEKITU NITROTETRAZOLINOWEGO W MEDYCYNIE KLINICZNEJ

(z Oddziału Anestezjologii i Intensywnej Terapii Szpitala Wojskowego w WOW;
Ordynator: mjr dr med. R. Gajdosz)

Zaburzenia odpornościowe odgrywają znaczącą rolę w powstawaniu, przebiegu i leczeniu większości chorób, dlatego rozpoznawanie tych zaburzeń staje się ważnym problemem. Jedną z możliwości wycinkowej oceny układu odpornościowego jest badanie pobudzenia energetycznego granulocytów za pomocą testu redukcji błękitu nitrotetrazolinowego (NBT). Krążące granulocyty mają istotne znaczenie w zjawiskach odpornościowych. Zdolność granulocytów do fagocytozy i wewnątrzkomórkowego trawienia pochłoniętego materiału odgrywa poważną rolę w mechanizmach antybakteryjnych (22, 33), przeciwwirusowych (3—5, 38) i innych (29). W czasie fagocytozy ulega pobudzeniu metabolizm energetyczny granulocytów, objawiający się m.in. wzrostem NADH-zależnej oksydazy (14). Miarą aktywności tego enzymu jest pomiar redukcji błękitu nitrotetrazolinowego do niebiesko zabarwionego formazanu w teście NET. Błękit nitrotetrazolinowy w niewielkim stopniu przenika przez błonę komórkową, ale łatwo dostaje się do wnętrza komórki w czasie fagocytozy i jest redukowany w fagolizosomach (21). Z tego powodu granulocyty niepobudzone jedynie w 1—18% redukują ten związek, ale w czasie fagocytozy odsetek ten zwiększa się do 40—100% (32).

Metodyka testu NBT została opracowana przez wielu autorów, jednak szeroką popularność uzyskała metoda Parka (23, 24). W Polsce często stosowana jest właśnie ta metoda w modyfikacji Szczylika i wsp. (32).

Zastosowanie testu NBT w klinice jest obecnie przedmiotem wielu doniesień (3, 7, 30, 31, 35, 38). Początkowo służył on do różnicowania zakażeń bakteryjnych i wirusowych (12) co i obecnie posiada niemałe znaczenie. Posługiwano się nim w rozpoznawaniu wrodzonych i nabytych zespołów upośledzenia czynności fagocytarnych granulocytów. Test NET służyć może w diagnostyce niektórych postaci białaczek a także w rozpoznawaniu aktywności rozrostu nowotworowego. Zaburzenia układu granulocytów, określane testem NBT występują w czasie stresu, np. hałasu (29), analgezji zewnątrzoponowej (9) i in. W czasie trwania blokady współczulnej, wywołanej analgezą zewnątrzoponową (AZ), występuje zwiększenie odsetka granulocytów redukujących NBT, czyli NBT (+)

Wzrost odsetka granulocytów NBT(+) w czasie AZ obserwowano u chorych bez obciążeń chorobami infekcyjnymi czy niedoborami odpornościowymi (9), które rzutują na jego wyniki. Wzrost redukcji NBT w AZ, towarzyszy patologicznym przesunięciom w poszczególnych pulach granulocytarnych (pula krążąca, pula przyścienna), ale wzrost odsetka granulocytów NBT(+) jest objawem korzystnym i świadczy o mobilizacji układu granulocytarnego w odpowiedzi na blokadę współczulną. Nawet średniorozległe wyłączenie współczulne gwałtownie zaburza homeostazę ustroju, powoduje rozszerzenie naczyń krwionośnych ucieplenie skóry regionu wyłączanego a tym samym może naśladować stan zapalny. Poprzez porażenny wpływ na perystaltykę jelit, dochodzić może do przenikania drobnoustrojów jelitowych do jamy otrzewnowej i wzrostu odsetek granulocytów NBT(+). Z powyższego wynika, że AZ nie wpływa hamująco na czynności fagocytarne granulocytów. Zachowanie się testu NBT w AZ, wskazuje na potrzebę brania pod uwagę skutków w układzie odpornościowym podczas planowania zabiegów operacyjnych z zastosowaniem AZ (9). Wielu autorów badało intensywność fagocytozy w przebiegu dużych operacji, stwierdzając jej osłabienie. Uważa się, że mechanizm tego rodzaju odpowiedzi odpornościowej jest odpowiedzialny za wystąpienie powikłań infekcyjnych po tych operacjach na równi z osłabiającym odporność urazem operacyjnym. Czynność fagocytarne makrofagów osłabiona była po operacjach w anestezji z użyciem halotanu, podtlenku azotu lub chloroformu, nie obserwowano takiego wpływu podczas stosowania środków z grupy NLA II (16). Spadek aktywności fagocytarnej granulocytów w czasie anestezji ogólnej dotchawiczej autorzy wiążą z działaniem anestetyków wziewnych, możliwością wystąpienia niedotlenienia, zaleganiem CO₂, spadkiem poziomu opsonin oraz uwalnianiem czynników hamujących procesy fagocytozy (MIF). Może to być skutkiem anestezji, jak i urazu operacyjnego, bowiem zahamowanie czynności makrofagów jest proporcjonalne do czasu trwania operacji (34). Większość anestetyków i analgetyków miejscowych hamuje *in vitro* ruch krwinek białych (1). Wpływy te dotyczyły zarówno limfocytów, biorących udział w odporności swoistej, jak też granulocytów odpowiedzialnych za odporność naturalną. Różnice zależne były od rodzaju użytego środka i komórek na które działał. Hamowanie migracji granulocytów było odwracalne oraz proporcjonalne do czasu działania anestetyku na te komórki (27). Test NBT w tych przypadkach służyć może do monitorowania odporności układu granulocytów a także stwarza możliwości zastosowania leczenia w odpowiednim czasie.

Pobudzenie aktywności fagocytarnej granulocytów występuje u ludzi narażonych na hałas i drgania mechaniczne (29). Wibracja i hałas powodują wzmożoną aktywność enzymatyczną granulocytów. Przyczyny wzmożenia tej aktywności upatruje się w pobudzającym działaniu metabolitów uwalnianych z uszkodzonych tkanek pod wpływem powtarzających się mikrourazów spowodowanych wibracją i hałasem. Jest to wpływ zbliżony do pobudzenia granulocytów substancjami metabolicznymi i toksynami bakteryjnymi, uwalnianymi w czasie zakażeń (16, 26, 36). Przyczyną wzrostu odsetka granulocytów NBT(+) z powodu wibracji i hałasu może być zwiększenie poziomu immunoglobulin, zwłaszcza IgA i IgG. Pobudzenie aktywności fagocytarnej objawiającej się wzro-

tem wskaźnika NBT, obserwuje się w chorobach tarczycy. Pobudzający wpływ na wielkość NBT mają hormony tarczycy T_3 i T_4 , a także inne hormony, jak noradrenalina (28) i 17-OHKS (25). W tych stanach test NBT może być przydatny jako miernik mechanizmu adaptacyjnego organizmu narażonego na hormonalne wpływy chorobowe, a także jako kontrola dynamiki narastania choroby.

Przydatność testu NBT może mieć istotne znaczenie w pomocniczej diagnostyce zakażenia gruźliczego. Odporność ustroju zakażonego prątkami gruźlicy jest odpornością typu komórkowego. Rozwój choroby rozpoczyna się od granulocytarnego nacieku w miejscu wtargnięcia prątków. Granulocyty, które pochłonęły prątki, szybko ulegają rozpadowi a następnie łącznie z prątkami są fagocytowane przez makrofagi (18), które determinują dalszy rozwój zakażenia gruźliczego. Procesy fagocytarne mają zatem poważny wpływ na rozpoznawanie i inaktywację antygenów prątkowego. Niektórzy autorzy (10, 35) sądzą, że zakażenie gruźlicze nie podnosi aktywności fagocytarnej granulocytów a nawet ją obniża. Przeważa jednak pogląd, że zakażenie gruźlicze dość wyraźnie aktywuje funkcje obronne granulocytów, co przejawia się wysokim odsetkiem granulocytów NBT(+) (20). Tak więc, procesy redukcji NBT są statystycznie znamienne zwiększone u chorych z czynną gruźlicą płuc w stosunku do osób zdrowych.

Zwiększony odsetek granulocytów NBT(+) u ludzi z zakażeniem gruźliczym występuje samoistnie i może być — z odpowiednimi obwarowaniami — nieswoistym testem przesiewowym.

W cukrzycy test NBT wyraża się znacznym obniżeniem odsetka granulocytów NBT(+). Związane jest to z ogólnym osłabieniem systemu odporności komórkowej w tej chorobie, a szczególnie pierwszej linii obrony, za którą w znacznej mierze odpowiada układ granulocytów. W cukrzycy test NBT służyć może do monitorowania stanu odporności oraz do określenia trendu w gospodarce granulocytarnej. Ocena dynamiki spadku aktywności fagocytarnej granulocytów w cukrzycy stwarza możliwość wczesnej ingerencji leczniczej jak, np. immunostymulacja czy immunorestytucja.

Dość szerokie zastosowanie ma test NBT w chorobach nowotworowych. Wskazuje się na zbieżność pomiędzy wysokością odsetka granulocytów NBT(+) a nasileniem się rozrostu nowotworowego (37). Obserwowano zjawisko równoległego zmniejszania się odsetek granulocytów redukujących NBT w miarę klinicznego zaawansowania guza. Taka zależność występowała w raku krtani (33) i guzach łitych (11). Jednak zachowanie się testu NBT w chorobach nowotworowych nie jest jednoznaczne. Haim i wsp. (11) stwierdzili, że test NBT zachowuje się różnie w zależności od typu nowotworu, w raku oskrzela notowali niskie wartości a u chorych z chłoniakami — wysokie. Podobne wyniki uzyskali inni (2, 19). Odmienne wyniki testu NBT obserwowano u chorych z rakiem przewodu pokarmowego (żołądek, jelito grube), poddanych leczeniu chirurgicznemu (15). Przed zabiegiem operacyjnym stwierdzono obniżoną zdolność granulocytów do redukcji NBT, a po usunięciu guza następował powolny powrót badanych wskaźników do wartości prawidłowych. Przypuszcza się, że guzy te mogą być źródłem substancji interferujących z redukcją NBT i odpowiedzialnych za obniżenie ich zdolności do fa-

gocytozy. Henon i wsp. (13) donoszą o istnieniu w surowicy krwi chorych na nowotwory czynników powodujących defekt czynności fagocytarnej granulocytów. Wpływ na wyniki testu NBT może mieć odczyn zapalny tkanki nowotworowej, krążące antygeny nowotworowe a także zakażenia często towarzyszące tym chorym. Stąd dość znaczna rozbieżność w ocenie testu NBT w chorobie nowotworowej, wynika z rodzaju guza i stopnia jego zaawansowania. Liczyć się również należy z prawdopodobieństwem wystąpienia wyników fałszywie dodatnich i fałszywie ujemnych (8). Są one wynikiem wpływu masywnej martwicy tkankowej, towarzyszącej wielu nowotworom i związanym z nią uwalnianiem toksycznych produktów do krwiobiegu (17). Pewną rolę może odgrywać wiek chorych — wartości testu NBT obniżają się wraz z wiekiem i są wyraźnie niższe u osób powyżej 60 roku życia (11). Ponadto zaznaczyć należy, że czynnikiem modulującym działalność granulocytów w chorobie nowotworowej jest leczenie cytostatykami, chociaż istnieją doniesienia sugerujące niewielki wpływ tej terapii na gospodarkę granulocytarną i wartości testu NBT (37). Znaczny wpływ, obniżający wartości testu NBT ma radioterapia.

Uwzględniając wszystkie czynniki ograniczające wartość tego badania w chorobie nowotworowej, stwierdza się przydatność testu NBT do określania stanu czynnościowego układu granulocytów a także do kontroli dynamiki procesu nowotworowego. Szczególnie przydatny jest test NBT w określaniu trendu rozrostu nowotworowego. W tym celu nie należy wyciągać wniosków z pojedynczych badań lecz analizować badania seryjne.

PISMIENICTWO

1. Bogs D. R.: Sem. Haemat., 1967, 4, 359. — 2. Chang J. C. i wsp.: Arch. Intern. Med., 1974, 133, 401. — 3. Chee D. O. i wsp.: Cancer Res., 1978, 38, 4534. — 4. Clark R. A., Klebanoff S. J.: J. Immunol., 1979, 122, 2605. — 5. Clark R. A., Szot S.: J. Immunol., 1981, 126, 1289. — 6. Doenicke A., Kropp W.: Br. J. Anesth., 1976, 48, 1191. — 7. Falcao R. P. i wsp.: Acta Haemat., 1982, 68, 89. — 8. Freeman R. i wsp.: J. Clin. Path., 1973, 27, 57. — 9. Gajdosz R.: Wpływ analgezji zewnątrzoponowej na układ granulocytów krwi obwodowej. Praca doktorska. CSK WAM, Warszawa 1986. — 10. Garbiński T., Duńska Z.: Gruźlica, 1961, 5, 409.

11. Haim N. i wsp.: J. Clin. Path., 1977, 68, 570. — 12. Hellum K. B.: Scand. J. Infect. Dis., 1977, 9, 269. — 13. Henon P. i wsp.: Biomedicine, 1977, 27, 261. — 14. Karnovsky M. L.: Physiol. Rev., 1962, 42, 115. — 15. Korenkiewicz A. i wsp.: Neoplasma, 1983, 30, 619. — 16. Kotlarek-Haus S. i wsp.: Pol. Tyg. Lek., 1979, 34, 55. — 17. Luce J. K. i wsp.: Amer. J. Med., 1975, 58, 685. — 18. Lipińska R.: Pneum. Pol., 1982, 9, 479. — 19. Liso V. i wsp.: Blut, 1979, 18, 313. — 20. Łukian Z.: Pneum. Pol., 1920, 7, 461.

21. Nathan D. G. i wsp.: J. Clin. Invest., 1969, 43, 1695. — 22. Palmblad J., Engstedt L.: Acta Path. Microbiol. Scand., 1979, 87, 357. — 23. Park B. H. i wsp.: Lancet, 1968, 2, 532. — 24. Park B. H.: Lancet, 1970, 2, 616. — 25. Pigoń-Węgiel K. i wsp.: Pol. Arch. Med. Wewn., 1982, 92, 329. — 26. Ridgway G. L., Johnson W.: Lancet, 1973, 1, 1180. — 27. Salo M.: Effects of anaesthesia and surgery on the immune response. Trauma, stress and immunity in anaesthesia and surgery. London 1982. — 28. Sroczyński J. i wsp.: Pol. Tyg. Lek., 1981, 36, 1337. — 29. Sroczyński J. i wsp.: Pol. Tyg. Lek., 1985, 37, 1929. — 30. Sulek K. i wsp.: Wiad. Lek., 1979, 39, 881.