

Disciplina de histologie a I.M.F. (cond.: prof. dr. M. Gündisch, doctor-docent) și Clinica medicală nr. I (cond.: prof. dr. P. Dóczy, doctor-docent, medic emerit, membru al Academiei de științe medicale) din Tirgu Mureș

## CERCETĂRI PRIVIND MODIFICĂRILE DE COAGULABILITATE ALE SINGELUI ÎN CURSUL ȘOCULUI ENDOTOXIC EXPERIMENTAL (Studii histologice și biochimice)

dr. Silvia Andreicuț, dr. Eva Kótay, dr. Simona Stoica

Se cunoaște din literatură că endotoxinele germenilor gramnegativi, administrate în cantitate mare, produc șocul ireversibil, caracterizat prin moartea animalelor în curs de 24 de ore.

Cercetările efectuate în ultimul timp au stabilit că endotoxinele acționează cu precădere asupra sistemului vascular producând șocul letal (Donald, 1960, 1966, 1, 2). Declanșat prin modificări intravasculare, cu formarea trombilor de fibrină, plachete și leucocite, acest proces continuă cu lezarea celulelor endoteliale din sinusoidale hepatice, capilarele pulmonare și glomerulare (Donald, 1966, 2).

În urma administrării endotoxinelor, asupra sistemului vascular intervin mecanismele adrenergice (5), care, alături de serotonină (7), histamină (8) și heparină provoacă vasoconstricția hepatică, hipertensiunea portală și scăderea reintroarcerii venoase (9). Concomitent, activitatea proteolitică a serului crește (4, 8).

În lucrarea de față, ne-am propus să urmărim numai efectul șocului endotoxic declanșat asupra unor parametri biochimici ai mecanismului de coagulare.

### Material și metodă

S-a lucrat cu un lot experimental de 24 de șobolani, în greutate medie de 140—160 g. Lotul a fost divizat în două grupe: grupa nr. I — animale de control, grupa nr. II — animale tratate cu endotoxină în doză de 0,20 mg/100 g greutate, administrată intraperitoneal. Endotoxina Salmonella-typhimurium folosită, provine de la Institutul „Dr. Cantacuzino” București și a fost extrasă prin metoda Boivin-Mesrobeanu.

Recoltarea singelui s-a efectuat prin puncție cardiacă, după două ore de la administrarea endotoxinei, animalele fiind anesteziate cu eter. S-a folosit ca anti-coagulant oxalatul de sodiu în concentrație de 1,34 %. Examinările histologice s-au făcut pe fragmente de mezenten, prelevate după laparatomie. Preparatele histologice au fost fixate prin vapori de paraformaldehidă (metoda Falck) (3) și montate pe lame nefluorescente. Examinarea s-a făcut cu condensator cardioid, folosind sursa de lumină HBO 200, cu filtru de excitație BG 12 și filtru de protecție GGI și OGI. Timpul de expunere pentru fotografiere a fost de 15 minute. Degranularea mastocitelor s-a urmărit și pe preparate colorate cu albastru de toluidină în concentrație de 0,1 %.

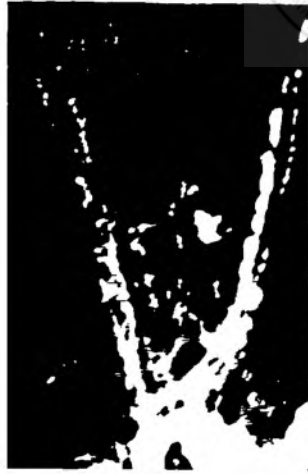


Fig. nr. 1: Mezenter. Plex nervos adrenergic, mastocite  
intens fluorescente



Fig. nr. 3: Mezenter. Mastocite grupate în jurul vaselor  
sanguine cu fluorescență diminuată, pină la dispariție



Fig nr. 2: Mezenter. Mastocite de aspect normal, colorație  
cu albastru de toluidină



Fig. nr. 4: Mezenter. Mastocite în curs de degranulare,  
diseminate în jurul unui vas sanguin. Col. albastru de  
toluidină

Din singele recoltat s-au efectuat următoarele determinări: timpul de recalci-  
fiere al plasmiei oxalate (Howell), timpul de protrombină Quick, dozarea fibrino-  
genului, timpul de liză al cheagului de euglobuline, toleranța la heparină și tole-  
ranța la protamină.

### Rezultate

Preparatele de mezenter recoltate de la animalele martore, examinate  
la lumină fluorescentă, au evidențiat prezența filetelor nervoase adrenergice  
intens strălucitoare și a mastocitelor grupate sau diseminate în jurul vaselor,  
avind o fluorescență verde strălucitoare (fig. nr. 1). Cu albastru de toluidină,  
mastocitele au apărut colorate în violet (fig. nr. 2). Piese recoltate de la  
animalele tratate au relevat vasele sanguine în culoare verde mat, filetele  
nervoase slab vizibile, mastocitele devenind întunecate (fig. nr. 3, 4). Cu albas-  
tru de toluidină s-a observat degranularea evidentă a mastocitelor.

În urma dozărilor biochimice am constatat la animalele tratate o scădere  
a fibrinogenului, prelungire a timpului de recalciere al plasmiei oxalate,  
o scădere semnificativă a testului toleranței la heparină, prelungirea timpului  
Quick și o scădere semnificativă a timpului de liză al cheagului de euglobu-  
line. Valorile și semnificația lor statistică rezultă din următorul tabel:

Tabelul nr. 1

Determinări efectuate		Nr. anim. examine		Valorile medii		Semnificația
		Lot I	Lot II	Lot I	Lot II	
1	Fibrinogen	12	12	181,4	126,1	$P > 0,3$
2	Timpul de recalci- fiere al plasmiei oxalate	12	12	30	52,1	$P < 0,001$
3	Toleranța la heparină	12	12	54,3	104,3	$P < 0,001$
4	Toleranța la protamină	12	12	43,7	37,1	$P > 0,20$
5	Timpul Quick	12	12	21,5	47	$P > 0,20$
6	Timpul de liză al cheagului de euglobuline	12	12	151	90,7	$P < 0,001$

Legenda: Lot nr. 1 control; lot. nr. II = tratat.

### Discuții

Descărcarea filetelor nervoase adrenergice și a mastocitelor de heparină și  
serotonină a dovedit efectul nespecific al stimulului endotoxic asupra excitației sis-  
temului nervos simpatic (6).

În general, valorile medii ale testelor de coagulare urmărite arată o scădere  
a coagulabilității. Dintre acestea, cele mai semnificative au fost: prelungirea timpu-  
lui de recalciere al plasmiei oxalate, a toleranței la heparină și scăderea tim-  
pului de liză al cheagului de euglobuline. Sporirea fibrinolizei prin eliberarea acti-  
vatorilor plasminogenului s-a dovedit și prin scăderea fibrinogenului, deși valorile  
statistice nu sînt destul de semnificative.

## Concluzii

Faptul că șocul endotoxic a fost declanșat s-a reliefat prin descărcarea filetelor nervoase adrenergice, prin eliberarea serotoninei din mastocite (fenomene evidențiate prin metoda fluorescenței), precum și prin degranularea mastocitelor, fenomen vizibil la colorația cu albastru de toluidină.

Afectarea factorilor de coagulabilitate sanguină s-a dovedit prin scăderea semnificativă a coagulabilității (prelungirea timpului de recalcifiere al plasmei oxalate, al testului de toleranță la heparină și scăderea timpului de liză al cheagului de euglobuline).

Mai puțin semnificative au fost testele de toleranță la protamină, fibrinogenul și timpul Quick.

*Sosit la redacție: 28 aprilie 1971.*

## Bibliografie

1. DONALD G., Mc.KAY, MERRIAM J. C., MASS B.: Arch. Path. (1960), 69, 220;
2. DONALD G., Mc.KAY, WILLIAM M., CSÁVOSSY I.: Lab. Invest. (1966), 15, 12, 1815;
3. FALCK B.: Acta Physiol. Scand. (1962), 56, 197;
4. GRAEFF H., MITCHELL M. S., BELLER F. K.: Lab. Invest. (1968), 19, 2, 169;
5. KARP R. D., BRADLEY S. G.: Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. (1968), 128, 4, 1075;
6. KOVÁCS T.: Studia Medica Szeged, (1967), 21;
7. ROGER M., DES PREZ, FALLON N., HOOK E. W.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1961), 107, 3, 529;
8. WESLEY W., SPINK J., VICK A.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1961), 106, 2, 242;
9. WHITE F. N., GORDON R., BARAGAS R. L., JACOBSON E. D.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1966), 122, 4, 1025.