

Catedra de anatomie umană (cond.: prof. dr. T. Maros, doctor-docent, profesor emerit, membru corespondent al Academiei de științe medicale), Catedra de microbiologie (cond.: prof. dr. I. László, doctor în medicină), Catedra de biochimie (cond.: prof. A. Kovács, doctor în chimie), ale I.M.F. Tîrgu Mureș și Institutul de medicină internă „N. Gh. Lupu” al Academiei de științe medicale București (cond.: prof. I. Bruckner, doctor-docent, membru al Academiei de științe medicale)

CU PRIVIRE LA PRETINSUL ROL AL MICROBULUI CLOSTRIDIUM PERFRINGENS ÎN PRODUCEREA ENCEFALOPATIEI HEPATICE LA CÂINE *

Nota IV

dr. T. Maros, dr. I. László, dr. C. Dumitrescu, dr. I. Vofkori, dr. A. László

În lucrări anterioare, unul din noi (Maros și colab.) a demonstrat că implantarea unui fragment liber de ficat în cavitatea peritoneală a donatorului provoacă la majoritatea ciinilor tulburări nervoase grave și stări comatoase cu sfîrșit letal, în primele trei zile după operație (1, 2, 3, 4). Băzîndu-ne pe faptul că, la aceste animale creșterea notabilă a amoniemiei în sângele venos periferic a apărut ca un fenomen constant, am dedus că în producerea sindromului de encefalopatie citolitică un rol hotărîtor revine excesului de amoniac, rezultat de pe urma descompunerii rapide a autogrefelor de ficat în cavitatea peritoneală.

După unele date mai vechi (5, 6), liza implantelor de ficat în cavitatea peritoneală generează o toxemie fulminantă, cauzată de Clostridium perfringens (Cl. perfr.), specie de anaerobi frecvent întîlnită în ficatul ciinilor (7, 8, 9, 10, 11). Prin urmare, decesele s-ar datoră stării septicice ce se instalează ca o consecință a peritonitei generalizate, cauzată de Cl. perfr. și de alți germeni intestinali, ajunși în peritoneu datorită creșterii permeabilității peretelui intestinal (12, 13).

În sensul celor arătate, rolul toxemiei provocate de germele anaerob — ca factor generator al deceselor în encefalopatia hepatolitică — apare ca un aspect ce se cere neapărat lămurit. Iată scopul cercetărilor cuprinse în prezenta notă.

Material și metodă

Ca material de analiză au servit 10 ciini (4 masculi și 6 femele) ținuți în carantină timp de 2 săptămîni. Pentru a stabili o bază de comparație cu valorile obținute după implantarea fragmentului de ficat în cavitatea abdominală, înainte de operație la fiecare ciine am dozat de 2 ori amoniacul din sângele venos periferic cu metoda lui Seligson (14) și am efectuat două înregistrări electroencefalografice în stare de veghe, la intervale de 2 zile.

Intervențiile operatorii le-am executat în condiții de aseptie chirurgicală, în anestezie locală cu xilină 1%. Procedeele sunt descrise în lucrările noastre anterioare (1, 2, 3). De pe suprafața de secțiune, rezultată prin excizia unui bloc de

* Comunicat la a VIII-a Sesiune științifică a I.M.F. Tîrgu Mureș, 17—18 decembrie 1971

tesut hepatic din marginea anterioară a ficatului, am însămițat felii subțiri pe mediul Hibler și în bulion glucozat. După coaserea plăgii de ficat cu fire separate de catgut, blocul hepatic decupat (de mărimea pulpei policelui) a fost introdus în cavitatea peritoneală, urmînd refacerea pe straturi a peretelui abdominal.

La 24, 48 și 72 ore de la operație am repetat dozările de amoniac și înregistrările electroencefalografice. De la cîinii decedați spontan în intervalul de mai sus și de la cei sacrificați ulterior în stare de sănătate nealterată, am recoltat în condiții rigurose sterile probe din ficat, din fragmentul hepatic implantat, din lichidul peritoneal și din singele cardiac, însămițîndu-le pe aceleași medii de cultură. După cultivare în condiții anaerobe, materialul a fost trecut pe mediul Zeissler, iar pentru identificarea am aplicat mediul Robinson-Stoval. Lucrarea de față tratează numai aspectele care vizează direct esența problemei enunțate în titlu.

Rezultate

În prima zi după operație la toți cîinii am observat vărsături, fenomene de apatie și adinamie. În etapa critică (48—72 ore) au sucombat 4 cîini, simptomele clinice evoluînd pînă la pierderea completă a stării de cunoștință și a reflectivității la excitanți externi, cu alterarea ireversibilă a funcțiilor vegetative de bază. În rest, tulburările nervoase au persistat la un grad redus, starea generală a animalelor revenind treptat la normal din ziua a 3-a de la operație. Examenul electroencefalografic, asupra căruia vom insista mai pe larg într-o altă lucrare (15), confirmă răsunetul encefalic al intervenției de implantare.

Nici la autopsia cîinilor decedați, nici la cei sănătoși sacrificați le 7 zile după intervenție, nu am găsit semne de peritonită sau alte leziuni organice care ar putea explica cauza morții. În jurul implantelor de ficat, transformate într-o masă amorfă, s-au manifestat constant fenomene de iritație peritoneală (aderențe și puțin exudat sero-fibrinos).

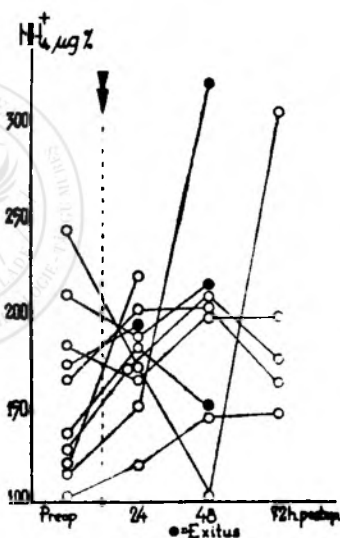
Dinamica valorilor amoniacului sanguin este reprezentată în figura alăturată.

Rezultatele examinărilor bacteriologice, în corelație cu gradul hiperamoniemiei postoperatorie, decesele spontane și supraviețuirea, sînt trecute în tabelul nr. 1.

Discuții

Așa cum am menționat în partea introductivă a lucrării de față, după unii autori fragmentele de ficat implantate în cavitatea peritoneală se comportă ca un material foarte iritant (16), provocînd o peritonită și o toxemie cu sfîrșit letal, cauzată de Cl. perfr. (5, 6).

Frecvența mare a clostridiilor în ficatul cîinilor sănătoși este un fapt stabilit mai de mult (17), majoritatea lor aparținînd speciei Cl. Welchii sau perfr.



(9, 11). Capacitatea acestora de a produce exotoxine pare să fie însă redusă, deoarece după injectarea s.c. sau i.m. a unor doze mari de filtrate obținute din culturile de clostridii, nu s-au observat reacții locale la cobai. În schimb, inocularea culturilor pure provoacă în raza teritoriului respectiv (subcutis și peritoneu) edeme hemoragice și decese în circa 50 % a cazurilor (11).

Mai nou se consideră că, Cl.perfr. joacă un rol important în decesele consecutive traumatismelor de ficat (8, 18), țesutul hepatic devitalizat fiind un mediu prielnic pentru înmulțirea acestor germeni. Alții susțin chiar, că peritonita biliară la câine ar fi expresia unei invazii a speciei perfringens, cauza morții fiind toxemia produsă de acești bacili (7, 10, 13). Ultima concepție este susținută de observația, potrivit căreia sărurile biliare măresc permeabilitatea membranei peritoneale (19), înlesnind migrația bacteriană din tractul digestiv în cavitatea peritoneului (12, 7).

Din tabelul nr. 1 rezultă că în cazurile noastre nu s-a putut identifica nici odată Cl.perfr. din probele hepatice recoltate înainte de implantare. Față de această situație se poate ridica obiecția că, în ficatul de câine clostridiile sînt inegal distribuite (11). Din datele publicate de *Schweineburg* și *Sylvester* (11) reiese însă că exceptînd lobul păstrat și porțiunea hilară a lobului drept — clostridiile apar cam în aceeași proporție în toate ariile ficatului. Avînd în vedere că noi am recoltat materialul de analiză de pe suprafața largă de secțiune a lobului hepatic stîng și drept (mijlociu), credem că această sursă de eroare poate fi exclusă.

Dintre cei patru cîini care au succumbat prin fenomene nervoase în perioada de 31—48 ore după implantare, la doi s-a identificat Cl.perfr. în ficat (la unul din ei și în implantul hepatic), dar niciodată în lichidul peritoneal și în sîngele din inimă.

Cîinele nr. 7 este unicul la care a apărut în sîngele cardiac o specie de anaerobi (*Veillonella parvula*), pe lângă prezența bacilului perfringens în ficat și în implantul hepatic. Din cele șase animale care au supraviețuit am exclus cîinii nr. 3 și 5 din cauza suspiciunii rabiei, fapt ce nu s-a confirmat ulterior. Restul i-am sacrificat în plină sănătate, la șapte zile după implantare. Cl.perfr. a crescut pe mediile înșămînțate cu materialul provenit din implantul hepatic al animalelor nr. 6, 8 și 9, iar la ultimul și pe mediile inoculate cu țesut hepatic. Nici la acest lot nu am putut demonstra prezența germenului perfringens în sîngele extras din inimă.

Rezultă așadar că, pe întreaga serie Cl.perfr. a fost identificat în ficat sau în implantul hepatic la 5 cîini (dintre care la 2 simultan în amîndouă probele), fără să producă o peritonită sero-hemoragică sau să pătrundă în circulația generală.

Dacă acest sălășluitor al ficatului canin ar fi atît de patogen cum se preține în general, decesele ar fi trebuit să apară la majoritatea animalelor și nu numai la 2 cîini, dintre care la nr. 4 am înregistrat și o hiperamoniemie care depășea cu 200 $\mu\text{g}/\%$ valorile obținute înainte de implantare. La restul cîinilor amoniemia postoperatorie prezenta creșteri diferite ($+- = < 50$; $+ = > 50$; $++ = > 100 \mu\text{g}/\%$). Aproape toți acești cîini au supraviețuit intervenția după o perioadă de apatie și somnolență trecătoare. Inclusiv cîinele nr. 3 la care hiperamoniemia, destul de accentuată ($+++ = > 150 \mu\text{g}/\%$), s-a instalat numai la 72 de ore după implantare. Potrivit constatărilor noastre anterioare, hiperamoniemia hepatolitică provoacă decese mai ales atunci cînd apare brusc, în primele 48 de ore (1, 2, 4).

Cu toate că pe acest lot rolul hiperamoniemiei în producerea stărilor comatoase letale, consecutive implantărilor de fragmente hepatice, nu reiese în mod cert, experiența noastră dobindită pe un mare număr de cîini demonstrează că produșii amoniacali, ce se degajă în urma descompunerii rapide a grefelor de ficat în cavitatea peritoneală, determină în proporție considerabilă efectele neurotoxice cu sfîrșit letal.

Concluzii

În cazurile noastre Cl. perfr. nu s-a putut evidenția în ficatul ciinilor. După excizia și reimplantarea fragmentului hepatic în cavitatea peritoneală, germenul a apărut în proporție de 50 % pe mediile însămînțate cu materialul provenit din implantul necrozat. Faptul că prezența bacilului perfringens nu s-a confirmat în singele din inimă, exclude posibilitatea difuzării sale în organism.

Lipsa fenomenelor de peritonită și supraviețuirea relativ mare a ciinilor la care ulterior s-a identificat Cl. perfr., atestă virulența scăzută a germenilor din implantul hepatic. Prin urmare, decesele spontane semnalate pe acest lot de ciini nu pot fi puse pe seama unei toxemii determinate de Cl. perfr., față de care organismul ciinilor probabil că are o rezistență de bază. Clarificarea acestui ultim aspect formează și în prezent obiectul preocupărilor noastre.

Sosit la redacție: 3 mai 1972.

Bibliografie

1. MAROS T., KELEMEN J., NAGY B., ABRAHÁM A.: *Naturwiss.* (1958), 45, 399;
2. MAROS T., KELEMEN J., NAGY B., ABRAHÁM A.: *Arkhiv. patol.* (1959), 10, 39;
3. MAROS T.: *Interrelațiile visceroviscerale și neuro-viscerale ale ficatului*. Ed. Acad. R.P.R., București, 1964, p. 163;
4. MAROS T., LÁSZLÓ A., VOFKORI J., DUMITRESCU C.: Unele precizări cu privire la caracteristicile hiperamoniemiei de origine citolitică, Com. la a VIII-a Ses. științ., I.M.F. Tg. Mureș, 17—18 dec. 1971;
5. WAGENSTEEN O. N., WALDRON G. W.: *A.M.A. Arch. Surg.* (1928), 17, 430;
6. ANDREWS E., HRDINA L.: *Surg. Gynec. Obst.* (1931), 52, 61;
7. ELLIS J. C., DRAGSTEDT L. R.: *Arch. Surg.* (1930), 20, 8;
8. REWBRIDGE A. G.: *Surg. Gynec. Obst.* (1931), 52, 205;
9. DRAGSTEDT L. R., HAYMOND H. E., ELLIS J. C.: *Arch. Surg.* (1934), 28, 232;
10. ANDREWS E., HARKINS H., HARMAN P. H., HUDSON J.: *Ann. Surg.* (1937), 105, 392;
11. SCHWEINBURG F. B., SYLVESTER E. M.: *Proc. Exper. Biol. Med.* (1953), 82, 527;
12. SCHWEINBURG F. B., HEIMBERG F.: *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* (1949), 71, 146;
13. COHN J., COTLAR A. M., ATIK A., LUMPKIN W. M., HUDSON T. L., WERNETTE G. J.: *Ann. Surg.* (1960), 152, 827;
14. SELIGSON D.: *J. Lab. Clin. Med.* (1951), 38, 324;
15. MAROS T., POPOVICIU L., DUMITRESCU C., VOFKORI J., LÁSZLÓ A., KIKELI P.: *Investigații EEG în hiperamoniemia de origine citolitică*. Com. la a VIII-a Ses. științ., I.M.F. Tg. Mureș, 17—18 dec. 1971;
16. SPECTOR W. G.: *J. Pathol. Bact.* (1951), 63, 93;
17. WOLBACH S. B., SAIKI J.: *Med. Res.* (1909), 21, 267;
18. LANE T. C., JOHNSON C. H., HOWARD S. I., WALKER jr.: *Surg. Gynec. Obst.* (1967), 62, 1039;
19. TROHÉN L.: *Acta Chir. Scand.* (1937), 113, 949.