

La Clinica

DIRETTORI:

PROF. ANTONIO GASBARRINI
DIRETTORE
DELLA R. CLINICA MEDICA
BOLOGNA

PROF. RAFFAELE PAOLUCCI
DIRETTORE
DELLA R. CLINICA CHIRURGICA
ROMA

REDATTORE CAPO
MARIO TRINCAS

REDATTORI PER LA MEDICINA
BASSI E G. SOTGIU

REDATTORI PER LA CHIRURGIA
A. QUIRI E E. RUGGIERI

SEGRETARIO DI REDAZIONE
E. BERNABEO

ANNO SESTO
1940



Azione dell'intervento chirurgico sui
fermenti perossidasici dei leucociti.

Dott. NUNZIO DI PAOLA

L. CAPPELLI — EDITORE — BOLOGNA

Azione dell'intervento chirurgico sui fermenti perossidasi dei leucociti.

DOTT. NUNZIO DI PAOLA



È noto che l'intervento chirurgico induce moltissime modificazioni d'ordine vario negli elementi costitutivi del sangue. Tralasciando le variazioni d'ordine chimico e fisico-chimico indotte nel plasma e nei liquidi dell'organismo (variazione nell'equilibrio proteico, nell'equilibrio colloidale, nell'equilibrio salino) accennerò soltanto alle variazioni a carico degli elementi formati del sangue, soprattutto a carico dei globuli bianchi, per cui si hanno, con variazioni del loro numero, anche variazioni della formula leucocitaria, dello schema di ARNETH, ecc.

LERICHE ha definito col nome di « malattia post-operatoria » l'insieme dei fenomeni che l'atto chirurgico provoca nell'organismo.

Prove sperimentali eseguite da vari Autori hanno dimostrato nell'organismo importanti modificazioni d'ordine immunitario; i più hanno potuto constatare, dopo una fase negativa, una fase positiva di aumento dei poteri di difesa, opsonico, leucocitario, battericida (MILONE e ZANNETTI, SCARTOZZI). Per questa fase positiva si viene ad avere nell'operato, dopo un intervento chirurgico, un'esaltazione dei poteri di difesa locali e generali, dovuta a complessi processi isto-umoral: anzi per questi movimenti l'organismo verrebbe ad essere messo in grado di sopportare meglio traumi operatori successivi (FISCHER).

Tra le altre variazioni non bisogna dimenticare quelle a carico di vari ormoni e

fermenti dell'organismo. L'intervento chirurgico provoca, ad esempio, una immisione in circolo, in maggiore quantità che di norma, di fermenti epato-pancreatici, anche se il fegato e il pancreas non siano stati direttamente interessati dall'atto operatorio stesso (SCARTOZZI).

Nelle presenti ricerche ho voluto indagare le variazioni della resistenza organica causata dall'atto operatorio attraverso lo studio dei fermenti perossidasi dei globuli bianchi.

Le perossidasi sono fermenti ossidanti indiretti che liberano l'ossigeno dall'acqua ossigenata e possono essere messi in evidenza con una reazione isto-chimica basata sull'ossidazione della benzidina. Dalle ricerche dei vari Autori (e com'è noto molto se ne sono occupati gli Autori giapponesi) si ritrae il convincimento che variazioni dei fermenti perossidasi accompagnino, con un certo parallelismo, variazioni dello stato di difesa dell'organismo. Infatti le perossidasi sarebbero nettamente diminuite in varie malattie infettive (tifo, polmonite, ecc.) e nelle intossicazioni da benzolo e da solfuro di carbonio, nelle infezioni sperimentali da streptococco, ecc. (FIESSINGER e ROUDOWSKA, GRAHAM, FIESSINGER e MATHIEU, VELICOGNA e VIZIANO).

Le perossidasi sono state studiate anche nei corpuscoli del pus (KONNO, LOWY), nei corpuscoli del latte (GHIBA e ABE, LUCICA), ecc.

Anche la fatica, che notoriamente pro-

voca una diminuzione del potere battericida del sangue (CENI, VERDINA), del potere fagocitario (GUERRINI, DI MACCO, AZZI), del potere radiante del sangue (PUGNANI), della produzione di anticorpi (DE SANDRO, SCALFATTI) e infine una diminuzione dell'attività biologica della sostanza vivente provoca anche la caduta del potere perossidasi dei leucociti (PUGNANI, SCARTOZZI).

Interessanti sono le ricerche di CHIBA e ABE e di SUZUCHI nelle ipovitaminosi soprattutto da vitamina B₁.

SUZUCHI modificando la tecnica di SATO e SEKIYA propone di misurare il tempo minimo che è necessario lasciar agire la soluzione ossigenata di benzidina per provocare la comparsa dei grani perossidasi: allestisce perciò una serie di strisci e cronometra il tempo d'azione della benzidina nei vari preparati, tenendo poi conto del vetrino positivo in cui la benzidina ha agito per un tempo minimo. Questo tempo minimo sarebbe, secondo SUZUCHI, in individui normali, di 2-3 minuti secondi; in individui in avitaminosi tale tempo minimo aumenterebbe fino a 8 minuti secondi.

Viceversa stimoli vari possono produrre un esaltamento della reazione perossidasi delle cellule della serie bianca del sangue in particolar modo per l'immissione in circolo di cellule più giovani ad attività perossidasi più forte. Così la vaccino-terapia e l'etero-proteino-terapia provocherebbero tale aumento nella fase positiva (RICOZZI, RIGAGNO-IRRERA e NICLOTTI).

I raggi ultravioletti artificiali, con un aumento dei poteri di difesa dell'organismo, provocherebbero anche un'esaltazione delle perossidasi (PUGNANI): analogo effetto avrebbero le radiazioni solari in riva al mare (GRIVA e RESTELLINI) e in montagna (PUGNANI) e l'acclimatazione anche di non lunga durata in montagna (SCARTOZZI).

Sulla base di queste premesse ho preci-

samente creduto non inutile studiare le perossidasi in rapporto all'intervento chirurgico.

Tecnica. - Mi sono servito della tecnica semplicissima di SATO e SEKIYA.

Reagenti occorrenti:

1°) Soluzione al 5 per mille di solfato di rame.

2°) Soluzione di benzidina preparata nel modo seguente: si sciolgono 10 ctgr. di benzidina purissima in 100 cc. di acqua distillata bollente: si filtra la soluzione su carta da filtro, si lascia raffreddare, indi si filtra nuovamente due, tre volte o più, buona parte della benzidina resta sul filtro; se si usa dopo qualche ora è bene filtrare nuovamente prima dell'uso. Al liquido si aggiungono due gocce di acqua ossigenata al 3 % e si conserva in vetro scuro. Comunque questa soluzione è poco stabile ed è bene non usarla dopo i tre giorni della preparazione.

3°) Liquido di GIEMSA.

4°) Soluzione di fucsina-alcoolica.

Si fanno gli strisci di sangue col solito metodo e si lasciano essiccare. È bene eseguire la colorazione non oltre 4-5 ore dal momento in cui si è fatto lo striscio.

Si trattano gli strisci per 3 minuti con la soluzione di solfato di rame, che fissa le cellule emolizzando quasi completamente i globuli rossi, mentre rende insolubili i fermenti perossidasi; si versa via il liquido, senza lavare il vetrino, indi lo si tratta con la soluzione satura di benzidina per due minuti esatti. Successivamente si lava con acqua e infine si pratica la colorazione di contrasto con una soluzione molto diluita di liquido di GIEMSA o di fucsina.

Dopo il trattamento con la benzidina, le perossidasi si manifestano sotto forma di granulazione di colore fra il verde cupo e il bleu, sul cui significato preciso gli Autori però non sono tutti d'accordo.

Comunque la valutazione dell'intensità della reazione perossidasi va fatta sulle

granulazioni tenendo conto del loro numero e della intensità del loro colore. Migliore è la colorazione di contrasto con la soluzione di fucsina diluita che mette assai bene in evidenza le granulazioni perossidasiche verde-bleu in campo rosa chiaro. Però siccome con questa colorazione si distinguono assai poco i caratteri dei leucociti, dato soprattutto che i granuli dei granulociti non si evidenziano, si sogliono fare anche le colorazioni con liquido di GIEMSA diluito, per avere un'idea della reazione perossidasica nei vari tipi di leucociti. In pratica però, siccome i linfociti non danno reazione perossidasica ed i monociti danno in massima parte reazione nulla e solo in piccolissima parte reazione debole o media, ci si può accontentare della colorazione con fucsina, che rende più agevole la lettura.

La nomenclatura suddetta è secondo GIACCIO, il quale, seguito da quasi tutti gli Autori, distingue:

una *reazione forte* (R. F.), quando i granuli perossidasici occupano quasi tutto il globulo, ed anche col GIEMSA non si distinguono le granulazioni proprie dei granulociti;

una *reazione media* (R. M.), quando le granulazioni sono meno forti e si possono distinguere col GIEMSA le granulazioni proprie;

una *reazione debole* (R. D.), quando vi sono solo scarse reazioni perossidasiche;

una *reazione nulla* (R. N.), quando non si evidenziano granuli perossidasici.

Naturalmente per la valutazione bisogna tener conto del criterio personale ed è bene quindi che la lettura sia fatta sempre dalla stessa persona.

Nell'individuo normale adulto, secondo la maggior parte degli Autori, i granulociti avrebbero per un quarto reazione forte, per due quarti reazione media e per il resto (un quarto) reazione debole o (pochissimi) reazione nulla.

Con la tecnica che ho sopra riportato ho preso in esame venti pazienti sottoposti a vari interventi chirurgici della nostra Clinica.

Ho praticato la reazione perossidasica su strisci fatti prima dell'operazione (in genere 24 ore) e a vario intervallo di tempo dopo di essa (6, 24, 48 ore, 5 e 10 giorni): ho curato che gli strisci fossero fatti, a distanza dei pasti (naturalmente quando il paziente poteva mangiare), per evitare interferenze dovute alla leucocitosi fisiologica postprandiale.

In complesso i casi studiati sono stati:

otto operati di resezione gastrica per ulcera;

quattro operati di colecistectomia per colecistite calcolosa;

quattro operati di appendicectomia per appendicite;

quattro operati di radicale Bassini per ernia inguinale.

Riporto brevemente nelle tabelle il protocollo dei casi presi in esame.

Dall'esame dei dati riportati possiamo constatare dei risultati abbastanza concordi.

Nelle prime ore dopo l'intervento si ha in genere una caduta dell'attività perossidasica dei leucociti, che si estrinseca con uno spostamento della formula verso destra, vale a dire verso gli elementi a reazione più debole; tale caduta persiste ancora ben evidente già 6 ore dopo l'intervento, rimane ancora netta 24 ore dopo. 48 ore dopo si ha un ritorno verso i valori iniziali, che in quinta giornata sono raggiunti e sorpassati. In decima giornata si hanno in genere valori che corrispondono a quelli primitivi.

Constatiamo così, dopo l'intervento, una fase negativa, alla quale fa seguito una fase positiva di esaltamento del potere perossidasico dei leucociti. -

Sappiamo come l'intervento chirurgico provochi un riassorbimento di sangue e di

PROTOCOLLO DEI CASI

Caso	Anni	Intervento anestesia	Data ricerche	Perossidasi *			
				R.F.	R.M.	R.D.	R.N.
F. Iolanda N. 229 10-1-40	17	Appendicectomia per appendicite cronica Anestesia eterea	24 h. prima	5	62	31	2
			6 h. dopo	1	38	52	9
			24 »	2	38	55	5
			48 »	4	49	42	5
			5 giorni dopo	9	66	29	3
			10 »	6	60	32	2
T. Leda N. 230 10-1-40	15	Appendicectomia per appendicite cronica Anestesia eterea	24 h. prima	4	68	28	0
			6 h. dopo	2	51	43	4
			24 »	0	43	50	7
			48 »	2	49	46	3
			5 giorni dopo	7	63	27	3
			10 »	4	67	27	2
B. Adelia N. 233 10-1-40	36	Appendicectomia per appendicite cronica Anestesia locale	24 h. prima	4	61	32	3
			6 h. dopo	2	40	50	8
			24 »				
			48 »	3	51	40	6
			5 giorni dopo	5	66	28	1
			10 »	4	62	32	2
R. Romolo N. 234	35	Appendicectomia per appendicite cronica Anestesia locale	24 h. prima	6	60	32	2
			6 h. dopo	3	38	49	10
			24 »	0	38	54	8
			48 »	4	50	41	5
			5 giorni dopo	7	71	21	1
			10 »	5	62	30	3
M. Giuseppe N. 238 11-1-40	64	Operazione di Bassini per ernia ing. D. Anestesia locale	24 h. prima	4	63	30	3
			6 h. dopo	2	41	50	7
			24 »	2	39	51	8
			48 »	4	52	41	3
			5 giorni dopo	8	70	22	0
			10 »	4	64	31	1
P. Maria N. 243 11-1-40	26	Colecistectomia per colecistite calcolosa Anestesia eterea	24 h. prima	4	58	34	4
			6 h. dopo	0	46	46	8
			24 »	0	41	52	7
			48 »	2	53	40	5
			5 giorni dopo	7	73	20	0
			10 »	4	63	30	3

* R.F. - Reazione forte. — R.M. - Reazione media. — R.D. - Reazione debole. — R.N. - Reazione nulla.

Caso	Anni	Intervento anestesia	Data ricerche	Perossidasi			
				R.F.	R.M.	R.D.	R.N.
B. Mariano N. 267 12-1-40	26	Resezione gastro-duodenale per ulcera duodenale Anestesia locale	24 h. prima 6 h. dopo. 24 » 48 » 5 giorni dopo 10 »	5 2 0 4 9 6	60 48 41 52 69 61	32 45 53 41 21 32	3 5 6 3 1 1
D. Luigi N. 252 15-1-40	32	Resezione gastro-duodenale per ulcera duodenale Anestesia locale	24 h. prima 6 h. dopo 24 » 48 » 5 giorni dopo 10 »	6 2 0 3 7 5	57 49 40 53 70 55	33 42 51 40 23 36	4 7 9 4 0 4
D. Carlo N. 260 10-1-40	47	Resezione gastro-duodenale per ulcera duodenale Anestesia locale	24 h. prima 6 h. dopo 24 » 48 » 5 giorni dopo 10 »	5 4 4 7 3 4	60 40 38 52 68 60	30 46 48 35 27 28	5 10 10 6 2 7
F. Margherita N. 266 20-1-40	64	Colecistectomia per colecistite calciosa Anestesia locale	24 h. prima 6 h. dopo 24 » 48 » 5 giorni dopo 10 »	3 3 2 4 6 4	66 52 32 60 66 62	29 40 38 31 24 30	2 5 8 6 4 4
C. Vincenzo N. 268	31	Operazione sec. Bassini per ernia inguinale sinistra Anestesia eterea	24 h. prima 6 h. dopo 24 » 48 » 5 giorni dopo 10 »	6 2 2 4 7 5	58 43 39 50 66 54	31 46 48 38 21 34	5 9 11 8 6 7
P. Rodolfo N. 280 23-1-40	29	Resezione G. D. per ulcera duodenale	24 h. prima 6 h. dopo 24 » 48 » 5 giorni dopo 10 »	6 2 2 5 9 6	62 40 41 50 70 62	30 48 50 42 21 28	2 10 7 3 0 4
P. Luisa N. 292 27-1-40	34	Colecistectomia per colecistite calciosa N. N. eterea	24 h. prima 6 h. dopo 24 » 48 » 5 giorni dopo 10 »	4 0 2 4 9 5	63 43 39 51 69 65	33 48 51 39 22 29	0 9 8 6 0 1

Caso	Anni	Intervento anestesia	Data ricerche	Perossidasi			
				R.F.	R.M.	R.D.	R.N.
P. Guerrino N. 293 27-1-40	48	Operazione sec. Bassini per ernia inguinale sinistra Anestesia locale	24 h. prima	4	60	30	6
			6 h. dopo	1	41	49	9
			24 »	0	38	54	9
			48 »	3	50	42	5
			5 giorni dopo	9	73	18	0
			10 »	6	63	27	4
P. Enrico N. 303 29-1-40	70	Operazione sec. Bassini per ernia inguinale destra	24 h. prima	3	63	31	3
			6 h. dopo	0	51	45	4
			24 »	0	42	50	8
			48 »	4	51	40	5
			5 giorni dopo	8	69	21	2
			10 »	4	62	30	4
T. Rosa N. 336 6-2-40	50	Colecistectomia per colecistite calciosa Anestesia eterea	24 h. prima	5	61	33	1
			6 h. dopo	1	49	46	4
			24 »	0	42	51	7
			48 »	3	50	44	3
			5 giorni dopo	8	68	24	0
			10 »	4	63	27	6
A. Pietro N. 375 11-2-40	35	Resezione gastro-duodenale per ulcera-duodenale Anestesia locale	24 h. prima	6	53	35	6
			6 h. dopo	2	43	45	10
			24 »	1	41	48	10
			48 »	3	50	41	6
			5 giorni dopo	8	65	24	3
			10 »	5	61	30	4
R. Vittullio N. 381 21-2-40	43	Resezione gastro-duodenale per ulcera-duodenale Anestesia locale	24 h. prima	3	63	32	2
			6 h. dopo	0	54	41	4
			24 »	1	39	52	8
			48 »	3	49	43	5
			5 giorni dopo	9	68	23	0
			10 »	4	62	30	4
S. Luigi N. 382 20-2-40	29	Resezione gastro-duodenale per ulcera-duodenale Anestesia locale	24 h. prima	4	60	36	0
			6 h. dopo	2	49	45	4
			24 »	0	42	51	7
			48 »	2	53	41	4
			5 giorni dopo	7	66	26	1
			10 »	3	59	35	3
Q. Antonio N. 39 21-2-40	35	Resezione gastro-duodenale per ulcera	24 h. prima	3	66	29	2
			6 h. dopo	0	54	40	6
			24 »	0	48	45	7
			48 »	2	57	40	5
			5 giorni dopo	8	70	20	2
			10 »	4	60	30	

proteine dell'organismo stesso. Si viene cioè ad avere come un autoemo- ed una autoproteinoterapia.

La caduta del potere perossidastico, oltre che con una depressione causata dallo shock operatorio, può essere messa in rapporto con la fase negativa dovuta precisamente al riassorbimento di queste proteine. Successivamente il periodo iperattivo è accompagnato dall'esaltamento dell'attività perossidastica.

Non dobbiamo però dimenticare, che una parte non indifferente di questo aumento perossidastico può essere dovuto ad una immissione in circolo di elementi bianchi giovani: ora è noto che è precisamente negli elementi giovani, che l'attività perossidastica è più forte e che quindi si avrà una formula spostata verso sinistra (cioè verso gli elementi a reazione più forte), appunto negli individui ad attivo ricambio leucocitario.

In conclusione possiamo affermare, che l'intervento chirurgico provoca, dopo una caduta, un esaltamento del potere perossidastico dei leucociti; tali variazioni possono essere messe in rapporto con lo shock operatorio e con il riassorbimento di autoproteine dovuto all'intervento stesso.

Le variazioni della formula perossidastica sono perciò abbastanza aderenti alle variazioni della resistenza organica, quali risultano dalle ricerche, che ho più sopra accennate, sui poteri immunitari, sul potere radiante del sangue, ecc. in rapporto all'atto operatorio.

Penso quindi che lo studio delle perossidasi leucocitarie ci dia un indice abbastanza fedele, e nello stesso tempo di esecuzione facile e rapida, delle condizioni e dello stato di difesa dell'individuo operato, e che ci possa essere di qualche aiuto per seguire l'andamento della malattia postoperatoria.

RIASSUNTO

L'A. ha studiato il comportamento dei fermenti perossidastici dei leucociti in rapporto all'intervento chirurgico, ed ha constatato, dopo una fase negativa, una fase di esaltamento; pensa perciò che lo studio delle perossidasi possa essere di qualche utilità nel seguire l'andamento postoperatorio.

BIBLIOGRAFIA

- AZZI - *Girn. A. Batt. e Imm.*, I, 15, 1926 e III, 721, 1928.
 CENI - *Arch. Ital. di Biol.*, vol. XIX.
 CHIBA e ABE - *Tohoku Jour. of esep. Med.*, XIX, 5-6, p. 479, 1932.
 FIESSINGER - *Les Ferments des leucocytes*. Masson ed., 1923.
 FIESSINGER e MATHIEU - *Jour de phys et de Path.*, vol. XX.
 FIESSINGER e ROUDOWNSNA - *Arch. de Med. esep.*, vol. XXIV.
 FISCHER - *Arch. für Klin. chir.*, v. CLXXXIII, 292, 1935.
 GRAHAM - *The Jourbel of med. Res.*, vol. XXXV e XXXIX.
 GRIVA e RESTELLINI - *L'Osp. Magg. di Novara*, n. I, 1937.
 GUERRINI - *Jour. de Physiol et de Path. gen.*, XII, 711, 1910.
 KONNO S. - *Tohoky Jour. of esep. Med.*, XVII, 1-2, p. 31, 1931.
 LÖWY K. - *Wien. Med. Woch.*, LXXXI, 1586, 1931.
 LUÀÀÀ - *Med. Infant.*, II, 201, 1931.
 MILONE e ZANETTI L. - *Boll. e Mem. Soc. Piem. di Chir.*, vol. VII, maggio 1937.
 PUGNANI - *Gior. di Batt. e Imm.*, XIII, luglio 1934.
 BIGAMO IRRERA e NICLOTTI - *Gior. di Batt. e Imm.*, XI.
 BICOZZI - *Il Morgagni*, 1928.
 SATO e SEKIVA - *Tohoku Jour. of esep. Med.*, 1926, n. 7, p. III.
 SCARTOZZI - *Giorn. di Batt. e Imm.*, vol. XVIII, 1937.
 — — *Med. Sport.*, I, n. 2, 1938.



