

TRANSLOCAÇÃO BACTERIANA PARA O RIM NA ICTERÍCIA OBSTRUTIVA EXPERIMENTAL.¹

Aldo da Cunha Medeiros²
 Ana Maria de Oliveira Ramos³
 Maria Goretti Freire de Carvalho³
 Marli Pinheiro da Silva⁴
 Antônio Medeiros Dantas Filho⁵
 José Hipólito Dantas Júnior⁵
 Fernando César M. Freitas⁵

MEDEIROS, A.C.; RAMOS, A.M.O.; SILVA, M.P.; DANTAS FILHO, A.M.; DANTAS Jr., J.H.; FREITAS, F.C.M. - Translocação bacteriana para o rim na icterícia obstrutiva experimental. *Acta Cir. Bras.*, 12(2):121-4, 1997.

RESUMO: Estudo com o objetivo de verificar a possibilidade de ocorrência de translocação bacteriana para os rins de ratos, após ligadura do colédoco. Foram utilizados 29 ratos Wistar com peso médio de 171±12,6g. Os animais foram divididos aleatoriamente em grupo I (n=14) e grupo II (n=15). Com técnica asséptica, nos ratos no grupo I foi feita ligadura do colédoco com fio de seda nº 3 zeros e no grupo II foi simulada a ligadura com a simples manipulação do colédoco com pinça de Adson ("sham operation"). No 7º dia pós-operatório os animais foram sacrificados e ressecados os rins para exame histopatológico (coloração H.E.) e microbiológico (meios agar sangue e agar MacConkey). Houve crescimento bacteriano de *Klebsiella* sp em 28,5% dos casos no grupo I e foram observadas alterações histopatológicas significativas no mesmo grupo. As diferenças foram estatisticamente significantes quando foram comparados os 2 grupos (p<0,05). Concluímos que a icterícia obstrutiva em ratos provoca translocação bacteriana para os rins e alterações histopatológicas associadas.

DESCRIPTORIOS: Bactérias. Colestasia. Rim.

INTRODUÇÃO

A despeito do aprimoramento da técnica operatória e do desenvolvimento de sucessivas gerações de antibióticos, a infecção e a endotoxemia continuam relatadas como as principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes com icterícia obstrutiva^{6,15}. Alguns estudos mostraram que ocorre passagem de endotoxinas da luz intestinal para a circulação portal no indivíduo icterico, bem como de bactérias através da barreira mucosa para órgãos como o fígado, baço, pâncreas, linfonodos mesentéricos^{3,7}, recebendo a denominação de translocação bacteriana.

Em se tratando de icterícia de padrão obstrutivo, o rim é um dos órgãos acometidos, podendo levar

a comprometimento de sua função antes, durante e principalmente após o ato operatório, como tem sido demonstrado em estudos anteriores^{9,12,17}. Dando prosseguimento a linha de pesquisa relacionada a repercussões da icterícia na função renal, realizamos estudo experimental em ratos com o objetivo de verificar a possibilidade de ocorrência de translocação bacteriana para o rim após ligadura do colédoco.

MÉTODO

Foram utilizados 29 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), machos, pesando em média 271±12,6 gramas, distribuídos aleatoriamente em dois

1. Trabalho realizado no Núcleo de Cirurgia Experimental Prof. Travassos Sarinho, Departamento de Cirurgia, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Apoiado pelo CNPq.
2. Doutor em Cirurgia. Prof. Adjunto IV de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, Chefe do Núcleo de Cirurgia Experimental, Pesquisador II-B do CNPq, TCBC.
3. Prof. Adjunto IV do Departamento de Patologia - UFRN.
4. Microbiologista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica -UFRN.
5. Estudantes Bolsistas de Iniciação Científica do CNPq.

grupos. Os animais foram observados em gaiolas individuais, recebendo água e alimentação ad libitum. Todos foram anestesiados com éter sulfúrico e operados com técnica asséptica.

No Grupo I (n=14) os ratos foram submetidos a laparotomia mediana de 3 cm, iniciada a partir do apêndice xifóide, identificação do colédoco e ligadura com fio de seda nº 4 zeros o mais próximo possível do fígado, para que fosse evitada a lesão do ducto pancreático. Nos animais do Grupo II (n=15) a porta hepática foi identificada e apenas manipulada com pinça de dissecação do tipo Adson (operação simulada). A parede abdominal foi fechada em dois planos de sutura com pontos separados de monofilamento de náilon nº 4-0.

No 7º dia de observação todos os animais foram sacrificados com superdose de anestésico. Relaparotomizados com técnica asséptica, uma amostra de 3 ml de sangue foi colhida através da veia cava para dosagem de bilirrubinas. Em seguida, foi praticada a ressecção de ambos os rins de cada animal, separando-se metade de cada órgão para exame microbiológico e a outra metade para histopatológico. Os fragmentos destinados ao exame microbiológico sofreram processo de homogeneização e foram semeados seletivamente em meio de cultura agar MacConkey para detecção de Gram-negativos e em meio agar-sangue para Gram-positivos. As placas foram incubadas a 37°C e examinadas após 24 e 48 horas. O exame histopatológico foi realizado através da coloração pela hematoxilina-eosina. As alterações histopatológicas foram quantificadas de acordo com suas intensidade de zero a +3, contabilizando-se o total de pontos de cada grupo de acordo com as somas obtidas para cada animal.

Os dados foram analisados pelo teste t de Student, ao nível de significância de 0,05.

RESULTADOS

Todos os animais sobreviveram e os do Grupo I apresentavam-se francamente ictericos ao término dos 7 dias de observação. A bilirrubina total apresentou média de $16,4 \pm 3$ no Grupo I e $0,6 \pm 0,1$ no Grupo II. No Grupo I foi isolada *Klebsiella* sp no parênquima renal homogeneizado em 28,5 % dos animais. No Grupo II (controle) observou-se ausência de germes em todos os animais no mesmo órgão examinado, tanto na cultura específica para Gram negativos como para Gram positivos. Como pode ser verificado na Tabela I, nos animais do Grupo I (ligadura do colédoco) foram observadas alterações renais como congestão glomerular, presença de leucócitos nos glomérulos (Fig. 1), degeneração tubular, cilindúria, nefrose colêmica (Fig. 2), infiltração intersticial aguda e crônica (Fig. 3) e presença de bactérias em intensidade que, quando somadas, atingiram o total de 100 pontos. Tais alterações mostraram-se mais

significativas naqueles casos em que foi detectada a presença de *Klebsiella* sp no parênquima renal através da cultura. Comparando-se com o grupo controle, em que se observou ausência de alterações histopatológicas nos rins examinados, as diferenças se mostraram estatisticamente significantes ($p < 0,05$).

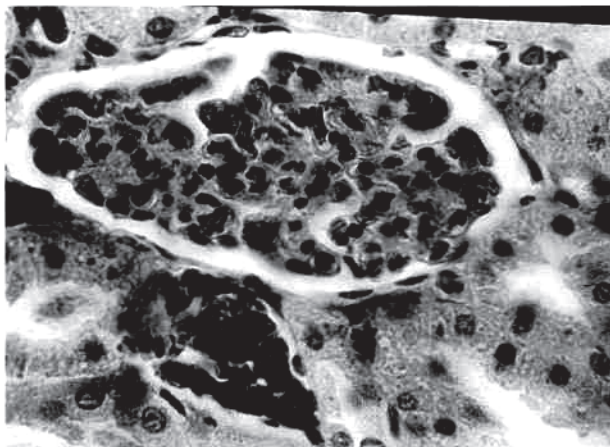


Fig. 1 - Glomérulo renal exibindo congestão e presença de neutrófilos na luz dos capilares. Coloração HE - aumento X200.

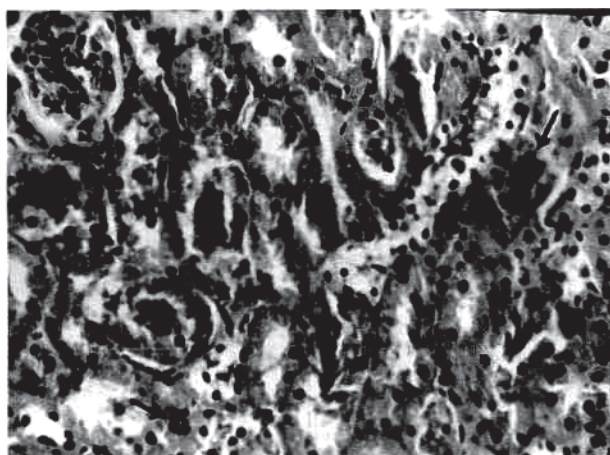


Fig. 2 - Infiltrado inflamatório intersticial e presença de cilindros pigmentados na luz tubular (setas). Coloração HE - X100.

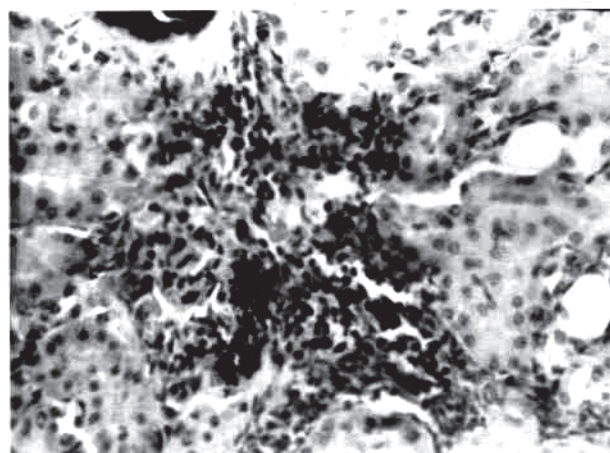


Fig. 3 - Nefrite intersticial focal. Coloração HE - X100

TABELA 1 - GRUPO 1 - Alterações histopatológicas observadas nos rins. Cada alteração foi quantificada de acordo com sua intensidade em valores de 0(zero) à +3.

Animais nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Histopatologia														
Congestão Glomerular	1	1	3	1	1	1	2	2	1	1	1	0	0	2
Leucócitos nos glomérulos	1	2	1	2	3	2	2	0	1	2	1	3	3	1
Degeneração Tubular	1	1	0	2	1	3	0	2	2	2	2	0	0	2
Cilindrúria Ne- frose colêmica	2	0	2	2	2	0	0	1	0	0	1	1	2	1
Infiltração Intersticial Aguda	1	2	0	1	1	1	2	1	1	0	3	2	3	1
Infiltração Intersticial Crônica	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0
Bactérias	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL DE PONTOS	6	6	6	9	9	9	10	6	5	5	8	6	8	7

TOTAL DE PONTOS DO GRUPO = 100 PONTOS

Diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) em relação ao grupo de controle, cujos animais não mostraram alterações histopatológicas nos fragmentos de rins examinados.

DISCUSSÃO

Não são poucos os estudos publicados que têm comprovado a endotoxemia e a translocação bacteriana para órgãos digestivos em diversas circunstâncias em que ocorre infecção intestinal ou estados de sepse^{1,4,8,13,14,16,19,21}, entretanto, a literatura não tem registrado evidências de translocação bacteriana para os rins, em casos de icterícia obstrutiva, apesar da comprovação do comprometimento renal nos ictericos demonstrada em vários estudos^{2,6,11}.

A endotoxemia na presença de icterícia obstrutiva, que muito agrava o prognóstico dos operados, pode ser secundária à ausência de sais biliares na luz intestinal, de modo que estudos *in vitro* têm demonstrado que ácidos biliares não conjugados normalmente inibem o crescimento de germes Gram-negativos, sugerindo que tais ácidos influem no tipo

de colonização bacteriana ao nível do intestino^{5,6,11}. DEITCH e col.⁹ observaram população de germes Gram negativos 100 vezes maior no ceco de camundongos submetidos a ligadura do colédoco do que nos controles, e nesses animais ictericos que apresentaram alta população bacteriana ocorreu translocação para linfonodos mesentéricos. Outros autores têm demonstrado que os ácidos biliares são capazes de fragmentar as moléculas de endotoxinas liberadas pelos germes entéricos, implicando em que a ausência desses ácidos na luz intestinal permitem que as endotoxinas permaneçam intactas para absorção^{10,11,15,23}. Da mesma forma, a ausência dos ácidos biliares na luz intestinal altera a flora bacteriana, aumentando principalmente a população de bactérias Gram-negativas, propiciando, desse modo, a passagem desses germes para a circulação portal e sistêmica, chegando a atingir órgãos à distância⁷. Os germes mais comumente encontradas nesses órgãos têm sido *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans* e os enterococos²².

No estudo por nós realizado observamos a presença de germes Gram-negativos (*Klebsiella* sp) ao nível do parênquima renal em ratos ictericos, fato que pode representar um dado a mais para explicar o comprometimento renal demonstrado em vigência de icterícia obstrutiva^{11,12,17}.

Para DIETCH⁹ e col. o mais provável mecanismo da translocação bacteriana no icterico é a lesão da barreira mucosa do intestino provocada pelo aumento da população de bactérias intraluminais, que resultam, como observado em seu estudo⁹, em edema de vilosidades e lesão da lâmina própria. Uma vez lesada a barreira mucosa, os germes e as endotoxinas atingem a lâmina própria, são fagocitados pelos macrófagos e chegam aos linfonodos mesentéricos. Daí podem alcançar o ducto torácico, as veias do sistema porta, o fígado e os pulmões, ganhar a circulação sistêmica e atingir outros órgãos. O estado imunológico do icterico pode influenciar a susceptibilidade à translocação bacteriana. Este conceito baseia-se nos estudos de ROUGHNEEN²⁰ e col. e de MORRISON e RYAN¹⁸ segundo os quais a colestase extra-hepática induzida experimentalmente, aliada à conseqüente endotoxemia, levam a uma profunda depressão do sistema imunológico, resultando maior incidência de translocação bacteriana.

MEDEIROS, A.C.; RAMOS, A.M.O.; SILVA, M.P.; DANTAS FILHO, A.M.; DANTAS Jr., J.H.; FREITAS, F.C.M. - Bacterial translocation to kidney in obstructive experimental jaundice. *Acta Cir. Bras.*, 12(2):121-4, 1997.

SUMMARY: Experimental study in order to determine if obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gastrointestinal tract to the kidney in rats. We used 29 Wistar male rats weighing 171 ± 12.6 g. They were randomly separated in group I (n=14) and group II (n=15) and operated with aseptic technic. The group I underwent common bile ducts ligation with number 000 silk suture, and in group II (control) the common bile ducts were manipulated with Adson forceps, as a sham operation. On 7th postoperative day the rats were killed with an overdose of anesthetic and had their kidneys resected. Portions of each kidney were harvested for quantitation of bacterial translocation and histopatologic examination. The incidence of bacterial translocation was 28,5% (*Klebsiella* sp) in group I and 0% in group II ($p < 0,05$). Interstitial edema, nephrosis and tubular degeneration were observed in group I and the histology was normal in group II. The authors conclude that obstructive jaundice promotes bacterial translocation to the kidney, associated to histopatological alterations in this organ.

SUBJECT HEADINGS: Bacteria. Cholestasis. Kidney.

REFERÊNCIAS

1. BAKER, J.K.; DEITCH, E.A. - Haemorrhagic shock indices bacterial translocation from the gut. *J. Trauma.*, 18:898-906, 1988.
2. BAILEY, M.E. - Endotoxin, bile salts and renal function in obstructive jaundice. *Br. J. Surg.*, 63:774-8, 1976.
3. BERG, R.D. & GARLINGTON, A.W. - Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and the other organs in a gnotobiotic mouse model. *Infec. Immun.*, 23:403-41, 1979.
4. BERG, R.D. & DEITCH, E.A. - Immunossuppression and the intestinal overgrowth synergistically promotes bacterial translocation. *Arch. Surg.*, 123: 1359-64, 1988.
5. BROWN, T.H.; WALTON, G.; CHEADLE, W.G.; LARSON, G.M. - The alkaline shift in gastric pH after cholecystectomy. *Am. J. Surg.*, 157:58-65, 1989.
6. CAHILL, C.J.; PAIN, J.A.; BAILEY, M.E. - Bile salts, endotoxin in renal function in obstructive jaundice. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 165: 519-22, 1987.
7. DEITCH, E.A.; BERG, R.; SPECIAN, R. - Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. *Arch. Surg.*, 122:185-90, 1987.
8. DEITCH, E.A.; BRIDGES, R.M. - Effect of stress and trauma on the bacterial translocation from the gut. *J. Surg. Res.*, 42:536-42, 1987.
9. DEITCH, E.A.; SITTIG, K.; BERG, R.; SPECIAM, R.D. - Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. *Am. J. Surg.*, 159:79-84, 1990.
10. EVANS, H.J.R.; TORREALBA, V.; HUDD, C. - The effect of preoperative bile salts administration on postoperative renal function in patients with obstructive jaundice. *Br. J. Surg.*, 69:706-8, 1982.
11. FLETCHER, M.S. & WESTWICK, J. - Endotoxins, prostaglandins and renal fibrin deposition in obstructive jaundice. *Br. J. Surg.*, 69:625-9, 1982.
12. HISHIDA, A.; HONDA, N.; SUDO, M. - Mechanisms of altered renal perfusion in the early stage of obstructive jaundice. *Kidney Int.*, 1:223-230, 1980.
13. HOLMAN, J.M.; RIKERS, L.F.; MOODDY, F.G. - Sepsis in the management of complicated biliary disorders. *Am. J. Surg.*, 138:809-813, 1979.
14. KATS, S.; GROSF, L.D.; CROSS, K. - Impaired bacterial clearance and trapping in obstructive jaundice. *Ann. Surg.*, 199:14-20, 1984.
15. KOCKSAR, L.T. & BARTOK, L. - Effects of bile acids on the intestinal absorption of endotoxins in rats. *J. Bacteriol.*, 100:220-3, 1969.
16. MADDAUS, M.A.; WELLS, C.L.; PLATT, J.L.; CONDIE, R.M.; SIMMONS, R.L. - Effect of T cell modulation of the translocation of bacteria from the gut and mesenteric lymph node. *Ann. Surg.*, 207:387-98, 1988.
17. MEDEIROS, A.C.; SOUZA, Z.M.; LINS, M.R.S.; CARDOSO, J.O.M.; LOPES, F.A.; ARRUDA Jr., A.; SILVA, I.B.; PELÁEZ, M.P. - Icteric obstructiva experimental e profilaxia da insuficiência renal. *Rev. Col. Bras. Cir.*, 22:279-83, 1995.
18. MORRISON, D. C. & RYAN, J.L. - Bacterial endotoxins and host immune responses. *Adv. Immunol.*, 28:293-450, 1979.
19. PAIN, J.A. & BAILEY, M.E. - Measurement of operative plasma endotoxin level in jaundice and non jaundiced patients. *Eur. Surg. Res.*, 19:207-16, 1987.
20. ROUGHNEEN, P.T.; GOUMA, D.J.; KULKARNI, A.D. - Impaired specific cellular immunity in extrahepatic cholestasis and its reversibility by internal biliary drainage. *J. Surg. Res.*, 41:113-25, 1986.
21. SHANDS, J.W. Fr. & CHUN, P.W. - The dispersion of Gram-negative lipopolysaccharides by deoxicolate. *J. Biol. Chem.*, 255:1221-5, 1980.
22. WEST, M.A.; KELLER, G.A.; HYLAND, B.J. - Hepatocyte function in sepsis: Kupffer cells mediate a biphasic protein synthesis response in hepatocytes after exposure to endotoxin or killed *E. coli*. *Surgery*, 98:388-94, 1985.
23. WILKINSON, S.P.; MOODIE, H.; STAMATAKIS, J.D.; KAKKAR, V.V.; WILLIAMS, R. - Endotoxaemia and renal failure in cirrhosis and obstructive jaundice. *Br. Med. J.*, 2:1415-8, 1976.

Endereço para Correspondência:

Aldo da Cunha Medeiros

Av. Miguel Alcides Araújo 1889 - Cidade Jardim
59078-270 Natal - RN

Data do recebimento: 04.02.97

Data da revisão: 11.03.97

Data da aprovação: 02.04.97