

CONTRIBUȚII LA STUDIUL MORFOPATOLOGIC AL NEFRROPATIILOR LA CÂINE

REZUMAT

Scopul cercetărilor prezentei lucrări constă în identificarea și încadrarea morfologică a proceselor patologice renale la câine revizuirea criteriilor de recunoaștere și de etichetare a tipurilor morfologice de nefropatii, evaluarea lor ca repere pentru diagnosticul și prognosticul în cadrul unei boli generale și eventuala corelare cu unii factori din mediul ambiant.

Teza de doctorat cuprinde 233 de pagini și este structurată în două părți distincte: partea I, care cuprinde date bibliografice referitoare la tema tezei și partea a II-a, referitoare la cercetările personale efectuate pe parcursul elaborării prezentei teze.

Partea I „Stadiul cunoașterii privind morfologia nefropatiilor la câine” este structurată în două capitole în care sunt sistematizate informațiile culese din 202 surse bibliografice.

În Capitolul 1 sunt prezentate date referitoare la particularitățile morfologice ale rinichilor la câine (originea embriologică a rinichiului, structura anatomică și histologică).

Capitolul 2 conține noțiuni de morfopatologie renală la câine, respectiv clasificarea nefropatiilor, patogeniza procesului inflamator și prezentarea particularităților morfoclinice și histologice ale principalelor nefropatii (tulburări bioplastice adaptative, tulburări circulatorii, distrofii, inflamații și tumori) la câine. În acest capitol s-a pus accent pe descrierea etiomorfopatogenezei glomerulopatiilor imune, acest subiect ne reprezentând un interes deosebit pentru medicii veterinari din țara noastră. Prin similitudine cu aspectele histologice ale glomerulopatiilor la om, s-au abordat și glomerulopatiile imune ale animalelor, în special ale celor de companie (câine și pisică).

Partea originală a tezei, desfășurată pe 120 pagini, cuprinde materialul și metodele de lucru, rezultatele obținute și interpretarea lor și concluziile generale.

Investigațiile s-au efectuat în perioada 2002-2007 pe material recoltat din cadavre de câini decedați sau eutanasiați, printre care și câini comunitari cu organopatii diverse. Cazurile au

provenit din clinicile Facultății de Medicină Veterinară și clinicile particulare din Municipiul Iași.

Materialul de studiu a constat din 215 câini de vârste diferite, masculi și femele, dintre care 167 au prezentat modificări morfopatologice de intensități variabile, la nivelul rinichilor.

Organele recoltate în urma necropsiilor efectuate au fost fotografiate și fișate, după care, în vederea examinării histologice au fost selectate și prelevate câte 3-6 fragmente de rinichi de la fiecare caz dar și alte organe aflate în strânsă relație anatomo-fiziologică (cord, ficat, pulmon, intestin, splină, etc.).

În acest scop fragmentele recoltate au fost fixate în formaldehidă, soluție apoasă 10%, și/sau lichid fixator Bouin, fasonate, incluse în parafină și secționate la 5 μm.

Din cele aproximativ 650 de fragmente de organ au fost realizate circa 2400 lame, colorate apoi prin metode uzuale sau speciale: Hematoxilină-Eozină (colorația bicromică, HE) Hematoxilină-Eozină - Albastru de metil (col. tricromică Masson, HEA), Hematoxilină-Eozină-Safran (HES), Acid Periodic- Fuxină Schiff (PAS) și Acid Periodic - fuxină Schiff – verde luminos (PAS-verde luminos).

Imunohistochimia pune la dispoziția cercetătorului metode eficiente de evidențiere a unor markeri celulari sau moleculari capabili să aducă argumente în diagnostic.

În cadrul cercetărilor efectuate s-a folosit metoda imunohistochimică de punere în evidență a antigenelor de proliferare nucleară (PCNA - *proliferating cell nuclear antigen*, proteină asociată ADN-polimerazei) din fibroblastele aflate în curs de mitoză, folosind anticorpi monoclonali aplicați pe secțiuni incluse în parafină după o prealabilă deparafinare, pentru a evidenția epitopii antigenici tisulari.

PCNA este o proteină asociată ADN-polimerazei care joacă un rol important în proliferarea celulară fiind evidențiată la nivelul nucleului (nu în nucleoli) în derularea ciclului celular. PCNA se evidențiază sub aspectul granular, difuz al nucleilor celulelor unde a debutat deja sinteza ADN-ului în vederea proliferării celulare.

Nivelul de PCNA variază pe parcursul fazelor ciclului celular. Astfel, la nivelul nucleului, ea este crescută spre sfârșitul fazei G1, imediat înaintea sintezei ADN-ului, devenind maximă pe parcursul fazei S și scăzând în faza G2 și în faza M. Astfel nivelul ei este corelat direct cu rata proliferării celulare și a sintezei de ADN.

Preparatele histologice colorate, clarificate și montate cu balsam de Canada au fost examinate la microscopul optic și fotografiate la diverse puteri de rezoluție.

Examinarea histopatologică a preparatelor permanente la cazurile luate în studiu a permis identificarea și clasificarea proceselor patologice cu localizare renală, respectând clasificarea, ierarhizarea și criteriile morfologice de identificare a leziunilor din patologia comparată de specialitate.

Astfel, sunt descrise și ilustrate prin fotografiile următoarele procese patologice (grupe de leziuni) renale: tulburări bioplastice adaptative, tulburări circulatorii, distrofiile, inflamații și tumori.

În cadrul tulburărilor bioplastice adaptative au fost observate și descrise hipoplazia renală, chisturile renale (rinichiul polichistic) și atrofia renală de compresiune.

Tulburările circulatorii identificate la câine au fost destul de frecvente: congestia renală, hemoragiile glomerulare și interstițiale, coagularea intravasculară diseminată (rinichiul de șoc), tromboza, embolia, infarctul renal, edemul renal.

Distrofiile renale remarcate au fost: steatoza, nefroza granulară și hidrică, hialinoza, amiloidoza, hemosideroza, icterul, uricoza, calcificarea, oxaloza și litiiza.

La cazuistica noastră au fost descrise după criteriul localizării procesului inflamator: glomerulitele (glomerulonefritele), tubulonefritele și nefritele interstițiale. Frecvența cea mai mare au reprezentat-o glomerulonefritele, mai ales cele imune și nefritele interstițiale (nefrita interstițială limfohistiocitară și fibroasă).

Glomerulonefritele cu substrat imun au fost diagnosticate mai ales la câinii adulți.

Au fost puse în evidență:

- **glomerulonefrita membranoasă**, tradusă histologic prin îngroșarea (de aproximativ 5-6 ori) a membranei bazale glomerulare mai ales la nivelul capilarelor glomerulare periferice (solitare), fiind distorsionată și cu aspect cutat (aspect de tirbușon- *wire loop*), însoțită și de o ușoară proliferare a celulelor mezangiale și creșterea matricei mezangiale. Evoluția este favorabilă, leziunile fiind în cea mai mare parte reversibile, la altele observându-se o evoluție progresiv lentă spre scleroză glomerulară, ca urmare a obliterării lumenului capilarelor.

Majoritatea glomerulonefritelor membranoase evoluează generalizat sau global, fiind idiopatice (compoziția complexelor imune circulante nu a putut fi identificată), expresia unor procese patologice variate (infecții, procese neoplazice, intoxicații sau boli autoimune).

Glomerulonefritele membranoase pot fi expresia vârstei înaintate (sinteze continue de material membranar), intoxicațiilor cu metale grele (aur, mercur), a bolilor septice cronice (piometrul la cățele), a infestațiilor parazitare, a asocierii cu nefritele interstițiale cronice (la câine), tulburărilor metabolice sistemice (diabet, tiroidite) sau idiopatice (complexe imune neidentificate).

- **glomerulonefrita mezangio-proliferativă**, sub aspect histologic este dominată de proliferări celulare ce duc în final la un aspect de pluricelularitate sau de polinucleoză al corpusculului Malpighi.

Acest tip de glomerulonefrite imune a fost cel mai frecvent întâlnit în cazuistica noastră, fiind dominat de modificările celulare și matriceale ale mezangiului glomerular, traduse morfologic printr-o creștere mai mult sau mai puțin marcantă a numărului de celule din structura acestuia, ca urmare a proliferării celulelor mezangiale și endoteliale asociate cu celulele inflamatorii (polinucleare, celule mononucleate), creșterea matricei mezangiale și acumularea depozitelor mezangiale.

Fenomenele hiperplazice din structura glomerulului (polinucleoza glomerulară) au produs o reducere remarcabilă a lumenului capilarelor glomerulare prin compresiune externă, mergând până la stenoza completă, realizându-se astfel scăderea perfuziei sanguine glomerulare și în final scleroza.

- **glomerulonefrita membrano-proliferativă**, numită și glomerulonefrita mezangio-capilară, reprezintă o entitate morfo-clinică ce se caracterizează prin proliferarea celulelor mezangiale și în același timp prin îngroșarea și reduplicarea membranei bazale glomerulare, deci întrunește ambele aspecte ale glomerulonefritelor membranoase și mezangio-proliferative.

În evoluția cronică s-au constatat proliferări conjunctive periglomerulare și peritubulare și atrofia treptată a nefronului. Aceste aspecte morfologice sunt considerate leziuni intermediare ce se finalizează prin glomerulonefritele cronice generalizate și care duc spre insuficiență renală cronică.

- **glomerulonefrita sclerozantă**; din punct de vedere morfologic s-au deosebit mai multe aspecte în evoluția sclerozei glomerulare: activarea celulelor mezangiale și creșterea sintezei matricei mezangiale, acumulări de material eozinofil, omogen pe structurile corpusculului Malpighi, îngroșarea membranelor bazale glomerulare, îngroșarea membranei bazale a capsulei Bowman și chiar dedublarea ei, degenerarea epiteliului visceral, apariția sinechiilor inter-

epiteliale glomerulare (epiteliu visceral-epiteliu parietal), proliferarea celulelor și a fibrelor conjunctive în mezangiul glomerular și periglomerular.

La unele cazuri scleroza a debutat centrifug, de la nivelul mezangiului și a capilarelor glomerulare spre capsula Bowman, la altele s-a remarcat o scleroză centripetă, proliferarea fibrelor conjunctive pornind de la nivelul capsulei glomerulare cuprinzând apoi întreg glomerulul.

Scleroza glomerulară se finalizează prin transformarea glomerulului sau numai a ghemului vascular într-o masă de celule și fibre conjunctive stratificate concentric sau se poate rezuma doar la constituirea unei cicatrici fibroase în care se pot distinge vagi vestigii din structura ghemului vascular.

Tumorile renale, rare la cazurile examinate, au fost reprezentate de carcinomul renal mixt, colangiocarcinomul tubular, limfomul renal și melanomul renal.

Teza se încheie cu concluziile generale, în care sunt expuse succint principalele leziuni ale rinichilor prin investigații anatomopatologice și histopatologice, importanța și valoarea lor în diagnosticul direct și diferențial.