

REZUMAT

CONTRIBUȚII LA STUDIUL NEUROPATIILOR LA RUMEGĂTOARE ȘI SUINE

Cercetările prezentei lucrări au avut două scopuri fundamentale: precizarea topografiei unor leziuni și determinarea naturii lor, și suplimentar, aprofundarea cunoștințelor privitoare la reacțiile celulare și tisulare declanșate în sistemul nervos de diferiți agresori fizici, chimici și biologici, în vederea completării lacunelor din neuropatologia comparată. Localizarea leziunilor este remarcabil de precisă în sistemul nervos, iar cunoașterea ei, indispensabilă pentru diagnostic și tratament. În acest scop, este neapărat necesară confruntarea datelor clinice și paraclinice (obținute în special prin metodele angiografice, scintigrafice și ventriculografii) cu datele morfologiei diferiților centri nervoși și fasciculelor nervoase, cunoștințe ajunse în decursul timpurilor la un remarcabil grad de perfecțiune ce permite folosirea metodei stereotaxice pentru anumite intervenții neurochirurgicale extrem de precise. Investigațiile mai sus menționate, la noi în țară, se aplică cu predilecție pacienților umani, în domeniul veterinar examenul cel mai uzual fiind cel histologic. Studiul patologiei SNC presupune niște dificultăți specifice și anume: SN este un organ cu acces dificil, bine protejat de acțiunile factorilor externi; sensibilitatea deosebită la anoxie și bogăția în enzime hidrolitice determină instalarea precoce a modificărilor cadaverice; sensibilitatea la autoliză (care poate mima leziunile histologice) și la artefactele mecanice. În marea majoritate a cazurilor, diagnosticul de certitudine necesită examen histologic.

Teza de doctorat cuprinde 279 pagini și 426 fotografii color și este structurată în două părți distincte: partea I, care cuprinde date bibliografice referitoare la tema tezei și partea a II-a, de cercetările personale efectuate pe parcursul elaborării prezentei teze.

În prima parte a tezei, extinsă pe 88 pagini, se prezintă stadiul cunoașterii morfopatologiei sistemului nervos central (SNC) și periferic (SNP) sub forma unei sinteze realizată prin utilizarea a 213 articole, manuale și tratate de neuropatologie, precum și a 29 de atlase și jurnale de neuropatologie și neurobiologie accesate pe internet. Sinteza relevă nivelul înalt al cunoașterii neuropatologice în medicina umană, facilitată de cercetările aprofundate prin mijloace moderne de investigație și gradul satisfăcător al informațiilor furnizate de literatura veterinară de specialitate. Materialul este bogat ilustrat cu 156

fotografii color macroscopice și microscopice, constituindu-se într-o bază de date necesară orientării și interpretării observațiilor personale și evaluării lor.

Capitolul I intitulat “Modificările neinflamatorii și netumorale ale sistemului nervos central (SNC)”, cuprinde 47 pagini, conține descrierea și ilustrarea modificărilor cadaverice, tulburărilor de dezvoltare, leziunilor circulatorii, distrofice, necrobiotice și necrotice ale substanței nervoase, menționându-se totodată cele mai acreditate ipoteze, observații și confirmări experimentale asupra etiopatogenezei proceselor morbide. Expunerea teoretică este însoțită de 98 fotografii macroscopice și microscopice demonstrative.

Capitolul II intitulat “Morfologia proceselor inflamatorii în SNC”, extins pe 18 pagini și ilustrat cu 32 fotografii color, este destinat prezentării succinte a procesului inflamator conform clasificărilor clasice, în raport cu topografia, extinderea și tipologia, utilizând nomenclatura recomandată de OMS, precizând particularitățile anatomopatologice și histopatologice de recunoaștere și diferențiere a inflamațiilor hemoragice și hemoragico-necrotice, serofibrinoase, purulente, tromboembolice, limfohistiocitare, eozinofilice, fibroase, granulomatoase și imune (alergice și demielinizante).

Capitolul III, rezervat modificărilor tumorale ale SNC, extins pe 15 pagini și ilustrat cu 26 fotografii macroscopice și microscopice demonstrative, conține descrierea oncopatiilor, detaliat studiate la om, încă incomplet cunoscute la animale, a căror identificare este bazată pe similitudinile morfologice și evolutive. Cunoașterea lor este absolut necesară pentru stabilirea oncoepidemiologiei și a relațiilor oncologice interspecifice. Sunt prezentate clasificările și diferitele tipuri și subtipuri de tumori, expansive încapsulate și neîncapsulate și infiltrative, circumscrise și difuze.

Capitolul IV prezintă leziunile elementare ale componentelor țesutului nervos la om și animalele domestice.

Partea originală a tezei, desfășurată pe 191 pagini, și ilustrată prin 270 fotografii color, este destinată cercetărilor personale efectuate în perioada 2002-2009 pe SNC prelevat de la rumegătoare și porci, provenite din efective supuse supravegherii și monitorizării EST, trimise Laboratorului Sanitar Veterinar și pentru Siguranța Alimentelor Iași pentru diagnosticul rabiei și virozelor respiratorii sau nervoase, selectate din teren la solicitările de elucidare a episoadelor morbide cu simptomatologie nervoasă și etiologie diversă. Suplimentar, au fost examinate cadavrele expediate Laboratorului în scopul precizării cauzelor morții.

În capitolul VI este prezentat materialul de studiu supus examinării anatomoclinice, necropsice, microscopice și altor cercetări de laborator. Materialul a fost reprezentat de fragmente de SNC prelevat de la 10904 taurine, 3187 ovine, 77 caprine, 223 cervidee, 1bivol și 595suine. La fiecare caz au fost întocmite foi de observație cu anamneză detaliată și/sau acte de necropsie, fișe de caz, au fost efectuate fotografii cu leziuni macroscopice și s-au prelevat câte 5-15 fragmente din mai multe etaje ale SNC. Metodele de lucru au fost multiple și diferențiate în funcție de scopul urmărit și au inclus: tehnici clasice și speciale de prelevare a creierului, metodele de manevrare a materialului biopsic pentru efectuarea amprețelor și secțiunilor permanente, de conservare a contraprobelor, de fixare, prelucrare și colorare a secțiunilor prin metodele HE, HEA, PAS, MGG, Pappenheim, Roșu de Congo, Mann și impregnare

argentică Gömori. Unele materiale au fost prelucrate în vederea studiului electronomicroscopic al incluziilor. În paralel, au fost efectuate examene bacteriologice pe medii uzuale și speciale, aerobe și anaerobe, examene serologice (teste imunoenzimatic de tip ELISA pentru detecția anticorpilor specifici virusului rinotraheitei infecțioase bovine –IBR, și virusului bolii lui Aujeszky la suine), virusologice (identificarea antigenului folosind testul anticorpilor fluorescenți – IF, inoculări de ouă embrionate), toxicologice, bioproba pe animale și testul rapid ELISA TeSeE pentru determinarea proteinei prionice PrP^{res} din țesutul nervos al rumegătoarelor domestice și sălbatice.

În capitolul VII sunt expuse și ilustrate observațiile histopatologice personale asupra modificărilor patologice fundamentale ale țesutului nervos (leziunile elementare ale celulelor nervoase, ale fibrelor nervoase, ale vaselor cerebrale, tulburările circulatorii, tulburările distrofice cu finalitate în necrobioză și necroză și tulburări inflamatorii), în general superpozabile celor menționate în literatura neuropatologică, precizându-se totodată condițiile în care au fost înregistrate.

Citopatologia nevraxială este dominată de leziunile neuronale, nespecifice și specifice, care constituie un ansamblu de alterații ce pot surveni în cursul unei vaste game de agresiuni: traumatice, toxice, infecțioase sau de natură vasculară.

Leziunile elementare se referă la modificările reacționale adaptative și patologice ale pericarionilor și expansiunilor, celulelor gliale și ependimocitelor. Sunt descrise, cu prioritate, celulele bastonaș, gemistocitele (exemplificate prin imagini microscopice inedite), lipofagele și corpii granuloși, cromatoliza, atrofia, tumefierea, necroza ischemică și de colicvație a neuronilor, incluziunile lipidopigmentare și incluziile nespecifice. *Necroza de lichefiere sau de fluidifiere* a celulelor nervoase, numită și boala celulară severă (gravă) a lui Nissl, se dezvoltă pe leziuni de tumefiere celulară în evoluția unor toxicoze exogene, în stări septice și carentiale. Alterațiile lichefiante ale citoplasmei sunt în relație directă cu edemul pericelular și al neuropilului, precum și cu edemul perivascular. Leziunea a fost observată la o vacă cu septicemie anaerobă.

Cea mai frecventă și importantă modificare degenerativă este distrofia vacuolară a neuronilor, nevrogliilor și neuropilului, leziune esențială pentru diagnosticul EST, utilizată, alături de simptomatologia clinică specifică în diagnosticul Scrapiei la ovine, care va fi confirmată ulterior în Laboratorul Național de Referință pentru EST din cadrul IDSA București. Distrofia vacuolară este componenta definitorie și în sindromul “status spongiosus”, cu etiologie polifactorială simpla ei prezență nesuștinută de alte investigații nefiind patognomonică pentru EST.

În cadrul tulburărilor circulatorii se disting cele trei forme de edem: vasogen, toxigen și oncotic, a căror recunoaștere este utilă în orientarea etiopatogenetică a acestui proces morbid.

Cele mai importante sunt capitolele VIII-XII rezervate unor boli cu etiologie foarte variată, pentru fiecare entitate morbidă consemnându-se cadrul natural în care a apărut, speciile afectate, simptomatologia, evoluția și sfârșitul bolii, metodele utilizate pentru stabilirea diagnosticului, leziunile anatomopatologice și microscopice, diagnosticul diferențial, adăugându-se în final un comentariu al referințelor bibliografice din patologia comparată.

Capitolul VIII, subcapitolul 8.1, privind tabloul histopatologic în encefalomielita cu enterovirus Tip 1 la suine, are la bază studiile efectuate pe 62 cadavre de porci înfărcați și tineret, provenite din mai multe efective cu simptomatologie clinică concludentă de Teschen, boală cu receptivitate maximă la vârsta de 3-4 luni și mortalitatea de 80% din animalele bolnave. Leziunile macroscopice, discrete și inconstante, au constat din congestie meningeală, rare hemoragii peteșiale în cortexul cerebelos, tulburări circulatorii în marile organe, aspect cerebriiform al mucoasei intestinale, plierea mucoasei gastrice la unele cadavre și rar ulcere gastrice.

Examenul histologic a evidențiat în encefalomielita cu enterovirus tip I meningita cerebeloasă și spinală proliferativă și leziuni de polio- și leucocerebelită pe fond de congestie, microtromboze, microhemoragii, edem și malacie. Leziuni inflamatorii productive, de intensitate mai redusă, sunt prezente și în trunchiul cerebral, tuberculii cvadrigemeni și cortexul cerebral. Leziuni importante pentru diagnostic se găsesc în măduva lombară, mai grave în substanța cenușie decât în cea albă, constând în degenerări neuronale, infiltrații difuze cu mononucleare, noduli gliali, perivascularite limfoplasmocitare și focare de malacie. Observațiile proprii aduc completări tabloului bolii prin semnalarea meningopoliocerebelitei și meningopoliomielitei spinale și precizarea rolului lor în diagnostic, iar examenul electronomicoscopic efectuat a evidențiat multiple incluzii virale intranucleare.

Turbarea, subcapitolul 8.2., a fost diagnosticată la nouă taurine adulte și la un vițel, precum și la un porc, prin intermediul a trei teste de laborator: IFD, histologic și bioproba pe șoareci albi. Histologic, la taurine au fost identificate tulburări circulatorii nespecifice, dar și hemoragii inelare perivascularare, considerate tipice infecției rabice, leziuni degenerative ale celulelor Purkinje din cerebel și ale celulelor ganglionare din cornul lui Ammon, minime sau medii și leziuni proliferative de tip glial, minore.

La rumegătoare, animale deosebit de susceptibile la infecția rabică, nodulii rabici sunt foarte mici și rari, iar prestadiile de microgliază, satelitoză și neuronofagie sunt discrete, proporționale cu gradul alterării neuronilor, mai mic decât la alte specii (ex. carnivore) deși incluziogeneza poate fi proeminentă.

La taurinele investigate, leziunile de meningoencefalită au fost discrete sau absente.

Incluziogeneza este totdeauna prezentă în cerebel (chiar dacă nu în toate secțiunile) și inconstant în cornul lui Ammon și în trunchiul cerebral. Corpusculii intracitoplasmatici Babeș - Negri care apar în pericarioni și în expansiunile celulelor, sunt acidofili, înconjurați de un halou fin, unici sau multipli, inegali, rotunjiți și ovalari sau muriformi, omogeni sau cu granulații bazofile Volpino, uneori simetrice (topografie “ în oglindă ”). La vițel, incluziile au fost prezente atât în cerebel, cât și în cornul lui Ammon.

Incluziogeneza este invers proporțională cu gradul degenerării neuronale și cu modificările inflamatorii din țesutul nervos

La porc, leziunile regresive ale neuronilor și reacția inflamatorie hiperplazică localizată în cornul lui Ammon, trunchiul cerebral, cerebel și meninge sunt mai ample și exprimate prin manșoane perivascularare, gliază difuză, noduli gliali cu prestadiile de satelitoză și neuronofagie, leptomeningită și plexichoroidită. Incluziile fiind absente în secțiunile histologice examinate, diagnosticul s-a stabilit prin testele IFD și bioproba pe șoareci. Este prima descriere a rabiei la porc.

Pentru diagnosticul infecției cu virusul IBR-IPV (subcapitolul 8.3.) au fost efectuate investigații serologice, bacteriologice și histopatologice la 8 taurine adulte și un vițel, stabilindu-se complicațiile respiratorii cu *Staphylococcus ssp* și *Pasteurella spp* în 6 cazuri și cu o septicemie anaerobă într-un caz. Leziunile anatomopatologice dominante au fost traheobronșita și bronhopneumonii exsudative de diferite tipuri morfologice asociate cu emfizem pulmonar extensiv, hemoragii peteșiale, degenerarea organelor parenchimatoase la animalele adulte, precum și hiperemia botului (“boala botului roșu”), cheratită parenchimatoasă, necroze, eroziuni și ulceratii ale căilor digestive anterioare, la vițel.

Examinarea histopatologică a creierului la 2 taurine cu IBR care nu au prezentat complicații a evidențiat leziuni de meningoencefalită nesupurativă, mai severă în bulb și în cornul lui Ammon, manifestată prin glioză, noduli gliali și manșoane limfohistiocitare perivascularare de diferite grosimi. Incluziile virale intranucleare acidofile au fost observate în neuronii din trunchiul cerebral și cornul lui Ammon și în celulele gliale din manșoanele perivascularare.

Leziunile suplimentare produse de asocierea virusului IBR-IPV cu septicemia anaerobă au fost emboliile bacteriene, necrozele pereților vasculari cu emfizem intramural și perivascular, edem invadant, demielinizări și microfocare de malacie.

Retractarea corpului celular și omogenizarea citoplasmei, condensarea nucleului cu lărgirea spațiului perinuclear, dispunerea cromatinei în filamente circulare și semicirculare, stratificate sub cariolemă sunt aspecte ale hiperchromatozei corticale din debutul apoptozei, imaginile fiind inedite pentru patologia veterinară.

Scrapia ovinelor (capitolul IX) a fost suspiciată în premieră națională, în anul 2002, la două oi, pe baza semnelor clinice neurologice cu predominarea fazei paralitice și a observațiilor histopatologice și analizată în contextul “sindromului status spongiosus”. Investigațiile ulterioare au fost efectuate pe 17 oi, provenite din același efectiv, care au reacționat pozitiv la testul rapid ELISA, diagnosticul fiind precizat prin electroforeză și western blotting de către Laboratorul Național de Referință pentru Encefalopatii Spongiforme Transmisibile din Institutul de Diagnostic și Sănătate Animală București, și confirmat imunohistochimic la Laboratorul Mondial de Referință pentru EST VLA Weybridge, Marea Britanie și validat de IDSA. Leziunile histologice, identice cu cele observate la primele două cazuri, corespund celor descrise în literatura de specialitate străină și constau în vacuolizări ale neuronilor, ale prelungirilor și neuropilului asociate cu glioză variabilă și alte modificări ale substanței nervoase.

Capitolul X se ocupă de morfopatologia unor boli bacteriene, diagnosticate microbiologic în laborator, observațiile proprii fiind expuse în subcapitolele destinate listeriozei la ovine, septicemiei acute cu *Erysipelothrix rhusiopathiae* la porc și dizenteriei anaerobe (enterotoxiemia anaerobă) la purcei.

Listerioza a fost studiată la 5 oi pe segmentele de SNC (punte, bulb, cerebel, tuberculi cvadrigemeni, scoarță, mezencefal). Leziunile histopatologice de listerioză se caracterizează prin asocierea leziunilor proliferative cu cele supurative. Debutază prin diapedeza neutrofilelor sub formă de infiltrații difuze sau agregate celulare care se transformă în microabcese, foarte rar în abcese încapsulate. Proliferarea limfohistiocitară este urmată de satelitoze în jurul neuronilor degenerați, neuronofagii și constituirea nodulilor gliali și a perivascularitelor. Lichefierea enzimatică a substanței nervoase se

recunoaște prin microcavități și depozite de colesterol rezultat din demielinizare în zonele de supurație. Tabloul de encefalită mixtă se completează cu meningită, periependimită, plexichoroidită și pyencefalie.

Rujetul acut la suine, diagnosticat în 4 cazuri prin metode specifice de laborator, s-a manifestat microscopic prin leziuni vasculare reprezentate de hiperemie, tromboze septice, edem, microhemoragii, CID, embolii capilare cu germeni liberi și fagocitați. Tume fierea și vacuolizarea endoteliului, degenerarea și necroza fibrinoidă a arterelor mici și arteriolelor, invazia pereților vasculari de către leucocite vasculită leucocitoclastică și fibroza caracterizează evoluția panarteritei nodoase imune.

Leziunile parenchimatoase din rujet sunt degenerativ-necrotice constând din cromatoliza centrală, necroze ischemice, vacuolizarea neuronilor, nevrogliilor și neuropilului și leucomalacie focală. Leziunile inflamatorii sunt exprimate prin infiltrații celulare limfomacrofagice și gliale cu satelitoze, noduli gliali și dendroglioză fasciculată. Activitatea fagocitară față de bacterii, eritrocite, lipide rezultate din demielinizare și corpi apoptotici este foarte dinamică.

Dizenteria anaerobă a porceilor (Enterotoxiemia anaerobă) a fost investigată histopatologic la 53 porci doar 5 infectați cu *Clostridium perfringens*, diagnosticul fiind asigurat prin izolarea pe medii de cultură specifice și confirmat de bioproba pozitivă pe șoareci albi de laborator și cobai, supernatantul VF producând dermonecroză. Infecția pură a produs leziuni congestivo-hemoragice și distrofice în cerebel, punte, mezencefal și scoarța cerebrală. Leziunile microscopice în cazurile de infecții simple cu *Clostridium perfringens* sunt dominate de porozitatea și lacunarismul substanței nervoase. Vacuolizarea fină, spongioasă este observată atât în neuroni, cât și în nevroglii (în special în astrocite). În infecțiile mixte în care sunt implicați *Clostridium perfringens* și germeni aerobi Gram pozitivi și Gram negativi, spongioza este complicată de meningită și cu infiltrații celulare inflamatorii polimorfe, mai accentuate în trunchiul cerebral.

Leziunile observate în enterotoxiemia anaerobă a porceilor, forma necomplicată, se încadrează în *status spongiosus*.

Capitolul XI , intitulat ” Morfopatologia SNC în unele boli parazitare”, este destinat cenurozei, estrozei și sarcocistozei.

Examinând encefalul la 45 de ovine și 7 capre s-a diagnosticat *cenuroza* în localizare meningeală și encefalică caracterizată prin encefalită traumatică și meningită fibrinopurulentă. Leziunile microscopice constau în leziuni de migrație sub forma traectelor hemoragico-necrotice și supurative și leziuni ale stadiului de localizare, granuloamele parazitare chistice în al căror perete se găsesc celule gigante, celule epitelioid, PMN neutrofile și eozinofile, monocite-macrofage, limfocite, plasmocite, gлии-bastonaș, astrocite, lipomacrofage, gemistocite, corpi granuloși. La distanță se găsesc vacuole, vezicule și cavități de leuco- și polioencefalomalacie.

Cenuroza la capră, descrisă în premieră, induce o reacție inflamatorie mai amplă. Cavitățile chistului conține puroi, germeni, precipitate de calciu, iar stratul periferic al adventiceii, fibroblaste, fibrocite, neocapilare și fibre de collagen. La distanță se produce leptomeningită și anevrisme disecante.

În *estroza* intracraniană supraetmoidală, descoperită la 4 oi, nedescrisă histologic în literatura de specialitate, leziunile meningeale exsudative complexe sunt asociate celor encefalice care constau în

microabcese multiple cu celule polimorfe, inclusiv eozinofile, plasmocite, corpi granuloși, gemistocite și celule gliale, manșoane perivascularare purulente, precum și demielinizare fasciculată. Manșoane de leucocite se identifică și în jurul canalului ependimar penetrând epiteliul și ajungând în lumen. În țesutul nervos se găsesc, de asemeni, numeroase vacuole mici care conțin lichid de edem și precipitate proteice sau microcavități cu material spumos reprezentând teritorii de ramolismen îmbibate cu apă și cu grăsimi diverse rezultate din degradarea mielinei.

Sarcocistoza diagnosticată la 2 oi dintr-un lot de 24 de ovine, cu leziuni în mezencefal, punte și scoarța cerebrală, s-a caracterizat prin tumefierea și proliferarea celulelor endoteliale, fibrinoidoză medială, tromboze, edem și hemoragii perivascularare, gliocitoză cu satelitoze, neuronofagii și noduli gliali. Elementele parazitare, evidențiate prin colorația PAS, au fost prezente în celulele endoteliale, în citoplasma neuronilor și celulelor gliale, libere și sub formă de sarcocisti în substanța albă. Diagnosticul diferențial vizează toxoplasmoza, ale cărei elemente infestante sunt PAS negative și determină în evoluția cronică granuloame cu calcificări și aspecte cicatriceale.

Capitolul XII, denumit “Morfopatologia SNC în toxicoze vegetale” este destinat intoxicațiilor vegetale cu lucernă verde (*Medicago sativa*), cu rogoz (*Carex spp.*) și stânjenel de baltă galben (*Iris pseudocorus*), ale căror leziuni microscopice nu sunt expuse în literatura de specialitate consultată.

Intoxicația vegetală cu lucernă verde (*Medicago sativa*), plantă acumulatorie de nitriți, a fost investigată la 10 vaci, moarte ori sacrificate în urma unei indigestii spumoase. Examenul anatomopatologic a relevat o înmuiere a substanței nervoase, iar examinarea histopatologică a evidențiat microvacuolizarea și lichefierea progresivă a citoplasmei și nucleului neuronilor din trunchiul cerebral, edem vasogen și citotoxic, multiple focare de ramolismen, mari, bine delimitate și confluențe până la pseudochistizare, lipofage și corpi granuloși.

Intoxicația cu rogoz (*Carex spp.*) și stânjenel de baltă galben (*Iris pseudocorus*), a fost investigată pe fragmente de trunchi cerebral, cerebel și mezencefal. Examinarea microscopică evidențiază microtromboze, necrobioze ale celulelor Purkinje și glioză în cerebel, atrofia lamelor cerebeloase prin topirea stratului granular și substanței albe, edem citotoxic, spongiozitatea substanței albe din trunchiul cerebral și leucomalacie periependimară.

Teza se încheie cu 35 concluzii și patru tabele sintetice pe specii în care sunt prezentate bolile studiate, numărul de cazuri investigate histopatologic, metodele de laborator utilizate pentru diagnosticul de certitudine, segmentele de sistem nervos prelucrate, leziunile microscopice concordante cu informațiile bibliografice și contribuțiile științifice personale.