



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
(AMPOSORU)



Fondul Social European
PERISORU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OEPOSORU



USAMV Iași

REZUMAT

Cuvinte cheie: diagnostic paraclinic, rinichi, afecțiuni, pisică

Afecțiunile renale pot fi induse de numeroase procese, rinichii având o capacitate limitată de a răspunde acestora. Rezultatul afecțiunilor renale este, în cele mai multe cazuri, insuficiența renală cronică, aceasta fiind cea mai cunoscută afecțiune în rândul pacienților cu patologie de acest gen, manifestările clinice, progresia și prognosticul fiind variabile în funcție aproape de fiecare caz.

Identificarea precoce a afecțiunilor renale este importantă pentru limitarea tulburărilor secundare și pentru identificarea exactă a etiologiei, în vederea stabilirii unui diagnostic și tratament corect. Dacă agentul etiologic este identificat la timp, tratamentul aplicat poate oferi o șansă de recuperare a funcției renale, însă la pacienții cu insuficiență renală cronică în stadiu avansat, tratamentul nu va duce decât la restabilizarea pacientului, până la o nouă reacutizare a procesului inflamator. Modificările ireversibile din rinichi pot masca adevărata cauză a procesului inflamator, făcând astfel dificilă stabilirea exactă a diagnosticului. Pe lângă stabilirea unui diagnostic precoce este necesară, în același timp, determinarea stadiului nefropatiei, după ghidul pus la dispoziție de Societatea Internațională de Interes Renal (IRIS), în funcție de valoarea creatininei serice, pentru a putea stabili un protocol de monitorizare a pacienților cu insuficiență renală în fază cronică.

Factorii de risc implicați în efectuarea anumitor proceduri de diagnostic cum sunt tehnicile imagistice sau biopsia renală, trebuie bine cântăriți, în vederea aplicării corecte a metodelor de diagnostic în afecțiunile renale.

Până în prezent, în literatura de specialitate, sunt descrise numeroase studii legate de diagnosticul afecțiunilor renale atât în medicina omului cât și în medicina veterinară, studii ce detaliază metode actualizate de diagnostic clinic și paraclinic; modificările continue ale aspectelor patologice impun folosirea de noi metode și markeri necesari în vederea identificării precoce ale afecțiunii renale.



Scopul prezentului studiu a fost de a descrie aplicabilitatea metodelor de diagnostic paraclinic în diagnosticul afecțiunilor renale la pisică, cuprinzând metode de graniță cum sunt metodele imagistice, metodele de laborator, dar și stabilirea unor corelații între aceste metode în vederea optimizării diagnosticului.

Cercetările pentru elaborarea tezei de doctorat cu titlul “*Cercetări privind diagnosticul paraclinic în nefropatii la pisică*” au fost efectuate în cadrul Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Iași și în cadrul Facultății de Medicină Veterinară Frederico II din Napoli, Italia, pe parcursul a patru ani de studii în perioada 1 octombrie 2010 - 1 septembrie 2014. Teza este structurată în două părți: prima parte intitulată “*Stadiul actual al cunoașterii*”, și partea a doua intitulată “*Contribuții personale*”.

Partea I este structurată în 3 capitole, în care sunt sintetizate date din literatura de specialitate privind tema tezei.

Pentru a înțelege pe deplin procesele patologice ce afectează rinichiul este necesară cunoașterea noțiunilor morfofiziologice de bază cu privire la acest organ, de aceea primul capitol al tezei este intitulat “*Date bibliografice privind morfofiziologia rinichiului la pisică*”, surprinzând aspectele morfologice normale ale rinichiului și totodată procesele fiziologice ce au loc la nivelul fiecărui segment, subliniind importanța clinică a fiecărei structuri.

Capitolul II al tezei intitulat “*Etiopatogenia afecțiunilor renale la pisică*”, evidențiază aspecte privind principalele afecțiuni renale clasificate după tipul patogenetic. Ultimul capitol al primei părți, intitulat “*Date bibliografice actualizate privind diagnosticul paraclinic al nefropatiilor la pisică*”, face o trecere în revistă a metodelor de diagnostic paraclinic utilizate în determinarea afecțiunilor renale la pisică, subliniind totodată stadiul actual al cunoașterii în acest domeniu.

Partea a II-a, „Contribuții personale” cuprinde șase capitole (IV-IX). Capitolul IV prezintă scopul și obiectivele tezei, iar următoarele capitole descriu materialele și metodele de lucru, rezultatele obținute și interpretarea lor, discuții și concluzii parțiale. Ultimul capitol include concluziile finale ale tezei, ce sintetizează rezultatele obținute.

Capitolul IV cu titlul “*Scop și obiective*”, descrie scopul și principalele obiective ale tezei alături de activitățile necesare realizării acestora. Scopul principal al tezei a fost de a îmbogăți cunoștințele legate de diagnosticul paraclinic al nefropatiilor la pisică și realizarea unui protocol de diagnostic în vederea descoperirii precoce a acestor afecțiuni pentru a spori eficacitatea tratamentului și a reduce mortalitatea în rândul pacienților afectați de această patologie. S-a avut în



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICIE
IMPOSIBIL



Fondul Social European
PERIOADA 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE

OPEDRU



USAMV Iași

vedere stabilirea unor corelații între procesele patologice întâlnite la nivel renal și datele obținute în urma aplicării metodelor de diagnostic paraclinic. Pentru aceasta au fost monitorizați o serie de parametri sangvini, hematologici, biochimici și urinari, recurgându-se, de asemenea, la diagnosticul prin metode imagistice, analiza urinei și, nu în ultimul rând, la examene anatomopatologice; în cazul ultimului tip de examene, s-au realizat corelații, pentru fiecare tip de afecțiune întâlnită, între valorile parametrilor amintiți și leziunile macroscopice și microscopice renale. Unul din obiectivele majore ale tezei a fost reprezentat de utilizarea diagnosticului imagistic al afecțiunilor renale la pisică, obiectiv realizat prin identificarea cazuisticii prin examen clinic și prin aplicarea tehnicilor de radiologie directă și cu substanță de contrast, a examenului ecografic, inclusiv a tehnicii Doppler, și realizarea examenului computer-tomografic în aceste afecțiuni, acolo unde a fost posibil sau numai dacă era necesar. Un alt obiectiv al tezei a fost aplicarea metodelor de laborator în diagnosticul afecțiunilor renale la pisică, activitățile acestui obiectiv cuprinzând: analize ale sângelui în vederea determinării markerilor hematologici și biochimici specifici afecțiunilor renale la pisică, analize ale urinei, cât și efectuarea examenelor anatomopatologice reprezentate de biopsie, necropsie și examinarea histopatologică a probelor recoltate.

Cercetările din capitolul V intitulat “*Studiu epidemiologic privind nefropatiile la pisică*” au urmărit determinarea prevalenței insuficienței renale la pisică în trei centre veterinare din Europa, scoțând în evidență influența vârstei sau a sexului în evoluția acestei afecțiuni. În studiu au fost incluse pisicile prezentate în perioada noiembrie 2010 – iunie 2014 la cele trei centre veterinare, din numărul total de cazuri fiind selectate doar cele ce au prezentat o patologie renală. În urma rezultatelor obținute, s-a stabilit o prevalență a insuficienței renale (IR) de 10,83% în perioada noiembrie 2010 – iunie 2014 pentru cele 3 centre veterinare. Vârsta masculilor cu IR ($7,9 \pm 4,4$) a fost semnificativ mai mică decât vârsta femelelor cu IR ($9,3 \pm 4,7$) ($p=0,0001$). Vârsta medie a grupului de control a fost de $7,3 \pm 4,9$ ani, fiind semnificativ mai mică față de cea a pisicilor din grupul cu IR ($p=0,0001$). Numărul cel mai crescut al femelelor cu insuficiență renală a fost înregistrat pentru grupul de vârstă 9-11 ani, pe când la masculi pentru grupul 4-5 ani.

Diferențe statistice semnificative au fost înregistrate între media de vârstă a pisicilor cu IR de la Centrul 1 ($10,47 \pm 4,98$) și Centrul 2 ($8,69 \pm 4,47$).

În capitolul VI intitulat “*Metode imagistice utilizate în diagnosticul afecțiunilor renale la pisică*” a fost descris diagnosticul imagistic prin ecografie, radiografie simplă și cu substanță de



contrast, precum și diagnosticul computer-tomografic, în afecțiunile renale la pisică, subliniind aspecte specifice ale tehnicilor de diagnostic și aspectele lezionale. Diagnosticul ecografic a fost aplicat în 194 de cazuri, cel radiologic în 22 de cazuri, iar computer-tomografia a fost aplicată pentru un singur caz. Materialul de studiu a fost reprezentat de pisicile prezentate pentru un examen imagistic al rinichilor în cadrul Clinicii de Medicală și Laboratorul de Roentgendiagnostic al Facultății de Medicină Veterinară Iași, România, în cadrul Centrului Interdepartamental de Radiologie din cadrul Facultății de Medicină Veterinară din Napoli, Italia, precum și în cadrul Clinicii veterinare Laterza din același oraș. În urma examenului ecografic s-au diagnosticat următoarele afecțiuni (număr cazuri): nefrită cronică 72, nefrită acută 30, pielonefrită 1, abcese renale 1, infarct renal 2, rinichi polichistic 16, hipoplazie 1, tumori 14, nefrocalcinoză 1, hidronefroză 24, litiază 24, chiști renali 6, pseudochiști perirenali 4, cumulându-se un număr total de 194 de cazuri. Radiografia simplă a scos în evidență modificări de volum, poziție și modificări ale densității renale, iar radiografia cu substanță de contrast a pus în evidență modificări ale nefrogramei, pielogramei și modificări ale etapei de drenare. În total, 22 de pisici au fost diagnosticate cu afecțiuni renale cu ajutorul radiografiei simple și cu substanță de contrast, aceste metode fiind, în acest fel, examene complementare pe lângă ecografie, ajutând la stabilirea unui diagnostic în special în cazul nefropatiilor obstructive, sau a litiazei renale. Computer-tomografia este o tehnică ce poate fi utilizată în special în cazul nefropatiilor obstructive sau în cazul proceselor neoplazice, însă recomandări în vederea utilizării acestei metode în diagnosticul afecțiunilor renale sunt puține, aceasta putând fi ușor înlocuită de ecografie.

Capitolul VII intitulat “*Cercetări privind metodele de laborator utilizate în diagnosticul afecțiunilor renale la pisică*” cuprinde date referitoare la analiza sângelui, cu determinarea parametrilor hematologici, biochimici cât și a gazelor sangvine. Combinate cu hematologia și analiza urinei, profilele biochimice formează o bază a diagnosticului pentru majoritatea afecțiunilor. Interpretarea rezultatelor biochimice necesită înțelegerea implicării patologice a fiecărui rezultat anormal. Examenul hematologic efectuat a pus în evidență scăderea numărului de hematii, scăderea valorilor hemoglobinei și ale hematocritului odată cu progresia insuficienței renale de la un stadiu la altul. Anemia în afecțiunile renale cronice este o anemie normocromă, normocitară nonregenerativă, ce rezultă, în principal, în urma deficitului de producție al eritropoetinei de către rinichi și, în special, al lipsei efectului trofic al eritropoetinei asupra



măduvei osoase hematogene. Deasemenea, a fost observată o neutrofilie cu limfopenie moderată, aceasta din urmă fiind datorată efectului glucocorticoid din insuficiența renală.

Examenul biochimic a fost efectuat pentru 198 de cazuri din cele 384 luate în studiu, fiind observată o diferență semnificativă a BUN între stadiul I și stadiile III și IV. Pentru creatinina s-a observat o diferență statistic semnificativă între stadiul I și toate celelalte stadii, cât și între stadiul II față de stadiul III și IV și între stadiul III față de stadiul IV de insuficiență renală, creatinina dovedindu-se a avea o specificitate mai mare în diagnosticul afecțiunilor renale decât BUN. Valori crescute ale fosforului au fost observate pentru stadiul IV, în timp ce stadiul II și III nu au arătat o diferență statistic semnificativă în raport cu valorile din stadiul I. Nu s-au înregistrat diferențe statistice semnificative pentru colesterol, calciu, sodiu, amilaza serică. În urma analizei statistice a datelor obținute prin examenul gazelor sangvine, s-a observat o scădere a valorilor $Tc\ CO_2$ și HCO_3 pentru stadiile III și IV, în raport cu stadiul I. Valorile scăzute ale HCO_3 pentru stadiile III și IV indică instalarea acidozei metabolice de origine renală datorată incapacității rinichilor de a elimina materialul metabolic acid.

Un alt subcapitol tratează aspecte ale analizei urinei în cazul pacienților cu insuficiență renală. Referitor la metodele de recoltare a urinei, cistocenteza a fost tolerată foarte bine de pisici, iar probele de urină, în majoritatea cazurilor, au fost sterile. Dintre parametrii urinari examinați, nu s-au observat diferențe statistice semnificative ale greutății specifice și pH-ului în funcție de stadiul insuficienței renale. Cu toate acestea, greutatea specifică a urinei poate fi un marker al disfuncțiilor tubulare, caracterizate de diminuarea funcțiilor de reabsorbție și secreție tubulară. Prin examenul sedimentului urinar, au fost identificate cristale indiferent de stadiul insuficienței renale. Ponderea cea mai ridicată a fost reprezentată de cristalele de struviți, urmate de cristalele de oxalat de calciu și cristalele de urați.

Ultimul subcapitol oferă date despre examenele anatomo-patologice, reprezentate de necropsie, biopsie și examenul histopatologic. Tehnica biopsiei este descrisă pe scurt în acest subcapitol. Materialul de studiu a fost constituit din pisicile necropsiate în perioada noiembrie 2010 – iunie 2014 în cadrul disciplinei de Morfopatologie și Medicină Legală a Facultății de Medicină Veterinară Iași. În cadrul examenului necropsic, rinichii au fost examinați la suprafață după decapsulare, apoi au fost secționati pe marea curbura pentru examinarea bazinetului, corticalei și medularei. Biopsia renală a fost realizată fie cu ajutorul ghidării ecografice, fie prin tehnica blind. Vascularizația renală a fost identificată în prealabil cu ajutorul Doppler-ului color, pentru a evita puncționarea vaselor de calibru mare și producerea unei hemoragii



considerabile. Probele histologice au fost prelucrate în cadrul Laboratorului de Biologie Celulară, Histologie și Embriologie a Facultății de Medicină Veterinară Iași.

Pieseile recoltate au fost fixate în formol 24 de ore, deshidratate, clarificate, impregnate cu parafină și incluse la parafină. În vederea examenului histologic s-au obținut secțiuni de 5 μm , ce au fost apoi colorate HEA și PAS, MASSON, Van GIESSEN, Von KOSSA și NOVELLI. Cuantificarea patologiei renale cu ajutorul analizei digitale a imaginilor a fost realizată cu ajutorul softului convențional Image J.

Deasemenea, în vederea corelării ulterioare a datelor biochimice cu rezultatele histologice, s-a aplicat un sistem de scoring histologic, fiind calculați indicii de activitate glomerulară (GAI), indicele de activitate tubulară (TAI), cât și indicele de cronicitate. În vederea realizării acestui lucru fiecare leziune a primit un scor de la 0 la 3.

Anatomopatologic, au fost examinate necropsic 40 de cazuri, dintre care: 7 pisici cu diabet, 11 cu insuficiență renală, 2 cu intoxicații, 4 cu tumori renale, 2 cu hidronefroză, 2 cu litiază renală, 4 cu chiști renali, 1 cu hipoplazie, 1 cu pielonefrită, 6 morți din alte cauze; probe de biopsie au fost recoltate de la un singur caz. Aspectele macroscopice și microscopice au fost descrise pe larg pentru fiecare afecțiune. În urma măsurătorii ariei ghemului vascular glomerular au fost obținute valori medii de $5708 \pm 2348 \mu\text{m}^2$ pentru pisicile eutanasiate din altă cauză decât cea renală, $6760 \pm 1208 \mu\text{m}^2$ pentru pisicile diabetice și $4768 \pm 960,8 \mu\text{m}^2$ pentru pisicile cu insuficiență renală cronică. Leziunile întâlnite pentru cele 7 cazuri de pisici cu diabet au fost reprezentate de scleroza glomerulară cu îngroșarea membranei bazale, cilindri de glicogen sau hialin și focare de infiltrație limfohistiocitară. Chiștii renali, în maladia polichistică autozomală, au un caracter familial, fiind întâlniți de obicei la pisicile din rasa Persană, sau la metișii acestei rase. Chisturile renale sunt datorate maladiei renale polichistice sau pot fi dobândite datorită compresiunii limfohistiocitare sau prezenței calculilor.

Indicele de activitate glomerulară a fost mai redus în cazul insuficienței renale cronice decât pentru pisicile cu insuficiență renală acută sau diabet. Indicele de cronicitate a prezentat valori crescute în raport cu celelalte două grupuri de afecțiuni pentru insuficiența renală cronică. Este util să obținem probe de țesut renal pentru examen citologic și examen histologic la unii pacienți cu afecțiuni renale. Cu toate acestea, biopsia rinichiului este rar utilizată, fiind o metodă invazivă ce presupune sedarea în prealabil a animalului, implicând astfel riscuri destul de mari la pacienții cu acest tip de afecțiuni. Examenul histopatologic în urma biopsiei renale și corelarea



acestui cu alte metode de laborator constituie calea spre un diagnostic, prognostic și o terapie corectă în cazurile clinice de nefropatii la animalele de companie.

Capitolul VIII intitulat *“Corelații între rezultatele paraclinice și modificările diagnosticate în afecțiunile renale la pisică”*, a avut în vedere corelarea examenelor macroscopice cu examene de tip direct, așa cum sunt analizele sangvine, anatomopatologice sau biopsia renală, această corelare fiind de un real ajutor în stabilirea unui diagnostic corect și, implicit, a unui protocol terapeutic ținut pe afecțiunea diagnosticată. Pentru a sublinia importanța acestor corelații, au fost realizate două studii, discutate pe larg în acest capitol, studii privind evaluarea patologiei renale cu ajutorul indicelui de rezistivitate Doppler (IR) și expresia nerve growth factor, a receptorului său specific Tropomiosin kinaza A și imunoglobulina G în rinichii pisicilor cu diabet și insuficiență renală cronică.

Pentru realizarea primului studiu s-au luat în considerare pisicile prezentate la Centrul Interdepartamental de Radiologie Veterinară din Napoli, în perioada Ianuarie 2003 – Aprilie 2014, supuse unui examen ecografic al tractului urinar; în total, au fost incluse în studiu 116 pisici. Grupul pisicilor sănătoase a fost reprezentat de 24 de subiecți, 15 masculi și 9 femele, vârsta medie a acestora a fost 6,5 ani, variind de la 5 luni până la 15 ani; grupul pisicilor cu afecțiuni renale a fost reprezentat de 92 de pisici, 53 masculi și 39 de femele, dintre care 20 cu nefrită cronică, 14 cu nefrită acută, 13 cu rinichi polichistic, 12 cu insuficiență renală în stadiu final, 12 cu litiază renală, 11 cu hidronefroză, 10 cu tumori renale (3 carcinoame focale, 7 limfoame difuze). Valoarea medie a indicelui de rezistivitate obținută pentru subiecții normali a fost diferită semnificativ pentru cei doi rinichi, situație inedită pentru studiile realizate, în medicina veterinară, până în prezent. Deasemenea, rezultatele noastre, au arătat o slabă corelație pozitivă între rinichiul stâng și vârstă. Cu toate acestea, grupând pisicile sănătoase pe grupe de vârstă nu a fost obținută nici o diferență semnificativă între vârstă și IR. Lipsa corelației cu vârsta la pisici, permite utilizarea IR la subiecți indiferent de vârstă.

Pentru cel de-al doilea studiu au fost luate în considerare 7 pisici cu diabet și insuficiență renală cronică, de la care s-a prelevat material tisular în vederea examinării histopatologice și realizării studiului imunohistochimic. Rezultatele examenului histologic au pus în evidență leziuni glomerulare nodulare de tip Kimmelstiel-Wilson, hialinizare glomerulară, fibroză interstițială și proteinurie, de asemenea, s-a observat atrofie tubulară și scleroză glomerulară și ușoară expansiune mesangială în corelație cu severitatea fibrozei interstițiale.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
IMPROBATE



Fondul Social European
PERIOADA 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
DEPOSDRE



USAMV Iași

În urma reacțiilor imunohistochimice s-a observat supraexpresia intraepitelială a IgG la nivelul tubilor proximali cu nucleii intens colorați. Nu au fost observate depozite de Ig G în glomeruli. S-a observat exprimarea intensă a NGF (nerve growth factor) și a receptorului său Tropomiosin receptor kinaza A (TrkA) în celulele tubulare, fiind vizați în special tubii contorți proximali și distali.

Aceste studii vin să completeze datele deja existente în literatura de specialitate și să aducă informații noi ce vor îmbunătăți diagnosticul, prognosticul și eventual tratamentul afecțiunilor renale la pisică.

Ultimul capitol al tezei, capitolul IX, cuprinde concluziile generale ale cercetărilor cu privire la diagnosticul paraclinic al nefropatiilor la pisică.