

## SINTEZA LUCRĂRII

În perioada de raportare, materialul de studiu a fost reprezentat de rinichii proveniți de la 28 cadavre de câini decedați sau eutanasiați, printre care și câini comunitari, cu organopatii diverse, din care 19 au prezentat modificări morfopatologice de intensități variabile, la nivelul rinichilor.

Examenele citologice ale rinichilor pe cainii în viață s-au efectuat prin puncția ecoghidată cu ac fin. Câinii au fost în prealabil aneștiizați, regiunea lombară a fost tunsă și asepticată în vederea puncției. Puncția s-a realizat prin aspirarea cu o seringă de 5 ml cu ac G22. Preparatele au fost colorate May-Grunwald-Giemsa și examinate la microscopul optic.

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 secționare la 5 μm. și colorate prin metodele Hematoxină-Eozină (colorația bicromică, HE) Hematoxină-Eozină - Albastru de metil ( col. tricromică Masson, HEA), Hematoxină-Eozină-Safran (HES), Acid Periodic-Fuxină Schiff (PAS), Acid Periodic - fuxină Schiff – verde luminos (PAS-verde luminos), roșu de Congo.

### ASPECTE HISTOLOGICE IN GLOMERULONEFRITELE IMUNE

#### 1. Glomerulonefrita membranoasă

Glomerulonefrita membranoasă este o leziune nespecifică declanșată de stocajul depozitelor imune circulante, foarte discrete, pe suprafața epitelială a membranei bazale glomerulare și lipsită într-o primă fază de fenomene inflamatorii.

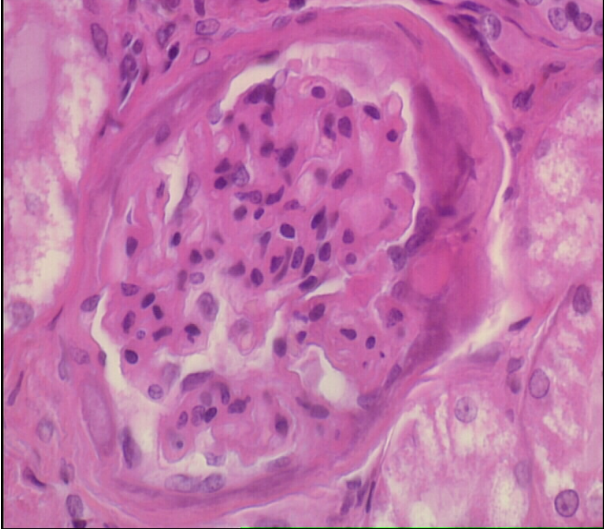
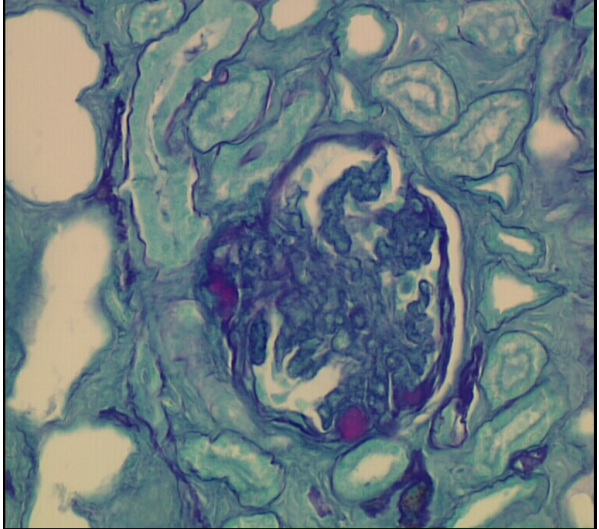
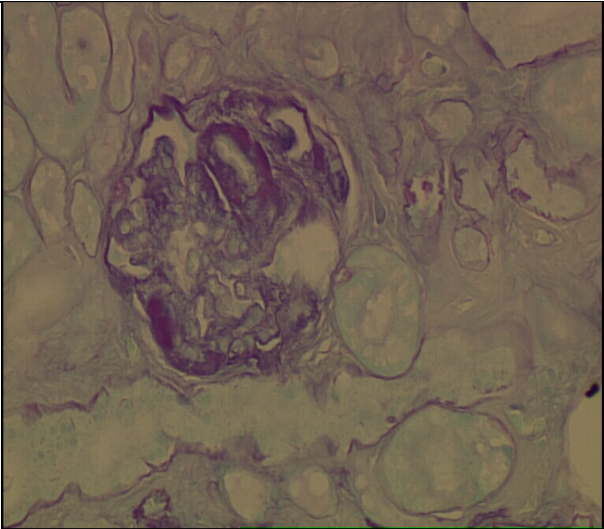

Ulterior, are loc o ușoară îngroșare a membranei bazale și fuziunea difuză sau focalizată a proceselor podocitelor peste depozitele imune prezente la nivel membranar. Podocitele apar tumefiate iar procesele podocitare conțin un material granular.

În stadiile evolutive tardive, spiculi membranari se contopesc (fuzionează) cu depozitele membranare imune, peretele capilar îngroșându-se considerabil. Ulterior îngroșarea membranelor bazale devine evidentă prin noul material membranar sintetizat.

La cazurile examinate de noi, leziunea nu prezenta corespondent macroscopic.

Din punct de vedere al extensiunii procesului, leziunea se remarcă printr-un caracter focal segmentar.

Histologic, membrana bazală glomerulară apare mult îngroșată (de aproximativ 5-6 ori), mai ales la nivelul capilarelor glomerulare periferice (solitare), fiind distorsionată și cu aspect cutat (aspect de tirbușon- *wire loop*). Lumenul capilarelor afectate era normal, sau chiar destins și gol. De asemenea s-a remarcat și o ușoară proliferare a celulelor mezangiale și creșterea matricei mezangiale. În plus s-a constatat steatoză și distrofie granulară tubulară, expresie a alterării permeabilității membranelor glomerulare (Fig. 1-4).

	
<p>Fig.1 Glomerulonefrita membranoasa, Col. HE, x 400</p>	<p>Fig.2 Membranele bazale glomerulare foarte îngroșate și dedublate. Col. PAS-verde luminos, x200</p>
	
<p>Fig.3 Membranele bazale glomerulare foarte îngroșate și dedublate. Col. PAS-verde luminos, x200</p>	<p>Fig.4 Glomerulonefrita membranoasă. Col. HEA, x1600</p>

În final, membrana bazală glomerulară își pierde sarcina polianionică și devine foarte permisivă, mai ales pentru proteinele serice. Astfel, se dezvoltă proteinuria și sindromul nefrotic.

În unele cazuri, 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.

Din punct de vedere clinic, glomerulonefritele membranoase sunt parte intergrantă din sindromul nefrotic(15). Majoritatea glomerulonefritelor membranoase evoluează generalizat sau global, fiind idiopatice (compoziția complexelor imune circulante nu a putut fi identificată) sau fiind 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), tulburări metabolice sistemice (diabet, tiroidite) sau idiopatice (complexe imune neidentificate).

### **Glomerulonefrita mezangio-proliferativă**

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

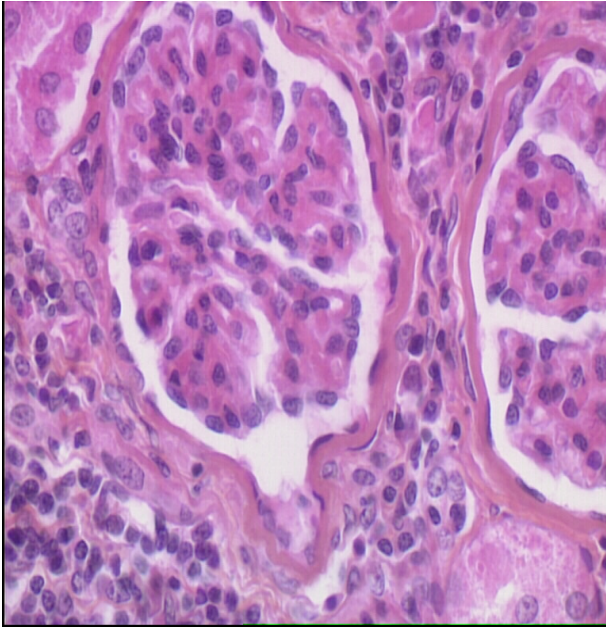
Acest tip de glomerulonefrite imune este cel mai frecvent întâlnit, fiind dominat de modificările celulare și matriceale ale mezangiului glomerular, traduse morfologic printr-o creștere mai mult sau mai puțin marcantă a numărului de celule din structura acestuia, ca urmare a proliferării celulelor mezangiale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

La examinarea histologică, glomerulii s-au evidențiat măriți în volum, ocupând cea mai mare parte a cavității glomerulare. Capilarele aveau membranele bazale subțiri. Lumenele capilarelor erau turtite, lipsite de sânge, uneori inexistente.

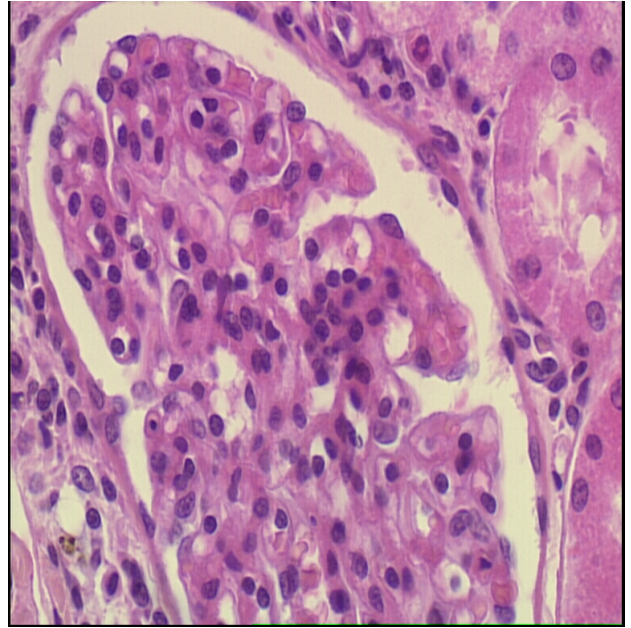
Proliferările mezangiale au dus la apariția tendinței de separare a lobulilor glomerulari.

Celulele proliferate observate au fost celulele mezangiale, celulele epiteliului visceral, monocitele, celulele endoteliale și uneori chiar celulele epiteliului parietal. S-au constatat de asemenea aderențe între glomerul și capsula Bowman (**Fig. 5-9**).

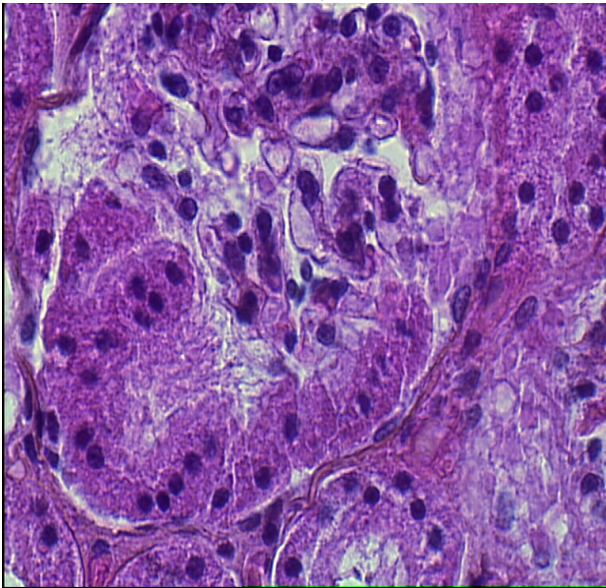




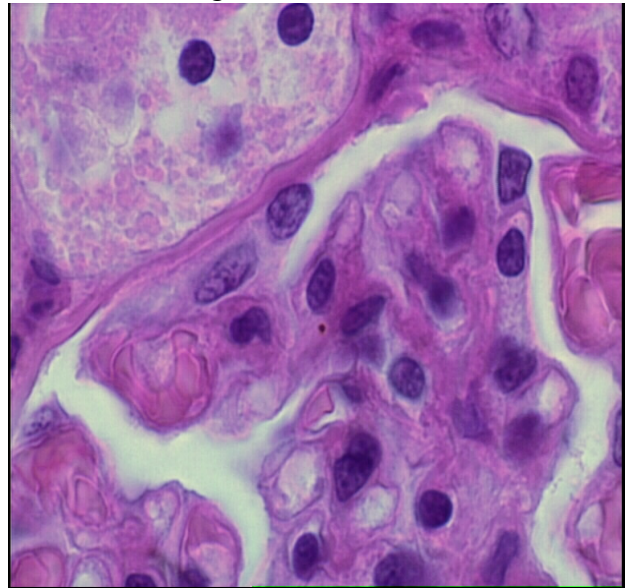
**Fig.5** Glomerulonefrită mezangio-proliferativă.  
Proliferările mezangiale  
au condus la tendința de separație a lobulilor  
glomerulari.  
Col.HES, x400



**Fig. 6** Proliferării celulelor mezangiale și  
endoteliale asociate cu celulele inflamatorii  
(polinucleare, celule mononucleate), creșterea  
matricei mezangiale și acumularea depozitelor  
mezangiale, Col. HE, x1000

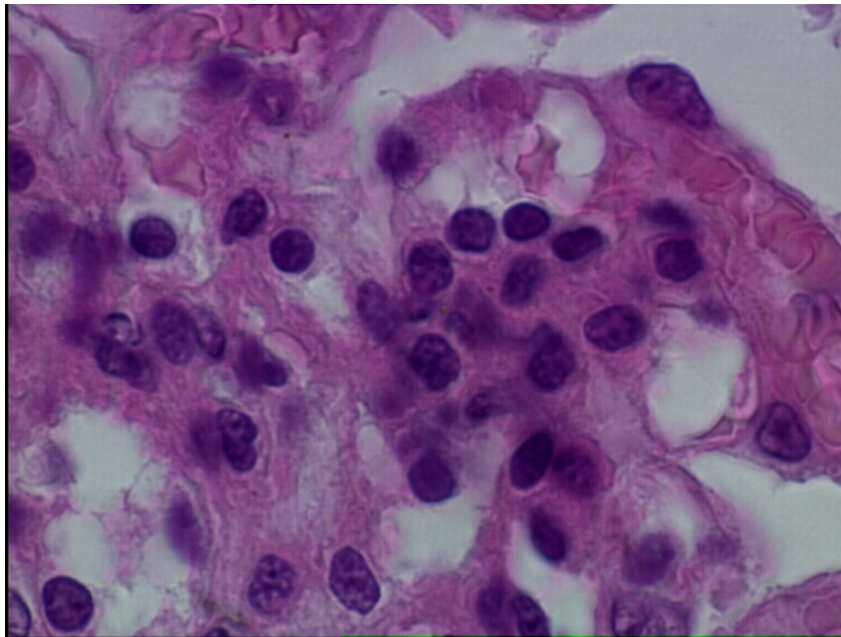


**Fig.7** Proliferarea epiteliului parietal – capsula  
Bowman. Col. HE, x1000



**Fig.8** Aderențe între glomerul și capsula  
Bowman Col. HE, x1600





**Fig. 9.** Glomerulonefrită mezangio-proliferativă.

Col. HE, x 1600

Glomerulonefritele mezangio-proliferative pot evolua fie sub aspect global, cuprinzând întreg glomerulul, fie segmentar, afectând doar lobuli glomerulari singurari.

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.

În unele cazuri, glomerulonefritele mezangio-proliferative sunt reprezentate de modificări mezangiale și matriceale limitate exclusiv la regiunea axială a glomerulului, fără a modifica lumenul capilarelor glomerulare.

Aceste fenomene proliferative au drept consecințe scleroza glomerulară segmentară și chiar generală, colabarea capilarelor glomerulare și adeziuni între ghemul vascular și capsula Bowman.

În microscopia electronică se poate observa fuziunea pedicelilor podocitelor. Depozitele extra-membranare sunt excepțional de rar observate în microscopia electronică dar prin intermediul imunohistochemiei se pot evidenția depozite regulate, omogene sau granulare dispuse subendotelial de-a lungul membranei bazale glomerulare care conțin Ig G și Ig M, fără fracțiunea C3 a complementului.

Cea mai mare parte a proliferărilor celulare sunt mediate de factori derivați din complement și plachete. A fost pus în evidență faptul că, creșterea numărului de celule și a matricei mezangiale este acompaniată de creșterea expresării PDGF (factorul de creștere a

derivatelor plachetare) secretat de celulele endoteliale și a proteinelor receptor-PDGF, demonstrându-se faptul că proliferarea celulară are la bază un mecanism autocrin.

Bilanțul cantitativ și calitativ al acestor leziuni este indispensabil în prognosticul histologic.

În literatura de specialitate, apariția glomerulonefritelor proliferative segmentare sau globale a fost observată în infecția cu *Leishmania* la câine, plasmocitoza nurenilor, la cal și la pui de găină în infecția cu *Streptococcus zooepidermicus*.

### **Glomerulonefrita membrano-proliferativă**

Glomerulonefritele membrano-proliferative (MPGN), numite de asemenea și glomerulonefrite mezangio-capilare reprezintă o entitate morfo-clinică ce se caracterizează prin proliferarea celulelor rezidente (endoteliale și mezangiale) și în același timp prin îngroșarea și reduplicarea membranei bazale glomerulare, deci întrunește ambele aspecte ale glomerulonefritelor membranoase și mezangio-proliferative.

În plus, au fost constatate și alte modificări reprezentate de aflux leucocitar, microtromboze și proliferări ale epiteliului parietal al capsulei Bowman. Leziunile tubulointerstițiale depind de durata și gravitatea glomerulitei (alterarea permeabilității capilarelor glomerulare **(Fig.10)**).

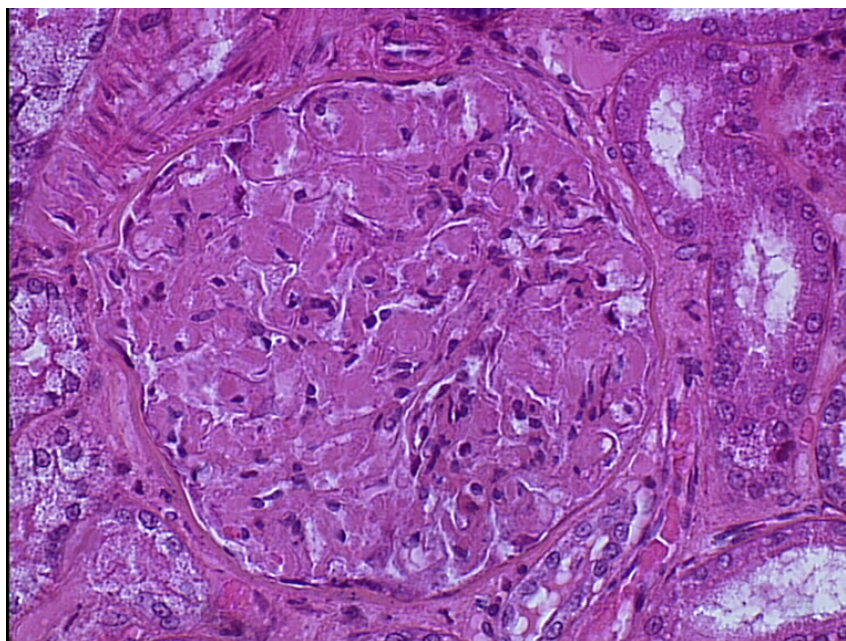
În evoluția cronică s-au constat proliferări conjunctive periglomerulare și peritubulare și atrofia treptată a nefronului.

Aceste aspecte morfologice sunt considerate leziuni intermediare ce se finalizează prin glomerulonefritele cronice generalizate și care duc spre insuficiență renală cronică.

Modificările structurale în cadrul acestui tip de leziune explică de ce pacienții manifestă hematurie și nefrită concomitent cu proteinurie și sindrom nefrotic.

Glomerulonefritele membrano-proliferative pot fi idiopatice (GN.primare) ca în majoritatea cazurilor sau, asociate unor afecțiuni sistemice sau unei etiologii bine definite (GN. secundare). La câini, glomerulonefritele membrano-proliferative evoluează predominant ca boală idiopatică (Trautwein, 2000). Totuși, datele recente sugerează faptul că, în unele situații este posibilă asocierea acestui tip de leziune cu boli sistemice sau infecții bacteriene (leishmanioza și borelioza la câine) și neoplazii.

În ansamblu, această categorie de glomerulonefrite este reprezentată de leziuni severe care nu permit vindecarea fără sechele.



**Fig.10** Glomerulonefritele membrano-proliferative, Col. HE, x1000

### **Glomerulonefritele proliferative**

#### **Glomerulonefrita sclerozantă**

Leziunea poate debuta fie din cauze glomerulare (compresiuni în interiorul capsulei, tulburări circulatorii, tipurile de glomerulopatii descrise anterior, etc), fie extraglomerulare (inflamații interstițiale, compresiuni exterioare asupra glomerulului, întreruperea irigației sanguine glomerulare, etc).

Din punct de vedere morfologic s-au deosebit mai multe aspecte în evoluția sclerozei glomerulare. În cazuistica noastră leziunea a fost identificată la 5 cadavre de câini, cu evoluție segmentară sau difuză.

În unele cazuri s-a remarcat debutul centrifug al sclerozei de la nivelul mezangiului (uneori de la polul bazal) și a capilarelor glomerulare spre capsula Bowman prin activarea celulelor mezangiale și creșterea sintezei matricei mezangiale cu grade variate de colagenizare, proliferarea epiteliului parietal al capsulei Bowman și apariția sinechiilor inter-epiteliale glomerulare (epiteliu visceral-epiteliu parietal).

Una alt aspect frecvent întâlnit a fost reprezentat de acumulările 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, proliferarea celulelor și fibrelor conjunctive în mezangiul glomerular și periglomerular.

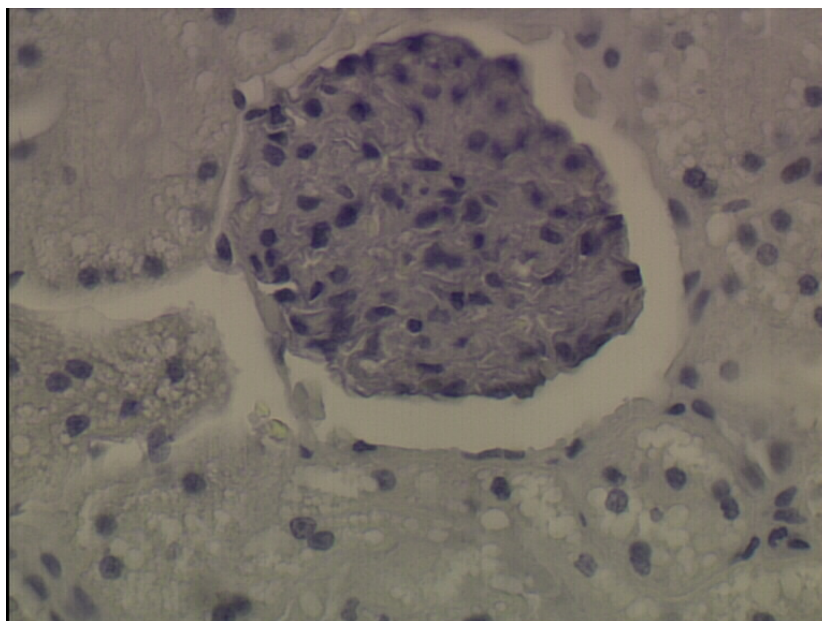
La alte cazuri s-a remarcat o scleroză centripetă, proliferarea fibrelor conjunctive pornind de la nivelul capsulei glomerulare cuprinzând apoi întreg glomerulul.



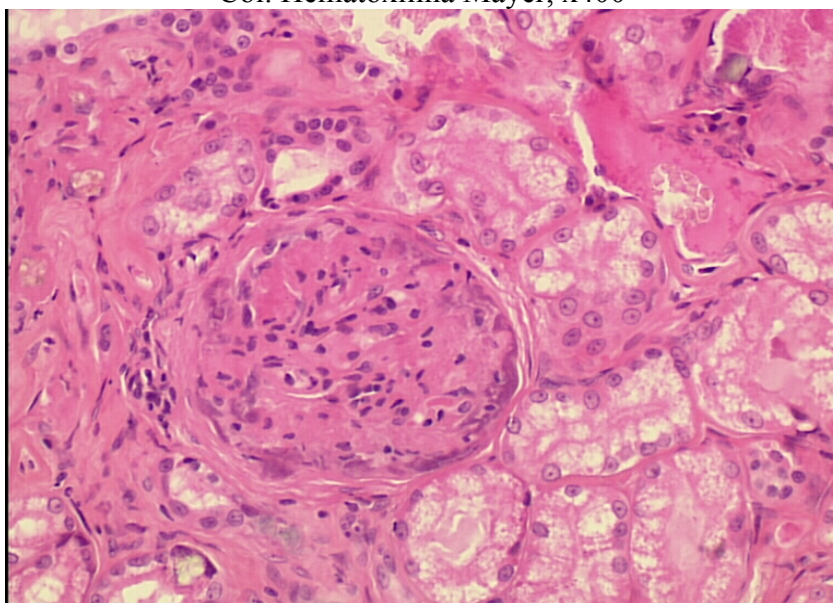
Scleroza se finalizează prin transformarea glomerulului sau numai a ghemului vascular într-o masă de celule și fibre conjunctive stratificate concentric sau se poate rezuma doar la constituirea unei cicatrici fibroase în care se pot distinge vagi vestigii din structura ghemului vascular. Cu timpul, un număr mare de glomeruli dispăre împreună cu tubii dependenți (**Fig.10-13**).

Infiltrația limfocitară se extinde și în interstițiu înlocuind treptat tubii uriniferi cu cicatrici conjunctive. Tubii conectați la glomerulii funcționali se dilată și apoi manifestă fenomene regenerative.

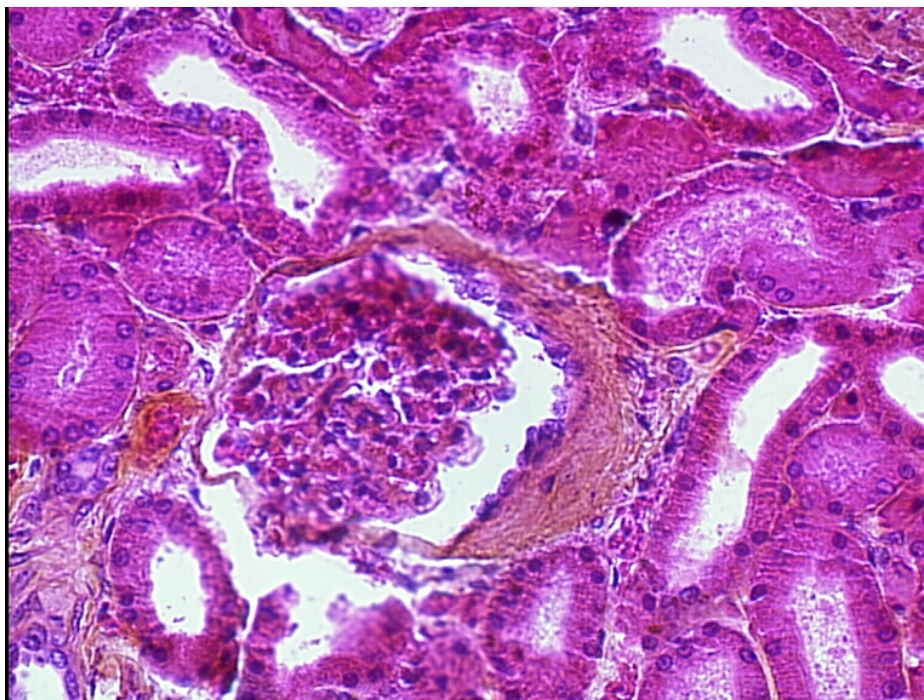
Glomerulonefrita sclerozantă este tipul de inflamație spre care pot evolua toate formele de glomerulonefrite acute și subacute.



**Fig.11** Proliferarea celulelor și fibrelor conjunctive în mezangiul glomerular și periglomerular, Col. Hematoxilina Mayer, x400



**Fig.12** Proliferarea celulelor și fibrelor conjunctive în mezangiul glomerular și periglomerular,



**Fig. 13.** Scleroză glomerulară, Col. HES, x400

#### **ASPECTE CITOLOGICE IN GLOMERULONEFRITELE IMUNE**

Examinarea citologica poate fi un instrument de diagnostic extrem de util în cazul unor anumite leziuni renale, în special a neoplasmelor.

Deși examinarea citologica a probelor recoltate prin aspirație cu ac fin nu permite caracterizarea a numeroase leziuni din cauza imposibilității de a vizualiza arhitectura celulară în ansamblu, oferă totuși destule informații pentru un diagnostic care să orienteze demersul clinic și este considerabil mai puțin invaziv decât biopsia.

Complicațiile consecutiv aspirației cu ac fin a probelor de țesut renal sunt extrem de rare, în condițiile respectării tehnicii de lucru. Prima indicație pentru aspirația cu ac fin este identificarea unor anomalii de mărime sau formă a rinichilor. Probele recoltate de la pacienții cu renomegalie uni- sau bilaterală oferă cel mai adesea informațiile necesare unui diagnostic; din contra, în cazul rinichilor micșorați în volum, rareori se poate identifica cauza. Leziunile din care se recoltează pot fi lichide sau solide, iar examenul citologic poate caracteriza procesul ca fiind chistic, inflamator sau neoplazic. Trebuie să ținem cont însă de faptul că imposibilitatea evidențierii unei leziuni prin examenul citologic nu constituie o indicație de certitudine a absenței acesteia, deoarece este foarte posibil ca proba recoltată să nu fi fost reprezentativă. Utilizarea examenului ecografic pentru recoltarea probelor poate fi extrem de util în detectarea zonelor optime cu leziuni. Având în vedere vascularizația bogată a rinichilor, contaminarea

sangvină a probelor este o problemă frecventă. Utilizarea unei tehnici non-aspiratorii facilitează recoltarea unor probe care să nu fie foarte contaminate. De asemeni, trebuie ținut cont de faptul că leziunile solide, bogat celulare, oferă probe cu celularitate mult mai mare decât leziunile inflamatorii sau degenerative. Examenul citologic al rinichiului are extrem de puține contraindicații, cea mai importantă fiind legată de stabilirea timpului de sângerare pentru fiecare pacient.

De asemeni, se impune o bună conțenție și imobilizare a pacientului, și fixarea manuală a rinichiului lipit de peretele abdominal. În cazul leziunilor difuze, puncția poate fi făcută în orb; se preferă însă efectuarea puncțiilor ecoghidate, pe pacienți sedați sau anesteziați.

Pielea este curățată și decontaminată ca și cum ar fi pregătită pentru o intervenție chirurgicală; pacientul este conțenționat în decubit lateral iar rinichiul este imobilizat manual lipit de peretele abdominal. Se preferă utilizarea unei tehnici fără aspirație: acul se atașează la o seringă de 10-12 cc care a fost în prealabil umplută cu aer; în funcție de natură leziunii, acul este direcționat fie direct în centrul acesteia (leziuni focale) fie tangențial (leziuni difuze). Trebuie evitat hilul renal pentru a preveni declanșarea unor hemoragii grave. Acul trebuie să patrundă pe o adâncime egală cu aproximativ 2/3 din grosimea leziunii; mișcarea se repetă de 5-7 ori. Puncțiile trebuie efectuate într-un singur plan, pentru a evita leziuni vasculare extinse. Se poate recolta din 2-3 zone diferite ale leziunii, repetând de fiecare dată procedeul descris.

Recoltarea a minim 5 lame din fiecare zonă a leziunii crește șansele de a obține o probă diagnosticabilă. Dacă în ac sau seringă apare sânge, recoltarea trebuie întreruptă. După recoltare, materialul de pe ac trebuie dispersat pe capatul unei lame de sticlă și apoi etalat încet cu ajutorul altei lame.

Dacă proba recoltată este lichida și limpede, fapt ce sugerează celularitate redusă, se recomandă sedimentarea acesteia.



**Fig.14** Pregătirea animalului



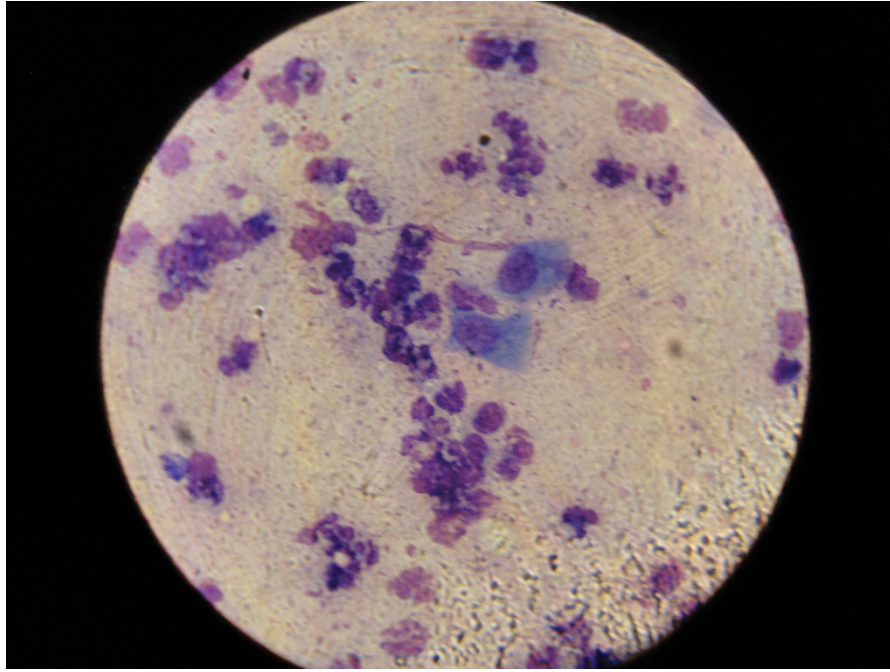


**Fig. 15** Puncție renală cu ac fin ecoghidată

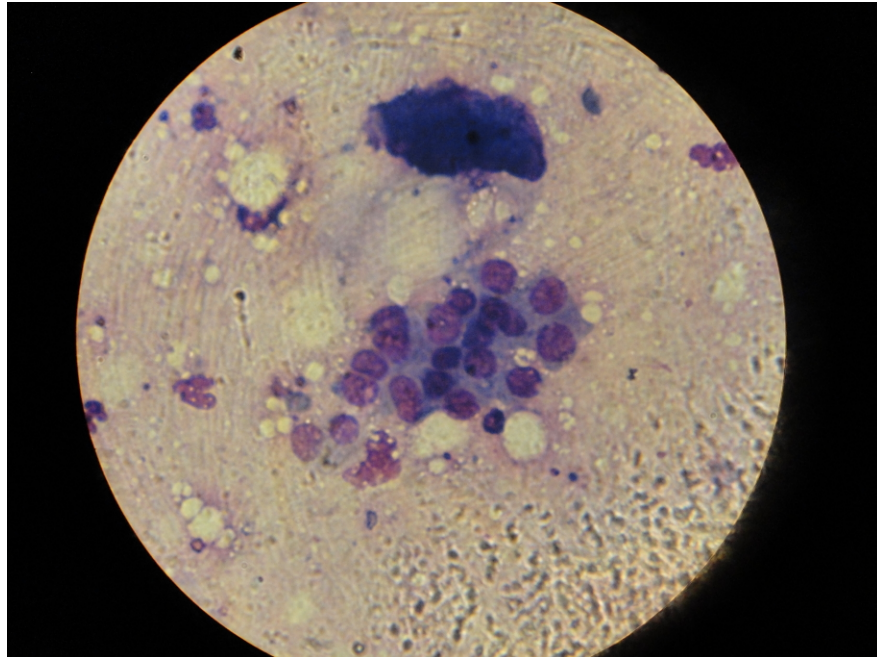


**Fig.16** Imagine ecografica rinichi din momentul puncției

La 9 cazuri de insuficiență renală, diagnosticată clinic prin examene de urină și biochimice sanguine, s-a recurs la puncție renală ecoghidată cu ac fin. Examinarea preparatelor colorate MGG a evidențiat pielonefrite purulente remarcate prin prezența de celule epiteliale tubulare renale, vacuolizate cu nucleu rotund, central cu citoplasmă abundentă, intens bazofilă, nucleoli vizibili, de diferite dimensiuni și granulocitelor neutrofile hiperhidratate, hipersegmentate (Fig.17,18).



**Fig.17** Neutrofile degenerate, rare celule epiteliale tubulare. MGG, x 1000



**Fig.18** Placarda de celule epiteliale tubulare. MGG, x 1000