

REZUMAT

Teza de doctorat cu titlul „*Cercetări privind bolile autoimune la câine și pisică*” a avut ca punct de plecare, în primul rând, natura restrânsă a cercetărilor privind aceste maladii în România, scopul practic fiind stabilirea repartizării maladiilor autoimune la câine și pisică pe teritoriul Moldovei, în funcție de rase, vârste și sex, evaluarea parametrilor hematologici, imunologici și imunohistochimici în bolile autoimune pentru stabilirea unor corelații în ceea ce privește modificările acestora o dată cu apariția autoanticorpilor, testarea sensibilității și specificității unor teste de diagnostic imunologic care pot stabili un diagnostic de boală autoimună, precum și încercarea modestă de a găsi corelații științifice și practice între peritonita infecțioasă felină și maladiile autoimune la pisici.

Teza are 415 pagini și este formată, în conformitate cu prevederile legale actuale, din două părți principale: prima parte intitulată „*Stadiul actual al cunoașterii*” cuprinde 117 pagini 8 tabele și 6 figuri, iar partea a doua „*Contribuții personale*” ocupă 223 pagini, 32 tabele, 12 grafice și 119 figuri pentru o mai bună prezentare a cuprinsului.

Prima parte este alcătuită din patru capitole în care sunt prezentate succint, informații din literatura de specialitate referitoare la subiectul tezei care au fost folosite ulterior pentru interpretarea și compararea datelor obținute în partea a doua.

Primul capitol intitulat „*Imunitatea și sistemul imunitar*” cuprinde 4 subcapitole în care sunt prezentate structurile componente ale sistemului imun (organele limfoide centrale și periferice, celulele cu rol în imunitate, moleculele sistemului imunitar) și modul lor de interacțiune pentru a asigura homeostazia imunologică a organismului.

În cele 3 subcapitole ale capitolului 2 intitulat „*Toleranța și autoimunitatea*” sunt prezentate date din literatura de specialitate legate de capacitatea sistemului imun de a recunoaște și tolera selful, de factorii ce duc la ruperea aceste toleranțe și instalarea stării de autoimunitate, precum și apariția și modul de acțiune al autoanticorpilor.

Capitolul 3 intitulat „*Generalități privind bolile autoimune*” cuprinde 4 subcapitole în care sunt prezentate succint clasificarea bolilor autoimune în conformitate cu datele existente în literatura de specialitate, factorii care favorizează instalarea unei boli autoimune, precum și mecanismele generale ale ruperii toleranței. O importanță deosebită o

prezintă și mecanismele celulare și moleculare ale progresiei maladiilor autoimune, atât a celor sistemice cât și a celor organospecifice.

Capitolul 4 intitulat “**Bolile autoimune**” prezintă în cadrul a 9 subcapitole date referitoare la bolile autoimune sistemice (lupusul eritematos sistemic, poliartrita reumatoidă, amiloidoza, dermatomiozita, sindromul Sjögren), precum și la bolile organospecifice ale glandelor endocrine (tiroidita Hashimoto, diabetul zaharat Tipul I de diabet insulino-dependent, hipoadrenocorticismul - boala Addison), ale sistemului nervos central (myastenia gravis, encefalita câinilor mops (PDE), encefalita alergică, coonhound paralysis, meningita tratabilă cu steroizi), ale sângelui (anemia hemolitică autoimună – AHA, boala cu hemaglutinine la rece, purpura trombocitopenică - trombocitopenia autoimună), ale vaselor de sânge - vasculitele mediate de complexe imune (sindromul dureros canin, *polyarteritis nodosa* (PAN), vasculita leucocitoclastică), boli autoimune cutanate buloase (pemphigus, pemphigoid bullous, *alopecia areata*, dermatoza lineară cu IgA, psoriazisul), boli autoimune oculare (*Keratoconjunctivitis sicca* – CIKS, sindromul Vogt-Koyanagi-Harada – VKH, nevrita optică, uveitele autoimune) și alte boli autoimune ca polimiozita și miozita autoimună a mușchilor masticatori și tulburări de reproducție pe fond autoimun. Un alt subcapitol este destinat terapiei maladiilor autoimune.

Ultimul capitol al primei părți este destinat peritonitei infecțioase feline, cu date referitoare la etiopatogenia, tabloul clinic, prevenția și tratamentul acestei boli.

Partea a II – a „**Contribuții personale**” cuprinde șapte capitole, în care sunt prezentate și discutate rezultatele investigațiilor efectuate.

În capitolul 6 intitulat “**Metode utilizate în diagnosticarea bolilor autoimune**” în cadrul celor 11 subcapitole sunt prezentate materialele și metodele utilizate pentru evaluarea imunității umorale (detectarea anticorpilor antinucleari – ANA, a factorului reumatoid – FR, a proteinei C reactive – PCR, a anticorpilor antistreptolizina O – ASO, evaluarea titrului de imunoglobulină G , testul Coombs (antiglobulinic), dozarea complementului prin metoda hemolizei 50%, decelarea crioglobulinelor) și teste de evaluare a imunității celulare (evidențierea celulelor lupice, numărătoarea elementelor sanguine și formula leucocitară), însoțite de examenul histopatologic.

În capitolul 7 intitulat “**Prezentarea cazurilor clinice la câine**” sunt descrise cele 28 de cazuri diagnosticate în cadrul studiului cu maladii autoimune, clasificarea fiind

făcută pe sindroame și asocieri de simptome clinice: lupus eritematos sistemic, (dermatită și nefrită imună, dermatită cu poliartrită, poliartrită cu nefrită imună, dermatită), lupus eritematos discoid, poliartrită reumatoidă, febră reumatismală.

În capitolul 8 sunt prezentate rezultatele obținute în cei patru ani de cercetări pentru studiul bolilor autoimune la câine. Din întreaga paletă de maladii nu am diagnosticat decât patru (lupusul eritematos sistemic și discoid, poliartrita reumatoidă și febra reumatismală).

Cercetările au fost efectuate în perioada 2003-2007 pe un număr de 100 de animale, din care 60 au fost suspectate de boli autoimune (45 de câini și 15 pisici), iar celelalte 40 au constituit lotul martor de animale sănătoase (20) și lotul de animale cu afecțiuni, altele decât cele autoimune.

În urma investigațiilor efectuate, s-a constatat că la câine din cele 45 cazuri luate în studiu la 20 s-a confirmat evoluția lupusului eritematos sistemic (diseminat): 3 cazuri de dermatită cronică recidivantă, asociată cu nefrită cronică imună, 8 cazuri cu poliartrită, manifestări de compresiune medulară lentă și nefrită cronică imună, 2 cazuri cu dermatite și poliartrite, 7 cazuri cu dermatite recidivante, cu toate testele imunologice pozitive

Lupusul eritematos discoid s-a diagnosticat la 2 câini, iar la câte 3 cazuri poliartrita reumatoidă și reumatismul articular acut (febra reumatismală).

Leziunile cutanate au fost prezente la 60% din cazuri, poliartrita neerozivă la 50% din cazuri, iar afectarea renală la 11% din cazuri.

Titrul anticorpilor antinucleari detectați în toate cazurile evaluate prin testul de aglutinare cu latex a înregistrat valori diferite cuprinse între 1:32 și 1:1024. La 6 cazuri (5 cu LES și 1 cu LED), reprezentând 21,42%, determinarea a fost pur calitativă, iar la 3 cazuri (toate diagnosticate cu reumatism articular acut), reprezentând 10,71%, rezultatele au fost negative.

Reacția de imunofluorecență indirectă am folosit-o doar la 5 cazuri la care reacția de aglutinare a fost intens pozitivă, titrurile fiind de 1:512 și 1:1024. În urma diluției serurilor am obținut reacții pozitive doar la un caz.

Putem concluziona că la toate cazurile de lupus eritematos sistemic la care s-a făcut determinarea cantitativă, titrul a fost corelat cu gravitatea simptomatologiei clinice,

iar titrurile ridicate de 1:512 și 1:1024 au fost corelate de regulă cu severitatea marcantă a semnelor clinice, precum și cu prezența celulelor lupice.

Reacția a fost pozitivă prin ambele teste la 9 din cele 28 de animale, doar prin testul Rose Waaler la 5 animale și negativ la 14, titrul fiind cuprins între 16 și 136 U.I./ml. Prin testul de aglutinare cu latex s-a detectat factorul reumatoid în lichidul sinovial la un titru de 1:32.

Proteina C reactivă a înregistrat valori cuprinse între 180 și 600 mg/dl, fiind detectată la 21 din cele 28 de cazuri, la celelalte 7 fiind negativă.

Anticorpii antistreptolizina O au fost detectați doar la 3 cazuri de febră reumatică, la celelalte 25 de cazuri fiind negativă (89,29%).

Evaluarea complementului hemolitic s-a realizat prin metoda clasică la 21 din cele 28 de animale, la celelalte 7 nefiind evaluat.

Titrarea IgG s-a realizat la 14 din cele 28 de cazuri. La animalele la care s-a făcut titrarea s-au înregistrat valori scăzute în 3 cazuri acestea prezentând ca simptome asociate dermatită cu nefrită, poliartrită cu nefrită, la toate fiind puse în evidență crioglobulinele prin reacția de precipitare. La 9 cazuri titrul IgG a fost crescut, valorile fiind cuprinse între 18,2 și 30,5 mg/ml.

S-a constatat evoluția AHA la o femelă din rasa Ciobănesc german în vârstă de 11 ani, testul Coombs fiind pozitiv. Trombocitopenia a fost observată la 2 cazuri (un caz cu dermatită și poliartrită și un caz cu poliartrită și nefrită), valorile înregistrate fiind de 124 și 62 x 10³/μl.

În cadrul studiului efectuat de noi celulele lupice s-au evidențiat la 7 cazuri: 1 caz cu dermatită și nefrită, 3 cazuri cu poliartrită și nefrită 3 cazuri cu dermatită.

La examenul histologic al pielii la câinii cu dermatită diagnosticată cu lupus eritematos s-au observat următoarele aspecte: celulele din stratul bazal și mucos Malpighi al epidermei au aspect prismatic și sunt încărcate cu melanină realizând aspectul așa-numitei incontinențe pigmentare, membranele bazale ale epidermei, capilarelor sanguine, glandelor sudoripare, și ale tecilor epiteliale de la nivelul foliculilor piloși sunt mult îngroșate, paracheratoză și acantoză în stratul cornos superficial, scleroză dermică, foliculi piloși degenerați sau foliculi la care tecile epiteliale sunt formate din celule prismatice, încărcate cu melanină, cu infiltrație limfocitară inter- și perifoliculară.

La examenul radiologic s-a evidențiat îngroșarea discurilor intervertebrale în regiunea lombosacrală sau dorsală și ușoara deviere ventrală a două dintre acestea.

În cadrul studiului nostru manifestări de glomerulonefrită imună s-au constatat la 11 din cele 20 diagnosticate cu LES. Dintre acestea 3 au prezentat ca simptome asociate dermatita, iar 8, poliartrita. La examenul biochimic al urinei s-a evidențiat proteinurie moderată (0,8 – 1,8 g/l), ceilalți parametri testați fiind nemodificați.

În capitolul 9 intitulat **“Bolile autoimune la pisici”** sunt prezentate cele 3 cazuri clinice și rezultatele obținute în urma evaluării parametrilor imunologici și hematologici.

Din cele 15 pisici suspectate de maladii autoimune, diagnosticul de lupus eritematos sistemic s-a stabilit la 3 pisici.

Perturbarea imunității umorale s-a tradus prin detectarea anticorpilor antinucleari prin testul de aglutinare cu latex la toate cele 3 cazuri, titrurile obținute fiind de 1:128 la 2 cazuri și 1:64 la un caz.

Reacția pentru detectarea proteinei C reactive a fost pozitivă, titrurile fiind de 300, respectiv 240 mg/ml în două cazuri.

Anticorpii antistreptolizina O nu au fost detectați la nici un animal, iar FR a fost detectat doar la o pisică prin testul de aglutinare cu latex, titrul fiind de 40.

În capitolul 10 intitulat **„Epidemiologia bolilor autoimune”** sunt prezentate date referitoare la distribuția bolilor diagnosticate pe rase, vârste și sexe.

Cele 28 de animale diagnosticate cu boli autoimune au făcut parte din următoarele categorii: 9 din rasa Ciobănesc german (5 femele și 2 masculi cu LES, o femelă cu febră reumatismală și un mascul cu poliartrită reumatoidă), 5 din rasa comună (3 femele cu LES și câte o femelă și un mascul cu poliartrită reumatoidă), 3 din Pekinez (2 femele și un mascul cu LES), 3 din rasa Rotweiller (o femelă și 2 masculi cu LES), câte 1 din rasele Collie (mascul cu LES), Cocker (femelă cu LES), West Highland Terrier (1 mascul cu LES), Boxer (o femelă cu LES), câte 1 mascul din rasele Akita Inu și Malamut de Alaska cu lupus eritematos discoid și 1 mascul din rasa Bishon maltez și o femelă din rasa Chow-Chow cu febră reumatismală, cu vârste diferite (de la 1 an la 11 ani).

Capitolul 11 intitulat **„Rezultate privind peritonita infecțioasă felină”** prezintă materialele și metodele utilizate în studiul acestei boli precum și rezultatele obținute.

Studiul pentru peritonita infecțioasă felină s-a realizat pe probe reprezentate de 30 probe de sânge și 8 probe de fecale.

Utilizând tehnica RT-PCR, ARN-ul coronaviral a fost detectat doar în probele de fecale provenite de la 3 pisici (FCoV-57, FCoV-60, și FCoV-61), relevând faptul că animalele respective au fost expuse coronavirusului felin, imunofluorescența fiind pozitivă doar la una dintre ele (titrul 1:625).

Pe lângă probele cu teste virusologice pozitive, au fost testate 20 probe de ser pentru detectarea anticorpilor specifici, titrul obținut fiind de 1:625 la 5 cazuri.

Toate pisicile de la care au fost prelevate probele au fost în contact cu câinii.

S-au testat de asemenea 2 probe de lichid ascitic de la pisici suspectate de PIF și s-a găsit ARN FCV doar într-un caz .

Pe lângă examenele virusologice au fost efectuate teste imunologice și hematologice finalizate cu detectarea prezenței anticorpilor antinucleari la 2 pisici, neutrofilie însoțită de limfopenie.

Examele de laborator au fost corelate cu rezultatele examenului clinic, atât în cazul bolilor autoimune diagnosticate la câine și pisică, precum și în cazul peritonitei infecțioase feline. Ceea ce este foarte important de reținut este faptul că orice suspiciune de boală pornește de la o simptomatologie. Ceea ce urmează pentru a confirma sau infirma suspiciunea depinde foarte mult de sensibilitatea sau specificitatea testelor utilizate, în special a celor serologice și virusologice. Confirmarea diagnosticului de boală infecțioasă trebuie făcută întotdeauna prin izolare și identificare virală, prin utilizarea tehnicilor de biologie moleculară (PCR, RT-PCR) sau prin punerea în evidență a anticorpilor specifici în cazul în care dispunem de kituri și nu există posibilitatea apariției unor reacții încrucișate.