

REZUMAT

Scopul acestei lucrări constă în prezentarea mijloacelor de diagnostic al nefropatiilor animalelor de companie, dar în principal evidențierea unor modalități de evaluare și identificare a fenomenelor neurologice ce însoțesc aceste patologii.

Prima parte a tezei este constituită din 2 capitole care tratează stadiul actual al cunoașterii privind diagnosticul și etiopatogeneza encefalopatiei uremice și ale principalelor nefropatii la animalele de companie.

În primul capitol sunt prezentate particularități ale manifestărilor neurologice în encefalopatia uremică, aspecte comune din medicina omului, precum și mijloace moderne de diagnostic.

Capitolul 2 al tezei conține noțiuni de etiopatogeneză, manifestări clinice și modalități de diagnostic al nefropatiilor întâlnite la animalele de companie. Pentru clasificarea nefropatiilor s-a utilizat criteriul localizării procesului patologic, acestea fiind sistematizate în nefropatii glomerulare, tubulo-interstițiale, vasculare, ereditare, mecanice și tumorale.

Partea a 2-a a tezei cuprinde cercetările personale, structurate în 4 capitole ce cuprind materialul și metodele de lucru, rezultatele obținute, interpretarea lor și concluziile generale.

Cercetările s-au desfășurat în perioada octombrie 2013-aprilie 2017, în cadrul Clinicii Medicale a Facultății de Medicină Veterinară din Iași. Au fost consultați un număr de 3730 de pacienți, dintre care 2517 de câini și 1213 de pisici.

Din totalul pacienților, 163 au fost diagnosticați cu nefropatii, cu sau fără semne clinice evidente, reprezentând o proporție de 4,36 % din totalul patologiilor diagnosticate în perioada mai sus menționată. Pacienții au fost supuși examenului clinic general, utilizându-se fișa de examen clinic, precum și examenelor complementare de diagnostic: ecografia și examene biochimice ale sângelui și urinei. Examenul clinic s-a desfășurat urmărind ordinea metodelor generale semiologice. În timpul consultației pacienților, s-a notat în partea semnaletică a fișei de examen clinic, datele de identificare a pacienților ce au inclus specia, rasa, vârsta, iar în continuare, informațiile oferite de anamneză, în urma discuțiilor cu proprietarii.

Diagnosticul prezumtiv s-a bazat pe datele anamnetice și investigațiile paraclinice realizate ulterior. Stabilirea diagnosticului de insuficiență renală acută sau cronică s-a realizat după ce s-a identificat în timp, debutul manifestărilor clinice observate de proprietar înainte de consultație (cu aproximativ trei luni înainte în cazul insuficienței renale cronice sau brusc în cazul insuficienței renale acute), ținându-se cont de vârsta pacientului, dar și de aspectele ecografice ale rinichilor.

Prelevarea de sânge s-a realizat preponderent din vena cefalică și jugulară, în cantitate de 3 până la 5 ml, repartizându-se în tuburi cu activator de coagulare și tuburi cu EDTA.

Atât în cazul pisicilor cât și în cazul câinilor, stabilirea gradului de insuficiență de renală s-a realizat conform sistemului de stadializare stabilit de International Renal Interest Society în anul 2013.

Analiza statistică a datelor s-a realizat utilizând software-ul IBM SPSS 21. Variabilele luate în calcul pentru realizarea analizei statistice s-au referit la gradul și tipul de insuficiență renală, valoarea creatininei și ureei, precum și la semnele clinice generale, cum ar fi: modificările de tranzit intestinal, voma, pica, anemia, prezența sau absența infecțiilor urinare, a afecțiunilor cardiace, imunizările realizate, valoare temperaturii, frecvenței cardiace, respiratorii și tipul de hrană administrată.

Majoritatea semnelor clinice semnalate în insuficiența renală sunt consecință a uremiei, aceasta fiind stadiul clinic spre care toate afecțiunile renale converg în final. Primele semne clinice luate în calcul în analiza statistică au fost cele urinare, din care prezența afecțiunilor inflamatorii la nivelul tractului urinar - cistita a fost raportată la 25% din pacienți. Poliuria/polidipsia a fost întâlnită la 87.5% din pacienți, și se referă la formarea și eliminarea unor cantități excesive de urină ce pot depăși 50 ml/kg/zi, iar polidipsia la consumul crescut de apă și lichide ce depășesc 100 ml/kg/zi. Semnele digestive mai des menționate au fost modificările de apetit și tranzit, pica și voma. Apetitul selectiv a fost menționat la 45% din pacienți, la 55% apetitul era absent, voma a fost raportată la 50% din pacienți, fiind provocată de efectul unei serii de toxine încă neidentificate asupra centrului vomei și de gastrita uremică.

Pica s-a manifestat la 20% din pacienți, prin consumul ocazional, de cantități mici de nisip din litieră, urmat de multe ori de vomă. Pica este menționată în literatura de specialitate ca fiind unul semnele clinice ale anemiei, în special a celei asociate cu deficiența de fier. Anemia a fost semnalată la 55.6% din pacienți.

În capitolul 4 sunt prezentate principalele mijloace de diagnostic utilizate în nefropatiile animalelor de companie și rezultatele acestora.

Analiza statistică a datelor s-a realizat utilizând software-ul IBM SPSS 21, utilizând testele Mann Withney și Ttest paired samples cu un prag de semnificație stabilit la $p < 0.05$. Variabilele luate în calcul au fost: specia, sexul, gradul de insuficiență renală, tipul de IR, valorile creatininei, ureei, potasiului, sodiului, fosforului, magneziului, calciul total, proteinemiei, enzimelor hepatice (TGP, PA, TGO, GGT), a colesterolului, fierului, eritrocitelor, hematocritului, hemoglobinei, volumului corpuscular mediu, concentrației hemoglobinei eritrocitare medii, leucocitelor și proporția de limfocite, granulocite, bazofile, monocite, eozinofile și reticulocite.

Hiperfosforemia este cel mai întâlnit dezechilibru mineral la pacienții cu insuficiență renală cronică. În cazul modificărilor metabolismului potasiului în acest grup de pacienți a fost întâlnită hipokalemia. Hipokalemia este un deficit electrolitic întâlnit în principal la pisicile cu IRC. La câinii cu această afecțiune hipokalemia nu este observată frecvent. Există studii care susțin faptul ca hipokalemia îndelungată ar putea constitui cauza apariției și progresie insuficienței renale la pisici, și nu doar o consecință a acesteia. Concentrațiile crescute ale calciului total seric au fost înregistrate la pacienții cu IRC apar preponderent ca o consecință a creșterii complexării calciului cu anionii organici și anorganici ce pot avea concentrații mai mari în IRC, cum ar fi citratul, fosfatul sau sulfatul.

Din enzimele hepatice determinate, TGP-ul s-a situat peste limita superioară.

În insuficiența renală, din cauza pierderilor cronice de sânge dar și a deficitului de eritropoetină, de cele mai multe ori odată cu evoluția bolii apare anemia. Aceasta

prezintă trăsături caracteristice, fiind normocromă, normocitară și aregenerativă sau hiporegenerativă. Stresul sistemic în această patologie este caracterizat prin prezența neutrofiliei și eozinopeniei, care s-a observat și prin corelația negativă ($r^2=-0.773$, $p<0.05$) între valoarea neutrofilelor și eozinofilelor.

Studiul imagistic al acestei afecțiuni s-a realizat pe un număr de 24 de pisici și 28 de câini. Aspectele lezionale cele mai des întâlnite în concordanță cu imaginile ecografice, au fost scleroza corticală (16%) și medulară (21%), inflamația sau leziunile de natură degenerativă a bazinetului (13%) la pisici, iar la câini scleroza corticală (25%), scleroza medulară (14 %), pielita și hidronefroza

Capitolul 5 tratează modalitățile de diagnostic al tulburărilor neurologice ce apar în insuficiența renală. În studiul privind modificările activității bioelectrice a creierului au fost introduși 10 pacienți, 5 câini cu insuficiență renală cronică cu vârste între 12 și 18 ani și 5 câini cu insuficiență renală acută, cauzată de intoxicația cu etilenglicol, cu vârste între 4 și 9 de ani. Grupul pisicilor a fost constituit din 6 pacienți, 3 diagnosticați cu IRA și 3 cu IRC, cu vârste între 2 și 17 ani.

Toți pacienții au fost sedați înainte de înregistrarea EEG, folosind clorhidrat de medetomidină (Domitor, Pfizer) 0,03 mg/kg administrat intramuscular, pentru a reduce frecvența sau apariția artefactelor date de contracțiile musculare. Obținerea traseelor EEG s-a realizat cu ajutorul electroencefalografului Neurofax (Nihon Kohden) pe o perioadă de 30 de minute. Electrozii de tip ac au fost introduși subcutanat, după tunderea și degresarea în prealabil a suprafeței cutanate cu alcool, utilizând modelul lui Redding. Parametrii utilizați pentru fiecare înregistrare electroencefalografică sunt reprezentați de: sensibilitate 70 μ V, constanta de timp 0.3 secunde, un filtru trece-jos de 70Hz și impedanța electrozilor $<10\Omega$. Toate înregistrările EEG au fost analizate vizual cu montaje monopolare, artefactele au fost determinate prin urmărirea directă a înregistrărilor, activitatea de fond fiind analizată în timpul înregistrării pentru a identifica orice modificări detectabile.

Atât la câinii cu IRC cât și la cei intoxicați cu etilenglicol activitatea bioelectrică a creierului a fost caracterizată prin anomalii electroencefalografice nespecifice: salve de unde delta difuze și o activitate de fond încetinită. Nu au fost observate descărcări epileptice interictale (caracteristice în epilepsia idiopatică).

Traseele EEG au avut aspect puțin voltat, și prezentau inițial o activitate de fond încetinită, de 5-7 cicli/secundă, peste care s-au observat salve de unde delta difuze și sincrone bilateral, expresie unei stări de hiperexcitabilitate neuronală corticală sau subcorticală. Activitatea de fond s-a caracterizat prin amplitudine mare și frecvențe joase, modificări produse cel mai probabil de utilizarea medetomidinei. În timpul înregistrărilor s-a putut constata apariția de crize electrice pe toate derivațiile, caracterizate printr-o succesiune de vârfuri cu o frecvență de 15-35 cicli/secundă, care au crescut progresiv în amplitudine, atingând valori până la 250-500 μ V.

La pacienții felini au fost identificate anomalii electroencefalografice nespecifice, asemănătoare cu cele întâlnite la câini: unde beta și teta difuze, activitate de fond încetinită. De asemenea nu au fost identificate descărcări interictale, specifice epilepsiei idiopatice. Alte modificări observate la toți pacienții au fost fuserile de medicație, ritmuri

rapide, difuze, întâlnite de obicei la pacienții cărora le-au fost administrate benzodiazepine sau alte medicații cu efect psihotrop.

Analiza cantitativă a traseelor EEG la pisici a inclus 5 pacienți, 2 cu IRC și 3 cu IRA. Pentru fiecare pacient au fost selectate 30 de epoci EEG lipsite de artefacte și evenimente paroxistice a câte 2 secunde fiecare. Pentru fiecare canal în parte au fost calculate numărul undelor alfa (8.0-13.0 Hz), beta (13.0-30.0 Hz), delta (0.5-4.0 Hz) și teta (4.0-8.0 Hz) și exprimate ca putere relativă (%). După compararea frecvențelor relative a undelor alfa, beta, teta, delta, nu au fost semnalate diferențe semnificative statistice în funcție de stadiul de evoluție al bolii, sau între pacienții sedați și cei a căror înregistrări EEG s-au realizat pe vigil. S-a observat prezența covârșitoare a undelor beta și teta, cu absența undelor delta la cele 2 grupuri de pacienți .

Având în vedere ca undele beta predomină în stare vigیلă, iar undele teta în cazul stadiilor incipiente ale somnului, putem spune ca traseele electroencefalografice studiate, din punct de vedere al analizei cantitative, sunt în limite normale.

Studiul privind metabolomica lichidului cefalorahidian în encefalopatia uremică a cuprins 10 câini sănătoși, cu vârste între 2 și 5 ani și cântărind 15-20 kg câini (grupul control) fără antecedente de boală neurologică și 7 câini cu insuficiență renală în stadiu final și un câine cu uretră ruptă (grup IRC), diagnosticat de asemenea cu IRC, cu vârste între 8 și 15 ani și o greutate cuprinsă între 4,5 kg și 32 kg. Pacienții din grupul IRC nu au fost niciodată diagnosticați cu niciun fel de afecțiune neurologică.

Recoltarea probelor de LCR a fost efectuată la pacienții sub anestezie generală cu medetomidină (Domitor, Pfizer) 0,03mg/kg și ketamină (Kepra) 0,1mg/kg administrată intravenos, din cisterna cerebelomedulară cu ajutorul acului spinal, cu un stilet cu diametru 22.

Analiza probelor a fost realizată la o temperatură de 26.5°C utilizând spectrometrul Bruker Avance III 400 MHz care funcționează la 400.13 MHz, cu o sondă multinucleară de detecție inversă de 5 mm, echipată cu gradienti pe axa z.

Pentru câinii sănătoși au fost identificați 18 metaboliți, iar pentru grupul IRC au fost cuantificați 21. Acidul succinic, dimetilamina și tirozina lipsesc din grupul control, acești metaboliți nefiind identificați la câinii sănătoși. Diferențe notabile între grupul sănătoși și IRC s-au observat în ceea ce privește nivelurile de creatinină, lactat, acid acetic, acetonă, piruvat, creatină și myo-inozitol.

Evaluarea tulburărilor sistemului nervos autonom prin intermediul variabilității frecvenței cardiace la câinii cu nefropatii, a avut ca scop evaluarea balanței simpato-parasimpatică (simpato-vagală) la câinii cu insuficiență renală cronică, utilizând monitorizarea ECG pe o perioadă scurtă de timp, 5 minute fiind suficiente pentru obținerea parametrilor necesari investigației. În studiu au fost incluși 13 câini (diferite vârste și rase) cu insuficiență renală cronică (grupul IRC), diagnosticată în conformitate cu directivele IRIS, dar fără afecțiuni cardiace detectabile. Pentru a compara rezultatele analizei VFC, am utilizat parametrii obținuți de la 13 câini sănătoși (fără afecțiuni cardiace sau renale), de același sex, cu vârstă și greutate asemănătoare.

Pentru obținerea înregistrărilor ECG s-a utilizat electrocardiograful PolySpectrum-8E/8V (Neurosoft), iar pentru obținerea parametrilor VFC s-a folosit software-ul Kubios HRV Analysis (Univ. Kuopio, Finlanda). Analiza statistică a datelor s-

a realizat utilizând software-ul IBM SPSS 21, utilizând testele Mann Withney și Ttest paired samples cu un prag de semnificație stabilit la $p < 0,05$. Cele mai utilizate metode de analiza a variabilității frecvenței cardiace o reprezintă analiza domeniului de timp (time domain analysis) și analiza domeniului de frecvență sau spectral (frequency domain analysis).

Am evaluat parametrii domeniului de timp și frecvență pentru a estima global VFC (SDNN), activitatea vagală (pNN50 și HF) și tonusul simpatic (LF și LF/HF). Rezultatele noastre au arătat o scădere semnificativă a VFC generală (SDNN) ($p = 0,017$) în grupul IRC asociat cu o semnificativă scădere a tonusului vagal (pNN50 și HF). Mai mult decât atât, activitatea simpatică este crescută ($p < 0,001$ și $p < 0,05$) în grupul IRC, comparativ cu grupul sănătoși. Studiul nostru a arătat ca pacienții cu IRC prezintă creșterea activității simpatică, asociate cu activitate vagală scăzută, cu scăderea în ansamblu a variabilității cardiace. Acest dezechilibru autonom este indicator al unui prognostic grav, la câinii cu afecțiuni cardiace.

Capitolul 6 a inclus studiul privind aspectele histopatologice și electronomicroscopice în nefropatii, realizat pe un număr de 19 câini cu vârste cuprinse între 7 luni și 11 ani, și 9 pisici cu vârste cuprinse între 1,5 și 17 ani, diagnosticați cu IRA sau cu IRC, și în encefalopatia uremică, realizat pe 8 câini.

Leziunile renale înregistrate cu frecvența cea mai mare la câini sunt: glomerulonefrita membrano-proliferativă și sclerozantă (24%), nefrita limfohistiocitară (12%), tubulonefrita, caracterizată prin degenerarea epitelială (14%) și prezența de cilindri hialini (14%) indicatori ai proteinuriei. La pisici leziunile cele mai des întâlnite au fost: glomerulonefrita (25%), tubulonefrita (18%), prezența cilindrilor (hialini sau grăsoși) (14%) și a cristalelor de oxalat de calciu sau urați (14%).

În encefalopatia uremică leziunile cele mai frecvent întâlnite de noi au fost: congestia, edemul cerebral și vacuolizările tisulare.

În ultimul capitol sunt expuse concluziile generale ale studiilor prezentate.