

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ
„ION IONESCU DE LA BRAD” DIN IAȘI
ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ VETERINARĂ
DOMENIUL DE DOCTORAT: MEDICINĂ VETERINARĂ
SPECIALIZAREA: SEMIOLOGIE ȘI PATOLOGIE MEDICALĂ**

**Daniel
Bucur** Digitally signed
by Daniel Bucur
Date:
2018.06.11
11:23:27
+03'00'

TEZĂ DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat,
Prof. univ. dr. Gheorghe SOLCAN**

**Doctorand
Paula-Maria SAFTENCU (Pașca)**

**IAȘI
- 2018 -**

**UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND VETERINARY
MEDICINE "ION IONESCU DE LA BRAD" IAȘI
DOCTORAL SCHOOL OF VETERINARY MEDICINE
DOMAIN: VETERINARY MEDICINE
SPECIALIZATION: SEMIOLOGY AND MEDICAL PATHOLOGY**

DOCTORAL THESIS

**PhD Manager,
PhD Prof. Gheorghe SOLCAN**

**PhD Student,
Paula-Maria SAFTENCU (Pașca)**

**IAȘI
- 2018 -**

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ
„ION IONESCU DE LA BRAD” DIN IAȘI
ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ VETERINARĂ
DOMENIUL DE DOCTORAT: MEDICINĂ VETERINARĂ
SPECIALIZAREA: SEMIOLOGIE ȘI PATOLOGIE MEDICALĂ**

**DIAGNOSTICUL TULBURĂRILOR SISTEMULUI NERVOS
CENTRAL ÎN NEFROPATIILE ANIMALELOR DE COMPANIE**

**Conducător de doctorat,
Prof. univ. dr. Gheorghe SOLCAN**

**Doctorand
Paula-Maria SAFTENCU (Pașca)**

2018

**UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND VETERINARY
MEDICINE "ION IONESCU DE LA BRAD" IAȘI
DOCTORAL SCHOOL OF VETERINARY MEDICINE
DOMAIN: VETERINARY MEDICINE
SPECIALIZATION: SEMIOLOGY AND MEDICAL PATHOLOGY**

**THE DIAGNOSIS OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM
DISORDERS IN KIDNEY DISEASES OF SMALL ANIMALS**

**PhD Manager,
PhD Prof. Gheorghe SOLCAN**

**PhD Student,
Paula-Maria SAFTENCU (Pașca)**

2018

CUPRINS

INTRODUCERE	11
INTRODUCTION	13
REZUMAT	15
ABSTRACT	21
PARTEA I	
STADIUL ACTUAL AL CUNOȘTERII PRIVIND DIAGNOSTICUL TULBURĂRILOR SISTEMULUI NERVOS CENTRAL ÎN NEFROPATIILE ANIMALELOR DE COMPANIE	26
CAPITOLUL I. DATE ACTUALE CU PRIVIRE LA DIAGNOSTICUL ȘI ETIOPATOGENEZA NEFROPATIILOR LA ANIMALELE DE COMPANIE	27
1.1. Nefropatii glomerulare	27
1.1.1. Nefropatii glomerulare proliferative	29
1.1.2. Glomerulonefrite exsudative	32
1.1.3. Nefropatii glomerulare neproliferative	33
1.2. Nefropatii tubulo-interstițiale	37
1.2.1. Nefropatii tubulare	37
1.2.2. Nefropatii tubulo-interstițiale	43
1.3. Nefropatii vasculare	45
1.3.1. Angiospasmul renal	45
1.3.2. Congestia renală	46
1.4. Nefropatii congenitale	46
1.4.1. Displazia renală	46
1.4.2. Hipoplazia renală	47
1.4.3. Agenezia renală	48
1.4.4. Rinichiul polichistic	48
1.4.5. Rinichiul ectopic	49
1.5. Nefropatii mecanice	49
1.5.1. Hidronefroza	49
1.5.2. Litiaza renală	50
1.6. Tumorile renale	51
1.6.1. Tumorile epiteliale	51
1.6.2. Tumorile mezenchimale	52
1.6.3. Tumorilor embrionare	52

CAPITOLUL II. DATE ACTUALE CU PRIVIRE LA DIAGNOSTICUL ȘI ETIOPATOGENEZA ENCEFALOPATIEI UREMICE LA ANIMALELE DE COMPANIE	54
--	-----------

PARTEA a II-a	
CERCETĂRI PERSONALE	58

CAPITOLUL III. CERCETĂRI PRIVIND DIAGNOSTICUL CLINIC ȘI ASPECTELE EPIDEMIOLOGICE ALE INSUFICIENȚEI RENALE LA ANIMALELE DE COMPANIE	59
3.1. Materiale și metode	60
3.2. Rezultate și discuții	63
3.3. Concluzii parțiale	69

CAPITOLUL IV. INVESTIGAȚII PRIVIND DIAGNOSTICUL PARACLINIC AL INSUFICIENȚEI RENALE LA ANIMALELE DE COMPANIE	70
4.1. Examenalele biochimice și hematologice la pacienții cu insuficiență renală	70
4.1.1. Materiale și metode	70
4.1.2. Rezultate și discuții	71
4.2. Examenul ecografic la pacienții cu insuficiență renală	81
4.2.1. Materiale și metode	81
4.2.2. Rezultate și discuții	83
4.3. Concluzii parțiale	91

CAPITOLUL V. CERCETĂRI PRIVIND DIAGNOSTICUL TULBURĂRILOR SISTEMULUI NERVOS CENTRAL ÎN NEFROPATIILE ANIMALEOR DE COMPANIE	92
5.1. Modificări ale activității bioelectrice a creierului la câinii și pisicile cu nefropatii	92
5.1.1. Materiale și metode	92
5.1.2. Rezultate și discuții	95
5.2. Studiu privind metabolomica lichidului cefalorahidian în encefalopatia uremică	102
5.2.1. Materiale și metode	103
5.2.2. Rezultate și discuții	105
5.3. Evaluarea tulburărilor sistemului nervos autonom prin intermediul variabilității frecvenței cardiace, la câinii cu nefropatii	112
5.3.1. Materiale și metode	113
5.3.2. Rezultate și discuții	116
5.4. Concluzii parțiale	119

CAPITOLUL VI. ASPECTELE HISTOPATOLOGICE ȘI ELECROMICROSCOPICE ÎN NEFROPATII ȘI ENCEFALOPATIA UREMICĂ LA ANIMALELE DE COMPANIE	120
6.1. Aspecte histopatologice și elecromicroscopice în nefropatii la câini și pisici	120
6.1.1. Materiale și metode	120
6.1.2. Rezultate și discuții	121
6.2. Aspecte histopatologice și elecromicroscopice în encefalopatia uremică la câine	131
6.2.1. Materiale și metode	131
6.2.2. Rezultate și discuții	132
6.3. Efectul nefroprotector al zincului în insuficiența renală indusă de gentamicină pe model experimental	136
6.3.1. Materiale și metode	137
6.3.2. Rezultate și discuții	139
6.4. Concluzii parțiale	149
 CAPITOLUL VII. CONCLUZII GENERALE	150
 BIBLIOGRAFIE	153
 ANEXA 1. LISTA ABREVIERI	168
 ANEXA 2. LISTA TABELELOR	169
 ANEXA 3. LISTA FIGURILOR	171
 ANEXA 4. LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE	179

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	13
ABSTRACT	21
PART I	
THE PRESENT STAGE OF KNOWLEDGE REGARDING THE DIAGNOSIS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM DISORDERS IN KIDNEY DISEASES	26
CHAPTER I. THE PRESENT DATA REGARDING THE DIAGNOSIS AND ETIOPATHOGENESIS OF NEPHROPATHIES IN SMALL ANIMALS	27
1.1. Glomerular Nephropathies	27
1.1.1. Proliferative Glomerular Nephropathies	29
1.1.2. Exudative Glomerulonephritis.....	32
1.1.3. Non-proliferative Glomerular Nephropathies	33
1.2. Tubular and Interstitial Nephropathies	37
1.2.1. Tubular nephropathies	37
1.2.2. Tubular and Interstitial Nephropathies	43
1.3. Vascular Nephropathies	45
1.3.1. Renal Angiospasm	45
1.3.2. Renal Congestion	46
1.4. Congenital Nephropathies	46
1.4.1. Renal Dysplasia	46
1.4.2. Renal Hypoplasia	47
1.4.3. Renal Agenesis	48
1.4.4. Polycystic Kidney Disease	48
1.4.5. Ectopic Kidney	49
1.5. Mechanic Nephropathies	49
1.5.1. Hydronephrosis	49
1.5.2. Renal Lithiasis	50
1.6. Renal tumors	51
1.6.1. Epithelial Tumors	51
1.6.2. Mesenchymal Tumors	52
1.6.3. Embrionar Tumors	52

CHAPTER II. THE PRESENT DATA REGARDING THE DIAGNOSIS AND ETIOPATHOGENESIS OF UREMIC ENCEPHALOPATHIES IN SMALL ANIMALS	54
PART II	
PERSONAL CONTRIBUTIONS	58
CAPITOLUL III. RESEARCHES ON CLINICAL DIAGNOSIS AND EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF RENAL FAILURE IN SMALL ANIMALS .	59
3.1. Material and method	60
3.2. Results and discussions	63
3.3. Partial conclusions	69
CAPITOLUL IV. INVESTIGATIONS ON PARACLINIC DIAGNOSIS OF RENAL FAILURE IN PET ANIMALS	70
4.1. Biochemical and hematological examinations in patients with renal failure	70
4.1.1. Material and method	70
4.1.2. Results and discussions	71
4.2. Ultrasound examination in patients with renal failure	81
4.2.1. Material and method	81
4.2.2. Results and discussions	83
4.3. Partial conclusions	91
CAPITOLUL V. RESEARCHES ON CENTRAL NERVOUS SYSTEM DISORDERS DIAGNOSIS IN SMALL ANIMALS NEPHROPATHIES	92
5.1. Bioelectric activity changes of the brain in dogs and cats with nephropathy	92
5.1.1. Material and method	92
5.1.2. Results and discussions	95
5.2. Study on the cerebrospinal fluid metabolomics in uremic encephalopathy	102
5.2.1. Material and method	103
5.2.2. Results and discussions	105
5.3. Evaluation of autonomic nervous system disorders through heart rate variability in dogs with nephropathies	112
5.3.1. Material and method	113
5.3.2. Results and discussions	116
5.4. Partial conclusions	119

CAPITOLUL VI. HISTOPATHOLOGICAL AND ELECTRONOMICROSCOPICAL ASPECTS IN NEPHROPATHIES AND UREMIC ENCEPHALOPATHY IN SMALL ANIMALS	120
6.1. Histopathological and electronomicroscopical aspects in dogs and cats nephropathies	120
6.1.1. Material and method	120
6.1.2. Results and discussions.....	121
6.2. Histopathological and electronomicroscopical aspects in dogs uremic encephalopathy	131
6.2.1. Material and method	131
6.2.2. Results and discussions	132
6.3. The protective effect of zinc in gentamicin-induced renal failure in experimental model	136
6.3.1. Material and method	137
6.3.2. Results and discussions	139
6.4. Partial conclusions	149
CAPITOLUL VII. FINAL CONCLUSIONS	150
REFERENCES	153
ANNEX 1. ABBREVIATION LIST	168
ANNEX 2. LIST OF TABLES	169
ANNEX 3. LIST OF FIGURES	171
ANNEX 4. SCIENTIFIC PAPERS PUBLISHED	179

INTRODUCERE

Nefrologia veterinară a cunoscut în ultimele 3 decenii o evoluție spectaculoasă, odată cu realizarea primei hemodialize la câine, utilizând un "rinichi artificial", în 1990 de către profesorul Larry Cowgill și colectivul.

Afecțiunile renale au reprezentat întotdeauna o provocare pentru medicii practicieni deoarece implică manifestări clinice multisistemice și de cele mai multe ori, în ciuda terapiei au o evoluție progresivă. La animale de companie, în special la pisici, afecțiunile renale sunt foarte des diagnosticate la pacienții geriatrici. Se estimează ca aproximativ una din 3 pisici cu vârste peste 14 ani vor fi diagnosticate cu insuficiență renală cronică. La câini, statisticile indică o incidență de 10 % în cazul insuficienței renale cronice, aceștia fiind însă mai predispuși la manifestări acute ale bolii.

Deși, ca afecțiune primară, insuficiență renală este ușor de diagnosticat, de multe ori pacienții prezintă alte cauze care stau la baza acesteia. Instituirea protocolului terapeutic adecvat este necesară evoluției favorabile a pacientului, fapt ce necesită cunoașterea patogenezei acestei boli. Managementul dezechilibrelor minerale și electrolitice reprezintă cea mai eficientă modalitate de a ține boala sub control.

În cazul etiopatogenezei afecțiunilor renale diagnosticate, de cele mai multe ori factorii cauzali nu au putut fi identificați in vivo, examenul histopatologic fiind cel mai relevant pentru pacienții eutanasiați sau care nu au supraviețuit bolii.

Insuficiența renală poate fi însoțită, pe lângă simptomatologia predominant urinară și digestivă de o serie de manifestări neurologice. Acestea apar de obicei în stadiile terminale ale bolii și au etiologie multifactorială. Simptomele neurologice sunt cauza unor injurii aduse atât sistemului nervos central cât și a celui nervos periferic. Manifestările cel mai des întâlnite au la bază dezechilibrele electrolitice specifice acestei boli, cum ar fi hipokalemia ce poate fi însoțită de o polimiopatie cu manifestări specifice, apoi pot fi întâlnite tremorul muscular și mioclonii, precum și crizele convulsive, ataxia și dismetria.

Cercetările efectuate în cadrul programului de doctorat au propus noi abordări de diagnostic al acestor manifestări, cu scopul de aduce lumină asupra etiopatogenezei encefalopatiei uremice și, eventual, de a orienta noi conduite terapeutice.

Studiul privind modificările activității bioelectrice a creierului nu a evidențiat modificări specifice, ci doar activitate de fond încetinită cu prezența de salve de unde delta difuze, precum și apariția de crize electrice pe timpul înregistrării, modificări ce indică o stare de hiperexcitabilitate neuronală.

Am reușit să punem în evidență prezență la nivelul lichidului cefalorahidian a unor compuși cum ar fi creatinina, având o concentrație mai mare la pacienții cu insuficiență renală cronică, a cărui rol convulsivant a fost pus în evidență de studii anterioare. De asemenea, au fost identificați compuși cu rol neurotoxic și excitator asupra sistemului nervos central cum ar fi tirozina și myo-inozitolul, precum și metaboliți identificați în special la pacienții umani cu boli degenerative cum este acidul acetic, care au prezentat concentrații semnificativ crescute la câinii cu insuficiență renală.

Prin studiul de variabilitate a frecvenței cardiace am reușit să demonstrăm că pe lângă afectarea sistemului nervos central, există și modificări ale sistemului nervos vegetativ, cu alterarea balanței simpato-vagale în favoarea simpaticului, dezechilibru care la pacienții canini cardiaci prezintă un prognostic defavorabil. La pacienții umani rezultatele obținute în acest domeniu sunt asemănătoare, iar modificările variabilității frecvenței cardiace au fost utilizate pentru monitorizarea răspunsului la tratament și al evoluției clinice a pacienților. Acest studiu prezintă posibilitatea de utilizarea a variabilității frecvenței cardiace în aceeași manieră și în medicina veterinară.

Aduc respectoase mulțumiri domnului Prof. Univ. Dr. Gheorghe Solcan, conducătorul științific al tezei, pentru încurajare, stimulare, sprijin moral, îndrumarea în activitatea de cercetare, precum și pentru revizuirea finală a prezentului material; care s-a aplecat cu răbdare, competență și nemărginită generozitate asupra strădaniilor mele. Mulțumiri speciale îi sunt adresate domnului Șef de Lucrări Dr. Mihai Musteață pentru ajutorul oferit în realizarea studiului de metabolomică și pentru interpretarea statisticii utilizate la realizarea cercetărilor. De asemenea, vreau să mulțumesc colectivului de la Institutul de Chimie Macromoleculară Petru Poni, în special doamnei Alina Nicolescu, pentru determinările HNMR. Pe această cale, doresc să mulțumesc și colegilor de la clinica medicală și semiologie pentru colaborare.

Nu în ultimul rând, doresc să mulțumesc familiei pentru susținere și înțelegere, în mod deosebit soțului pentru contribuția sa în elaborarea studiului de morfopatologie.

Tuturor le adresez pe această cale recunoștința și mulțumirile mele.

INTRODUCTION

In the past 3 decades, the veterinary nephrology has seen a spectacular evolution with the first haemodialysis in dog using an "artificial kidney", performed in 1990 by Professor Larry Cowgill and his team.

Renal disorders have always been a challenge for practitioners because they involve clinical multisystemic manifestations and, in most of cases, have a progressive evolution despite the therapy. In pet animals, especially in cats, kidney disorders are very common, most of them in geriatric patients. It is estimated that about one in three cats over 14 age old will be diagnosed with chronic renal failure. In dogs, statistics show an incidence of 10% for chronic renal failure, but they are more predisposed to acute disease manifestations.

Although primary renal insufficiency is easy to diagnose, patients often present other underlying causes. For the patient's favorable evolution is necessary to establishing the appropriate therapeutic protocol which requires good knowledge of the pathogenesis of this disease. The management of mineral and electrolyte imbalances is the most effective way to keep the disease under control.

In many kidney diseases, the causal factors could not be identified in vivo, the histopathological examination being most relevant, in the euthanized or dead patients.

Renal failure may be accompanied, in addition to predominantly urinary and digestive symptoms, by a series of neurological manifestations. These usually occur in the terminal stages of the disease, and have multifactorial etiology. Neurological symptoms are the cause of both injuries, the central nervous system and the peripheral nervous system injuries. The most common manifestations are based on electrolyte imbalances specific to this disease, such as hypokalaemia that can be accompanied by polymyopathy with specific manifestations. It can also be seen then muscle tremor and myoclonus, as well as convulsive crisis, ataxia and dysmetria.

The research into the PhD program has proposed new approaches in diagnosis of these manifestations in order to bring light to the etiopathogenesis of uremic encephalopathy and eventually to guide new therapeutic behaviors.

The study of bioelectric activity modifications of the brain did not reveal specific changes, but only background activity slowed down by the presence of diffuse delta waves and the occurrence of electrical crises during recording, changes indicating a state of neuronal hyperexcitability.

We have highlighted the presence in the cerebrospinal fluid of compounds such as creatinine, with a high level on patients with chronic renal failure, whose

role has been confirmed by previous studies. Neurotoxic and excitatory compounds on the central nervous system such as tyrosine and myo-inositol were also identified, as well as other metabolites in particular in human patients with degenerative diseases such as acetic acid. These metabolites showed significantly elevated concentrations in dogs with kidney failure.

Studying heart rate variability, we have been able to demonstrate that besides central nervous system involvement, there are also changes in the vegetative nervous system, with sympathetic-vagale balance alteration in behalf of sympathetic, an imbalance which in cardiac canine patients presents an unfavorable prognosis. In human patients, the results obtained in this area are similar, and changes in cardiac frequency variability have been used to monitor the response to treatment and the clinical evolution of patients. This study presents the possibility of using variability of cardiac frequency in the same way in veterinary medicine.

Mulțumiri speciale îi sunt adresate domnului Șef de Lucrări Dr. Mihai Musteață pentru ajutorul oferit în realizarea studiului de metabolomică și pentru interpretarea statisticii utilizate la realizarea cercetărilor. De asemenea, vreau mulțumesc colectivului de la Institutul de Chimie Macromoleculară Petru Poni, în special doamnei Alina Nicolescu, pentru determeninările HNMR. Pe această cale doresc să mulțumesc și colegilor de la clinica medicală și semiologie pentru colaborare.

I would like to thank to Professor Gheorghe Solcan, the PhD manager of the thesis, for encouragement, stimulation, moral support, guidance in research, as well as for the final review of the present paper; who leaned with patience, competence and generosity over my attempts.

Special thanks are for Assistant Professor PhD Mihai Musteață, for his help and involvement in the study of metabolomics and statistical interpretation used in my research. I would like to thank to the colleagues from "Petru Poni" Institute of Macromolecular Chemistry, especially Mrs. Alina Nicolescu for the HNMR determinations. I would like to thank to my colleagues from Internal Medicine and Semiology Clinics for our collaboration.

Last but not least, I would like to thank to my family for support and understanding, especially to my husband for his contribution in the study of morphopathology.

All of you, I address my gratitude.

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 literă, urmat de multe ori de vomă. Pica este menționată în literatura de specialitate ca fiind unul din 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 că hipokalemia îndelungată ar putea constitui cauza apariției și progresiei 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 μV , 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 parametri 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 simpatice, 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.

ABSTRACT

The purpose of this thesis is to present the most important methods of diagnosing kidney disease in small animals, but mainly to highlight ways to evaluate and identify neurological phenomena that sometimes accompanies these illnesses.

The first part of the thesis consists of 2 chapters dealing with the current stage of knowledge on the diagnosis and etiopathogenesis of uremic encephalopathy and the main nephropathies in small animals.

Chapter 1 presents the peculiarities of neurological manifestations in uremic encephalopathy, the common aspects of human medicine as well as modern diagnostic tools.

Chapter 2 of the thesis contains notions of etiopathogenesis, clinical manifestations and ways to diagnose kidney diseases encountered in small animals. For the classification of nephropathies, the criterion of localization of the pathologic process was used as follows: in glomerular, tubulo-interstitial, then vascular, hereditary, mechanical and neoplastic.

Part 2 includes personal research, structured in 4 chapters, including the material and working methods, the results obtained, their interpretation and the general conclusions.

The researches took place between October 2013 and April 2017, were 3730 patients were consulted at the Medical Clinic of the Faculty of Veterinary Medicine in Iasi, from which 2517 dogs and 1213 cats.

Of the total patients, 163 were diagnosed with kidney diseases, with or without obvious clinical signs, representing a proportion of 4.36% of all the diseases diagnosed in the mentioned period. Patients underwent general clinical examination using the clinical examination sheet as well as complementary diagnostic examinations: ultrasound and biochemical examinations of blood and urine. The clinical examination was conducted following the order of general semiological methods. During consultation, the patient identification data of the species, race, age, and further information from the anamnesis, following the discussions with the owners, are noted in the clinical examination card.

The presumptive diagnosis is based on anamnestic data and later paraclinical investigations. The diagnosis of acute or chronic renal failure has been established after the time of the onset of clinical manifestations has been identified observed by the owner prior to consultation (about three months in the case of chronic or sudden renal insufficiency in case of acute renal failure), depending on the age of the patient, but also on the ultrasound aspects of the kidneys.

The blood sampling was performed predominantly from the cephalic and jugular vein, 3 to 5 ml of blood was drawn and distributed into cloth activator tubes and EDTA tubes.

For both cats and dogs, renal impairment was established according to the staging system set by IRIS in 2013.

Statistical analysis of the data was performed using the IBM SPSS 21 software. The variables considered for the analysis refer to the degree and type of renal failure, creatinine and urea value and general clinical signs such as: vomiting, anemia, the presence or absence of urinary tract infections, heart disease, immunizations, as well as temperature, heart rate, respiratory rate, and type of food. Most clinical signs reported in kidney failure are the consequences of uraemia, the uremia being the clinical stage to which all kidney problems convert at the end. The first clinical signs considered in the statistical analysis were the urinary ones, of which the presence of urinary tract inflammation - cystitis, which was reported in 25% of patients. Polyuria / polydipsia occurred in 87.5% of patients, and refers to the formation and elimination of excessive amounts of urine that may exceed 50 ml/kg/day and polydipsia at increased water and fluid consumption that exceeds 100 ml/kg/Day. The most commonly mentioned digestive signs were changes in appetite and transit, and vomiting. Selective appetite was reported in 45% of patients, 55% lacked appetite. Vomiting was reported in 50% of patients, being caused by the effect of a series of unidentified toxins on the center of vomiting and uremic gastritis.

Pica was manifested in 20% of patients by occasional consumption in small amounts of slurry litter followed by vomiting most of the times. Pica is referred to in the literature as being a clinical sign of anemia especially that associated with iron deficiency. Anemia was reported in 55.6% of patients.

In 4th chapter there were presented the main diagnostic tools used in kidney failure patients and their results.

The statistical analysis of the data was performed using the IBM SPSS 21 software, using the Mann Withney and Ttest paired samples with a significance threshold set at $p < 0.05$. The variables considered were: species, sex, degree of renal insufficiency, type of renal insufficiency, creatinine, urea, potassium, sodium, phosphorus, magnesium, total calcium, protein, hepatic enzymes (AST, PA, ALT, GGT), cholesterol, iron, erythrocytes, hematocrit, hemoglobin, MCV, MCHC, leukocytes and the proportion of lymphocytes, granulocytes, basophils, monocytes, eosinophils and reticulocytes.

Hyperphosphatemia is the most common mineral imbalance in patients with chronic renal failure. Changes in potassium metabolism in this group of patients have been associated with hypokalaemia. Hypokalaemia is an electrolyte deficiency mainly in CKD cats. In dogs with this condition, hypokalaemia is not commonly observed. There are studies that claim that long-term hypokalaemia may be the cause of the progression of renal failure in cats, and not just a

consequence of it. Increased serum total calcium concentrations have been reported in patients with CKD occurring primarily because of increased calcium complexation with organic and inorganic anions that may have higher concentrations in CKD such as citrate, phosphate or sulphate.

From the determined liver enzymes, the AST was above the upper limit. In renal failure, due to chronic blood loss and erythropoietin deficiency, anemia often occurs with disease progression. Anemia in this pathology has characteristic traits, being normochromic, normocytic, and hypoproliferative. Systemic stress in this pathology is characterized by the presence of neutrophilia and eosinopenia, which was also observed by the negative correlation ($r^2=-0.773$, $p<0.05$) between the value of neutrophils and eosinophils.

The imaging investigations of this disease were carried out on 24 cats and 28 dogs. The most common lesional aspects, consistent with ultrasound images, were cortical sclerosis, medullary sclerosis, inflammation of the pelvis and hydronephrosis.

Chapter 5 discusses the ways to diagnose neurological disorders that occur in renal failure. 10 patients, 5 dogs with chronic kidney disease aged 12-18 years and 5 dogs with acute renal failure caused by ethylene glycol intoxication aged 4 to 9 years were enrolled in the bioelectric brain activity study. The group of cats consisted of 6 patients, 3 diagnosed with AKF and 3 with CKD, aged between 2 and 17 years.

All patients were sedated before recording EEG using 0.03 mg/kg of medetomidine hydrochloride (Domitor, Pfizer) administered intramuscularly to reduce the frequency or appearance of artefacts due to muscle contractions. The acquisition of EEG traces was performed with the Neurofax (Nihon Kohden) electroencephalograph for a period of 30 minutes. Needle-type electrodes were placed subcutaneously after pre-trimming and degreasing of the skin surface with alcohol, using the Redding model. The parameters used for each electroencephalographic recording are: sensitivity: 70 μ V, time constant: 0.3 seconds, trace filter of 70 Hz and electrode impedance $<10\Omega$. All EEG records were visually analyzed; artifacts were determined by direct tracking of records, background activity being analyzed during registration to identify any detectable changes.

In both CKD and ethylene glycol poisoned dogs, the bioelectric activity of the brain was characterized by non-specific electroencephalographic abnormalities: diffuse delta waves and slow background activity. No interictal epileptic discharges (characteristic of idiopathic epilepsy) were observed.

EEG traces had a low voltage appearance and initially had a slow background activity of 5-7 cycles / second, over which diffuse delta and bilateral synchron delta was observed, being the expression of a cortical or subcortical neuronal hyperexcitability state. The background activity was characterized by

high amplitude and low frequencies, the most likely changes in the use of medetomidine.

During the recordings it was possible to notice the occurrence of electric crises on all branches, which were characterized by a sequence of peaks with a frequency of 15-35 cycles/second, which gradually increased in amplitude, reaching values up to 250-500 μ V.

In feline patients, non-specific electroencephalographic abnormalities similar to those seen in dogs were identified: where beta and diffuse theta, background activity slowed. Also, no interictal discharges specific to idiopathic epilepsy have been identified. Other changes observed in all patients were sparing medications, fast, diffuse rhythms, commonly found in patients who received benzodiazepines or other psychotropic medications.

Quantitative analysis of EEG tracts in cats included 5 patients, 2 with IRC and 3 with AKF. For each patient, 30 EEG epochs were selected without artifacts and paroxysmal events of 2 seconds each. The number of alpha waves (8.0-13.0Hz), beta (13.0-30.0 Hz), delta (0.5-4.0 Hz) and theta (4.0-8.0 Hz) expressed as relative power (%) were calculated for each channel. After comparing the relative frequencies of the alpha, beta, theta, delta waves, no statistically significant differences were noted depending on the stage of evolution of the disease, or between the sedated patients and those whose EEG tracing was done without sedation. The overwhelming presence of beta and theta waves was observed, with the absence of delta waves in the two patient groups. Given that beta waves are predominante in wake state, and the theta waves in the early stages of sleep, we can say that the electroencephalographic traces studied in terms of quantitative analysis are within normal limits.

The study on the metabolism of cerebrospinal fluid in uremic encephalopathy was performed on 10 healthy dogs aged 2-5 years and weighing 15-20 kg dogs (control group) without a history of neurological disease and 7 dogs with end-stage renal failure and a dog with a ruptured urethra (CKD group), also diagnosed with IRC, aged 8 to 15 years and weighing between 4.5kg and 32kg. Patients in the CKD group have never been diagnosed with any neurological condition.

The collection of CSF samples was performed on patients on general anesthesia with medetomidine (Domitor, Pfizer) 0.03 mg/kg and ketamine (Kepra) 0.1 mg/kg administered intravenously, from the cerebellomedular cistern with a spinal needle with a diameter of 22.

Sample analysis was performed at a temperature of 26.5°C using a Bruker Avance III 400 MHz spectrometer operating at 400.13 MHz with a 5 mm inversion multi-nuclear detection probe equipped with gradients on the z-axis.

For healthy dogs, 18 metabolites were identified and 21 were quantified for the CKD group. Succinic acid, dimethylamine and tyrosine are missing from the control group; these metabolites have not been identified in healthy dogs. Notable

differences were observed in the levels of creatinine, lactate, acetic acid, acetone, pyruvate, creatine and myo-inositol between the healthy group and the CKD.

Evaluation of autonomic nervous system disorders by heart rate variability aimed to evaluate simpato-parasympathetic (sympathetic) balance in dogs with chronic renal failure using EKG monitoring over a short period of time, 5 minutes being sufficient to obtain the parameters needed for the investigation. The study included 13 dogs (different ages and breeds) with chronic renal failure (CKD group) diagnosed according to the IRIS guidelines but without detectable cardiac conditions. To compare the results of the HRV analysis, we used the parameters obtained from 13 healthy dogs (without heart or kidney disease) of the same gender with similar age and weight.

To obtain the EKG recordings, the PolySpectrum - 8E/8V (Neurosoft) electrocardiograph was used, and the Kubios HRV Analysis Software (Kuopio University, Finland) was used to obtain the HRV parameters. Statistical analysis of the data was performed using the IBM SPSS 21 software, using the Mann Withney and Ttest paired samples with a significance threshold set at $p < 0.5$. The most commonly used methods for the analysis of heart rate variability are time domain analysis and frequency domain analysis.

We evaluated the time and frequency domain parameters to estimate global HRV (SDNN), vagal activity (pNN50 and HF) and sympathetic tone (LF and LF/HF). Our results showed a significant decrease in overall HRV (SDNN) ($p=0.017$) in the CKD group associated with a significant decrease in vagal tone (pNN50 and HF). Moreover, sympathetic activity is increased ($p<0.001$ and $p<0.05$) in the CKD group compared to the healthy group. Our study has shown that patients with CKD show increased sympathetic activity associated with decreased vagal activity, with overall decrease in cardiac variability. This autonomous imbalance is an indicator of a bad prognosis in dogs with heart disease.

Chapter 6 included the study of histopathological and electronmicroscopic aspects in kidney diseases performed on a number 19 dogs ranging in age from 7 months to 11 years, and 9 cats aged 1.5-17, diagnosed with AKF or CKD, and uremic encephalopathy, performed on 8 dogs.

Renal lesions recorded with the highest frequency in dogs are: membrano-proliferative glomerulonephritis and glomerulosclerosis (24%), lymphohistiocytic nephritis (12%), tubulonephritis characterized by epithelial degeneration (14%) and the presence of casts (14%) of proteinuria. In cats the most common injuries to the patients studied were: glomerulonephritis (25%), tubulonephritis (18%), the presence of casts (14%) and crystals of oxalate or urate (14%).

In uremic encephalopathy, the most commonly encountered lesions were: congestion, cerebral edema, and tissue vacuoles.

The last chapter outlines the general conclusions of the studies presented.

PARTEA I

STADIUL ACTUAL AL CUNOȘTERII PRIVIND DIAGNOSTICUL TULBURĂRILOR SISTEMULUI NERVOS CENTRAL ÎN NEFROPATIILE ANIMALELOR DE COMPANIE PART I – THE PRESENT STAGE OF KNOWLEDGE REGARDING THE DIAGNOSIS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM DISORDERS IN SMALL ANIMALS KIDNEY DISEASES

**CAPITOLUL I DATE ACTUALE CU PRIVIRE LA DIAGNOSTICUL
ȘI ETIOPATOGENEZA NEFROPATIILOR LA ANIMALELE
DE COMPANIE
CHAPTER I. THE PRESENT DATA REGARDING THE DIAGNOSIS
AND ETIOPATHOGENESIS OF NEPHROPATHIES IN SMALL
ANIMALS**

Etiologia nefropatiilor este diversă iar manifestările clinice uneori nespecifice de aceea pentru stabilirea unui diagnostic de certitudine se impune utilizarea unei game largi de investigații clinice și paraclinice, de la simplul examen de urină și analiza sedimentului urinar la biopsie renală, imunofluorescență (IF), microscopie electronică (ME), computer tomografie, PET-CT și rezonanță magnetică nucleară.

1.1. Nefropatii glomerulare

Din punct de vedere al clasificării nefropatiilor nu există nici în medicina veterinară, nici în cea umană un criteriu de clasificare unanim acceptat. De aceea am considerat relevant abordarea criteriului de localizare al procesului patologic (fig. 1.1), pentru a expune și diferenția etiologia, manifestările clinice și metodele specifice de diagnostic.

Nefropatiile glomerulare sunt procese patologice ale parenchimului renal ce afectează structurile glomerulare, având o etiologie plurifactorială sau necunoscută, cu substrat imunologic și cu o incidență de 43% până la 90% din nefropatiile diagnosticate la câinii peste 10 ani, incidență ce crește odată cu vârsta. Bolile glomerulare deși sunt diagnosticate și la pisici au o frecvență mai redusă (Ettinger ș.a., 2006).

Proteinuria este semnul comun al acestor boli renale, însă până la momentul manifestărilor clinice de insuficiență renală, cauza inițială și anume leziunea glomerulară poate să rămână nedectectată, deoarece proteinuria scade odată cu extinderea leziunii la nivel glomerular și scăderea ratei de filtrare glomerulară, iar hipoalbuminemia ce apare ca urmare a pierderilor de proteine poate fi mascată de deshidratare (Ettinger ș.a., 2006, Littman M., 2011).

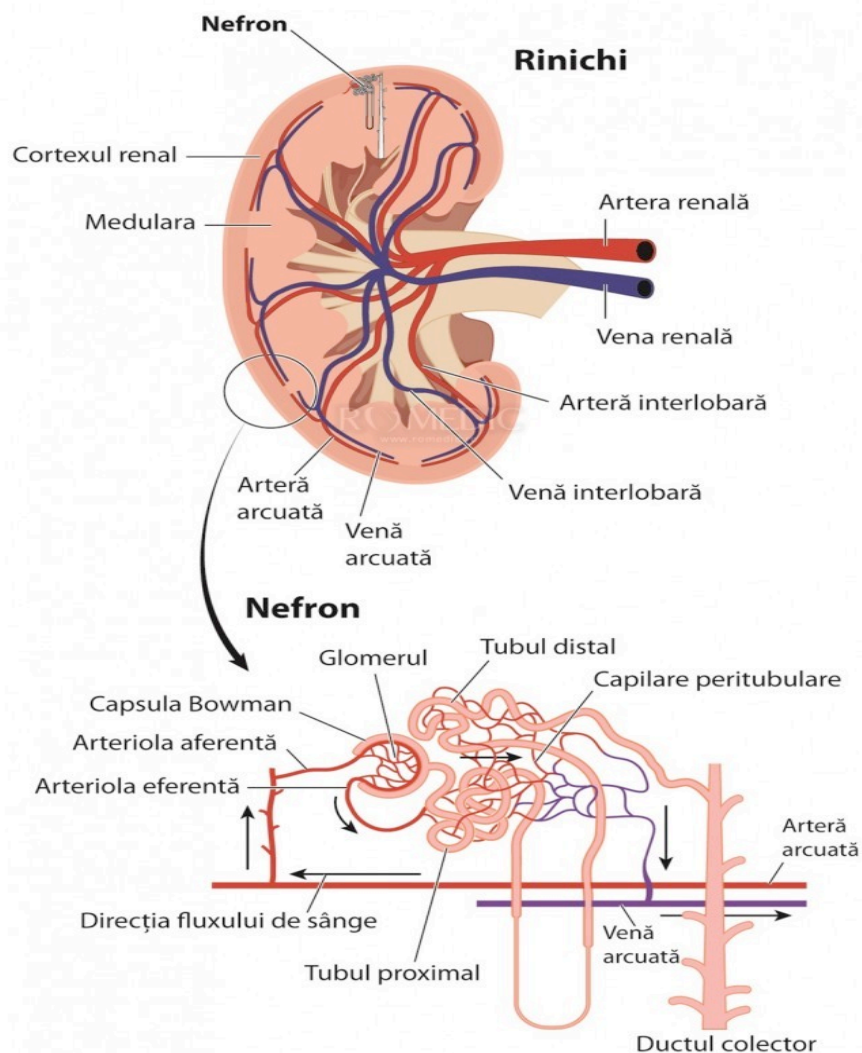


Fig. 1.1. Structura histologică a nefronului

<https://www.google.ro/search?q=histological+structure+of+nephron&espv=2&source>

Fig. 1.1. Histological structure of nephron.

În medicina animalelor de companie nefropatiile glomerulare întâlnite sunt:- glomerulonefrite sau nefropatii glomerulare proliferative :

- glomerulonefrite membrano-proliferative

- boala depozitelor dense
- glomerulonefrite proliferative (mezangiale și endocapilare)
- glomerulonefrite extracapilare cu progresie rapidă

- glomerulonefrite exsudative

- glomerulonefrita chistică
- glomerulonefrita embolică

- glomerulopatii sau nefropatii glomerulare neproliferative:

- amiloidoza
- glomeruloscleroza
- glomerulopatia cu leziuni minime
- nefropatia membranoasă
- glomerulopatii sau nefrite ereditare - sindromul Alport, boala membranelor subțiri.

Nefropatiile glomerulare cel mai des întâlnite la carnivorele de companie sunt glomerulonefritele și amiloidoza (Ettinger ș.a., 2006).

1.1.1. Nefropatii glomerulare proliferative

Glomerulonefrita membrano-proliferativă se caracterizează prin proliferarea endocapilară și îngroșarea membranei bazale glomerulare (MBG), fiind cea mai frecvent întâlnită nefropatie glomerulară la câinii cu vârste medii de 5-6 ani.

Are caracter progresiv fiind cauza principală a insuficienței renale cronice la câine. Este îndusă de cele mai multe ori de boli infecțioase, fiind mediată imun și caracterizată prin depunerea de complexe imune în mezangiu și în pereții capilarelor glomerulare, dar există și cazuri în care apariția leziunilor nu poate fi pusă pe seama unui stimul antigenic, având origine idiopatică (Ettinger ș.a., 2006, Littman M., 2011).

Din punct de vedere histopatologic leziunile sunt globale, difuze; la MO glomerulii apar măriți, se observă o proliferare mezangială importantă și debublaarea MBG cu aspect de șine de tren. Prin tehnica imunofluorecenței se pot pune în evidență depozite granulare reprezentate de imunoglobuline (IgA, IgM și IgG) și componenta a 3-a a complementului (C3) prezente în mezangiu sau în MBG (Littman M., 2011).

Glomerulonefrita membrano-proliferativă a fost asociată cu administrarea sulfamidelor la câinii din rasa Doberman, cu procese neoplazice, inflamatorii cronice și boli infecțioase cum ar fi: bacteriene cronice (bruceloză, micoplasmoză), boli vectoriale (hemobartoneloză, leishmanoză, borelioză, babesioză, ehrlichioză, dirofilarioză), virale (adenoviroze, herpesviroze, leucemie felină, PIF, FIV) dar și cu intoxicațiile cu mercur și etilen glicol.

Apariția și evoluția leziunilor glomerulare pot fi și consecința unor boli cardiovasculare (hipertensiune arterială, tromboza venei renale) și metabolice (diabetul zaharat).

Din punct de vedere patogenetic există două căi prin care mecanismul imunologic inițiază afectarea structurii glomerulare:

- a. depunerea sau captarea de complexe imune circulante la nivel glomerular, cu localizare mezangială sau subendotelială
- b. formarea de complexe imune *in-situ* când Ac circulanți reacționează cu Ag (de origine exogenă sau endogenă) fixați la nivel glomerular (Ettinger ș.a., 2006, Grant ș.a, 2001, Littman M., 2011)(fig. 1.2).

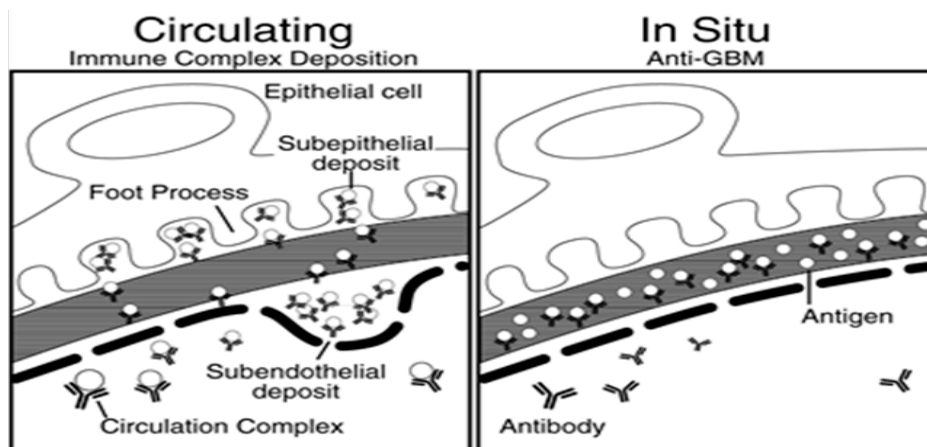


Fig 1.2. Depunerea complexelor circulante la nivel glomerular

<https://www.google.ro/search?q=circulating+immune+complex+deposition&espv=2>

Fig. 1.2. Glomerular circulating immune complex deposition

Formarea de Ac anti-MBG ce determină glomerulonefrită autoimună la oameni, nu a fost demonstrată încă la animale (Ettinger ș.a., 2006).

Complexele imune determină un proces de activare a complementului, infiltrație neutrofilică și macrofagică, agregare plachetară, cu eliberarea de mediatori ai inflamației și activarea în cascadă a factorilor coagulării, precum și depunerea de fibrină.

Mediatorii inflamației de origine celulară (eicosanoidale, factorul de agregare plachetară-PAF, citokinele) produc vasoconstricție și scăderea ratei de filtrare glomerulară ce duc la activarea locală a sistemului renină-angiotensină-aldosteron (SRAA) cu producerea angiotensinei II tisulare ce are ca efect arterioloconstricția renală, predominant la nivelul arteriolelor eferente și creșterea presiunii la nivel glomerular. Creșterea presiunii hidrostatice la nivel glomerular produce trecerea albuminelor plasmatice cu sarcină negativă prin filtrul glomerular de unde rezultă și proteinuria, ce apare și ca urmare a neutralizării sarcinii negative a pereților glomerulari de către PAF, afectând funcția de permeabilitate selectivă a glomerulilor (Ettinger ș.a., 2006, Grant ș.a., 2001).

Angiotensina și aldosteronul au de asemenea efect pro-inflamator, stimulând proliferarea celulară glomerulară și fibroza. Aldosteronul stimulează producerea de PAI I, inhibitor ai activatorilor plasminogenului (activatorul tisular și urokinaza), ce împiedică fibrinoliza și perpetuează tromboza glomerulară (Ettinger ș.a., 2006).

Boala depozitelor dense este rară și se caracterizează prin depunerea complementului în MBG și matricea mezangială. A fost considerată mult timp drept un subtip al glomerulonefritei membranoproliferative (Walker ș.a., 2007).

Patogeneza acestei boli presupune o activare sistemică necontrolată a complementului de către așa numitul factor nefritic, care este o Ig G serică.

Modificările anatomopatologice sunt asemănătoare celor din glomerulonefrita membranoproliferativă doar într-un număr limitat de cazuri și se manifestă prin îngroșare și proliferare endocapilară cu evidențierea prin imunofluorescență a depozitelor liniare de complement în pereții capilarelor, fără prezența imunoglobulinelor. La microscopul electronic aceste depozite de complement apar sub forma unor benzi dense în mijlocul MBG și în matricea mezangială.

Conform lui Walker ș.a., 2007, pe lângă modificări membranoproliferative, boala depozitelor dense prezintă și alte tipare histologice: mezangial-proliferative (hipercelularitate mezangială), rapid progresive (cuprinde mai mult de 50% din glomeruli), acut- proliferative și exudative (proliferare endocapilară cu infiltrație neutrofilică), precum și modificări ce nu au putut fi clasificate.

Glomerulonefrita proliferativă este produsă de proliferarea endocapilară sau mezangială, cu o incidență de 2-16% din totalul leziunilor glomerulare.

În patologia umană afecțiunea este descrisă mult mai amănunțit din punct de vedere morfologic, fiind întâlnită la pacienții cu lupus, în nefropatia cu IgA, sau după infecțiile streptococice și stafilococice. Cu excepția nefropatiei cu IgA, glomerulonefrita proliferativă la câini a mai fost descrisă și la pacienții cu piodermită (Pașca S., 2008). Câinii la care s-a raportat această nefropatie aveau o vârstă medie cuprinsă între 7 și 9 ani, cu semne clinice de proteinurie și insuficiență renală în diferite stadii.

Mecanismul patogenetic este imuno-mediat, fiind consecința unor boli de scurtă durată ale căror semne clinice se remit până la apariția celor de afectare glomerulară, infecțiile persistente ducând de obicei la evoluția glomerulonefritelor membrano-proliferative și a nefropatiei membranoase.

Histologic, glomerulonefrita proliferativă se traduce printr-o proliferare mezangială cu o creștere marcantă a numărului de celule din structura acestuia, însoțită de proliferarea endotelială și infiltrația celulelor cu rol în inflamație. Glomerulii apar mariți în volum, iar capilarele au membranele bazale subțiri și lumenul turtit.

Prin IF și ME se observă depozite fine granulare de IgA și IgM în MBG și în mezangiu, dar se pot observa și IgG și C3 (Ettinger ș.a., 2006).

Nefropatia cu IgA sau boala Berger, în medicina umană, asociată cu proliferarea și expansiunea matricii mezangiale, este o glomerulonefrită caracterizată prin depozite mezangiale de IgA. Pentru diagnosticul de certitudine a afecțiunii se utilizează IF prin care se observă predominanța depozitelor de IgA, alături de depozite de IgM, IgG și C3.

La câine incidența cea mai mare a nefropatiei cu IgA a fost întâlnită în afecțiunile enterice, hepatice și alergiile alimentare, ca urmare a producerii excesive de complexe imune și a clearance-ului deficitar al acestora, asociat cu

hepatopatiile (Ettinger ș.a., 2006). Deși la oameni această nefropatie este întâlnită la pacienții tineri, la câini se înregistrează la vârste medii cuprinse între 4 și 7 ani însoțită de episoade de hematurie, proteinurie și semne de insuficiență renală.

Glomerulonefritele extracapilare sau rapid progresive sunt întâlnite rar la câine, caracterizându-se prin proliferare extracapilară și necroză fibrinoidă în majoritatea glomerulilor, cu formarea de depozite semilunare epiteliale în spațiul Bowman, având o evoluție rapidă spre insuficiența renală cronică și deces. Depozitul este format din celule epiteliale și inflamatorii dispuse în straturi, glomerulii subiacenți sunt comprimați și prezintă leziuni de necroză fibrinoidă (Macdougall ș.a., 1986).

La pacienții umani, acest tip de glomerulopatie este întâlnită mai frecvent la vârstnici.

1.1.2. Glomerulonefrite exudative

Glomerulonefrita chistică este o nefropatie foarte rar întâlnită la câini și pisici.

Aspectele morfolopatologice relevă macroscopic o ușoară creștere în volum a rinichiului, culoare cenușie, aspect spongios dat de prezența chisturilor de mici dimensiuni. Histologic, se constată creșterea în volum a corpusculilor renali ca urmare a acumulării unui exsudat sero-fibrinos ce determină în timp atrofia capilarelor glomerulare, fibroză periglomerulară și interstițială (Fig. 1.3).



Fig. 1.3. Aspect macroscopic în glomerulonefrita chistică la câine
(după Salinas și col., 2008)

Fig. 1.3. Cystic glomerulonephritis in dog – gross aspect (Salinas et al., 2008)

Semnele clinice sunt de insuficiență renală cronică (Salinas ș.a., 2008)

Glomerulonefrita embolică sau purulentă apare în septicemii și este cauzată de depunerea agenților patogeni la nivelul capilarelor glomerulare, cu apariția multiplelor focare de inflamație și a microabceselor. Nefropatia poate evolua afectând și țesutul extra-glomerular.

Histologic se observă depunerea de colonii bacteriene la nivel glomerular, necroză și infiltrație neutrofilică ce pot oblitera glomerulii (Jubb ș.a., 2007).

1.1.3. Nefropatii glomerulare neproliferative

Dintre nefropatiile glomerulare neproliferative la animalele de companie cel mai des este diagnosticată amiloidoza.

Amiloidoza renală constă în depunerea unor proteine nefuncționale (amiloidul) la nivel glomerular. Amiloidul este constituit din proteine de origine plasmatică care prezintă particularitatea de a forma structuri fibrilare insolubile, prin polimerizarea incorectă în configurație beta-plisată (Macdougall ș.a., 1986, Woldemeskel, 2011).

Proteinele fibrilare ale amiloidului au compoziție diferită, în funcție de tipul de amiloid și de forma clinică. După distribuția depozitelor, amiloidoza poate fi sistemică sau localizată, iar în funcție de structura acestora este AA (secundară) și AL (primară).

Câinele este animalul domestic cel mai afectat de amiloidoză, care are o incidență de până la 25% din totalul bolilor glomerulare. Amiloidoza AA, reactivă sau secundară, este forma cea mai frecvent întâlnită la câine, evoluând în medie la vârste peste 9 ani. Femele prezintă o incidență mai ridicată a bolii, iar rasele cele mai predispuse sunt Beagle, Collie și Treeing Walker Coonhound.

Semnele clinice sunt caracteristice glomerulopatiilor, deși pot fi afectate și alte organe (ficat, splină), însă simptomele caracteristice depunerii amiloidului la nivelul acestora sunt rare. Procesele inflamatorii cronice de origine infecțioasă sau neinfecțioasă împreună cu neoplaziile ce evoluează de multe ori asimptomatic au fost asociate cu amiloidoza secundară în proporție de 32-52%.

La rasa Shar-Pei amiloidoza este întâlnită și cu caracter ereditar la vârstă tânără, în medie la 4 ani, amiloidul localizându-se de multe ori la nivel medular și doar în 64% din cazuri la nivel glomerular, de aceea proteinuria poate să lipsească. Multe exemplare prezintă episoade de febră recurentă, inflamații la nivelul articulațiilor tibio-tarso-metatarsiene, precum și afectarea altor organe, în special a ficatului. Caracterul ereditar este susținut și de statistici care demonstrează că în proporție de 25-50% descendenții exemplarelor care suferă de această afecțiune, vor prezenta semne clinice de boală la maturitate (DiBartola ș.a., 1990, Woldemeskel, 2011).

La pisici, această nefropatie este rar întâlnită, excepție făcând rasa Abyssinian. Având caracter ereditar, amiloidul se depune în principal la nivel medular, dar și glomerular. Localizare specifică a amiloidului determină fibroză

medulară și necroză papilară, ce conduc în timp la insuficiență renală cronică (Boyce ș.a, 1984, Ettinger ș.a., 2006). La rasa Siameză și la alte rase cu păr scurt, depunerea amiloidului se realizează cu preponderență la nivel hepatic.

Mecanismul patogenetic al acestei nefropatii presupune niveluri constant crescute ale amiloidului A seric(SAA)-proteină de fază acută, care este produsă de către ficat ca urmare a stimulării hepatocitelor de către citokinele (IL-1, IL-6) eliberate în cazul apariției unei leziuni tisulare (Gervais ș.a., 1988).

Macrofagele prin proteazele serice de suprafață scindează fragmentul amino-terminal al SAA, procesul desfășurându-se în două etape. Defecte apărute pe parcursul celei de-a doua etape duc la formarea amiloidului A și depunerea la nivelul rinichilor sub acțiunea factorului de stimulare a amiloidozei (Alizadeh-Khiavi ș.a., 1988, Gervais ș.a., 1988).

Deși multe animale suferă de procese inflamatorii cronice, doar o mică parte din acestea ajung să fie afectate, fapt ce susține și implicarea factorilor genetici în apariția bolii.

La examenul anatomo-patologic al rinichilor, aceștia apar palizi, indurați și ușor reduși în volum. La microscopul optic se observă depunerea de amiloid de o parte și de alta a MBG, în pereții vaselor, membranelor bazale tubulare și în interstițiu.

Prognosticul este grav. În general după diagnostic animalele mai au o speranță de viață cuprinsă între 2 și 20 de luni, doar 8.5% din aceste ajungând să supraviețuiască mai mult de un an.

Pentru diferențierea amiloidozei de alte nefropatii glomerulare este necesară biopsia renală, dar care nu se recomandă din cauza friabilității organului. Un test de diagnostic totuși se poate utiliza administrând roșu de Congo i.v., 0.08 g/kg, soluție 1%, după o oră prelevându-se sânge. Dacă plasma se decolorează în cel mult o ora, testul este pozitiv (Solcan ș.a., 2011).

Glomeruloscleroza se întâlnește de cele mai multe ori în stadiile finale ale afectării glomerulare. Prevalența acestei boli crește odată cu vârsta și poate să apară ca afecțiune primară cum ar fi forma focală segmentară, ce are implicații genetice, ereditare, sau secundară în hipertensiune arterială persistentă, nediagnosticată (Ettinger ș.a., 2006, Graves, 2012). Este o nefropatie întâlnită frecvent la pacienții umani cu diabet zaharat, leziune ce apare și la animalele diagnosticate cu această boală.

Glomeruloscleroza focală și segmentară este o boală care a fost identificată la câine, dar despre care există puține date, relevanța clinică fiind incomplet documentată. La pacienții umani au fost descrise cinci tipuri de glomeruloscleroză : colapsantă, celulară, perihilară, leziune glomerulară "tip", și varianta NOS, care este și cea mai frecvent întâlnită (Vivette ș.a., 2011). Termenul de " focală,, din denumirea bolii se referă la afectarea unui număr limitat de corpusculi renali (capsula Bowman și glomerulul vascular), iar "segmentară,, semnifică afectarea unei părți din corpusculul renal implicat. Se

manifestă prin proteinurie asimptomatică, putând fi greșit diagnosticată ca glomerulonefrită membrano-proliferativă.

Din punct de vedere histologic se observă trei tipuri de leziuni: alterare celulară, inițial podocitară, depozite hialine și scleroză. Prin tehnica IF se pot observa uneori depuneri de imunoglobuline și C3 în zonele cu scleroză (Ettinger ș.a., 2006).

Glomerulopatia cu leziuni minime este o afecțiune rar întâlnită la câini și pisici, dar este o cauză comună a sindromului nefrotic în rândul pacienților umani, în special la copii. Deoarece pentru diagnosticul de certitudine este necesară ME, cel mai probabil este de multe ori diagnosticată greșit. În medicina umană, această boală poartă mai multe denumiri cum ar fi: sindrom nefrotic idiopatic sau nefroză lipidică.

La animale, în special la câini este întâlnită secundar infecției cu *Ehrlichia canis* și după administrarea medicamentului Mastinib, inhibitor de tirozin-kinază, utilizat în terapia anti-canceroasă (Littman M.P., 2011). Au fost descrise cazuri izolate de boală în SUA, manifestate prin proteinurie, rareori evoluând și cu sindrom nefrotic.

Mecanismul patogenetic presupune producerea de limfokine de către limfocite T disfuncționale ce afectează capacitatea de filtrare selectivă a MBG, conducând la proteinurie și hipoalbuminemie.

La microscopul optic nu se observă nici o modificare, de unde de altfel și denumirea, în schimb la ME apar proliferații mezangiale, vacuolizări, afectarea proceselor podocitare (*foot process*) și apariția de microvili la nivelul stratului epitelial visceral. Prin tehnica IF nu s-au identificat depunerea de complexe imune (Grant ș.a, 2001, Ettinger ș.a., 2006).

Nefropatia membranoasă (NM) este cea mai frecventă glomerulopatie diagnosticată la pisici, la care celelalte tipuri de glomerulopatii sunt rare, și a doua cea mai frecventă la câini.

Datorită faptului că rareori sunt evidente procese inflamatorii la nivel glomerular și interstițial, această nefropatie este mai degrabă o glomerulopatie decât glomerulonefrită.

Clinic are o incidență mare la masculi, fiind mai frecvent întâlnită la pisicile cu vârsta medie de 3.6 ani. Se manifestă prin proteinurie severă, cu sindrom nefrotic și semne de insuficiență renală, multe dintre pisicile prezente la consultație având rinichii normali sau crescuți în volum (Ettinger ș.a., 2006).

Patogeneza acestei boli presupune alterări structurale produse de complexe imune. În nefropatia membranoasă primară sau idiopatică complexe imune se găsesc în spațiul subepitelial al ghemurilor vasculare glomerulare, în timp ce în nefropatia membranoasă secundară complexe imune se găsesc în mezangiu sau spațiul subendotelial, sau chiar și în cel subepitelial. Complexele imune se formează atât *in situ* cât și în circulația generală (Ettinger ș.a., 2006, Jaenke ș.a., 1986).

NM primară la pacienții umani pare a fi de origine autoimună, cea secundară în schimb pare a fi determinată de alterări ale MBG de către complexul de atac membranar al complementului C5b-9, cu creșterea concentrației urinare a acestor complexe imune, precum și implicarea altor factori imunologici care conduc spre ipoteza ca această boală ar avea caracter familial.

Aspectele morfopatologice relevă o evoluție stadializată, până la stadiul 5, cu modificări specifice. În stadiul I se observă o ușoară îngroșarea a pereților capilari cu depozite granulare discrete în spațiul subepitelial. În stadiul II peretele capilarelor apare uniform îngroșat ca urmare a încorporării parțiale a complexelor imune în membrana bazală a capilarelor. Stadiul III este caracterizat prin îngroșarea mult mai accentuată a pereților capilari, membrana bazală având aspect tristratificat cauzat de depunerea complexelor imune. În stadiul VI capilarele au aspect îngroșat, neregulat, pe alocuri observându-se colaps vascular ca urmare a expansiunii mezangiale. În stadiul V poate să apară regresia leziunilor glomerulare în unele cazuri, precum și rezoluția depozitelor dense. La unii pacienți, stadializarea poate fi dificilă deoarece pot fi prezente aspecte corespunzătoare mai multor stadii (Jaenke ș.a., 1986).

Această afecțiune este întâlnită și cu caracter familial la rasa Doberman pinscher.

Nefropatiile ereditare au fost diagnosticate la diferite rase de câini cu transmitere autozomal recesivă la rasa English Cocker, autozomal dominantă la Bull Terrier și Dalmatian, și x-linkată la Samoyed și metișii acestei rase.

Boala Alport din medicina umană este o nefropatie ereditară cu transmitere x-linkată care se întâlnește la masculii rasei Samoyed, ce se manifestă inițial la vârsta de 2-3 luni prin proteinurie și glucozurie, continuând cu sindrom de retenție azotată de la 6 la 9 luni și evoluând spre insuficiență renală. Boala se poate manifesta și la femele (transmiterea fiind autozomală recesivă), prin proteinurie la vârsta de 2-3 luni, fără alte semne de insuficiență renală, neajungând însă la o dezvoltare corporală normală.

Defectul genetic în acest caz îl reprezintă mutația unei gene implicate în sinteza collagenului IV, constituent al MBG. Acesta este constituit din 3 lanțuri α , care sunt la rândul lor de 6 tipuri, codificate de 6 gene COL4A1-COL4A6. Gena mutantă este COLA5, mutație provocată de substituția unei singure nucleotide (Bernard ș.a., 1977, Ettinger ș.a., 2006).

Această mutație împiedică formarea lanțului $\alpha 5$, dar și încorporarea lanțurilor $\alpha 3$ și $\alpha 4$ în structura collagenului IV. Structura modificată a acestui collagen îi oferă susceptibilitate ridicată la proteoliză enzimatică, proteinuria și boala renală progresivă fiind urmarea deteriorării MBG.

Pot să apară și tulburări oculare, frecvente la pacienții umani, dar rar întâlnite la animalele afectate de această nefropatie, însă exemplarele din rasa Bull Terrier pot prezenta *lenticonus* anterior-bombarea cristalinului și a cortexului subadiacent. La examenul histologic, prin MO se observă hipoplazie corticală,

leziuni membranoproliferative, precum și scleroză glomerulară. ME relevă fragmentarea MBG, ce capătă aspect laminat, și zone cu granule electronodense.

Nefrita ereditară la rasa English Cocker Spaniele este produsă de mutații ale genelor COLA3 și COLA4, manifestându-se atât la adulți cât și la femele cu vârste cuprinse între 6 și 24 de luni. Clinic se manifestă prin proteinurie, apoi azotemie și dezvoltare corporală întârziată.

Leziunile histologice sunt asemănătoare celor din nefrita ereditară ce afectează rasa Samoyed, și anume fragmentarea cu aspect laminat al MBG, scleroza difuză glomerulară și periglomerulară. În cadrul rasei Bull Terrier, această nefropatie este raportată la vârste cuprinse între 1 și 8 ani, afectând atât masculii cât și femelele, cu manifestări clinice timpurii de proteinurie și creșterea raportului proteină/creatinină din urină. Leziunile sunt asemănătoare cu cele întâlnite la celelalte rase, cu excepția afectării membranei bazale ale tubilor uriniferi și fibrozei interstițiale (Ettinger ș.a., 2006).

1.2. Nefropatii tubulo-interstițiale

Sunt procese patologice ce afectează tubii renali (proximali și distali) și țesutul interstițial. Tubii renali sunt responsabili de absorbția diferitelor componente sangvine ce au fost filtrate la nivel glomerular, de eliminarea unor electroliți, medicamente și menținerea echilibrului hidro-electrolitic. Având în vedere structurile din componența medularei afectate, s-au clasificat nefropatiile tubulo-interstițiale în:

- nefropatii tubulare
 - acidoza tubulară
 - sindromul Fanconi
 - glucozuria
 - diabetul insipid nefrogen
 - cistinuria
 - carnitinuria
 - hiperuricozuria
 - hiperxantinuria
- nefropatii tubulo-interstițiale
 - nefrita tubulo-interstițială acută și cronică
 - pielonefrita acută și cronică

1.2.1. Nefropatii tubulare

Acidoza tubulară renală este o nefropatie tubulară rară ce se manifestă prin acidoză metabolică hipercloremică, fiind întâlnită în afecțiunile renale acute și în stadiile 2-4 ale insuficienței renale cronice. Au fost descrise mai multe tipuri de acidoză tubulară, în funcție de porțiunea tubulară afectată:

Acidoza tubulară proximală apare ca urmare a unui defect în reabsorbția bicarbonatului de sodiu la nivelul tubului contort proximal, care în mod fiziologic se reabsoarbe în proporție de 95% la acest nivel. Poate să apară ca entitate patologică singulară sau mai frecvent însoțită de alte defecte de reabsorbție a diferiților ioni și constituenți ai urinei primare cum ar fi: glucoza, Na^+ , K^+ , fosfați, acid uric și aminoacizi, situație întâlnită în cazul sindromului Fanconi. Acidoza tubulară proximală poate să aibă cauze genetice, și anume un defect la nivelul cotransportorului bicarbonatului de sodiu din membrana bazolaterală a tubului contort proximal sau poate să apară secundar administrării unor medicamente și consumului unor toxice.

Ca urmare a acestui defect de filtrare scade nivelul seric al bicarbonatului cu creșterea eliminării prin urină, stare patologică autolimitantă însă, deoarece pe măsură ce nivelul seric al bicarbonatului scade, este redusă și cantitatea care se poate reabsorbi, ajungând ulterior la un nivel la care tubul proximal poate absorbi complet bicarbonatul. Administrarea de bicarbonat parenteral sau enteral nu rezolvă această stare de acidoză metabolică, ducând nu doar la creșterea eliminării de bicarbonat dar și a potasiului prin urină. Conduita terapeutică indicată constă în reducerea sodiului din alimentație și administrarea diureticelor, pentru combaterea acidozei putându-se administra citratul de potasiu, sub supraveghere strictă pentru a nu cauza hipocalcemie.

Diagnosticul acidozei tubulare proximale se pune pe seama acidozei metabolice hiperclorémice, ratei de eliminare a bicarbonatului prin urină de peste 15% după corectare acidozei sistemice cu soluții alcaline, PH-ului acid (excluzând infecții ale tractului urinar inferior) al urinei <6 , cu rata de filtrare glomerulară normală, la pacienții netratați cantitatea de compuși acizi produși fiind egală cu cea eliminată (Soleimani ș.a., 2016).

Acidoza tubulară distală sau forma clasică se manifestă prin incapacitatea rinichilor de a acidifica urina în ciuda acidozei metabolice sistemice, ca urmare a secreției tubulare deficitare a ionului H^+ . Mecanismele acestui deficit ar putea fi:

- perturbarea pompei care secreta K^+ (formă distală clasică),
- trecerea unor cantități crescute de H^+ (secretați) dinspre lumen spre celulele tubulare (defect de gradient)
- scăderea diferenței de potențial electro-negativ în lumen, care promovează secreția de H^+ (formă dependentă de voltaj)
- cantitatea de NH_4^+ insuficientă la nivelul tubului distal

Cantitatea redusă de H^+ determină scăderea NH_4^+ și totodată scăderea excreției de acizi totali. Cauzele incriminate sunt genetice, cu transmitere autozomală dominantă, autoimune, obstruative, precum și transplantul renal.

Printre complicațiile acestei afecțiuni se numără: nefrolitiaza (cu fostat de calciu sau struviți), nefrocalcinoza (urmare a PH-ului alcalin al urinei și scăderii concentrației urinare de citrat), demineralizarea osoasă și eliminarea excesivă a potasiului prin urină.

Nefrocalcinosis apare în unele cazuri ca urmare a hipercalcemiei care precede uneori acidoza metabolică, fapt ce sugerează ca afectarea tubulară provocată de Ca^{2+} este cauza acidozei tubulare. Însă, de cele mai multe ori, acidoza sistemică este responsabilă de depunerile renale de calciu prin creșterea eliberării de fosfat de calciu de la nivel osos pentru a neutraliza excesul de H^+ și a reduce reabsorbția tubulară a acestuia, pH-ul crescut al urinei favorizând precipitarea fosfaților de calciu.

Nivelul scăzut de citrat în urină favorizează formarea de calculi, deoarece acesta formează complexe nedisociabile dar solubile, cu calciul, diminuând astfel nivelul de calciu liber disponibil pentru formarea calculilor.

Diagnosticul se pune pe seama acidozei metabolice, a pH-ului urinar >6 , precum și prin testul cu citrat de amoniu. Testul presupune administrarea orală a 110 mg/kg citrat de amoniu și testarea pH-ului urinei înaintea procedurii, și din oră în oră timp de 6 ore după administrare. La câinii normali se observă o reducere a pH-ului până la 5, iar la pisici până la 5,5. La pisici acidoza tubulară distală a mai fost întâlnită în cazul pielonefritelor cauzate de E. Coli, în infecții ale tractului urinar, precum și în cazul insuficienței renale acute ischemice.

Acidoza tubulară hiperkalemică este o anomalie a transportului ionilor de hidrogen și potasiu, deficitul de acidifiere fiind corelat cu afectarea funcției de amoniogeneza renală indusă de hiperpotasemie, fiind asociată cu hipoaldosteronismul. Acești pacienți pot produce urină acidă dar nu pot secreta cantitatea necesară de H^+ pentru a evita dezvoltarea acidozei metabolice și nu pot excreta în manieră suficientă potasiul.

Mecanismele patogenetice suspectate sunt absența stimulării directe a ATP-azei H^+ de către aldosteron, scăderea reabsorbției Na^+ la nivelul tubului distal, precum și hiperkalemia care inhibă producția și transportul de NH_4^+ .

Cauzele sunt primare și secundare reprezentate de deficitul de mineralocorticoizi, corticoidorezistența, hiperkalemie indusă medicamentos, boli autoimune, anemie falciformă și obstrucții ale tractului urinar (Soleimani ș.a., 2016).

Diagnosticul diferențial se face față de celelalte 2 tipuri de acidoză renală.

Sindromul Fanconi este o disfuncție generalizată a tubului proximal ce se caracterizează prin eliminarea urinară excesivă de aminoacizi, proteine cu greutate moleculară mică, glucoză, bicarbonat, fosfați de calciu, magneziu, acid uric, sodiu, potasiu și apă.

Mecanismele patogenetice ce se bănuiesc a fi implicate sunt reprezentate de capacitatea insuficientă a celulelor tubulare de a produce energia necesară pentru a transporta diverși compuși sau absorbția deficitară a acestora.

Peste 70% din cazurile raportate de sindrom Fanconi la câine au fost înregistrate în cadrul rasei Basenji, din care 10-30% din exemplarele acestei rase ajung să exprime clinic boala la maturitate, fiind considerată o nefropatie ereditară. Sindromul Fanconi idiopatic este întâlnit sporadic și la exemplarele

aparținând altor rase cum ar fi Labrador Retriever, Yorkshire Terrier, Ciobănesc de Shetland, Border Terrier și metiși, la care se manifestă la vârste cuprinse între 10 săptămâni și 11 ani (Carmichael ș.a., 2014, Messa-Sanchez ș.a., 2014). Secundar apare în urma administrării de gentamicină, ingestiei de etilen glicol, și în hipoparatiroidismul primar asociat cu hipovitaminoză D (Carmichael ș.a., 2014).

Simptomele apar treptat și depind de cantitatea de solvenți pierduți prin urină și de gravitatea insuficienței renale, acestea fiind: poliurie, polidipsie, inapetență, apatie, pierderea în greutate, azotemie și semne asociate insuficienței renale, cu acidoză tubulară și necroză papilară în ultimile stadii.

Diagnosticul se pune prin analize biochimice ale sângelui și urinei, observându-se glucozurie cu glicemie normală, izostenurie, aminoacidurie, hiperfosfaturie, hipofosforemie, hipokalemie și hipercloremie, cu niveluri crescute ale creatininei și ureei pe măsură ce boala avansează (Lifton ș.a., 2009, Carmichael ș.a., 2014).

Glicozuria renală este o afecțiune congenitală a tubului proximal ce se manifestă printr-un prag renal scăzut pentru glucoză, cu glucozurie și glicemie normală, constituind în unele cazuri primul semn clinic pentru sindromul Fanconi.

Animalele afectate pot fi asimptomatice sau pot prezenta, ca urmare a glucozuriei persistente, polidipsie, poliurie, precum și infecții ale tractului urinar din cauza colonizării bacteriene în prezența glucozei (Ettinger ș.a., 2006, Brown ș.a., 2016).

Glicozuria renală primară este rar întâlnită, însă a fost raportată la rasele Scottish Terrier, Elkhound norvegian, și metișii lor. Diagnosticul se realizează prin determinări seriate ale glicemiei, dozarea fructozaminei serice, iar diferențial se face față de stadiile incipiente ale sindromului Fanconi.

Nu există tratament specific pentru această afecțiune, însă prognosticul pe termen lung este favorabil. Se recomandă antibioterapia corectă a infecțiilor urinare, monitorizarea constantă și asigurarea unei cantități suficiente de lichide (Ettinger ș.a., 2006).

Diabetul insipid nefrogen (DIN) este o afecțiune rară ce apare ca urmare a lipsei de răspuns a rinichilor la acțiunea hormonului antidiuretic-ADH. ADH-ul produs de hipotalamus are proprietatea de a se atașa de receptorii membranei bazolaterale a tubilor colectori, stimulând reabsorbția apei la nivelul tubului distal și ductelor colectoare. În DIN receptorii specifici nu răspund la acțiunea ADH. DIN dobândit apare ca urmare a interferenței atăsării ADH de receptori, din cauza unor toxine (endotoxine produse de *Escherichia coli*), medicamente (glucorticoizi, chimioterapice), tulburări metabolice și endocrine (sindrom Cushing, niveluri ridicate de aldosteron, hipercalcemie, hipokalemie), disfuncții tubulare (pielonefrite, boala chistică renală), precum și modificări ale gradientelor de concentrație la nivel interstițial (Ettinger ș.a., 2006, Feldman ș.a., 1996).

DIN congenital este cauzat de deficiența de receptori pentru ADH și se manifestă la scurt timp după naștere, animalele afectate fiind diagnosticate de obicei în primul an de viață.

Simptomatologia întâlnită este caracterizată prin PU/PD, hipostenurie, uneori deshidratare, tulburări hidro-electrolitice, slăbire, iar în cazuri mai grave chiar semne neurologice: dezorientare, tremurături, convulsii și colaps.

Diagnosticul acestei afecțiuni implică o multitudine de teste: biochimie sangvină, urinară, urocultură, CT sau RMN, pentru a exclude celelalte forme de diabet insipid (central și psihogenic), sau alte afecțiuni cu manifestări asemănătoare: sindrom Cushing, hipotiroidism, piometru, insuficiență renală sau patologii ale vezicii urinare (Feldman ș.a., 1996).

Testul cel mai edificator este cel de răspuns la ADH (mai fiabil decât cel de restricție a apei). Se administrează 2-4 picături de desmopresină (ADH) în sacul conjunctival al animalului, greutatea specifică a urinei fiind determinată înainte de administrarea produsului; vezica este golită la 2 ore, iar greutatea specifică se determină la 4, 8, 12 și 24 de ore. La animalele cu diabet insipid central greutatea specifică a urinei atinge limite normale pe parcursul testului, în schimb ce la animalele cu DIN sau psihogenic nu se observă fluctuații majore ale greutatei specifice urinare. Se poate realiza și acasă de către proprietari, pe parcursul a 3-5 zile. Se administrează odată pe zi desmopresina în sacul conjunctival, în cazul diabetului insipid central proprietarul putând observa reducerea consumului de apă și a frecvenței urinării, sau nici o modificare în celelalte forme de diabet insipid (Feldman ș.a., 1996).

Cistinuria este un defect ereditar al tubului contort proximal manifestată prin reabsorbția tubulară și absorbția digestivă deficitară a unor acizi dibazici, printre care și cistina. Aceasta fiind un aminoacid insolubil în urină, de cele mai multe ori această nefropatie se soldează cu urolitiază.

Natura exactă a acestui defect tubular se consideră a fi deficiența în transportori ai cistinei. Unele rase pierd prin urină doar cistina, în schimb ce la altele se întâlnește reabsorbția deficitară și a altor aminoacizi cum ar fi ornitină, lizină și arginină.

Studiile epidemiologice au evidențiat faptul că la masculi se întâlnește mai frecvent acest defect tubular, cele mai predispuse rase fiind Terra Nova, Mastiff, Stradfordshire Bull Terrie, Bulldog, și Basset Hound, cu o medie de vârstă de 4.8 ± 2.5 ani (Grant ș.a., 2001).

Transmiterea ereditară este sex-linkată sau autozomal recesivă. Deși mai multe exemplare prezintă această anomalie, nu toate dezvoltă și semnele clinice (Ettinger ș.a., 2006). Forma cu transmitere autozomal recesivă sau tipul I, întâlnită la rasa Terra Nova, este cauzată de mutația genei care produce această boală și la pacienții umani, calculii formându-se la vârste tinere, atât la masculi, cât și la femele. În schimb la celelalte rase este observată doar la masculii

necastați, transmiterea fiind sex-linkată, concentrația de cistină din urină având un nivel moderat, cu formarea calculilor la vârste mai înaintate (Hoppe ș.a., 2001).

Simptomele sunt comune urolitiază, întâlnindu-se disurie, durere la urinare, hematurie cu urina urât mirositoare, colică renală însoțită de atitudinea de lumbago (Hoppe ș.a., 2001).

Diagnosticul se face pe baza semnelor clinice, a predispoziției de rasă, precum și prin analiza sedimentului urinar. Universitatea din Pennsylvania a elaborat teste ADN pentru identificarea purtătorilor genei mutante pentru rasele Terra Nova și Labrador.

Carnitinuria este caracterizată prin eliminarea excesivă a carnitinei prin urină. Este întâlnită și la exemplarele cu cistinurie, în insuficiența renală cronică, urmare a tratamentului prelungit cu antiinflamatoare steroidiene, precum și în tulburări ale ciclului ureei. Carnitinuria persistentă poate duce la cardiopatie dilatativă, carnitina având rol în cardioprotecție și de transportor al acizilor grași cu lanț scurt prin membrane, utilizați la producerea energetică (Ettinger ș.a., 2006).

Hiperuricozuria este o dismetabolie caracterizată prin excreția excesivă de acid uric prin urină. Acest deficit metabolic are o transmitere autozomal recesivă și duce în timp la formarea calculilor urinari.

Acidul uric rezultă din degradarea acizilor nucleici, reprezentând produsul final al metabolismului purinelor la oameni, maimuțe și câinii din rasa Dalmațian, la celelalte mamifere alantoina reprezentând metabolitul final. Acidul uric este reabsorbit la nivelul tubilor renali, cu excepția câinilor din rasa Dalmațian care au pierdut complet capacitatea de reabsorbție a uraților, și la care excreția este egală sau mai mare decât rata de filtrare glomerulară a metabolitului. Deși acest defect metabolic este prezent la toate exemplarele acestei rase, nu toți indivizii prezintă urolitiază și semnele clinice asociate. Studii recente au identificat cauza acestei anomalii metabolice la Dalmațieni, și constând într-o mutație apărută la nivelul unui transportor transmembranar al acidului uric SLC2A9, la nivelul tubului proximal, strâns legată de selecțiile genetice făcute de crescători pentru culoare părului și tiparul petelor (Bannasch ș.a., 2008).

Hiperuricozuria apare și în cazul bolilor hepatice primare, la care din cauza deficitului de uricază scade rata de conversie a acidului uric în alantoină.

Semnele clinice constau în obstrucție uretrală, hematurie, infecții ale tractului urinar inferior. Urolitiază cu urați este întâlnită și la pisică (Ettinger ș.a., 2006).

Hiperxantinuria apare ca urmare a deficitului de xantin-oxidază care transformă xantina, compus organic derivat al purinei în acid uric.

Ca urmare a acestui deficit pot să apară calculi de xantină. Majoritatea câinilor afectați sunt supuși tratamentului cu alopurinol, inhibitor de xantin-oxidază administrat pacienților care suferă de urolitiază cu urați, cărora nu li se respectă restricțiile alimentare în purine.

Forma congenitală a fost întâlnită la rasele King Charles Cavalier și Teckel, varianta cu păr sărmos (Ettinger ș.a., 2006).

1.2.2. Nefropatii tubulo-interstițiale

Nefrita tubulo-interstițială (NTI) denumește un proces inflamator care afectează atât tubii renali, cât și țesutul interstițial.

Poate evolua acut sau cronic, fiind considerată cauza principală a insuficienței renale cronice la pisici (Ettinger ș.a., 2006). Nefrita tubulo-interstițială poate să fie primară sau urmare a unor glomerulopatii, pielonefrite cu origine infecțioasă sau neinfecțioasă și tulburărilor vasculare renale. În NTI primară procesul inflamator este limitat la nivelul tubilor renali și interstițiului. Glomerulii și vasele sangvine nu sunt implicate sau se observă doar modificări minore.

NTI de origine infecțioasă are evoluție de obicei acută și este întâlnită în infecția cu *Leptospira interrogans* var. *canicola*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, cu Adenovirusul canin, Coronavirusul felin (peritonită infecțioasă felină-PIF), în herpesviroză și criptococoză.

În leptospiroză, după infecție, pe cale sangvină agenții patogeni ajung la nivel renal și se localizează în capilare, migrând apoi la nivelul celulelor epiteliale a tubilor contorți proximali și distali (fig.1.4), afectând aceste structuri și determinând NTI difuză (Williams ș.a, 1974, Elmedhem, 2009).

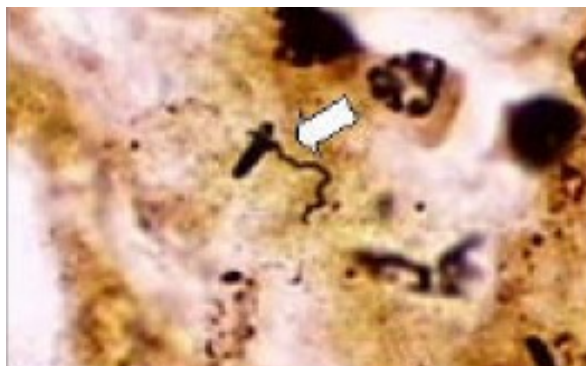


Fig. 1.4. Prezența leptospirelor la nivelul interstițiului renal, col. warthin-starry x 1000

(V. Mrudula și col., 2005)

Fig. 1.4. Leptospira in renal interstitium, Warthin-Starry stain, x 1000

(V. Mrudula et al., 2005)

În hepatita Rubarth, adenovirusul implicat determină inițial glomerulonefrită apoi necroza epitelului tubular și apariția incluziilor "Rubarth" (Zachary ș.a., 2013).

În PIF la pisică apare o nefrită granulomatoasă, uneori chiar piogranulomatoasă cauzată de infiltrația macrofagică. Inflamația cuprinde și glomerulii renali, afectați și de depunerea complexelor imune la nivelul capilarelor, precum și de activarea complementului. Nefrita ganulomatoasă mai apare și în aspergiloză și infestația cu *Toxocara spp.*

Forma cronică apare când leziunea tubulară evoluează în timp, observându-se fibroză, atrofie tubulară, precum și pierderea graduală a funcției renale, fiind cauza cea mai frecventă a insuficienței renale cronice la pisici (Zachary ș.a., 2013).

Diagnosticul se orientează după anamneză, examen clinic, biochimie sangvină, examen ecografic și examen bacteriologic al urinei.

Pielonefrita reprezintă inflamația pelvisului și a parenchimului renal. Apare de obicei ca urmare a unei infecții a căilor urinare, germenii patogenii ajungând pe cale ascendentă la nivel renal.

Factorii care pot contribui la apariția acestei nefropatii sunt reprezentați de obstrucții ale căilor urinare, stază urinară, litiaza renală, hiperplazie prostatică, refluxul vezicouretral, disfuncții vezicale neurogene, anomalii structurale ale căilor urinare și cateterismul efectuat necorespunzător.

Patogenitatea agenților microbieni implicați contribuie de asemenea la evoluția bolii, microorgmismele cele mai fecvent implicate fiind *E. coli*, *Staphilococcus sp.* Mai puțin întâlnite sunt *Proteus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.* și *Pseudomonas aeruginosa*. Infecția se poate produce și pe cale hematogenă, în cazul septicemiilor și a endocarditelor (Mrudula ș.a, 2005, Perry, 2005). Mecanismul patogenetic al pielonefritei este dependent de refluxul urinei contaminate pe cale ascendentă, prin uretere la nivelul bazinetului renal. În mod normal, puțin reflux apare în momentul micțiunii, însă acesta se poate produce mai rapid atunci când apare o obstrucție uretrală sau citstită, endotoxinele produse de bacteriile Gram- inhibând peristaltismul normal al călor urinare, măbind refluxul uretral, bacteriile colonizând astfel pelvisul și medulara renală.

Pielonefrita poate să apară și ca urmare a infestațiilor parazitare cu *Diocetophyma renale* (fig. 1.5), întâlnită în special la animalele hrănite cu pește.

Pielonefrita evoluează de obicei acut sau cronic. Animalele cu pielonefrită acută prezintă febră, vomă, sensibilitate la palpare în zona flancului. Examenul de urină indică prezența leucocitelor, bacteriilor în număr mare, hematurie. Analizele biochimice ale sângelui pot fi în limite normale sau pot indica niveluri ridicate ale creatininei și ureei, semne ale insuficienței renale acute. Examenul ecografic este de asemenea util în orientarea diagnosticului, precum și urocultura.

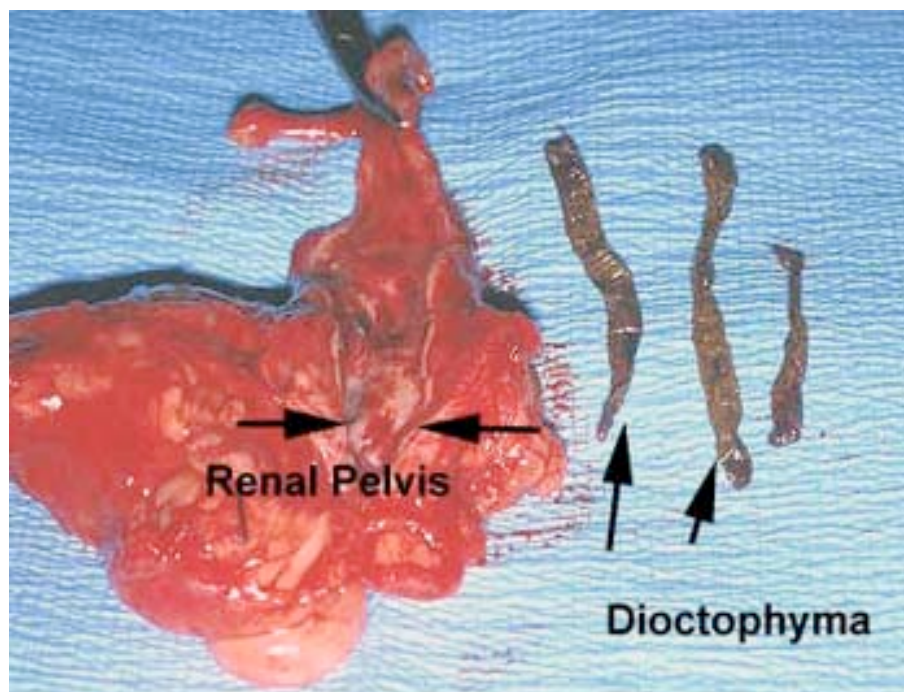


Fig. 1.5. Pielonefrita supurativă produsă de localizarea paraziților la nivelul bazinetului renal
(http://www.vet.uga.edu/ivcvm/courses/vpat5215/urinary/nephritis/NEPH_4.htm)

Fig. 1.5. Parasitic suppurative pyelonephritis

Forma cronică a pielonefritei prezintă manifestări clinice de intensitate redusă sau chiar pot fi absente. Boala este de obicei diagnosticată atunci când apar semnele tipice ale insuficienței renale cronice, manifestate cel mai frecvent prin poliurie și polidipsie. Sumarul de urină indică modificări caracteristice, dar mai puțin dramatice decât în cazul formei acute. La examenul ecografic, rinichii au formă asimetrică, iar bazinetul apare dilatat, urmare a inflamației și obstrucției parțiale (Silveira ș.a., 2015).

1.3. Nefropatii vasculare

Apar ca urmare a tulburărilor circulatorii la nivelul vascularizației renale.

Printre acestea se numără :

- angiospasmul renal
- congestia renală

1.3.1. Angiospasmul renal

Contractia spastică a vaselor sangvine renale apare ca urmare a unor traumatisme în regiunea lombară, calculi, paraziți, stări toxice, ce determină contractura reflexă la nivelul vaselor. Poate să apară și în cazul colicilor produse de alte afecțiuni la nivelul organelor din cavitatea abdominală.

Se manifestă prin colică, mers cifoizat, precum și oligurie, acestea fiind urmarea hipoperfuziei tisulare urmate de scăderea producției de urină.

Diagnosticul este în special terapeutic, luând în considerare dispariția simptomelor după administrarea spasmoliticelelor.

1.3.2. Congestia renală

Reprezintă vasodilatația și creșterea tensiunii la nivel renal, însoțită și de creșterea vitezei de circulație a sângelui în congestia activă sau încetinirea circulației în congestia pasivă.

Originea este de cele mai multe ori infecțioasă, toxică, traumatică, parazitara, implicați fiind și factorii fizici cum ar fi frigul, calculii pentru congestia activă. În cazul congestiei pasive, intervin insuficiența cardiacă congestivă, trombozele, emboliile venei renale sau venei cave posterioare, precum și stările de șoc. Din cauza stagnării sângelui în circulația renală, are loc reducerea perfuziei sangvine, hipoxia și consecutive procese distrofice, cu scăderea capacității de filtrare care antrenează uremia.

Din punct de vedere clinic, congestia activă se manifestă prin sensibilitate la palpare în zona flancurilor, cifoză, creșterea frecvenței urinarilor și poliurie. Cea pasivă prezintă semnele clinice ale afecțiunii primare.

Sumarul de urină indică hematurie, hiperstenurie și proteinurie (Solcan ș.a., 2011).

1.4. Nefropatii congenitale

Sunt mai rar diagnosticate la animalele de companie, fiind de multe ori compatibile cu viața atunci când este afectat un singur rinichi. Se manifestă clinic între vârsta de o lună și 10 ani (Solcan ș.a., 2011).

Cele mai des întâlnite nefropatii congenitale sunt:

- displazia renală
- hipoplazia renală
- agenezia renală
- rinichiul polichistic
- rinichiul ectopic

1.4.1. Displazia renală

Reprezintă o anomalie de dezvoltare caracterizată prin persistența structurii fetale sau nediferențierea parenchimului renal în concordanță cu vârsta. Printre leziunile asociate acestei nefropatii avem modificări compensatorii, degenerative și inflamatorii (Picut ș.a., 1987). Reprezintă una din cauzele cele mai frecvente de insuficiență renală la animalele tinere. Manifestările clinice apar de obicei la vârste cuprinse între o lună și 10 ani, însă de cele mai multe ori primele semne se observă până la vârsta de 2 ani (Brum ș.a., 2008).

Actualmente se consideră a fi o boală genetică, autozomal recesivă, fiind urmarea unui defect de dezvoltare din perioada embrionară, sau poate să apară și ca răspuns nespecific la diferite agresiuni de ordin infecțios, vascular, obstructiv asupra rinichiului în perioada de dezvoltare post-partum (Wise, 2005).

Este important de precizat predispoziția de rasă, această nefropatie fiind întâlnită cu caracter familial la rasele Lhasa Apso, Shih Tzu, Wheaten Terrier cu blană moale și metișii acestora. Studiul realizat de către K. Bovee pe o perioadă de 10 ani, pe un număr de 143 de câini proveniți din monte de 13 de exemplare din rasa Shih Tzu a evidențiat faptul că această nefropatie era prezentă în grade diferite la 85 % din subiecți (Bovee, 2003).

Semnele clinice întâlnite sunt comune celor din insuficiența renală cronică, care de altfel încheie evoluția displaziei renale. Deși numărul câinilor care prezintă modificări la nivelul genomului cu determinante pentru această nefropatie poate fi mai mare, nu toți exprimă clinic boala. Exemplarele afectate prezintă poliurie, polidipsie, slăbire cu scăderea apetitului, vomă, deshidratare și chiar ulceratii bucale. Ca urmare a hiperparatiroidismului secundar, pot să apară leziuni de osteodistrofie fibroasă manifestate și prin apariția așa numitei tumori brune, cauzată de o activitatea osteoclastică excesivă la nivel osos. Aspectul brun este dat de prezența zonelor hemoragice și a depozitelor de hemosiderină (Brum ș.a., 2008).

Diagnosticul se orientează pe baza semnelor clinice, vârstei de apariție a bolii, rasei, examenului biochimic sangvin și al urinei. Pentru confirmare se utilizează biopsia renală și testele ADN. Testele ADN recente realizate de cercetători canadieni, sunt disponibile în funcție de rasă și reprezintă modalitatea cea mai puțin invazivă de diagnostic.

Examenul anatomo-patologic relevă prezența de glomeruli și tubi fetalii, cu fibroză interstițială marcantă la nivel periglomerular, dilatație tubulară, dilatație chistică a capsulei Bowman și micșorarea glomerulilor renali. Leziunile compensatorii se caracterizează prin hiperplazie mezangială și creșterea în volum a glomerulilor renali. Aceste leziuni predispun la apariția altor patologii asociate cum ar fi pielonefritele sau nefritele interstițiale (Kerlin ș.a., 1995, Picut ș.a., 1987).

1.4.2. Hipoplazia renală

Reprezintă forma cea mai frecventă de displazie și se caracterizează prin dezvoltarea incompletă a parenchimului renal. Poate fi uni- sau bilaterală, însă de cele mai multe ori afectează un singur rinichi care este mai mic, dar normal dezvoltat, congenerul suferind de obicei de o hipertrofie compensatorie. Forma bilaterală evoluează spre insuficiență renală cronică (Zachary ș.a., 2013).

Hipoplazia renală apare în perioada intrauterină ca urmare a unui defect de dezvoltare a ureterului care afectează și dezvoltarea rinichiului adiacent, sau ca urmare a insuficienței blastemului metanefrogen și producerii incomplete de nefroni din mugurele uretral (Pașca, 2008).

Pentru diagnosticul acestei nefropatii examenul ecografic și radiologic sunt de mare utilitate, precum și cel anatomo-patologic. Examenul imagistic pune în evidență dimensiunile reduse ale unuia sau ambilor rinichi, iar anatomo-patologic se observă reducerea numărului de glomeruli la nivelul corticalei, iar în medulară tubii colectori sunt reduși ca număr, uniform dilatați, cu epiteliul aplatizat, intercalați cu țesut conjunctiv imatur (Zachary ș.a., 2013).

1.4.3. Agenezia renală

Reprezintă un defect congenital caracterizat prin absența unuia sau ambilor rinichi. Se întâlnește rar fiind însoțită de apalazie uretrală și uneori de hipoplazia vezicii urinare.

Animalele cu agenezie bilaterală nu depășesc vârsta de 4-6 săptămâni, în schimb cei cu agenezie unilaterală pot fi asimptomatici vreme îndelungată, sau pot prezenta semne de incontinență, poliurie, polidipsie, deshidratare, împreună cu toate manifestările insuficienței renale cronice.

Pentru diagnostic se utilizează urografia, examenul ecografic și laparotomia exploratorie (Ettinger ș.a., 2006, Zachary ș.a., 2013).

1.4.4. Rinichiul polichistic

Este o nefropatie congenitală caracterizată prin prezența de chisturi multiple în corticala renală, la nivelul ambilor rinichi, însoțite uneori și de chisturi hepatice și pancreatice.

La pisicile din rasa Persană s-a demonstrat a fi o maladie autozomal-dominantă cauzată de o singură mutație la nivelul genei PKD1, care determină terminarea prematură a sintezei policystinei. Toate animalele afectate de această mutație prezintă o singură copie a genei mutante, fiind heterozigote și exprimând boala în proporție de 100% (Elliot ș.a, 2007, Lyons ș.a, 2004, Young ș.a., 2004).

Policystina este o proteină implicată în proliferarea normală a celulelor și în desfășurarea apoptozei. Această proteină are un rol foarte important în adeziunea celulară, fiind un component principal al desmozomilor. Apariția ei duce la o diferențiere defectuoasă a celulelor epiteliale tubulare cu pierderea polarității și aranjarea anormală a acestora în tubii uriniferi, reducându-se astfel absorbția tubulară și instalându-se distensia tubilor uriniferi cu formarea chisturilor tubulare (Pașca ș.a, 2008).

Aproximativ 37% dintre pisicile din rasa Persană sunt afectate de această mutație, precum și rasele înrudite : Exotic Shorthair și Himalayan.

Rinichiul polichistic mai este întâlnit și la rasele de câni: Cairn Terrier, West Highland White Terrier și Collie până la vârsta de 6 luni. Pe lângă această leziune s-au constatat și chiști biliari (Pașca ș.a, 2008).

Semnele clinice se manifestă în medie la vârsta de 10 luni, având o evoluție progresivă spre insuficiență renală. Diagnosticul se realizează prin metode clasice, examenul ecografic evidențiază prezența chisturilor multiple la nivelul

ambilor rinichi, examenul biochimic sangvin relevă creșterea peste nivelul normal a parametrilor renali. Testele ADN pot fi utilizate, recomandate pentru identificarea genei mutante, mai ales crescătorilor de pisici din rasa Persană.

1.4.5. Rinichiul ectopic

Reprezintă dezvoltarea rinichiului într-un alt sediu decât cel normal (cavitatea pelvină sau inghinal). Evoluează frecvent la câine, de obicei unilateral.

Din punct de vedere structural și funcțional rinichiul ectopic poate fi normal, însă modificarea poziției poate fi însoțită de tulburări vasculare, scurtarea ureterului, ulterior hidronefroză și pielonefrită. Rinichiul ectopic și pendulant dobândit, este urmarea presiunii exercitate de tubul digestiv și apare de obicei la rinichiul stâng (Choi ș.a., 2012).

1.5. Nefropatii mecanice

În categoria nefropatiilor mecanice sunt incluse hidronefroza și litiaza renală.

1.5.1. Hidronefroza

Constă în dilatarea progresivă a spațiului intern al rinichiului prin acumularea de lichid, și poate fi congenitală sau dobândită. Este întâlnită mai frecvent la animalele adulte ca urmare a unor obstacole care pot obstrua deschiderea bazinetului în uretere, sau a ureterelor pe orice porțiune a lor până la deschiderea în vezică (fig. 1.6). Obstacolele pot fi reprezentate de calculi, cicatrici, tumori, abcese.

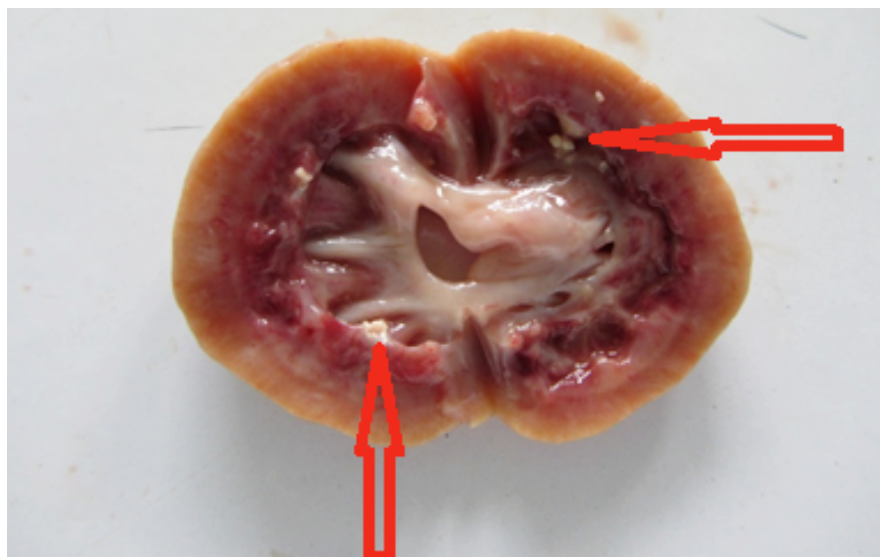


Fig. 1.6. Hidronefroză și litiază, femelă, metis, Bichon, 13 ani, original
Fig. 1.6. Hydronephrosis and lithiasis, female, cross breed Bichon, 13 yo, original

Poate fi uni- sau bilaterală. Hidronefroza unilaterală poate evolua asimptomatic, afecțiunea fiind descoperită la examanele ecografice de rutină, în schimb cea bilaterală evoluează progresiv spre insuficiență renală.

Diagnosticul se realizează pe baza semnelor clinice și examenului ecografic ce pot permite depistarea bolii încă din stadiile incipiente. La examenul morfopatologic se observă creșterea în volum a rinichiului afectat, ce are aspect neted, fluctuant, cu un conținut fluid clar, hemoragic sau cu aspect de urină. Pe secțiune parenchimul renal poate fi reprezentat doar de o foiță. Histologic, ca urmare a acumulărilor progresive de urină în segmentele distale ale nefronului se observă atrofia papilelor, piramidelor și apoi a cortexului și înlocuirea elementelor morfofuncționale normale cu țesut conjunctiv neoformat (Solcan ș.a., 2011, Pașca, 2008).

1.5.2. Litiaza renală

Reprezintă precipitarea în lumenul căilor urinare a unor săruri de calciu, fier sau magneziu cu apariția unor formațiuni numite calculi. Este întâlnită mai frecvent la carnivore. Calculii prezenți pot să nu cauzeze nici o problemă, sau în cazul celor de dimensiuni mici pot provoca dureri în încercările de eliminare. Calculii de dimensiuni mari pot bloca ureterele sau deschiderea bazinetului în ureter.

Cauzele acestei nefropatii pot fi metabolice, astfel hipercalcemia cauzată de administrarea în exces a suplimentelor minerale, acidifierea sau alcalinizarea excesivă a urinei prin diete speciale, deficitul în vitamina B6, hiperparatiroidismul, infecțiile urinare recurente joacă un rol important în apariția calculilor renali care sunt de cele mai multe ori compuși calcici.

Cele mai predispuse rase de pisici sunt Europeană, Persană, British Shorthair, Ragdoll, Scottish Fold și Siameză, iar la câini rasele Schnauzer, Yorkshire Terrier, Dalmațian, Bulldog englez, Lhasa Apso, Caniche, par a fi cele mai predipuse, luând în considerare și anumite defecte genetice implicate în formarea calculilor și transmiterea la descendenți (Pașca, 2008, Ronco ș.a, 2009, Titon ș.a., 2015).

Semnele clinice includ hematurie, disurie, creșterea frecvenței urinării, ca urmare a iritației mecanice și compresiunilor exercitate asupra țesutului renal. Calculii determină și inflamații exsudative, limfohistiocitare și fibroase, hidronefroza cu atrofie renală sau pielonefrită (Titon ș.a., 2015).

Diagnosticul se realizează în primul rând pe baza semnelor clinice iar apoi prin examen radiologic (fig 1.7) și ecografic, ce pune în evidență prezența calculilor cu aspect de formațiuni hiperecogene ce generează con de umbră, putându-se realiza și măsurători pe această cale.



Fig. 1.7. Urolit renal, câine, metis Bichon, 14ani
Fig. 1.7. Renal urolith, dog, Bichon cross breed, 14 yo

1.6. Tumorile renale

Tumorile renale pot fi clasificate în tumori primare de origine epitelială, mezenchimală și embrionară, precum și în tumori metastatice, care apar ca urmare a metastazării proceselor tumorale din organism. Cele primare sunt rar întâlnite la animale domestice cu o prevalență de aproximativ 1% și sunt de obicei unilaterale.

1.6.1. Tumorile epiteliale

Sunt reprezentate de adenom, oncocitom, carcinom și ademocarcinom chistic.

Adenomuleste o tumoră benignă a țesutului renal formată prin proliferarea celulelor epiteliale din corticală. De obicei sunt descoperite întâmplător la necropsie, având aspectul unor mase necapsulate, bine delimitate, cu dimensiuni de 1-3 centimetri și culoare alb-gălbuie. Histologic sunt formate din celule epiteliale cubice ce proliferază în straturi, tubular sau papilar, cu dimensiuni uniforme, granulații eozinofilice în citoplasmă și nuclei rotunzi sau ovali. Rareori

apar modificări corespunzătoare necrozei sau fibrozei, evoluând de obicei asimptomatic (Williams ș.a., 1974, Pașca, 2008).

Oncocitomul este o tumoră benignă, ce apare ca o formațiune omogenă, încapsulată, compusă din oncocite, celule rotunde mari cu granulații eozinofilice, nucleu condensat, iar la ME se observă mitocondrii numeroase. Aceste tumori iau naștere din celulele intercalate ale tubilor colectori și evoluează asimptomatic.

Carcinomul renal este cea mai des întâlnită tumoră primară renală, fiind mai frecvent diagnosticată la câinii în vârstă. Etiologia acestei tumori este incomplet elucidată însă se pare ca virusurile oncogene, toxicele carcinogene, precum și unele mutații genetice autozomal-dominante, cum sunt observate la șobolanii Eker, ar avea rol în apariția carcinoamelor renale, cel puțin pe modele experimentale.

Carcinoamele au în general dimensiuni mari de până la 20 cm, sunt sferice sau ovale și dure la palpare. Macroscopic au culoare gălbuie, iar pe secțiune prezintă zone hemoragice, de necroză sau degenerare chistică. Dezvoltarea este inițiată de obicei la unul din polii rinichiului, cuprinzând treptat întregul țesut renal. Din punct de vedere histologic se diferențiază 3 tipuri: papilar, tubular și compact. Carcinomul renal metastazează frecvent în pulmon, ficat sau în glandele suprarenale (Baskin ș.a., 1977, Williams ș.a., 1974).

1.6.2. Tumorile mezenchimale

Sunt reprezentate de fibrom, fibrosarcom, hemangiosarcom și sarcom, foarte rar întâlnit la nivel renal.

Histologic, în cazul hemangiosarcomului, celulele tumorale apar aranjate în fascicule sau vârtejuri dense sau sub forma unor canale în care se găsește endoteliu neoplazic.

1.6.3. Tumorilor embrionare

În această categorie se încadrează nefroblastomul sau tumora Wilms, ce are ca origine blastomul metanefrogen și derivatele sale stromale și epiteliale, și care se consideră ca este rezultatul transformării maligne în perioada intrauterină de formare a rinichilor, sau al transformării neoplazice a țesuturilor embrionare renale care persistă și după naștere.

La necropsie nefroblastomul apare sub forma unei tumori unice sau multiple, uneori de dimensiuni mari. Consistența este moale sau elastică, de culoarea cenușie, pe secțiune putând fi observate hemoragii.

Din punct de vedere clinic în majoritatea cazurilor tumorile primare renale evoluează asimptomatic, excepție făcând cele de dimensiuni mari, care prin compresiunea asupra țesutului renal și a organelor învecinate pot determina evoluția spre insuficiență renală, cu diferite grade de compresiune medulară și pareză a trenului posterior (Williams ș.a., 1974).

Diagnosticul se realizează prin examen radiologic, ecografic și prin biopsie.

Tumorile metastatice întâlnite la nivel renal sunt carcinoamele și sarcoamele, ce apar sub forma unor noduli multipli, iar limfosarcomul sub forma unui nodul omogen sau noduli multipli mici gri-albicioși (Williams ș.a., 1974).

**CAPITOLUL II. DATE ACTUALE CU PRIVIRE LA DIAGNOSTICUL
ȘI ETIOPATOGENEZA ENCEFALOPATIEI UREMICE
LA ANIMALELE DE COMPANIE
CHAPTER II. THE PRESENT DATA REGARDING THE
DIAGNOSIS AND ETIOPATHOGENESIS OF UREMIC
ENCEPHALOPATHIES IN SMALL ANIMALS**

Encefalopatia uremică apare în insuficiența renală acută sau cronică, atunci când rata de filtrare glomerulară scade sub 10%. Manifestările clinice ale acestei encefalopatii sunt bine descrise și caracterizate atât pentru pacienții umani cât și pentru animale, însă fiziopatologia rămâne incertă fiind cel mai probabil multifactorială (Aminoff ș.a., 1995).

Simptomatologia este nespecifică, iar cele mai întâlnite semne neurologice sunt alterări ale conștienței care apar în 33% din cazuri și crizele epileptiforme care apar la 29% din câinii și pisicile afectate (Agut ș.a., 2002). Alte simptome includ apatie, iritabilitate, ataxie, tremurături, mioclonii, convulsii care apar episodic și a căror gravitate depinde stadiul de evoluție al insuficienței renale. Dacă pacientul nu este supus unei conduite terapeutice corespunzătoare, encefalopatia uremică se încheie prin comă și ulterior moarte (Aminoff ș.a., 1995).

Mecanismele fiziopatologice au la bază o serie de modificări produse de metaboliți ai proteinelor și aminoacizilor la nivelul întregului sistem nervos asociate cu tulburări locale și generale de metabolism. Este dificil de precizat care toxic anume determină manifestările neurologice, considerându-se în momentul de față ca cel mai probabil sunt cauzate de un cumul de toxine uremice, hormoni, minerale, printre care se numără compușii guanidinici, parathormonul, hipercalcemia, scăderea activității GABA și a glicinei cu rol de inhibitori.

În categoria toxinelor uremice însă, intră o gama foarte variată de compuși, peste 100 determinați de-a lungul timpului, și care au fost clasificați în funcție de greutatea lor moleculară și efectele pe care le determină la nivelul organismului.

Compușii guanidinici (tabelul 2.1), rezultați din metabolismul proteic, apar în concentrații crescute în produsele biologice ale pacienților uremici (ser, urină, LCR), în special 4 compuși: acidul guanidinosuccinic, guanidina, metilguanidina și creatinina (De Deyn ș.a., 2001).

Mecanismul prin care acționează acești compuși se consideră a fi activarea receptorilor cu rol excitant N-methyl-d-aspartat (NMDA), precum și inhibiția neurotransmițătorilor cu rol inhibitor GABA-ergici prin blocarea canalelor

de Cl^- membranare neuronale (De Deyn ș.a., 2001, Niwa ș.a., 2012). Dintre compușii guanidnici se pare că cel mai responsabil pentru manifestările de hiperexcitabilitate este acidul guanidinosuccinic, ce determină convulsii tonico-clonice și descărcări epileptiforme înregistrate electroencefalografic (Duranton ș.a., 2012). De asemenea, activitatea pompei de Na^+/K^+ este redusă, aceasta având importanță majoră în eliberarea de neurotransmitători, fapt ce poate explica scăderea concentrației acestora și activitatea sinaptică redusă constatată în model experimental la șoarecii uremici. În afectarea activității pompei de Na^+/K^+ , se pare că rolul principal îl are metilguanidina (De Deyn ș.a., 2001).

Tabel 2.1/Table 2.1

Concentrațiile serice/plasmatice normale și patologice ale principalilor compuși guanidnici la oameni (după Niwa ș.a., 2012)
Normal and pathological serum/plasma concentrations of the main guanidinic compounds in humans (Niwa et al., 2012)

Denumirea	Concentrație normlă	Concentrație maximă
Acid guanidinosuccinic <u>$\mu\text{g/l}$</u>	0.03±0.01	47
Acid guanidinoacetic	222.3±79.6	693.8
Acid γ-guanidinobutiriuc	< 3.6	1750
Acid β-guanidinopropionic	< 3.3	65.4
Creatina	9.7±.3	235.8
Creatinina	< 12	240
Guanidina	< 11.8	800
Melilguanidina	< 7.3	1820
SDMA	76.1±21.0	1232.2
ADMA <u>mg/l</u>	0.2±0.06	7.3

Acidul guanidinosuccinic (AGS) are efect inhibitor și asupra transketolazei, enzimă tiamin-dependentă cu implicații metabolice importante în calea pentozofosfaților și în ciclul Calvin, având rol în menținerea integrității tecii de mielină, ca urmare în insuficiența renală cronică în special apar demielinizări atât la nivelul sistemului nervos central cât și la nivel periferic. AGS are implicații

fiziopatologice și în diateza hemoragică din insuficiența renală (Elloot ș.a., 2005, Niwa ș.a., 2012).

Compușii guanidinici sunt implicați și în inhibiția sintetazei oxidului nitric ce duce la hipertensiune și fenomene ischemice la nivel cerebral. Oxidul nitric, gaz cu rol de neurotransmițător, controlează circulația sângelui și reglează activități din creier, plămâni, rinichi, ficat, stomac și alte organe, influențând și tensiunea arterială.

În insuficiența renală se observă, de asemenea, reducerea metabolismului cerebral, constatându-se niveluri crescute de creatinfosfat, adenosin trifosfat (ATP) și glucoză, în timp ce nivelurile de adenosin monofosfat (AMP), adenosin difosfat (ADP) și lactat sunt scăzute, sugerând că la nivelul creierului pacienților uremici este utilizată o cantitate mai redusă de ATP, producându-se mai puțin ADP, AMP și lactat cu o diminuare generalizată a metabolismului.

Nivelul calciului cerebral ar putea explica de asemenea o serie de simptome, având concentrație dublă față de creierul normal. Acest nivel ridicat de calciu poate fi explicat prin hiperparatiroidismul secundar ce apare în insuficiența renală, parathormonul promovând pătrunderea lui la nivel celular. Studiile realizate pe câinii cu această patologie au arătat că prin paratiroidectomie, atât concentrația de calciu cât și modificările activității bioelectrice ale creierului au revenit la normal, modificări ce pot fi reproduse prin administrarea de parathormon la câinii sănătoși. Aceste modificări pot fi observate și în cazul hiperparatiroidismului primar, ceea ce sugerează ca parathormonul are un rol esențial în manifestările neurologice asociate cu insuficiența renală (Guisado ș.a., 1977, McCandless ș.a., 2009, Vanholder ș.a., 2003).

O altă tulburare hormonală este reprezentată de deficitul de eritropoetină, ce se manifestă în principal prin anemie, la care se adugă fibroza măduvei ca urmare hiperparatiroidismului. Studii recente aduc dovezi în favoarea eritropoetinei ca factor neuroprotector în afecțiunile degenerative, fapt ce susține și caracterul evolutiv al encefalopatiei uremice (Ehrenreich ș.a., 2004). Cert este faptul că paratiroidectomia duce la creșterea nivelului eritropoetinei și a eritrocitelor la scurt timp după operație, de asemenea fibroza măduvei osoase intră în regresie, fapt ce arată că această modificare este reversibilă. Aceste aspecte au fost studiate la pacienții ce necesitau hemodializă (Akmal ș.a., 1984).

Ureea este considerată marker al retenției și eliminării compușilor uremici în general, neavând un impact biologic direct asupra stării generale a pacienților la valorile întâlnite în insuficiența renală. Au fost realizate studii în care pacienților aflați în timpul procedurilor de hemodializa li s-a introdus în dializat uree, ajungându-se la concentrații ce depășeau mult cele patologice, fără modificări majore ale stării generale, fapt ce sugerează că ureea singură nu are un rol important în fenomenele de toxicitate din insuficiența renală (Vanholder ș.a., 2003).

Toți acești factori combinați duc la un dezechilibru între activitatea excitatorie și inhibitorie la nivel cerebral, contribuind astfel la modificările sistemice din encefalopatia uremică.

Diagnosticul encefalopatiei uremice are la bază analiza biochimică a sângelui care relevă tulburări electrolitice importante și afectarea funcției renale. Electroencefalograma, în special cea seriată, și imagistica avansată care nu oferă însă informații specifice, sunt utile în a exclude alte posibile afecțiuni ce ar putea cauza simptomatologia din encefalopatia uremică.

Din punct de vedere morfopatologic leziunile la nivel cerebral se caracterizează prin fibroză meningială, degenerări vasculare și neuronale focale, edem, infarcte de mici dimensiuni mai ales ca urmare a hipertensiunii sau necrozei focale și necroză în cerebel la nivelul stratului granular (Vite ș.a., 2003).

**PARTEA a II-a
CERCETĂRI PERSONALE**

**PART II
PERSONAL CONTRIBUTIONS**

CAPITOLUL III. CERCETĂRI PRIVIND DIAGNOSTICUL CLINIC ȘI ASPECTELE EPIDEMIOLOGICE ALE INSUFICIENȚEI RENALE LA ANIMALELE DE COMPANIE

CAPITOLUL III. RESEARCHES ON CLINICAL DIAGNOSIS AND EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF RENAL FAILURE IN SMALL ANIMALS

Semnele clinice ale insuficienței renale variază în funcție de cauza și gravitatea acesteia, de bolile intercurrente și medicația administrată anterior. Diferențierea cauzei și originii uremiei trebuie să se relizeze cât mai repede și cu acuratețe pentru a putea iniția tratamentul. Azotemia poate fi de natură prerenală, intrinsecă (renală) și postrenală.

Din cauza faptului că nu există biomarkeri specifici pentru a stabili gravitatea leziunilor și posibilitatea de recuperare a parenchimului renal afectat, colectarea a cât mai multor date este necesară, bazându-se pe anamneză, examen clinic și de laborator.

Anamneza trebuie să includă informații despre afecțiuni anterioare, semne de vomă, diaree, febră, sau alte manifestări precum crizele convulsive, sincopa, ataxia sau dispneea. Informații despre schimbarea mediului de viață, accesul la plante sau substanțe nefrotoxice sau eventuale traumatisme ar trebui cerute proprietarilor.

Alte elemente cum ar fi intervenții chirurgicale recente, pierderile de sânge, medicația administrată, pot constitui factori de risc pentru funcția renală și pot orienta clinicianul spre identificarea cauzei insuficienței renale.

Oliguria și anuria sunt simptome caracteristice insuficienței renale acute, însă diureza normală sau poliuria nu o exclud. Pierderea în greutate, poliuria, polidipsia, noctururia și analize de laborator ce indică un grad de afectare renală, sugerează un diagnostic de insuficiență renală cronică.

Funcția renală la animalele cu IRC poate decompensa brusc după leziuni ale rinichilor, cauzate de febră, vomă, diaree, insuficiență cardiacă congestivă, sau diverse medicații. Această criză uremică, deși este o manifestare a IRC, poate să pară acută (Bartges ș.a., 2011).

Insuficiența renală acută poate fi definită ca o scădere bruscă a funcției renale, împreună cu reducerea ratei de filtrare glomerulară, desfășurându-se de obicei pe parcursul a câtorva ore sau zile, și având ca rezultat acumularea de toxine uremice, disfuncții metabolice, tulburări hidro-electrolitice și ale echilibrului acido-bazic (Silverstein ș.a., 2014). În unele cazuri afecțiunile prerenale, intrinseci

și postrenale pot coexistă cu insuficiența renală cronică, ducând împreună la apariția unor manifestări similare insuficienței renale acute (Ettinger ș.a., 2006).

Insuficiența renală acută (IRA) se manifestă printr-o varietate de simptome care au intensități diferite în funcție de stadiul, etiologia și durata bolii. În stadiile incipiente sunt nespecifice și slab manifestate, însă pe măsură ce boala evoluează devin mutisistemice și pot pune în pericol viața pacienților (Bartges ș.a., 2011). În cele mai multe cazuri pot fi observate manifestări asociate cu afectarea a cel puțin patru sisteme sau organe: gastrointestinal, cardiovascular, hematologic și nervos. Înțelegerea și conștientizarea acestui ansamblu de manifestări ale uremiei sunt necesare pentru stabilirea directivelor terapeutice.

Majoritatea semnelor clinice se agravează odată cu avansarea bolii, însă dacă gravitatea acestora nu corespunde cu stadiul bolii evidențiat de investigațiile paraclinice, alte afecțiuni sau entități morbide trebuie investigate. Trăsături simptomatice comune se observă în toate stadiile, însă în evoluția IRA sunt întâlnite sindroame clinic diferite, care ne pot orienta asupra etiologiei, gravității și integrității funcționale ale rinichilor.

Spre deosebire de IRA, insuficiența renală cronică apare în decursul a câtorva luni sau chiar ani, iar semnele clinice sunt relativ moderate în concordanță cu valoarea azotemiei.

Semnele cele mai specifice includ poliuria/polidipsia, slăbirea progresivă, aspectul neîngrijit al blănii, anemie neregenerativă, rinichii cu aspect ecografic neregulat și cu dimensiuni reduse. Diagnosticul IRC se bazează, de obicei pe asocierea anamnezei, cu examenul clinic, examenul ecografic și histopatologic (Nelson ș.a., 2009).

3.1. Materiale și metode

În perioada octombrie 2013 - aprilie 2017, în cadrul Clinicii Medicală a Facultății de Medicină Veterinară din Iași au fost consultați un număr de 3730 de pacienți, dintre care 2517 câini și 1213 pisici. Din totalul de pacienți, 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.

Din pacienții cu nefropatii, 59 au constituit obiectul cercetărilor personale. În studiu au fost incluși doar câinii și pisicile pentru care s-au strâns date cât mai complete, implicând examenul clinic, examen imagistic și biochimia serului. S-a urmărit respectarea a cel puțin 2 din cele 3 criterii de incluzie principale. Repartiția pe specii este de 32 de pisici și 27 de câini.

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-au 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 începutul manifestărilor clinice observate de proprietar înainte de consultație (cu aproximativ trei luni înainte în cazul IRC sau brusc în cazul IRA), în funcție 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 și repartizat 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 IRIS în anul 2013 (tabelul 3.1 și tabelul 3.2).

Tabel 3.1/Table 3.1

Stadializarea insuficienței renale cronice la câini și pisici,
după valoarea creatininei serice (după IRIS, 2013)

Staging chronic renal failure in dogs and cats considering serum creatinine values
(IRIS, 2013)

STADIU IR			Observații
Concentrație creatinină mg/dl			
Câini		Pisici	
I	< 1.4	< 1.6	Azotemia nu este încă prezentă, pot să apară modificări la nivel renal, manifestate prin scăderea SG urinară, durere la palpație și modificări ecografice și histologice renale
II	< 1.4-2	1.6-2.8	Azotemie moderată, semne clinice moderate sau absente
III	2.1-5	2.9-5	Azotemie moderată, semne de afecțiuni extrarenale pot fi prezente
IV	> 5	> 5	Risc crescut de afecțiuni sistemice și crize uremice

Stadializarea insuficienței renale acute la câini și pisici, după valoarea creatininei serice (după IRIS, 2013)

Staging of acute renal failure in dogs and cats considering serum creatinine (IRIS, 2013)

Gradul IRA	Valoarea creatininei mg/dl	Observații clinice
I	< 1.6	a. Cuprinde pacienții nonazotemici, cu semne de insuficiență renală, modificări ecografice renale, precum și biomarker ca glucozuria, cilindruria, proteinuria și sedimentul urinar ce indică un proces inflamator b. Creșterea progresivă creatininei cu ≥ 0.3 mg/dl în 48 de ore c. Out put urinar <1 ml/h sau anurie
II	1.7-2.5	a. IRA diagnosticată, cu azotemie progresivă sau nonprogresivă, semne clinice de intensitate moderată b. Creșterea progresivă creatininei cu ≥ 0.3 mg/dl în 48 de ore c. Out put urinar <1 ml/h sau anurie
III	2.6-5	IRA moderată până la gravă, însoțită de creșterea progresivă a azotemiei, și agravarea semnelor clinice
IV	5.1-10	
V	>10	

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 a semnele clinice generale, cum ar fi: modificările de tranzit intestinal, voma, pica, anemia, prezența sau absența infecțiilor urinare, a afecțiunilor cardiace, imunizările realizate, precum și valoare temperaturii, frecvenței cardiace, respiratorii, și tipul de hrană administrată.

Analiza statistică a fost realizată cu testele *Mann Withney* și *Ttest paired samples* cu un prag de semnificație stabilit la $p < 0,05$.

3.2. Rezultate și discuții

Grupul de pisici a fost constituit din 32 de exemplare, 14 femele și 18 masculi, cu vârste cuprinse între 2.3 ani și 18 ani. Pisicile au fost ulterior împărțite pe tipul de manifestare și afectare renală, și anume în pacienți cu insuficiență renală cronică și acută.

Pisicile cu IRC au fost reprezentate în proporție de 60% de femele, iar în ceea ce privește statusul reproducător, 61.5% din pacienții felini au fost castrați. Pisicile au avut vârste cuprinse între 3 și 18 ani, cu o medie de vârstă de 14.06, asemănătoare cu cea menționată în literatura de specialitate de 12.6 ani (Ettinger ș.a., 2006).

După examenele paraclinice s-a stabilit diagnosticul, împreună cu încadrarea în stadiul de insuficiență renală corespunzător concentrației serice a creatininei. Conform valorilor obținute, s-au stabilit următoarele: 40% din pacienții prezentați la clinică au fost încadrați în stadiul IV al insuficienței renale, 15 în stadiul III, 35 % în stadiul II, și 10% în stadiul I.

Majoritatea semnelor clinice semnalate în insuficiența renală sunt consecință a uremiei, uremia fiind stadiul clinic spre care toate afecțiunile renale converg în final. Deși termenul de uremie a fost utilizat inițial pornind de la premiza ca toate manifestările clinice sunt cauzate de retenția metaboliților excretați în mod normal prin urină, o serie de disfuncții metabolice și endocrine au fost implicate, nu doar insuficiența renală în sine.

Uremia trebuie însă diferențiată de azotemie, care semnifică acumularea de produși azotați neproteici în sânge, printre care creatinina și ureea sunt cele mai frecvent determinate pentru a evalua funcția excretorie renală. Azotemia poate să fie o consecință a perfuziei renale deficitare (azotemie prerenală), insuficienței renale intrinseci (azotemie renală), obstrucțiilor, traumatismelor, rupturilor și perforațiilor căilor urinare (azotemie postrenală). Pacienții care prezintă o azotemie ușoară, rareori manifestă semne clinice caracteristice uremiei, însă toți pacienții uremici sunt azotemici. Deși azotemia este un indicator al insuficienței renale, este important de reținut că este doar o componentă a dezechilibrelor endocrine și metabolice care duc la uremie. Stadiile avansate ale IRC reprezintă cauza cea mai frecventă a uremiei (Elliot ș.a., 2007).

Ureea considerată anterior toxina majoră, nu este cauza principală a toxicității uremice, însă contribuie la o serie de simptome cum ar fi apatia, voma și anorexia. La gravitatea acestor manifestări digestive se consideră că ar putea contribui și creșterea nivelului de leptina (Ettinger ș.a., 2006).

Numeroși compuși azotați cu greutate moleculară cuprinsă între 500-12000 D, nu sunt eliminați corespunzător în insuficiența renală cronică și contribuie la morbiditatea și mortalitatea pacienților cu această afecțiune.

Pe de altă parte, o serie de hormoni cum ar fi hormonul paratiroidian, luteinizant, insulina, prolactina și glucagonul au concentrații serice crescute ca urmare a stimulării secreției glandulare dar și a scăderii catabolismului renal.

Primele semne clinice luate în calcul în analiza statistică au fost cele urinare, din care prezența afecțiunilor inflamatorii la nivelul tractului urinar - cistita, ce a fost raportată la 25% din pacienți. Diagnosticul de cistită s-a bazat pe examenul ecografic ce evidenția peretele îngroșat al vezicii urinare și pe citologia urinară (fig. 3.1) cu prezența neutrofilelor și a bacteriilor, precum și pe examenul bacteriologic.

În studiile menționate de Ettinger și colaboratorii (2006), infecțiile tractului urinar inferior au fost sesizate la aproximativ 20% din pisicile afectate, considerându-se că acestea sunt urmarea compromiterii sistemului imunitar ce poate să apară secundar IRC.

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.

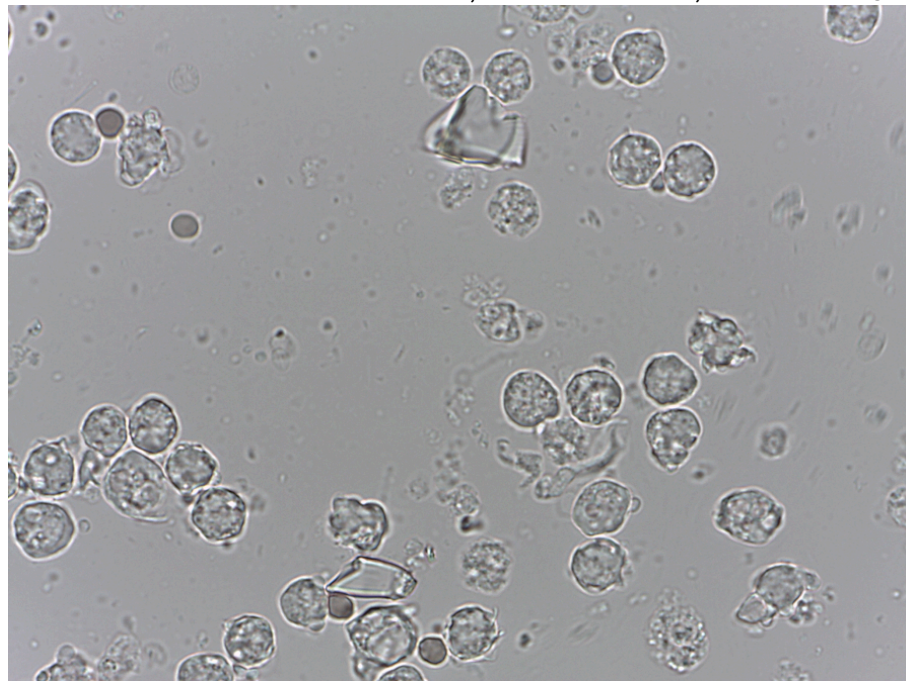


Fig. 3.1. Cistită-motan 3 ani, rasa Europeană;
prezența de hematii crenelate, celule inflamatorii și bacterii
Urocystitis, crenelated erythrocytes, inflammatory cells and bacteria – tomcat,
Domestic Shorthair 3 yo

Afecțiunile renale, în special insuficiența renală cronică, reprezintă una dintre cele mai frecvente cauze ale poliuriei cât și ale polidipsiei. Capacitatea redusă de a concentra urina, este rezultatul mai multor factori: creșterea încărcării cu solviți pentru nefronii funcționali, afectarea arhitecturii medulare și a mecanismului multiplicator contracurent, precum și reducerea răspunsului renal la

hormonul antidiuretic. Creșterea fluxului la nivel tubular la pacienții cu insuficiență renală poate reprezenta o cauză a scăderii răspunsului la ADH. Aceasta poate să apară și ca urmare a hiperfiltrării la nivelul nefronilor rămași funcționali, în încercarea de a crește rata de filtrare glomerulară, ca urmare a scăderii reabsorbției sodiului și clorului, ce are loc pentru a preveni acumularea acestora în organism.

Polidipsia apare ca mecanism compensator al poliuriei, însă dacă consumul de lichide nu poate compensa pierderea urinară apare deshidratarea. Aceasta este urmarea reducerii capacității renale de a reține apa și de a concentra urina (Elliott ș.a., 2007; Ettinger ș.a., 2006)

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, valori asemănătoare fiind obținute și în studiul lui Elliot și Barber (1998), în care lipsa apetitului a fost notată la 43.6% din cele 80 de pisici uremice luate sub observație.

Reducerea apetitului pare a avea origini multifactoriale, studiile pe model experimental menționează existența unui "factor anorectic" în plasma pacienților uremici care poate produce supresia apetitului (Anderstan ș.a., 1996). Nivelul seric crescut de leptină poate fi de asemenea un factor contributor la anorexie (Wolfe ș.a., 2002). Senzația de greață și pervertirea gustului ca urmare a nivelului crescut al ureei și compușilor amoniacali din salivă, pot contribui de asemenea la scăderea apetitului (Barteges ș.a., 2011).

În plus, nivelurile ridicate de gastrină au fost implicate în apariția gastritei uremice. Gastrina este un hormon care induce secreția de acid gastric direct prin stimularea receptorilor localizați pe celulele parietale gastrice și prin creșterea eliberării de histamină din mastocitele din mucoasa gastrică. Gastrina este în mod normal excretată prin rinichi, iar nivelul seric al acesteia poate să crească pe măsură ce funcția renală scade. Nivele serice ridicate de gastrină au fost observate la pisici cu IRC idiopatic (Goldstein ș.a., 1998). Nivelurile crescute de gastrină pot stimula hiperaciditatea gastrică și eventuala iritație și ulcerările. Creșterea eliberării de histamină poate promova, de asemenea, ulcerările gastrointestinale și necroza ischemică a mucoasei printr-un mecanism vascular caracterizat prin dilatația capilarelor și venelor mici, creșterea permeabilității endoteliului și tromboza intravasculară (Lemarie ș.a., 1995)

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. Severitatea și frecvența episoadelor de vomă se corelează pozitiv cu nivelul uremiei. Voma poate împiedica polidipsia compensatorie (Barteges ș.a., 2011).

Pica s-a manifestat la 20% din pisicile cu IRC, prin consumul ocazional în cantități mici de nisip din litieră, urmat de multe ori de vomă. Pica este menționată în literatura de specialitate ca fiind unul din semnele clinice ale anemiei, în special a celei asociate cu deficiența de fier (Giger U., 2006). Analiza statistică în cadrul

grupului de pacienți luați în studiu a evidențiat o corelație între pică și anemie ($r^2 = -0.478$, $p < 0.05$)

Tranzitul digestiv a fost menționat ca fiind redus, tradus prin absența defecării în ultimile 2 zile pentru majoritatea pacienților (63.5%), justificat de deshidratare și reducerea apetitului. Diareea raportată la 10.5 % din subiecți, a fost mai puțin dramatică în ceea ce privește manifestarea decât gastrita uremică (Bartges ș.a., 2011).

Pentru pacienții luați în studiu s-a recomandat și realizarea hemoleucogramei, observându-se reducerea numărului de eritrocite la 55.6% din pisicile cu IRC. Din punct de vedere clinic anemia s-a manifestat prin apatie, aspectul palid al mucoaselor, scăderea apetitului. În studiul realizat de Chalhoub și colaboratorii, s-a menționat o frecvență de 30-65% a anemiei la pisicile cu IRC, cu progresia acesteia pe măsură ce semnele clinice avansează.

Altă serie de informații introduse în analiză au făcut referire la regimul de hrănire și tipul de hrană administrat pacienților. O proporție de 47.4% din pisici au fost hrănite cu hrană comercială, iar 36.8% cu hrană mixtă ce implică atât hrană specifică felinelor cât și mâncare gătită. Raportări asemănătoare au fost constatate și în studiul realizat de Green în 2014, pe un număr de 1230 de pisici cu IRC, 64% din acestea consumând hrană uscată înainte de a fi diagnosticate. Există ipoteze conform cărora alimentația, în special hrana uscată comercială, ar reprezenta un risc în apariția și progresia bolii renale cronice, ca urmare a unor posibile dezechilibre nutriționale, precum și a conținutului redus în apă, ce ar putea expune animalele la o stare cronică de deshidratare ușoară (www.catinfo.org, www.animalendocrine.com). De asemenea, un factor de risc pentru apariția și progresia bolii renale, poate să-l constituie hrănirea ad-libidum, conform studiului realizat de Hughes și colaboratorii (2002). Toți pacienții incluși în studiu, atât cei cu IRC cât și cei cu IRA, au fost hrăniți în această manieră.

În cazul pacienților diagnosticați cu IRC se recomandă administrarea unei diete cu cantitate redusă de proteine, cu un grad de umiditate de cel puțin 70% (Backlund ș.a., 2011; Ross ș.a., 2010).

Din pisicile diagnosticate cu IRC, 50% din acestea prezentau afecțiuni cardiace, cardiomiopatie hipertrofică, în majoritatea cazurilor însoțită de hipertensiune arterială (Fox, 2003). În studiul realizat de Hickey și colaboratorii (2014) s-a demonstrat că în comparație cu pisicile tinere și adulte fără afecțiuni renale, cele cu insuficiență renală erau mai expuse la cardiopatii, în special cardiomiopatie hipertrofică cu OR: 4.9, 95% CI: 1.4–18.1, $p = 0.04$ pentru pisicile tinere (sub 5 ani) și OR: 4.7, 95% CI: 2.15–11.0, $p < 0.01$ pentru pisicile adulte (peste 7 ani).

În cazul constantelor fiziologice înregistrate pentru fiecare pacient s-a putut observa creșterea frecvenței cardiace la pacienții anemici ($r^2 = -0.612$, $p < 0.05$) (Saftencu ș.a., 2016).

Pisicile cu IRA au fost în număr de 12, reprezentate de 10 de masculi și 2 femele, din care 58.3% din exemplare au fost sterilizați. În cazul a 41.6% din pacienți, IRA a fost de origine postrenală, cauzată de obstrucții uretrale, asociate de cele mai multe ori cu prezența microlitiaziei cu struviți. Ceilalți pacienți au fost afectați fie de o boală infecțioasă (58.4%), de afecțiuni congenitale cum ar fi rinichiul polichistic observat la un mascul din grup sau de intoxicația cu etilen-glicol (fig. 3.2).

Pisicile din acest grup au avut vârste cuprinse între 1 an și 8 ani, majoritatea (77.7%) situându-se în grupa de vârstă 2-3 ani. O proporție de 50% din pacienți au fost încadrați în stadiul V, stadiul IV 25 %, stadiul III 8.3% și 16.7% în stadiul II. În cazul vârstei, se observă astfel o scădere a mediei de vârstă în cazul pacienților cu IRA ($r^2 = -0.814$, $p < 0.01$), în comparație cu pacienții cu IRC.

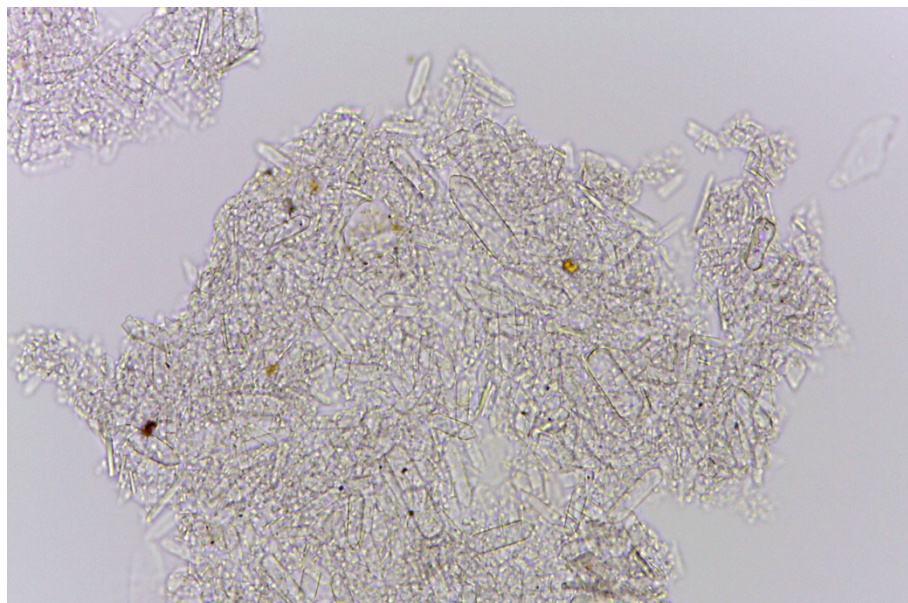


Fig. 3.2. Cristale de oxalat de calciu monohidrat-motan, 3 ani, rasa Europeană
intoxicație cu etilen-glicol
Calcium oxalate crystals - tomcat, 3 yo, Domestic Shorthair – antifreeze intoxication

După efectuarea hemoleucogramei s-a constatat prezența anemiei la 30% din pacienți. Din reprezentanți, doar un singur pacient prezenta o afecțiune cardiacă.

În ceea ce privește semnele digestive, nu au fost înregistrate diferențe statistice mari între grupul de pisici cu IRA și cel cu IRC. S-a observat lipsa apetitului la 66.7% din pacienți, însoțit de o proporție identică, reprezentând tranzitul digestiv redus, tradus prin absența defecării sau producerea de fecale în cantitate redusă. Pica nu a fost raportată la niciun pacient.

Din cauza faptului ca IRA la 41.6% din pacienți a fost cauzată de obstrucția uretrală, ce varia ca durată de la 12 la 36 de ore, acești pacienți au prezentat și infecții urinare.

Grupul câinilor cu insuficiență renală ce a constituit obiectul cercetării, a constat într-un număr de 15 exemplare, cu vârste cuprinse între 7 luni și 24 de ani. În grupul cu IRC au fost încadrați 12 pacienți, iar 3 pacienți au fost diagnosticați cu IRA. Examenul clinic a decurs în mod asemănător cu lotul de pisici.

Din **pacienții canini cu IRC**, în număr de 20 luați în studiu, 51.9% au fost reprezentați de masculi. În ceea ce privește statusul reproducător al câinilor 61.9 % din total erau integri. Media de vârstă a grupului este de 10.9 ani, similară cu media de vârstă de 12 ani menționată de Ettinger și colaboratorii.

Încadrarea pe grade de insuficiență renală s-a realizat după efectuarea investigațiilor paraclinice astfel: 54.5% au fost încadrați în stadiul IV, 22.7% în stadiul II și 22.7% în stadiul III.

Semne de inflamație cu origine bacteriană la nivelul tractului urinar au fost observate la 5 pacienți. Protocolul de diagnostic al afecțiunii inflamatorii a fost același ca și în cazul pacienților felini.

Semnele digestive cele mai frecvent notate au inclus voma, apetitul redus sau selectiv, precum și modificările de tranzit, cu reducerea frecvenței defecării sau diaree. Absența apetitului a fost întâlnită la 45.5% din pacienți, voma la 51.9%, iar modificările de tranzit au inclus reducerea acestuia la 57.9% din câini, diareea la 36.8%, la 3 dintre pacienți având caracter hemoragic. Enterocolita uremică nu este foarte frecvent întâlnită la pacienții cu IRC, însă atunci când apare are de cele mai multe ori caracter hemoragic (Bartges ș.a., 2011)

Pica nu a fost întâlnită la nici un câine diagnosticat cu insuficiență renală.

Rezultatele acestea sunt asemănătoare cu cele obținute de O'Neill și colaboratorii în 2013 pe un grup de 228 câini, ce au identificat entitățile comorbide mai sus menționate în proporții variabile (voma 50%, apetit redus 39.5%, afecțiuni cardiace 29.6%).

Tipul de hrană administrat pacienților a constat în cazul a 81.8% în amestec de hrană comercială și mâncare gătită, iar la 13.6% din pacienți li s-a administrat hrană comercială.

Investigațiile paraclinice au pus în evidență prezența anemie la 68.4% din pacienții consultați și al afecțiunilor cardiace la 35% din câinii cu IRC. Afecțiunile cardiace diagnosticate au fost endocardioza valvulară și cardiomiopatia dilatativă.

Anemia din insuficiența renală este de obicei hiporegenerativă, normocromică și normocitică, fiind de cele mai multe ori proporțională cu gradul de pierdere a funcționalității renale. Principalul mecanism care stă la baza anemiei de origine renală este producția insuficientă de eritropoetină (EPO) de către rinichi. EPO stimulează producția de eritrocite la nivelul măduvei osoase, prin creșterea duratei de supraviețuire a unor precursori eritroizi.

Deși principala cauză a anemiei în această afecțiune este deficitul de EPO, originile anemiei sunt multifactoriale, aceasta fiind de cele mai multe ori exacerbată de bolile intercurrente și malnutriția. Alte cauze importante ale anemiei sunt reprezentate de deficitul de fier și pierderile cronice de sânge la nivelul mucoaselor tubului digestiv, care pot fi prezente chiar și în absența colorării caracteristice a materiilor fecale (Bartges ș.a., 2011).

Analiza constantelor fiziologice a evidențiat scăderea temperaturii corporale corelată cu gravitatea insuficienței renale ($r^2 = -0.694$, $p < 0.01$).

Câinii cu IRA în număr de 5 pacienți, au fost reprezentați de 3 masculi și 2 femele. Doi pacienți au fost diagnosticați cu insuficiență renală stadiul V, 2 cu stadiul III și un pacient cu insuficiență renală stadiul I.

Cei cu insuficiență renală stadiul V s-au prezentat la clinică cu anurie de durată variabilă, între 12 și 24 de ore, cauzată de o anemie hemolitică intensă (fig. 3.3) și de administrarea de antiinflamatoare nesteroidine pe o perioadă de 5 zile, unui pacient ce probabil prezenta deja o afecțiune renală.

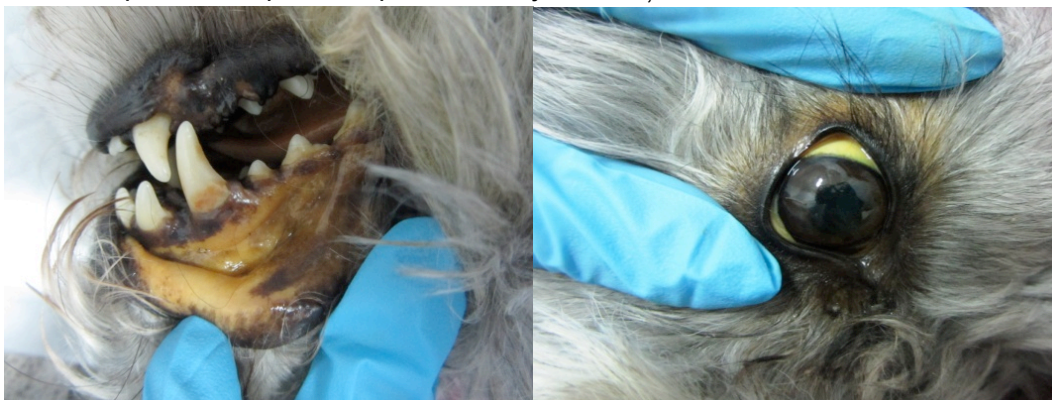


Fig. 3.3. Câine, 8 ani, icter și anemie hemolitică
Hemolytic anemia and icterus, dog, 8 yo

3.3. Concluzii parțiale

1. Insuficiența renală este una dintre cele mai des întâlnite afecțiuni la animalele de companie.
2. Oliguria și anuria sunt simptome caracteristice IRA, dar nu întotdeauna prezente, de aceea formele non-oligurice trebuie diferențiate de poliuria din IRC.
3. Principalele semne clinice ale insuficienței renale au fost inapetența, poliuria/polidipsia, voma și deshidratarea.
4. Cei mai mulți pacienți s-au situat în grupa de vârstă de peste 7 ani, atât în cazul câinilor cât și în cazul pacienților felini.
5. Comorbiditățile principale asociate IRC, la pacienții luați în studiu au fost gastrita, anemia și infecții ale tractului urinar.

**CAPITOLUL IV. INVESTIGAȚII PRIVIND DIAGNOSTICUL
PARACLINIC AL INSUFICIENȚEI RENALE
LA ANIMALELE DE COMPANIE
CAPITOLUL IV. INVESTIGATIONS ON PARACLINIC DIAGNOSIS
OF RENAL FAILURE IN SMALL ANIMALS**

Insuficiența renală este una dintre cele frecvent diagnosticate patologii la animalele de companie, având o evoluție acută sau cronică. Diferențierea celor două forme clinice ale acestei afecțiuni prezintă o importanță majoră deoarece insuficiența renală acută este reversibilă, pe când cea cronică nu, având o evoluție progresivă.

Uneori semnele clinice ne pot ajuta în stabilirea unui diagnostic cert, însă de multe ori simptomele sunt asemănătoare, dar anamneza completă, examenul fizic, examenul ecografic și biochimia sangvină ne pot ajuta în a face această distincție.

Mecanismele fiziopatologice sunt diverse și complexe, iar înțelegerea lor poate ajuta la descoperirea unor noi strategii terapeutice, dar și de prevenție a acestora.

Din păcate, metodele moderne de tratament ce includ metodele de epurare extrarenală, dar și transplantul renal, nu sunt disponibile tuturor pacienților, iar costurile ridicate reprezintă cel mai mare impediment. De aceea în cazul nefropatiilor animalelor de companie prevenția trebuie să fie realizată cu responsabilitate de către medicul veterinar.

**4.1. Examenele biochimice și hematologice
la pacienții cu insuficiență renală**

4.1.1. Materiale și metode

Studiile 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 câini și 1213 pisici. Din totalul de pacienți, 163 au fost diagnosticați cu nefropatii cu sau fără semne clinice evidente, reprezentând o proporție de 4,36% din totalul patologiilor diagnosticate.

Din pacienții cu nefropatii, 68 au constituit obiectul cercetărilor personale, 36 de pisici și 32 de câini. Criteriile de includere a pacienților le-au constituit examenul clinic, examenul imagistic și biochimia serului. S-a urmărit îndeplinirea

a cel puțin 2 din cele 3 criterii principale. Stabilirea diagnosticului de insuficiență renală acută sau cronică s-a bazat pe datele anamnetice și investigațiile paraclinice realizate ulterior.

Prelevarea de sânge s-a realizat preponderent din vena cefalică sau jugulară, în cantitate de 3 până la 6 ml, repartizat în tuburi cu activator de coagulare și tuburi cu EDTA.

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

Biochimia serică a fost realizată cu ajutorul analizorului automat Accent 200, utilizându-se metode enzimatică, fotometrică și ISE indirectă pentru determinarea parametrilor recomandați. Investigațiile hematologice au fost realizate cu ajutorul analizorului hematologic ABC Vet.

Examenul ecografic s-a realizat cu ajutorul ecografului Aquila Pro Vet dotat cu sonde sectoriale de 5 și 7,5 MHz.

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, calciului total, proteinemiei, enzimelor hepatice (TGP, PA, TGO, GGT), a colesterolului, fierului, eritrocitelor, hematocritului, hemoglobinei, volumului eritrocitar mediu (VEM), concentrației hemoglobinei eritrocitare medii (CHEM), leucocitelor și proporția de limfocite, granulocite, bazofile, monocite, eozinofile și reticulocite.

Pacienții au fost împărțiți ulterior pe grupe, în funcție de specie și tipul de insuficiență renală.

4.1.2. Rezultate și discuții

Grupul **pisicilor cu IRC** a fost reprezentat de 22 pacienți, 12 femele și 10 masculi, 21 dintre subiecți fiind sterilizați.

În ceea ce privește încadrarea pe grade de insuficiență renală majoritatea pacienților - 40.9 ($n=9$)% s-au prezentat la clinică cu boală renală cronică, în stadiul terminal-gradul IV.

Pacienții cu IRC stadiul III au fost înregistrați într-o proporție de 18.2% ($n=4$), iar cei cu IRC stadiul II au reprezentat 36.4% ($n=8$) din totalul pacienților felini ce au constituit acest grup. Un singur pacient s-a prezentat în stadiul incipient al bolii.

În cadrul studiului au fost luate în calcul și analizate potențialele corelații ale dezechilibrelor minerale și electrolitice, împreună impactul clinic al acestora.

Hiperfosforemia este cel mai întâlnit dezechilibru mineral la pacienții cu insuficiență renală cronică. Rinichii joacă un rol important în metabolismul fosforului, reprezentând calea de excreție principală. Fosforul este filtrat liber prin

rinichi și reabsorbit în proporție de 90%, cea mai mare parte a procesului de reabsorbției având loc în tubul proximal. Procesul este reglat după un transport tubular maximal a cărui valoare este apropiată de cantitatea de fosfor filtrată. Dacă consumul de fosfor rămâne nemodificat iar rata de filtrare glomerulară scade, acesta va duce la retenția de fosfor în organism și în cele din urmă la hiperfosforemie.

În primele stadii ale insuficienței renale valorile fosforemiei rămân în limite normale, urmare a unui mecanism compensator, ce constă în scăderea reabsorbției fosforului la nivelul nefronilor sănătoși. Acest mecanism adaptativ tubular este de cele mai multe ori rezultatul hiperparatiroidismului secundar. Creșterea nivelului parathormonului stimulează excreția renală a fosforului prin reducerea transportului tubular maximal pentru reabsorbția fosforului la nivelul tubilor proximali, prin intermediul sistemului adenilat ciclazei. Când RFG scade sub 20%, acest mecanism nu mai este capabil să mențină nivelul fosforului în limite normale (Bates ș.a., 2008, Schropp ș.a., 2006).

Consecința cea mai importantă a hiperfosfatemiei este apariția și progresia hiperparatiroidismului secundar. Creșterea activității serice a PTH-ului la pacienții cu IRC se corelează pozitiv cu nivelul fosfatemiei.

Creșterea nivelului seric al fosforului și un nivel normal al calciului, duce la creșterea produsului calciu x fosfor. Dacă acest produs depășește valoarea 70, apare riscul precipitării fosfatului de calciu la nivelul arterelor, articulațiilor și țesuturilor moi. Acest proces poartă numele de calcificare metastatică. Calcificarea este mai evidentă la nivelul organelor secretoare de protoni, cum ar fi rinichii și stomacul, însă și în organe ca miocardul, pulmonii și ficatul.

Hiperfosfatemia a fost corelată cu creșterea ratei mortalității atât la pacienții umani cât și la câinii cu IRC. La pacienții umani supuși procedurilor de hemodializă, s-a constatat o creștere a mortalității la valori ale fosforului peste 6.5mg/dl (Ettinger ș.a., 2006).

Valori peste 6 mg/dl la animalele mici sunt considerate patologice. În scopul unei analize cât mai fidele ale acestui dezechilibru mineral, în grupul luat în studiu s-au exclus probele care prezentau semne de hemoliza, deoarece prin hemoliză se eliberează fosfat organic din eritrocite în ser sau plasmă, ducând la creșterea artefactuală a fosforului seric (DiBartola ș.a., 2006, p: 195-209).

Valorile înregistrate în grupul pisicilor cu IRC au o medie de 8.7 mg/dl cu deviația standard (S. D.) de 6.1 mg/dl. În mod obișnuit se poate observa corelația valorii fosforului cu cea a creatininei și ureei, și implicit cu gradul de insuficiență renal, corelații întâlnite și în grupul nostru ($r^2=0.745$, $p<0.001$ -corelație pozitivă cu creatinina, $r^2=0.881$, $p<0.001$ -corelație pozitivă cu ureea, și $r^2=0.680$, $p<0.004$ cu stadiul insuficienței renale).

În cazul modificărilor metabolismului potasiului în acest grup de pacienți a fost întâlnită hipokalemia, 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 progresiei insuficienței renale la pisici, și nu doar o consecință a acesteia.

Mecanismul apariției hipokalemie la pisicile cu IRC se bazează pe aportul deficitar, precum și pe pierderile crescute la nivel renal. Rinichii sunt responsabili pentru reglarea cantității de potasiu, astfel deși cantități crescute de potasiu apar în filtratul glomerular, cea mai mare parte a acestuia este reabsorbit înainte de a ajunge la nivelul tubilor distali. Potasiul care apare în urină este rezultatul secreției celulelor tubulare de la nivelul porțiunii distale a nefronilor. Fiind excretat la acest nivel, cantitatea de potasiu este afectată direct de rata fluxului urinar, astfel creșterea acestuia stimulează secreția de potasiu.

La pacienții cu IRC secreția de potasiu la nivel gastrointestinal pare de asemenea să fie crescută, în special la nivelul colonului.

Polimiopatia hipokalemică este întâlnită deseori la pacienții cu IRC, în special la pisici.

Semnul clinic cel mai important asociat hipokalemiei, indiferent de cauza acesteia, este slăbiciunea musculară generalizată, ce se manifestă prin vetroflexie cervicală, mers, plantigrad, înțepenit și nesigur (fig. 4.1, fig. 4.2).



Fig. 4.1. Pozitie caracteristică în hipokalemie (ventroflexie cervicală)-original
Classical position in hypokalemia (cervical ventroflexion)-original



Fig. 4.2. Mers plantigrad, pisica, 8 ani, insuficiență renală cronică gradul IV-original
Plantigrad walking, cat, 8 yo, IV grade chronic renal failure -original

Hipokalemiile se manifestă clinic, de cele mai multe ori prin tulburări neuromusculare, ca urmare a efectului la nivelul potențialului membranar de repaus, ducând la o hiperpolarizare a membranei celulare, ce devine mai puțin reactivă la stimuli.

De asemenea pot să apară tulburări de ritm cardiac. Slăbiciunea pe trenul posterior și postura plantigradă pot fi întâlnite și din cauza hiperfosforemie, care poate interfera transmiterea impulsurilor nervoase, sau cauzată de nivelul scăzut al calciului sau magneziului.

Un factor de risc al hipokalemiei îl reprezintă dieta cu produse acidifiante, conținut redus în magneziu, precum și cu un conținut crescut în proteine (Ettinger ș.a., 2006).

Potasiul a fost dozat la 15 din cei 22 de pacienți felini diagnosticați cu IRC, înregistrându-se valori medii de 3.8 ± 0.6 mmoli/L (fig. 4.3). S-au observat o serie de particularități în ceea ce privește corelațiile cu variabilele introduse în studiul acestui grup de pacienți. După cum este menționat, de altfel, și în literatura de specialitate odată cu înaintarea în vârstă a pisicilor se poate constata scăderea potasemiei, aspect denumit hipokalemie idiopatică (Kerr ș.a., 2002, p: 81-85). În studiului de față s-a observat o corelație negativă ($r^2 = -0.721$, $p < 0.05$), între valoarea potasiului și vârsta pacienților, aspect care poate fi influențat și de afecțiunea renală în curs (Ettinger ș.a., 2006).

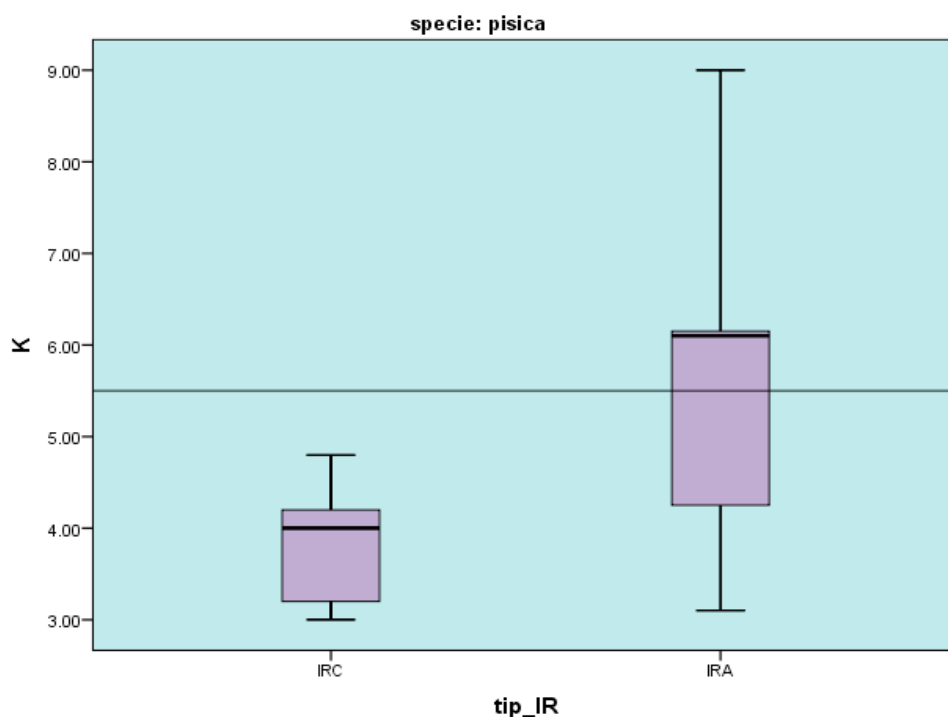


Fig. 4.3. Biovarialitatea kalemiei la pisicile cu insuficiență renală în funcție de tipul de manifestare a afecțiunii

Biovariability of kalemia in cat with renal failure depending on the type of renal failure

Deși majoritatea pacienților din acest grup nu au prezentat modificări ale kalemiei ($n=10$), s-au înregistrat corelații negative cu creatinina ($r^2=-0.545$, $p<0.05$) și ureea ($r^2=-0.761$, $p<0.01$), ceea ce indică faptul că pe măsură ce boala renală cronică avansează, nivelul potasiului scade.

S-a realizat și analiza comparativă a valorii potasiului între cele 2 grupuri de pisici, observându-se că majoritatea pacienților s-au situat în limitele fiziologice, iar hiperkalemia a fost întâlnită doar la pacienții cu IRA (Ettinger ș.a., 2006) (fig. 4.3).

Calciul total în cazul pisicilor din grupul IRC este la limita superioară, cu o medie de 10.7 ± 2.06 mg/dl.

Concentrațiile crescute ale calciului total seric 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 (Schenck ș.a., 2003). Hipercalcemia în IRC trebuie diferențiată cu atenție de nefropatia hipercalcemică sau de afectarea renală indusă de hipercalcemia ionizată. Hipercalcemia cauzată de prezența unui proces tumoral malign sau hipervitaminoză D sunt cele mai frecvent relaționate cu nefropatia hipercalcemică. Ambele condiții pot duce la creșterea produsului calciu x fosfor, ceea ce duce la mineralizare renală, inflamație și fibroză.

O modalitate de a distinge relația cauză-efect dintre rinichi și hipercalcemie este determinarea calciului ionic, doar excesul de calciu ionizat determină leziuni la nivel renal.

Hipercalcemia în insuficiența renală poate să apară și ca urmare a administrării unor doze mai mari de chelator de fosfor pe bază de carbonat de calciu sau de vitamina D (Bartges ș.a., 2011).

Probele de sânge pe care s-au făcut aceste dozări aparțin pacienților prezentați pentru prima oară la control pentru diagnosticul acestei afecțiuni, și nu au primit nicio medicație capabilă să influențeze rezultatul determinărilor. Pacienții care au primit anterior chelatori de fosfor pe bază de carbonat de calciu, au fost excluși din studiu.

Sodiul a fost dozat la 8 din cei 22 de pacienți ai grupului, cu o valoare medie de $153 \pm 6,6$ mmol/L, și au fost înregistrați 2 pacienți cu hiprenatremie și un pacient cu hiponatremie, ambele dezechilibre putând fi întâlnite în IRC (Park ș.a., 2014).

Magneziul a fost dozat la 6 pacienți din grup, înregistrându-se o valoare medie de $2.4 \pm 0,65$ mg/dl, situată la limita superioară. Hipermagneziemia este des întâlnită la pacienții cu IRC, deoarece rinichii sunt principalii responsabili de excreția magneziului (Gilroy ș.a., 2003). Semnele clinice ale hipermagneziemiei atunci când ea este severă sunt de obicei caracterizate de hipotonie, slăbiciune musculară (Kerr M., 2003, p:97-98). Această simptomatologie este întâlnită frecvent la pacienții cu insuficiență renală, însă cauzele pot fi multiple, implicând mai multe dismineraleze și tulburări electrolitice.

În scopul eliminării creșterilor artefactuale ale valorilor magneziului, probele hemolizate și cele ale pacienților cu lipemie au fost eliminate din analiza statistică.

Parametrii determinați pentru evaluarea funcției hepatice au fost TGP evaluat la 14 pacienți, PA la 11 și GGT la 6 pacienți, din pisicile cu IRC.

Valoarea medie înregistrată pentru TGP a fost de 75.1 ± 54.5 u/L, iar corelații au fost observate cu determinările colesterolului ($r^2=0.998$, $p<0.05$). În cazul corelației cu colesterolul, nivelul transaminazelor poate fi asociat frecvent cu cel al colesterolului, în special în cazurile de lipidoză hepatică. Lipidoza hepatică poate fi asociată cu IRC, pe fondul obezității pacienților (Zhou-wen Chen ș.a., 2008).

În ceea ce privește nivelul GGT, s-a observat o corelație pozitivă ($r^2=0.853$, $p<0.05$) cu valoarea leucocitelor, existând studii care au demonstrat că această enzimă poate fi considerată marker al inflamației și utilizată în evaluarea riscului afecțiunilor cardiovasculare (Lee ș.a., 2008). În IRC inflamația a fost identificată și recunoscută ca o componentă importantă în această afecțiune, contribuind la evoluția afecțiunilor cardiovasculare asociate acestei boli (Akchurin ș.a., 2015)

Hemoleucograma este testul ce poate furniza detalii importante pentru a orienta diagnosticul în general, însă în cazul pacienților cu insuficiență renală importanța acesteia rezidă din faptul că ne furnizează informații în special asupra existenței și gravității anemie, având impact direct asupra schemei de tratament, stabilite în corelație cu rezultatul biochimiei sangvine.



Fig. 4.4. Mucoase palide, pisica, 9 ani, IRC
Anemia mucosa, cat, 9 yo, CRF

Tabel 4.1/Table 4.1

Valorile eritronului înregistrate la pisicile cu IRC
The erythron values recorded in cats with CRF

	<i>n</i>	Minimum	Maximum	Media	Deviația standard
Nr. Eritrocite x $10^6/\mu\text{l}$	14	4.20	10.00	6.7444	2.04824
HGB g/dl	14	5.80	14.40	9.7889	3.13944
HCT %	14	19.00	41.80	29.6444	8.54022
<i>N</i>	14				

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 (fig. 4.4) care prezintă trăsături caracteristice, fiind normocromă, normocitară, aregenerativă sau hiporergenerativă (Bartges ș.a., 2011).

Analizând datele introduse pentru pisicile cu IRC, media numărului de eritrocite a fost în limite fiziologice, hematocritul și hemoglobina situându-se la limita inferioară (tabel 4.1).

Analiza statistică a evidențiat corelația negativă a hematocritului cu ureea ($r^2=-0.726$, $p<0.05$), fiind evidențiată implicația ureei în anemia din IRC. De asemenea, analiza statistică a evidențiat corelația negativă între valorile hemoglobinei și ale fosforului seric ($r^2=-0.460$, $p<0.05$). Studiul realizat de Kovesdy și colaboratorii în 2011, evidențiază o legătură între anemie și nivelul ridicat al fosforului seric la pacienții cu IRC. Această relație care ar putea fi explicată de efectul supresiv asupra eritropoezei pe care tulburările metabolismului mineral (nivelul scăzut al vitaminei D, nivelul crescut al parathormonului) le-ar avea în această afecțiune, nu este pe deplin elucidat dacă relația între hiperfosfatemie și anemie este într-adevăr mediată de aceste tulburări metabolice (Kovesdy ș.a., 2011, Wojcicki ș.a., 2013).

Stresul sistemic în această patologie este caracterizat prin prezența neutrofiliei și eozinopeniei, observat și prin corelația negativă ($r^2=-0.773$, $p<0.05$) între valoarea neutrofilelor și eozinofilelor (Kerr M., 2002).

Grupul de **pisici cu IRA** este constituit din 14 pacienți, 10 masculi și 4 femele cu vârste cuprinse între 2 și 8 ani. Majoritatea pacienților (42.9%) au fost diagnosticați cu IRA gradul V, 28.6% cu IRA gradul IV, 14.3% gradul III și II.

Jumătate dintre masculi s-au prezentat la clinică cu obstrucție uretrală, iar din restul pacienților, 6 au fost diagnosticați cu boli infecțioase (panleucopenie /PIF) și 3 cu intoxicație cu antigen.

Afectarea funcției excretorii a rinichilor se soldează cu o multitudine de modificări ale echilibrului electrolitic și acido-bazic. Cel mai important dezechilibru în IRA este reprezentat de hiperkalemia, care poate fi agravată de administrarea enterală și parenterală de potasiu, precum și de acidoza metabolică (DiBartola ș.a., 2011).

Hiperkalemia scade gradientul de potasiu transmembranar, produce depolarizarea membranei celulare și împiedică excitația și conducerea potențialului de acțiune. Dacă hiperkalemia se agravează, tulburările de acest gen la nivel cardiac se manifestă prin bradicardie, bloc sinoatrial și stop cardiac (Ettinger ș.a., 2006). Aceste semne pot fi observate pe măsură ce nivelul potasiului ajunge la 6.5 mmoli/l. În cazuri mai severe, pot să apară aritmii și fibrilații ventriculare (Tilley ș.a., 2008). Modificări electrofiziologice asemănătoare se pot observa și în cazul musculaturii netede, striate și la nivelul sistemului nervos periferic. Manifestările nervoase se caracterizează prin slăbiciune accentuată, paralizie flască, hiporeflexivitate, hipomotilitate gastrointerstinală, și insuficiență respiratorie (Son-II Pak, 2000).

Hiperkalemia reprezintă cauza principală a morții în IRA și una dintre indicațiile specifice pentru dializă.

Creșterea potasiului, întâlnită frecvent în IRA, este datorată reducerii eliminării acestuia, în special în cazurile de anurie sau oligurie din obstrucțiile uretrale (Ettinger ș.a., 2006).

În acest grup de pacienți, doar 5 prezentau hiperkalemie, iar analiza statistică a evidențiat faptul că spre deosebire de pisicile cu IRC valoarea potasiului s-a corelat pozitiv atât cu valorile creatininei ($r^2=0.817$ $p<0.002$) cât și a ureei ($r^2=0.775$, $p<0.005$), observându-se astfel o creștere a valorii potasiului seric, proporțională cu gravitatea insuficienței renale.

Hiperfosforemia (12.6 ± 6.1 mg/dl) a fost întâlnită și la pisicile cu IRA, 11 din cei 14 pacienți prezentând acest dezechilibru mineral.

Analiza valorilor enzimelor hepatice a scos în evidență creșterea valorii medii a TGP (105.7 ± 65.7).

Corelații s-au înregistrat între valorile PA și cele ale eritrocitelor și hematocritului, la nivel $p<0.05$, ce poate fi pusă pe baza efortului susținut (Hu ș.a., 2011), mai ales în cazul pacienților cu blocaj uretral, PA fiind considerat și un marker de fază acută (Pratihba ș.a., 2014). Corelații s-au putut observa și cu nivelul limfocitelor ($r^2=0.915$, $p<0.05$), în IRA observându-se un puternic răspuns imun și inflamator caracterizat prin activarea unor markeri printre care și limfocitele T (Imig ș.a., 2012).

Hemograma nu a prezentat modificări decât pentru 2 pacienți, cu creșterea numărului de eritrocite cauzată de deshidratare, ce poate duce la hemoconcentrație (Kerr M., 2002). Leucograma a evidențiat reducerea numărului total de leucocite pentru 2 pacienți diagnosticați cu penleucopenie și leucocitoză pentru un pacient intoxicat cu etilenglicol și unul cu blocaj uretral.

Analiza statistică a evidențiat prezența unei corelații pozitive între valoarea calciului total și a limfocitelor, atât la pacienții cu IRA ($r^2=0.959$, $p<0.05$) cât și la pacienții cu IRC ($r^2=0.737$, $p<0.05$), corelație ce poate fi explicată prin faptul că ionii de calciu joacă un rol important pentru funcțiile celulelor sistemului imunitar, și anume diferențiere, proliferare și apoptoză (Oh-hora ș.a., 2008).

Câinii cu IRC luați în studiu au fost în număr de 26, 15 masculi și 11 femele. Încadrarea pe grade de insuficiență renală s-a realizat astfel: 46.2% din pacienți au fost diagnosticați cu insuficiență renală stadiul IV, 23.1% stadiul III, 36.4% stadiul II și 4.5% ($n=1$) stadiul I.

Analiza statistică a evidențiat rezultate asemănătoare cu cele obținute în grupul de pisici, hiperfosforemia constituind dezechilibrul mineral principal întâlnit. Spre deosebire de pisici, la câinii diagnosticați cu IRC a putut fi identificată și hiperkalemia ușoară la 3 pacienți, hipokalemia severă responsabilă de apariția unor semne clinice caracteristice fiind întâlnită în special la pisici. După cum se poate observa și din fig. 4.5, la pisici potasiul prezintă valori mai scăzute comparativ cu câinii care suferă de aceeași afecțiune.

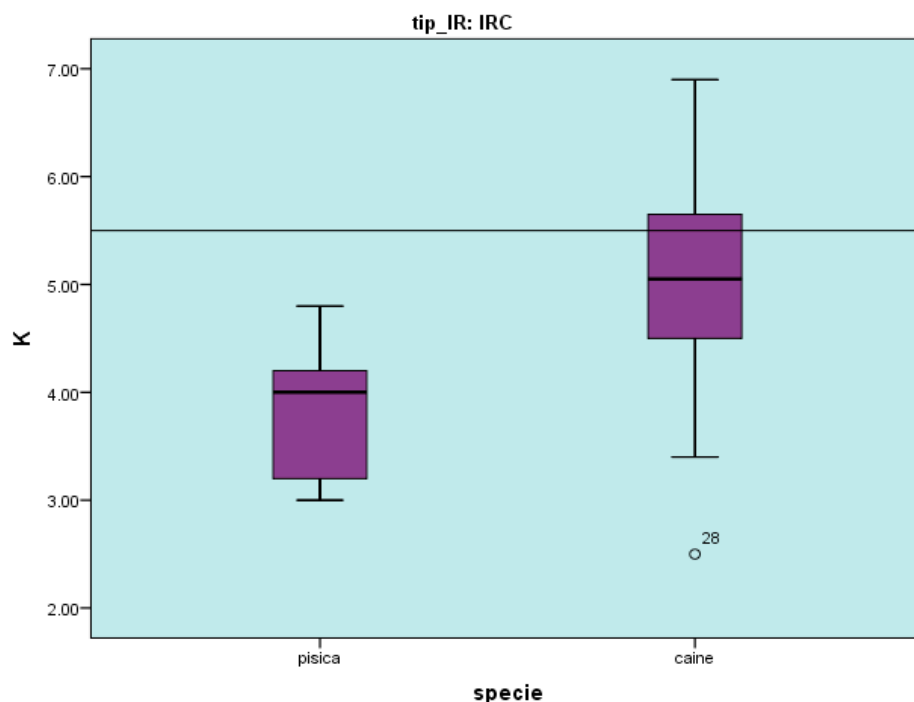


Fig. 4.5. Biovariabilitatea kalemiei la câinii și pisicile cu IRC
Biovariability of kalemia in dogs and cats with CRF

Enzimele hepatice (TGO, GGT) s-au situat în limite normale cu excepția TGP-ului și PA, care la 6 pacienți a prezentat valori cu mult peste limitele fiziologice, fapt ce poate fi explicat de existența unor entități comorbide dar și de scăderea clearance-ului unor toxine ce pot influența funcția hepatică (Lopamudura ș.a., 2015).

La câinii cu IRC valorile medii ale eritronului s-au situat sub limita inferioară, aspect întâlnit și la pisicile cu IRC (tabel 4.2).

Tabel 4.2/Table 4.2

Valorile eritronului înregistrate la câinii cu IRC
The erythron values recorded in dogs with CRF

Câini		N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
IRC	RBC	17	3.30	8.00	5.1706	1.305
	HGB	18	4.80	17.40	11.783	3.176
	HCT	18	12.20	53.00	34.833	10.198
	<i>n</i>	17				

Analiza statistică a pus în evidență corelații pozitive între valorile eritronului și valorile calciului total la nivel $p < 0.05$. Calciul are un rol foarte important în diferențierea eritrocitelor din celulele precursorare, precum și în funcționarea și durata de supraviețuire a acestora (Bogdanova ș.a., 2013).

Stresul sistemic a putut fi evidențiat și în acest grup de pacienți, caracterizat prin prezența neutrofiliei și eozinopeniei, observat și prin corelația negativă ($r^2=-0.591$, $p<0.05$) între valoarea neutrofilelor și eozinofilelor (Kerr M.,2002).

În grupul **cânilor cu IRA** reprezentați de 5 masculi și 1 femelă, 3 pacienți au fost diagnosticați cu IRA gradul IV, 2 cu gradul III, și un pacient cu IRA gradul I.

Investigațiile paraclinice au pus în evidență aceleași dezechilibre deja menționate, hiperfosforemie (11.5 ± 7.4 mg/dl), anemie, precum și creșterea valorilor TGP-ului (154.7 ± 110.6 u/L).

4.2. Examenul ecografic la pacienții cu insuficiență renală

4.2.1. Materiale și metode

Studiul privind investigațiile imagistice ale acestei afecțiuni s-a realizat pe un număr de 24 de pisici și 28 de câini. Aspectele lezionale urmărite, în concordanță cu imaginile ecografice sunt prezentate în tabelul 4.3 pentru fiecare specie.

Tabelul 4.3/Table 4.3

Aspectele ecografice întâlnite la pacienții cu insuficiență renală

Ultrasound aspects encountered in patients with renal failure

PISICI	CÂINI
scleroză corticală	scleroză corticală
scleroză medulară	scleroză medulară
steatoză	nefroză oxalică
nefroză oxalică	mineralizări
mineralizări ale parenchimului	chiști solitari
boala polichistică renală	pielită
pielită	calculi
calculi	cistită
cistită	hidronefroză
hidronefroză	hidroureter

Examenul ecografic s-a realizat cu ajutorul ecografului Aquila Pro Vet, dotat cu sonde sectoriale de 5 și 7,5 MHz.

Aceste caracteristici ecografice au fost stabilite pe baza aspectelor lezionale observate în urma analizei ecografiilor și a consultării rubricii destinate examenului ecografic din fișa de examen clinic.

Rinichii au formă asemănătoare bobului de fasole și sunt situați în spațiul retroperitoneal, în partea cranială a abdomenului, de-o parte și de alta a aortei abdominale, caudal venei cave. Rinichiul stâng este mai puțin atașat la perete dorsal decât dreptul și prin urmare, poziția sa poate să varieze. Rinichiul drept este poziționat mai cranial decât stângul și se află în contact cu fosa renală a lobului caudat al ficatului. Polul său cranial se află în cutia toracică și este, de obicei, străbătut de coasta a 13-a aflându-se în contact cu glanda suprarenală dreaptă. Medial, este aproape de vena cavă; ventral este în contact cu porțiunea dreaptă a pancreasului și colonul ascendent.

Cranial, rinichiul stâng se află în contact cu splina, marea curbura a stomacului, pancreasul și glanda suprarenală stângă. Dorsal este în contact cu mușchii sublombari; caudal se află în contact cu colonul descendent, medial este în contact cu colonul descendent și duodenul ascendent (Kealy ș.a., 2000).

Rinichii pot fi examinați printr-o abordare ventrală, cu animalul în decubit dorsal, gazul intra-abdominal poate interfera însă cu tehnica imagistică. Rinichii pot fi în mod constant vizualizați folosind o abordare paralombară, cu animalul în poziții laterale alternative. Blana se tunde și pe ultimile două spații intercostale pe partea dreaptă și caudal ultimei coaste pe partea stângă. Pielea se curăță și se aplică gel ecografic. O sondă de 7.5 MHz este de preferat pentru examinare, rinichii fiind în plan mai apropiat. Se examinează rinichii în secțiunile standard, transversale și sagitale. O a treia secțiune, în plan dorsal, se obține prin dirijarea fasciculului de ultrasunete în unghi drept față de vertebrele lombare și pe plan transversal. Rinichii pot fi examinați de dedesubt cu ajutorul unui mese cu secțiune circulară pe partea dinspre ecograf, dacă gazul colonului nu interferează cu examinarea.

Se evaluează forma, dimensiunea și structura rinichiului. Ecostructura este fină, ușor granulară și este semnificativ hipoecogenă comparativ cu splina. Corticala renală este hipoecogenă sau izoecogenă comparativ cu ficatul. Medulara renală este hipoecogenă sau anecogenă în raport cu corticala. Comparația cu ficatul și splina are valoare numai dacă aceste organe sunt normale și examinate la aceeași frecvență.

Joncțiunea cortico-medulară este definită de prezența unor pete hiperecogene luminoase care reprezintă arterele arcuate. Medulara renală este anecogenă și divizată în segmente de diverticule și vase. Bazinetul renal este hiperecogen datorită prezenței de grăsime și țesut fibros. Vena renală poate fi identificate în această regiune. Lungimea rinichiului variază considerabil la câinii normali din cauza taliei, la pisici fiind mai puțin variabilă (tabel 4.4).

Tabel 4.4/Table 4.4

Dimensiunea rinichilor în funcție de greutate la câine
(după Mannion, 2006)

The size of the kidneys according to weight in dog (Mannion, 2006)

GREUTATEA (kg)	Limita inferioară (cm)	Limita superioară (cm)
0–4	3.2	3.3
5–9	3.2	5.2
10–19	4.8	6.7
20–29	5.2	7.8
30–39	6.1	9.3
40–49	6.3	9.1
50–99	7.5	10.1

Confirmarea bolii renale necesită adesea biopsie sau puncția prin aspirație cu ac fin (Kealy ș.a., 2000).

4.2.2. Rezultate și discuții

Analiza statistică în cadrul grupului de pisici a evidențiat predominanța aspectelor de scleroză corticală (16%) și medulară (21%), precum și inflamația sau leziunile de natură degenerativă a bazinetului (13%) (fig. 4.6.).

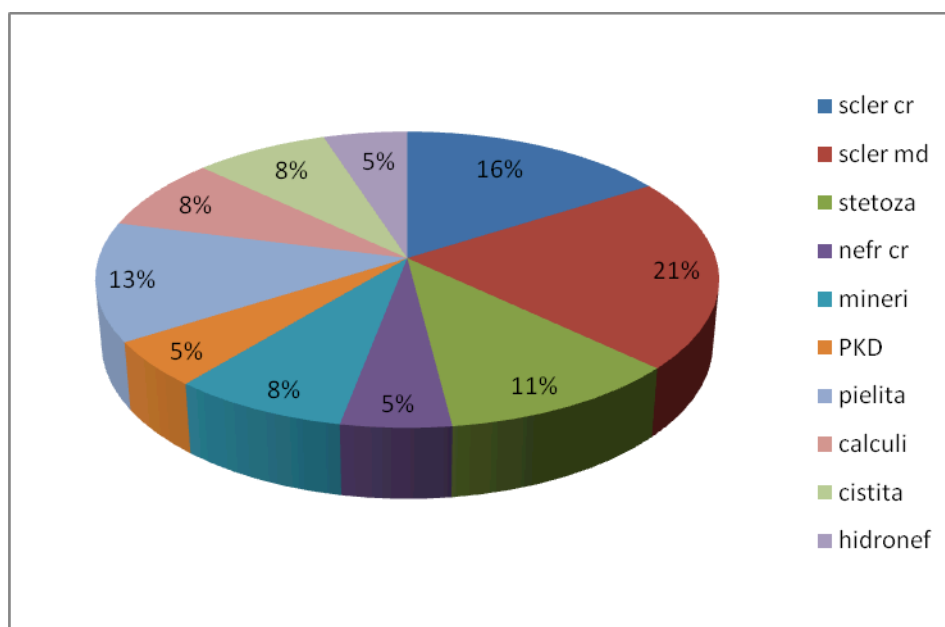


Fig. 4.6. Distribuția leziunilor observate ecografic în grupul pacienților felini studiați
Fig. 4.6. The lesions distribution observed by ultrasound examination in cat study group

Steatoza renală a fost întâlnită într-o proporție de 11 %, cistită, mineralizările și litiaza renală la 8 % din cazuri (fig.4.6)

În grupul câinilor, aspectele ecografice întâlnite au fost scleroza corticală în proporție de 25%, scleroza medulară în proporție de 14%, pielita și hidronefroza în aceeași proporție (fig. 4.7) .

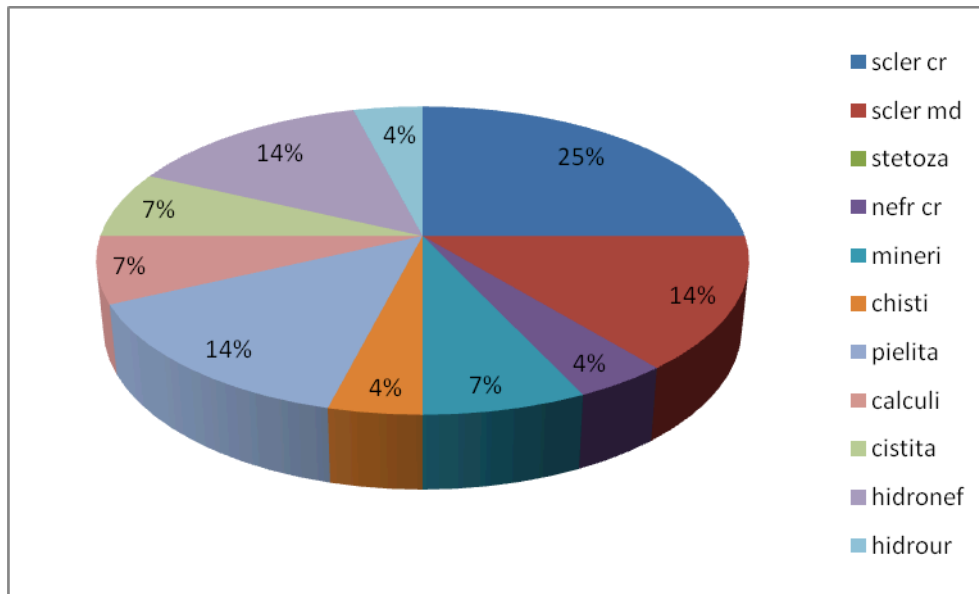


Fig. 4.7. Distribuția leziunilor observate ecografic în grupul de câini studiați
The lesions distribution observed by ultrasound examination in dogs study group

Insuficiența renală cronică este cea mai frecvent diagnosticată nefropatie la câini și pisici (fig. 4.8). Printre cauzele cele mai comune se găsesc glomerulonefritele, boala rinichiului polichistic, expunerea la nefrotoxice, pielonefritele și hipertensiune glomerulară sau sistemică (Deburyn ș.a., 2012).

Boala renală atunci când ajunge în stadiul ireversibil, poate determina modificări ale rinichilor. Rinichii în ultimul stadiu al bolii sunt de obicei mici și neregulați și au o ecogenitatea corticală crescută, cu o jonctiune corticomedulară slab evidențiată. Rinichii mici, cu forme regulate, pot fi întâlniți și în hipoplazia renală sau în afecțiuni renale specifice cum ar fi glomerulonefrita. În displazia renală rinichii sunt mici și au contur neregulat (Kealy ș.a., 2000).

În intoxicația cu etilenglicol medulara apare hiperecogenă, comparativ cu corticala care este hipoecogenă.

Intoxicația cu etilen-glicol are ca efect apariția insuficienței renale, cauzate de depuneri de cristale de oxalat de calciu în corticala și medulara renală. La doar câteva ore de la ingestie se poate observa aspectul marcant hiperecogen al corticalei renale (fig. 4.9) (Saftencu ș.a., 2015).

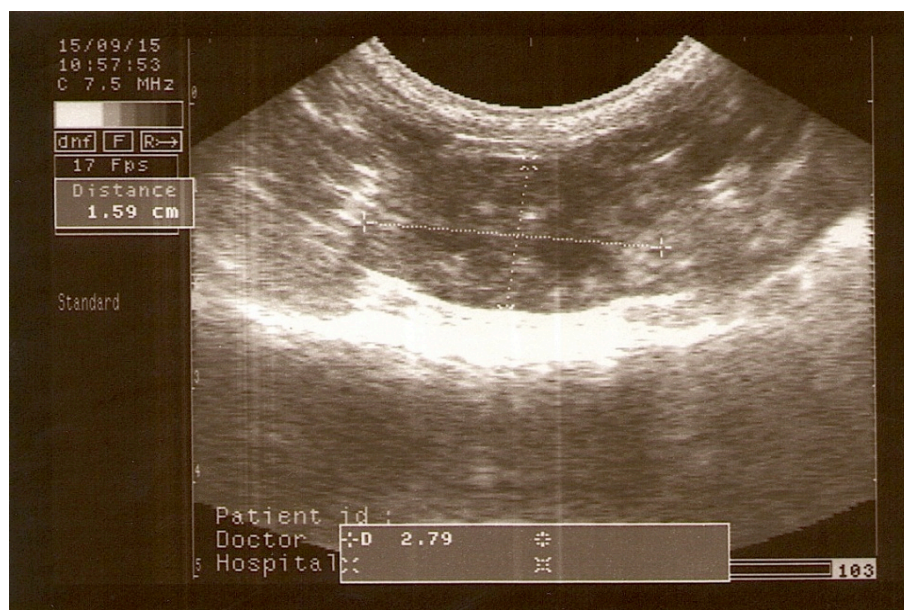


Fig. 4.8. Aspect ecografic de scleroză corticală și medulară, cu slaba diferențiere a medularei și reducerea în volum a rinichiului, pisică, 9 ani rasa Europeană – IRC
 Ultrasound aspect of renal cortex and medulla sclerosis, pure differentiation of medulla, increase of kidney volume, cat, 9 yo, Domestic Shorthair – CRF



Fig. 4.9. Nefroză oxalică, câine, 8 ani- intoxicație cu antigel
 Oxalic nephrosis, dog, 8 yo- antifreeze intoxication

Nefrita acută poate să nu determine modificări observabile la nivel renal. Prin urmare, rezultatele negative nu exclud prezența bolii. Acută sau cronică,

glomerulonefrita provoacă, de obicei, mărirea jonctiunii corticomedulare, cu creșterea ecogenității corticale (fig. 4.10). În nefrita interstițială cronică, jonctiunea corticomedulară este slab evidențiată. Aspectul difuz hiperecogen al corticalei este tipic oricărei boli renale cronice, iar puncția aspiratorie cu ac fin și examenul citologic ulterior pot stabili cu certitudine diagnosticul (Kealy ș.a., 2000).

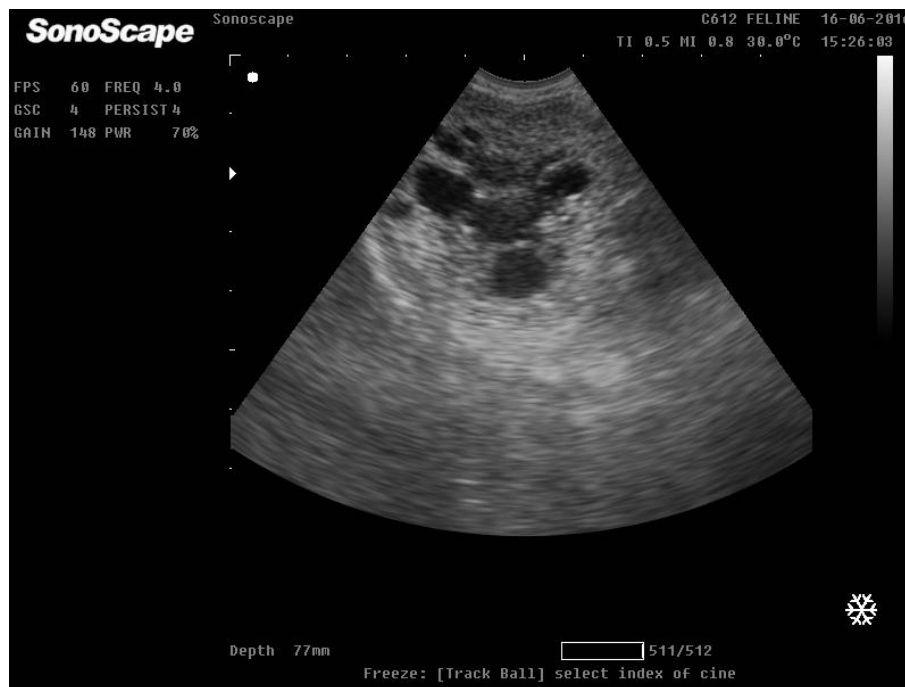


Fig. 4.10. Nefrită acută, motan, 6 ani
Acute nephritis, tomcat, 6 yo

Chisturile renale pot fi unice sau multiple. Pot fi congenitale sau dobândite ca urmare a inflamației sau obstrucției tubulare. Manifestările clinice ale chisturilor depind de proporția de țesut renal rămas funcțional. Boala rinichiului polichistic, în care părți ale parenchimului renal sunt înlocuite de chisturi, este uneori întâlnită la câinii și pisicile tinere (fig 4.11).

Chisturile au marginile netede, sunt anecogene și sunt observate ca modificări de formă rotundă în parenchimul renal. Fiind de obicei excentrice, produc modificări de formă ale rinichilor (fig. 4.12). Chisturile perirenale sunt zone pline cu lichid din jurul rinichilor, având de obicei dimensiuni mari și aspect anecogen (Kealy ș.a., 2000).

Hidronefroza reprezintă o dilatație acută sau cronică a calicelor și a bazinetului renal, și poate fi congenitală sau dobândită (fig 4.13). Hidronefroza dobândită, apare de obicei în urma obstrucției parțiale sau totale a tractului urinar inferior, în special a ureterelor.

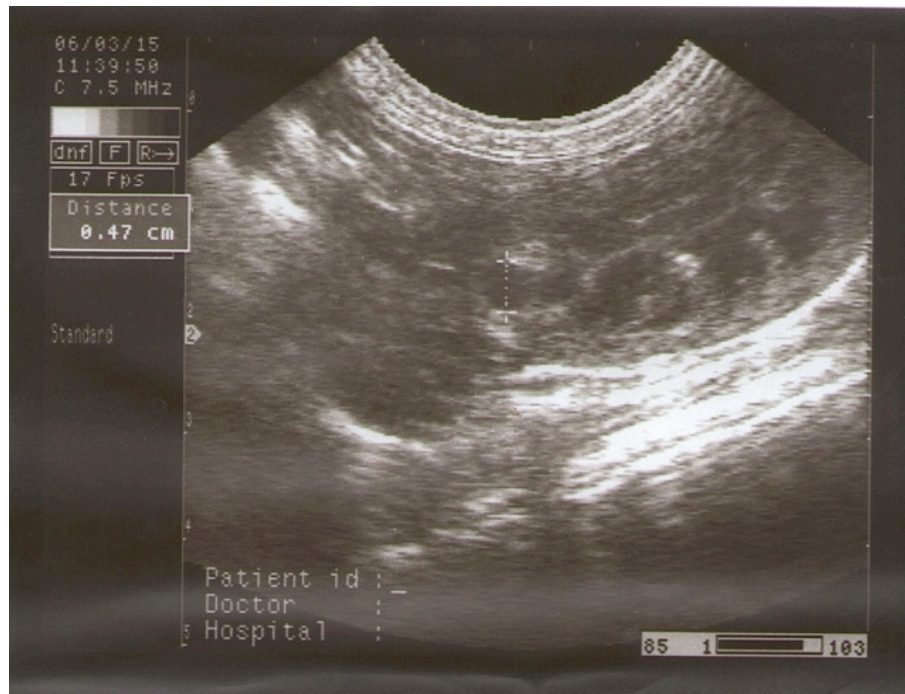


Fig. 4.11. Prezența de chiști corticali – PKD, pisică, rasa Persană, 2.5 ani
Renal cortex cysts – PKD, cat, Persian breed, 2.5 yo

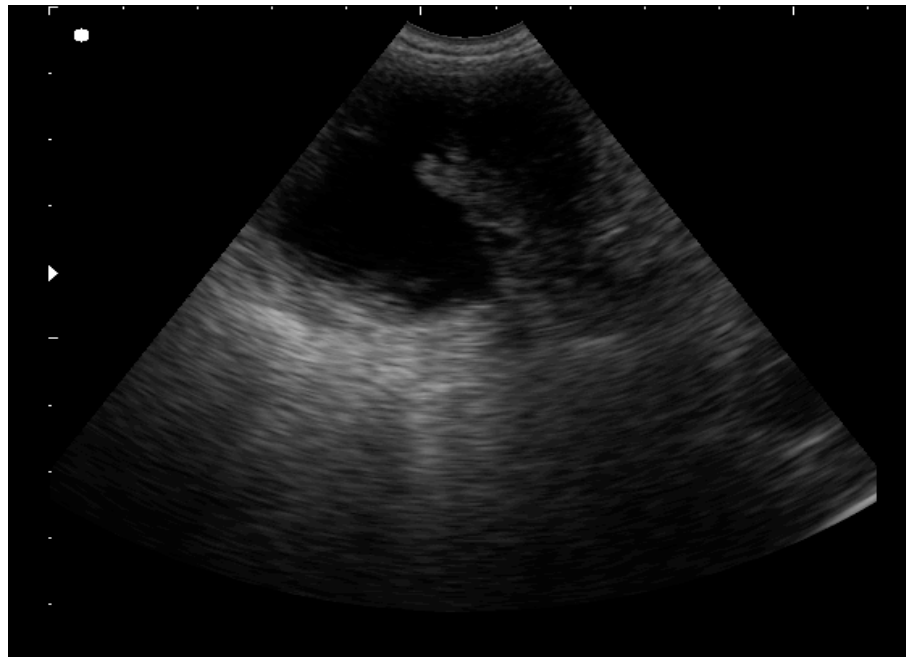


Fig. 4.12. Chist renal-aspect ecografic
Renal cyst – ultrasound aspect

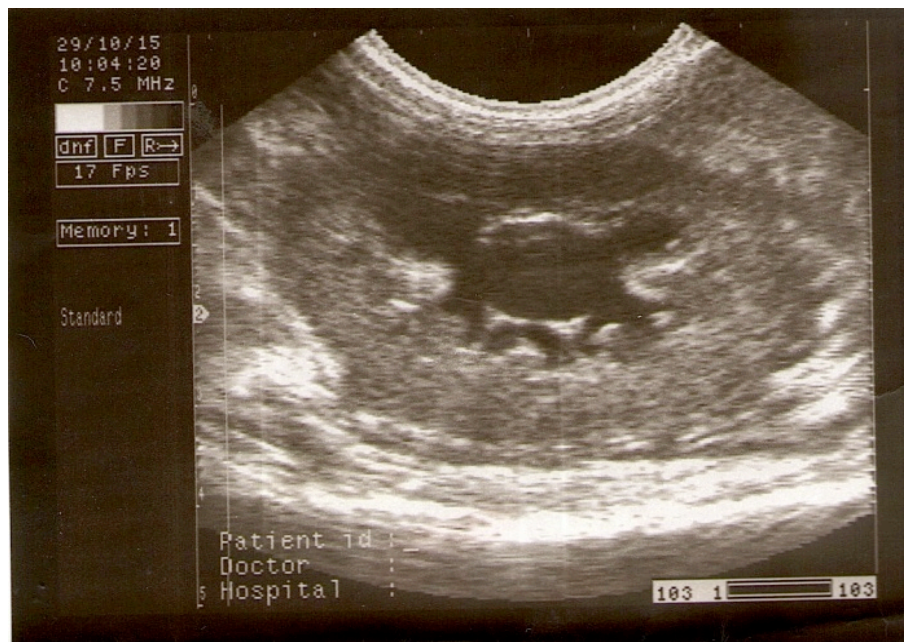


Fig. 4.13. Hidronefroză gradul II, câine, 14 ani, metis
Hydronephrosis stage II, dog, 14 yo, cross breed

Obstrucția poate fi cauzată de compresiunea pe ureter a unei mase intraabdominală, de calculi ureterali, strictura ureterelor, neoplazii ale vezicii urinare în zona trigonului vezical, sau ligaturarea accidentală a unui ureter în timpul intervențiilor chirurgicale.

Hidronefroza poate fi întâlnită și în caz de ectopie ureterală congenitală. Urina continuă să se formeze în prezența unui obstacol, iar aceasta are ca rezultat dilatarea tractului urinar și creșterea presiunii ce poate duce la atrofia de compresiune a parenchimului renal. În cele din urmă, rinichiul devine un sac mare plin cu lichid și producția de urină încetează. Semnele clinice pot fi absente dacă celălalt rinichi este funcțional și nu sunt prezente alte afecțiuni (Saftencu ș.a., 2017).

La examenul ecografic se observă acumularea de lichid anecogen în bazinet, iar pe măsură ce afecțiunea progresează apare atrofia de compresiune a parenchimului renal (Kealy ș.a., 2000).

Hidroureterul reprezintă distensia anormală a ureterului ce se poate observa proximal față de punctul de obstrucție ureterală, cu bazinet dilatat, în cazurile în care producția de urină continuă.

La examinarea ecografică se observă o dilatație importantă a pelvisului renal printr-o regiune anecogenă de dimensiuni variabile, în funcție de severitatea afecțiunii. Gradul de distensie depinde de cauza obstrucției și durata problemei. Ureterul dilatat este de obicei vizualizat ca o structură anecogenă tubulară situată caudal pelvisului renal (fig. 4.14) (Kealy ș.a., 2000).

Pielonefrita este o inflamație supurativă a rinichilor. Semnele clinice sunt nespecifice, sumarul de urină și urocultura sunt necesare pentru un diagnostic de certitudine a infecției.

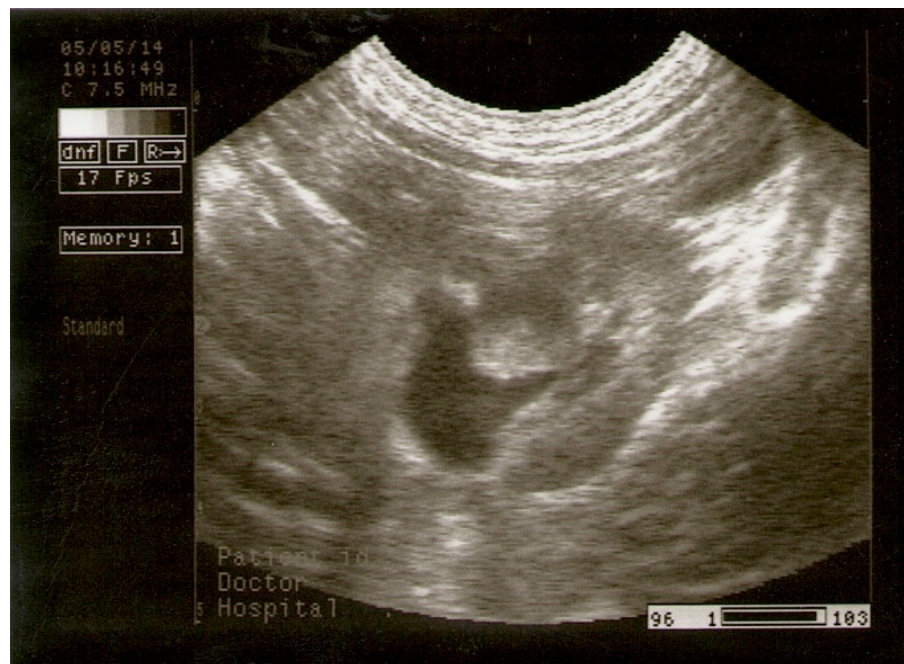


Fig. 4.14. Hidronefroză și hidrouretercâine, Bichon, 13 ani
Hydronephrosis and hydroureter, dog, Bichon breed, 13 yo

Ecografia poate evidenția dilatare pelvisului precum și afectarea sistemului colector, ecogenitatea crescută, mărimea și forma variabilă a conturului renal (fig.4.15). Au fost observate o bordură hiperecogenă în jurul crestei renale și focare hiperecogene/hipocogene în cortexul renal cu zone hipocogene în medulară (Kealy ș.a., 2000).

Tumorile renale nu sunt foarte des întâlnite și pot fi benigne sau maligne, primare sau secundare. Carcinomul care se dezvoltă din epiteliul tubular este cel mai comun neoplasm la câini, iar limfomul este cel mai comun la pisici (fig.4.16). O varietate de tumori maligne au fost raportate: hemangiosarcomul, fibrosarcomul, carcinomul cu celule tranziționale, carcinomul cu celule scvamoase, și teratomul. Tumorile benigne includ fibromul, adenomul și lipomul.

Dacă neoplasmalele sunt de dimensiuni mici, este necesară examinarea amănunțită a rinichilor în toate cele trei planuri ecografice. Chiar și așa, leziuni focale mai mici de 1 cm în diametru pot fi omise. Modificările neoplazice pot fi focale sau multiple. Limfomul apare, de obicei, cu o ecogenitate corticală redusă sau cu zone de hipocogenitate focală, fără modificări de ecogenitate distale. Un neoplasm solitar are de obicei ecogenitatea mixtă cu zone hiperecogene, iar acesta poate afecta arhitectura renală în întregime. Pentru un diagnostic definitiv,

sunt necesare puncția prin aspirație cu ac fin sau biopsia. În cazul în care boala apare ca un proces infiltrativ difuz, ambii rinichi pot fi afectați (Kealy ș.a., 2000).

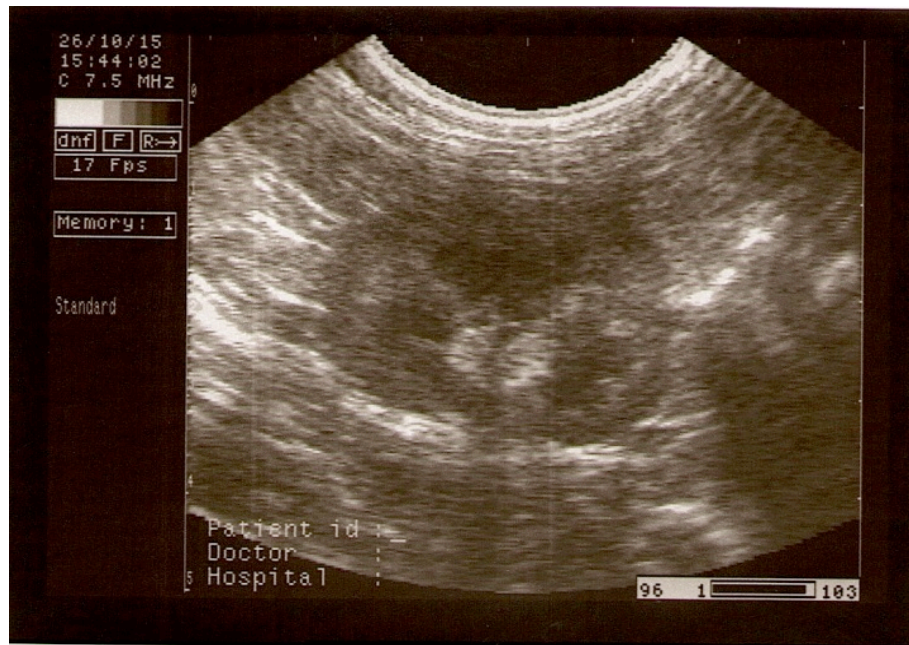


Fig. 4.15. Aspect caracteristic de pielită
Pyelitis - classic aspect

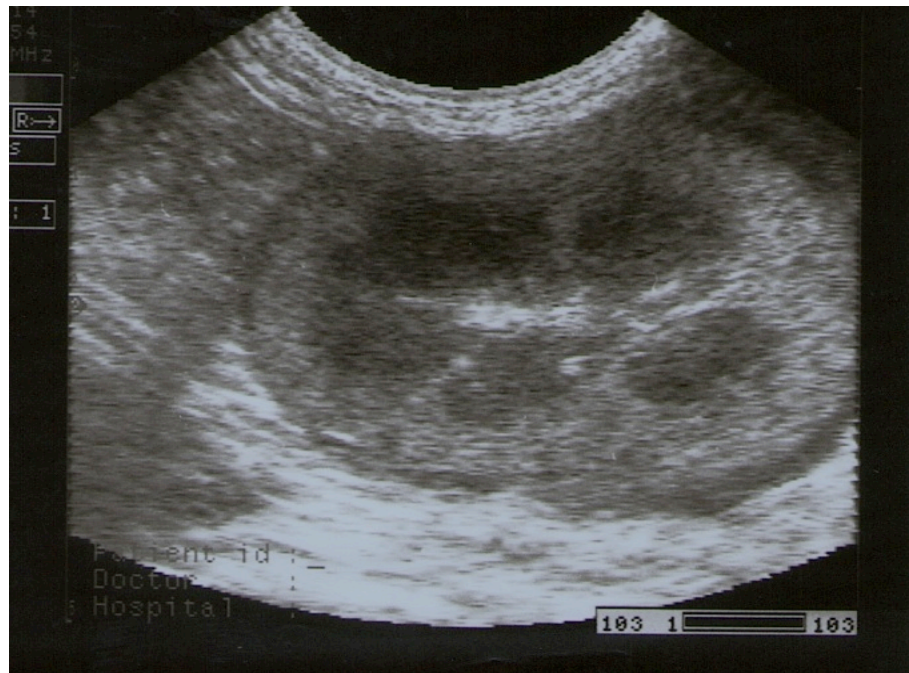


Fig. 4.16. Renomegalie, suspiciune limfom renal, motan, 15 ani
Enlarged kidney, renal lymphoma, tomcat, 15 yo

Cistita a fost întâlnită în 8% din cazuri la pisici și în 7% din pacienți la câinii luați în studiu. Aspectele ecografice constau în îngroșarea peretelui vezicii urinare, cu prezența de calculi sau particule în suspensie într-un conținut cu aspect ecogenic mixt (fig. 4.17).

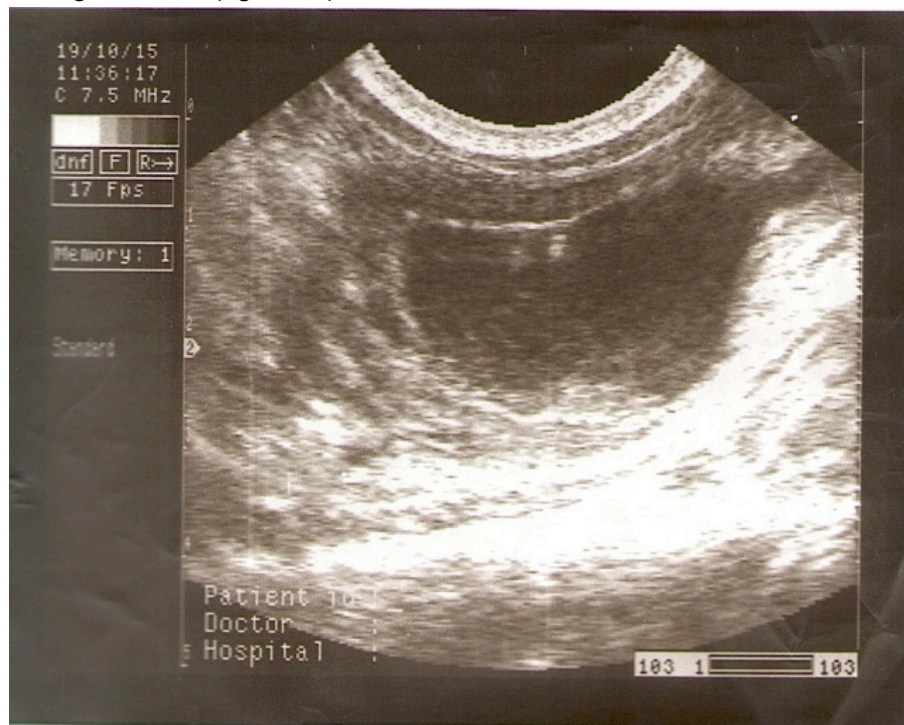


Fig. 4.17. Cistită cronică cu litiază vezicală, motan, 3 ani, rasa Europeană
Chronic cystitis and lithiasis, tomcat 3 yo, Domestic Shorthair

4.3. Concluzii parțiale

1. Insuficiența renală este una dintre cele mai frecvent diagnosticate afecțiuni la animalele de companie, având o evoluție acută sau cronică.
2. În Clinica Medicală a Facultății de Medicină Veterinară din Iași pacienții cu nefropatii au fost reprezentați în mod preponderent de pisici.
3. Majoritatea pacienților au fost diagnosticați cu insuficiență renală stadiu IV.
4. Dezechilibrele hidro-electrolitice cele mai importante înregistrate la pacienții cu insuficiență renală cronică au fost hiperfosforemia și hipokalemia.
5. În cazul pacienților cu insuficiență renală acută, hiperfosforemia a fost însoțită de hiperkalemie și hipermagneziemie.
6. Stresul sistemic a fost evidențiat și prin modificări ale hemoleucogramei caracterizate prin neutrofilie și eozinopenie.
7. Examenul ecografic se află printre cele mai importante mijloace de diagnostic al nefropatiilor la animalele de companie.

**CAPITOLUL V. CERCETĂRI PRIVIND DIAGNOSTICUL
TULBURĂRILOR SISTEMULUI NERVOS CENTRAL ÎN
NEFROPATIILE ANIMALEOR DE COMPANIE
CAPITOLUL V. RESEARCHES ON CENTRAL NERVOUS SYSTEM
DISORDERS DIAGNOSIS IN SMALL ANIMALS NEPHROPATHIES**

**5.1. Modificări ale activității bioelectrice a creierului
la câinii și pisicile cu nefropatii**

Tulburările neurologice ce apar în insuficiența renală, encefalopatia uremică în sine, reprezintă un teritoriu incomplet explorat în medicina veterinară. În medicina umană cercetările sunt axate în principal pe tulburările neurologice ce apar ca urmare a dezechilibrului osmotic cauzat de fluxul rapid al sângelui prin dializor, așa numitul dezechilibru de hemodializă.

Simptomele sunt nespecifice, însoțite de manifestări epileptiforme și alterări ale conștienței, diagnosticul diferențial având importanță majoră.

Primele studii realizate în acest domeniu se referă la modificările activității bioelectrice a creierului în corelație cu nivelul parathormonului și implicațiile hiperparatiroidismului în evoluția clinică a nefropatiilor. Pe măsură ce metodele de investigație moderne au început să fie folosite la scară largă, noi ipoteze au apărut cu privire la mecanismele fiziopatologice ale acestei encefalopatii metabolice la pacienții umani. O serie de toxine uremice au fost identificate și dozate, demonstrându-se potențialul eurotoxic al acestora.

Imagistica avansată nu a reușit să aducă informații care să ne orienteze spre specificitatea leziunilor, însă este utilă pentru a exclude alte patologii ale sistemului nervos central ce ar putea avea implicații în tabloul clinic al encefalopatiei menționate.

Studiul de față încearcă să aducă lumină în ceea ce privește metodele de diagnostic în primul rând, dar și fiziopatologia tulburărilor nervoase apărute în nefropatii la animalele de companie.

5.1.1. Material și metode

Studiile s-au desfășurat în perioada octombrie 2013 - aprilie 2017, în cadrul Clinicii Medicale a Facultății de Medicină Veterinară din Iași.

Diagnosticul de insuficiență renală s-a stabilit, după cum am menționat anterior, pe baza examenului clinic, ecografic și biochimiei serice. În studiu 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 (Tabel 5.1).

Tabelul 5.1/Table 5.1

Lista câinilor supuși investigațiilor EEG
List of EEG investigated dogs

Rasa	Vârsta	Greutate	Tip IR
Metis	5 ani	16	IRA
Metis	4 ani	12	IRA
Beagle	8 ani	19	IRA
Pekinez	6 ani	8	IRA
Metis	9 ani	22	IRA
Ciobănesc German	14 ani	37	IRC
Pekinez	16 ani	7	IRC
Metis	18 ani	3	IRC
Bichon	15 ani	6	IRC
Golden Retriever	12 ani	38	IRC

Grupul pisicilor a fost constituit din 6 pacienți, 3 diagnosticați cu IRA și 3 cu IRC, cu vârste între 2 și 17 ani (tabelul 5.2).

Tabel 5.2/Table 5.2

Lista pisicilor supuse investigațiilor EEG
List of EEG investigated cats

Rasa	Vârsta	Tip IR
Europeană	4 ani	IRA
Europeană	2 ani	IRA
Europeană	16 ani	IRC
Angora Turcească	1.5 ani	IRA
Europeană	7 ani	IRA
Birmaneza	17 ani	IRC

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. S-a utilizat acest protocol de sedare tocmai datorită faptului ca medetomidina nu are activitate pro-epileptică a creierului și produce o bună relaxare musculară (Jeserevics ș.a., 2007, Itamoto ș.a, 2001).

S-a evitat utilizarea oricărui agent pentru inducerea anesteziei sub considerentul instabilității hemodinamice a pacientului și a afecțiunilor diagnosticate. După instalarea anesteziei, pacientul a fost poziționat în decubit

sterno-abdominal. Pentru pisicile cu insuficiență renală acută înregistrarea s-a realizat pe vigیل, datorită faptului că în urma evaluării înainte de investigație s-a considerat ca sedarea ar reprezenta un risc pentru exitus.

Obținerea traseelor EEG s-a realizat cu ajutorul electroencefalografului Neurofax (Nihon Kohden) pe o perioadă de 30 de minute (Pellegrino ș.a., 2004). Electrozii de tip ac au fost introduși subcutanat, după tunderea și degresarea în prealabil a suprafeței cutanate cu alcool, utilizând modelul lui Redding. Acest model constă în cinci electrozi: doi frontali (F3, F4), unul central (Cz) și doi occipitali (O1, O2) utilizați în montaj monopolar, electrodul de referință fiind plasat pe oasele nazale (fig. 5.1).

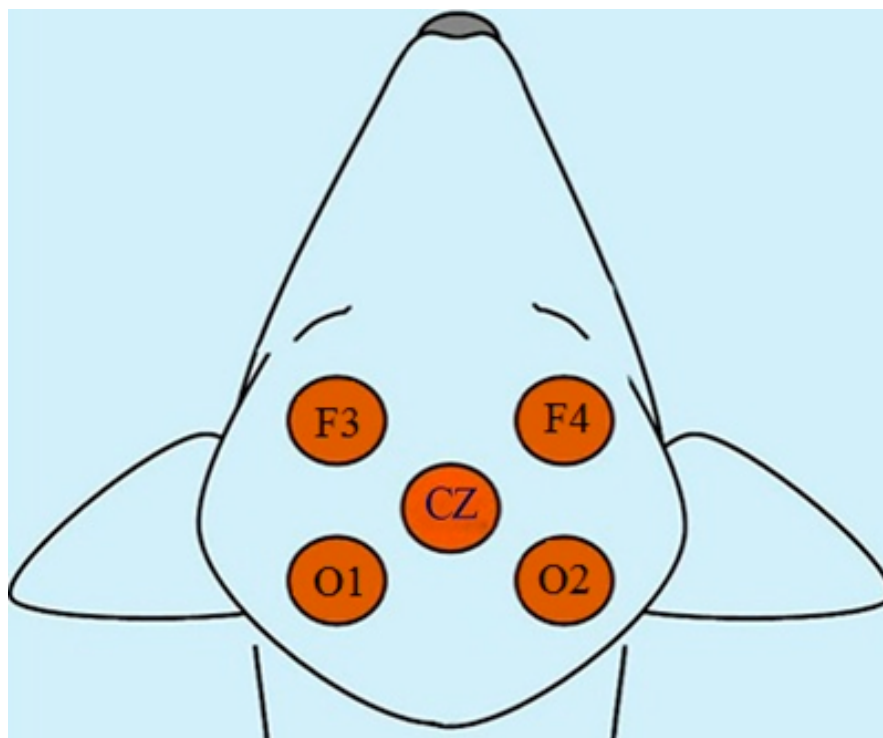


Fig. 5.1. Poziționarea elctrozilor după modelul lui Redding
Positioning elctrodes according to Redding model

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 Ω .

S-a filtrat semnalul analog pentru eliminarea în mod uzual a “zgomotului de fond”, determinat de semnalele de la rețeaua de alimentare 50- 60Hz și alte frecvențe “urbane”. S-au eliminat frecvențele peste 40Hz sau din intervalul 50-60Hz, dar și cele cu frecvență joasă determinate de biopotențialele fiziologice (exemplu: respirația) (Saftencu ș.a., 2015).

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.

5.1.2. Rezultate și discuții

Observații privind analiza vizuală a traseelor EEG

Atât la pacienții 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 aveau 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, fiind expresia unei stări de hiperexcitabilitate neuronală corticală sau subcorticală (fig. 5.2) (Saftencu ș.a., 2015).



Fig. 5.2. Cățea, Beagle, 8 ani – insuficiență renală gradul III Electroencefalogramă caracterizată prin salve de unde delta difuze și sincrone bilateral
Dog, female, Beagle, 8 yo – Renal failure grd. III. EEG characterized by bilateral diffuse and synchronous delta wave bursts

Undele ascuțite sunt monofazice, supravoltate și cu o morfologie particulară, având panta ascendentă abruptă, iar cea descendentă mai înclinată, fiind expresia proceselor de hipsincronizare autoîntreținută neuronală, cu întârzieri sinaptice diferite (fig. 5.3), comparativ cu aspectul fiziologic (fig. 5.4).

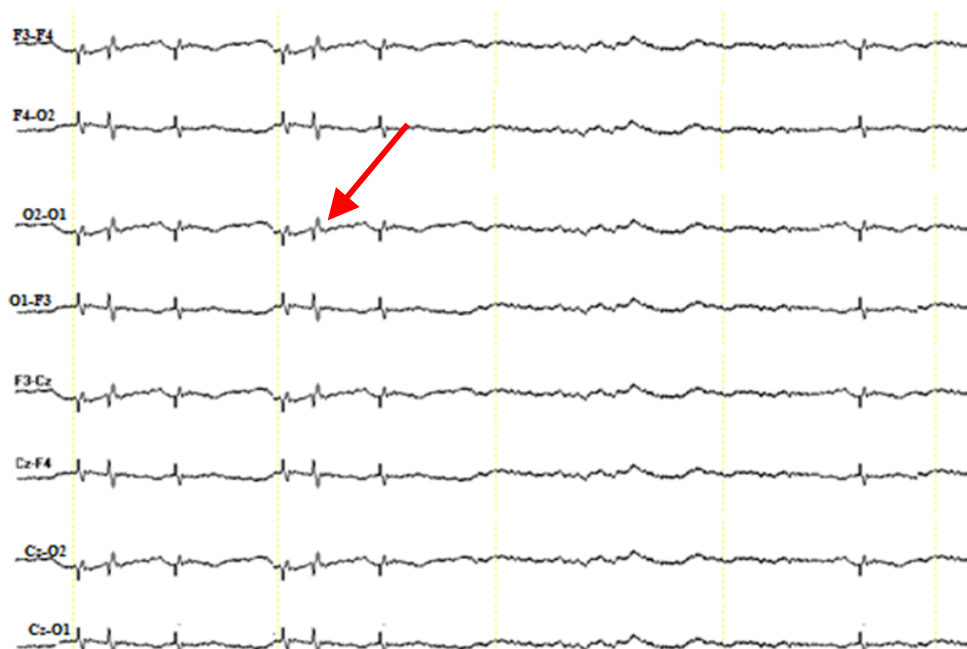


Fig. 5.3. Unde lente și ascuțite, reducerea în amplitudine a traseelor electroencefalografice, cățea metis, 10 ani
 Slow and sharp waves, the amplitude reduction of electroencephalographic paths, dog, female, metis, 10 yo

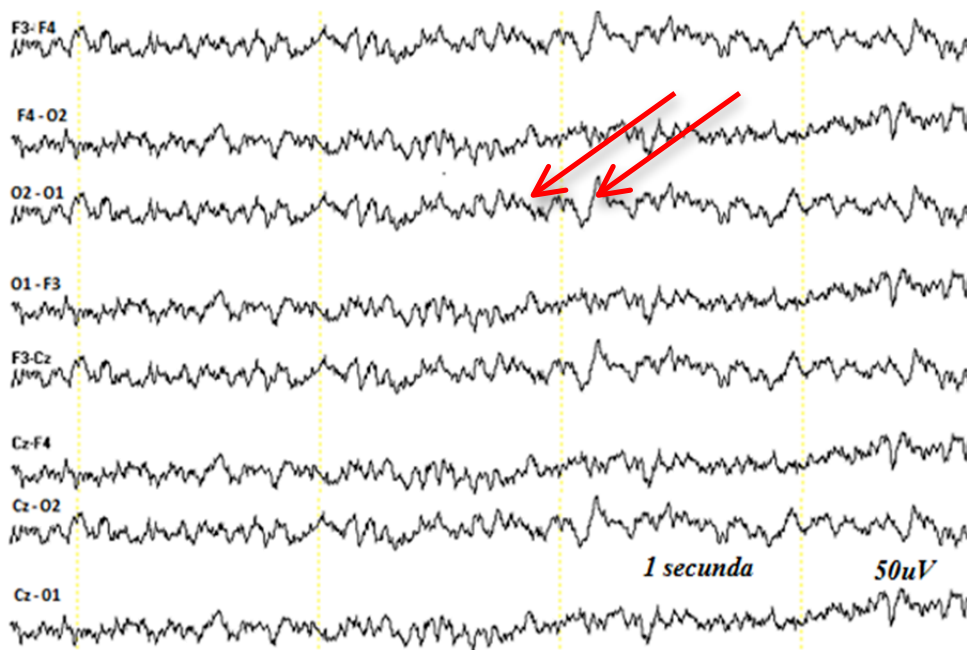


Fig. 5.4. Aspect fiziologic al traseului electroencefalografic caracterizat prin unde delta și unde theta lente, câine, metis 4.5 ani
 Physiological aspects of the electroencephalographic path characterized by the delta and the slow theta waves, dog, cross breed, 4.5 yo

În timpul înregistrărilor s-a putut constata apariția de crize electrice pe toate derivațiile, care s-au intensificat prin fenomenul de recrutare neuronală și în 2-3 secunde anomaliile EEG au cuprins toate zonele cerebrale, încât descărcările interictale epileptiforme au devenit sincrone bilateral (fig. 5.5).

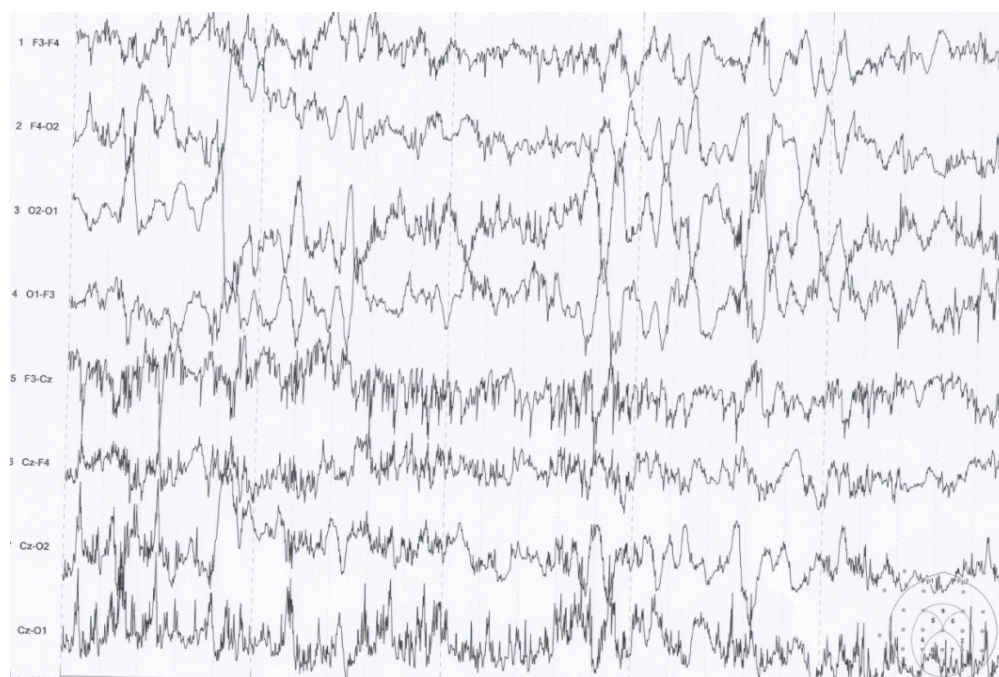


Fig. 5.5. Criză electrică – aspect intraictal, cățea metis, 4 ani
Electric crisis –intraictal aspect, dog, female, 4 yo

Acest aspect corespunde momentului în care activitatea întregului creier s-a adaptat ritmului dezvoltat de focarul epileptic (Dumitru D., 2002). Aceste modificări s-au caracterizat 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.

Activitatea de fond s-a caracterizat prin amplitudine mare și frecvențe joase, modificări produse cel mai probabil de utilizarea medetomidinei, aspecte descrise de Hossman ș.a. 1980, Wallance ș.a. 1982, Toure ș.a. 1985 și de Short ș.a. 1992, care descriu efectul inhibitor al medetomidinei asupra frecvențelor înalte (Saftencu et. al., 2015).

Anomaliile care apar pe înregistrările EEG ale pacienților uremici sunt foarte asemănătoare cu rezultatele obținute de Guisado ș.a. (1974) care a efectuat un studiu pe cinci grupuri de câini la care s-a utilizat diferite protocoale de inducere a uremiei, incluzând inocularea i.m. a unui extract de paratiroidă, efectuând ulterior examene electroencefalografice obținând anomalii asemănătoare: activitate de fond încetinită cu un traseu disritmic, precum și descărcări de tip epileptiform.

Deși etiologia afecțiunii renale la pacienții introduși în acest studiu este diferită, analiza vizuală a traseelor electroencefalografice nu a evidențiat modificări distincte pentru cele două grupuri de pacienți.

Rezultatele sunt asemănătoare cu modelul uman de EEG în encefalopatia uremică: încetinirea generalizată a activității de fond cu un exces de unde delta și uneori complexe de unde ascuțite (Saftencu ș.a., 2014).

Alterările activității bioelectrice a creierului sunt cauzate de un cumul de factori, cum ar fi edemul cerebral și depunerea de cristale de oxalat de calciu în pereții vaselor mici de sânge din creier dar, de asemenea, conținutul crescut de calciu în cortexul cerebral datorită hiperparatiroidismul asociat cu insuficiența renală, poate fi incriminat. (Burn ș.a., 1998).

Alți metaboliți toxici dozați din lichidul cerebrospinal, cum ar fi acidul guanidinic guanidinosuccinic, guanidina și methylguanidina care au fost identificați ca fiind neurotoxici, apar la un nivel ridicat datorită funcției renale afectate (Brouns ș.a, 2004, Kunze ș.a., 2002, Saftencu ș.a., 2015).

Studiile au arătat ca, deși ureea se găsește în concentrații mari în ser nu are, în sine, un rol în dezvoltarea encefalopatiei uremice, fiind considerată un marker surrogat pentru nivelul altor toxine uremice (Vanholder et al, 2003).

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 (fig. 5.6 și 5.7).

De asemenea, s-au observat descărcări epileptiforme de tipul vârfurilor și undelor lente pe toate derivațiile și în ambele emisfere cerebrale. Undele înregistrate sunt monofazice, supravoltate și cu o morfologie particulară, având panta ascendentă abruptă, iar cea descendentă mai înclinată, fiind expresia proceselor de hipersincronizare autoîntreținută neuronală cu întârzieri sinaptice diferite (fig 5.8).

Alte modificări observate la toți pacienții au fost fuzurile de medicație, ritmuri rapide, difuze, întâlnite de obicei la pacienții cărora le-au fost administrate benzodiazepine sau alte medicații cu efect psihotrop (anxiolitice, antidepresive) (van Lier ș.a., 2004) (fig. 5.9). Pacienții incluși în acest studiu nu au primit niciun compus farmaceutic ce ar putea fi incriminat în apariția acestor modificări. Se pot emite ipoteze că dezechilibrele biochimice și de osmolaritate de la nivelul creierului ar putea fi responsabile, însă sunt necesare investigații mai amănunțite.

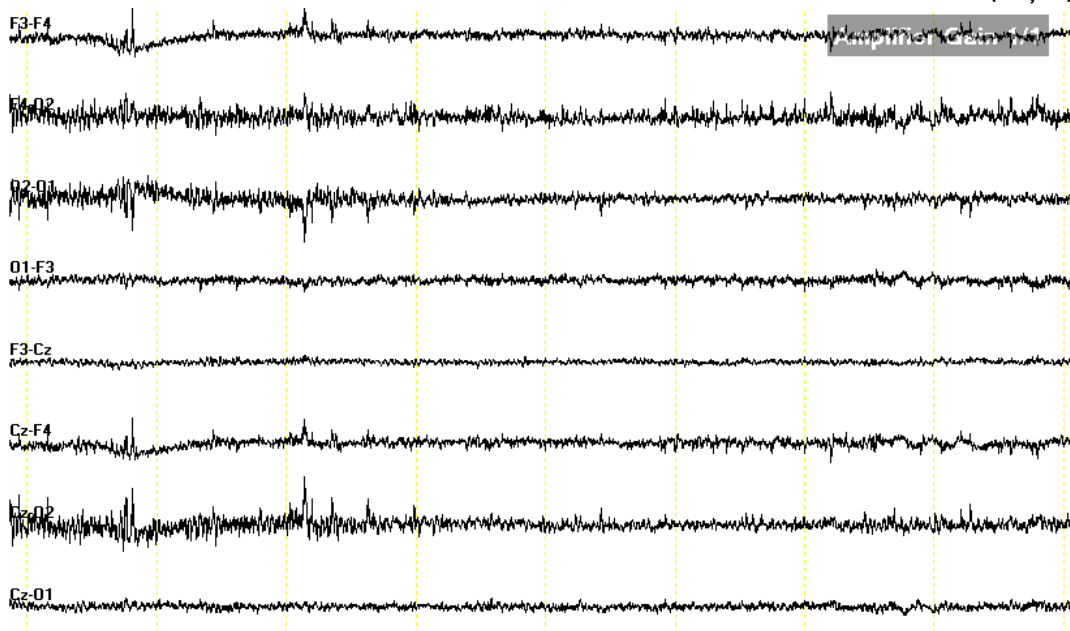


Fig. 5.6. Activitate de fond moderat atenuată, motan, 1,5 ani, IRA
Moderate attenuated background activity, tomcat, 1,5 yo, CRF

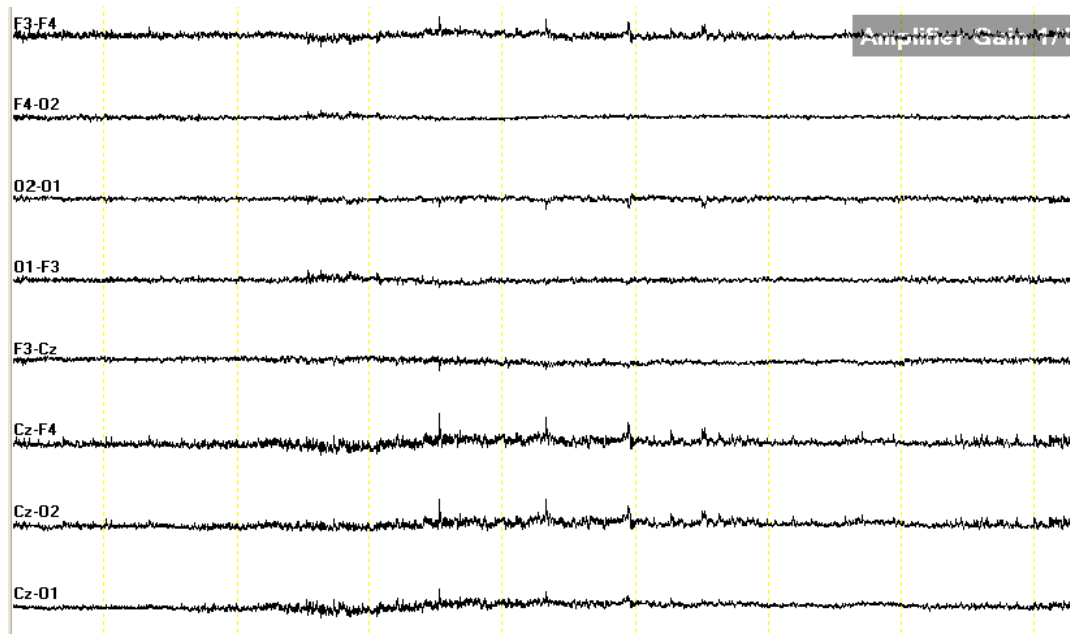


Fig. 5.7. Activitate de fond atenuată, pisica, 15 ani, IRC
Background activity attenuated, cat, 15 yo, CRF

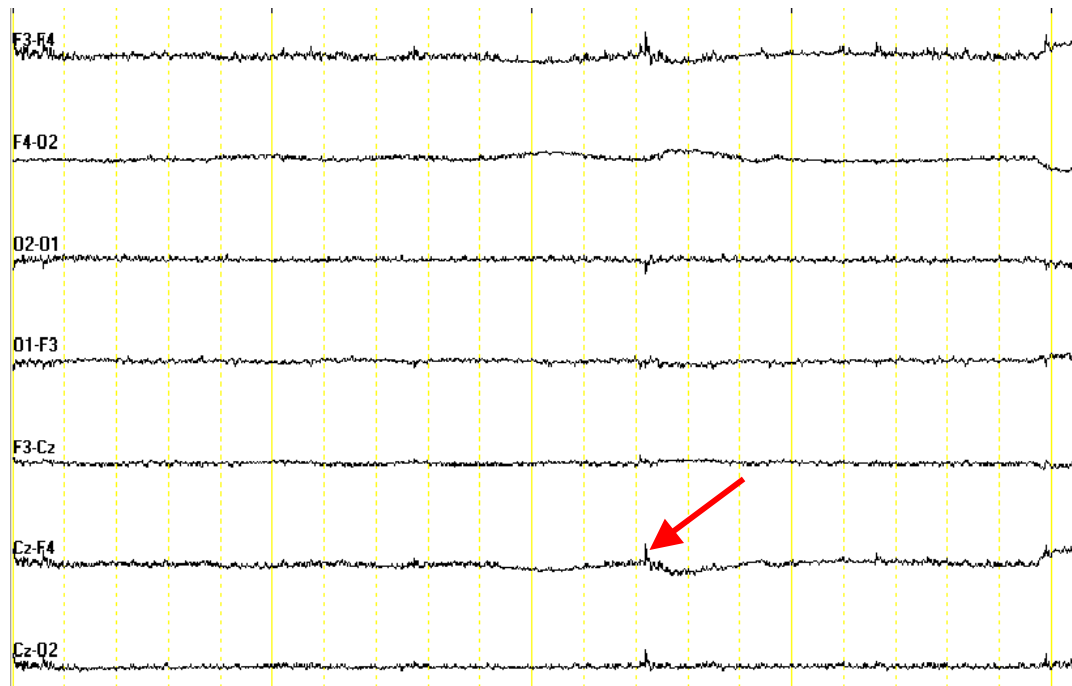


Fig 5.8. Vârfuri ascutite, motan 7 ani, IRA
Sharp tips, tomcat, 7 yo, CRF

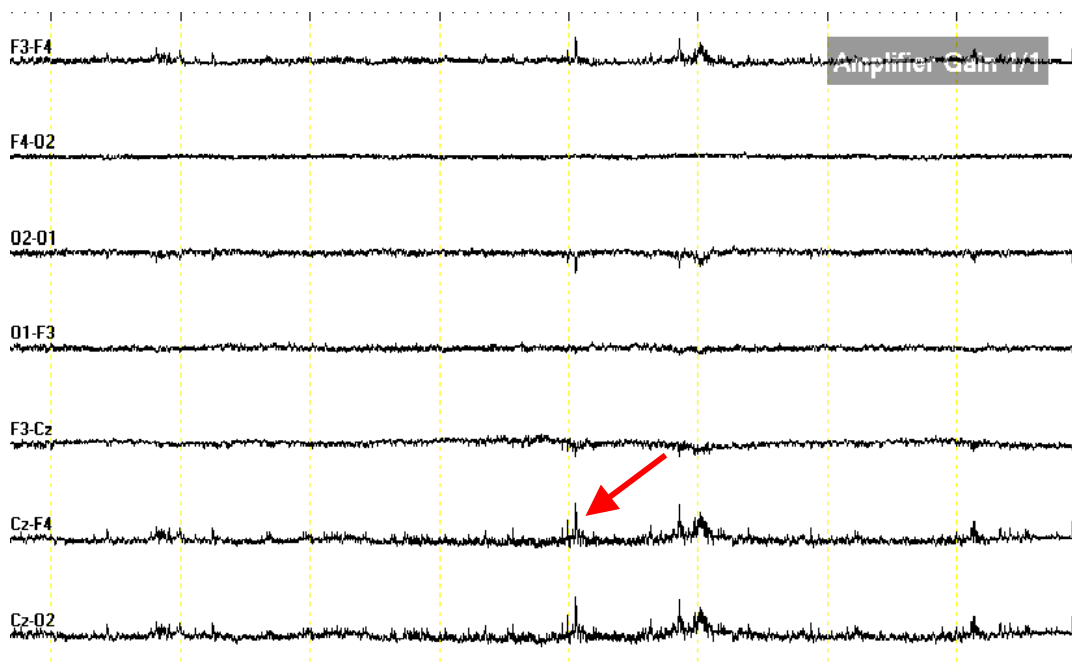


Fig. 5.9. Ritmuri beta-fusuri de medicație, pisică, 17 ani, IRC
Medication beta rhythms, cat, 17 yo, CRF

Analiza cantitativă a traseelor EEG la pisici

În acest studiu au fost introduși 5 pacienți, 2 cu IRC și 3 cu IRA. Pacienții au fost sedați.

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 (%) (tabelul 5.3).

Pentru fiecare din cele 8 canale rezultate din montajul monopolar al electrozilor au fost notate în medie 25 de valori.

Analiza statistică a presupus determinarea valorile frecvenței relative, mediei și deviației standard pentru fiecare tip de undă în parte, în funcție de stadiul de evoluție a bolii.

Tabel 5.3/Table 5.3

Puterea relativă a frecvențelor înregistrate
Relative power of recorded frequencies

Parametri cantitativi (puterea relativă)	Pisic IRC	Pisici IRA
unde alfa	23.9%	19.3 %
unde beta	74.2%	78.6%
unde delta	0%	0%
unde teta	1.9 %	2.2 %

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 vigیل.

S-a observat prezența covârșitoare a undelor beta și teta, cu absența undelor delta la cele 2 grupuri de pacienți (tabelul 5.4).

Tabel 5.4/Table 5.4

Media și deviația standard a frecvențelor înregistrate
Average and standard deviation of recorded frequencies

Parametri (tip de unde)	Pisici IRC Media și deviația standard	Pisici IRA Media și deviația standard
Alfa	10.8±1.42	11.3±0.97
Beta	20.2±4.85	19.8±5.4
Delta	0	0
Teta	6.9±0.74	7.3±0.7

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.

5.2. Studiu privind metabolomica lichidului cefalorahidian în encefalopatia uremică

Insuficiența renală cronică este una dintre cele mai frecvente boli metabolice diagnosticate la câini și pisici care afectează pacienții de toate vârstele, dar mai ales cei vârstnici. Se caracterizează prin leziuni progresive ale parenchimului renal și pierderea funcțiilor specifice (Polzin, 2011).

Pe lângă semnele clinice clasice legate de dezechilibrele minerale și electrolitice, anemia, scăderea apetitului și problemele gastrointestinale, în ultimele etape ale bolilor pot fi observate și semne neurologice. Manifestările neurologice includ: depresia, ataxia, slăbiciunea, tremorul și fasciculațiile musculare, miocloniile, mișcările de bobbing al capului și chiar convulsii (Davenport D., 2008).

Encefalopatia uremică este o afecțiune care a fost raportată la câinii care suferă de IRC, dar nu este întâlnită constant la toți pacienții. Cauza nu este încă în întregime cunoscută, dar există unele ipoteze care implică acumularea anumitor metaboliți, tulburări hormonale, un dezechilibru al aminoacizilor cu rol inhibitor-excitator, precum și modificări ale căilor polisinaptice.

Analiza lichidului cefalorahidian și a țesutului cerebral a evidențiat la pacienții umani cu uremie, dar și în modele experimentale, o serie de modificări care ar putea explica semnele neurologice și ar putea fi piatra de temelie în găsirea unor soluții terapeutice în această privință. Studiile anterioare au descris

acumularea de diverși aminoacizi, compuși guanidinici, acetonă, myoinozitol, sulfați și fosfați în plasma și LCR-ul bolnavilor cu IRC (Wishart ș.a., 2009, Bugnicourt ș.a., 2013).

În ultimele decenii, rezonanța magnetică cu capăt de proton ($^1\text{HMRN}$) a fost utilizată într-o varietate de domenii cum ar fi: biologia plantelor, medicina și industria farmaceutică, constituind una dintre cele mai fiabile tehnici analitice capabile să determine simultan nivelul mai multor metaboliți, din constituenții sub formă solidă sau lichidă. Una dintre cele mai importante facilități ale acestei metode, în comparație cu alte tehnici cantitative, este aceea că poate oferi un profil global al eșantioanelor prezentate, fără a fi nevoie de izolare individuală a fiecărui compus vizat (Jukarainen ș.a., 2008, Consonni ș.a., 2013).

Studiul nostru a urmărit să ofere o imagine de ansamblu asupra modificărilor metabolice ale lichidului cefalorahidian la câinii cu IRC și să ofere răspunsuri posibile prin evidențierea diferitelor căi metabolice la unele dintre semnele clinice care însoțesc această boală. Pentru a finaliza aceste obiective spectroscopia RMN a fost considerată cea mai bună metodă pentru a se conforma cerințelor studiului nostru.

Având în vedere faptul că există similitudini între diverse patologii din medicina umană și cele de la câine, acest studiu ar putea oferi informații suplimentare care ar putea să clarifice o serie de necunoscute ale encefalopatiei uremice la oameni.

Din cunoștințele noastre, niciun studiu nu a cuantificat acest număr de metaboliți din LCR-ul câinilor diagnosticați cu IRC, utilizând ^1NMR și un grup de control pentru a elimina și a izola variabilele.

5.2.1. Material și metode

Studiul a fost aprobat de Comitetul de etică al Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Iași. Proprietarii pacienților și-au dat acordul pentru ca datele colectate să fie utilizate în studiu. Probele de LCR au fost recoltate de la 10 câini sănătoși, cu vârste cuprinse între 2-5 ani și cântărind 15-20 kg câini (grupul control) fără antecedente de boală neurologică și de la 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.

Diagnosticul IRC a fost efectuat pe baza istoricului pacientului, examinării clinice, analizei biochimice a serului și a urinei, examenului ecografic și examenelor histologice.

Recoltarea probelor de LCR s-a realizat din cisterna cerebelo-medulară cu ajutorul acului spinal, cu un stilet cu diametru 22, la pacienții sub anestezie generală cu medetomidină (Domitor, Pfizer) 0.03mg/kg și ketamină (ketamină, Kepra) 0.1mg/kg administrată intravenos.

Toate probele au fost colectate în același interval de timp între 10-12 a.m. pentru grupul martor, și între 14-17 p.m pentru grupul IRC. Câinilor sănătoși li s-a oprit hrana în seara dinaintea recoltării, iar câinii cu IRC nu au mâncat, de asemenea, din cauza lipsei apetitului. Câinii din grupul IRC, la cererea proprietarilor, au fost eutanasiați imediat după procedură din motive umanitare.

Probele au fost colectate fiecare în două tuburi sterile, una pentru analiza citologică și determinarea proteinelor și una pentru analiza RMN. Examenul citologic al probelor a fost efectuat în decurs de o oră de la recoltare. Tuburi de 1,5 ml au fost congelate și depozitate la -80°C până când a fost efectuată analiza RMN. Determinările RMN au fost realizate la Institutul de Chimie Macromoleculară "Petru Poni" din Iași.

Determinări RMN

Înainte de analiza RMN, probele LCR au fost supuse unor procese preparatoare. Mai întâi, probele umede au fost lăsate să ajungă la temperatura camerei timp de aproximativ 30 de minute, după care au fost centrifugate timp de 10 minute la 7000 rotații/min. S-au transferat alicote de 540 μl LCR în eprubete Eppendorf de 1,5ml, apoi s-au adăugat 60 μl de soluție tampon fosfat (pH 7,5) în apă sărăcită în deuteriu (D_2O ca semnal de blocare a câmpului magnetic pentru spectrometru) pentru a atinge un pH final de 7. Soluția tampon conține, de asemenea, 5 mM 3- (trimetilsilil) - [2,2,3,3- d_4] -1-propionat de sodiu (TSP utilizat drept compus de referință cu concentrație cunoscută) și azidă de sodiu utilizată cu rol de conservant. Volumul final al probei (600 μl) a fost apoi transferat într-un tub RMN de 5 mm folosit pentru analiză.

Spectrele au fost obținute la o temperatură de 26.5°C utilizând un spectrometru 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. Probele de LCR au fost plasate în tuburi de 5 mm Wilmad 507 RMN pentru determinările ulterioare. Spectrele au fost apoi înregistrate cu secvența de impulsuri de presiune NOESY utilizând 32 scanări, 30 secunde întârziere de relaxare, 4s timp de achiziție, 8223 Hz fereastră spectrală, colectând 64 K puncte de date, cu o rezoluție digitală de 0,12Hz. Pentru procesarea decalajului de inducție liberă post-achiziție (FID), a fost aplicat un factor de extindere a liniei exponențiale de 1Hz.

Schimbările chimice sunt raportate ca valori δ (ppm) raportate la TSP (0.0ppm) ca standard intern. Spectrele au fost achiziționate și procesate cu software-ul Bruker TopSpin 3.5pl6.

Pregătirea probelor și determinările RMN au fost efectuate de un singur operator pentru a menține erorile operative la minim.

Analiza statistică

Analiza statistică a datelor obținute a fost efectuată cu ajutorul software-ului IBM SPSS 21 pentru Windows. Valorile pentru fiecare metabolit analizat au fost prezentate ca medie și deviație standard. Testul Pearson a fost de asemenea

efectuat pentru a determina corelațiile dintre metaboliții din grupul IRC, cu un prag de semnificație statistică stabilit la $p < 0.05$.

5.2.2. Rezultate și discuții

Examenul citologic al probelor de LCR nu a evidențiat nicio modificare în grupul sănătos. În grupul IRC, 3 din 8 probe au prezentat pleiocitoză ușoară, cu un conținut de 20-45 celule/ μ l, limfocitele fiind predominante (fig. 5.10). Conținutul de proteine din toate eșantioanele a fost în limita normală.

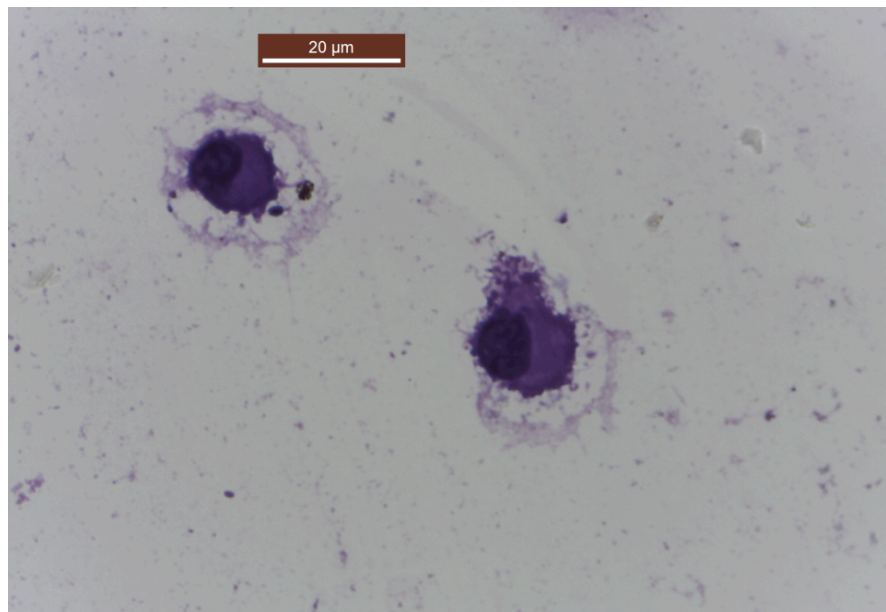


Fig. 5.10 LCR-aspect normal, limfocite de mici dimensiuni
CSF – small lymphocytes

Pentru câinii sănătoși au fost identificați 18 metaboliți, iar pentru grupul CKD au fost cuantificați 21. Datele sunt prezentate în tabelul 5.5.

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

Prin determinările noastre am reușit să investigăm căi metabolice diferite în encefalopatia uremică. Metaboliții identificați (tabelul 5.5) sunt componentă majoră a metabolismului acizilor grași (acidul α -hidroxibutirat, acidul α -hidroxisovaleric, acidul β -hidroxisovaleric, acidul acetic, acetona, acetoacetatul, acidul succinic, acidul formic) a metabolismului energetic (glucoză, acid ascorbic, lactat, alanină, piruvat, valina, creatinină, creatină, citrat), metabolismul proteic (dimetilamina, tirozina) căile secundare (myo-inisitol) și a sistemul glutamatergic (glutamina) (Musteata ș.a., 2013, Wishart ș.a., 2009).

Metaboliții identificați în grupul IRC comparativ cu cei identificați
în grupul sănătoși
Metabolites identified in the CRF group compared to those identified
in the healthy group

Metabolit	Media $\pm$ deviația standard Grupul Control (mmol/l)	Media $\pm$ deviația standard Grupul IRC (mmol/l)
Creatinină	0.052 $\pm$ 0.005	0.310 $\pm$ 0.246 ^{xx}
Acid α -hidroxibutiric	0.074 $\pm$ 0.016	0.102 $\pm$ 0.044
Acid α -hidoxi-izovaleric	0.040 $\pm$ 0.015	0.033 $\pm$ 0.009
Acid β -hidoxi-izovaleric	0.010 $\pm$ 0.002	0.019 $\pm$ 0.012 ^x
Valină	0.031 $\pm$ 0.004	0.048 $\pm$ 0.038
Acid lactic	2.111 $\pm$ 0.373	5.278 $\pm$ 7.111 ^{xx}
Alanină	0.085 $\pm$ 0.009	0.114 $\pm$ 0.128
Acid acetic	0.040 $\pm$ 0.006	0.176 $\pm$ 0.052 ^{xx}
Acetonă	0.029 $\pm$ 0.013	0.267 $\pm$ 0.191 ^{xxx}
Acetoacetat	0.024 $\pm$ 0.004	0.039 $\pm$ 0.009
Piruvat	0.229 $\pm$ 0.035	0.079 $\pm$ 0.076 ^{xx}
Acid succinic	-	0.070 $\pm$ 0.139
Glutamină	0.516 $\pm$ 0.045	0.779 $\pm$ 0.529
Citrat	0.138 $\pm$ 0.025	0.283 $\pm$ 0.134 ^x
Dimetilamina	-	0.020 $\pm$ 0.014
Creatină	0.033 $\pm$ 0.004	0.110 $\pm$ 0.095 ^{xx}
Myo-inozitol	0.605 $\pm$ 0.066	1.014 $\pm$ 0.346 ^{xx}
Acid ascorbic	0.298 $\pm$ 0.043	0.301 $\pm$ 0.130
Glucoză	4.497 $\pm$ 0.506	4.771 $\pm$ 1.986
Tirozină	-	0.025 $\pm$ 0.020
Acid formic	0.018 $\pm$ 0.003	0.027 $\pm$ 0.007 ^x

x - semnificativ; $p \leq 0.05$

xx – distinct semnificativ; $p \leq 0.01$

xxx – f. semnificativ; $p \leq 0.001$

Există 3 metaboliți care merită menționați în mod special: acidul succinic, tirozina și dimetilamină, care au fost identificați și cuantificați numai în probele de LCR din grupul IRC.

Conform lui Wevers ș.a. (1995), acidul succinic este de obicei greu detectabil în LCR-ul pacienților sănătoși umani, raportând prezența acestui metabolit în LCR-ul persoanelor care suferă de boala Canavan, tulburare metabolică neuro-degenerativă înăscută. Explicația acestui fenomen ar putea fi concurența pentru anumiți carrieri specifici între acizii dicarboxilici (acidul succinic fiind unul dintre ei) și acizii tricarboxilici (cum ar fi citratul), care au probabil căi de eliminare comune din LCR (Olendorf W.H, 1973). Această concurență poate fi cauza pentru care atât unii acizi dicarboxilici cât și tricarboxilici se găsesc în concentrație mai mare în LCR pacienților cu IRC. Modificările metabolice asociate acestei afecțiuni produc efecte cu rol neurodegenerativ la nivelul SNC, aspecte dovedite în medicina umană (Bugnicourt ș.a., 2013, Toyoda K., 2015).

Dimetilamină a fost identificată doar în LCR-ul câinilor cu IRC. Acest metabolit a fost asociată cu leziuni renale tubulare la un pacient uman cu rabdomioliză, ce are ca efect scăderea clearance-ului urinar al acestui metabolit (Bairaktari ș.a., 2002). De asemenea, a fost identificată în concentrație mult mai mare în plasma pacienților cu IRC supuși dializei peritoneale (Teerlink T., ș.a., 1997, Teerlink T., ș.a., 2002).

Determinări ale dimetilaminei și precursorilor acesteia din LCR, au prezentat interes pentru cercetătorii din domeniul bolilor neurodegenerative. S-a demonstrat ca enzima care hidrolizează ADMA în citrulină și dimetilamină (fig. 5.11) se găsește în concentrații mai mari în neuronii care prezintă anomalii ale citoscheletului (degenerescența neurofibrilară) și semnalmamente ale stresului oxidativ (creșterea producției de oxid nitric) (Smith ș.a., 1998, Mulder ș.a., 2002). Disfuncțiile renale, împreună cu modificările induse de stresul oxidativ pot constitui cauza prezenței dimetilaminei doar în LCR câinilor cu IRC.

Tirozina este cel de-al treilea metabolit identificat doar în grupul pacienților cu IRC. Boala renală a fost asociată cu creșterea stresului oxidativ ca rezultat al scăderii activității antioxidante și creșterea celei oxidante (specii reactive de oxigen), ce poate juca un rol în evoluția progresivă a afecțiunii (Kao ș.a., 2010, Modaresi ș.a., 2015). În studiul efectuat de Deng ș.a. (2001) s-a demonstrat o creștere a cantității de nitrotirozină în creierul șobolanilor uremici. Nitrotirozina este un produs al nitrării tirozinei prin peroxiditrit, care este unul dintre produsele secundare citotoxice ale interacțiunii dintre speciile reactive de oxigen și oxidul nitric. În plus, s-a demonstrat că nitrotirozina, produsul final al interacțiunii ROS-NO-tirozină, provoacă excitotoxicitate prin activarea receptorilor N-metil-D-aspartat.

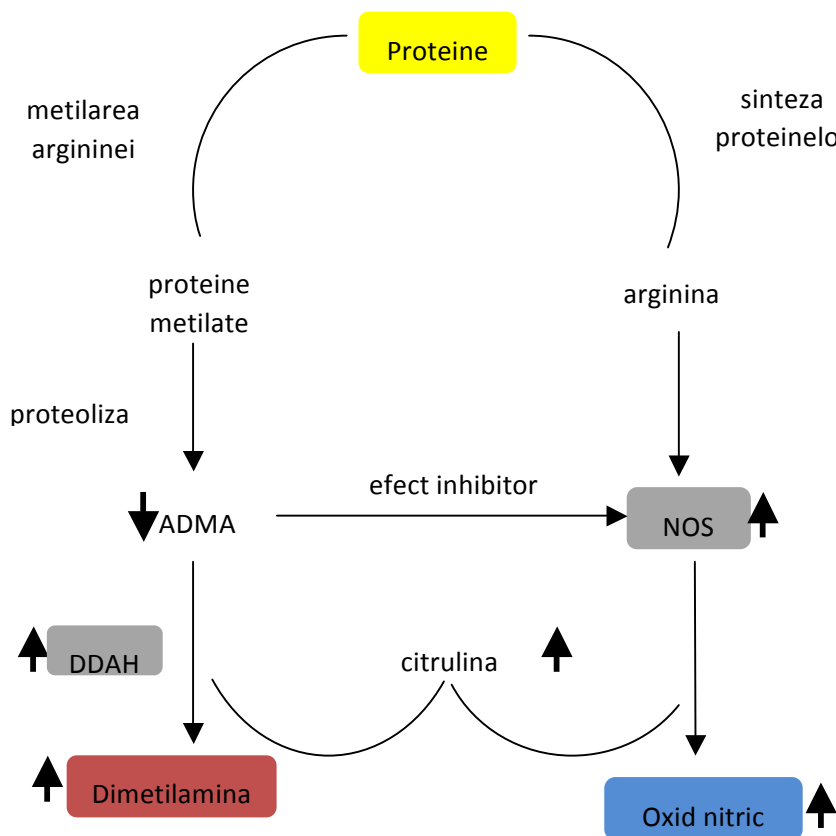


Fig. 5.11. Sinteza dimetilaminei în procesul de metilare a proteinelor (Mulder ș.a., 2002)
Dimethylamine synthesis in protein methylation process (Mulder ș.a., 2002)

Pe de altă parte, studiile efectuate pe oamenii cu insuficiență renală cronică au arătat că tirozina plasmatică este deseori scăzută. Studiile experimentale privind câinii și șobolanii cu IRC nu au evidențiat modificări semnificative ale metabolismului tirozinic (Kopple ș.a. 2007, Sette ș.a., 2015).

Analiza statistică utilizând *independent samples T-test* pentru testarea mediilor și stabilirea gradului de asemănare între variațiile valorilor metaboliților determinați pentru cele 2 grupuri (IRC și control), a evidențiat o diferență semnificativ statistică (cu prag de semnificație stabilit la $p < 0.05$) între dispersiile următoarelor variabile din grupurile analizate: creatinină ($p = 0.021$), acid acetic ($p < 0.001$), acetonă ($p = 0.01$), acetoacetat ($p = 0.001$), acid piruvic ($p = 0.001$), acid citric ($p = 0.019$), creatină ($p = 0.05$), myo-inozitol (0.012), acid formic ($p = 0.005$) și acid lactic ($p = 0.02$).

Myo-inozitolul este unul din cei 9 stereozomeri ai inozitolului și reprezintă baza structurală pentru o serie de mesageri de gradul 2 ai celulelor eucariote

(Blumberg ș.a., 1978). Acest compus se găsește în concentrații mai mari în plasma și urina pacienților cu insuficiență renală, urmare a faptului că rinichii sunt principalii responsabili de procesele de oxidare a myo-inozitolului, reducându-se astfel semnificativ metabolizarea acestuia la pacienții cu insuficiență renală. Studii din ultimele decenii au demonstrat statutul de toxină uremică a myo-inozitolului, contribuind la apariția polineuropatiei uremice (Himmelfrab ș.a., 2010). Unul din mecanismele prin care myo-inozitolul își manifestă acțiunea neurotoxică este prin inhibarea proliferării celulelor Schwann, afectând astfel producția normală de mielină (Niwa ș.a., 1989).

Mentținerea homeostaziei myo-inozitolului este importantă și pentru funcționarea normală a neuronilor. Pe lângă rolul de sursă a inozitolului trifosfat (mesager de gradul 2), acesta este implicat și în menținerea echilibrului osmotic la nivelul creierului (Umesha Shetty ș.a., 1996). Myo-inozitolul este de asemenea considerat marker al activării celulelor gliale (a căror volum este menținut de homeostazia myo-inozitolului), care tind să elibereze o serie de mediatori ai inflamației, mediatori ce pot avea efect neurotoxic, ducând la disfuncții și chiar pierderi neuronale (Chang ș.a., 2013).

Prin urmare, acest metabolit în concentrații crescute poate avea efect neurotoxic atât la nivelul sistemului nervos central cât și la nivelul celui periferic.

Creatinina este o substanță azotată care provine din degradarea creatinei la nivel muscular. Studii au demonstrat că acest metabolit, ce se acumulează în exces la pacienții cu insuficiență renală are efect convulsivant dovedit prin administrarea intracisternală și intracerebroventriculară la animale (De Deyn ș.a., 1992). Acumularea creatininei în serul dar și în LCR-ul pacienților cu insuficiență renală ar contribui la complicațiile neurologice ale acestor pacienți, ducând la apariția de crize convulsive și mioclonii (De Deyn ș.a., 1992, Tachikawa ș.a., 2008). Efectul neuroexcitator al creatininei poate fi urmarea blocării acțiunii acidului gamma-aminobutiric, considerat a fi unul dintre cei mai importanți mediatori inhibitori centrali, și al glicinei, aminoacid care are de asemenea rol inhibitor asupra SNC (De Deyn ș.a., 1992). Blocarea funcțională a acestor mediatori se pare că se produce prin efectul competitiv antagonist la locul de recunoaștere al receptorului GABA (D'Hooge ș.a., 1999).

Analiza statistică a pus în evidență o diferență semnificativă statistic între valorile creatininei din LCR-ul pacienților cu IRC, față de câinii sănătoși, lotul cu IRC prezentând valori de până la 6 ori mai mari (0.310 mmol/l față de 0.052 mmol/l) (fig. 5.12).

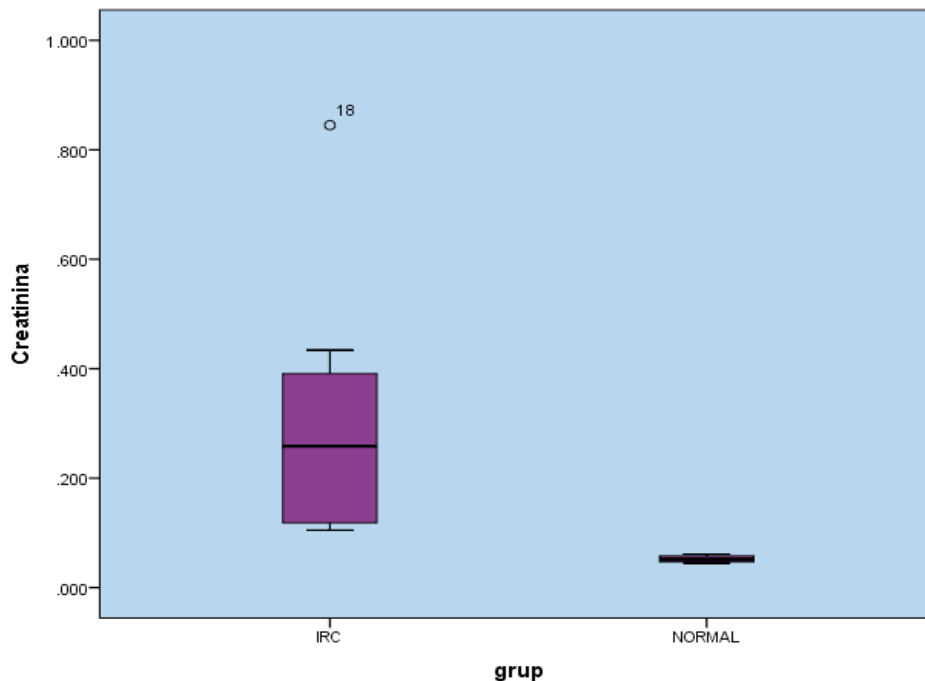


Fig. 5.12. Biovariabilitatea creatininei în LCR-ul câinilor cu IRC și normali
Creatinine biovararity of CRL in CRF and healthy dogs

Acidul acetic un metabolit al N-acetilaspargatului și al neurotransmițătorului acetilcolina. Este implicat sub forma acetyl CoA în metabolismul lipidelor și al carbohidraților (Lutz ș.a., 2007). Astfel, acumularea de acetyl CoA poate avea ca rezultat inhibarea acetyl CoA carboxilază, enzimă implicată în sinteza de acizi grași dar și în procesul formare a mielinei (Viola ș.a., 2002). A fost identificat în concentrații mai mari în LCR-ul pacienților cu boli neurodegenerative (ALS, scleroză multiplă), dar și în probele pacienților cu IRC din studiul nostru, cu o diferență semnificativă de concentrație, față de lot control ($p < 0.001$).

Acetoacetatul face parte din categoria corpiilor cetonice care se produc în exces în cazul unor afecțiuni cu ar fi diabetul sau alte patologii ce duc la inanție. Acetona este produsul decarboxilării acetatului la nivelul florei gastro-intestinale (Kalapos M.P., 1999). Acumularea de corpi cetonici în IRC poate fi urmarea pierderii sau reducerii apetitului pacienților, creșterii lipolizei și implicit a cetogenezei. Corpii cetonici reprezintă principala sursă de energie a creierului în perioadele de inanție (Jin ș.a., 2013, Owen Q.E., 2005). Deși acumularea de corpi cetonici nu este atât de marcantă în IRC, pacienții diabetici care prezintă această complicație suferă o serie de modificări morfologice ale creierului și alterări cognitive pe termen scurt și mediu (Cameron ș.a., 2014). Chiar dacă momentan studii care să încadreze corpi cetonici în categoria neurotoxinelor uremice există posibilitatea implicării acestora în manifestările neurologice din IRC (<http://www.uremic-toxins.org/DataBase.html>).

Piruvatul este produsul final al glicolizei, ce se poate transforma în lactat în condiții de anaerobioză sau poate fi transportat în mitocondrii pentru a lua parte la ciclul Krebs, în condiții de aerobioză. Concentrațiile acidului lactic și piruvatului, precum și raportul lactat/piruvat din LCR sunt relevante pentru o serie de afecțiuni primare sau dobândite ale SNC .

Creșterea nivelului de lactat și implicit al raportului lactat/piruvat poate să apară în meningite bacteriene, status epileptic, precum și diferite patologii care pot cauza hipoxie cerebrală (Benoist ș.a., 2003). Insuficiență renală cronică a fost asociată cu apariția de leziuni ale substanței albe cerebrale, microinfarcte și microhemoragii independente de factorii de risc cardiovascular asociați acestei afecțiuni. (Toyoda K., 2015). Studiul experimental realizat de Sugi și colaboratorii în 1975 pe câini cu hemoragii intracerebrale și subarahnoidine, au pus în evidență creșterea raportului lactat/piruvat.

Determinările noastre au evidențiat de asemenea dublarea valorii lactatului în LCR-ul pacienților cu IRC comparativ cu cei sănătoși, ceea ce a dus implicit la creșterea raportului lactat/piruvat. Conform celor expuse anterior putem suspiciiona că microangiopatia cerebrală asociată IRC, însoțită de hipoxia cerebrală, pot duce la creșterea nivelului de acid lactic și al raportului lactat/piruvat la câinii cu IRC.

Diferențe semnificativ statistice au fost identificate și în cazul acidului citric ($p=0.019$), cu o medie a valorilor determinate în grupul IRC de 2 ori mai mari decât în lotul control. Creșteri ale valorilor acidului lactic și acidului citric evidențiate de determinările realizate în lotul control, sugerează modificări importante ale metabolismului energetic (Gray ș.a., 2015). De asemenea, modificări funcționale ale mitocondriilor au fost identificate la pacienții cu IRC, ce ar putea duce la acumularea acestor metaboliți (Gamboa ș.a., 2016).

Acidul formic este produs în mod obișnuit în sinteza de acetat. Este responsabilă atât de acidoza metabolică, cât și de afectarea transportului de electroni mitocondriali și a producerii de energie prin inhibarea activității citocrom oxidazei, acceptorul de electroni terminal al lanțului de transport al electronilor. În studiul de față a fost observată creșterea valorilor acestui metabolit în grupul IRC cu diferențe semnificative față de lotul control ($p=0.005$). Acidul formic a fost identificat în studiul realizat de Kapur ș.a. (2007) ca fiind una din neurotoxinele determinate implicate în moartea neuronală la pacienții ce suferă de alcoolism cronic. Deși valorile determinate de noi nu sunt atât de mari ca cele determinate de Kapur ș.a. la oameni, acidul formic poate fi implicat în procesele degenerative neuronale întâlnite la pacienții cu IRC.

Acidul β -hidroxivaleric este un acid organic ce se excretă prin urină, fiind un produs al degradării leucinei (www.hmdb.ca). Metabolizarea acestui acid se află sub influența unei enzime dependente de biotină (Watanabe ș.a., 2005). Studiile pe model experimental în insuficiența renală cronică au pus în evidență deficitul transportorilor biotinei la nivel intestinal (Said ș.a., 1992), ceea ce duce la

carența acestei vitamine, aspect observat și la pacienții umani cu această afecțiune (Jankowska ș.a., 2017). Luând în considerare faptul că eliminarea acidului β -hidroxivaleric este dependentă de biotina, se poate explica prezența acetuia în concentrație mai mare la pacienții cu IRC. În cazul pacienților umani a fost evidențiat rolul neurotoxic al acestui metabolit cu manifestări neurologice caracterizate prin tremor, confuzie, somnolență și crize epileptiforme (Engelke ș.a., 2006).

Prin studiul prezentat am reușit să evidențiem alterări ale metabolismului acizilor grași, protidic, energetic și la nivelul căilor secundare, ce sunt implicate în apariția leziunilor degenerative la nivelul SNC, și modificări la nivelul mediatorilor cu rol inhibitor-excitator.

5.3. Evaluarea tulburărilor sistemului nervos autonom prin intermediul variabilității frecvenței cardiace, la câinii cu nefropatii

Sistemul nervos vegetativ este un sistem multineuronal, al căror neuroni centrali se află în hipotalamus (centrul primar de integrare a funcțiilor autonome), punte, mezencefal și medulla oblongata. Este împărțit în două componente: simpatică și parasimpatică, ce acționează antagonic. (Lorentz ș.a., 2011).

Tabel 5.6/Table 5.6

Funcțiile sistemului nervos autonom (după De Lahunta, 2009)
Functions of the autonomic nervous system (De Lahunta, 2009)

Simpatic	Parasimpatic
Inimă	Inimă
↑frecvența cardiacă	↓frecvența cardiacă
↑forța de contracție	↓forța de contracție
Vase de sânge	Vase de sânge
vasoconstricție	----
Pulmoni	Pulmoni
bronhodilatație	bronhoconstricție
Tract gastro-intestinal	Tract gastro-intestinal
↓motilitatea	↑motilitatea
Contractia sfincterelor	Relaxarea sfincterelor
↓secrețiilor	↑secrețiilor

Variabilitatea frecvenței cardiace

Variabilitatea frecvenței cardiace (VFC) reprezintă iregularitatea fiziologică a ritmului sinusal și este determinată de interacțiunea mecanismelor de reglare ale frecvenței cardiace. Dintre aceste mecanisme cele mai importante sunt cele nervoase, mediate prin sistemul nervos vegetativ. VFC este o modalitatea neinvazivă de evaluarea a sistemului nervos autonom, cuantificând pe baza electrocardiografei (ECG) o serie de parametri ce indică starea tonusului simpatic și parasimpatic.

Mecanismele dezechilibrelor sistemului nervos autonom în insuficiența renală nu sunt pe deplin cunoscute și, chiar dacă nu există o metodă standard de a studia aceste modificări, determinarea variabilității cardiace poate fi utilă pentru a stabili existența unui eventual dezechilibru vegetativ cauzat de această patologie. Insuficiența renală cronică a fost asociată cu stimularea componentei simpatic și scăderea variabilității cardiace, împreună cu creșterea riscului morbidității cardio-vasculare și evoluția spre sindrom cardio-renal. Sindromul cardio-renal implică căi bidirecționale de afectare a cordului sau rinichilor, iar actualmente se studiază modalități de a descrie și defini relația fiziopatologică între aceste două organe.

Studiile din medicină umană au reușit să demonstreze că scăderea variabilității cardiace poate fi considerată un factor predictiv al apariției insuficienței renale dar și al afecțiunilor cardiace, chiar în lipsa semnelor clinice (Drawz et. al, 2013). De asemenea, evaluarea variabilității cardiace s-a dovedit a fi și un predictor al eficienței tratamentului la pacienții cu insuficiență renală, în special la pacienții dializați.

5.3.1. Materiale și metode

Scopul studiului a fost de a evalua balanța simpato-parasimpatică (simpato-vagală) la câinii cu insuficiență renală cronică, folosind analiza variabilității ritmului cardiac (VFC) utilizând în acest scop 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 în stadiul IV, dar fără afecțiuni cardiace detectabile. Pentru a compara rezultatele analizei VFC, am utilizat parametri 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*).

Analiza domeniului de timp se bazează pe măsurarea intervalelor dintre două complexe QRS succesive normale, numite intervale NN (*normal-to-normal, beat-to-beat intervals*) (fig. 5.14).

Parametri domeniului de timp introduși în analiză statistică au fost:

- SDNN - deviația standard a intervalelor NN normale (fig. 5.13), ce poate fi considerată reprezentarea în ansamblu a VFC
- RMSSD – rădăcina pătrată a standardului de deviație a tuturor intervalelor NN (reflectă exclusiv activitatea vagală)
- NN50 – numărul de complexe NN care se diferențiază cu mai mult de 50ms
- pNN50 – procentul complexelor NN care diferă cu mai mult de 50ms (modulat de activitatea simpatică) (Guideline P., 1996).

Time-Domain Results

Variable	Units	Value
Mean RR*	(ms)	523.3
STD RR (SDNN)	(ms)	92.3
Mean HR*	(1/min)	117.89
STD HR	(1/min)	18.68
RMSSD	(ms)	120.9
NN50	(count)	302
pNN50	(%)	54.1
RR triangular index		17.469
TINN	(ms)	410.0

Distributions*

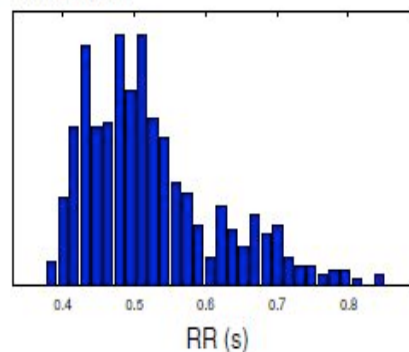


Fig. 5.13. Rezultatele parametrilor dependenți de timp ale intervalelor RR și reprezentarea grafică a distribuției acestora. Imagine preluată din analiza Kubios

Results of time dependent parameters of RR intervals and graphical representation of their distribution. Image taken from Kubios analysis

Parametrii domeniului de frecvență introduși în analiza statistică atribuie benzi de frecvență și apoi contabilizează numărul de intervale NN care se potrivesc fiecărei benzi. Benzile sunt de frecvență mare (HF) 0.15-0.4Hz (modulate exclusiv de activitatea parasimpatică, de joasă frecvență (LF) 0.04-0.15Hz (modulate sinergic de simpatic-parasimpatic) și de foarte joasă frecvență (VLF) 0-0.04Hz (fig 5.15). Pentru a analiza activitatea simpaticului în domeniul de frecvență, se realizează raportul LF/HF.

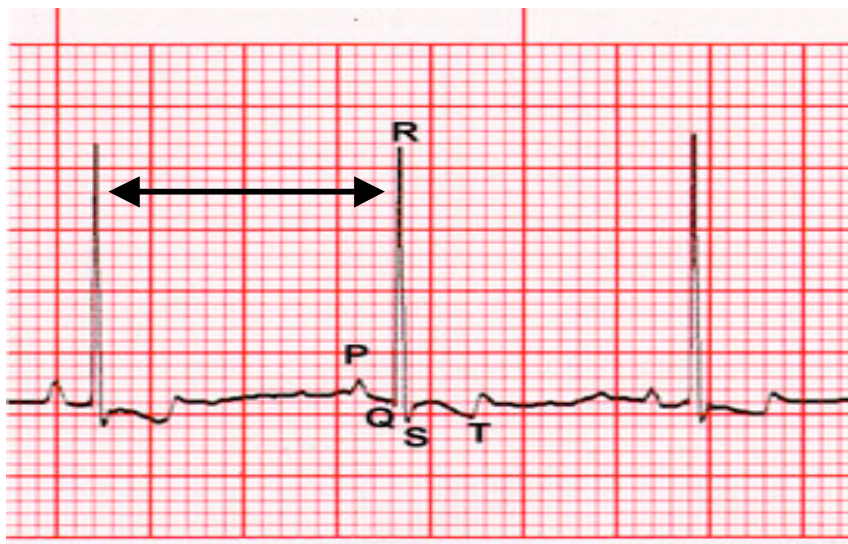


Fig.5.14. Ilustrarea grafică a intervalelor NN
<http://images.google.fr/imgres?imgurl=http%3A%2F%2Fresearch.vet.upenn.edu>
 Graphic illustration of NN intervals

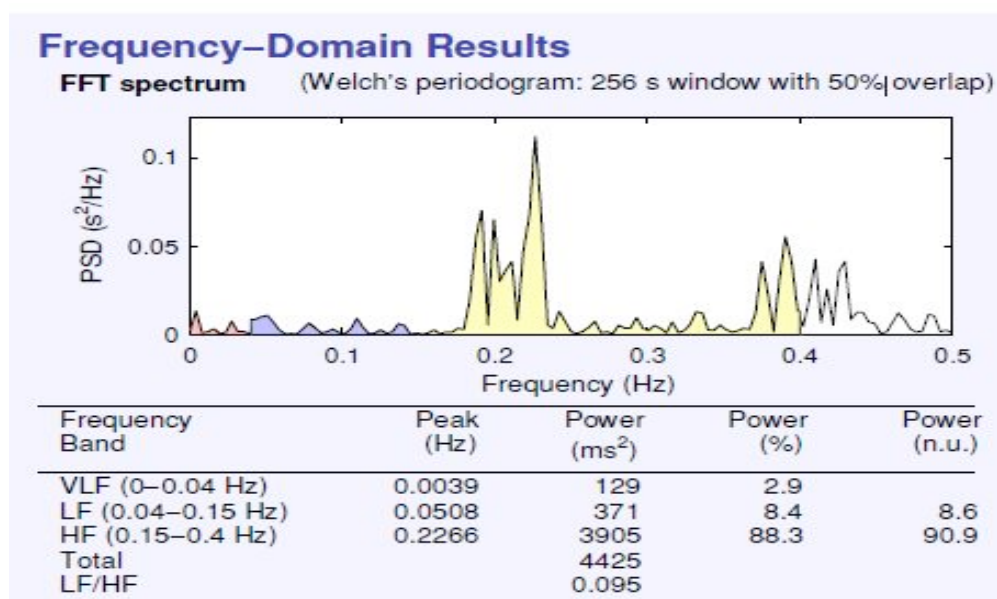


Fig. 5.15 Analiza spectrală a undelor de joasă frecvență și înaltă frecvență în domeniul de frecvență.
 Imagine preluată din analiza Kubios
 Spectral analysis of low-frequency and high-frequency waves in the frequency range. Image taken from Kubios analysis.

5.3.2. Rezultate și discuții

S-au 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) (Tabel 5.7).

Tabel 5.7/Table 5.7

Valorile VFC la câinii sănătoși și cu IRC
HRV values in healthy and CKD dogs

Grup	N	Minimum	Maximum	Media	Deviația standard	
sănătoși	FC	13	94.00	169.00	128.69	20.29
	RRa	13	329.00	640.00	473.15	87.60
	SDNN	13	10.00	107.00	54.13	27.35
	RMSSD	13	5.00	120.00	41.98	33.54
	pNN50	13	0.15	36.00	12.27	12.07
	TI	13	50.00	710.00	321.53	187.63
	LFp	13	2.90	61.00	27.79	15.70
	HFp	13	1.70	64.20	23.19	16.87
	RLH	13	0.10	4.23	1.85	1.28
	Valid N (listwise)	13				
IR	FC	13	103.78	175.20	132.90	20.43
	RRa	13	342.50	580.10	463.76	72.81
	SDNN	13	4.80	92.30	30.35	26.80
	RMSSD	13	1.70	120.90	23.06	32.51
	pNN50	13	0.00	54.10	7.62	15.61
	TI	13	1.83	410.00	77.32	122.47
	LFp	13	3.00	963.00	251.71	301.07
	HFp	13	1.00	4389.00	754.64	1470.16
	RLH	13	0.09	10.86	3.81	3.90
	Valid N (listwise)	13				

Rezultatele noastre au arătat o scădere semnificativă a VFC generală (SDNN) ($p=0.017$) (fig. 5.12) în grupul IRC asociat cu o semnificativă scădere a tonusului vagal (pNN50 și HF) ($p=0.03$) (fig. 5.16, fig. 5.17, fig. 5.18).

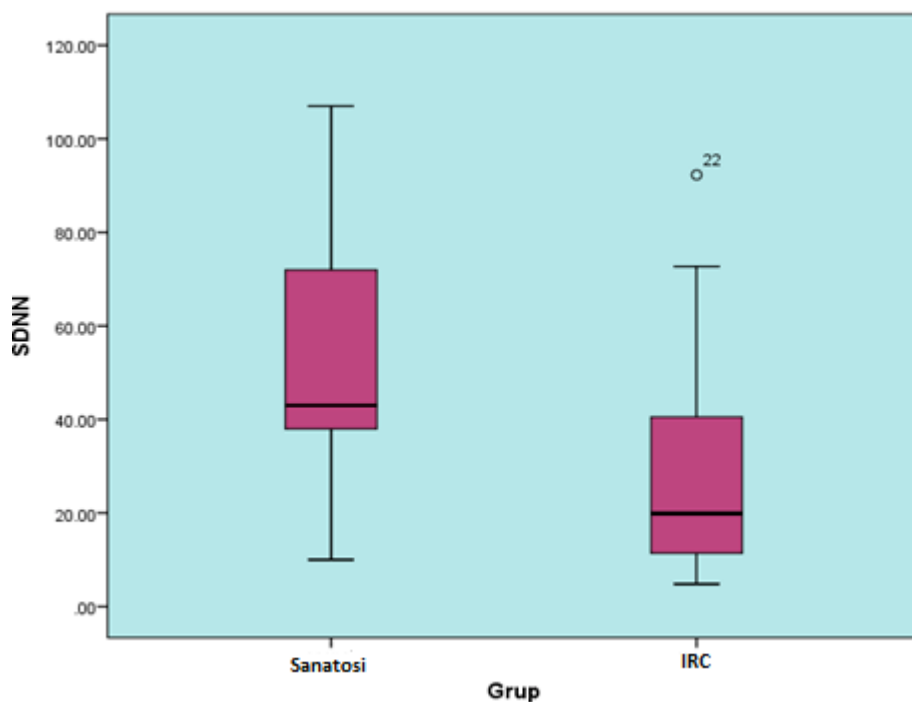


Fig. 5.16. Reprezentarea grafică a VFC în ansamblu (deviației standard a complexelor NN)
Graphic representation of HRV as a whole (standard deviation of NN complexes)

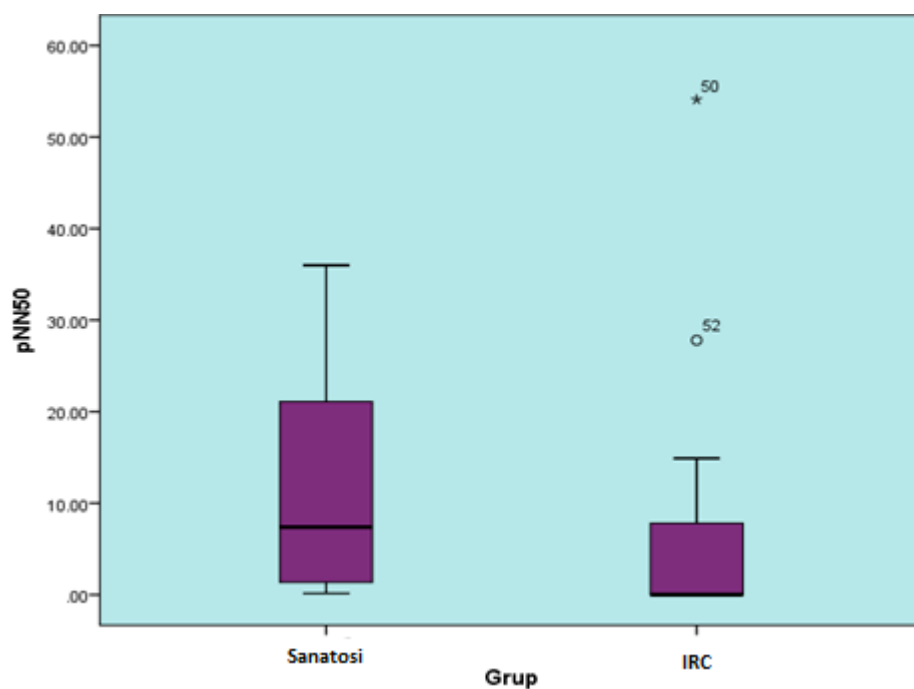


Fig.5.17. Reprezentarea grafică a distribuției valorilor parametrului domeniului de timp
ce indică activitatea parasimpaticului
The graphical representation of the time domain parameter distribution that indicates
parasimpatic activity

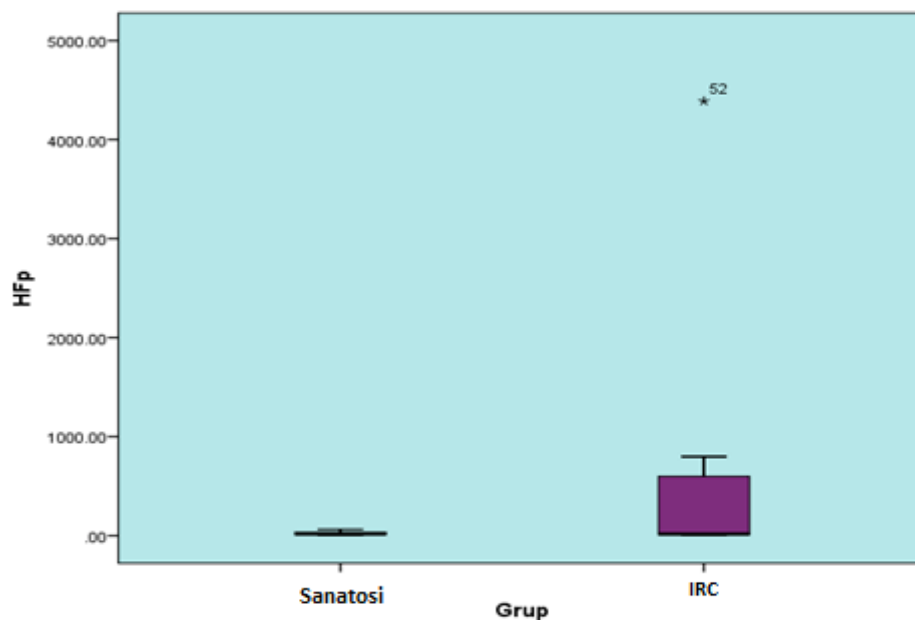


Fig. 5.18. Reprezentarea grafică a valorilor parametrului domeniului de frecvență, modulat de activitatea parasimpatică
Graphic representation of the frequency domain parameter values, modulated by the parasimpatic activity

Mai mult decât atât, activitatea simpatică este crescută ($p < 0,001$ și $p < 0,05$) în grupul IRC, comparativ cu grupul sanatoși (fig. 5.19).

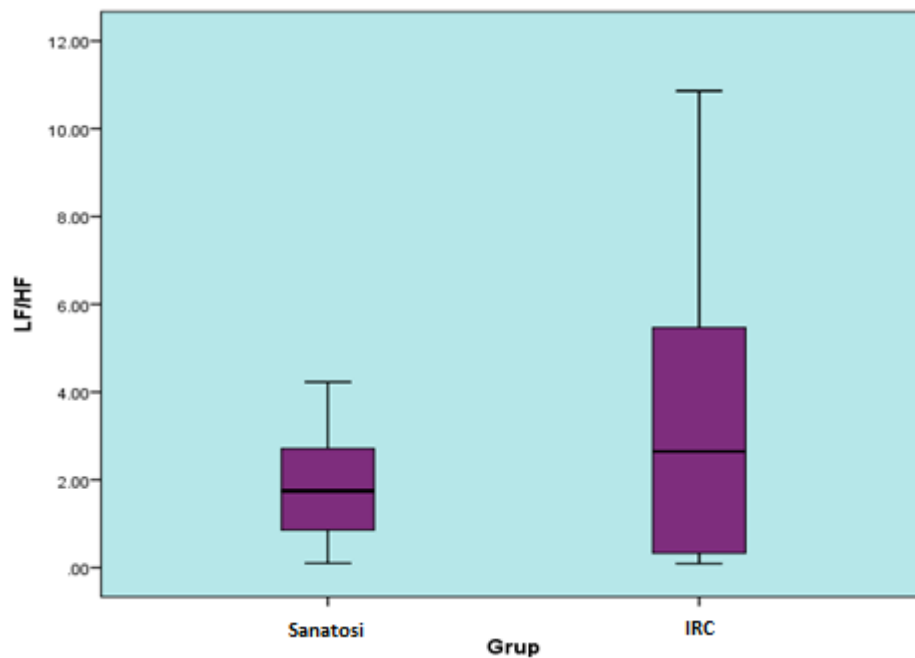


Fig. 5.19. Reprezentarea grafică a valorilor raportului LF/HF
Graphic representation of report values LF/HF

Studiul nostru a arătat ca pacienții cu IRC prezintă creșterea activității simpatice asociate cu activitate vagal scăzută, cu scăderea în ansamblu a variabilității cardiace (Saftencu ș.a., 2017). Acest dezechilibru autonom este indicator al unui prognostic grav la câinii cu afecțiuni cardiace (Rasmunssen ș.a., 2012).

La om, analiza VFC a pacienților cu insuficiență renală a fost utilizată ca marker al evoluției acestora, precum și predictor al mortalității, fiind asociată cu creșterea activității simpatice și o neuropatie autonomă cardiacă (Drawz ș.a., 2013).

Studiul realizat de noi este primul pe această temă în medicina veterinară, și sunt necesare studii suplimentare pentru a include un dezechilibru autonom ca instrument în monitorizarea evoluției clinice a câinilor cu IRC.

5.4. Concluzii parțiale

Insuficiența renală, în ultimile stadii de evoluție, este însoțită de multe ori de manifestări neurologice caracterizate prin crize epileptiforme și alterări ale conștienței.

Electroencefalografia pune în evidență modificările bioelectrice apărute în encefalopatia uremică.

Metabolomica lichidului cefalorahidian a pus în evidență prezența în concentrații crescute a unor compuși cu rol convulsivant, neurotoxic și excitator.

Evaluarea variabilității frecvenței cardiace este o modalitatea neinvazivă de analiză a dezechilibrelor sistemului nervos vegetativ.

Studiul nostru a arătat că pacienții cu IRC prezintă creșterea activității simpatice, asociate cu activitate vagal scăzută, cu scăderea în ansamblu a variabilității cardiace, fiind primul pe această temă în medicina veterinară.

**CAPITOLUL VI. ASPECTELE HISTOPATOLOGICE ȘI
ELECROMICROSCOPICE ÎN NEFROPATII ȘI
ENCEFALOPATIA UREMICĂ LA ANIMALELE DE COMPANIE
CAPITOLUL VI. HISTOPATHOLOGICAL AND
ELECROMICROSCOPICAL ASPECTS IN NEPHROPATHIES
AND UREMIC ENCEPHALOPATHY IN SMALL ANIMALS**

**6.1. Aspecte histopatologice și elecromicroscopice
în nefropatii la câini și pisici**

6.1.1. Materiale și metode

Studiul de morfopatologie a fost 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, eutanasiați, luându-se în considerare stadiul terminal al afecțiunii.

Pe lângă analiza aspectelor histopatologice, studiul a urmărit frecvența unor leziuni caracteristice (fig. 6.1 și 6.2) :

Glomerulonefrită	Calcificări
Tubulonefrită și leziunile tubulare	Chisturi
Nefrita limfo-histiocitară	Pielită
Fibroza interstițială	Cilindri (hialini-hialinoză/bilirubină)
Amiloidoza	Aspecte regenerative

Protocolul de prelucrare histologică (metoda includerii la parafină) a fragmentelor tisulare recoltate, presupune fixare în formaldehidă 10% și includere la parafină, utilizând procesorul de țesuturi Leica TP 1020 (Leica Microsystems GmbH, Germany). Secțiunile la 5 μ m au fost obținute cu un microtom SLEE CUT 6062 (SLEE Medical GmbH, Germany). După deparafinare, colorațiile utilizate au fost cele de orientare generală: hematoxină-eozină (HE) și tricromică Masson (HEA). Examinarea histologică s-a realizat cu un microscop optic model Leica DM750 cu cameră digitală integrată Leica ICC50 HD (Leica Microsystems GmbH, Germany). Secțiunile au fost examinate la magnitudine de x100, x200, x400, fotografiate și preluate cu softul Leica Application Suite software (LAS) versiunea 2016. În evaluarea leziunilor renale s-au examinat atât medulara cât și corticula renală, descriindu-se leziunile principalelor componente ale nefronilor cât și ale stromei conjunctivo-vasculare. Din punct de vedere lezional au fost remarcate

fenomene degenerative, necroze, tulburări circulatorii sanguine, inflamații și fenomene regenerative.

Studiul de microscopie electronică a inclus 8 pacienți diagnosticați cu IRC. Microscopia electronică cu transmisie constituie o metoda de investigație care poate oferi informații relevante în legătură cu structura și starea suprafețelor materialelor. Metoda prezintă avantajul unor mărimi care le depășesc cu mult pe cele permise de microscopul optic (1.000.000x față de 2000x) și se caracterizează printr-o adâncime de câmp mult mai mare.

Specimenele (rinichi) au fost prefixate cu soluție glutaraldehidă 2% în tampon fosfat, fixate cu soluție tetraoxid de osmiu (OsO_4) 1% în tampon fosfat, colorate în masă cu acetat de uraniu (2g acetat de uraniu în 100 ml alcool etilic 30%) și acid fosfotungstic (1,4g acid fosfotungstic în 100 ml alcool 70%) și incluse în epon. După secționarea la ultramicrotom, s-au colorat în acetat de uraniu 1% soluție alcoolică și soluție de citrat de plumb după metoda Reynolds. Probele au fost examinate la microscopul cu transmisie (TEM) model TESLA BS 500.

6.1.2. Rezultate și discuții

Leziunile 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%), indicativi ai proteinuriei (fig. 6.1).

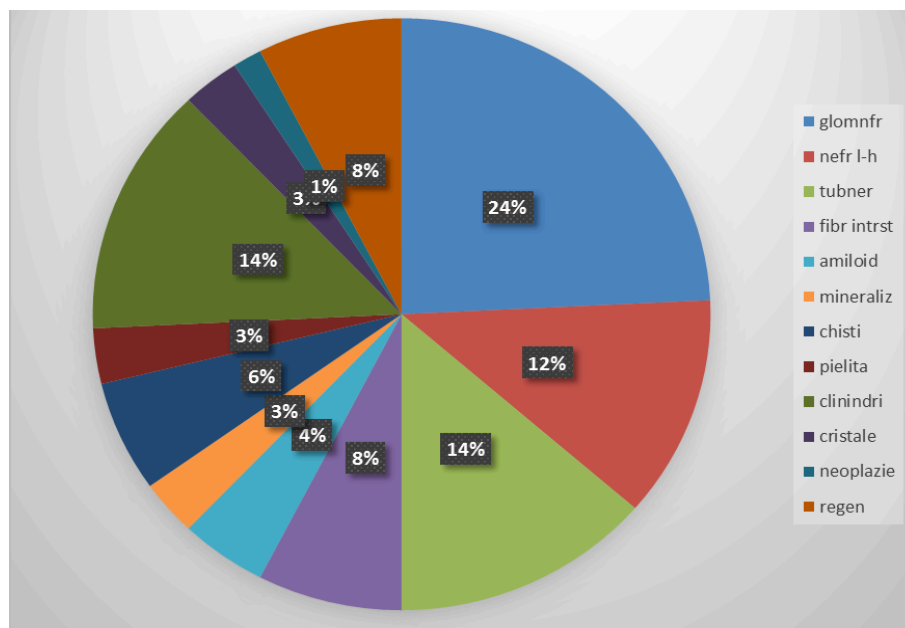


Fig.6.1. Frecvență leziunilor histopatologie renale la pacienții canini necropsiați
The frequency of kidney histopathological lesions in necropsied dogs

La pisici, leziunile cele mai des întâlnite la pacienții luați în studiu au fost: glomerulonefrita (25%), tubulonefrita (18%), prezența cilindrilor (hialini sau lipidici) (14%) și a cristalelor de oxalat de calciu sau urați (14%) (fig. 6.2).

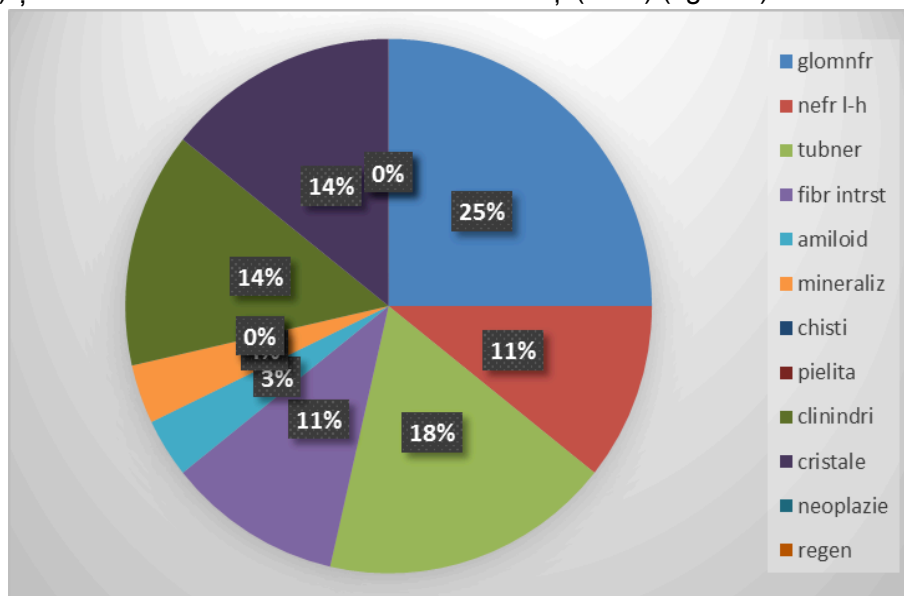


Fig. 6.2. Frecvență leziunilor histopatologie renale la pisicile necropsiate
The frequency of kidney histopathological lesions in necropsied cats

Glomerulonefrita reprezintă cauza principală a insuficienței renale la câine, fiind de cele mai multe ori membrano-proliferativă. Glomerulonefrita membranoasă se caracterizează prin îngroșarea membranei bazale (fig. 6.3, fig. 6.4).

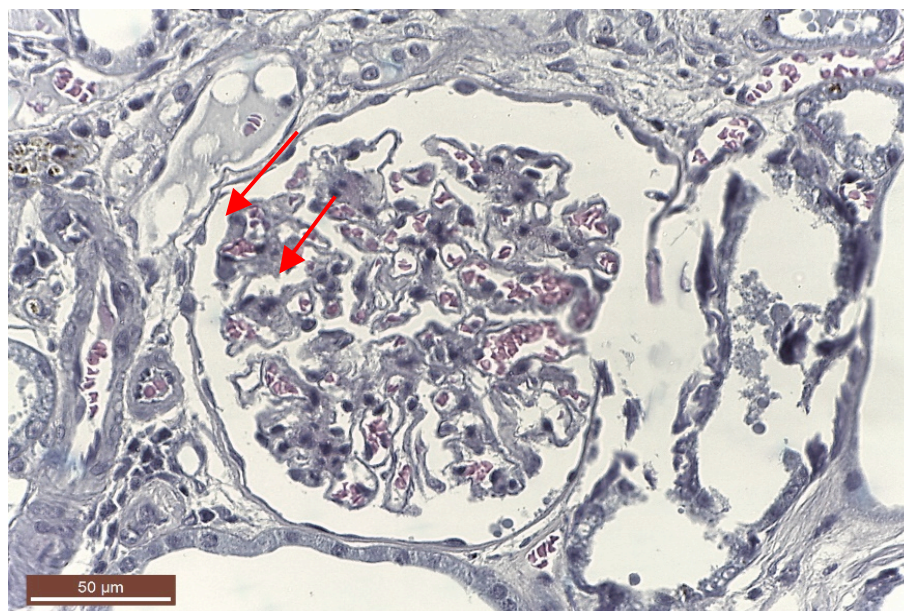


Fig. 6.3. Glomerulonefrită membranoasă, căteea 8 ani, col. tricromică Masson
Membranous glomerulonephritis, dog, female 8 yo, trichromic Masson stain

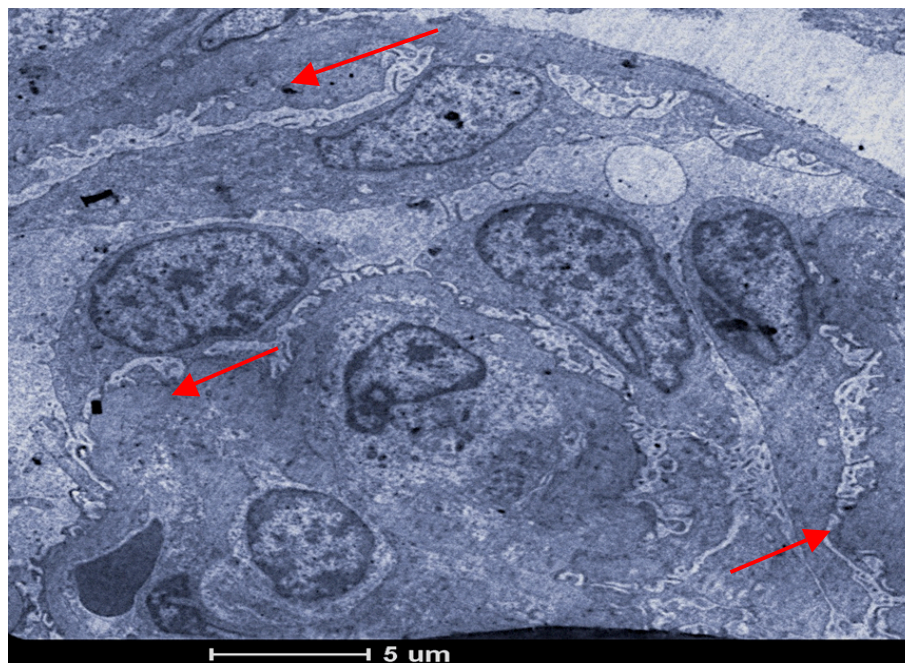


Fig. 6.4. Corticală - corpusul malpighi. Depozite dense pe fata externă a laminelor bazale ale capilarelor glomerulare, între procesele podocitare (săgeți). Glomerulita membranoasă. Renal cortex – Malpighi corpuscle. Dense deposits on the external side of basement membrane of glomerular capillaries, between podocytes processes (arrows). Membranous glomerulonephritis.

Glomerulonefrita proliferativă se manifestă prin predominanța proliferărilor celulare, iar cea membranoproliferativă se caracterizează prin prezența ambelor modificări (Maxie G., 2006). Se pot observa ghemuri vasculare mărite în volum, ce ocupă aproape tot spațiul intern al glomerulului prin proliferări mezangiale, sporirea matricei mezangiale cu comprimarea capilarelor glomerulare și proliferarea celulelor din epiteliul parietal al capsulei Bowman (fig. 6.5). Celulele proliferate observate au fost celulele mezangiale, celulele epiteliului visceral, monocitele, celulele endoteliale și celulele epiteliului parietal. S-au observat, de asemenea, aderențe între glomerul și capsula Bowman (Pașca A.S., 2008).

Aspectele electronomicroscopice evidențiază prezența complexelor imune, precum și aspectele lezionale expuse anterior (fig. 6.4).

Glomerulonefrita sclerozantă sau glomeruloscleroza se observă ca o combinație între proliferarea matricei mezangiale și obliterarea lumenelor capilare (Maxie G., 2006). La această leziune se remarcă dezorganizarea ghemului vascular, ce apare subdimensionat, aderențe între ghemul vascular și capsula Bowman și hipocelularitate (fig. 6.6).

Aceste tipuri de leziuni glomerulare pot fi în diferite stadii de evoluție în același rinichi, iar reacția glomerulară poate să nu fie uniformă la toți glomerulii, putând practic să apară leziuni diferite la același pacient, în același rinichi (Maxie G., 2006).

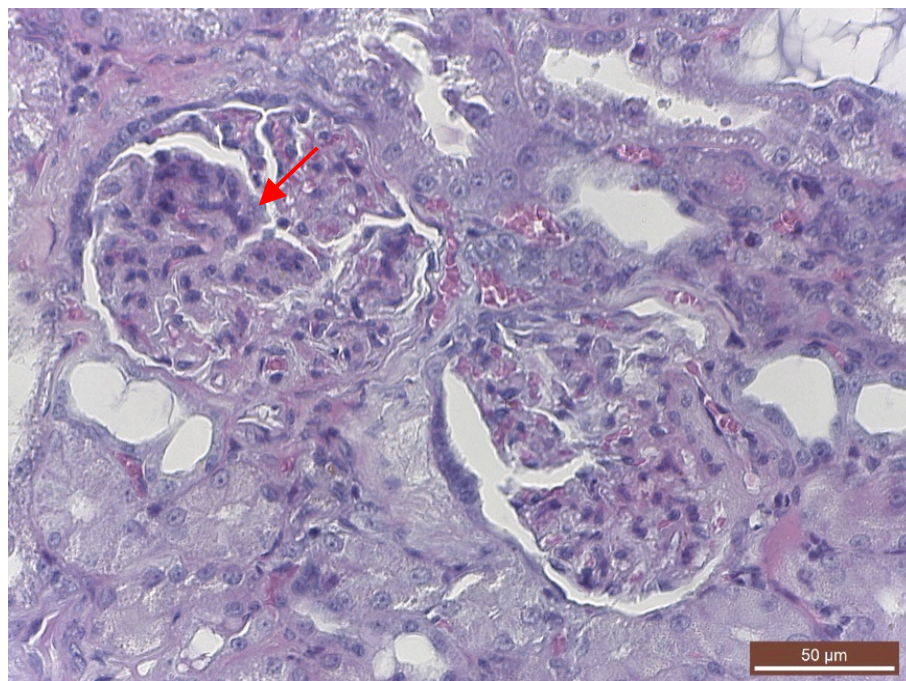


Fig. 6.5. Glomerulonefrită membrano-proliferativă, câine, 16 ani, IRC,
Col. tricromică Masson
Membranoproliferative glomerulonephritis, dog, 16 yo, CRF, trichromic Masson stain

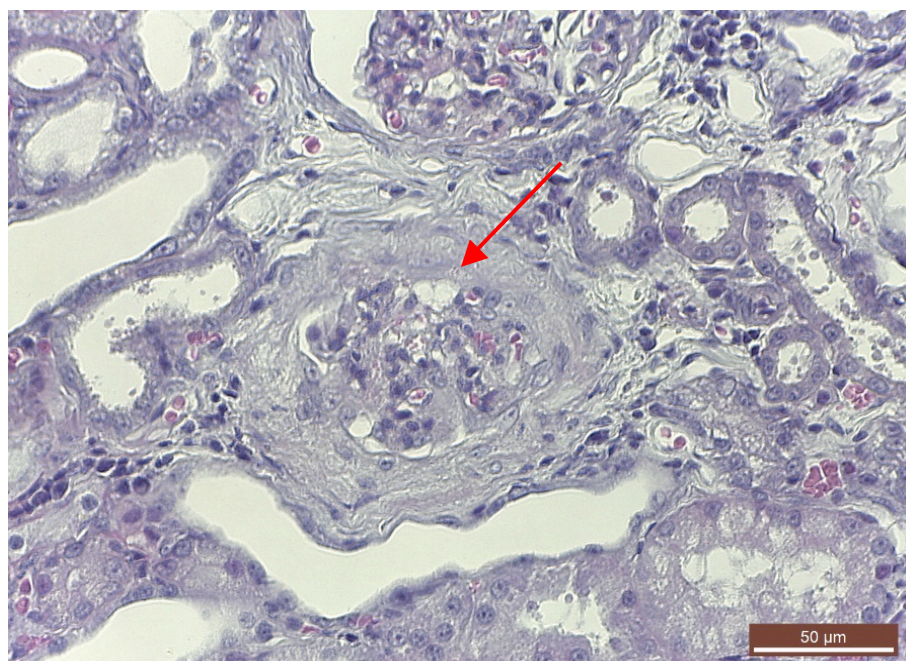


Fig. 6.6. Glomerulonefrită sclerozantă, câine, 16 ani, IRC,
Col. tricromică Masson
Sclerosing glomerulonephritis, dog, 16 yo, CRF, trichromic Masson stain

În studiul nostru, nefrita tubulo-interstițială reprezintă leziunea întâlnită cel mai frecvent după glomerulonefrite. Se caracterizează prin inflamație și degenerare interstițială și afectarea funcțională a sistemului tubular. Tubulii și interstițiul sunt strâns asociate, iar afectarea unuia determină lezionarea și celeilalte componente, de aceea multe afecțiuni sunt numite boli tubulo-interstițiale (Maxie G., 2006 p 478).

Răspunsul rinichiului la distrugerea tubulară este limitată la hipertrofia compensatorie a restului de nefroni. Astfel, tubulii care rămân în rinichii afectați sunt deseori mari și dilatați. Degenerarea și umflarea celulelor tubulare poate provoca mărire în volum a rinichiului. Degenerarea hidropică apare din cauza deteriorării membranelor mitocondriale cu formarea de vacuole (fig. 6.7).

Prezența în tubi a unui material proteic indică, de obicei o creștere a permeabilității glomerulare. Muco-proteina Tamm-Horsfall este produsă în porțiunea ascendentă a ansei Henle și tubilor distali, astfel o substanță roz cu aspect granular poate să apară în mai mulți tubi la nivel cortical. Globulele de proteine sunt lizozomi plini cu proteine care se află în faza de proteoliză.

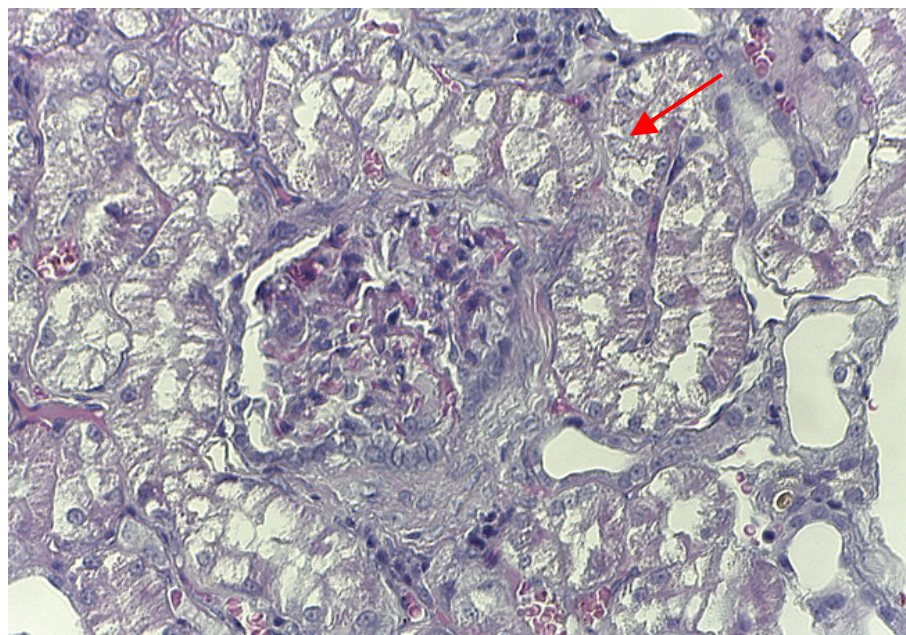


Fig. 6.7. Tubulo-nefrită, tub uriniferi lipsiți de lumen, tumefierea nefrocitelor, citoplasmă cu aspect vacuolizat, col. tricromică Masson, x400

Tubulo-nephritis, enlarged nephrocytes, urinary tubes without lumen, vacuolated cytoplasm, trichromic Masson stain, x400

Acumulările intraepiteliale masive rup polul apical al celulelor și conglomerază în lumenul tubilor uriniferi sub forma cilindrilor hialini. Resorbția proteinelor de către tubulii proximali este un proces fiziologic; cilindrul indică faptul că acest mecanism este saturat (Maxie G, 2006) (fig. 6.8, fig. 6.9).

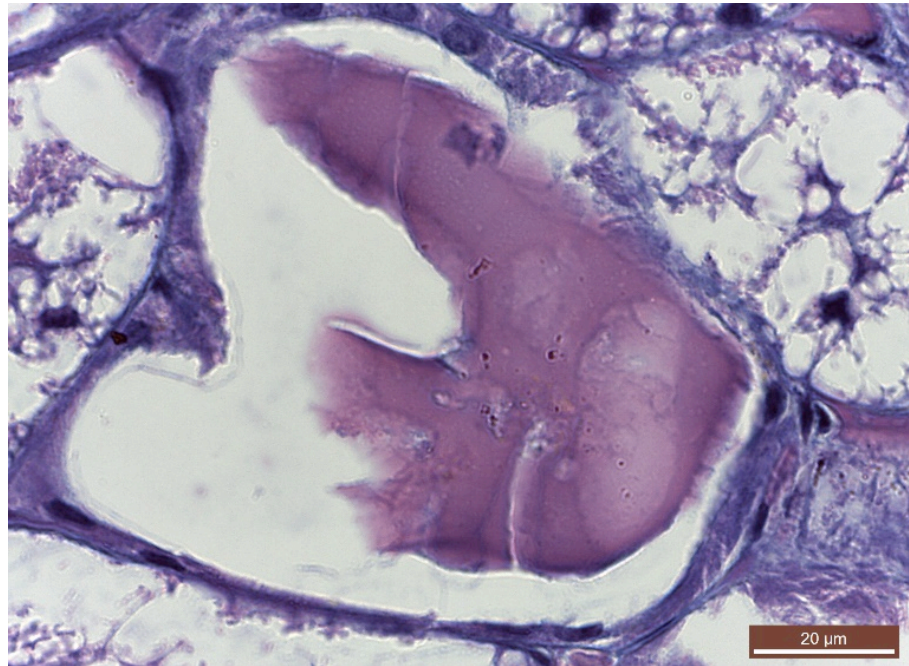


Fig. 6.8. Cilindri hialini, motan, 10 ani, IRC, col. tricromică Masson
Hyaline cylinders, tomcat, 10 yo, CRF, trichromic Masson stain

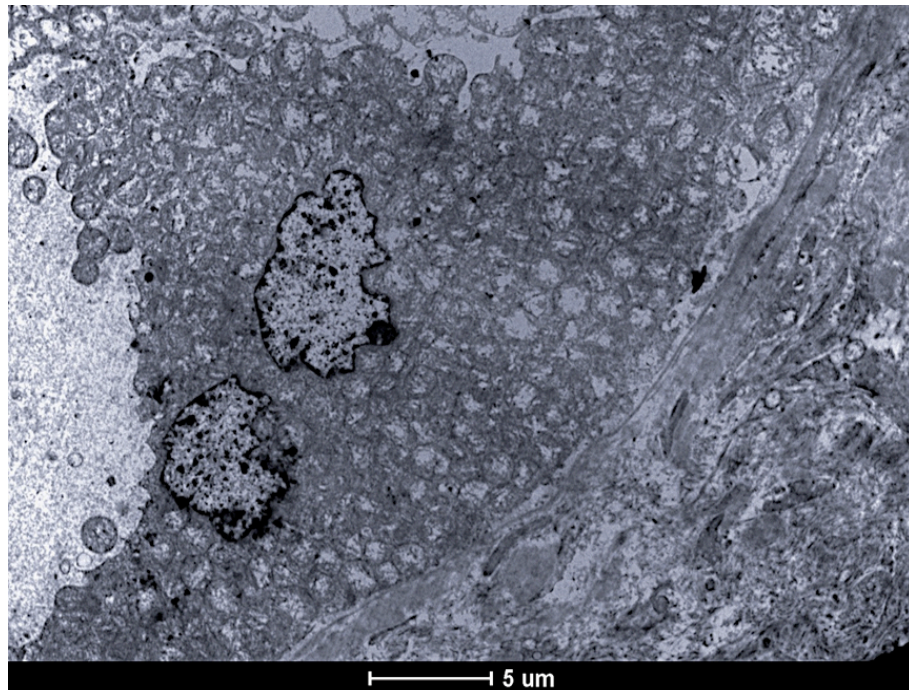


Fig. 6.9. Tub urinifer. IRC cu proteinurie. Sferule de hialin în citoplasma
celulelor epiteliale tubulare.
Urinary tube. CRF with proteinuria. Hyalin deposits in epithelial cells cytoplasm

Degenerarea grasă este uneori dificil de evaluat la porcine, câini și pisici, care în mod normal au cantități considerabile de trigliceride în epiteliul renal. În degenerarea grasă, trigliceridele sunt de obicei întâlnite în celulele tubilor contorți (fig. 6.10, fig. 6.11).

Calcificarea renală este foarte frecvent întâlnită la câini și mult mai rar la alte specii. Apare destul de repede după producerea leziunilor, în epiteliul degenerat sau necrozat și în membranele bazale afectate. În uremie, aceasta poate afecta, de asemenea, glomerulii și vasele mici de sânge. Mineralizarea renală este de cele mai multe ori rezultatul final al hiperparatiroidismului secundar indus de insuficiența renală cronică și poate coexistă cu depozite similare în pulmonii, mucoasă gastrică și alte organe.

Mineralizarea renală începe de obicei la nivelul membranei bazale tubulare și la nivelul epiteliului, în special în zona exterioară medulară, implicând eventual interstițiul, vasele și glomerulii. Mineralizarea epitelială tubulară și formarea de cilindri provoacă obstrucție tubulară și în cele din urmă pierderea de nefroni (fig. 6.12) (Maxie G, 2006).

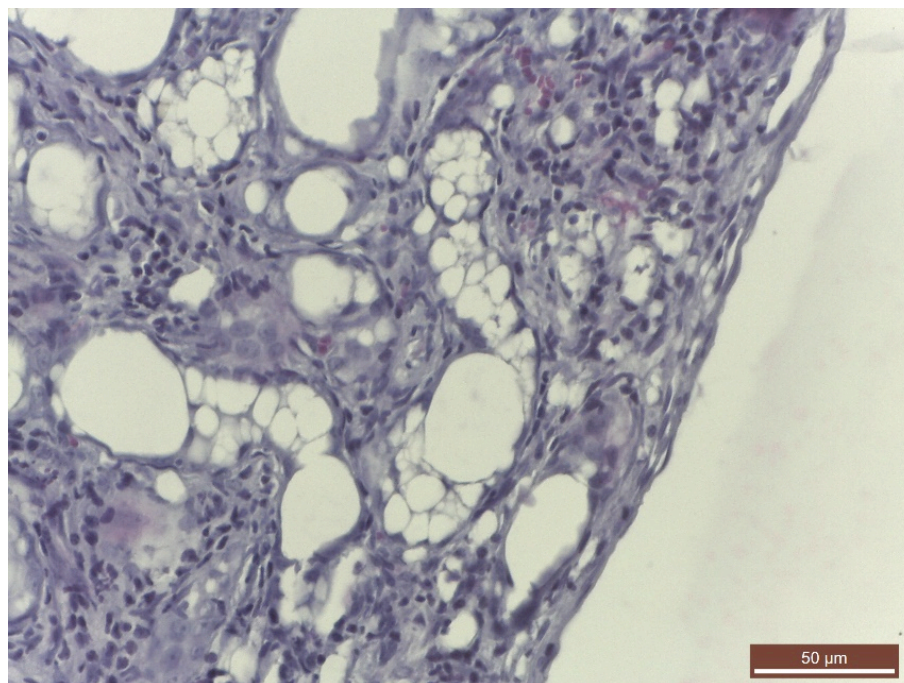


Fig. 6.10. Steatoză tubulară, pisică, 12 ani, IRC,
Col. tricromică Masson
Tubular steatosis, cat, 12 yo, CRF, trichromic Masson stain

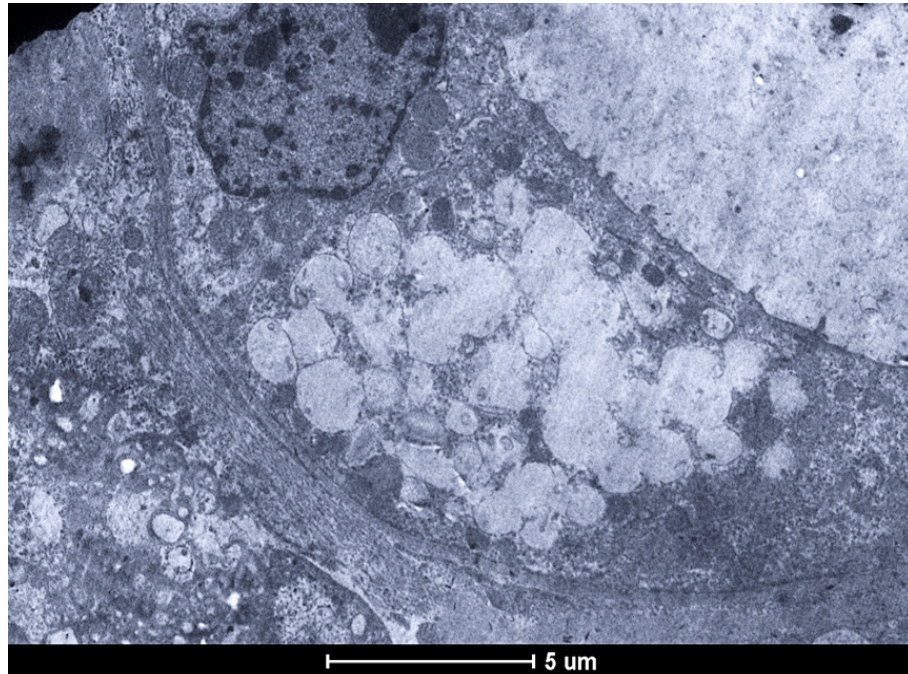


Fig.6.11. Stetatoza tubulară. vacuole lipidice în citoplasma cel. epiteliale tubulare.
Tubular steatosis. Lipidic vacuoles in tubular epithelial cells

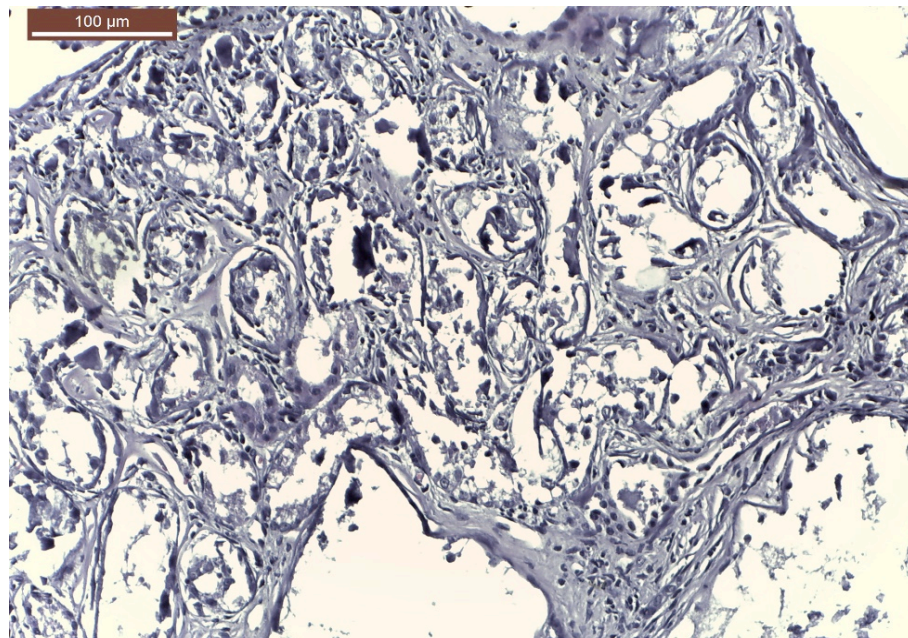


Fig. 6.12. Calcificare și degenerare epitelială tubulară, câine, IRC,
col. tricromică Masson
Calcification and tubular epithelial degeneration, dog, IRC, trichromic Masson stain

Prezența cristalelor de oxalat de calciu sau distrofia cristalină a fost întâlnită la 14% din cazurile studiate, sub forma depozitelor cristaline de culoare gălbuie cu dispoziție radiară, și refringente în lumenul tubilor contorți, care în urma acumulării acestor cristale au suferit degenerări de intensități variabile (fig. 6.13). S-au observat degenerări epiteliale tubulare pornind de la distrofii lipidice, granulare, hialine, până la necroza epiteliului tubular (Maxie G, 2006, Pașca A. S., 2008).

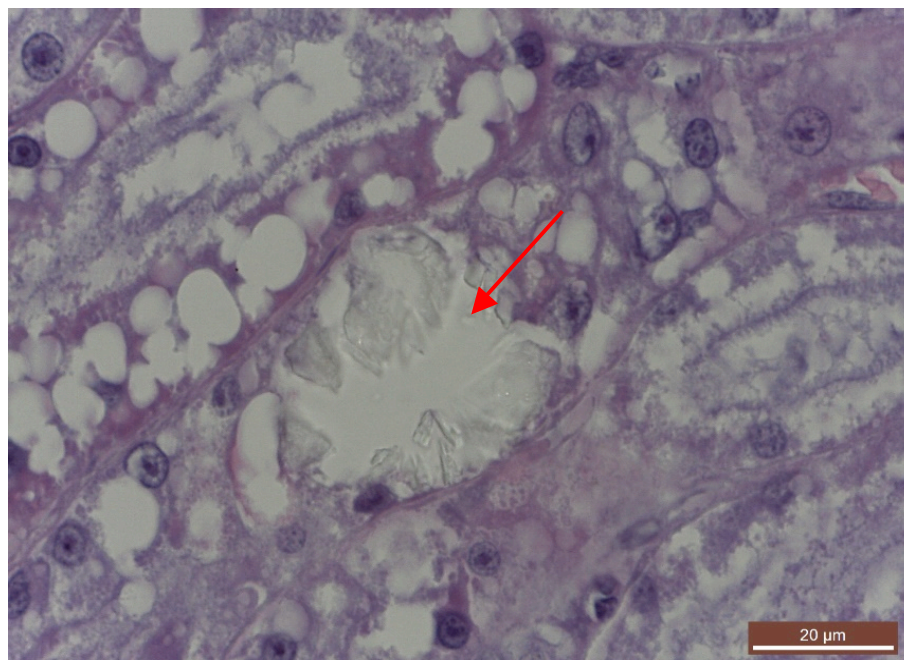


Fig. 6.13 Depozite de oxalat de calciu și necroza epiteliului tubular, col. tricromică Masson
Calcium oxalates deposits and tubular epithelial necrosis, trichromic Masson stain

Inflamația focală cu prezența de țesut fibros redus și infiltrații limfo-histiocitare sunt frecvente în rinichi. Cauzele sunt rareori cunoscute și cel mai probabil nespecifice. Unele leziuni pot fi în primul rând inflamatorii, iar altele pot fi focare de persistență a antigenului (fig. 6.14).

Nefrită interstițială fibroasă sau cronică are o evoluție lentă și se dezvoltă progresiv (fig. 6.15, fig. 6.16). Se caracterizează prin fibroză extinsă, atrofie tubulară generalizată, pierderea nefronilor și micșorarea în volum a rinichilor. Inflamația fibroasă reprezintă formă de finalizare a glomerulonefritelor și nefritelor interstițiale exsudative și limfohistioplasmocitare (Pașca A.S., 2008).

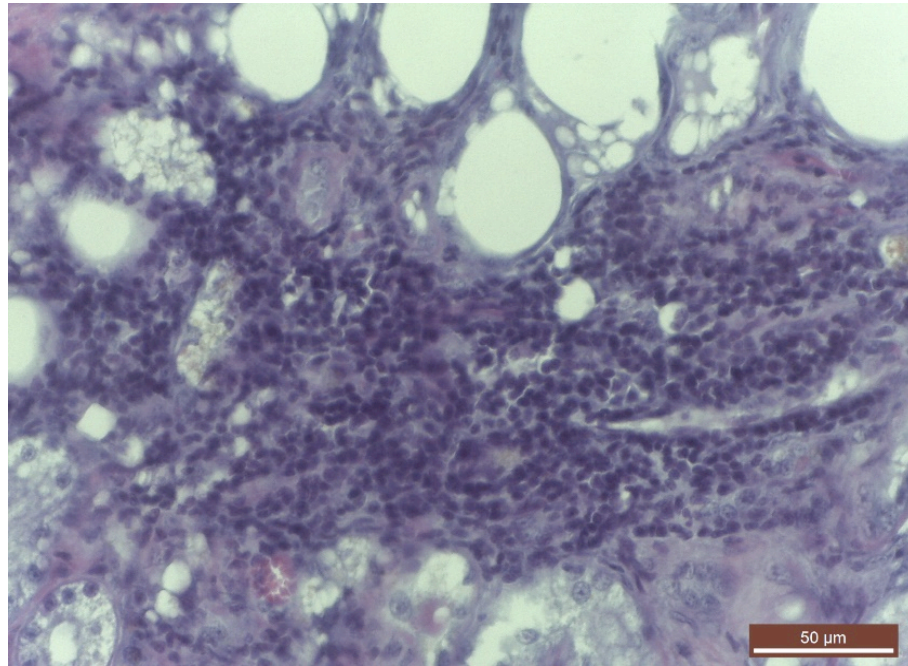


Fig. 6.14. Nefrită interstițială limfo-histiocitară, pisică, IRC,
col. tricromică Masson
Interstitial lymphohistiocytic nephritis, cat, CRF, trichromic Masson stain

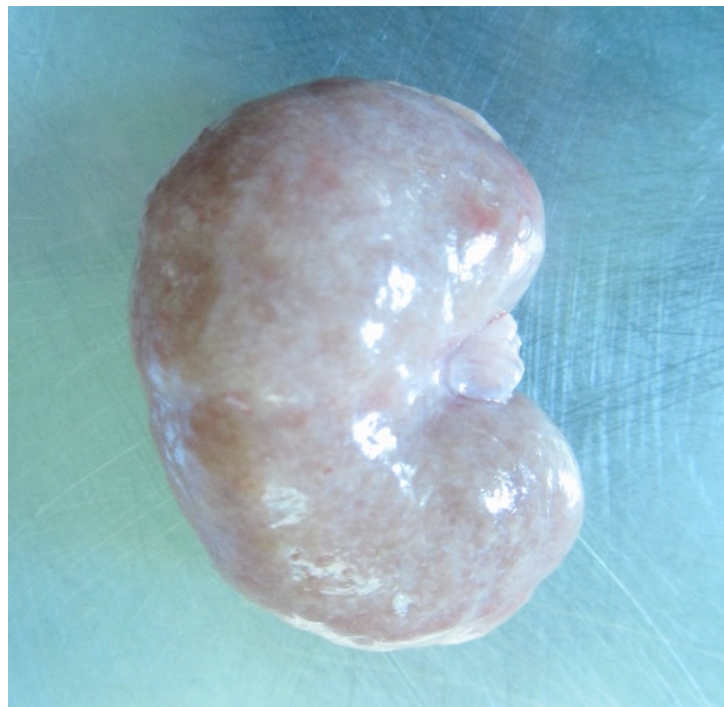


Fig. 6.15. Nefrită fibroasă, aspect macroscopic-original
Fibrous nephritis, gross pathology -original

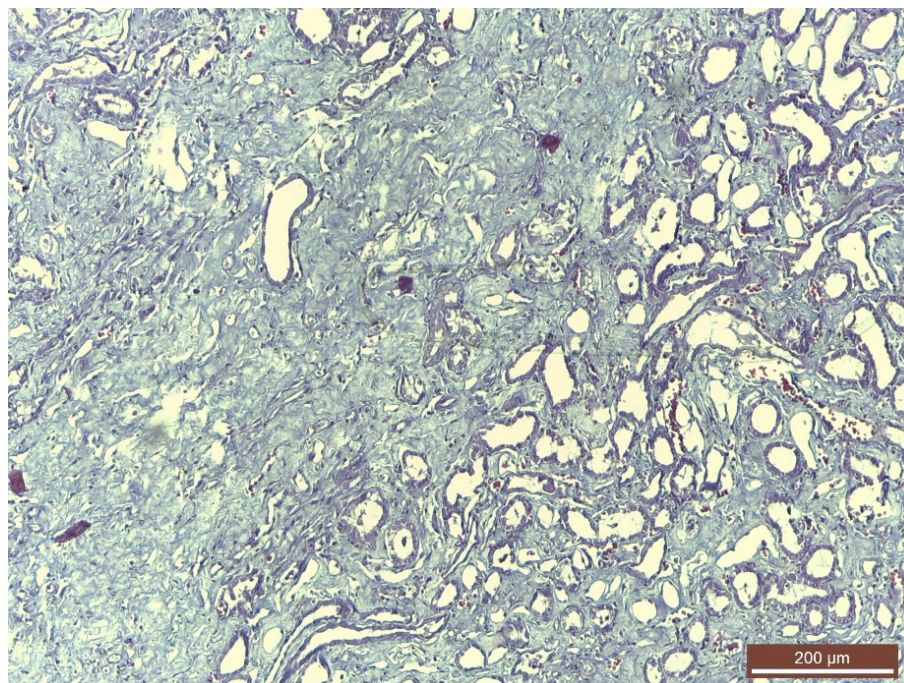


Fig. 6.16. Mineralizare difuză la nivelul medulei, col. tricromică Masson
Mineralizare difuză la nivelul medulei, Trichromic Masson stain

6.2. Aspecte histopatologice și electonmicroscopice în encefalopatia uremică la câine

6.2.1. Materiale și metode

Studiul nostru a cuprins 8 pacienți diagnosticați cu insuficiență renală cronică, aflați în stadiile finale ale bolii, care au fost eutanasiați sau au decedat. La scurt timp după deces, s-au recoltat probe de creier de la nivelul lobilor frontali și din cerebel.

Protocolul de prelucrare histologică (metoda includerii la parafină) presupune ca fragmentele tisulare recoltate să fie fixate în formaldehidă 10% și incluse la parafină, utilizând procesorul de țesuturi Leica TP 1020 (Leica Microsystems GmbH, Germany). Secțiunile la 5μm au fost obținute cu un microtom SLEE CUT 6062 (SLEE Medical GmbH, Germany). După deparafinare, colorațiile utilizate au fost cele de orientare generală: hematoxilină-eozină (HE) și tricromică Masson (HEA). Examinarea histologică s-a realizat cu un microscop optic model Leica DM750 cu cameră digitală integrată Leica ICC50 HD (Leica Microsystems GmbH, Germany). Secțiunile au fost examinate la magnitudine de x100, x200, x400, fotografiate și preluate cu softul Leica Application Suite software (LAS) versiunea 2016.

Pentru evaluarea la microscopul electronic speciemenle au fost prefixate în soluție glutaraldehidă 2% în tampon fosfat, fixate în soluție tetraoxid de osmiu 1% (OsO_4) în tampon fosfat și colorate în masă cu acetat de uranil 2% în alcool etilic 30% și soluție alcoolică de acid fosfotungstic (1,4g acid fosfotungstic în 100 ml alcool 70%). Apoi probele au fost incluse în epon. După secționarea la ultramicrotom, secțiunile s-au colorat în acetat de uranil 1% soluție alcoolică și soluție de citrat de plumb după metoda Reynolds. Probele au fost examinate la microscopul cu transmisie (TEM) model TESLA BS 500.

6.2.2. Rezultate și discuții

În medicina umană există studii care demonstrează conexiuni între afecțiunile renale, în special cele cronice, și o serie de leziuni la nivelul sistemului nervos central (Mogi ș.a., 2011). La baza acestora observații stau o serie de tulburări hormonale, acumularea de metaboliți toxici, perturbări ale metabolismului intermediar, și dezechilibre între neurotransmițătorii inhibitori și excitatori (Vanholder ș.a., 2003).

Congestia meningeală poate fi întâlnită ca modificare a țesutului nervos post-mortem sau poate să apară focalizat, având la bază diverse etiologii (fig. 6.17).

Leziunile cele mai frecvent întâlnite de noi au fost: congestia (fig. 6.18), edemul cerebral și vacuolizările tisulare.

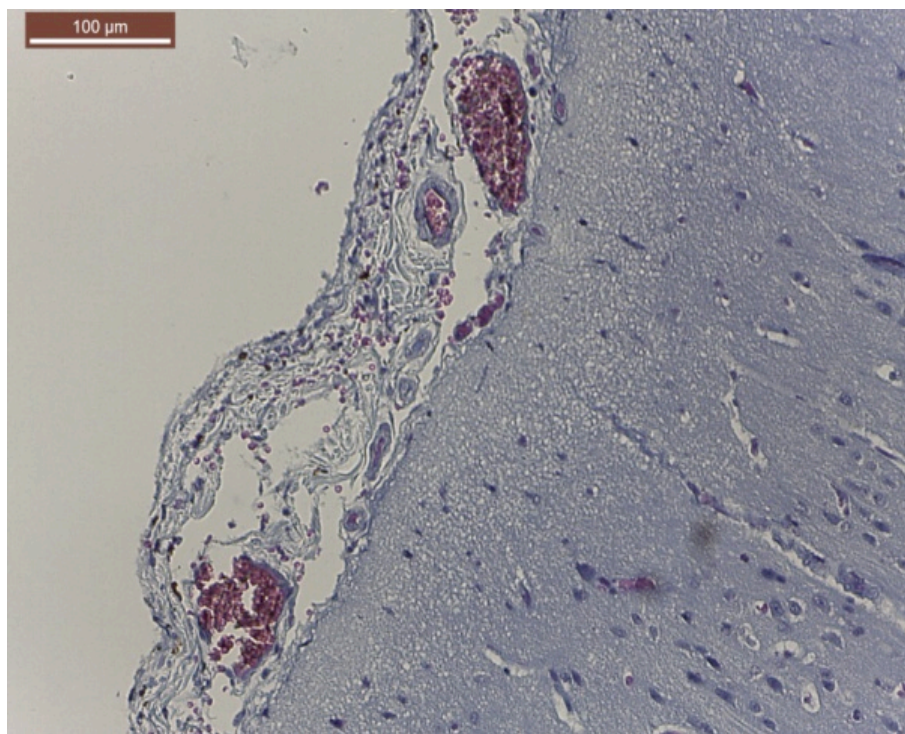


Fig. 6.17. Congestie meningeală, câine, Metis Pekinez, 16 ani, col. tricromică Masson
Meningeal congestion, dog, cross breed Pekinese, 16 yo, trichromic Masson stain

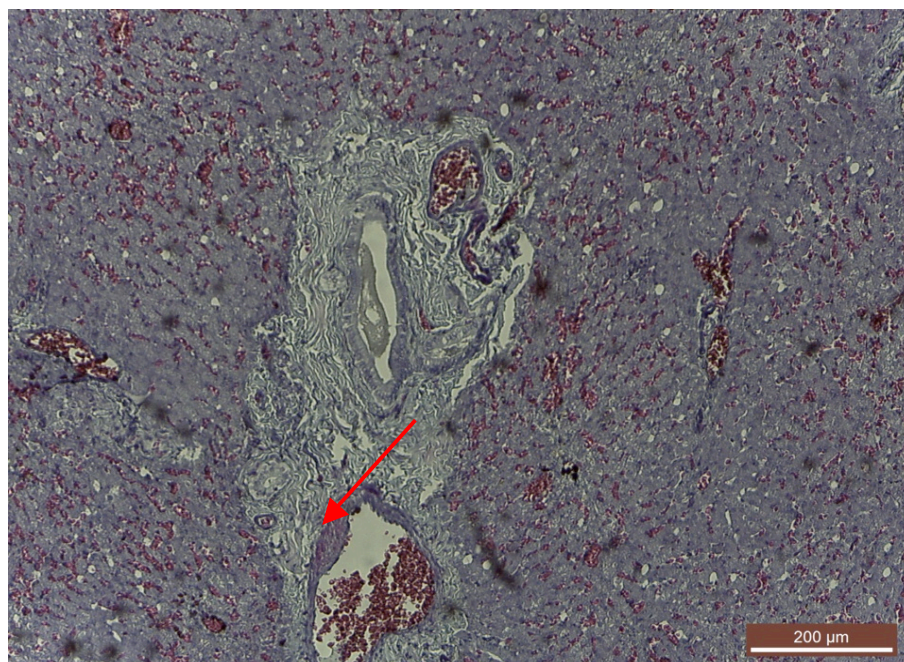


Fig. 6.18. Congestie cerebrală.
Col. tricromică Masson
Cerebral congestion. Trichromic Masson stain

Edemul cerebral s-a tradus prin destinderea spațiilor perivascularare Virchow-Robin prin infiltrarea transsudatului, însoțit de vacuolizări în jurul pericarionilor. În mod obișnuit edemul cerebral este vasogen sau citotoxic. Edemul citotoxic apare ca urmare a creșterii în volum a neuronilor și astrocitelor cu menținerea integrității barierei hemato-encefalice și poate fi cauzat de dezechilibre hidro-electrolitice și osmotice (Ronco ș.a., 2009).

În edemul vasogen pe de altă parte, bariera hemato-encefalică care compresează endoteliul și astrocitele adiacente, este afectată, rezultând apariția edemului interstițial (fig 6.19, fig. 6.20) (Ronco ș.a., 2009). Aceste mecanisme patogenetice care duc la apariția edemului cerebral, pot fi întâlnite în insuficiența renală.

La nivelul cerebelului s-au constatat vacuolizări ale neuronilor Purkinje din stratul mijlociu (fig. 6.21), modificări structurale ce ar putea fi corelate cu fenomene de ataxie și incoordonare în mers ale pacienților cu insuficiență renală.

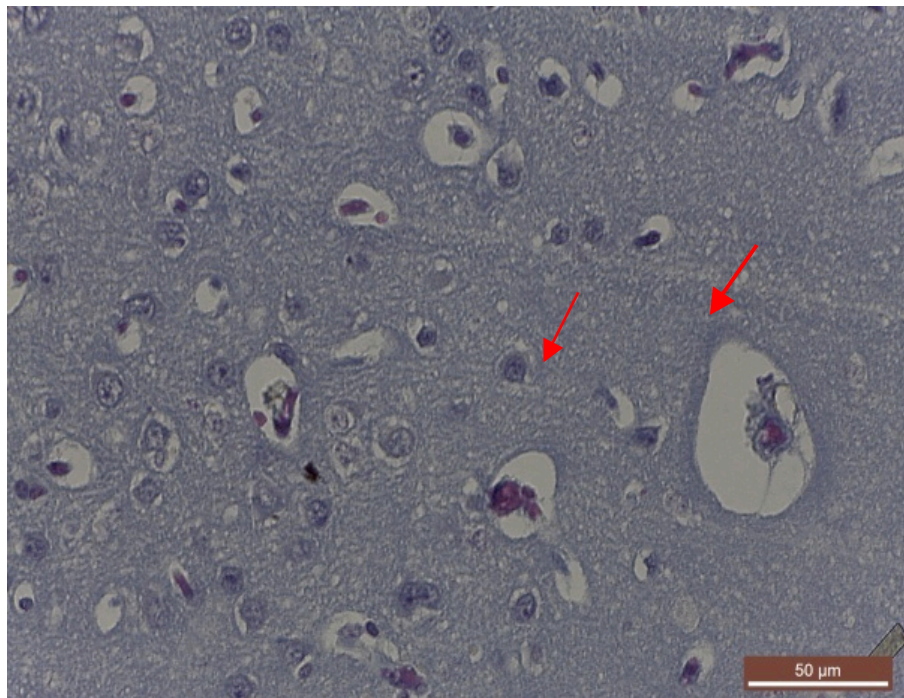


Fig. 6 19. Edem cerebral, Col. tricromică Masson, câine, Metis Pekignese, 16 ani.
Col. tricromică Masson
Cerebral edema, dog, cross breed Pekignese, 16 yo, Trichromic Masson stain

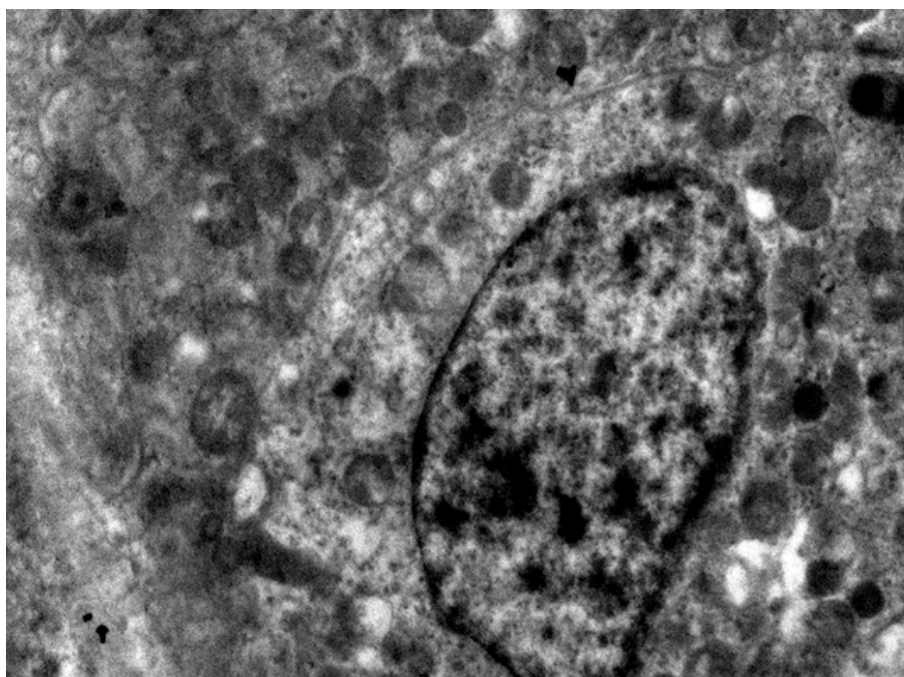


Fig. 6.20. Cortex cerebral TEM, Neuron piramidal cu citoplasma vacuolizată:
Nucleul este hiperhidratat cu dispunere difuză a cromatinei - edem cerebral accentuat, x10000
Cerebral cortex TEM, pyramidal neuron with vacuolated cytoplasm: hyperhydrated nuclei with
diffuse chromatin deposition. Severe cerebral edema. x10000

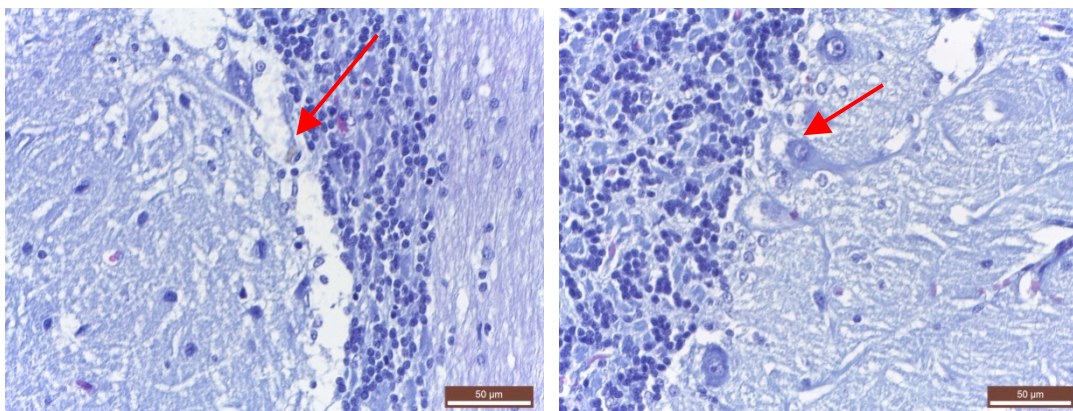


Fig. 6.21. Encefal de căţea Dalmaţian, 9 ani cu IRC. Vacuolizări neuronale în cerebel.

Col. tricromică Masson

Brain. Dog, female, Dalmatian breed, 9 yo with CRF. Vacuolated neurons in cerebellum.

trichromic Masson stain

Insuficienţa renală cronică la pacienţii umani a fost asociată şi cu o serie de disfuncţii cognitive, inclusiv demenţă (Toyoda, ş.a., 2015). Studiile noastre au pus în evidenţă prezenţa unor leziuni care ar putea fi corelate cu un anumit grad de afectare a cogniţiei, leziuni caracterizate prin degenerări neuronale la nivelul cortexului, traduse microscopic prin modificări morfologice importante ale neuronilor: vacuolizarea şi aspectul întunecat al citoplasmei neuronilor, pinoză şi hiperchromatoză nucleară (fig. 6.22, fig. 6.23).

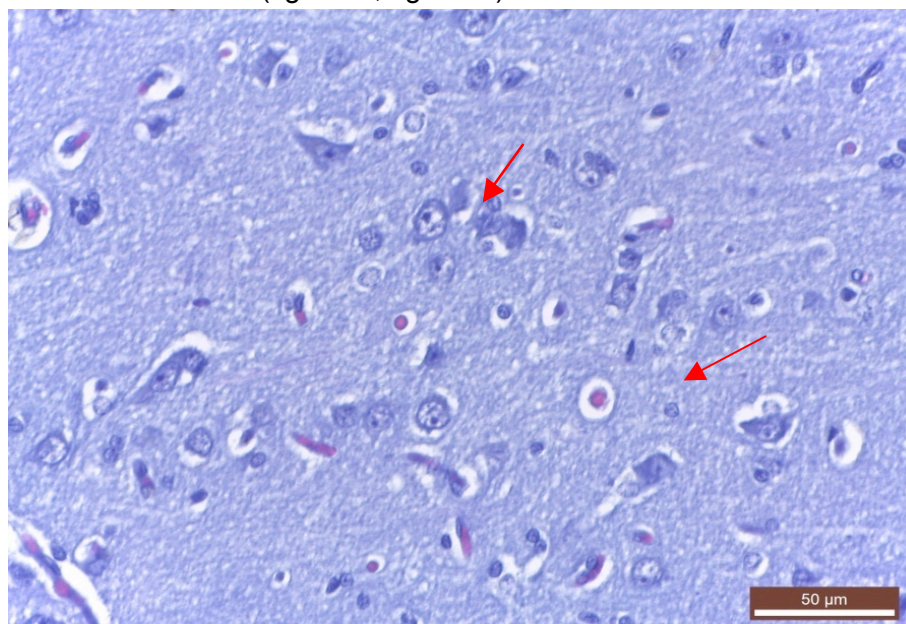


Fig. 6.22. Degenerări neuronale severe: vacuolizarea citoplasmei.

Câine, metis, 10 ani cu IRC. Col. tricromică Masson.

Severe neuronal degenerations: vacuolated cytoplasm, dark cytoplasm. Dog, cross breed, 10 yo with CRF. trichromic Masson stain

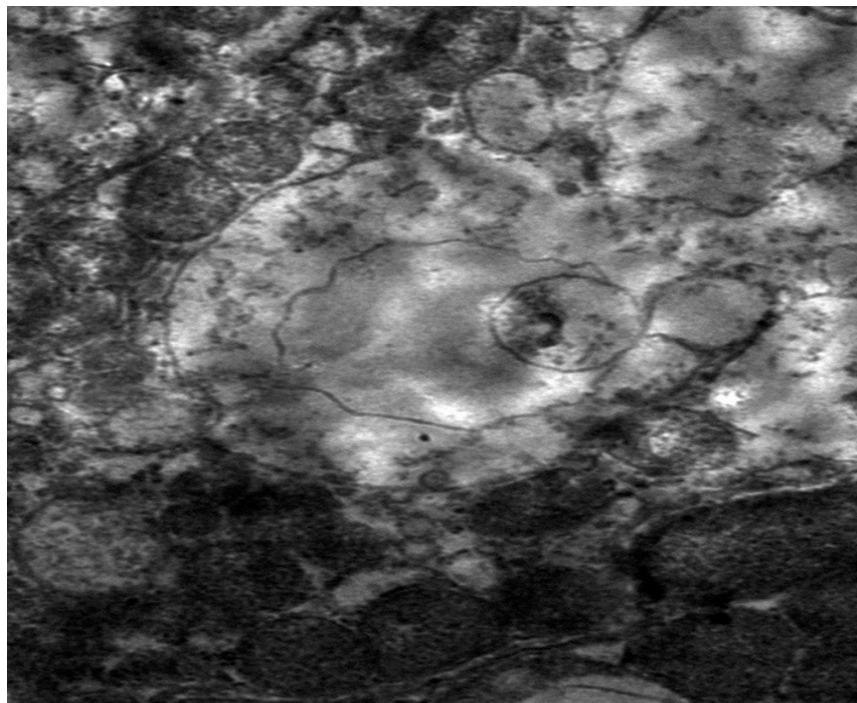


Fig. 6.23 Vacuolizare axonală. Neuron piramidal. Edem cerebral. X16000
Axonal vacuolization. Pyramidal neuron. Cerebral Edema. X16000

Această conexiune lezională cerebro-renală implică o microangiopatie concomitentă atât în creier cât și în rinichi, aceasta fiind bazată pe similitudinile hemodinamice ale acestor două organe. Studiile clinice sugerează că indicatori ai IRC, cum ar fi rata de filtrare glomerulară, proteinuria și albuminuria, pot reprezenta markeri predictibili pentru tulburările circulatorii sanguine (edeme, microhemoragii, ischemii) și degenerative ale SNC. Recent, s-a dovedit că modificările vasculare al creierului contribuie la debutul și progresia tulburărilor cognitive, nu numai a demenței dar și a bolii Alzheimer. Aceste rezultate indică faptul că markeri ai IRC pot fi de mare ajutor în predictibilitatea bolii neuronale viitoare (Mogi ș.a., 2011).

În concluzie, există o asociere evidentă între IRC și leziunile vasculare cerebrale, acestea fiind cauzate în primul rând de acțiunea unor compuși uremici citotoxici, de hipertensiunea cronică, precum și de persistența unor dezechilibre hidro-electrolitice și osmotice.

6.3. Efectul nefroprotector al zincului în insuficiența renală indusă de gentamicină pe model experimental

Gentamicina face parte din clasa antibioticelor aminoglicozidice, antimicrobiene care pentru o lungă perioadă de timp au constituit cauza cea mai frecventă a nefrotoxicității indusă de medicamente, atât în medicina umană cât și în cea veterinară. Efectele nefrotoxice ale gentamicinei se manifestă prin apariția

unei insuficiențe renale acute nonoligurice, cu creșterea treptată a creatininei serice la câteva zile după tratament și scăderea osmolarității urinare (Mingeot-Leclercq ș.a., 1999). Gentamicina este inclusă încă în prima linie de apărare antibacteriană pentru multe infecții grave, având spectru larg atât pentru gram-negativi cât și pentru o serie de germeni gram-pozitivi cum ar fi bacteriile din genul *Staphylococcus* și *Enterococcus*. Pe lângă spectrul extins, gentamicina mai prezintă o serie de avantaje reprezentate de acțiunea sinergică cu beta-lactamii, costul redus al tratamentului și rata rezistenței bacteriene relativ scăzută la acest antibiotic (Selby et al, 2009).

O serie de factori pot fi considerați favorizanți în apariția toxicității renale chiar și la doze terapeutice, printre aceștia numărându-se durata mare a tratamentului, deshidratarea, valori crescute ale creatininei serice și utilizarea concomitentă a furosemidului sau a vancomicinei (Selby et al., 2009).

În mecanismul patogenetic al nefrotoxicității induse de gentamicină un rol foarte important îl joacă stresul oxidativ (Morales et al., 2010). Gentamicina induce apariția unor specii reactive de oxigen care pot activa mediatori pro-inflamatori și pro-apoptotici, ce pot conduce la apariția de leziuni la nivelul parenchimului renal (Ozbeck et al., 2009).

Obiectivul acestui studiu este de a evalua efectul administrării zincului în insuficiența renală acută, indusă de administrarea de gentamicină.

Zincul este un microelement cu roluri foarte importante în dezvoltarea organismului, diviziune celulară, sinteza proteinelor, fiind implicat și în menținerea homeostaziei sistemului antioxidant prin reducerea formării speciilor reactive de oxigen, conferind stabilitatea membranelor celulare și protecție împotriva radicalilor liberi (Bicer et al., 2012, Prasad A. S., 2004).

6.3.1. Materiale și metode

Studiul experimental a fost aprobat de comisia de etică a Universității de Medicină și Farmacie Grigore T. Popa din Iași, în concordanță cu normativele Uniunii Europene cu privire la animalele de experiență, și a fost realizat pe o perioadă de 17 zile.

Pentru experiment s-au utilizat fiole cu soluție de gentamicină 80 mg/2 ml (produse de KRKA®) și clorură de zinc ($ZnCl_2$) (produs de Sigma Aldrich) și diluat ulterior cu apă distilată 1mg/ml. Studiul a fost realizat pe șobolani Wistar adulți cu o greutate corporală de 210g - 320g. Pe parcursul experimentului șobolanii au fost cazați în cuști de plastic la temperaturi de 22-24°C, cu un regim de lumina constant, cu un ciclu de 12 ore lumină/12 ore întuneric. Animalele au avut acces liber la apă și furaj granulat standard.

După o perioadă de carantină de 7 zile șobolanii au fost distribuiți aleatoriu în 4 grupuri de câte 12 exemplare fiecare. Ulterior s-au administrat intreperitoneal după cum urmează:

- La grupul I (control) apă distilată 0.5 ml/100 g greutate corporală timp de 17 zile
- În grupul II (Ge) s-a administrat apă distilată 0.5 ml/100 g greutate corporală în primele 10 zile iar apoi gentamicină (Ge) în doză de 80mg/kg timp de 7 zile
- Pentru grupul III (Ge+Zn) s-au administrat ZnCl_2 în doză de 5mg/kg/zi în primele 10 zile, apoi Ge în doză de 80 mg/kg pentru următoarele 7 zile. Cele 2 substanțe au fost administrate la 2 ore distanță una de cealaltă
- În grupul IV (Zn) s-a administrat ZnCl_2 în doză de 5mg/kg/zi, timp de 17 zile.

Șobolanii au fost plasați în cuști metabolice (fig. 6.24) pentru recoltarea probelor de urină. Pentru recoltarea probelor de sânge din plexul retro-orbital animalele au fost anesteziate.

Au fost determinate ureea serică, creatinina, statusul antioxidant, superoxid dismutaza, glutatión peroxidaza și proteinele din urină, utilizând analizorul biochimic Rx Daytona (RANDOX) și kiturile de diagnostic RANDOX. Determinările au fost realizate înainte de a induce insuficiența renală (I_0) și în zilele 3, 7 și 10 de la administrarea Ge.



Fig. 6.24. Cușcă metabolică pentru recoltarea urinei
<http://www.braintreesci.com/prodinfo.asp?number=370>
Metabolic cage for urine sampling

Pentru examenele histopatologice în zilele 3, 7 și 10 de la administrarea Ge au fost eutanasiați câte 3 șobolani din fiecare grup, apoi ambii rinichi ai fiecărui exemplar au fost recoltați.

Organele recoltate au fost fixate în soluție de formol 10%, apoi au fost incluse la parafină cu ajutorul procesorului de țesuturi Leica TP1020 (Leica Microsystems GmbH, Germania). Secțiunile de 5 μ m grosime au fost obținute cu microtomul SLEE CUT 6062 (SLEE Medical GmbH, Germania). După deparafinare și colorare hematoxilina-eozină, examinarea acestora s-a realizat cu ajutorul microscopului Leica DM 750 cu cameră digitală integrată Leica ICC50 HD. Microfotografiile au fost facute utilizând software-ul Leica Application Suit, versiunea 4.2.

Pentru a evalua modificările histologice de la nivelul tubilor uriniferi s-au analizat 50 de tubi din regiunea proximală a rinichiului, atât din corticală cât și din medulară. Examinarea morfologică s-a efectuat conform directivelor publicate de Crismann ș.a (2004). Modificările înregistrate și cuantificate au fost: degenerarea și necroza tubilor uriniferi, inflamația interstițială și necroza. Pentru analiza răspunsului inflamator au fost examinate secțiunile în totalitate, în scopul estimării cantitative a infiltratului inflamator. În funcție de gravitatea procesului inflamator au fost stabilite 5 grade de evoluție pentru necroza tubulară, leziunile epiteliale degenerative și regenerarea epitelială, având următoarea semnificație:

- Gradul 0 – absența leziunilor
- Gradul I – modificări ușoare (< 25%)
- Gradul II – modificări moderate (25 – 50 %)
- Gradul III – leziuni moderat severe (50 – 75 %)
- Gradul IV – leziuni grave (> 75%)

Pentru inflamația interstițială au fost stabilite 3 grade de severitate:

- Gradul 0 – absența celulelor inflamatorii
- Gradul I – reacție inflamatorie moderată (rare limfocite, macrofage, histiocyte)
- Gradul II – reacție inflamatorie pronunțată (numeroase limfocite și histiocyte) (Hayes W. A., 2007)

Pentru toate datele obținute au fost calculate media și deviația standard (SD). Analiza statistică a rezultatelor biochimiei serice și a urinei s-a realizat utilizând testul ANOVA pentru analiza simplă a variației (*one-way* ANOVA) și pentru comparație multiplă (testul post-hoc Tukey). Datele histopatologice au fost analizate utilizând testul Kruskal-Wallis. Pragul de semnificație statistică a fost stabilit la $p < 0.05$.

6.3.2. Rezultate și discuții

În grupul Ge s-au observat creșteri semnificative ale creatininei și ureei serice după 7 zile de la administrarea gentamicinei, în comparație cu momentul inițial I_0 al experimentului ($p < 0.001$). Creșteri ale ureei și creatininei au fost

observate și în grupul Ge + Zn la 7 zile după administrarea Ge, însă la un nivel mult mai redus comparativ cu grupul Ge ($p < 0.0001$). Analizele biochimice urinare au evidențiat creșteri semnificative ale proteinuriei, atât în grupul Ge cât și în grupul Ge+Zn, comparativ cu I_0 (Tabel 6.1).

Administarea Zn a avut ca efect reducerea semnificativă a proteinuriei în grupul Ge+Zn comparativ cu grupul Ge, la 7 zile de la administrare ($p < 0.01$). În grupul Zn nu s-au observat variații semnificative ale proteinuriei pe durata experimentului.

Tabel 6.1/Table 6.1

Variația creatininei serice, ureei serice și a proteinelor urinare
în grupurile Ge, Ge+Zn, Zn și control (Teslariu ș.a., 2016)

Variation of serum creatinine, urine and urinary proteins in the Ge, Ge + Zn, Zn
and control groups (Teslariu et al., 2016)

Parametru	n	Momentul media $\pm$ SD	Grupul Ge media $\pm$ SD	Grupul Ge+Zn media $\pm$ SD	Grupul Zn media $\pm$ SD	Grupul control media $\pm$ SD
Uree mg/dl	6	I_0	33.42 ± 3.13	32 ± 2.91	32.34 ± 2.71	32.26 ± 2.63
	6	3 zile	35.5 ± 2.08	33.4 ± 3.04	31.62 ± 4.65	33.46 ± 3.59
	6	7 zile	$203 \pm$ 33.14^*	$61.8 \pm 18.47^{**}$	32.54 ± 4.36	32.86 ± 4.62
	6	10 zile	46 ± 6.73	44.8 ± 5.26	31.06 ± 3.34	32.70 ± 4.01
Creatinină mg/dl	6	I_0	0.39 ± 0.03	0.38 ± 0.02	0.48 ± 0.08	0.61 ± 0.02
	6	3 zile	0.41 ± 0.05	0.36 ± 0.02	0.56 ± 0.11	0.59 ± 0.04
	6	7 zile	$2.95 \pm 0.61^*$	$0.64 \pm 0.14^{**}$	0.48 ± 0.08	0.59 ± 0.04
	6	10 zile	0.59 ± 0.15	0.44 ± 0.11	0.52 ± 0.14	0.62 ± 0.04
Proteine urinare mg/dl	6	I_0	0.43 ± 0.04	0.45 ± 0.05	0.44 ± 0.05	0.41 ± 0.03
	6	3 zile	2.10 ± 0.15	1.34 ± 0.32	0.43 ± 0.07	0.43 ± 0.07
	6	7 zile	$4.59 \pm 1.08^*$	$2.2 \pm 0.24^{**}$	0.48 ± 0.06	0.44 ± 0.08
	6	10 zile	1.91 ± 0.12	1.66 ± 0.59	0.45 ± 0.04	0.42 ± 0.09

* $P < 0.001$ versus I_0 ; ** $P < 0.001$ versus Ge; n = numărul de probe.

Volumul urinar a crescut la 7 și 10 zile după administrarea gentamicinei în grupurile Ge și Ge+Zn. Deși diureza a crescut în ambele grupuri, este totuși mai scăzută în grupul Ge+Zn (fig. 6.25).

Evaluarea parametrilor protecției antioxidante împotriva stresului oxidativ status antioxidant total (TAS), superoxid dismutaza (SOD), glutatión peroxidaza (GP) a evidențiat scăderea valorilor în grupul Ge comparativ cu I_0 , în ziua a 7-a post-administrare observându-se diferențele cele mai importante ($p < 0.0001$). Administrarea de Zn după 7 zile a determinat creșteri ale TAS, SOD și GP în grupul Ge+Zn comparativ cu grupul Ge.

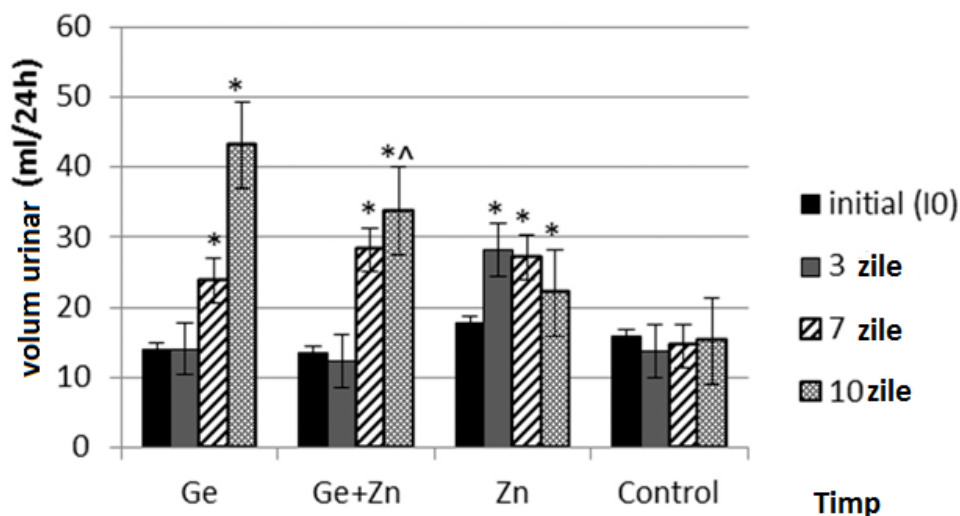


Fig. 6.25 Variația volumului urinar (ml/24 h) în grupurile Ge, Ge+Zn, Zn și control,

*P < 0.05 versus I₀.

Urine volum variation (ml/24 h) in Ge, Ge+Zn, Zn and control groups, *P<0.05 versus I₀.

În grupul Zn parametrii menționați au prezentat cel mai ridicat nivel la 7 zile comparativ cu I₀ (fig 6.26).

Analiza semicantitativă a modificărilor histopatologice (degenerare, necroză, regenerare, inflamație) este prezentată în fig. 6.27.

Toate preparatele din grupul Ge au prezentat necroză tubulară extinsă ce a cuprins peste 90 % din tubii uriniferi proximali și liza membranei bazale. Un singur exemplar a prezentat semne ale unui proces degenerativ (gradul I) cu detritusuri necrotice și membrana bazală intactă (Teslariu ș.a., 2016).

Tubii uriniferi sunt grav afectați de necroza nefrocitelor și apar denudați, cu distincte depozite de natură proteică și lipidică, resturi (detritus) celulare și corpi apoptotici (apoptoza celulară). Interstițiul renal prezintă o reacție limfohistiocitară moderată cu rol reparator (fig.6.28). Glomerulii renali nu prezintă modificări semnificative, se observă însă capilarele destinse și încărcate cu hematii (congestie) (Teslariu ș.a., 2016).

În grupul Ge, la nivelul medularei renale se poate observa proteinuria accentuată, majoritatea tubilor fiind obliterateți de cilindri hialini (fig. 6.29).

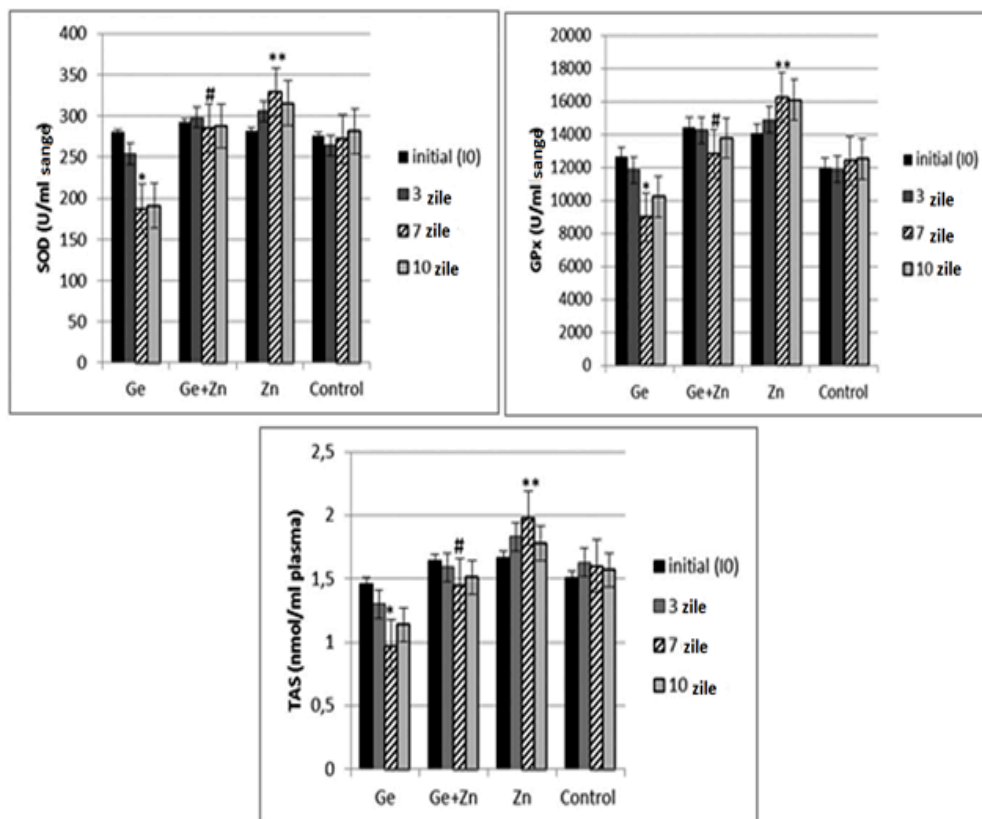


Fig. 6.26. Variația TAS, SOD, și GPx în grupurile Ge, Ge+Zn, Zn, și Control (media $\pm$ S.D.), *p < 0.0001 versus I0; **p < 0.001 versus I0; #p < 0.0001 versus Ge.
Variation of TAS, SOD and GPx in Ge, Ge+Zn, Zn and control groups (media $\pm$ S.D.), *p < 0.0001 versus I0; **p < 0.001 versus I0; #p < 0.0001 versus Ge

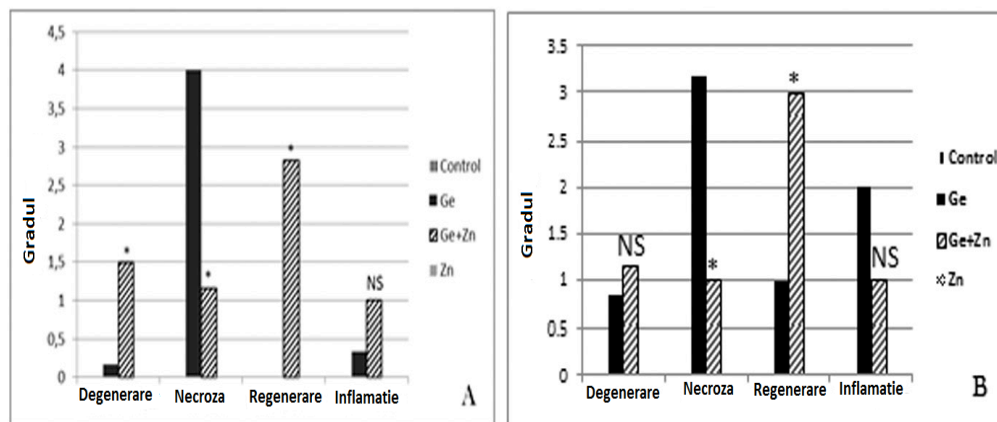


Fig. 6.27 Gradul leziunilor histopatologice rezultate din analiza semicantitativă la 7 (A) și la 10 zile (B).
Semiquantitative analysis of histopathological lesions at 7 (A) and 10 days (B).

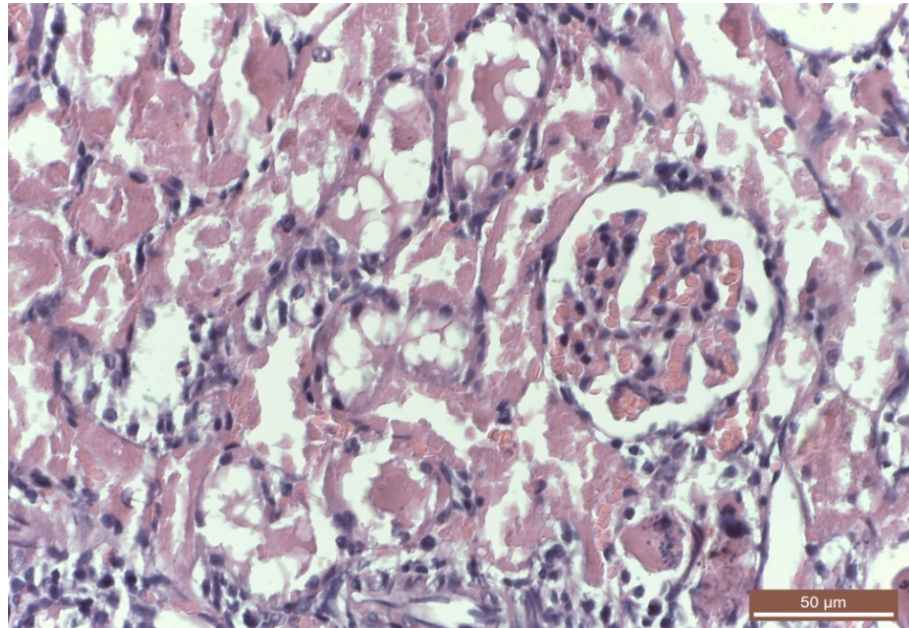


Fig.6.28. Corticală renală Grupul Ge-necroză severă, inflamație moderată, regenerare redusă, col. HE

Renal cortex. Ge group - sever necrosis, moderate inflammation, low regeneration, HE stain

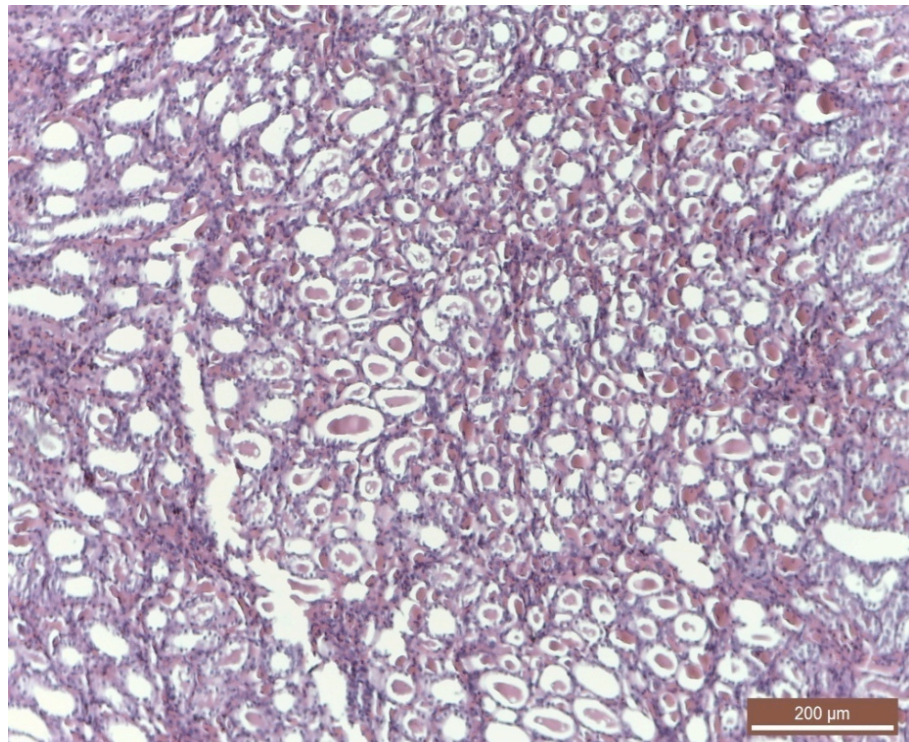


Fig. 6.29 Medulară renală. Grupul Ge-cilindrurie severă, col. HE

Renal medulla. Ge group- severe cylindruria, HE stain

După 7 zile de la administrarea gentamicinei, în grupul Ge+Zn glomerulii prezentau capilarele mărite în diametru și supraîncărcate cu hematii (congestie capilară glomerulară) iar tubii uriniferi aveau epiteliul tumefiat și lumenele micșorate. Nefrocitele prezintau semne reduse de degenerare (gradul III). În spațiile de filtrare glomerulară ale corpusculilor Malpighi s-au observat depozite proteice. Reacția inflamatorie era redusă, cu rare celule mononucleare infiltrate în spațiul interstițial (fig. 6.30).

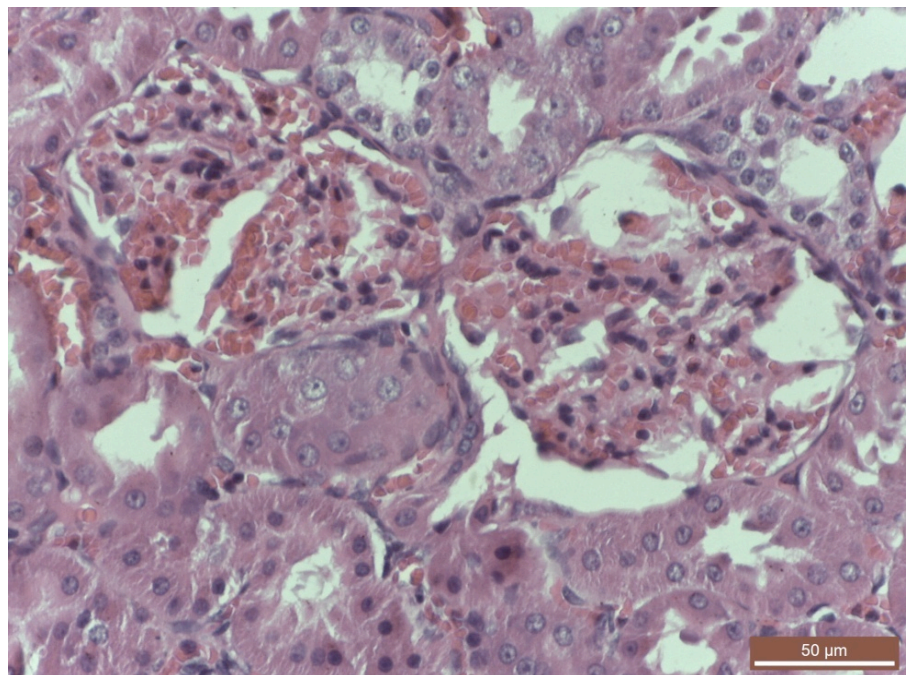


Fig. 6.30. Corticală renală. Grup Ge-Zn, congestie glomerulară, epiteliu tubular tumefiat, col. HE
Renal cortex. Grup Ge-Zn, glomerular congestion, enlarged tubular epithelium, HE stain

La nivelul medularei, tubii uriniferi prezintă lumene normale în diametru, material proteic intraluminal fiind observat doar la un număr redus de tubi (proteinurie redusă) (fig. 6.31).

La 10 zile de la administrarea gentamicinei în cadrul grupului Ge au fost identificate la nivel renal necroză de gradul 3 și 4, procesul de necroză fiind mai accentuat decât cel de degenerare epitelială. Aceste modificări au fost întâlnite predominant în corticala renală. Procesul inflamator observat la nivel interstițial a fost caracterizat prin infiltrat predominant limfohistiocitar, iar procesul de regenerare epitelială redus (fig. 6.32).

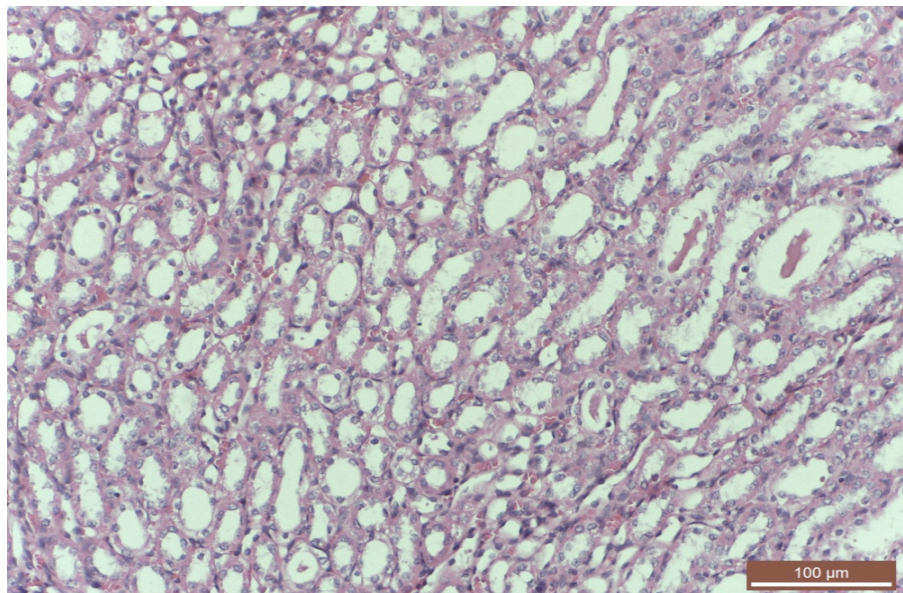


Fig. 6.31. Medulara renală. Grup Ge-Zn, proteinurie redusă, col. HE
Renal medulla. Ge-Zn group, low proteinuria, HE stain

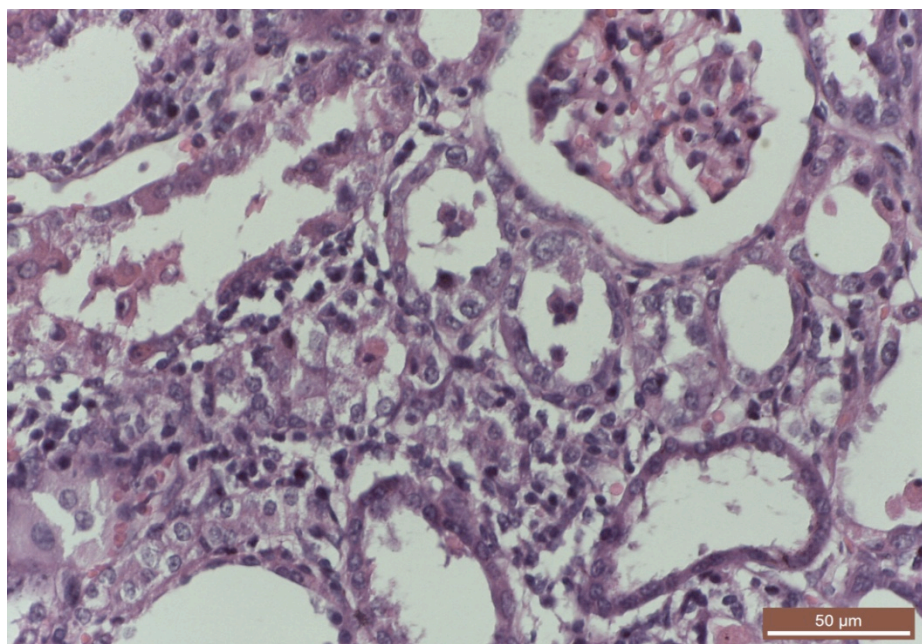


Fig. 6.32. Corticala renală. Grupul Ge, infiltrat inflamator limfohistiocitar în interstițiu, col. HE
Renal cortex. Grupul Ge, interstitial inflammatory infiltrate, HE stain

La nivelul medularei s-a putut constata persistența într-un număr mai mic a cilindrilor hialini la nivelul tubilor uriniferi (fig. 6.33).

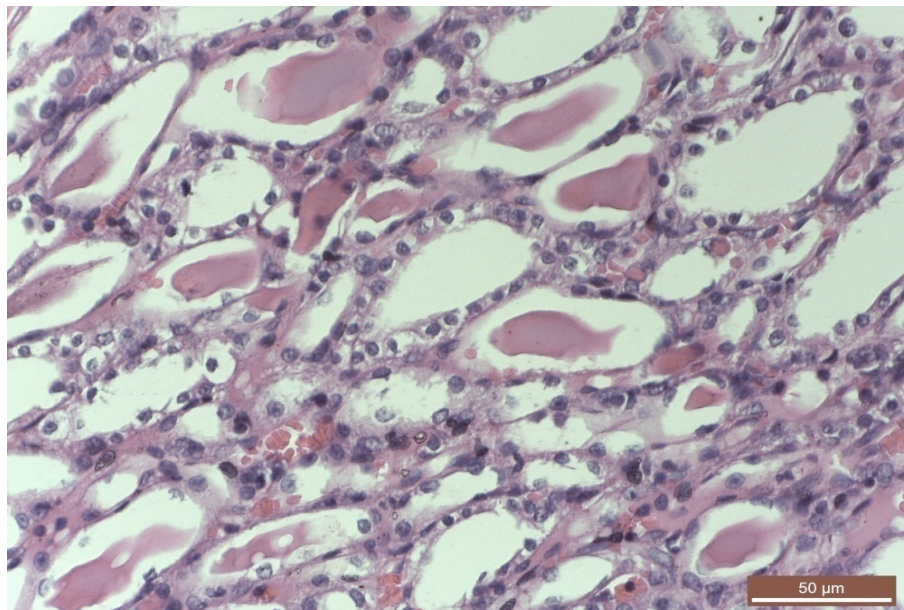


Fig. 6.33. Medulară renală grupul Ge, proteinurie moderată. Col HE x 400
Renal medulla. Ge group, moderate proteinuria, HE stain x 400

În cazul lotului Ge+Zn, după 10 zile, s-a observat predominanța proceselor de regenerare de gradul III, cu celule renale tinere distribuite pe membrana bazală. Reacția inflamatorie a fost redusă (gradul I) la majoritatea șobolanilor. Procesul degenerativ este de asemenea redus (gradul I), caracterizat prin descuamări și vacuolizări ale nefrocitelor (fig. 6.34).

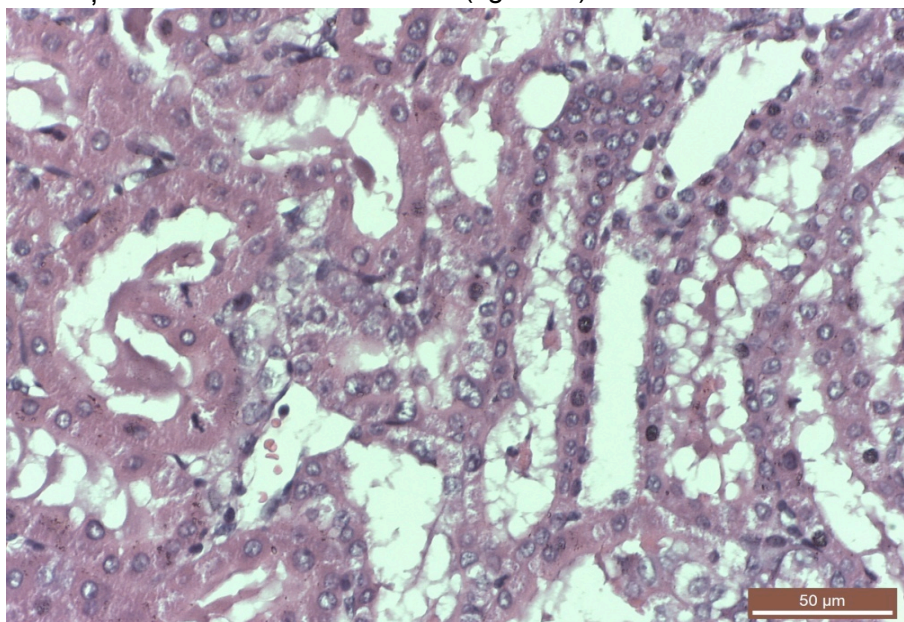


Fig. 6.34. Corticală renală grupul Ge+Zn-proteinurie, descuamări și
vacuolizări ale nefrocitelor, col. HE

Renal cortex. Ge+Zn group - proteinuria, desquamation and vacuolization of nephrocytes, HE stain

Aspectul medularei renale în grupul Ge+Zn se caracterizează prin modificări minime ale segmentelor distale ale tubilor ce constau în degenerări izolate ale nefrocitelor și vacuolizări citoplasmatiche. Rari cilindri hialini pot fi observați în lumenul tubilor (fig. 6.35).

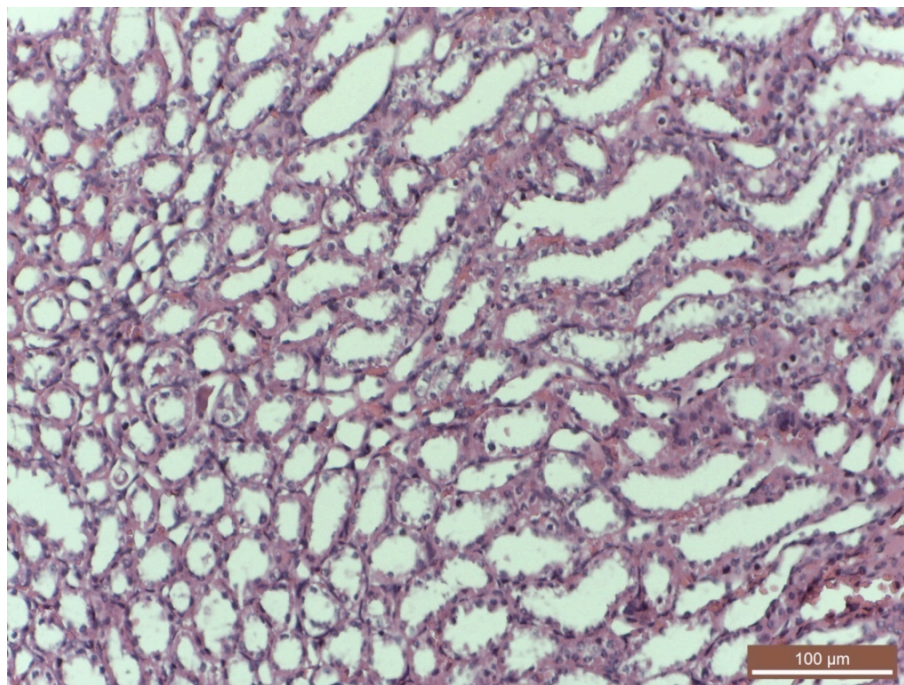


Fig. 6.35. Medulară renală grupul Ge+Zn-rari cilindri hialini col HE
Renal medulla. Ge+Zn group - rare hyaline cylinders, HE stain

În mod tradițional, termenul de stres oxidativ descrie dezechilibrul între generarea de oxidanți și antioxidanți. În contextul uremiei, termenul implică un dezechilibru în favoarea pro-oxidanți, care duce la oxidarea macromoleculelor și deteriorarea țesuturilor.

Mai multe studii au demonstrat creșterea stresului oxidativ la pacienții cu IRC (Daschner ș.a., 1996). În medicina umană, stresul oxidativ joacă un rol esențial în patogeneza leziunilor vasculare, contribuind astfel la morbiditatea și mortalitatea asociate afecțiunilor cardiovasculare (Becker ș.a., 1997). Bolile cardiovasculare nu contribuie în mod semnificativ la evoluția clinică a majorității animalelor de companie diagnosticate cu IRC, probabil din cauza duratei mai scurte a bolii.

Oxidantii din plasmă nu sunt ușor detectabili, deoarece sunt compuși foarte reactivi care au în general timpi de înjumătățire de numai câteva secunde. Cu toate acestea, markerii stresului oxidativ, cum ar fi lipidele, carbohidrații și proteinele produse de oxidare, au fost detectate în plasmă și țesuturi la pacienții uremici.

Mai multe studii au găsit o corelație pozitivă între creșterea concentrațiilor plasmatică ale indicatorilor stresului oxidativ și punctele critice ale afecțiunilor cardiovasculare la pacienții umani cu IRC (Busch ș.a., 2004, Deschamps-Latscha ș.a., 2005).

Deoarece există dovezi relevante care indică creșterea stresului oxidativ cu mult înainte de debutul bolii renale în stadiul final, strategiile terapeutice pot include administrarea de agenți antioxidanți cât mai devreme de la diagnosticarea bolii. Medicamentele ce pot fi folosite includ enzime cum ar fi superoxidul dismutaza, precum și vitaminele E și C. Dozele mari de vitamină E au rolul demonstrat de reducere a aterosclerozei la șobolanii cu IRC, deși același efect nu a fost încă documentat la om.

Stresul oxidativ joacă un rol esențial în nefotoxicitatea indusă de gentamicină. Gentamicină determină producția de specii reactive de oxigen (ROS) de către mitocondrii, care sunt capabile să afecteze multe molecule celulare, printre care proteine, lipide, acizi nucleici, ducând în final la moartea celulei. De asemenea, ROS contribuie la contracția mezangială și vasculară și participă la evoluția procesului inflamator. Răspunsul inflamator se declanșează inițial ca mecanism de apărare, contribuind ulterior la progresia insuficienței renale, motiv pentru care se consideră ca antioxidanții sunt foarte eficienți în atenuarea afectării renale induse de gentamicină (Lopez-Novoa ș.a., 2011, Quiros ș.a, 2011).

Pe lângă stresul oxidativ pe care administrarea de gentamicină este capabil să-l producă, mai apar o serie de mecanisme implicate în etiopatogeneza insuficienței renale indusă de gentamicină. Gentamicina este de asemenea implicată în afectarea funcției, membranare prin alterarea stratului fosfolipidic membranal, cu efecte asupra echipamentului enzimatic, blocând activitatea fosfolipazelor și svingomielinazelor (Pasca A. S., 2016, Teslariu ș.a., 2016).

Zincul este component a peste 2700 de enzime din organismul animal, având funcții structurale, catalitice și regulatorii. Zincul contribuie la menținerea balanței redox printr-o serie de mecanisme: - reglarea producție de antioxidanți și a radicalilor liberi

- asocierea dinamică a zincului cu sulf în grupurile de proteine cisteină, din care zincul poate fi eliberat prin oxid nitric, peroxizi, glutatation și alte tipuri de oxidanți ai tiolului;

- inducția mediată de zinc a metalotioneinei, care eliberează metalul în condiții oxidative și care acționează ea însăși prin eliminarea oxidanților

- implicarea zincului în reglarea metabolismului glutatationului și a reacțiilor redox

- reglarea directă sau indirectă a semnalizării redox (Oteiza P.I., 2012)

Studiul nostru a demonstrat că leziunile renale induse de administrarea de gentamicină se reduc semnificativ prin suplimentarea cu Zn. În gupul în care s-a administrat concomitent Ge și Zn, examinarea țesutului renal a evidențiat leziuni

mai puțin grave comparativ cu grupul care a primit doar Ge, cu fenomene degenerative reduse și leziuni epiteliale minore (gardul I comparativ cu gradul III). Necroza tubulară a fost de asemenea mai redusă comparativ cu grupul Ge. Regenerarea tubulară a fost de intensitate medie, iar reacția inflamatorie a fost de gradul I.

Îmbunătățirea parametrilor renali după administrarea Zn în insuficiența renală indusă experimental cu ajutorul gentamicinei este compatibilă cu studiile care demonstrează implicarea deficienței de Zn în patogeneza insuficienței renale la pacienții umani (Krachler ș.a., 2000).

Noutatea studiului nostru constă în evaluarea *in vivo* a efectelor administrării clorurii de zinc asupra stresului oxidativ și modificărilor histologice renale la șobolanii cu IR indusă de administrarea gentamicinei. Datele obținute sugerează ca administrarea de Zn ar putea fi benefică în tratamentul cu gentamicină, în special la pacienții cu deficit de Zn.

6.4. Concluzii parțiale

Cele mai frecvente leziuni întâlnite la pacienții cu insuficiență renală studiați de noi au fost glomerulonefrita, tubulonefrita și nefrita interstițială.

Studiul electronomicroscopic a evidențiat prezența de depozite imune la nivelul membranei bazale glomerulare.

În encefalopatia uremică, leziunile evidențiate au fost edemul și congestia cerebrală, precum și vacuolizările neuronale, aspecte observate și la microscopul electronic.

Studiul nostru a dovedit ca administrarea de zinc are efect nefroprotector în insuficiența renală indusă de Ge pe model experimental. Tratamentul cu Zn a redus semnificativ afectarea funcției renale cu o îmbunătățire evidentă a parametrilor renali și reducerea proteinuriei. De asemenea, leziunile histologice au fost mai reduse la grupul de șobolani care a primit Zn.

CAPITOLUL VII. CONCLUZII GENERALE

CHAPTER VII. FINAL CONCLUSIONS

1. Encefalopatia uremică apare în insuficiența renală acută sau cronică atunci când rata de filtrare glomerulară scade sub 10%, iar simptomatologia este nespecifică. Cele mai întâlnite semne neurologice fiind alterări ale conștienței care apar în 33% din cazuri, crizele epileptiforme, de apatie, iritabilitate, ataxie, tremurături, mioclonii, a căror gravitate depinde stadiul de evoluție al insuficienței renale.

2. Mecanismele fiziopatologice au la bază o serie de modificări produse de metaboliți ai proteinelor și aminoacizilor la nivelul întregului sistem nervos, asociate cu tulburări locale și generale de metabolism. Toți acești factori combinați duc la un dezechilibru între activitatea excitatorie și inhibitorie la nivel cerebral.

3. Etiologia nefropatiilor este diversă, iar manifestările clinice uneori nespecifice, de aceea pentru stabilirea unui diagnostic de certitudine se impune utilizarea unei game largi de investigații clinice și paraclinice.

4. Din punct de vedere al localizării procesului patologic, cele mai des întâlnite nefropatii la carnivorele de companie sunt nefropatiile glomerulare: glomerulonefritele și amiloidoza.

5. Glomerulonefrita membrano-proliferativă se caracterizează prin proliferarea endocapilară și îngroșarea membranei bazale glomerulare, fiind cea mai frecvent întâlnită nefropatie glomerulară la câinii cu vârste medii de 5-6 ani. Are caracter progresiv, fiind cauza principală a insuficienței renale cronice la câine.

6. Nefropatia membranoasă este cea mai frecventă glomerulopatie diagnosticată la pisici, la care celelalte tipuri de glomerulopatii sunt rare, și a doua cea mai frecventă la câini.

7. Insuficiența renală acută poate fi definită ca o scădere bruscă a funcției renale, împreună cu reducerea ratei de filtrare glomerulară, desfășurându-se de obicei pe parcursul a câtorva ore sau zile, și având ca rezultat acumularea de toxine uremice, disfuncții metabolice, tulburări hidro-electrolitice și ale echilibrului acido-bazic. Spre deosebire de insuficiența renală acută, insuficiența renală cronică apare în decursul a câtorva luni sau chiar ani, iar semenele clinice sunt relativ moderate în concordanță cu valoarea azotemiei.

8. Ponderea cea mai mare a pacienților diagnosticați cu insuficiență renală a fost reprezentată de pisici, cu vârste peste 7 ani.

9. Principalele semne clinice sunt consecința uremiei, aceasta fiind stadiul clinic spre care toate afecțiunile renale converg în final. Manifestările sunt diverse, însă cele mai frecvente sunt cele gastrointestinale și urinare.

10. Dezechilibrele electrolitice și minerale cele mai importante au fost reprezentate de hipo/hiperkalemie și hiperfosforemie.

11. Hipokalemiile se manifestă clinic, de cele mai multe ori, prin tulburări neuromusculare, ca urmare a efectului la nivelul potențialului membranar de repaus, ducând la o hiperpolarizare a membranei celulare ce devine mai puțin reactivă la stimuli.

12. 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 cu trăsături caracteristice, fiind normocromă, normocitară și aregenerativă sau hiporegenerativă.

13. Examenul ecografic reprezintă una din cele mai utile mijloace de diagnostic al afecțiunilor renale. Analiza statistică în cadrul grupului de pacienți luați în studiu a evidențiat predominantă aspectelor de scleroză corticală și medulară.

14. Studiul privind activitatea bioelectrică a creierului a evidențiat atât la pacienții cu insuficiență renală cronică, cât și la cei cu insuficiență renală acută anomalii electroencefalografice nespecifice: salve de unde delta difuze și o activitate de fond încetinită. Nu au fost observate descărcări epileptice interictale.

15. Traseele EEG au aspect puțin voltat și prezintă inițial o activitate de fond încetinită, de 5-7 cicli/secundă, peste care s-au observat salve de unde delta difuze și sincrone bilateral, fiind expresia unei stări de hiperexcitabilitate neuronală corticală sau subcorticală

16. Studiul de metabolomică a urmărit investigarea unor căi metabolice diferite în encefalopatia uremică. Metaboliții identificați sunt componentă majoră a metabolismului acizilor grași (acidul α -hidroxibutiric, acidul α -hidroxisovaleric, acidul β -hidroxisovaleric, acidul acetic, acetona, acetoacetatul, acidul succinic, acidul formic) a metabolismului energetic (glucoză, acid ascorbic, lactat, alanină, piruvat, valina, creatinină, creatină), căilor secundare (myo-inositol) și a sistemul glutamatergic (glutamina).

17. O serie de metaboliți cu potențial neurotoxic, excitator și convulsivant au fost identificați numai în lotul de pacienți cu insuficiență renală cronică, fiind reprezentată de: acidul succinic, dimetilamina și tirozina.

18. Analiza statistică a valorilor metaboliților determinați pentru cele 2 grupuri (IRC și control), a evidențiat o diferență semnificativă între dispersiile următoarelor variabile din grupurile analizate: creatinină, acid acetic, acetona, acetoacetat, acid piruvic, acid citric, creatină, myo-inozitol, acid formic și acid lactic.

19. 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.

20. Studiul nostru efectuat în premieră în medicina veterinară a arătat ca pacienții cu insuficiență renală cronică prezintă creșterea activității simpatice, 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.

21. 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%) indicativi ai proteinuriei.

22. La pisici leziunile cele mai des întâlnite la pacienții luați în studiu au fost: glomerulonefrita (25%), tubulonefrita (18%), prezența cilindrilor (hialini sau grăsoși) (14%) și a cristalelor de oxalat de calciu sau urați (14%).

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

24. S-a demonstrat rolul protector al zincului față de leziunile degenerative renale induse de gentamicină, probându-se astfel implicarea Zn în sistemele enzimactice cu rol protector față de stresul oxidativ. Anticipăm utilitatea Zn ca nefroprotector, cel puțin față de acțiunea nefrotoxică a gentamicinei.

BIBLIOGRAFIE REFERENCES

1. Agut A., Fernandez del Palacio M. J., Laredo F. G., Murciano J., Bayon A., Soler M., 2002 - *Unilateral renal agenesis associated with additional congenital abnormalities of the urinary tract in a Pekingese bitch*, Journal of Small Animal Practice, vol 43, nr. 1, p 32-35.
2. Akchurin O. M., Kaskel F., 2015 - *Update on Inflammation in Chronic Kidney Disease*, Blood Purification, vol 39, nr. 1-3, p:84-92.
3. Akmal M., Goldstein D. A., Multani S., Massry S. G., 1984 - *Role of uremia, brain calcium, and parathyroid hormone on changes in electroencephalogram in chronic renal failure*, American Journal of Physiology – Renal Physiology, vol 246, nr. 5, p. 575-579.
4. Alizadeh-Khiavi K., Ali-Khan Z., 1988 - Biochemical nature and cellular origin of amyloid enhancing factor (AEF) as determined by anti-AEF antibody, The British Journal of Experimental Pathology, vol. 69, nr. 5, p. 605-619.
5. Aminoff M.J., 1995 - *Neurology and general medicine*, Editura Churchill Livingstone, Philadelphia, p 303-319.
6. Anderstam B., Mamoun A. H., Södersten P., Bergström J., 1996 - *Middle-sized molecule fractions isolated from uremic ultrafiltrate and normal urine inhibit ingestive behavior in the rat*, Journal of the American Society of Nephrology, vol. 7, nr. 11, p: 2453–2460.
7. Backlund Brianna, Zoran Debra L., Nabity Mary B., Norby B., Bauer J. E., 2011 - *Effects of dietary protein content on renal parameters in normal cats*, Journal of Feline Medicine and Surgery, vol. 13, p:698-704.
8. Bairaktari E., Seferiadis K., Liamis G., Psihogios N., Tsolas O., Elisaf M., 2002 - *Rhabdomyolysis-related Renal Tubular Damage Studied by Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Urine*, Clinical Chemistry, vol. 48, nr. 7, p:1106-1109.
9. Bannasch Danika, Safra N., Young Amy, Karmi N., Schaible R. S., Ling G. V., 2008 - *Mutations in the SLC2A9 Gene Cause Hyperuricosuria and Hyperuricemia in the Dog*, Plos Genetics, vol. 4., nr. 11, e1000246.
10. Bartges J., Polzin D., 2011 - *Nephrology and Urology of Small Animals*, Editura Blackwell Publishing Ltd., West Sussex, UK, p:25-26.
11. Baskin G. B., De Paoli A., 1977 - *Primary Renal Neoplasms of the Dog*, Veterinary Pathology, vol. 14, nr. 6, p: 591-605.
12. Bates J. A., 2008 - *Phosphorus: a quick reference*. Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice, vol. 38: 471–75.

13. Benoist J. F., Alberti Corinne, Leclercq Sandrine, Rigal Odile, Jean-Louis Rosalie, Ogier de Baulny Helene, Porquet Dominique, Biou D., 2013 - *Cerebrospinal Fluid Lactate and Pyruvate Concentrations and Their Ratio in Children: Age-related Reference Intervals*, Clinical Chemistry, vol. 49, nr. 3, p: 487-494.
14. Beckeer, B.M., HimMelfarb J., Henrich W. L., Hakim R. M.,1997, *Reassessing the cardiac risk profile in chronic hemodialysis patients: A hypothesis on the role of oxidant stress and other non-traditional cardiac risk factors*, Journal of the American Society of Nephrology, vol. 8, p: 475-486
15. Bernard M. A., Valli V. E., 1977 - *Familial renal disease in Samoyed dogs*, Canadian Veterinary Journal, vol. 18, nr. 7, p:181-189.
16. Bicer M., Gunay M., Baltaci A. K., Uney K., Moqulkoc R., Akil M., 2012 - *Effect of zinc supplementation on lipid peroxidation and lactate levels in rats with diabetes induced by streptozotocin and subjected to acute swimming exercise*, Bratislava Medical Journal, vol. 113, nr.4, p:199-205.
17. Blumberg A., Esslen E., Burgi W., 1978 - *Myo-inositol-a Uremic Toxin?*, Nephron, vol. 21, p:186-190.
18. Bogdanova Anna, Makhro Asya, Wang Jue, Lipp P., Kaestner L., 2013 - *Calcium in Red Blood Cells - A Perilous Balance*, International Journal of Molecular Science, vol. 14, nr. 5, p: 9848-9872.
19. Boyce J. T., DiBartolad S. P., Chew J., Gasper P. W., 1984 - *Familial Renal Amyloidosis in Abyssinian Cats*, Veterinary Pathology, vol 21, nr. 1, p. 33-38.
20. Bovee K., 2003 - *Renal Dysplasia in Shih Tzu Dogs*, World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings, Bangkok, Thailanda.
21. Bounds R., De Deyn, P.P., 2004 - *Neurological complication in renal failure: a review*, Clinical Neurology and Neurosurgery, vol. 107, nr. 1, p: 1-16.
22. Brown S., Meigs. J., 2016 - *The Merck Veterinary Manual*, accesed on-line at <http://www.msdvetmanual.com/urinary-system/noninfectious-diseases-of-the-urinary-system-in-small-animals/renal-tubular-defects-in-small-animals#v3295892>, accesat la 12.04.2017.
23. Brum K. B., Juliano R. S., Souza M. A., Fleury L. F., Damasceno A. D., 2008 - *Renal dysplasia in a Boxer dog: case report*, Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, vol 60, nr. 5, p: 1084-1088.
24. Bugnicourt J. M., Godefroy O., Chillon J. M., Choukroun G.,Massy Z. A., 2013 - *Cognitive disorders and dementia in CKD: the neglected kidney-brain axis*, Journal of the American Society of Nephrology vol. 24, nr. 3, p: 353-363.
25. Burn D. J., Bates D., 1998 - *Neurology and the kidney*, Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, vol. 65, nr. 6, p:810-821.
26. Busch, M., Franke S., Muller A., Wolf M., Gerth J., Ott Undine, Niwa T., Stein G., 2004, *Potential cardiovascular risk factors in chronic kidney disease: AGEs, total homocysteine and metabolites, and the C-reactive protein*, Kidney International, vol. 66, nr. 1, p: 338-347.

27. Cameron F. J., Scratch S. E., Nadebaum Caroline, Northam Elisabeth A., Koves Ildiko, Jennings Juliet, Finney Kristina, Neil J. J., Wellard R. M., Mackay M., Inder T. E., 2014 - *Neurological Consequences of Diabetic Ketoacidosis at Initial Presentation of Type 1 Diabetes in a Prospective Cohort Study of Children*, Diabetes Care. vol. 37, nr. 6, p:1554–1562.
28. Carmichael N., Lee Judith, Giger U., 2014 - *Fanconi syndrome in dog in the UK*, Veterinary Record, vol. 174, nr. 14, p: 357-358.
29. Chalhoub S., Langston Cathy, Eatroff A., 2011 - *Anemia of renal disease: what it is, what to do and what's new*, Journal of Feline Medicine and Surgery, vol. 3, nr. 9, p:629-640.
30. Chang L., Munsaka S. M., Kraft-Terry Stephanie, Ernst T., 2013 - *Magnetic Resonance Spectroscopy to Assess NeuroInflammation and Neuropathic Pain*, The Journal of Neuroimmune Pharmacology, vol. 8, nr 3, p:576-593.
31. Choi J., Lee H., Lee Y., Choi H., 2015 - *Simple ectopic kidney in three dogs*, Journal of Veterinary Medical Science, vol. 74, nr. 10, p: 1373-1375.
32. Crissman J. W., Goodamnn D. G., Hildebrandt P. K., Maronpot R. R., Prater D. A., Riley J. H., Seaman W. J., Thake D. C., 2004 - *Best practices guideline: toxicologic histopathology*, Toxicologic Pathology, vol. 32, nr. 1, p:126-131.
33. Consonni R., Cagliani L. R., Docimo T., Romane A., Ferrazzi P., 2013 - *Perilla frutescens (L.) Britton: honeybee forage and preliminary results on the metabolic profiling by NMR spectroscopy*, Natural Product Research vol. 27, nr.19, p: 1743-1748.
34. Daschner M., Lenhartz H., Bötticher D., Schaefer F., Wollschläger M., Mehls O., Leichsenring M., 1996 - *Influence of dialysis on plasma lipid peroxidation products and antioxidant levels*, Kidney International, vol. 50, p: 1268-1272.
35. Davenport A., 2008 - *The brain and the kidney--organ cross talk and interactions*, Blood Purification, vol. 26, nr.6, p: 526-536.
36. De Deyn P. P., D'Hooge R., Van Bogaert P. P., Marescau B., 2001- *Endogenous guanidino compounds as uremic neurotoxins*, Kidney International, vol. 59, suppl 78, p. 77-83.
37. Debruyne K., Haers H., Paepe D., Peremans K., 2012 - *Ultrasonography of the feline kidney: Technique, anatomy and changes associated with disease*, Journal of Feline Medicine and Surgery, 14(11), p.794-803.
38. De Lahunta A., 2009 - *Veterinary neuroanatomy and clinical neurology*, Third edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
39. Descamps-Latscha B., Witko-Sarsat V., Nguyen-Khoa T., Nguyen A. T., Gausson V, Mothu N, London G. M, Jungers P., 2005 - *Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients*, American Journal of Kidney Diseases vol 45, nr. 1, p: 39–47.

40. DiBartola S.P., Tarr M.J., Webb D., Giger U., 1990 - *Familial renal amyloidosis in Chinese Shar-pei dogs*, Journal of the American Veterinary Medical Association, vol. 197, nr. 4, p.483-487.
41. DiBartola S. P., Willard M. D., 2006, *Disorders of phosphorous: hypophosphatemia and hyperphosphatemia*. In: Dibartola SP, ed. Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice. 3rd Ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, p: 195–209.
42. DiBartola S. P., 2011 - *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice*, Elsevier Health Sciences, St. Louis, Missouri.
43. Deng G., Vaziri N. D., Jabbari B., Ni Z., Yan X. X., 2001 - *Increased tyrosine nitration of the brain in chronic renal insufficiency: reversal by antioxidant therapy and angiotensin-converting enzyme inhibition*, Journal of the American Society of Nephrology, vol. 12, nr. 9, p:1892-1899.
44. D'Hoogea R., De Deyn P.P., Van de Vijverb G., Antoonsb G., Raesb A., Van Bogaert P.P., 1999 - *Uraemic guanidino compounds inhibit g-aminobutyric acid-evoked whole cell currents in mouse spinal cord neurones*, Neuroscience Letters, vol. 265, nr. 2, p:83-86.
45. Drawz P. E., Babineau Denise C., Brecklin Carolyn, HeJ.,. Radhakrishna K. R., Elsayed S. Z., DaweiX., Appleby Dina, Anderson Amanda H., Rahman M., 2013 - *Heart Rate Variability Is a Predictor of Mortality in Chronic Kidney Disease: A Report from the CRIC Study*, American Journal of Nephrology ;vol. 38, p:517–528.
46. Duranton Flore, Cohen G., De Smet Rita, Rodriguez M., Jankowski J., Vanholder R., Argiles A., 2012 - *Normal and Pathologic Concentrations of Uremic Toxins*, Journal of the American Society of Nephrology, vol 23, nr. 7, p: 1258–1270.
47. Dumitru D., 2002 - *Electrodiagnostic medicine*, Editura Hanley &Belfus, Philadelphia, p:29–64.
48. Ehrenreich H., Aust C., Krampe H., Jahn H., Jacob S., Herrmann M., Sirén A. L., 2004 - *Erythropoietin: novel approaches to neuroprotection in human brain disease*, Metabolic Brain Disease, vol 19, nr 3, p. 195-206.
49. Elliot J., Grauer G. F., 2007 - *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*, second edition, Editura BSAVA, Gloucester, p: 83-84.
50. Elliot J, Barber J., 1998 - *Feline chronic renal failure: clinical findings in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995*, Journal of Small Animal Practice, vol. 39, nr. 2, p: 78-85.
51. Eloot S., An Torremans, De Smet Rita, Marescau B., Dewacher D., De Deyn P. P., Lamier N., Verdock P., Vanholder R., 2005 - *Kinetic behavior of urea is different from that of other water-soluble compounds: The case of the guanidino compounds*, Kidney International, vol. 67, nr.4, p. 1566–1575.

52. Elmedhem A. M., 2009 - Acute Tubulo-interstitial Nephritis-Clinical Profile and Pathogenic Mechanisms, Teza de doctorat, University of Birmingham.
53. Engelke U. F, Kremer B., Kluijtmans L. A., van der Graaf M., Morava E., Loupatty F. J., Wanders R. J., Moskau D., Loss S., van den Bergh E., Wevers R. A., 2006 - *NMR spectroscopic studies on the late onset form of 3-methylglutaconic aciduria type I and other defects in leucine metabolism*, NMR in Biomedicine, vol. 19, nr. 2, p: 271-278.
54. Ettinger S. J., Feldman E. C., Grauer G. F., DiBartola S. P., 2006 - Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat, Editura Elsevier Saunders, St Louis, Missouri vol 2, p. 1786-1800.
55. Feldman E. D., Nelson R. W., 1996 - *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction - Water metabolism and diabetes insipidus*, Editura W.B. Saunders; Pennsylvania, p. 2-43.
56. Fox P.R., 2003 - Hypertrophic cardiomyopathy, Clinical and Pathologic correlates, Journal of Veterinary Cardiology, vol. 5, nr. 2, p. 39-45
57. Gamboa J. L., Billings F. T., Bojanowski M. T., Gilliam L. A., Yu C., Roshanravan B, Roberts L. J., II, Himmelfarb J., Ikizler T., Brown Nancy J., 2016 - *Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in patients with chronic kidney disease*, Physiological Reports, vol 4, nr. 9, e12780.
58. Gervais Francine, Hebert Lise, Skamene E., Liss A. R., 1988 - *Amyloid-Enhancing Factor: Production and Response in Amyloidosis-Susceptible and Resistant Mouse Strains*, Journal of Leukocyte Biology, vol. 43, nr. 4, p.311-316.
59. Giger U. 2005 - *Regenerative anemias caused by blood loss or hemolysis*. în: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. Textbook of Veterinary Internal Medicine. 6th ed. Editura Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, p:1886-1908.
60. Gilroy Cornelia V., Horney Barbara S., Burton Shelley A, Allan L. MacKenzie, 2003 - *Evaluation of ionized and total serum magnesium concentrations in hyperthyroid cats*, Canadian Journal of Veterinary Research, vol. 70, nr. 2, p: 137-142.
61. Grant D. C., Forrester D., 2001 - *Glomerulonephritis in Dogs and Cats: glomerular function,pathophysiology, and Clinical Signs*, Compendium Small Animal/Exotics, vol 23, nr. 8., p. 739-747.
62. Grauer G. F., 2005 - *Early detection of renal damage and disease in dogs and cats*, Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice, vol. 35, nr. 3, p: 581-596.
63. Gray Elizabeth, Larkin J. R., Claridge T. D. W, Talbot K., Sibson N. R, Turner M. R., 2015 - *The longitudinal cerebrospinal fluid metabolomic profile of amyotrophic lateral sclerosis*, Amyotrophic Lateral Sclerosis Frontotemporal Degeneration, vol. 16, nr. 7-8, p: 456-463.
64. Greene J. P.; Lefebvre Sandra L; Wang M., Yang M., Lund Elizabeth M.; Polzin D. J., 2014 - *Risk factors associated with the development of chronic*

- kidney disease in cats evaluated at primary care veterinary hospitals*, Journal of the American Veterinary Medical Association, vol. 244, nr. 3, p: 320-327
65. Greaves P., 2012 - *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies: Interpretation and Relevance*, Elsevier, Amsterdam, fourth edition, p. 552.
66. Goldstein, R., Marks S. L., Kass P. H., Cowgill L. D., 1998 - *Gastrin concentrations in plasma of cats with chronic renal failure*, Journal of the American Veterinary Medical Association, vol 213, nr. 6, p: 826–828.
67. Guisado R., Arrief A. I., Massry S. G., Lazarowitz V., Kerian A., 1977 - *Changes in electroencephalogram in acute uremia – effects of parathyroid hormone on brain electrolytes*, The Journal of Clinical Investigation, vol. 55, nr.4, p. 738–745.
68. Hayes W. A., Kruger Claire L., 2007 - *Principles and Methods of Toxicology*, Editura CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, p. 601-602.
69. Hickey M.C., Jandrey K., Farrell K.S., Carlson-Bremer D., 2014 - *Concurrent Diseases and Conditions in Cats with Renal Infarcts*, Journal of Veterinary Internal Medicine, vol. 28, p: 319–323.
70. Himmelfrab J., Sayegh M. H., 2010, - *Chronic Kidney Disease, Dialysis, and Transplantation*, Editura Saunders Elsevier, Philadelphia.
71. Hoppe A., Denneberg T., 2001 - *Cystinuria in the Dog: Clinical Studies during 14 Years of Medical Treatment*, Journal of Veterinary Internal Medicine, vol. 15, nr. 4, p. 361-367
72. Hossman V., Maling T.J.B., Hamilton C.A., Reid J.L., Dollery C.T., 1980 - *Sedative and cardiovascular effects of clonidine and nitrazepam*, Clinical Pharmacology and Therapeutics, vol. 28, p: 167–176.
73. Hu M., Finni T., Xu L., Zou L., Cheng S., *Effects of resistance training on biomarkers of bone formation and association with red blood cell variables*, Journal of Physiology and Biochemistry, vol. 67, nr. 3, p: 351-358.
74. Hughes K. L., Slater M. R., Geller S., Burkholder W. J., Fitzgerald C., 2002 - *Diet and lifestyle variables as risk factors for chronic renal failure in pet cats*, Preventive Veterinary Medicine, vol. 55, nr 1, p:1-15.
75. Ilich J. Z., Brownbill R. A., Coster D. C., 2010 - *Higher habitual sodium intake is not detrimental for bones in older women with adequate calcium intake*, European Journal of Applied Physiology; vol. 109, nr. 4, p:745-755.
76. Imig J. D., Ryan M. J., 2013 - *Immune and Inflammatory Role in Renal Disease*, Comprehensive Physiology, vol. 3, nr. 2, p: 957–976.
77. Itamoto K., Taura, Wada N., Taga A., Takuma T., Matsumura H., Miyara T., 2001 - *Effect of Medetomidine on Electroencephalography and Use of a Quantitative Electroencephalograph for Evaluating Sedation Levels in Dogs*, Journal of Veterinary Medicine Series A, vol 48, nr. 9, p:525-535.
78. Jaenke R. S., Allen T. A., 1986 - *Membranous Nephropathy in the Dog*, Veterinary Pathology, vol. 23, p:718-733.

79. Jankowska Magdalena, Rutkowski B, Dębska-Ślizień Alicja, 2017 - *Vitamins and Microelement Bioavailability in Different Stages of Chronic Kidney Disease*, *Nutrients*, vol 9, nr. 3: 282.
80. Jeserevics J., Viitmaa R., Cizinauskas S., Sainio K., Jokinen, T.S., Snellman M., Bellino C., Bergamasco L., 2007 - *Electroencephalography findings in healthy and Finnish Spitz dogs with epilepsy: visual and background quantitative analysis*, *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 21, 6, p:1299-1306.
81. Jin K., Norris K., Vaziri N. D., 2013 - *Dysregulation of hepatic fatty acid metabolism in chronic kidney disease*, *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol.28, p: 313–320.
82. Jubb K.V.F., Brown S.A., 1985 – *The urinary sistem. In Pathology of Domestic Animals* Editia a III-a, Academic Press, Orlando, Florida, p 432-433
83. Jukarainen, N. M., Samuli-Petrus K., Laasko M. P., Korolainen M. A., Neimitz M., Soininen P. P., Tuppurainen K., Vepsäläinen J., Pittila J., Laatikainen R., 2008 - *Quantification of ¹H NMR spectra of human cerebrospinal fluid: a protocol based on constrained total-line-shape analysis*, *Metabolomics*, vol. 4, nr.2, p: 150-160.
84. Kalapos M. P., 1999 - *Possible physiological roles of acetone metabolism in humans*, *Medical Hypotheses*, vol.53, nr.3, p:236-242.
85. Kapur B. M., Vandenbroucke A. C., Adamchik Y., Lehotay D. C., Carlen P. L., 2007 - *Formic Acid, a Novel Metabolite of Chronic Ethanol Abuse Causes Neurotoxicity, Which Is Prevented by Folic Acid*, *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, vol 31, nr.12, p:2114-2120.
86. Kao, M. P., Ang D. S., Pall A., Struthers A. D., 2010 - *Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options*, *Journal of Human Hypertension*, vol. 24, nr.1, p: 1-8.
87. Kealy K. J., McAllister, 2000 - *Diagnostic radiology and ultrasonography of the dog and cat*, third edition, W. B. Saunders, Philadelphia, USA.
88. Kerlin R. L., Van Winkle T. J., 1995 - *Renal Dysplasia in Golden Retrievers*, *Veterinary Pathology*, vol. 32, p:327-329
89. Kerr Morag, 2002 - *Veterinary Laboratory Medicine-Clinical Biochemistry and Hematology*, Editura Blackwell Science, London, p:81-85
90. Kopple J. D., 2007 - *Phenylalanine and Tyrosine Metabolism in Chronic Kidney Failure*, *The Journal of Nutrition*, vol. 137, supp. 1, p: 1586S-1590S.
91. Kovesdy CP, Mucsi I, Czira ME, Rudas A, Ujszaszi R, Rosivall L, Kim SJ, Wolf M, Molnar M. Z., 2011- *Association of serum phosphorus level with anemia in kidney transplant recipients*, *Transplantation*, vol. 91, nr.8, p:875–882.
92. Krachler M., Scharfetter H., Wirnsberger G. H., 2000 - *Kinetics of the metal cations magnesium, calcium, copper, zinc, strontium, barium and lead in chronic hemodialysis patients*, *Clinical Nephrology* ; vol. 54, p: 35-44.

93. Kumar A., Bala L., Kalita J., Misra U. K., Singh R. L., 2010 - *Metabolomic analysis of serum by (1) H NMR spectroscopy in amyotrophic lateral sclerosis*, Clinica Chimica Acta, vol. 411, nr. 7-8, p:563-567.
94. Kunze K., *Metabolic encephalopathies*, 2002 - Journal of Neurology, vol.249, nr. 9, p: 1150–1159.
95. Lee Y. J., Kim J. K., Lee J. H., Lee H. R., Kang D. R., Shim J. Y., 2008 - *Association of serum gamma-glutamyltransferase with C-reactive protein levels and white blood cell count in Korean adults*, Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, vol. 46, nr. 10, p:1410-1415.
96. Lemarie, R., Lemarie S. L., Hedlund C. S., 1995 - *Mast cell tumors: clinical management*, Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, vol 17, nr. 9, p: 1085–1101.
97. Lifton R. P., Somlo S., Giebisch G. H., Seldin D. W., 2009 - *Genetic Diseases of the Kidney*, Academic Press, Cambridge, Massachusetts, p: 171-197.
98. Littman M. P., 2011 - *Protein-losing Nephropathy in Small Animals*, Veterinary Clinics of North America: Small Animal, vol 41, p. 31–62.
99. Lyons L. A., Biller D. S., Erdman C. A., Lipinski M. J., Young A. E., Roe, Qin B., Grahn R. A., 2004 - *Feline Polycystic Kidney Disease Mutation Identified in PKD1*, Journal of the American Society of Nephrology, vol. 15, nr. 10, p: 2548–2555.
100. Lopamudra R., Sunil Kumar N., Anirban C., Rajlaxmi S., Satyaki G., 2015 - *A comparative study of serum aminotransferases in chronic kidney disease with and without end-stage renal disease: Need for new reference ranges*, International Journal of Applied & Basic Medical Research, vol. 5, nr. 1, p:31-35.
101. Lopez-Novoa J. M., Quiros Y., Vicente L., Morales A. I., Lopez-Hernandez F. J., 2011 - *New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity*, Kidney International, vol. 79, nr. 1, p: 33-45.
102. Lorentz M. D., Coates Joan R., Kent M., 2011 – *Handbook of Veterinary Neurology*, Editura Elsevier, p: 8.
103. Lutz N. W., Viola A., Malikova Irina, Confort-Gouny Sylviane, Audoin B., Ranjeva J. P., Pelletier J., Cozzone P. J., 2007 - *Inflammatory Multiple-Sclerosis Plaques Generate Characteristic Metabolic Profiles in Cerebrospinal Fluid*, PLoS ONE, vol. 2, nr. 7, e595.
104. Macdougall D. F., Cook T., Steward A. P., Victoria Catell, 1986 - *Canine chronic renal disease: Prevalence and types of glomerulonephritis in the dog*, Kidney International, vol. 29, nr.6, p.1144–1151.
105. Maxie G. M., 2006 - *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals*, Vol. II, Editura Saunders Elsevier, Philadelphia, p:1330-1358.
106. McCandless D. W., 2009 - *Metabolic Encephalopathy*, Editura Springer Science+Business Media, New York, p. 206-209.

107. Mesa-Sánchez I., Purzycka K., Isidoro-Ayza M., Ruiz de Gopegui-Fernández R., 2014 - *Fanconi syndrome in a Bichon Maltese dog: a quantitative approach to acid-base analysis*, Veterinary Record Case Reports, vol. 2, nr 1.
108. Mingeot-Leclercq Marie-Paule, Tulkens P. M., 1999 - *Aminoglycosides: Nephrotoxicity, Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 43, nr. 5, p: 1003-1012.
109. Modaresi A., Nafar M., Sahraei Z., 2015 - *Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease*, Iranian Journal of Kidney Diseases, vol. 9, nr. 3, p: 165-179.
110. Mogi M., Horiuchi M., 2011 - *Clinical Interaction between Brain and Kidney in Small Vessel Disease*, Cardiology Research and Practice, vol. 2011, ID306189.
111. Morales AI, Dettaille D, Prieto M Puente A, Briones E, Arévalo M, Leverve X, López-Novoa JM, El-Mir MY., 2010 - *Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway*, Kidney International, vol. 77, nr. 10, p: 861-869.
112. Mrudula V., Titus V., George C., Balachandran C., Monohar B. M., 2005 - *Bacteriological and histopathological study of canine nephritis on clinical samples*, Journal of Animal and Veterinary Advances, vol. 4, nr. 12, p. 954-958.
113. Mulder C., Wahlund L. O., Blomberg M., de Jong S., van Kamp G. J., Scheltens P., Teerlink T., 2002 - *Alzheimer's disease is not associated with altered concentrations of the nitric oxide synthase inhibitor asymmetric dimethylarginine in cerebrospinal fluid*, Journal of Neural Transmission, vol. 109, nr.9, p: 1203-1208
114. Musteata M., Nicolescu Alina, Solcan G., Deleanu C., 2013 - *The ¹H NMR Profile of Healthy Dog Cerebrospinal Fluid*, PLoS ONE, vol. 8, nr.12, e81192.
115. Niwa T., 2012 - *Uremic toxins*, p. 128-131, Editura John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey.
116. Niwa T., Maeda K., Mitsuma T., 1989 - *Myoinositol Inhibits Proliferation of Cultured Schwann Cells: Evidence for Neurotoxicity of Myoinositol*, Nephrology Dialysis Transplantation, vol. 4, nr 7, p:662-666.
117. Nelson R. W., Couto C. G., 2013 - *Small Animal Internal Medicine*, ediția a 5-a, Editura Elsevier, Philadelphia, p:629-704.
118. Oldendorf W. H., 1973 - *Carrier-mediated blood-brain barrier transport of short-chain monocarboxylic organic acids*, American Journal of Physiology, vol. 224, nr. 6, p: 1450-1453.
119. O'Neill D.G., Elliott J., Church D.B., McGreevy P.D, Thomson P.C., Brodbelt D.C., 2013 - *Chronic Kidney Disease in Dogs in UK Veterinary Practices: Prevalence, Risk Factors, and Survival*, Journal of Veterinary Internal Medicine; vol. 27, nr. 4, p:814–821.

120. Oteiza Patricia I., 2012 - *Zinc and modulation of redox homeostasis.*, Free Radical Biology and Medicine, vol. 53, nr. 9, p:1748-1759.
121. Owen Q. E., 2005 - *Ketone Bodies as a Fuel for the Brain during Starvation*, Biochemistry and Molecular Biology Education, vol. 33, nr 4, p:246 –251.
122. Ozbeck E., Cekmen M, Ilbey Y. O., Simsek A., Polat E. C., Somay A., 2009 - *Atorvastatin prevents gentamicin-induced renal damage in rats through the inhibition of p38-MAPK and NK-kappa B pathways*, Renal Failure, vol. 31, nr. 5, p: 382-392.
123. Park S. M., Jee J., Joung J. Y., 2014 - *High dietary sodium intake assessed by 24-hour urine specimen increase urinary calcium excretion and bone resorption marker*, Journal of Bone Metabolism, 21(3):189-194
124. Pașca S. A., 2008 - *Contribuții la studiul morfopatologic al nefropatiilor la câine*, Teză de doctorat., USAMV Iași.
125. Pasca S. A., **Saftencu Paula Maria**, Solcan G., 2016 - *Histopathological aspects of gentamicin nephrotoxicity in animals*, Romanian Journal of Veterinary Medicine & Pharmacology, vol 1, nr. 2, p:74-78.
126. Pellegrino C.F., Sica E.P.R., 2004 - *Canine electroencephalographic recording technique: findings in normal and epileptic dogs*, Clinical Neurophysiology, vol. 115, nr. 2, p:477–487.
127. Perry N.M.A., 2005 - *Pyelonephritis in small animals*, UK Vet, vol 10 (6), p.1-5.
128. Picut C. A., Lewi R. M., 1987 - *Microscopic Features of Canine Renal Dysplasia*, Veterinary Pathology, vol. 24 nr. 2, p. 156-163.
129. Polzin, D. J., 2011 - *Chronic kidney disease in small animals*, Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice, vol. 41, nr.1, p: 15-30.
130. Prasad A. S., Bao B., Beck F. W., Kucuk O., Sarkar F. H., 2004 -*Antioxidant effect of zinc in humans*, Free Radical Biology and Medicine, vol. 37, nr. 8, p:1182-1190.
131. Pratibha S., Praveen-Kumar S., Agadi JB, 2014 - *Increased Serum Alkaline Phosphatase and Serum Phosphate as Predictors of Mortality after Stroke*, Journal of Clinical and Diagnostic Research, vol. 8, nr. 8, p: CC01-CC03.
132. Quiros Y, Vicente-Vicente L, Morales AI, Lopez-Novoa JM, Lopez Hernandez FJ., 2011 - *An integrative overview on the mechanisms underlying the renal tubular cytotoxicity of gentamicin*, Toxicological Sciences; vol. 119, nr. 2, p. 245-256.
133. Rasmussen C.E., Falk T., Zois N.E., Moesgaard S.G., Haggstrom J., Pedersen H.D., Ablad B., Nilsen H.Y., Olsen L.H., Heart Rate, 2012 - *Heart Rate Variability, and Arrhythmias in Dogs with Myxomatous Mitral Valve Disease*, Journal of Veterinary Internal Medicine, vol.26, p:76–84.
134. Redding R.W., Knecht C.E., 1984 - *Atlas of EEG in the dog and cat*, Editura Praeger, New York, p: 270–374.

135. Ronco C., Rinaldo G., Kellum J. A., 2009 - *Critical care nephrology*, second edition, Elsevier, Amsterdam, p. 1084-1091.
136. Ross S. J., Osborne C. A., Kirk C. A., Lowry S. R., Koehler L. A., Polzin D. J., 2006 - *Clinical evaluation of dietary modification for treatment of spontaneous chronic kidney disease in cats*, Journal of the American Veterinary Medical Association, vol. 229, nr. 6, p: 949–957.
137. Said H. M., Vaziri N. D., Oveisi F., Hussienzadha S., 1992 - *Effect of chronic renal failure on intestinal transport of biotin in the rat*, Journal of Laboratory and Clinical Medicine, vol 120, nr. 3, p:471-475
138. **Saftencu Paula Maria**, Stanciu Gabriela Dumitrița, Musteață M., Beșchea Chiriac S. I., Pașca S. A., Gheorghe Solcan, 2015 - *Dogs' Brain Electric Activity In Ethylene Glycol Poisoning*, Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca, Veterinary Medicine Vol. 72, nr.1, p: 37-42.
139. **Saftencu Paula Maria**, Stanciu G D, Musteata M, Pasca S.A., Solcan G, 2015 - *Observational Study Regarding EEG Tracings In Five Dogs With Renal Disease*, Journal of Veterinary Emergency and Critical Care, vol. 25, nr. S1, p: S1–S32.
140. **Saftencu Paula Maria**, Stanciu Gabriela Dumitrita, Musteata M., Beschea Chiriac S. I., Pasca S. A., Solcan G., 2014 - *Electroencephalographic changes in dogs' nephrocalcinosis*, Journal of Biotechnology, Volume 185, Supplement, p: S90-S91.
141. **Saftencu Paula Maria**, Stanciu Gabriela Dumitrita, Musteata M., Beschea Chiriac S. I., Pasca S. A., Solcan G, 2014 - *The diagnostic of central nervous system disorders in dogs with nephrocalcinosis*, Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara, vol. XLVII. Timisoara; p.98-103.
142. **Saftencu Paula-Maria**, Stanciu Gabriela Dumitrița, Musteață M., Beșchea Chiriac S. I., Pașca S. A., Solcan Gh, 2014 - *Modificări ale activității bioelectrice a creierului în insuficiența renală cronică la câine*; Lucrări științifice Univ. Agrară de Stat din Moldova, Fac. Medicină Veterinară Chisinau, vol.40, p.368-370.
143. **Saftencu Paula Maria**, Diana Mocanu, M. Musteata, A. Baisan, G. Solcan, 2017, *Heart rate variability in dogs with chronic kidney failure*, Journal of Veterinary Internal Medicine, pg 249, ECVIM Abstracts
144. **Saftencu Paula Maria**, Gheorghe Solcan, 2016, *Historical and clinical examination findings in cats with end stage chronic kidney failure* Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara Timisoara, Vol XLIX(4), p.107-112.
145. **Saftencu Paula Maria**, Pașca Sorin Aurelian, Henea Mădălina Elena, Solcan Gheorghe, 2017 - *Clinical and imaging diagnosis in small animal hydronephrosis*, Veterinary Imaging Review, Nr. 3, p. 7-11.
146. Salinas Elizabeth Morales, Montesinos Ramírez L. I., García Ortuño L. E., Núñez Díaz A. C., Linda Abril Camacho González, 2008 - *Glomerulocystic*

- kidney disease in two dogs with renal failure*, Veterinaria Mexico, vol. 39, nr. 1, p. 97-108.
147. Schenck, P.A. and D.J. Chew, 2003 - *Determination of calcium fractionation in dogs with chronic renal failure*, American Journal of Veterinary Research, vol: 64, p:1181–1184.
 148. Schropp DM, Kovacic J., 2006, *Phosphorous and phosphate metabolism in veterinary patients*, Journal of Veterinar Emergency and Critical Care, vol. 17, p:127–34.
 149. Selby NM, Shaw S, Woodier N, Fluck RJ, Kolhe NV., 2009 - *Gentamicin-associated acute kidney injury*, Quarterly Journal of Medicine, vol. 102, nr. 12, p:873-880.
 150. Sette, L. H., Lopes E. P, 2015 - *The reduction of serum aminotransferase levels is proportional to the decline of the glomerular filtration rate in patients with chronic kidney disease*, Clinics, vol. 70, nr. 5, p: 346-349.
 151. Silveira Caroline S., Diefenbach Aline, Mistieri Maria Lígia, Machado Ingrid R.L., Anjo B. L., 2015 - *Diocetophyma renale in 28 dogs: clinicopathological and ultrasonographic findings*, Pesquisa Veterinária Brasileira, vol. 35, nr. 11.
 152. Silverstein Deborah, Hopper Kate, 2014 - *Small Animal Critical Care Medicine*, Editura Elsevier, Philadelphia, p:655-666
 153. Short C.E., Raiha J.E., Raiha M.A., Otto K., 1992 - *Comparison of neurologic responses to the use of medetomidine as sole agent or preanesthetic in laboratory beagles*, Acta Veterinaria Scandinavica, vol. 33, nr. 1, p:77–88.
 154. Smith M. A., Vasak M., Knipp M., Castellani R. J., Perry G., 1998 - *Dimethylargininase, a nitric oxide regulatory protein, in Alzheimer disease*, Free Radical Biology and Medicine vol. 25, nr. 8, p: 898-902
 155. Solcan Gh, Falcă C.,, Mot T., Morar D., Papuc I., Vulpe V., Pop C., Vlăgioiu C., Giurgiu G., Mircean M., Braslasu M. C., 2011 - *Medicina Internă a Animalelor*, vol. 2, Editura Eurostampa, Timișoara.
 156. Soleimani M., Rastegar A., 2016 - *Pathophysiology of Renal Tubular Acidosis: Core Curriculum*, American Journal of Kidney Diseases, vol. 68, nr. 3, p: 488-498.
 157. Son-Il Pak, 2000 - *The clinical implication of sodium-potassium ratios in dogs*, Journal of Veterinary Science, vol. 1, nr.1, p: 61–65.
 158. Sugi T., Fujishima M., Omae T., 1975 - *Lactate and Pyruvate Concentrations, and Acid-Base Balance of Cerebrospinal Fluid in Experimentally Induced Intracerebral and Subarachnoid Hemorrhage in Dogs*, Stroke, vol. 6, nr., p:714-719.
 159. Tachikawa M, Kasai Y, Takahashi M, Fujinawa J, Kitaichi K, Terasaki T, Hosoya K., 2008 - *The blood-cerebrospinal fluid barrier is a major pathway of cerebral creatinine clearance: involvement of transporter-mediated process*, Journal of Neurochemistry, vol. 107, nr. 2, p:432-442.

160. Teerlink T., Hennekes M. W., Mulder C., Brulez H. F., 1997 - *Determination of dimethylamine in biological samples by high-performance liquid chromatography*, Journal of Chromatography B, vol. 691, nr. 2, p: 269-276.
161. Teerlink T., Nijveldt R. J., de Jong S., van Leeuwen P. A., 2002 - *Determination of arginine, asymmetric dimethylarginine, and symmetric dimethylarginine in human plasma and other biological samples by high-performance liquid chromatography*. Anal Biochem vol. 303:131-137.
163. Teslariu Oana, Pasca A. S., Mittelu-Tataru Liliana, Schiriac C. E., Gales C., **Saftencu Paula Maria**, Nechifor M., 2016 -*The protective effects of zinc in experimental induced acute renal failure in rats*, Journal of Physiology and Pharmacology, vol. 67, nr. 5, p:751-757.
164. Tilley L. P., Francis, Smith Jr, F W. K., 2015 - *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Canine and Feline*, Willy Publishers, Iowa
165. Titon M. T., Dvorska J., Saganuwan S. A., 2015 – *A review on urolithiasis in dogs and cats*, Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, vol. 18, nr. 1, p:1-18.
166. Tourai K., Senba H., Sasaki N., Ohashi F., Takeuchi A., Usui K., 1985, *Developmental EEG of the beagle dog under xylazine sedation*, The Japanese Journal of Veterinary Science, vol. 47, nr. 3, p:459–463.
167. Toyoda K., 2015 - *Cerebral Small Vessel Disease and Chronic Kidney Disease*, Journal of Stroke ;vol. 17, nr.1, p:31-37.
168. Umesha Shetty H., Holloway H. W., Schapiro M. B., 1996 - *Cerebrospinal fluid and plasma distribution of myoinositol and other polyols in Alzheimer disease*, Clinical Chemistry, vol. 40, nr. 2, p:298-302.
169. Vanholder R., Griet Glorieux, Rita De Smet, Lameire N., 2003 - *New insights in uremic toxins*, Kidney International, Vol. 63, Supp. 84, p. S6–S10.
170. Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argilés A, Baurmeister U, Brunet P, Clark W, Cohen G, De Deyn PP, Deppisch R, Descamps-Latscha B, Henle T, Jörres A, Lehmke HD, Massy ZA, Passlick-Deetjen J, Rodriguez M, Stegmayr B, Stenvinkel P, Tetta C, Wanner C, Zidek W; 2003 European Uremic Toxin Work Group (EUTox), *Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability*, Kidney International, vol. 63, nr. 5, p:1934-43.
171. van Lier H., Drinkenburg W. H., van Eeten Y. J., Coenen A. M., 2004 - *Effects of diazepam and zolpidem on EEG beta frequencies are behavior-specific in rats*, Neuropharmacology, vol. 47, nr. 2., p:163-174.
172. Viola Angele, Confort-Gouny Sylviane, Ranjeva J. P., Chabrol Brigitte, Raybaud C., Vintila Francisca, Cozzone P. J., 2002 - *MR Imaging and MR Spectroscopy in Rhizomelic Chondrodysplasia Punctata*, American Journal of Neuroradiology, vol. 23, p:480–483.

173. Vite C. H., Braund K. G., 2003 - *Braund's Clinical Neurology in Small Animals: Localization, Diagnosis and Treatment*, available on-line at <http://www.ivis.org/advances/Vite/toc>, data accesării: 11.04.2017.
174. Vivette D. D'Agati, Kaskel F. J., Falk R. J., 2011 - *Focal Segmental Glomerulosclerosis*, The new England Journal of Medicine, vol. 365, nr. 25, p. 2398-2411.
175. Walker P. D., Ferrario F., Joh K., Bonsib S. M., 2007 - *Dense deposit disease is not a membranoproliferative glomerulonephritis*, Modern Pathology, vol .20, p. 605-616.
176. Wallance B. P., Lawrence G. S., Vaikunth N. P., 1982 - *Morphine-like effects of clonidine on the EEG, slow wave sleep and behaviour in the dog*, European Journal of Pharmacology, vol. 81,nr. 4, p: 551–557.
177. Watanabe T., Oguchi Ken-Ichi, Ebara S., Fukui T., 2005 - *Measurement of 3-Hydroxyisovaleric Acid in Urine of Biotin-Deficient Infants and Mice by HPLC*, The Journal of Nutrition, vol. 135, nr. 3, p: 615–618.
178. Wevers R. A., Engelke U., Wendel U., de Jong J.G.N., Gabreels F. J. M., Heerschap A., *Standardized Method for High-Resolution 1H-NMR of Cerebrospinal Fluid*, Clinical Chemistry, vol. 41, nr.5, p: 744-751.
179. WilliamsD. Innes, Barratt T. M., Eckstein H. B., Sheila M. Kohlinsky, Newns G. H., Paul E. Polani, Jack D., 1974 - *Urology in Childhood*, Editura Springer, pg. 62-68.
180. Wise A. Lori, 2005 - *Renal dysplasia in Soft-Coated Wheaten Terriers: 10 Years of Experience with Dogs along the Front Range of Colorado*, available on-line at <http://www.wheatenhealthinitiative.com/Pages/pdf%20files/RD%20in%20Soft%20Coated%20Wheaten%20Terriers.pdf>, accesat la 12.04.2017.
181. Wishart D. S., Knox C., Guo A. C., Eisner R., Young N., Gautam B., Hau D. D., Psychogios N., Dong E., Bouatra S., Mandal R., Sinelnikov I., Xia J., Jia L., Cruz J. A., Lim E., Sobsey C. A., Shrivastava S., Huang P., Liu P., Fang L., Peng J., Fradette R., Cheng D., Tzur D., Clements M., Lewis A., De Souza A., Zuniga A., Dawe M., Xiong Y., Clive D., Greiner R., Nazyrova A., Shaykhutdinov R., Li L., Vogel H. J., Forsythe I., 2009 - *HMDB: a knowledgebase for the human metabolome*, Nucleic Acids Research, vol. 37, (Database issue): D603-610.
182. Wojcicki Janet M, 2013 - *Hyperphosphatemia is associated with anemia in adults without chronic kidney disease: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): 2005–2010*, BMC Nephrology, vol 14, nr. 78, p:1-12
183. Woldemeskel M., 2011 - *Amyloidosis in Domestic Animals: Pathology, Pathogenesis, Gross and Microscopic Lesions and Clinical Findings*, available on-line at <http://cdn.intechweb.org/pdfs/20527.pdf>, accesat la 11.04.2017.

184. Wolf, G., Chen S, Han DC, Ziyadeh FN., 2002 - *Leptin and renal disease*, American Journal of Kidney Diseases, vol 39, nr. 1, p:1–11.
185. Young A. E., Biller D. S., Herrgesell E. J., Roberts H. R, Lyons L. A., 2004 - *Feline polycystic kidney disease is linked to the PKD1 region*, Mammalian Genome, vol. 16: nr. 1, p: 59–65.
186. Zachary J. F., McGavin M. D., 2012 - *Pathologic Basis of Veterinary Disease*, fifth edition, Editura Elsevier, Amsterdam, p: 608-610, 642-643.
187. Zhou-wen Chen, Li-ying Chen, Hong-lei Dai, Jian-hua Chen, Li-zheng Fang, 2008 - *Relationship between alanine aminotransferase levels and metabolic syndrome in nonalcoholic fatty liver disease*, Journal of Zhejiang University science B, vol.9, nr.8, p: 616–622.
188. <http://www.animalendocrine.com/wp-content/uploads/2015/05/Dietary-Management-of-Cats-with-Hyperthyroidism-Concurrent-Renal-Disease-Final.pdf> accesat 20.04.2017
189. http://www.catinfo.org/?link=makingcatfood#The_Recipe accesat 20.04.2017
190. <http://www.uremic-toxins.org/DataBase.html> accesat 3.05.2017
191. <http://www.hmdb.ca/> 3.05.2017

ANEXA 1. LISTA ABREVIERI

ANNEX 1 ABBREVIATION LIST

ADH – hormonul antidiuretic
ADMA – asimetric dimetilarginina
AGS – acid guanidinosuccinic
ADP – adenzin difosfat
AMP – adenzin monofosfat
ATP – adenzin trifosfat
C3 – componenta a 3-a a complementului
CT – computer tomograf
DIN – diabet insipid nefrogen
ECG – electrocardiograma
EEG - electroencefalogramă
FIV –feline imunodeficiency virus
GABA – acid gamma-aminobutiric
GGT – gama glutamiltransferaza
IF- imunofluorescență
IRA – insuficiență renală acută
IRC – insuficiență renală cronică
HGB – hemoglobină
HNMR – rezonanță magnetică nucleară cu capăt de proton
HTC – hematocrit
LCR – lichid cefalorahidian
ME- microscopie electronică
MBG- membrană bazală glomerulară
NM – nefropatie membranoasă
NTI – nefrita tubulo-interstițială
PA – fosfataza alcalină
PAF – platelet activating factor
PAI I – plasminogen activator inhibitor 1
PET-CT- pozitron emission tomography/computed tomography
PIF – peritonită infecțioasă felină
PU/PD – poliurie/polidipsie
RMN – rezonanță magnetică nucleară
SDMA – simetric dimetilarginina
SRAA - sistemul renină-angiotensină-aldosteron
TGP – alanin aminotransferaza
TGO – aspartat aminotransferaza
VFC – variabilitatea frecvenței cardiace

ANEXA 2. LISTA TABELELOR

Tabel 2.1. Concentrațiile serice/plasmatice normale și patologice ale principalilor compuși guandinici la oameni (după Niwa ș.a., 2012)	55
Tabel 3.1. Stadializarea insuficienței renale cronice la câini și pisici, după valoarea creatininei serice (după IRIS, 2013)	61
Tabel 3.2. Stadializarea insuficienței renale acute la câini și pisici după valoarea creatininei serice (după IRIS, 2013)	62
Tabel 4.1. Valorile eritronului înregistrate la pisicile cu IRC	77
Tabel 4.2. Valorile eritronului înregistrate la câinii cu IRC	80
Tabel 4.3. Aspectele ecografice întâlnite la pacienții cu insuficiență renală	81
Tabel 4.4. Dimensiunea rinichilor în funcție de greutate la câine (după Mannion, 2006)	83
Tabel 5.1. Lista câinilor supuși investigațiilor EEG	93
Tabel 5.2. Lista pisicilor supuse investigațiilor EEG	93
Tabel 5.3. Puterea relativă a frecvențelor înregistrate	101
Tabel 5.4. Media și deviația standard a frecvențelor înregistrate	102
Tabel 5.5. Metaboliții identificați în grupul IRC comparativ cu cei identificați în grupul sănătoși	106
Tabel 5.6. Funcțiile sistemului nervos autonom (după De Lahunta, 2009)	110
Tabel 5.7. Valorile VFC la câinii sănătoși	116
Tabel 6.1. Variația creatininei serice, ureei serice și a proteinelor urinare în grupurile Ge, Ge+Zn, Zn și control (Teslariu ș.a., 2016)	140

ANNEX 2. LIST OF TABLES

Table 2.1. Normal and pathological serum/plasma concentrations of the main guanidinic compounds in humans (Niwa et al., 2012)	55
Table 3.1. Staging chronic renal failure in dogs and cats considering serum creatinine values(IRIS, 2013)	61
Table 3.2. Staging of acute renal failure in dogs and cats considering serum creatinine(IRIS, 2013).....	62
Table 4.1. The erythron values recorded in cats with CRF	77
Table 4.2. The erythron values recorded in dogs with CRF	80
Table 4.3. Ultrasound aspects encountered in patients with renal failure	81
Table 4.4. The size of the kidneys according to weight in the dog (Mannion, 2006)	83
Table 5.1. List of EEG investigated dogs	93
Table 5.2. List of EEG investigated cats	93
Table 5.3. Relative power of recorded frequencies	101
Table 5.4. Average and standard deviation of recorded frequencies	102
Table 5.5. Metabolites identified in the CRF group compared to those identified in the healthy group	106
Table 5.6. Functions of the autonomic nervous system (De Lahunta, 2009) ...	110
Table 5.7. HRV values in healthy dogs	116
Table 6.1. Variation of serum creatinine, urine and urinary proteins in the Ge, Ge + Zn, Zn and control groups (Teslariu et al., 2016)	140

ANEXA 3. LISTA FIGURILOR

Fig. 1.1. Structura histologică a nefronului	28
Fig. 1.2. Depunerea complexelor circulante la nivel glomerular	30
Fig. 1.3. Aspect macroscopic în glomerulonefrita chistică la câine (după Salinas și col., 2008)	32
Fig. 1.4. Prezența leptospirelor la nivelul interstițiului renal, col. warthin-starry x 1000 (V. Mrudula și col., 2005)	43
Fig. 1.5. Pielonefrita supurativă produsă de localizarea paraziților la nivelul bazinetului renal (http://www.vet.uga.edu/ivcvm/courses/vpat5215/urinary/nephritis/NEPH_4.htm)	45
Fig. 1.6. Hidronefroză și litiază, femelă, metis, Bichon, 13, ani, original	49
Fig. 1.7. Urolit renal, câine, metis Bichon, 14ani	51
Fig. 3.1. Cistită-motan 3 ani, rasa Europeană prezența de hematii crenelate, celule inflamatorii și bacterii	64
Fig. 3.2. Cristale de oxalat de calciu monohidrat-motan, 3 ani, rasa Europeană-intoxicație cu etilen-glicol	67
Fig. 3.3. Câine, 8 ani, icter și anemie hemolitică	69
Fig. 4.1. Pozitie caracteristică în hipokalemie (ventroflexie cervicală)-original ...	73
Fig. 4.2. Mers plantigrad, pisica, 8 ani, insuficiență renală cronică gradul IV-original	74
Fig. 4.3. Biovarialitatea kalemiei la pisicile cu insuficiență renală în funcție de tipul de manifestare a afecțiunii	75
Fig. 4.4. Mucoase anemice, pisica, 9 ani, IRC	77
Fig. 4.5. Biovarialitatea kalemiei la câinii și pisicile cu IRC	80
Fig. 4.6. Distribuția leziunilor observate ecografic în grupul pacienților felini studiați	83
Fig. 4.7. Distribuția leziunilor observate ecografic în grupul de câini studiați	84
Fig. 4.8. Aspect ecografic de scleroză corticală și medulară, cu slaba diferențiere a medularei și reducerea în volum a rinichiului, pisică, 9 ani rasa Europeană – IRC	85
Fig. 4.9. Nefroză oxalică, câine, 8 ani- intoxicație cu antigel	85
Fig. 4.10. Nefrită acută, motan, 6 ani	86
Fig. 4.11. Prezența de chiști corticali – PKD, pisică, rasa Persană, 2.5 ani	87
Fig. 4.12. Chist renal-aspect ecografic	87
Fig. 4.13. Hidronefroză gradul II, câine, 14 ani, metis	88
Fig. 4.14. Hidronefroză și hidroureter câine, Bichon, 13 ani	89
Fig. 4.15. Aspect caracteristic de pielită	90
Fig. 4.16. Renomegalie, suspiciune limfom renal, motan, 15 ani	90
Fig. 4.17. Cistită cronică cu litiază vezicală, motan, 3 ani, rasa Europeană	91

Fig. 5.1. Poziționarea electrozilor după modelul lui Redding	94
Fig. 5.2. Cățea, Beagle, 8 ani – insuficiență renală gradul III Electroencefalogramă caracterizată prin salve de unde delta difuze și sincrone bilateral	95
Fig. 5.3. Unde lente și ascuțite, reducerea în amplitudine a traseelor electroencefalografice, cățea metis, 10 ani	96
Fig. 5.4. Aspect fiziologic al traseului electroencefalografic caracterizat prin unde delta și unde theta lente, câine, metis 4.5 ani	96
Fig. 5.5. Criză electrică – aspect intraictal, cățea metis, 4 ani	97
Fig. 5.6. Activitate de fond moderat atenuată, motan, 1,5 ani, IRA	99
Fig. 5.7. Activitate de fond atenuată, pisică, 15 ani, IRC	99
Fig. 5.8. Vârfuri ascuțite, motan 7 ani, IRA	100
Fig. 5.9. Ritmuri beta-fusuri de medicație, pisică, 17 ani, IRC	100
Fig. 5.10 LCR-aspect normal, limfocite de mici dimensiuni	105
Fig. 5.11 Sinteza dimetilaminei în procesul de metilare a proteinelor (Mulder ș.a., 2002).....	108
Fig. 5.12. Biovariabilitatea creatininei în LCR-ul câinilor cu IRC și normali	110
Fig. 5.13 Rezultatele parametrilor dependenți de timp ale intervelor RR și reprezentarea grafică a distribuției acestora. Imagine preluată din analiza Kubios	114
Fig. 5.14. Ilustrarea grafică a intervalelor NN http://images.google.fr/imgres?imgurl=http%3A%2F%2Fresearch.vet.upenn.edu	115
Fig. 5.15 Analiza spectrală e undelor de joasă frecvență și înaltă frecvență în domeniul de frecvență. Imagine preluată din analiza Kubios.....	115
Fig. 5.16. Reprezentarea grafică a VFC în ansamblu (deviație standard a complexelor NN)	117
Fig. 5.17. Reprezentarea grafică a distribuției valorilor parametrului domeniului de timp ce indică activitatea parasimpaticului	117
Fig. 5.18. Reprezentarea grafică a valorilor parametrului domeniului de frecvență, modulat de activitatea parasimpatică	118
Fig. 5.19. Reprezentarea grafică a valorilor raportului LF/HF	118
Fig. 6.1. Frecvență leziunilor histopatologie renale la pacienții canini necropsiați	121
Fig. 6.2. Frecvență leziunilor histopatologie renale la pisicile necropsiate	122
Fig. 6.3. Glomerulonefrită membranoasă, cățea 8 ani, col. tricromică Masson	122
Fig. 6.4. Corticală - corpusul malpighi. Depozite dense pe fata externă a laminelor bazale ale capilarelor glomerulare, între procesele podocitare (sageti). Glomerulita membranoasă.	123
Fig. 6.5. Glomerulonefrită membrano-proliferativă, câine, 16 ani, IRC, col tricromică Masson	124
Fig. 6.6. Glomerulonefrită sclerozantă, câine, 16 ani, IRC, col tricromică Masson	124
Fig. 6.7. Tubulo-nefrită, tub uriniferi lipsiți de lumen, tumefierea nefrocitelor, citoplasmă cu aspect vacuolizat, col. tricromică Masson, x400 ...	125

Fig. 6.8. Cilindri hialini, motan, 10 ani, IRC, col. tricromică Masson	126
Fig. 6.9. Tub urinifer. IRC cu proteinurie. Sferule de hialin în citoplasma celulelor epiteliale tubulare	126
Fig. 6.10. Steatoză tubulară, pisică, 12 ani, IRC, col tricromică Masson	127
Fig. 6.11. Stetatoza tubulară, vacuole lipidice în citoplasma cel. epiteliale tubulare	128
Fig. 6.12. Calcificare și degenerare epitelială tubulară, câine, IRC, col. tricromică Masson	128
Fig. 6.13. Depozite de oxalat de calciu și necroza epiteliului tubular, col. tricromică Masson	129
Fig. 6.14. Nefrită interstițială limfo-histiocitară, pisică, IRC, col. tricromică Masson	130
Fig. 6.15. Nefrită fibroasă, aspect macroscopic-original	130
Fig. 6.16. Mineralizare difuză la nivelul medularei, col. tricromică Masson	131
Fig. 6.17. Congestie meningeală, col. tricromică Masson, câine, Metis Pekinez, 16 ani	132
Fig. 6.18. Congestie cerebrală. Col. tricromică Masson	133
Fig. 6.19. Edem cerebral, Col. tricromică Masson, câine, Metis Pekignese, 16 ani	134
Fig. 6.20. Cortex cerebral TEM, Neuron piramidal cu citoplasma vacuolizată: Nucleul este hiperhidratat cu dispunere difuză a cromatinei- edem cerebral accentuat, x10000	134
Fig. 6.21. Encefal de cățea Dalmațian, 9 ani cu IRC. Vacuolizări neuronale în cerebel. Col. tricromică Masson	135
Fig. 6.22. Degenerări neuronale severe: vacuolizarea citoplasmă întunecată, pericarionilor. Câine, metis, 10 ani cu IRC. Col. tricromică Masson	135
Fig. 6.23. Vacuolizare axonală. Neuron piramidal. Edem cerebral. X16000	136
Fig. 6.24. Cușcă metabolică pentru recoltarea urinei. http://www.braintreesci.com/prodinfo.asp?number=370	138
Fig. 6.25. Variația volumului urinar (ml/24 h) în grupurile Ge, Ge+Zn, Zn și control, *P < 0.05 versus I ₀	141
Fig. 6.26. Variația TAS, SOD, și GPx în grupurile Ge, Ge+Zn, Zn, și Control (media ± S.D.), *p < 0.0001 versus I ₀ ; **p < 0.001 versus I ₀ ; #p < 0.0001 versus Ge	142
Fig. 6.27. Gradul leziunilor histopatologice rezultate din analiza semicantitativă la 7 (A) și la 10 zile (B)	142
Fig. 6.28. Corticală renală Grupul Ge - necroză severă, inflamație moderată, regenerare redusă, col HE	143
Fig. 6.29. Medulară renală. Grupul Ge - cilindru severă, col HE	143
Fig. 6.30. Corticală renală. Grup Ge - Zn, congestie glomerulară, epiteliu tubular tumefiat, col. HE	144
Fig. 6.31. Medulara renală. Grup Ge - Zn, proteinurie redusă, col. HE	145
Fig. 6.32. Corticala renală. Grupul Ge, infiltrat inflamator limfocitar în interstițiu, col. HE	145

Fig. 6.33. Medulară renală grupul Ge, proteinurie moderată col HE x 400	146
Fig. 6.34. Corticală renală grupul Ge+Zn - proteinurie, descuamări și vacuolizări a nefrocitelor, col. HE	146
Fig.6.35. Medulară renală grupul Ge+Zn - rari cilindri hialini col HE	147

ANNEX 3. LIST OF FIGURES

Fig. 1.1. Histological structure of nephron	28
Fig. 1.2. Glomerular circulating immune complex deposition	30
Fig. 1.3. Cystic glomerulonephritis in dog – gross aspect (Salinas et al., 2008)	32
Fig. 1.4. Leptospira in renal interstitium, Warthin-Starry stain, x 1000 (V. Mrudula et al., 2005)	43
Fig. 1.5. Parasitic suppurative pyelonephritis (http://www.vet.uga.edu/ivcvm/courses/vpat5215/urinary/nephritis/NEPH_4.htm)	45
Fig. 1.6. Hydronephrosis and lithiasis, female, cross breed Bichon, 13 yo, original	49
Fig. 1.7. Renal urolith, dog, cross Bichon breed, 14 yo	51
Fig. 3.1. Urocystitis, crenelated eritrocytes, inflammatory cells and bacteria - tomcat 3 yo, Domestic shorthair	64
Fig. 3.2. Calcium oxalate crystals - tomcat, 3 yo, Domestic shorthair – antifreeze intoxication	67
Fig. 3.3. Hemolytic anemia and icterus dog, 8 yo	69
Fig. 4.1. Classical position in hypokalemia (cervical ventroflexion)-original	73
Fig. 4.2. Plantigrad walking, cat, 8 yo, IV grade chronic renal failure –original ..	74
Fig. 4.3. Biovariability of kalemia in cat with renal failure depending on the type of renal failure	75
Fig. 4.4. Anemia mucosa, cat, 9 yo, CRF	77
Fig. 4.5. Biovarialitaty of kalemia in dogs and cats with CRF	80
Fig. 4.6. The lesions distribution observed by ultrasound examination in cat study group	83
Fig. 4.7. The lesions distribution observed by ultrasound examination in dogs study group	84
Fig. 4.8. Ultrasound aspectof cortex and medular sclerosis, cu slaba diferențiere a medularei și reducerea în volum a rinichiului, cat, 9 yo, Domestic shorthair – CRF	85
Fig. 4.9. Oxalic nephrosis, dog, 8 yo- antifreeze intoxication	85
Fig. 4.10. Acute nephritis, tomcat, 6 yo	86
Fig. 4.11. Renal cortex cysts – PKD, cat, Persian breed, 2.5 yo	87
Fig. 4.12. Renal cyst – ultrasound aspect	87
Fig. 4.13. Hydronephrosis stage II, dog, 14 yo, cross breed	88
Fig. 4.14. Hydronephrosis and hydroureter, dog, Bichon, 13 yo	89
Fig. 4.15. Pyelitis - classic aspect	90
Fig. 4.16. Enlarged kidney, renal lymphoma, tomcat, 15 yo	90
Fig. 4.17. Chronic cystitis and lithiasis, tomcat 3 yo, European breed	91

Fig. 5.1. Positioning elctrodes according to Redding model	94
Fig. 5.2. Dog, female, Beagle, 8 yo – Renal failure grd. III. EEG characterized by bilateral diffuse and synchronous delta wave bursts	95
Fig. 5.3. Slow and sharp waves, the amplitude reduction of electroencephalographic paths, dog, female, metis, 10 yo	96
Fig. 5.4. Physiological aspects of the electroencephalographic path characterized by the delta and the slow theta waves, dog, cross breed, 4.5 yo	96
Fig. 5.5. Electric crisis –intraictal aspect, dog, female, 4 yo	97
Fig. 5.6. Moderate attenuated background activity, tomcat, 1,5 yo, CRF	99
Fig. 5.7. Background activity attenuated, cat, 15 yo, CRF	99
Fig. 5.8. Sharp tips, tomcat, 7 yo, CRF	100
Fig. 5.9. Medication beta rhythms, cat, 17 yo, CRF	100
Fig. 5.10. CSF – small lymphocytes	105
Fig. 5.11. Dimethylamine sinthesis in protein methylation process (Mulder ş.a., 2002).....	108
Fig. 5.12. Creatinine biovararity of CRL in CRF and healthy dogs	110
Fig. 5.13 Results of time dependent parameters of RR intervals and graphical representation of their distribution. Image taken from Kubios analysis.	114
Fig. 5.14. Graphic illustration of NN intervals http://images.google.fr/imgres?imgurl=http%3A%2F%2Fresearch.vet.upenn.edu	115
Fig. 5.15 Spectral analysis of low-frequency and high-frequency waves in the frequency range. Image taken from Kubios analysis	115
Fig. 5.16. Graphic representation of HRV as a whole (standard deviation of NN complexes)	117
Fig. 5.17. The graphical representation of the time domain parameter distribution that indicates parasimpatic activity	117
Fig. 5.18. Boxplot representing the graphic of the frequency domain parameter values, modulated by the parasimpatic activity.	118
Fig. 5.19. Graphic representation of report values LF/HF	118
Fig. 6.1. The frequency of kidney histopathological lesions in necropsied dogs	121
Fig. 6.2. The frequency of kidney histopathological lesions in necropsied cats	122
Fig. 6.3. Membranous glomerulonephritis, dog, female 8 yo, trichromic Masson stain	122
Fig. 6.4. Renal cortex – Malpighi corpuscle. Dense deposits on the external side of basement membrane of glomerular capilaries, betwen podocytes processes (arrows). Membranous glomerulonephritis	123
Fig. 6.5. Membranoproliferative glomerulonephritis, dog, 16 yo, CRF, trichromic Masson stain	124
Fig. 6.6. Sclerosing glomerulonephritis, dog, 16 yo, CRF, trichromic Masson stain	124
Fig. 6.7. Tubulo-nephritis, enlarged nephrocytes, urinary tubes without lumen, vacuolated cytoplasm, trichromic Masson stain, x400	125

Fig. 6.8. Hyaline cylinders, tomcat, 10 yo, CRF, trichromic Masson stain	126
Fig. 6.9. Urinary tube. CRF with proteinuria. Hyalin deposits in epithelial cells cytoplasm	126
Fig. 6.10. Tubular steatosis, cat, 12 yo, CRF, trichromic Masson stain	127
Fig. 6.11. Tubular steatosis. Lipidic vacuoles in tubular epithelial cells	128
Fig. 6.12. Calcification and tubular epithelial degeneration, dog, IRC, trichromic Masson stain	128
Fig. 6.13. Calcium oxalates deposits and tubular epithelial necrosis, trichromic Masson stain	129
Fig. 6.14. Interstitial lymfo-hystiocytic nephritis, cat, CRF, trichromic Masson stain	130
Fig. 6.15. Fibrous nephritis, gross pathology –original	130
Fig. 6.16. Mineralizare difuză la nivelul medularei, Trichromic Masson stain ...	131
Fig. 6.17. Meningeal congestion, dog, cross breed Pekignese, 16 yo, trichromic Masson stain	132
Fig. 6.18. Cerebral congestion. Trichromic Masson stain	133
Fig. 6.19. Cerebral edema, dog, cross breed Pekignese, 16 yo, Trichromic Masson stain	134
Fig. 6.20 Cerebral cortex TEM, pyramidal neuron with vacuolated cytoplasm: hyperhydrated nuclei with diffuse chromatin deposition. Severe cerebral edema. x10000	134
Fig. 6.21. Brain. Dog, female, Dalmatian breed, 9 yo with CRF. Vacuolated neurons in cerebellum. trichromic Masson stain	135
Fig. 6.22. Severe neuronale degenerations: vacuolated cytoplasm, dark cytoplasm. Dog, cross breed, 10 yo with CRF. trichromic Masson stain	135
Fig. 6.23. Axonal vacuolization. Pyramidal neuron. Cerebral Edema. X16000	136
Fig. 6.24. Metabolic cage for urine sampling http://www.braintreesci.com/prodinfo.asp?number=370	138
Fig. 6.25. Urine volum variation (ml/24 h) in Ge, Ge+Zn, Zn and control groups, *P < 0.05 versus I ₀	141
Fig. 6.26. Variation of TAS, SOD and GPx in Ge, Ge+Zn, Zn and control groups (media ± S.D.), *p < 0.0001 versus I ₀ ; **p < 0.001 versus I ₀ ; #p < 0.0001 versus Ge	142
Fig. 6.27. Semiquantitative analysis of histopathological lesions at 7 (A) and 10 days (B)	142
Fig. 6.28. Renal cortex. Ge group - sever necrosis, moderate inflammation, low regeneration, HE stain	143
Fig. 6.29. Renal medulla. Ge group- severe cylindruria, HE stain	143
Fig. 6.30. Renal cortex. Grup Ge-Zn, glomerular congestion, enlarged tubular epithelium, HE stain	144
Fig. 6.31. Renal medulla. Ge-Zn group, low proteinuria, HE stain	145
Fig. 6.32. Renal cortex. Grupul Ge, interstitial inflammatory infiltrate, HE stain	145

Fig. 6.33. Renal medulla. Ge group, moderate proteinuria, HE stain x 400	146
Fig. 6.34. Renal cortex. Ge+Zn group - proteinuria, desquamation and vacuolization of nephrocytes, HE stain	146
Fig.6.35. Renal medulla. Ge+Zn group - rare hyaline cylinders, HE stain	147

ANEXA 4. LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE ANNEX 4. SCIENTIFIC PAPERS PUBLISHED

Lucări indexate ISI:

In-extenso

1. Teslariu Oana, Pasca A. S., Mittelu-Tataru Liliana, Schiriac C. E., Gales C., **Saftencu Paula Maria**, Nechifor M., 2016 -*The protective effects of zinc in experimental induced acute renal failure in rats*, Journal of Physiology and Pharmacology, vol. 67, nr. 5, p:751-757.

Rezumat

2. **Saftencu P.M.**, Stanciu G.D., Musteata M., Pasca S.A., Solcan G. - Observational Study Regarding EEG Tracings In Five Dogs With Renal Disease, Journal of Veterinary Emergency and Critical Care ISSN: 1476-4431, Lyon, 2015, doi: 10.1111/vec.12366 pg. S27.

3. **Paula Maria Saftencu**, Gabriela Dumitrita Stanciu, Mihai Musteata, Sorin Ioan Beschea Chiriac, Sorin Aurelian Pasca, Gheorghe Solcan - Electroencephalographic changes in dogs' nephrocalcinosis, Journal of Biotechnology, Volume 185, Supplement, September 2014, Pages S90-S91 ISSN: 0168-1656 DOI: 10.1016/j.jbiotec.2014.07.309 (proceedings ISI).

4. **P.M. Saftencu**, D. Mocanu, M. Musteata, A. Baisan, G. Solcan, Heart rate variability in dogs with chronic kidney failure, Journal of Veterinary Internal Medicine, doi/10.1111/jvim.14600, pg 249, ECVIM Abstracts

Lucări BDI:

În calitate de prim-autor:

1. **Paula Maria Saftencu**, Gabriela Dumitrița Stanciu, M. Musteață, S. I. Beșchea Chiriac, S. A. Pașca, Gheorghe Solcan - Dogs' Brain Electric Activity In Ethylene Glycol Poisoning Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine. Vol. 72(1)/2015, pg. 37-42, Print ISSN 1843-5270; Electronic ISSN 1843-5378 DOI:10.15835/buasvmcn-vm:10520

2. **Saftencu Paula-Maria**, Gabriela Dumitrita Stanciu, M. Musteată, S.I. Beșchea Chiriac, S.A. Pasca, G. Solcan - The diagnostic of central nervous system

disorders in dogs with nephrocalcinosis, *Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara* Vol. XLVII(4), ISSN: 1221-5295, 2014, Timisoara; p.98-103

3. Paula-Maria Saftencu, Gabriela Dumitrita Stanciu, Musteata M., Beschea Chiriac S.I., **Pasca S.A.**, Solcan Gh - Modificari ale activitatii bioelectrice a creierului în insuficiența renală cronică la câine; *Lucrări științifice* vol.40, Univ. Agrară de Stat din Moldova, Fac. Medicină Veterinară Chisinau, 2014 ISBN 978-9975-64-263-7, p.368-370.

4. Saftencu Paula-Maria, Cozma Andreea-Paula, Ciocan Oana- Alexandra, Pasca S. A., Solcan Gh. A case of cystitis produces by ESBL-positive *Escherichia coli* in a male cat, *Lucr. Științ. USAMV Iași Volumul 58(17)*, ISSN 1454-7406 pg.385-390, 2015

5. Paula Maria Saftencu, Gheorghe Solcan, Historical and clinical examination findings in cats with end stage chronic kidney failure *Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara* Vol XLIX(4), ISSN: 1221-5295, 2016, Timisoara; p.107-112.

6. Paula Maria Saftencu, Sorin Aurelian Pașca, Mădălina Elena Henea, Gheorghe Solcan, Clinical and imaging diagnosis in small animal hydronephrosis, *Veterinary Imaging Review*, Nr. 3, p. 7-11, 2017.

În calitate de co-autor:

7. Madalina Rosca, Paula Maria Saftencu, Gheorghe Solcan, „Chronic kidney disease in type II feline diabetes mellitus" *Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara* Vol. 48, No.4, ISSN 1221-5295, 2015, Timisoara, pg. 158-165.

8. Oana Bîrsan, A. Baisan, Paula Saftencu, V. Vulpe, Electrocardiographic rhythmologic and morphologic changes in cats with hypertrophic cardiomyopathy, *Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara*, vol L(2), ISSN: 1221-5295, 2017, Timisoara; p.24-30

9. Oana Bîrsan, A. Baisan, Paula Saftencu, V. Vulpe, Radiologic changes in cats with hypertrophic cardiomyopathy, *Revista Română de Medicină Veterinară*, nr. 27, p.25-28, 2017.

10. Pasca S. A., Saftencu Paula Maria, Solcan G., 2016 - *Histopathological aspects of gentamicin nephrotoxicity in animals*, *Romanian Journal of Veterinary Medicine & Pharmacology*, vol 1, nr. 2, p:74-78.

11. Elena Gavrilăș, S. Pașca, Paula Saftencu, V. Vulpe, Imaging, necropsy and histopathological findings in aggressive mammary tumor in one cat, *Lucr. Științ. USAMV Iași Volumul 59(1)*, ISSN 1454-7406 pg.241-245, 2016.