

Estudio histopatológico de hígado y riñón de caninos y su relación con las concentraciones de urea, creatinina, proteínas, enzimas (ALT y SAP) en sangre *premortem* y en humor acuoso a las 0 y 24 horas *postmortem*

Histopathological study of canine liver and kidney and their relationship with blood and *postmortem* aqueous humour samples concentrations of urea, creatinine, proteins and enzymes activities (ALT and SAP)

C. GALLARDO¹, M.V., M. N. Sc.; E. PAREDES², M.V., Dr. med. vet.; J. PÉREZ², M.V.

¹Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias.

²Instituto de Patología Animal, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile

SUMMARY

The goal of this study was to characterize histopathological lesions of the liver and kidney of canines, and their relationship with blood and *postmortem* samples of aqueous humor concentrations of urea, creatinine, proteins and ALT and SAP plasmatic activity.

Thirty one animals were used in this study. They did not have clinical history of hepatic or renal diseases. Plasma samples were obtained before euthanasia. A sample of aqueous humor was obtained from the right eye of each dog just after euthanasia and a similar sample was obtained 24 hours later from the left eye. Urea, creatinine and protein concentrations and plasmatic activity of ALT and SAP were determined and samples of liver and kidney were obtained at *postmortem* and preserved in formaline (10%). Histopathological findings were characterized according to the following scale: none (0), mild (I), moderate (II), marked (III) and severe (IV).

The results showed that all dogs have some degree of renal and hepatic damage (R.D.L. and H.D.L. respectively). Glomerulonephritis and interstitial nephritis were found in 100% and 88% of cases, respectively. Histopathological findings of circulatory type were the main changes found in the liver (100%), characterized mainly by diffuse congestion (63.3%).

The values of urea, creatinine and proteins concentration and ALT and SAP activity were higher in plasma than in aqueous humour, but there was not a correlation between them, with exception of urea ($c = 0.99$). In addition, there was not a significant correlation between histopathological findings and plasmatic values studied.

Palabras claves: canino, histopatología, hígado, riñón, humor acuoso.

Key words: canine, histopathology, liver, kidney, aqueous humour.

INTRODUCCION

La muerte de un animal representa un desafío diagnóstico cuando no se cuenta con antecedentes previos ni signos clínicos, siendo

el examen *postmortem* el que determina la enfermedad del animal. La necropsia puede verse limitada en la determinación de un diagnóstico debido a la ausencia de lesiones evidentes o a la avanzada autólisis o putrefacción de los tejidos, lo que con frecuencia hace infructuoso el examen histopatológico (Lane y Lincoln, 1985a).

Tanto el hígado como el riñón son susceptibles de sufrir injurias. El hígado por su participación en múltiples procesos metabólicos está expuesto a la acción de diversos agentes infecciosos, metabólicos y tóxicos (Hardy, 1992); por su parte, los riñones reciben un alto porcentaje del gasto cardíaco, lo que incrementa su exposición a toxinas llevadas por la sangre. Por otra parte, las células tubulares renales son muy susceptibles a la hipoxia (Forrester y col., 1994).

Los órganos poseen una reserva funcional, razón por la cual, los signos de una enfermedad hepática pueden no ser aparentes hasta que un 70 a 80% de la capacidad funcional está perdida (Dunn, 1992). En el caso de los riñones, un animal con sólo un tercio de su capacidad renal funcional, no mostrará signos clínicos bajo circunstancias normales (Winter y Majid, 1984).

El daño hepático puede ser de origen hepatocelular o biliar, pudiendo valorarse en sangre a través de la actividad de varias enzimas hepáticas (Dunn, 1992). Además, se utiliza la determinación de proteínas totales, en virtud de que el hígado es el sitio primario de síntesis de gran parte de las proteínas plasmáticas (Center, 1992).

La capacidad funcional renal puede verse disminuida, conduciendo a una falla en las funciones metabólicas y endocrinas del riñón, llevando a la acumulación de sustancias que normalmente son excretadas y a una disminución en la habilidad para mantener la homeostasis del volumen extracelular de fluidos (Gleadhill, 1994; Confer y Panceira, 1995).

La funcionalidad renal en sangre puede ser valorada a través de la determinación de urea, que es el producto terminal del metabolismo proteico, formada en el hígado a partir del amoníaco y posteriormente eliminada por el riñón (Wittwer y Böhmwald, 1986), así como a través de la determinación de creatinina, que es un producto del desdoblamiento no enzimático espontáneo de la fosfocreatina en el músculo (Chew y Dibartola, 1992), siendo excretada sin cambios a través del riñón; en la mayoría de las especies esto ocurre sólo por filtración, tomándose los niveles de creatinina en el plasma

como una medida de la tasa de filtración glomerular (Macdougall, 1991). Sin embargo, algunos factores extrarenales pueden afectar transitoriamente el nivel de la creatinina como la mionecrosis masiva o el ejercicio extenuante prolongado (Chew y Dibartola, 1992).

Debido a que en muchas ocasiones no se dispone de una muestra de sangre *premortem* (Appleby y col., 1990) y a que la descomposición y contaminación de la sangre ocurre rápidamente después de la muerte, se han utilizado como alternativas fluido cerebroespinal y fluido intraocular para determinar algunos parámetros (Palmer y col., 1985; Scott y col., 1995); esto se debe a que el globo ocular es una estructura aislada y bien protegida anatómicamente (Lane y Lincoln, 1985a), permitiendo que el humor acuoso y el humor vítreo se mantengan estables en su composición y bien preservados por algunas horas después de la muerte (Lane y Lincoln, 1985b, Meyer y Hardvey, 2000).

En el ojo se pueden distinguir tres regiones: la cámara anterior, situada entre la córnea y el iris, la cámara posterior entre el iris y el cristalino y el espacio vítreo situado detrás del cristalino y rodeado por la retina (Junqueira y Carneiro, 1996). Ambas cámaras contienen el humor acuoso, éste es un líquido claro, transparente y de consistencia acuosa (Bloog y Coles, 1970), producido en el epitelio ciliar de los procesos ubicados en el cuerpo ciliar en la cámara posterior, a través de un proceso que combina difusión pasiva, transporte activo y ultrafiltración (Junqueira y Carneiro, 1996). Desde la cámara posterior el fluido avanza a través de la pupila y circula en la cámara anterior (Rathbone, 1995).

El humor acuoso está compuesto por: agua, aminoácidos, enzimas proteolíticas, histamina, cloro, bicarbonato, lactato, ascorbato, fosfato, piruvato, sodio, potasio, magnesio, prealbúminas, albúminas, globulinas (Bloog y Coles, 1970), urea y creatinina (Lane y Lincoln, 1985a), LDH y CK (Stewart y col., 1985). Es importante mencionar que las proteínas presentes en el humor acuoso, están en mucho menor cantidad que en el plasma, representando alrededor del 0.5% (Slatter, 1990). La composición del humor acuoso es modulada por

un mecanismo de permeabilidad selectiva denominado barrera hematoacuosa (Isumisawa y Kotani, 1991), la que se ubica entre la sangre de los capilares del estroma ciliar y el humor acuoso de la cámara posterior (Slatter, 1990; Rathbone, 1995).

Las funciones del humor acuoso son mantener la forma y funcionalidad del ojo (Izumisawa y Kotani, 1991), llevando nutrientes a los tejidos que baña como el iris y la córnea, recibiendo los desechos del metabolismo de estos tejidos (Slatter, 1990), además, preserva la transparencia de la córnea (Bloog y Coles, 1970) y mantiene la presión intraocular relativamente constante (Rathbone, 1995).

El análisis del humor acuoso ha sido utilizado como diagnóstico en seres humanos (Stewart y col., 1985), existiendo también estudios en animales tanto de humor acuoso como de humor vítreo (Lane y Lincoln, 1985a; Urcullú, 1991).

Stewart y col. (1985), realizaron una evaluación de las concentraciones de proteínas, CK y LDH en humor acuoso de perros, gatos, caballos y vacas sanas. También se han analizado los niveles de urea *postmortem* en caninos como un indicador de urea *antemortem* (Palmer y col., 1985), en gatos se han determinado las correlaciones entre los niveles de urea en humor acuoso y el diagnóstico *postmortem* (Appleby y col., 1990). Por su parte, Izumisawa y Kotani (1991), determinaron concentraciones de proteínas totales e inmunoglobulinas en humor acuoso en caninos.

Palmer y col. (1985), establecieron una relación en caninos que presentaban elevados niveles de urea en suero *premortem* con varias lesiones renales diagnosticadas *postmortem*, las cuales correspondieron a cambios degenerativos e inflamatorios en variados estados y de distinta duración.

En el presente estudio se analizó la relación entre los hallazgos histopatológicos de hígado y riñón de caninos con las concentraciones de urea, creatinina, proteínas y enzimas en sangre *premortem* y en humor acuoso a las 0 y 24 horas *postmortem*, con la finalidad de evaluar si estas concentraciones pueden ser utilizadas como diagnóstico *postmortem*, adquiriendo especial

importancia cuando no se dispone de una muestra de sangre *premortem* y el examen histopatológico es insuficiente para llegar a un diagnóstico o simplemente no es posible realizarlo debido al avance de los cambios *postmortem*.

MATERIAL Y METODOS

Se examinaron 31 caninos adultos de diferentes razas, sexo y edad, recibidos por el Hospital Veterinario de la Universidad Austral de Chile para ser eutanasiados entre diciembre de 1995 y mayo de 1996. Previo a la eutanasia se realizó un examen clínico general a cada animal a fin de descartar signos indicativos de patologías renales o hepáticas. Como método de eutanasia se utilizó una solución sobresaturada de Tiopental sódico. También, previo a la eutanasia de cada individuo, se obtuvo una muestra de sangre con heparina desde la vena cefálica para la obtención de plasma.

De cada animal se obtuvieron dos muestras de humor acuoso, la primera del ojo derecho inmediatamente después de efectuada la eutanasia y la segunda 24 horas después, desde el ojo izquierdo. La obtención de la muestra se efectuó introduciendo una aguja de 21 Gx11/2" a nivel del límite córneo-escleral (limbo), hacia la cámara anterior del ojo, obteniendo en cada caso entre 0.5 y 1.5 ml de humor acuoso, traspasándose a tubos eppendorf, en los que se mantuvo a -20°C hasta ser analizados.

A cada animal se le efectuó una necropsia (Instituto de Patología Animal de la Universidad Austral de Chile), de acuerdo a la pauta descrita por Paredes y Cubillos (1995), obteniendo muestras de hígado y de riñones en formalina tamponada al 10%.

Cada una de las muestras de plasma y de humor acuoso fueron procesadas en el Laboratorio de Patología Clínica del Instituto de Ciencias Clínicas de la Universidad Austral de Chile, determinándose la concentración de las siguientes variables: urea, por el método de ureasa Berthelot modificado a 37°C (623 nm); creatinina, por el método de Jaffe sin desproteinización a 25°C (492 nm); proteínas,

por el método de Biuret a temperatura ambiente (546 nm); ALT (alanino amino transferasa), por el método recomendado por la International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), a 37°C (340 nm); SAP (fosfatasa alcalina), por el método estándar optimizado, según la Deutsche Gesellschaft der Klinischen Chemie (DGKC), a 37°C (405 nm). Se utilizaron kits Boehringer-Mannheim y fotómetro Hitachi 4020.

Las muestras de hígado y riñones para examen histológico fueron fijadas por 48 horas en formalina tamponada al 10%, posteriormente fueron laminadas y procesadas en autotécnico a fin de ser deshidratadas e impregnadas en parafina. Una vez incluidas en parafina sólida fueron cortadas con micrótopo a un grosor de 5 a 6 μ para ser teñidas con hematoxilina-eosina (Luna, 1968), a fin de caracterizar las alteraciones microscópicas. En aquellas muestras en que se observó pigmento intracelular en los túbulos renales, se efectuó la tinción de Schmorl para lipofucsina (Luna, 1968).

Las alteraciones microscópicas observadas en las muestras de hígado y riñones fueron clasificadas en trastornos: circulatorios, del crecimiento celular, del metabolismo celular, del metabolismo pigmentario, inflamatorios, necróticos y misceláneos. La magnitud de las lesiones fue semicuantificada utilizando la siguiente escala de grados: 0 (ausente); I (leve); II (moderado); III (marcado); IV (severo) (Foster, 1997).

RESULTADOS

De los 31 caninos examinados, 18 correspondieron a machos y 13 a hembras. El mayor porcentaje correspondió a mestizos, las edades fluctuaron entre 7 meses y 14 años (promedio 5.3 años). El peso fluctuó entre 6.5 y 30 kilos (promedio 16.3 kilos).

Dentro de las alteraciones histológicas renales (cuadro 1), los trastornos del crecimiento celular más frecuentes en riñones fueron dilatación e hiperplasia tubular a nivel córtico-medular y medular (9.67%), siendo más severa la lesión a nivel medular.

El trastorno circulatorio más común en riñones fue la congestión difusa (35.58%),

principalmente de grado II y III, además se observaron infartos corticales (19.35%). El único trastorno pigmentario observado fue la lipofucsinosi tubular (22.58%).

Los trastornos degenerativos corticales se presentaron con mayor frecuencia que los observados a nivel medular; siendo lo más frecuente la tumefacción turbia cortical (77.41%), el grado de severidad fue principalmente moderado (grado II).

La totalidad de los riñones de los caninos examinados presentó alguna alteración de tipo inflamatorio o necrótico, destacándose por su alta frecuencia la glomerulonefritis (100%), la nefritis intersticial en corteza (87.09%) y la fibrosis córtico-medular (38.7%) y medular (51.61%), el grado de alteración de estas lesiones fue principalmente intermedio (grado II y III). Las restantes alteraciones inflamatorio-necróticas de riñón se manifestaron menos frecuentemente; sin embargo, a pesar de que la fibrosis renal se observó sólo con una frecuencia intermedia, llama la atención que la severidad de dicha alteración fue mayormente alta (grados III y IV).

La presencia de proteínas y depósitos minerales en el lumen tubular de corteza y médula fueron las alteraciones misceláneas más frecuentes observadas en los riñones, con un grado de severidad principalmente bajo (grado I-II).

Dentro de las alteraciones histológicas hepáticas (cuadro 2), el trastorno del crecimiento celular más frecuentemente observado fue la atrofia de hepatocitos (43.33%), principalmente de grado moderado.

Al igual que en riñón, el trastorno circulatorio que más se observó en hígado fue la congestión difusa (63.33%), seguida de la congestión periportal (36.66%), ambas alteraciones se manifestaron con una intensidad marcada (grado III).

La mayoría de los trastornos degenerativos se presentaron en grados intermedios (II y III), siendo la alteración más común la degeneración vacuolar centrolobulillar de los hepatocitos (40%). Al igual que en riñones, sólo se manifestó una única alteración en el metabolismo de los pigmentos, que correspondió a hemosiderosis (23.33%).

CUADRO 1: Frecuencia de alteraciones renales histológicas por grado lesional y según tipo de trastorno en 31 caninos.

Frequency of histological renal alterations for injury degree and according to type of disorder in 31 canines.

TIPO DE TRASTORNO	Grado Lesional					Casos con Alteración	
	Grado 0	Grado I	Grado II	Grado III	Grado IV	Total	%
DEL CRECIMIENTO:							
Dilatación e hiperplasia túbulos							
Corticales	30	0	1	0	0	1	3.22
Córtico-medulares	28	0	3	0	0	3	9.67
Medulares	28	0	0	0	3	3	9.67
CIRCULATORIOS:							
Congestión difusa	20	2	5	4	0	11	35.58
Infartos corteza	25	3	0	3	0	6	19.35
METABOLISMO PIGMENTARIO:							
Lipofuscinosis tubular	24	2	3	2	0	7	22.58
DEGENERATIVOS:							
Tumefacción turbia corteza	7	2	15	6	1	24	77.41
Tumefacción turbia médula	23	2	4	1	1	8	25.8
Degeneración vacuolar corteza	16	1	6	6	2	15	48.38
Degeneración vacuolar médula	28	0	1	1	1	3	9.67
INFLAMATORIOS Y NECROTICOS:							
Glomerulonefritis	0	3	13	12	3	31	100
Nefritis Intersticial corteza	4	6	7	13	1	27	87.09
Nefritis Intersticial médula	21	2	2	5	1	10	32.25
Nefritis Intersticial córtico-medular	30	0	1	0	0	1	3.22
Fibrosis corteza	24	0	0	3	4	7	22.58
Fibrosis médula	15	2	3	8	3	16	51.61
Fibrosis córtico-medular	19	3	3	5	1	12	38.7
Fibrosis subcapsular	30	0	0	0	1	1	3.22
Granulomas	27	0	0	4	0	4	12.9
Necrosis medular	29	2	0	0	0	2	6.45
MISCELÁNEOS:							
Proteínas lumen tubular corteza	6	16	6	3	0	25	80.64
Cilindros proteicos en médula	6	13	3	6	3	25	80.64
Depósitos minerales en corteza	29	0	0	0	2	2	6.45
Depósitos minerales en espacio de Bowman	26	4	0	0	1	5	16.12
Depósitos minerales en túbulos medulares	11	7	8	3	2	20	64.51
CIIN eosinofílicos cristaliformes	27	4	0	0	0	4	12.9
Quiste congénito córtico medular	30	0	1	0	0	1	3.22

0: Ausente; I: Leve; II: Moderado; III: Marcado; IV: Severo; I.If.: Infiltrado inflamatorio; CIIN: Cuerpos de inclusión intranucleares.

Dentro de la amplia variedad de alteraciones inflamatorio-necróticas que se presentaron en hígado, la fibrosis periportal fue la que más se presentó (63.33%), principalmente en grados intermedios (II y II); además, se observaron distintos tipos de

infiltrados inflamatorios, de ellos, el más frecuente fue el de tipo multifocal linfocitario (26.66%). La presencia de cuerpos de inclusión intranucleares en el interior de los hepatocitos constituyó el trastorno misceláneo de mayor presentación (53.33%).

CUADRO 2: Frecuencia de alteraciones histológicas hepáticas por grado lesional y según tipo de trastorno en 30 caninos.

Frequency of histological hepatic alterations for injury degree and according to type of disorder in 30 canines.

TIPO DE TRASTORNO	Grado Lesional					Casos con Alteración	
	Grado 0	Grado I	Grado II	Grado III	Grado IV	Total	%
DEL CRECIMIENTO:							
Atrofia	17	3	7	3	0	13	43.33
Hiperplasia y proliferación de conductos biliares	27	2	0	1	0	3	10
Megalocitosis	0	0	0	1	0	1	3.33
CIRCULATORIOS:							
Congestión periportal	19	0	1	10	0	11	36.66
Congestión difusa	11	2	3	10	4	19	63.33
Edema periportal	26	1	1	2	0	4	13.33
Focos de hemorragia	28	2	0	0	0	2	6.66
DEGENERATIVOS:							
Tumefacción turbia difusa	24	0	4	2	0	6	20
Tumefacción turbia periportal	21	0	4	5	0	9	30
Degeneración vacuolar difusa	23	0	2	5	0	7	23.33
Degeneración vacuolar centrolobulillar	18	1	6	4	1	12	40
Degeneración grasa	25	1	1	2	1	5	16.66
DEL METABOLISMO PIGMENTARIO:							
Hemosiderosis	23	4	2	1	0	7	23.33
INFLAMATORIOS Y NECROTICOS:							
Infiltrado Inflamatorio Periportal							
Histioneutrofilico	25	0	1	4	0	5	16.66
Histiocitario	25	4	1	0	0	5	16.66
Mixto	24	0	4	2	0	6	20
Infiltrado Inflamatorio Centrolobulillar							
Plasmohistiocitario	26	3	1	0	0	4	13.33
Histiocitario	29	0	1	0	0	1	3.33
Infiltrado Inflamatorio Multifocal							
Linfocitario	22	4	3	1	0	8	26.66
Linfohistiocitario	26	1	2	1	0	4	13.33
Histiolinfocitario	25	1	4	0	0	5	16.66
Mixto	29	0	1	0	0	1	3.33
Histiolinfocitario más células gigantes	29	0	1	0	0	1	3.33
Infiltrado Inflamatorio Sinusoidal							
Neutrofilico	28	1	0	1	0	2	6.66
Mixto	29	0	0	1	0	1	3.33
Infiltrado Inflamatorio Subcapsular							
Histiocitario	27	0	0	3	0	3	10
Fibrosis Periportal	11	4	8	7	0	19	63.33
Fibrosis Subcapsular	26	0	1	3	0	4	13.33
Granulomas	26	0	0	4	0	4	13.33
I.If. Focal Histioneutrofilico y Fibrosis	29	0	0	1	0	1	3.33
I.If. Mixto:células Gigantes. fibrosis y huevos de nemátodos	29	0	0	0	1	1	3.33
Foco de necrosis	27	2	0	1	0	3	10
Necrosis multifocal con reacción neutrohistiocitaria	28	0	1	1	0	2	6.66
MISCELANEOS							
CIIN Eosinofilicos Cristaliformes	14	13	2	1	0	16	53.33
CIIN Incoloros	29	1	0	0	0	1	3.33

0: Ausente; I: Leve; II: Moderado; III: Marcado; IV: Severo; I.If.: Infiltrado inflamatorio; CIIN: Cuerpos de inclusión intranucleares.

Con relación a las concentraciones de urea, creatinina, proteínas, ALT y SAP en plasma y humor acuoso a las 0 y 24 horas *postmortem* (cuadro 3), se estableció que las concentraciones en plasma para cada uno de los metabolitos fueron mayores a las observadas en las muestras de humor acuoso a las 0 y 24 horas *postmortem* ($p < 0.05$).

Al analizar las concentraciones de estos metabolitos en humor acuoso a las 0 horas *postmortem* (H.A.0 h) y las muestras de humor acuoso a las 24 horas *postmortem* (H.A.24 h), se aprecia que las concentraciones de urea, creatinina y SAP en H.A.24 h fueron mayores a las observadas en H.A.0 h ($p < 0.05$); por su parte, las concentraciones de proteínas y ALT en H.A.24 h fueron similares a las del H.A.0 h ($p > 0.05$).

Las concentraciones de urea, creatinina y ALT en H.A.0 h, presentaron una correlación

significativa con sus concentraciones sanguíneas ($p < 0.05$). Además, las concentraciones de urea y creatinina en H.A.24 h, también presentaron una correlación significativa ($p < 0.05$), con sus valores observados en plasma y H.A.0 h. Destaca el alto valor de correlación observado entre las concentraciones de urea en H.A.0 h con las de sangre (0.9906).

Al comparar las concentraciones promedio en sangre, H.A.0 h y H.A.24 h de urea y creatinina entre los perros con un grado de alteración renal I-II con las de los perros con alteración renal III-IV (cuadro 4), se observa que no existieron diferencias significativas en los valores medidos en sangre, H.A.0 h y H.A.24 h ($p > 0.05$). La excepción lo constituyó la concentración de creatinina en H.A.24 h, la cual fue significativamente mayor en los caninos que presentaban un grado de alteración renal III-IV ($p < 0.05$).

CUADRO 3: Concentraciones (promedio \pm desviación estándar) de urea, creatinina, proteínas, ALT y SAP en plasma y humor acuoso a las 0 y 24 horas *postmortem* en caninos.

Concentrations (means \pm standard deviation) of urea, creatinine, proteins, ALT and SAP in plasma and *postmortem* aqueous humour to the 0 and 24 hours in canines.

VARIABLE	MUESTRA			
		Plasma (premortem)	Humor acuoso 0 hrs. (postmortem)	Humor acuoso 24 hrs. (postmortem)
UREA mmol/l	x	5.8	4.98 a	5.48 ab
	d.e.	3.52	3.2	3.14
	n	31	31	31
CREATININA μ mol/l	x	94.94	36.84 a	46.65 ab
	d.e.	37.99	16.95	21.23
	n	31	31	31
PROTEINAS g/l	x	77.47	1.6 a	3.20 a
	d.e.	9.71	3.24	4.34
	n	30	30	30
ALT U/l (37°C)	x	59.4	6.74 a	5.00 a
	d.e.	89.03	3.74	3.16
	n	30	19	19
SAP U/l (37°C)	x	98.23	3.05 a	10.42 ab
	d.e.	102	3.6	13.77
	n	30	19	19

a: Diferencia con plasma ($p < 0.05$). n: N° de casos.

b: Diferencia con humor acuoso a las 0 horas ($p < 0.05$).

CUADRO 4: Concentraciones (promedio \pm desviación estándar) de urea y creatinina en plasma y humor acuoso a las 0 y 24 horas *postmortem* en 31 caninos, según el grado de alteración renal.
Concentrations (means \pm standard deviation) of urea and creatinine in plasm and *postmortem* aqueous humour to the 0 and 24 hours in 31 canines, according to degree of renal alteration.

VARIABLE	Grado de Alteración Renal			Significancia
		I-II	III-IV	
PLASMA (<i>premortem</i>)				
UREA mmol/l	x	4.96	6.81	n.s
	d.e.	1.77	4.76	
	n	17	14	
CREATININA μmol/l	x	85.71	106.14	n.s
	d.e.	19.75	51.2	
	n	17	14	
HUMOR ACUOSO 0 h (<i>postmortem</i>)				
UREA mmol/l	x	4.28	5.84	n.s
	d.e.	1.78	4.27	
	n	17	14	
CREATININA μmol/l	x	32.29	42.36	n.s
	d.e.	15.12	17.93	
	n	17	14	
HUMOR ACUOSO 24 h (<i>postmortem</i>)				
UREA mmol/l	x	4.64	6.5	n.s
	d.e.	1.64	4.17	
	n	17	14	
CREATININA μmol/l	x	38.88	56.07	s
	d.e.	16.65	22.89	
	n	17	14	

n.s: No significativo ($p > 0.05$). n: N° de casos.
s: Significativo ($p < 0.05$).

Al relacionar las concentraciones de proteínas, ALT y SAP en plasma, H.A.0 h y H.A.24 h (cuadro 5) en caninos con un grado de alteración hepática leve o moderada (I-II), se observa que no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) con respecto a los caninos con alteración hepática marcada o severa (III-IV).

DISCUSION

La alta variedad de lesiones histológicas observadas en hígado y riñón concuerdan con lo descrito por distintos autores, quienes atribuyen

esta alta susceptibilidad a sufrir lesiones al hecho de que ambos órganos reciben un alto porcentaje del gasto cardíaco e intervienen en muchos procesos metabólicos, lo que hace que no sólo se vean afectados por enfermedades propias, sino que también se afecten por disfunciones o cambios patológicos de otros tejidos (Kelly, 1993; Maxie, 1993).

A nivel renal, los trastornos de tipo inflamatorio-necrótico fueron encontrados en el 100% de los individuos, destacándose la glomerulonefritis (GN) y la nefritis intersticial (N.I.), esto es coincidente con lo descrito por Peters (1977).

CUADRO 5: Concentraciones (promedio \pm desviación estándar) de proteínas, ALT y SAP en plasma y humor acuoso a las 0 y 24 horas *postmortem* en caninos, según grado de alteración hepática.Concentrations (means \pm standard deviation) of proteins, ALT and SAP in plasma and *postmortem* aqueous humour to the 0 and 24 hours in canines, according to degree of hepatic alteration.

VARIABLE	Grado de Alteración Renal			Significancia
	I-II	III-IV		
PLASMA (<i>premortem</i>)				
PROTEINAS g/l	x	77.47	77.47	n.s.
	d.e.	10.2	9.56	
	n	15	15	
ALT U/l (37°C)	x	62.4	56.4	n.s.
	d.e.	118.54	48.4	
	n	15	15	
SAP U/l (37°C)	x	92.13	104.33	n.s.
	d.e.	66.93	130.35	
	n	15	15	
HUMOR ACUOSO 0 h (<i>postmortem</i>)				
PROTEINAS g/l	x	1.27	1.93	n.s.
	d.e.	2.19	4.1	
	n	15	15	
ALT U/l (37°C)	x	7	6.38	n.s.
	d.e.	3.58	4.17	
	n	11	8	
SAP U/l (37°C)	x	3.336	2.63	n.s.
	d.e.	4.46	2.13	
	n	11	8	
HUMOR ACUOSO 24 h (<i>postmortem</i>)				
PROTEINAS g/l	x	3.27	3.13	n.s.
	d.e.	4.64	4.19	
	n	15	15	
ALT U/l (37°C)	x	4.91	5.13	n.s.
	d.e.	3.78	2.3	
	n	11	8	
SAP U/l (37°C)	x	7.45	14.5	n.s.
	d.e.	9.17	18.3	
	n	11	8	

n.s.: No significativo ($p > 0.05$). n: N° de casos.

Llama la atención que la totalidad de los perros examinados manifestaran algún grado de daño glomerular; esto concuerda con lo descrito por Müller-Peddinghaus y Trautwein (1977a), quienes luego de examinar 101 perros encontraron evidencias de daño glomerular en el 90% de los casos.

El daño glomerular primario a menudo es consecuencia de trombosis, embolismo o infección directa de los componentes del glomérulo (Confer y Panceira, 1995), sin embargo, la GN usualmente resulta del depósito de complejos inmunes en el glomérulo (Gleadhill, 1994). Dos mecanismos inmunológicos han sido

identificados; en el primero los anticuerpos reaccionan con antígenos de la membrana basal glomerular; en el otro, los anticuerpos reaccionan con antígenos no glomerulares en la circulación, formándose complejos inmunes que se depositan en el glomérulo (Slauson y Lewis, 1979).

Entre las lesiones inflamatorias, que también se presentaron en un alto porcentaje en riñones, se encuentran la nefritis intersticial (87.09%) y la fibrosis renal (51.61%). La alta presentación de N.I., concuerda con lo señalado por Müller-Peddinghaus y Trautwein (1977b), quienes encontraron un 71% de N.I.; por otra parte, Peters (1977), encontró N.I. en el 76.25% de los riñones estudiados.

El alto porcentaje de riñones con fibrosis se explica principalmente por la alta presentación de N.I., ya que en su forma crónica cursa con fibrosis; ésta puede ocurrir como un evento primario en el riñón, pero más frecuentemente es una manifestación crónica de la fase de curación de una lesión renal preexistente. Microscópicamente se caracteriza por un aumento en la cantidad de tejido conectivo intersticial y por atrofia o desaparición de los túbulos renales asociados (Confer y Panceira, 1995).

Los trastornos del crecimiento a nivel renal constituyen una alteración de segundo orden en este estudio, dada su baja frecuencia de presentación (22.58%), siendo los túbulos dilatados o quísticos la única alteración de este tipo encontrada, estos túbulos están delimitados por un epitelio de células aplanadas que son el resultado de cápsulas de Bowman dilatadas o segmentos tubulares secuestrados que quedan aislados por tejido conectivo (Confer y Panceira, 1995).

La lipofuscinosi fue el único trastorno pigmentario diagnosticado a nivel renal. Las lipofuscinas son pigmentos endógenos anhemoglobínogenos, grasos, de ubicación intracelular que se encuentran en células en envejecimiento y en procesos crónicos; el pigmento es de color pardo-dorado y se encuentra en cuerpos residuales como inclusiones al final de la actividad lisosómica (Banks, 1996).

La congestión difusa renal fue la alteración circulatoria más observada (35.58%). El riñón puede sufrir congestión aguda o crónica; en el caso agudo, se produce un aumento en la cantidad de sangre en el lado venoso del sistema circulatorio debido a un impedimento súbito del flujo sanguíneo desde el corazón a los pulmones (Jones y col., 1997). El método de eutanasia empleado causa un paro cardio-respiratorio, lo que podría explicar la presencia de congestión renal.

Los infartos renales aun cuando no constituyeron una alteración de alta (19.35%), representan una alteración de importancia, ya que son áreas de necrosis coagulativa como resultado de isquemia o una oclusión vascular debido a una trombosis o a un émbolo aséptico (Confer y Panceira, 1995).

La alta presentación de trastornos de tipo degenerativo (83.87%), sobre todo a nivel cortical, puede deberse a que esta área es metabólicamente muy activa y por ende, vulnerable a la hipoxia, la cual causa tumefacción celular de los túbulos renales, comprometiendo el flujo de sangre al resto del riñón y provocando algún grado de obstrucción tubular (Gleadhill, 1994).

La presentación de un alto número de perros con proteínas en el lumen tubular de la corteza, podría relacionarse con la alta frecuencia de glomerulonefritis observada ya que la barrera normal de filtración glomerular se ve dañada, permitiendo el paso de proteínas plasmáticas hacia la orina; además, inflamaciones del parénquima renal o daño del epitelio tubular pueden causar pérdida de proteínas hacia el espacio urinario (Relford y Lees, 1996).

La presencia de cilindros proteicos en los túbulos de la médula y la presencia de depósitos minerales a este mismo nivel, se observan cuando el pH es bajo y existe algún daño glomerular o condiciones inflamatorio-degenerativas dentro del tejido renal (Doxey, 1983).

A nivel hepático, los trastornos de tipo inflamatorio-necrótico, al igual que en el riñón, manifestaron un alto porcentaje (96.66%), destacándose los distintos tipos de infiltrados inflamatorios y la fibrosis periportal, además, a

pesar de su escaso porcentaje, llaman la atención los granulomas (13.33%), de los cuales uno presentó huevos de nemátodo asociado a una fuerte reacción inflamatoria. Entre los parásitos a los que podrían pertenecer estos huevos se destaca *Capillaria hepática* (MacLachlan y Cullen, 1995).

La fibrosis a nivel hepático puede ser secuela de una injuria tóxica crónica, desórdenes metabólicos de los hepatocitos o inflamaciones crónicas; en el caso de colangitis crónica y/o obstrucción biliar puede producirse fibrosis, la cual es más pronunciada a nivel periportal (MacLachlan y Cullen, 1995).

Los trastornos del crecimiento más observados en hígado fueron la atrofia de hepatocitos (43.33%) y la hiperplasia y proliferación de conductos biliares (10%). La atrofia es un trastorno de tipo adaptativo donde la sobrevivencia de la célula todavía es posible. La hiperplasia y proliferación de conductos biliares están presentes en lesiones crónicas (Kelly, 1993) y son el resultado de una variedad de injurias, sin embargo, el origen y mecanismo de esta proliferación es desconocido (MacLachlan y Cullen, 1995).

La hemosiderosis fue el único trastorno pigmentario observado en hígado (23.33%). La hemosiderina es un pigmento férrico que se forma por degradación de la hemoglobina cuando se lisan los eritrocitos (Cheville, 1980; Banks, 1996).

El 100% de los hígados examinados presentó alteraciones de tipo circulatorio, destacándose la congestión que puede ser aguda o crónica. La congestión aguda suele ser consecuencia de una falla miocárdica, la que puede tener múltiples causas (Jones y col., 1997), entre las cuales podría estar el tipo de eutanasia utilizada. La congestión crónica generalmente está asociada a una falla cardíaca congestiva derecha (Dunn, 1992).

Los trastornos de tipo degenerativo en hígado fueron frecuentes (90%), variando desde tumefacción turbia de hepatocitos (expresión inicial de alteración), a degeneración grasa (manifestación más avanzada de daño celular) (Cheville, 1980).

En trastornos misceláneos destacaron la presencia de cuerpos de inclusión intranucleares (C.I.I.N.), eosinofílicos cristaliformes (53.33%); éstos son un hallazgo frecuente en los hepatocitos y en el epitelio renal de los perros, su origen y significado es desconocido, pero se sugiere que corresponden a proteínas cristalizadas. Berríos y González (1978), encontraron un 30.66% de C.I.I.N. en los hígados de 75 perros, lo que indica que se trata de un hallazgo común, sin embargo, en este estudio se observó una frecuencia de presentación superior.

Las concentraciones de todos los metabolitos en estudio medidas en el humor acuoso a las 0 horas *postmortem* fueron menores ($p < 0.05$), que las encontradas en plasma, esto puede ser explicado por la presencia de la barrera hematoacuosa, la que impide el paso de moléculas de gran peso molecular desde la sangre hacia el humor acuoso (Stewart y col., 1985); la permeabilidad de esta barrera está dada por el tamaño de las partículas y en parte por su solubilidad lipídica (Lane y Lincoln, 1985a).

El mecanismo de permeabilidad selectiva de la barrera hematoacuosa puede explicar que las concentraciones de proteínas en el humor acuoso sean muchísimo menores que en el plasma (Izumisawa y Kotani, 1991), a diferencia de metabolitos con tamaños moleculares inferiores como la urea, los que podrían atravesar la barrera hematoacuosa casi sin ser filtrados (Wittwer y col., 1992).

Las concentraciones de urea, creatinina y SAP observadas en el humor acuoso 24 horas posterior a la muerte fueron mayores ($p < 0.05$) que en el humor acuoso al momento de la muerte (0 horas), al respecto, Wittwer y col. (1992), atribuyen este aumento a la inactivación de la barrera hematoacuosa y a la libre difusión de los metabolitos desde los tejidos vecinos.

Si bien existen diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones plasmáticas de los metabolitos en estudio y sus concentraciones en humor acuoso a las 0 horas *postmortem* (H.A.0 h), cabe destacar que urea, creatinina y ALT presentaron una correlación significativa ($p < 0.05$), entre sus concentraciones en sangre y H.A.0 h. Sin embargo, en el caso de

creatinina y ALT estas correlaciones no fueron muy altas, por lo que pese a ser significativas, no permitirían estimar con seguridad su valor en sangre a partir de la concentración en H.A.0 horas.

En el caso de la urea, la determinación *postmortem* de su concentración en humor acuoso hasta las 24 horas posterior a la muerte permite realizar una buena estimación de los valores plasmáticos *antemortem*.

RESUMEN

Se necropsiaron 31 caninos, sin historia clínica de patologías hepáticas o renales. Previo a la eutanasia, realizada con solución sobresaturada de tiopental sódico, se obtuvo una muestra de plasma; una vez efectuada la eutanasia, se obtuvo una muestra de humor acuoso desde el ojo derecho y otra 24 h después del ojo izquierdo. En cada muestra se determinaron las concentraciones de urea, creatinina, proteínas, ALT y SAP. Se caracterizaron las lesiones histológicas de hígado y de riñón de caninos a fin de relacionarlas con las concentraciones de urea, creatinina, proteínas, ALT y SAP en sangre *premortem* y en humor acuoso a las 0 y 24 h *postmortem*.

A cada perro se le practicó una necropsia, obteniéndose muestras de hígado y riñón en formalina al 10%. Para la caracterización histológica de las lesiones se utilizó la siguiente escala: ausente (0), leve (I), moderado (II), marcado (III), y severo (IV). A cada órgano se le asignó un grado de alteración histológica utilizando una escala similar (I a IV); este grado de alteración fue comparado con las concentraciones de los metabolitos estudiados en sangre y humor acuoso a las 0 y 24 h *postmortem*.

El 100% de los perros manifestó algún grado de alteración renal y hepática (G.A.R. y G.A.H.). Los trastornos de tipo inflamatorio necrótico a nivel renal fueron observados en el 100% de los perros, destacándose la glomerulonefritis (100%) y la nefritis intersticial (87.09%). A nivel hepático los trastornos de tipo circulatorio fueron los más frecuentemente observados (100%),

siendo la congestión difusa la lesión más encontrada (63.33%).

Las concentraciones de los metabolitos estudiados fueron mayores en sangre *premortem* que en humor acuoso a las 0 y 24 h *postmortem* ($p < 0.05$). Los valores de correlación entre las concentraciones de sangre con las de humor acuoso a las 0 y 24 h *postmortem* fueron bajas o no significativas ($p > 0.05$), a excepción de la urea que presentó una correlación de 0.99 ($p < 0.05$).

Se compararon las concentraciones de urea y creatinina en sangre y humor acuoso a las 0 y 24 h *postmortem* entre los perros con G.A.R. I-II con respecto a los con G.A.R. III-IV; a la vez, se compararon las concentraciones de proteínas, ALT Y SAP entre los perros con G.A.H. I-II con respecto a los con G.A.H. III-IV. En general, no existió relación significativa entre el examen histopatológico de hígado y riñón con las concentraciones de urea, creatinina, proteínas, ALT y SAP en sangre *premortem* y humor acuoso a las 0 y 24 h *postmortem* de los caninos examinados ($P > 0.05$).

BIBLIOGRAFIA

- APPLEBY, E. C., A. H. S. HAYWARD, G. STODULSKY, P. RENYARD. 1990. Urea levels in aqueous humour-an aid to diagnosis in cat. *Vet. Rec.* 127: 619-620.
- BANKS, J. W. 1996. Histología Veterinaria Aplicada. 3ª ed., El Manual Moderno. México, D.F.
- BERRIOS, A., H. GONZALEZ. 1978. inclusiones cristalinas intranucleares en el hígado del perro. *Arch. Med. Vet.* 11: 40-41.
- BLOOG, D.V.M., E.H. COLES. 1970. Aqueous humour proteins. *Vet. Bull.* 40: 347-351.
- CENTER, S. A. 1992. Fisiopatología y diagnóstico de laboratorio de las enfermedades del hígado. En: Ettinger, S.J. Tratado de Medicina Interna Veterinaria: Enfermedades del perro y el gato. Vol. 2, 3ª ed, Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina.
- CHEVILLE, N. F. 1980. Patología Celular. Acribia. Zaragoza, España.
- CHEW, D. J., S. DIBARTOLA. 1992. Diagnóstico y fisiopatología de la enfermedad renal. En: Ettinger, S.J. Tratado de Medicina Interna Veterinaria: Enfermedades del perro y el gato. Vol. 3, 3ª ed., Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina.
- CONFER, A. W., R. J. PANCEIRA. 1995. The urinary system. In: Carlton, W.W., McGavin. M.D.

- Thomson's Special Veterinary Pathology. 2nd ed., Mosby-Year Book. Inc. St. Louis, USA.
- DOXEY, D. L. 1983. Clinical Pathology and Diagnostic Procedures. 2nd ed., Baillière Tindall. London, England.
- DUNN, J. 1992. Assessment of liver damage and dysfunction. *In Practice* 14: 193-200.
- FORRESTER, S. D., S. E. LITTLE. 1994. The etiopathogenesis of acute renal failure. *Vet. Med.* 89: 204-211.
- FOSTER, C. 1997. Estudio anatómico e histopatológico de las patologías digestivas en terneros de crianza artificial muertos en el primer mes de vida. Tesis, M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- GLEADHILL, A. 1994. Differential diagnosis of renal failure in the dog. *In Practice* 16: 216-223.
- HARDY, R. M. 1992. Enfermedades del hígado y su tratamiento. En: Ettinger, S. Tratado de Medicina Interna Veterinaria: enfermedades del perro y el gato. Vol. 2, 3^a ed., Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina.
- IZUMISAWA, Y., T. KOTANI. 1991. Immunoglobulin concentrations in normal aqueous humor and their changes in the secondary aqueous humor of dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 53: 543-544.
- JONES, T. C., R. D. HUNT, N. W. KING. 1997. Veterinary pathology. 6th ed, Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, EEUU.
- JUNQUEIRA, L., J. CARNEIRO. 1996. Histología Básica Texto y Atlas. 4^a ed., Masson, S.A. Barcelona, España.
- KELLY, W. R. 1993. The liver and biliary system. En: Jubb, K.V.F., P.C. Kennedy, N. Palmer. Pathology of domestic animals. Vol.2, 4th ed., Academic Press. San Diego, EEUU.
- LANE, V. M., S. D. LINCOLN. 1985a. Changes in urea nitrogen and creatinine concentrations in the vitreous humour of cattle after death. *Am. J. Vet. Res.* 46: 1550-1552.
- LANE, V. M., S. D. LINCOLN. 1985b. *Postmortem* chemical analysis of vitreous humour as a diagnostic aid in cattle. *Food Animal.* 66: 883-886.
- LUNA, L. G. 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rded., McGraw-Hill Book Company. New York, USA:
- MACDOUGALL, D. F. 1991. Diagnosis, monitoring and prognosis of renal disease. *In Practice* 13: 250-254.
- MACLACHLAN, N. J., J. M. CULLEN. 1995. Liver, biliary system, and exocrine pancreas. In: Carlton, W. W., McGavin, M. D. Thomson's Special Veterinary Pathology. 2nd ed., Mosby-Year Book. Inc. St. Louis.
- MAXIE, M. G. 1993. The urinary system. En: Jubb, K.V.F., P.C. Kennedy, N. Palmer. Pathology of domestic animals. Vol. 2, 4thed., Academic Press. San Diego, EEUU.
- MEYER, D. J., J. W. HARVEY. 2000. El Laboratorio en Medicina Veterinaria. Interpretación y diagnóstico 2^a edición. Inter-médica. Buenos Aires, Argentina.
- MÜLLER-PEDDINGHAUS, R., G. TRAUTWEIN. 1977a. Spontaneous glomerulonephritis in dogs. I. Classification of glomerulonephritis and Immunopathology. *Vet. Pathol.* 14: 1-13.
- MÜLLER-PEDDINGHAUS, R., G. TRAUTWEIN. 1977b. Spontaneous glomerulonephritis in dogs II. Correlation of glomerulonephritis with age, chronic interstitial nephritis and extrarenal lesions. *Vet. Pathol.* 14: 121-127.
- PALMER, D. G., P. OSSENT, M. M. SUTER, H. LUTZ. 1985. *Postmortem* urea levels in aqueous humour as a reliable indicator of antemortem uraemia. *Vet. Rec.* 116: 411-412.
- PAREDES, E., V. CUBILLOS. 1995. Manual de necropsia en animales domésticos y envío de muestras a laboratorio. Universidad Austral de Chile. Valdivia.
- PETERS, S. 1977. Patología renal en perros (*Canis familiaris*) de la ciudad de Valdivia. Tesis, M. V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- RATHBONE, J. 1995. Recognizing and managing acute and chronic cases of glaucoma. *Vet. Med.* 90: 265-275.
- RELFORD, R. L., G. E. LEES. 1996. Nephrotic syndrome in dogs: diagnosis and treatment. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 18: 279-292.
- SCOTT, P. R., N. D. SARGISON, C. D. PENNY, W. D. STRACHAN. 1995. Aqueous humour and cerebrospinal fluid collected at necropsy as indicators of antemortem serum 3-OH Butyrate concentration in pregnant sheep. *Br. Vet. J.* 151: 459-461.
- SLATTER, D. 1990. Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. 2nd ed., W. B. Saunders. Philadelphia.
- SLAUSON, D. O., R. M. LEWIS. 1979. Comparative pathology of glomerulonephritis in animals. *Vet. Pathol.* 16: 135-164.
- STEWART, J., M. A. HULL, G. A. SEVERIN, L. H. LAUERMAN, J. D. LAVACH. 1985. Laboratory evaluation of aqueous humour in the healthy dog, cat, horse and cow. *Am. J. Vet. Res.* 46: 657-659.

- URCULLU, F. 1991. Concentraciones de calcio, magnesio, fósforo, potasio, sodio, urea y creatinina en el humor acuoso y vítreo de vacas *postmortem* y su relación con sus concentraciones sanguíneas *premortem*. Tesis, M. V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- WINTER, H., N. H. MAJID. 1984. Glomerulonephritis-an emerging disease?. *Vet. Bull.* 54: 327-335.
- WITTWER, F., H. BÖHMWALD. 1986. Manual de Patología Clínica Veterinaria. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia.
- WITTWER, F., F. URCULLÚ, P. CONTRERAS, H. BÖHMWALD. 1992. Concentraciones *postmortem* de minerales, urea y creatinina en humor acuoso y vítreo en vacas como indicadores de sus concentraciones sanguíneas *premortem*. *Arch. Med. Vet.* 24: 61-68.