

In der vorliegenden Arbeit wurden histologisch und immunhistologisch Untersuchungen an den Nieren von 115 Hunden unter besonderer Berücksichtigung der Glomerulopathien durchgeführt. Das Untersuchungsmaterial besteht aus zwei Gruppen von Hunden. Die erste Gruppe umfaßt 50 Hunde aus dem laufenden Sektionsgut des Instituts für Pathologie. Hiervon waren 38 Fälle aus der Klinik für kleine Haustiere und 12 Fälle aus der tierärztlichen Praxis eingesandt worden. In einer zweiten Gruppe wurden die archivierten Nieren von 65 Hunden aus einer histologischen Studie zur Etablierung der Biopsietechnik aus dem Jahre 1984 nachuntersucht.

Die Gewebeproben aus den Nieren wurden in Formalin, Paraformaldehyd-Glutaraldehyd bzw. Schafferscher Lösung fixiert und in Paraffin, LR-White-Kunststoff bzw. Methylmetacrylat eingebettet. Als Übersichtsfärbung wurde die Hämalaun-Eosin- und die Toluidinblau-Färbung und zur Darstellung von Basalmembranen die Methenamin-Versilberung nach MOVAT bzw. Silberimprägnation nach GOMORI oder JONES eingesetzt. Mit einer Reihe von Antiseren wurden Immunreaktanten im Nierengewebe identifiziert: Immunglobuline G, M und A sowie die Komplementkomponente C3. Mit weiteren Antiseren wurden Substanzen, die bei Glomerulopathien eine pathogenetische Rolle spielen, sowie einzelne Zellmarker nachgewiesen: Fibrinogen, Cytokeratin, Desmin, Vimentin, Fibronectin, Faktor VIII-related Antigen, Protein S-100 und Lysozym. Die immunhistologische Bindung der jeweiligen Antiseren wurde mit einer mehrschrittigen Immunperoxidase-Technik sichtbar gemacht: indirekte Immunperoxidase, Peroxidase-Antiperoxidase bzw. Avidin-Biotin-Komplex.

Die Kombination von Färbungen und der Immunperoxidase-Technik ermöglicht den direkten Vergleich der strukturellen mit den immunpathologischen Veränderungen in den Glomeruli. Sie erlaubt auch eine Klassifizierung der beim Hund vorkommenden Glomerulopathien mit einem hohen Maß an Genauigkeit. Die Auswertung

des eigenen Untersuchungsmaterials basiert auf den Prinzipien der Klassifikation der Glomerulopathien des Menschen, wie sie vom "Collaborating Centre for the Histological Classification of Renal Diseases" der World Health Organization vorgeschlagen worden sind (CHURG u. SOBIN 1982). Unter Zugrundelegung der "Grundmuster primärer glomerulärer Alterationen" sowie der "modifizierenden Merkmale der Glomerulopathien" lassen sich beim Hund folgende Formen unterscheiden: minimale glomeruläre Veränderungen (28 Fälle), fokal-segmentale Hyalinose und Sklerose (12), fokale Glomerulonephritis (18), diffuse membranöse Glomerulonephritis (GN) (9), diffuse mesangial-proliferative GN (2), diffuse endokapillär-proliferative GN (5), diffuse mesangiokapilläre GN (25), diffuse sklerosierende GN (11) und nichtklassifizierbare GN (2). Hinzu kommen ein Fall von renaler Dysplasie und zwei Hunde ohne glomeruläre Alterationen.

Die Untersuchungen mit Antiseren gegen bestimmte Intermediärfilamentproteine haben die bisher für andere Spezies vorliegenden Kenntnisse über die Expression von Zellmarkern auf die Hundeniere erweitert. Cytokeratin läßt sich in parietalen Epithelzellen, Podozyten und im Tubulusepithel nachweisen. Desmin ist in parietalen Epithelzellen und in Mesangialzellen bei mesangialproliferativer GN enthalten. Vimentin wird mit Desmin in parietalen Epithelzellen und mit Cytokeratin in Podozyten koexprimiert. Die Anwendung der Antiseren gegen Lysozym, Faktor VIII-related Antigen und Fibrinogen erlaubt begrenzte Einblicke in mögliche Pathomechanismen bestimmter Glomerulopathien.

Miguel Vilafranca Compte

Contribution to the morphological and immunohistological classification of glomerulopathies in dogs

Histological and immunohistological studies were performed on 115 kidneys of dogs with special consideration of glomerulopathies. All dogs belonged to two groups. The first group comprises 50 autopsies from the Institute of Pathology. 38 cases were submitted by the Small Animal Clinic and 12 cases from veterinary practise. In the second group there are 65 archive cases from a histological study to establish the renal biopsy technique in 1984.

Tissue samples from the kidneys were fixed in formalin, paraformaldehyde-glutaraldehyde and Schaffer's solution, respectively, and embedded in paraffin, LR-White-resin or methylmetacrylate. Staining methods were haematoxylin-eosin, toluidin blue and methenamine-silver after Movat and silver impregnation after Gomori or Jones. With a number of antisera immune reactants were identified in the renal tissue: immunoglobulins G, M, A and the complement component C3. With other antisera substances which play a role in the pathogenesis of glomerulopathies and selected cell markers were demonstrated: fibrinogen, cytokeratin, desmin, vimentin, fibronectin, factor VIII-related antigen, protein S-100 and lysozyme. Immunological binding of these antisera was demonstrated with one of the following multiple step-immunoperoxidase techniques: indirect immunoperoxidase, peroxidase-antiperoxidase and avidin-biotin-complex, respectively.

The combination of stains and the immunoperoxidase technique renders possible the comparison of the morphological with the immunopathological glomerular alterations and also the classification of glomerulopathies occurring in dogs with

considerable precision. The evaluation of all cases was based on the principles of classification of human glomerulopathies, as proposed by the "Collaborating Centre for the Histological Classification of Renal Disease" of the World Health Organization (CHURG u. SOBIN 1982). Based on the "basic glomerular alterations" and the "significant qualifying glomerular changes" the following forms can be differentiated in dogs: minimal glomerular abnormalities (28 cases), focal-segmental hyalinosis and sclerosis (12), focal glomerulonephritis (18), diffuse membranous glomerulonephritis (GN) (9), diffuse mesangioproliferative GN (2), diffuse endocapillary proliferative GN (5), diffuse mesangiocapillary GN (25), diffuse sclerosing GN (11) and unclassified GN (2). Furthermore, there were one case of renal dysplasia and two dogs without glomerular alterations.

The studies with antisera against certain intermediate filament proteins have enlarged the general knowledge on marker expression to the canine kidney. Cytokeratin can be demonstrated in parietal epithelial cells, podocytes and tubular epithelial cells. Desmin is a component of parietal epithelial and mesangial cells in the case of mesangioproliferative glomerulonephritis. Vimentin is co-expressed with desmin in parietal epithelial cells and with cytokeratin in podocytes. The application of antisera against lysozyme, factor VIII-related antigen and fibrinogen renders possible limited insight into possible pathomechanisms of certain glomerulopathies.

Miguel Vilafranca Compte

Contribución a la clasificación histológica e inmunohistológica de las glomerulopatías del perro

En el presente trabajo se estudiaron los riñones de 115 perros histológica e inmunohistologicamente con especial atención a las glomerulopatías. El material de estudio se compone de dos grupos de perros. El primer grupo comprende 50 perros procedentes del material de necropsia del Instituto de Patología. 38 de estos casos fueron remitidos por la Clínica de Pequeños Animales y los restantes 12 por otras clínicas veterinarias. En un segundo grupo se estudiaron los riñones archivados de 65 perros, procedentes de un estudio histológico realizado en 1988 para establecer la técnica de biopsia.

Las muestras de tejido de los riñones se fijaron en formol, paraformaldehído-glutaraldehído o en solución de Schaffer, y se incluyeron en parafina, LR-White y metilmetacrilato respectivamente. Las tinciones de hematoxina-eosina y azul de toluidina se emplearon como tinciones de contraste, mientras que para el revelado de las membranas basales se utilizó bien la tinción de plata-metenamina según MOVAT o bien las impregnaciones argénticas según JONES o GOMORI. Con una serie de anticuerpos se indentificaron diversos componentes inmunitarios en el tejido renal: inmunoglobulinas IgG, IgM e IgA así como el componente C3 del complemento. Con otros antisueros se demostraron componentes involucrados en la patogenia de las glomerulopatías así como algunos marcadores celulares: fibrinógeno, citoqueratina, desmina, vimentina, fibronectina, antígeno relacionado al factor VIII, proteína S-100 y lisozima. La reacción inmunológica de sendos antisueros se visualizó con una de las siguientes técnicas indirectas de inmunoperoxidasa: inmunoperoxidasa indirecta, peroxidasa anti-peroxidasa y el complejo avidina-biotina

La combinación de tinciones con la técnica de inmunoperoxidasa posibilita a comparación directa de los cambios estructurales e inmunopatológicos en el glomérulo. Esta combinación también permite la clasificación de las glomerulopatías del perro con una elevada exactitud. La evaluación del propio material de estudio se basa en los principios de clasificación para glomerulopatías en el hombre, propuestos por el "Collaborating Centre for the Histological Classification of Renal Diseases" de la World Health Organization (CHURG y SOBIN 1982). De acuerdo con los "patrones básicos para alteraciones glomerulares primarias" así como las "características modificadoras de las glomerulopatías", pueden diferenciarse las siguientes formas en el perro: alteraciones glomerulares mínimas (28 casos), hialinosis y esclerosis focal-segmental (12), glomerulonefritis focal (18), glomerulonefritis (GN) membranosa difusa (9), GN mesangioproliferativa difusa (2), GN endocapilar proliferativa difusa (5), GN mesangiocapilar difusa (25), GN esclerosante difusa (11) y GN no clasificable (2). Adicionalmente se detectó un caso de displasia renal y dos perros sin alteraciones glomerulares.

Los estudios con antisueros frente a determinadas proteínas de filamento intermedio han extendido al caso del perro los conocimientos que ya se tenían en otras especies sobre la expresión de marcadores celulares. Citoqueratina se detecta en células epiteliales parietales, podocitos y en el epitelio tubular. Desmina se presenta en células epiteliales parietales y en células mesangiales en GN mesangioproliferativas. Vimentina se coexpresa con desmina en células epiteliales parietales y con citoqueratina en podocitos. El uso de antisueros frente a lisozima, el antígeno relacionado al factor VIII y fibrinógeno permiten limitados estudios sobre posibles patomecanismos en determinadas glomerulopatías.