

Przydatność biopsji gruboigłowej oraz badania histopatologicznego w rozpoznawaniu kłębuszkowego zapalenia nerek u psów

MARCIN JANKOWSKI, AGNIESZKA HAŁOŃ*, KRZYSZTOF KUBIAK, JOLANTA SPUŻAK, JÓZEF NICPOŃ

Katedra Chorób Wewnętrznych i Pasożytniczych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław
*Katedra i Zakład Anatomii Patologicznej AM, ul. Marcinkowskiego 1, 50-368 Wrocław

Jankowski M., Hałoń A., Kubiak K., Spużak J., Nicpoń J.

Usefulness of oligobiopsy and histopathological examination for the diagnosis of glomerulonephritis in dogs

Summary

The aim of the study was to apply and evaluate the usefulness of oligobiopsy performed under the control of ultrasonography and histopathological examination for the diagnostics of glomerulonephritis in dogs. The study was conducted on 15 dogs of different breeds and sexes, aged 11 months – 11 years with symptoms of glomerulonephritis. The biopsies were collected from the kidneys by semiautomatic Tru-cut needles of the following parameters: diameter – 1.6 mm, length – 150 mm, the chamber length for the biopsy – 20 mm.

The significant pathological changes of glomeruli were found in 13 biopsies out of 15 biopsies performed. Eight histopathological diagnoses were made: focal segmental glomerulosclerosis – 3 cases; membranoproliferative glomerulonephritis – 4 cases; glomerulonephritis mesangialis – 2 cases; chronic diffuse glomerulonephritis – 2 cases; extracapillary glomerulonephritis – 1 case; minimal change disease – 1 case.

On the basis of the conducted research it was discovered that oligobiopsy performed under the control of ultrasonography is a very useful diagnostic technique for the diagnosis and differentiation of glomerulonephritis. The histopathological evaluation of biopsies combined with the clinical history, the clinical examination result, blood and urine test results and ultrasound examination results allows the diagnosis in terms of qualitative and quantitative changes.

Keywords: oligobiopsy, glomerulonephritis, dog

Kłębuszkowe zapalenie nerek jest chorobą, która prowadzi do zaburzeń w prawidłowej strukturze kłębuszków nerkowych, objawiających się spadkiem filtracji i rozwojem niewydolności nerek. Schorzenie to najczęściej związane jest z obecnością kompleksów immunologicznych w ścianach naczyń włosowatych kłębuszka nerkowego. Obecność kompleksów immunologicznych w obrębie kłębuszka nerkowego zapoczątkowuje złożoną reakcję zapalną, w którą zaangażowane są: dopełniacz, neutrofile, makrofagi, płytki krwi oraz komórki mezangium i śródbłonna naczyń kłębuszka nerkowego. Konsekwencją tego może być pogrubienie ścian kapilar, rozrost komórek mezangium lub jedno i drugie (5, 8, 12, 17-19).

Przyczynami kłębuszkowego zapalenia nerek mogą być: zakażenia bakteryjne najczęściej w wypadku powikłań takich chorób, jak: zapalenie wsierdza, brucelloza, ropomacicze, borelioza, mykoplazmowe zapale-

nie wielostawowe, zapalenie prostaty, posocznica; zakażenia wirusowe np.: choroba Rubartha; choroby pasożytnicze np.: dirofilarioza, trypanosomoza, lajszmanioza; wszystkie typy nowotworów, choroby trzustki, choroby autoimmunologiczne, przewlekłe choroby skóry, syndrom Cushinga, cukrzyca, niedoczynność tarczycy (1, 2, 5, 6, 10, 15, 23, 24, 28).

Na podstawie informacji uzyskanych z wywiadu, wyniku badania klinicznego, wyników badań laboratoryjnych krwi (hematologiczne i biochemiczne), wyników badania moczu oraz wyników badania ultrasonograficznego układu moczowego można jedynie podejrzewać kłębuszkowe zapalenie nerek (20, 21).

Celem podjętych badań było zastosowanie oraz ocena przydatności biopsji gruboigłowej (oligobiopsji) wykonywanej pod kontrolą USG oraz badania histopatologicznego w diagnostyce kłębuszkowego zapalenia nerek u psów.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono u 15 psów różnej rasy i płci, w wieku od 11 miesięcy do 11 lat, wykazujących objawy wskazujące na kłębuszkowe zapalenie nerek, które zostały skierowane do Katedry Chorób Wewnętrznych i Pasożytniczych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów w celu wykonania biopsji nerek.

Do biopsji nerek psy kwalifikowano na podstawie: informacji uzyskanych z wywiadu, wyniku badania klinicznego, wyników badania hematologicznego (liczba erytrocytów (RBC), liczba leukocytów (WBC), stężenie hemoglobiny (HGB), liczba hematokrytowa (Hct), wskaźniki czerwonych krwinek (MCV, MCH, MCHC), liczba płytek krwi (PLT), czas krzepnięcia oraz czas krwawienia) i biochemicznych krwi (aktywność: aminotransferazy asparaginianowej (AST), aminotransferazy alaninowej (ALT), fosfatazy zasadowej (ALP), stężenie: mocznika, kreatyniny, białka całkowitego, albumin, glukozy, cholesterolu, wapnia (Ca^{++}), fosforu nieorganicznego (Pn), sodu (Na^{+}), potasu (K^{+}) i chloru (Cl^{-})) oraz wyników badań fizykochemicznych moczu (barwa, ciężar właściwy, odczyn, obecność: białka, glukozy, acetonu, krwi, urobilinogenu i barwników żółciowych, a w osadzie moczu obecność: erytrocytów, leukocytów, komórek nabłonkowych, składników mineralnych oraz bakterii).

Biopsję nerek wykonywano u psów leżących w pozycji mostkowej. Do premedykacji zastosowano ksylazynę (prep. Sedazin) w dawce 1-2 mg/kg m.c. i atropinę w dawce 0,05 mg/kg m.c. podawane w jednej iniekcji domięśniowej, a do znieczulenia głównego – ketaminę w dawce 6-10 mg/kg m.c. Dodatkowo kanał wkłucia igły biopsyjnej znieczulano nasiękowo 2% roztworem lignokainy.

Obrazowanie nerek, podczas którego zwracano uwagę na ich położenie, wielkość, kształt i strukturę wewnętrzną, przeprowadzono aparatem USG Digi prince DP-3300 Vet z głowicą minikonweksową 5 MHz.

Biopaty z nerek pobierano igłami typu Tru-cut firmy Cook w systemie półautomatycznym o następujących parametrach: średnica 1,6 mm, długość 150 mm, długość komory dla wycinka tkanki 20 mm.

Przed wykonaniem punkcji nerek dokładnie usuwano sierść i dezynfekowano skórę jodyną w miejscu wkłucia igły biopsyjnej. Następnie obrazowano nerki i wyznaczano miejsce jej wkłucia. Ostrzem skalpela wykonywano niewielkie nacięcie skóry i pod kontrolą ultrasonografii pobierano fragment nerki.

Biopaty utrwalano w 10% zbuforowanym roztworze formaliny, a następnie zatapiano w bloczkach parafinowych. Bloczki parafinowe zawierające utrwalone fragmenty tkanki nerkowej, przy użyciu mikrotomu, krojono na skrawki o grubości 5 μ m, które następnie odparafinowywano w ksylenie i umieszczano na szkiełkach podstawowych typu Super Frost. Barwienia: hematoksyliną i eozyną, metodą p.a.S., metodą Massona i metodą Jonesa przeprowadzano zgodnie z protokołem obowiązującym w pracowni histopatologicznej.

Za biopaty reprezentatywne uznawano takie, w których stwierdzono minimum 5 kłębuszków nerkowych (13). Zmiany patologiczne kłębuszków nerkowych oceniano na podstawie zmodyfikowanej klasyfikacji pierwotnych i wtór-

nych glomerulopatii wg McGavina i wsp. (16) oraz Jennette i wsp. (11) opartych na badaniach świetlnomikroskopowych, immunohistochemicznych i elektronowo-mikroskopowych.

Wyniki i omówienie

Na podstawie wywiadu, wyniku badania klinicznego, wyników badań laboratoryjnych krwi (hematologiczne i biochemiczne), wyników badań moczu oraz wyników badania ultrasonograficznego nerek wszystkie psy zakwalifikowano do biopsji gruboigłowej tego narządu.

W wywiadzie oraz badaniu klinicznym u psów stwierdzono następujące objawy kliniczne: zmniejszony apetyt – 5 przypadków, brak apetytu – 6 przypadków, wzmożone pragnienie – 11 przypadków, wielomocz – 9 przypadków, częstomocz – 4 przypadki, spadek aktywności ruchowej – 8 przypadków, spadek masy ciała – 5 przypadków, wygięcie grzbietu do góry – 1 przypadek, niezdolność ruchową dotyczącą kończyn tylnych – 1 przypadek, wymioty – 4 przypadki, bolesność okolicy nerek – 2 przypadki, wodobrzusze – 1 przypadek oraz obrzęki zastoinowe – 2 przypadki. Podobne objawy kliniczne u psów z kłębuszkowym zapaleniem nerek stwierdzili inni autorzy (4, 22, 26).

W badaniu hematologicznym u 5 (33,3%) psów stwierdzono obniżoną liczbę erytrocytów i obniżoną liczbę hematokrytową, a u 3 (20,0%) obniżone stężenie hemoglobiny. U 2 (13,3%) psów stwierdzono: obniżenie średniej masy hemoglobiny w krwince czerwonej (wartość MCH: 1,09 fmol i 1,1 fmol) i obniżenie średniego stężenia hemoglobiny w krwince czerwonej (wartość MCHC: 17,6 mmol/l i 18,2 mmol/l), a u 4 (26,6%) podwyższoną liczbę leukocytów. Pozostałe parametry hematologiczne były w zakresie normy fizjologicznej (tab. 1).

W badaniu biochemicznym krwi stwierdzono: podwyższenie wartości następujących parametrów: mocznika – 9 (60,0%) przypadków, kreatyniny – 10 (66,6%) przypadków i fosforu nieorganicznego – 4 (26,6%) przypadki oraz obniżenie wartości białka całkowitego – 5 (33,3%) przypadków i albumin – 5 (33,3%) przypadków. Pozostałe parametry biochemiczne krwi były w zakresie normy fizjologicznej (tab. 2).

W badaniu fizykochemicznym moczu stwierdzono: mocz mętny – 5 (33,3%) przypadków, mocz lekko mętny – 1 (6,6%) przypadek, obniżenie ciężaru właściwego moczu – 7 (46,6%) przypadków (u tych psów wartość ciężaru właściwego moczu wynosiła od 1,006 do 1,015), zmianę pH moczu – 7 (46,6%) przypadków (w tym: pH obojętne – 3 przypadki i pH zasadowe – 4 przypadki), białkomocz 13 (86,6%) przypadków (stężenie białka w moczu u tych zwierząt wynosiło od 0,4 g/l do 20,0 g/l, śr. $5,1 \pm 5,57$ g/l), obecność krwi 5 (33,5%) przypadków (w tym: znaczna – 2 przypadki i nieznaczna – 3 przypadki). U 6 (40,0%) psów w osadzie moczu stwierdzono erytrocyty świeże, u 4 (26,6%) erytrocyty wylugowane, u 4 (26,6%) leukocyty, u 2 (13,3%) nabłonki przejściowe, u 5 (33,3%) nabłonki

Tab. 1. Wyniki badania hematologicznego psów

Parametr	Jednostka SI	Średnia arytmetyczna	Odchylenie standardowe	Wartość maksymalna	Wartość minimalna	Norma fizjologiczna
RBC	T/l	5,85	± 1,26	8,0	3,33	5,5-11,8
HGB	mmol/l	8,62	± 1,73	10,9	5,6	7,4-11,8
Hct	l/l	0,39	± 0,08	0,490	0,248	0,37-0,55
MCV	f/l	68,8	± 4,54	76,0	62,0	60,0-77,0
MCH	fmol	1,33	± 0,13	1,48	1,09	1,18-1,49
MCHC	mmol/l	21,19	± 1,49	22,4	17,6	19,8-22,4
WBC	G/l	12,75	± 6,77	33,0	6,1	6,0-15,0
PLT	G/l	306,73	± 81,85	431,0	158,0	150,0-500,0
Czas krzepnięcia	min.	3,29	± 1,14	5,10	1,20	1-6
Czas krwawienia	min.	4,41	± 1,67	7,10	1,30	do 10

Tab. 2. Wyniki badania biochemicznego krwi psów

Parametr	Jednostka SI	Średnia arytmetyczna	Odchylenie standardowe	Wartość maksymalna	Wartość minimalna	Norma fizjologiczna
AST	U/l	43,45	± 20,83	90,0	13,0	< 90,0
ALT	U/l	47,07	± 25,19	86,0	14,0	< 100,0
ALP	U/l	65,27	± 47,64	164,0	17,0	< 200,0
Mocznik	mmol/l	20,26*	± 15,93	49,8	3,4	3,3-8,9
Kreatynina	µmol/l	311,6*	± 189,64	604,0	97,0	88,0-159,0
Białko całkowite	g/l	57,93	± 12,9	77,0	35,0	48,0-78,0
Albuminy	g/l	28,27	± 6,34	35,0	17,0	25,0-35,0
Glukoza	mmol/l	5,15	± 0,83	6,45	3,8	3,7-6,7
Cholesterol	mmol/l	6,55	± 1,69	9,14	4,4	3,3-9,3
Ca ⁺⁺	mmol/l	2,49	± 0,27	3,0	2,07	2,0-3,0
Pn	mno/l	2,29	± 1,15	5,09	1,09	0,94-2,87
Na ⁺	mmol/l	149,84	± 3,67	155,0	140,6	139,1-156,5
K ⁺	mmol/l	4,4	± 0,45	5,23	3,62	3,6-5,8
Cl ⁻	mmol/l	108,34	± 29,75	119,0	107,0	98,7-119,0

Objaśnienie: * – wartość wyższa od normy fizjologicznej

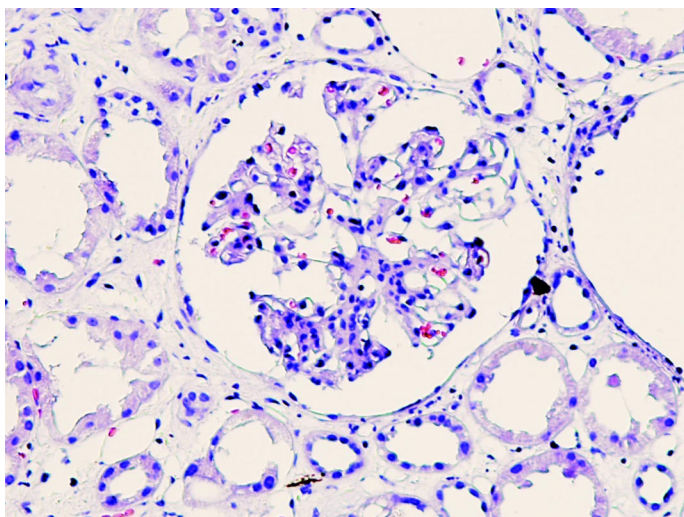
okrągłe, u 2 (13,3%) kryształły trójfosforanów amonowo-magnezowych, u 3 (20,0%) kryształły szczawianu wapnia, u 2 (13,3%) wałeczki (w tym: woskowe – 1 przypadek i gruboziarniste – 1 przypadek) oraz u 4 (26,6%) bakterie. Stwierdzono, że u psów białkomocz jest najczęstszym objawem wskazującym na kłębuszkowe zapalenie nerek, spotykanym podczas badania moczu. Potwierdzają to obserwacje wielu autorów (3, 7, 9, 14).

W badaniu ultrasonograficznym zaburzenia w prawidłowym obrazie nerek wykryto w 8 (53,0%) przypadkach i były to: powiększenie jednej lub obydwu nerek – 2 przypadki, wzrost echogeniczności miąższu nerkowego – 2 przypadki, zatarta struktura miąższu nerkowego – 4 przypadki, pogrubienie warstwy korowej nerek – 2 przypadki, pogrubienie torebki nerkowej – 1 przypadek i zwłóknienie warstwy granicznej nerek – 3 przypadki.

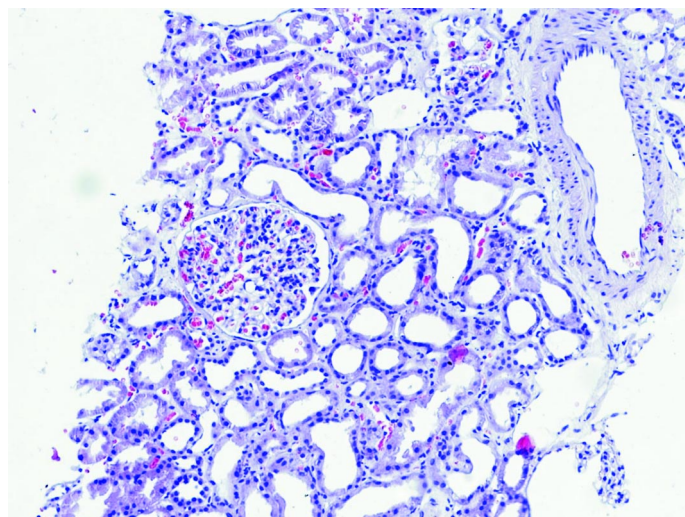
Zastosowane w badaniach znieczulenie z wykorzystaniem: ksylazyny, ketaminy i liganokainy uznano za wystarczające, gdyż pozwalało na wykonanie zabiegu w odpowiednio długim czasie i nie stwierdzono jego negatywnych skutków. Wykorzystane do biopsji igły typu Tru-cut w systemie półautomatycznym umożliwiały pobranie odpowiedniej wielkości fragmentów nerek. Potwierdzają to badania innych autorów (27, 29).

Wszystkie pobrane bioptyki spełniały kryteria diagnostyczności i zawierały część korową nerki, pojedyncze naczynia tętnicze oraz część rdzenną nerki. Długość pobranych skrawków tkanki nerkowej wahała się od 0,5 do 2 cm (średnio: 1,4 cm). Wycinki objęły w części korowej od 4 do 24 kłębuszków nerkowych (średnio: 11 kłębuszków nerkowych). Podobną średnią długość bioptatów (1,34 cm) i średnią ilość kłębuszków nerkowych (13,4) u psów, u których wykonywano biopsje pod kontrolą laparoskopową uzyskali Nowicki i wsp. (21). Mniej niż 5 kłębuszków nerkowych uzyskano jedynie w 1 bioptacie (6,6%). Podobny odsetek (3,9%) bioptatów z mniej niż 5 kłębuszkami nerkowymi uzyskali w swoich badaniach Zатели i wsp. (27).

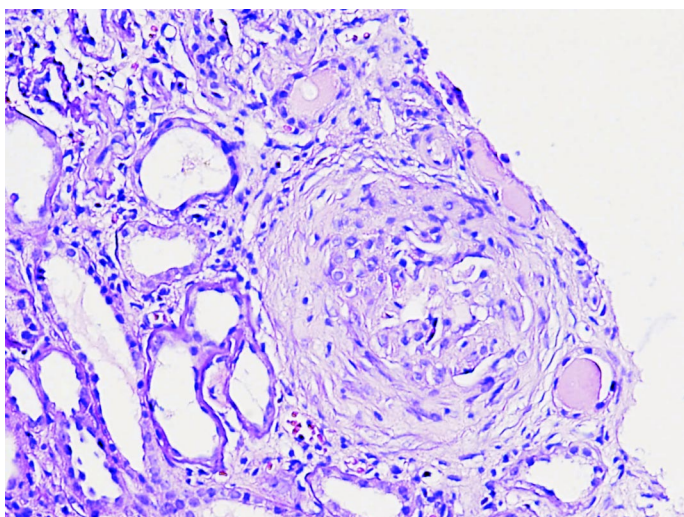
Na 15 wykonanych oligo-biopsji istotne zmiany patologiczne kłębuszków nerkowych stwierdzono w 13 (86,6%) bioptatach i postawiono 8 następujących rozpoznań histopatologicznych: ogniskowe segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych (*glomerulosclerosis focalis et segmentalis*, focal segmental glomerulosclerosis – FSGS) – 3 (23,1%) przypadki (ryc. 1); mezangialno-włośniczkowe kłębuszkowe zapalenie nerek syn. błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek (*glomerulonephritis mesangio-capillaris*, *glomerulonephritis membrano-proliferativa*, membranoproliferative glomerulonephritis – MPGN) – 4 (30,7%) przypadki (w tym: 1 przypadek o umiarkowanym nasileniu i aktywności zmian oraz 3 przypadki o dużym nasileniu i aktywności zmian) (ryc. 4); rozplemowe mezangialne kłębuszkowe zapalenie nerek (*glomerulonephritis proliferativa mesangialis*, *glomerulonephritis mesangialis* – MGN) – 2 (15,4%) przypadki (w tym: 1 przypadek o umiarkowanym nasi-



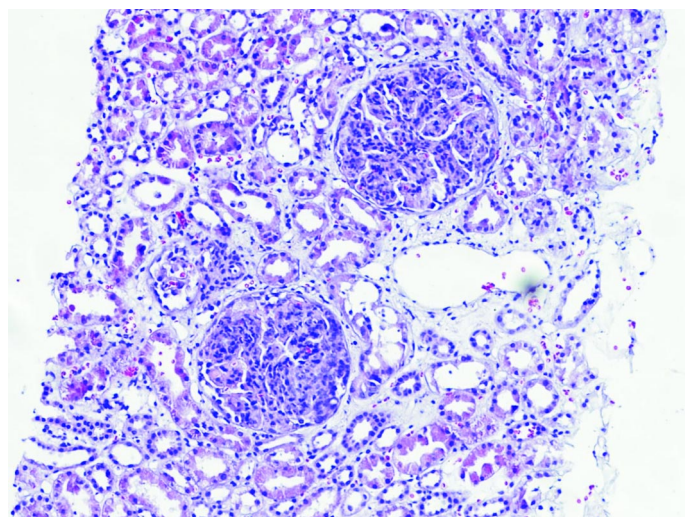
Ryc. 1. Ogniskowe segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych (*glomerulosclerosis focalis et segmentalis*), barwienie H-E, pow. 200 ×



Ryc. 2. Rozplemowe mezangialne kłębuszkowe zapalenie nerek (*glomerulonephritis proliferativa mesangialis*), barwienie H-E, pow. 100 ×



Ryc. 3. Rozplemowe zewnątrzwołniczkowe kłębuszkowe zapalenie nerek z tworzeniem półksiężyców komórkowo-włóknistych (*glomerulonephritis proliferativa extracapillaris*), barwienie H-E, pow. 200 ×



Ryc. 4. Błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek (*glomerulonephritis mesangio-capillaris*), barwienie H-E, pow. 100 ×

leniu i aktywności zmian i 1 przypadek o minimalnym nasileniu i aktywności zmian) (ryc. 2); przewlekłe rozlane kłębuszkowe zapalenie nerek ze sklerotyzacją jako końcową fazą choroby (*glomerulonephritis chronica diffusa*, chronic diffuse glomerulonephritis – CDGN) – 2 (15,4%) przypadki (w tym: 1 przypadek o umiarkowanym nasileniu i zaawansowaniu zmian i 1 przypadek o dużym nasileniu i zaawansowaniu zmian); rozplemowe zewnątrzwołniczkowe kłębuszkowe zapalenie nerek z tworzeniem półksiężyców komórkowo-włóknistych (*glomerulonephritis proliferativa extracapillaris*, extracapillary glomerulonephritis, crescentic glomerulonephritis – CGN) – 1 (7,7%) przypadek z obecnością półksiężyców w 50% kłębuszków (ryc. 3); submikroskopowe kłębuszkowe zapalenie nerek (*glomerulonephritis submicroscopica*, minimal change disease – MCD) – 1 (7,7%) przypadek.

Jedynie w 2 przypadkach (13,3%) w badaniu histopatologicznym biopsatów stwierdzono tkankę nerkową

bez jakichkolwiek morfologicznych zmian patologicznych. U tych psów na podstawie wywiadu i badania klinicznego stwierdzono: wzmożone pragnienie i wielomocz, zmienny apetyt oraz niechęć do ruchu. Parametry hematologiczne zawierały się w granicach normy fizjologicznej. W badaniu biochemicznym krwi stwierdzono nieznaczny wzrost mocznika (który wynosił, odpowiednio: 10,4 mmol/l i 11,2 mmol/l) i nieznaczny spadek stężenia albumin (który wynosił, odpowiednio: 23,0 g/l i 22,0 g/l), a w badaniu fizykochemicznym moczu z osadem jedynie białkomocz (który wynosił, odpowiednio: 1,3 g/l i 0,9 g/l). Brak zmian patologicznych w biopsatach w tych 2 przypadkach najprawdopodobniej spowodowany był ogniskowymi zmianami w mięszu nerkowym.

Obecność komponenty śródmiąższowej glomerulopatii pod postacią rozproszonego i/lub ogniskowego, w dominującej mierze limfocyтарnego z domieszką komórek plazmatycznych nacieku zapalnego stwierdzo-

no w 5 (38,4%) przypadkach: 2 przypadki – ogniskowe segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych, 1 przypadek – rozplamowe zewnątrzwołniczkowe kłębuszkowe zapalenie nerek z tworzeniem półksiężyców komórkowo-włóknistych, 1 przypadek – mezangialno-włóniczkowe kłębuszkowe zapalenie nerek o dużym nasileniu i aktywności zmian oraz 1 przypadek – rozplamowe mezangialne kłębuszkowe zapalenie nerek o umiarkowanym nasileniu. Cechy pełnościennego szkliwienia ściany naczyń tętniczych (*arterio- et arteriosclerosis*) o różnym stopniu zaawansowania stwierdzono również w 5 (38,4%) przypadkach: w 2 przypadkach przewlekłego rozlanego kłębuszkowego zapalenia nerek ze sklerotyzacją, w 1 przypadku mezangialno-włóniczkowego kłębuszkowego zapalenia nerek o dużym nasileniu i aktywności zmian, w 1 przypadku rozplamowego mezangialnego kłębuszkowego zapalenia nerek o umiarkowanym nasileniu oraz w przypadku submikroskopowego kłębuszkowego zapalenia nerek. Ogniskowe lub rozlane włóknienie zrębu o niewielkim lub umiarkowanym nasileniu stwierdzono zaledwie w 3 (23,1%) przypadkach i były to obydwie przypadki przewlekłego rozlanego kłębuszkowego zapalenia nerek ze sklerotyzacją oraz 1 przypadek rozplamowego mezangialnego kłębuszkowego zapalenia nerek o umiarkowanym nasileniu. Ponadto w obydwu przypadkach przewlekłego rozlanego kłębuszkowego zapalenia nerek ze sklerotyzacją stwierdzono cechy wewnątrzkanalikowej kamicy nerkowej (*nephrolithiasis*, *nephrocalcinosis*). W 9 (69,2%) badanych biopsjach nerek stwierdzono obecność wykładników morfologicznych umiarkowanego lub dużego stopnia białkomoczu pod postacią zwyrodnienia białkowego nabłonka kanałików (atrocytoza) i wewnątrzkanalikowych wałeczków białkowych. W 1 przypadku ogniskowego segmentalnego stwardnienia kłębuszków nerkowych w obrębie tkanki śródmiąższowej stwierdzono ogniskowo cechy uszkodzenia toksycznego nabłonka cewek nerkowych pod postacią ostrej martwicy cewek (ATN, acute tubular necrosis).

Po wykonanej biopsji nerek w 3 (20,0%) przypadkach wystąpiły powikłania i były to: niewielki krwaki podtorebkowy nerki – 1 przypadek oraz krwimocz makroskopowy – 2 przypadki. Powikłania te nie zagrażały życiu pacjentów. Podobny odsetek powikłań (18,5%) występujących po biopsji nerek w swoich badaniach uzyskali Valden i wsp. (25). Natomiast Zatelli i wsp. (27) uzyskali znacząco mniejszą ilość powikłań, bo jedynie 3,5%.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że biopsja gruboigłowa wykonywana pod kontrolą ultrasonografii jest bardzo przydatną techniką diagnostyczną w rozpoznawaniu kłębuszkowego zapalenia nerek oraz określaniu jego rodzaju. Ocena histopatologiczna biopsjatów połączona z wywiadem, wynikami badania klinicznego, wynikami badań laboratoryjnych krwi i moczu oraz wynikami badania USG umożliwia ustalenie rozpoznania w aspekcie zmian jakościowych i ilościowych.

Piśmiennictwo

1. Aresu L., D'Angelo A., Zanatta R., Valenza F., Capucchio M. T.: Canine necrotizing encephalitis associated with anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis. *J. Comp. Pathol.* 2007, 136, 279-282.
2. Aresu L., Valenza F., Ferraglio E., Pregel P., Uslenghi F., Tarducci A., Zanatta R.: Membranoproliferative glomerulonephritis type III in a simultaneous infection of *Leishmania infantum* and *Dirofilaria immitis* in dog. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2007, 19, 569-572.
3. Biewenga W. J., Gruys E.: Proteinuria in dog: a clinicopathological study in 51 proteinuric dogs. *Res. Vet. Sic.* 1986, 41, 257-264.
4. Casal M. L., Dambach D. M., Meisner T., Jezyk P. F., Patterson D. F., Henthorn P. S.: Familial Glomerulonephropathy in the Bullmastiff. *Vet. Pathol.* 2004, 41, 319-325.
5. Center S. A., Smith C. A., Wilkinson E., Erb H. N., Lewis R. M.: Clinicopathologic, renal immunofluorescent, and light microscopic features of glomerulonephritis in the dog: 41 cases (1975-1985). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1987, 190, 81-90.
6. Codner E. C., Caceci T., Saunders G. K., Smith C. A., Robertson J. L., Martin R. A., Troy G. C.: Investigation of glomerular lesions in dogs with acute experimentally induced *Ehrlichia canis* infection. *Am. J. Vet. Res.* 1992, 53, 2286-2291.
7. Cook A. K., Cowgill L. D.: Clinical and pathological features of protein-losing glomerular disease in dog: a review of 137 cases (1985-1992). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 1996, 32, 313-322.
8. Grauer G. F.: Canine glomerulonephritis: new thoughts on proteinuria and treatment. *J. Small Anim. Pract.* 2005, 46, 467-478.
9. Grauer G. F.: Measurement, interpretation, and implications of proteinuria and albuminuria. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2007, 37, 285-295.
10. Grauer G. F., Burgess E. C., Cooley A. J., Hagee J. H.: Renal lesions associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1988, 15, 237-239.
11. Jennette J. C., Olson J. L., Schwartz M. M., Silva F. G.: Heptinstall's Pathology of the Kidney. Lippincott Williams & Wilkins 2007, 97-319.
12. Koeman J. P., Biewenga W. J., Gruys E.: Proteinuria in dog: a pathomorphological study of 51 proteinuric dogs. *Res. Vet. Sci.* 1987, 43, 367-378.
13. Kulig A., Danilewicz M., Łukaszek S.: Zasady postępowania z materiałami oligobiopsyjnymi. *Polish J. Pathology.* 1999, 50, 61-70.
14. Macdougall D. F., Cook T., Steward A. P., Cattell V.: Canine chronic renal disease: prevalence and types of glomerulonephritis in dog. *Kidney Int.* 1986, 29, 1144-1151.
15. Mansfield C. S., Mooney C. T.: Lymphocytic-plasmacytic thyroiditis and glomerulonephritis in a boxer. *J. Small Anim. Pract.* 2006, 47, 396-399.
16. McGavin M. D., Carlton W. W., Zachary J. F.: Thomson's Special Veterinary Pathology. Mosby 2006, 235-277.
17. Minkus G., Breuer W., Wanke R., Reusch C., Leuterer G., Brem G., Hermanns W.: Familial nephropathy in Bernese mountain dogs. *Vet. Pathol.* 1994, 31, 421-428.
18. Miyauchi Y., Nakayama H., Uchida K., Uetsuka K., Hasegawa A., Goto N.: Glomerulopathy with IgA deposition in dog. *J. Vet. Med. Sci.* 1992, 54, 969-975.
19. Müller-Peddinghaus R., Trautwein G.: Spontaneous glomerulonephritis in dogs. I. Classification and immunopathology. *Vet. Pathol.* 1977, 14, 1-13.
20. Nowicki M., Depta A.: Biopsja nerek u psów i kotów. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 97-101.
21. Nowicki M., Depta A., Rychlik A., Nieradka R., Kander M.: Badania porównawcze różnych metod biopsyjnych nerek u psów. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 401-405.
22. Reusch C., Hoerauf A., Lechner J., Kirsch M., Leuterer G., Minkus G., Brem G.: A new familial glomerulonephropathy in Bernese mountain dogs. *Vet. Rec.* 1994, 134, 411-415.
23. Sanchez-Cordon P. J., Salguero F. J., Nunez A., Gomez-Villamandos J. C., Carrasco L.: Glomerulonephritis associated with simultaneous canine adenovirus-1 and *Dirofilaria immitis* infection in a dog. *J. Vet. Med.* 2002, 49, 235-239.
24. Sendek H., Czumińska K., Malicka E.: Glomerulonephritis in dogs with neoplastic disease – morphometric studies. *Med. Vet.* 2004, 60, 185-189.
25. Valden S. L., Levine J. E., Lees G. E., Groman R. P., Grauer G. F., Forrester S. D.: Renal biopsy: a retrospective study of methods and complications in 283 dogs and cats. *J. Vet. Intern. Med.* 2005, 19, 794-801.
26. Wilcock B. P., Patterson J. M.: Familial glomerulonephritis in doberman pincher dogs. *Can. Vet. J.* 1979, 20, 244-249.
27. Zatelli A., Bonfanti U., Santilli R., Borgarelli M., Bussadori C.: Echo-assisted percutaneous renal biopsy in dog. A retrospective study of 229 cases. *Vet. J.* 2003, 166, 257-264.
28. Zatelli A., Borgarelli M., Santilli R., Bonfanti U., Nigrisoli E., Zanatta R., Tarducci A., Guarraci A.: Glomerular lesions in dog infected with *Leishmania* organisms. *Am. J. Vet. Res.* 2003, 64, 558-581.
29. Zatelli A., D'ippolito P., Zini E.: Comparison of glomerular number and specimen length obtained from 100 dogs via percutaneous echo-assisted renal biopsy using two different needles. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 2005, 46, 434-436.