



Facultad de Veterinaria

AMILOIDOSIS SISTÉMICA EN UN GATO COMÚN EUROPEO

María Cuvertoret Sanz





Facultad de Veterinaria

Grado en Veterinaria

AMILOIDOSIS SISTÉMICA EN UN GATO COMÚN EUROPEO

María Cuvertoret Sanz

Alfara del Patriarca
18 de junio de 2015



RESUMEN

La amiloidosis sistémica es una enfermedad muy poco estudiada en gatos. Consiste en el depósito de material proteináceo que se acumula en el organismo como consecuencia de diversos procesos patológicos y que puede tener distinta naturaleza química. Si el depósito es muy severo se puede llegar a producir una pérdida de la estructura normal y fallo de los órganos afectados. Debido a la falta de publicaciones recientes y actualizadas sobre la amiloidosis sistémica felina y la poca bibliografía sobre las lesiones histológicas que se producen en esta enfermedad se decidió hacer un estudio más detallado de este proceso. Los objetivos de este trabajo fueron el estudio post mórtem de un caso de amiloidosis sistémica en un gato común europeo con insuficiencia renal crónica, la categorización del tipo de amiloide implicado en el proceso y la descripción de los órganos afectados. Se encontró amiloide en riñón, hígado, páncreas, bazo, pulmón y lengua. También se observó predisposición al depósito de amiloide en la túnica media de las arterias y arteriolas de todos los órganos muestreados.

Palabras clave: Amiloidosis sistémica, amiloide AA, histología, gatos.

ABSTRACT

Systemic amyloidosis is an understudied disease in cats. It consists in a proteinaceous deposit that is accumulated in the organism. Amyloid deposits can be consequence of many different pathogenesis origins and it can have different chemical natures. If the amyloid deposits are severe, they can produce a loss of normal structure of the affected organs and their consequent failure. The lack of current publications and reports about histological findings in this disease were the reason why we decided to do a detailed study of this pathology. The aim of this research is to do a post mortem case report of an European Shorthair with feline chronic renal disease due to systemic amyloidosis, to classify the type of amyloid implicated and to describe the affected organs. Amyloid was found in kidney, liver, pancreas, spleen, lung and tongue. Kidney, liver and pancreas were the most affected organs. These deposits were also located in the tunica media of small arteries and arterioles of all tissues sampled.

Keywords: Systemic amyloidosis, AA amyloid, histology, cats.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	7
1. Propiedades de las proteínas amiloides	8
2. Naturaleza química del amiloide	8
a. Amiloide de cadena ligera (AL):.....	9
b. Amiloide asociado (AA):	9
c. Proteína amiloide β (A β):	9
3. Patogénesis y clasificación de la amiloidosis	10
a. Amiloidosis sistémica.....	11
b. Amiloidosis hereditaria	12
c. Amiloidosis localizada	12
d. Amiloidosis endocrina	12
e. Amiloidosis asociada a la edad	13
4. Amiloidosis en gatos.	13
5. Descripción del caso.	14
II. OBJETIVOS	14
III. MATERIAL Y MÉTODOS	15
1. Examen macroscópico	15
2. Estudio histológico.	15
IV. RESULTADOS	16
1. Riñón.	16
2. Hígado.	18
3. Páncreas.	19
4. Bazo.	20
5. Pulmón.	20
6. Lengua.	21
7. Caracterización con la tinción Rojo Congo.	22
8. Caracterización con la tinción Tricrómico.	22
V. DISCUSIÓN	23
VI. CONCLUSIONES	28
VII. BIBLIOGRAFÍA	29

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Diagrama de una fibra de amiloide.....	6
FIGURA 2. Esquema de la patogenia de formación de las fibras amiloides.....	7
FIGURA 3. Diagrama de formación del amiloide AL y el amiloide AA.....	9
FIGURA 4. Fotografías macroscópicas de riñones e hígado..	17
FIGURA 5. Microfotografías de riñón.....	18
FIGURA 6. Fotografía de páncreas, bazo y lengua.....	20
FIGURA 7. Microfotografías de hígado, páncreas y bazo.....	21

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Número y tipos de tinción utilizadas.....	15
--	----

ÍNDICE DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

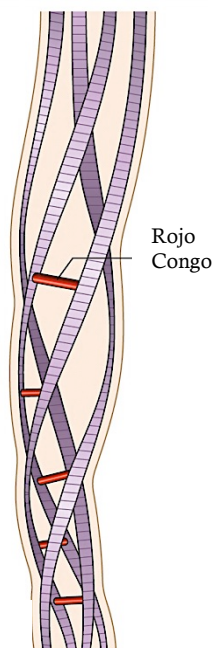
- AA:** Amiloide asociado.
- AAS:** Amiloide asociado al suero.
- A β :** Proteína amiloide β .
- AL:** Amiloide de cadena ligera.
- FIV:** Virus de la Inmunodeficiencia Felina.
- H&E:** Hematoxilina y eosina.
- Ig:** Inmunoglobulinas.
- PPA:** Proteína precursora de amiloide.
- PPAI:** Polipéptido amiloide de los islotes.

I. INTRODUCCIÓN

En 1854 el físico alemán Rudolph Virchow introdujo el término amiloide. Utilizó la tinción de yodo en un cerebro y las zonas con presencia de amiloide tomaron la apariencia tintorial del almidón, de ahí su nombre (Virchow, 1854). En 1859, Friedreich y Kekule demostraron la presencia predominante de material proteínáceo en un depósito de amiloide y que éste provenía de una conformación proteica errónea (Sipe *et al.* 2000).

La amiloidosis es una condición asociada a ciertos desórdenes hereditarios e inflamatorios en la cual se produce un depósito de material proteínáceo fibrilar que provoca daño tisular y compromiso funcional (Robbins y Cotran, 2015).

Estas fibras están formadas por agregados de proteínas que tienen una mala conformación y que en su forma normal serían solubles (Cohen, 1966).

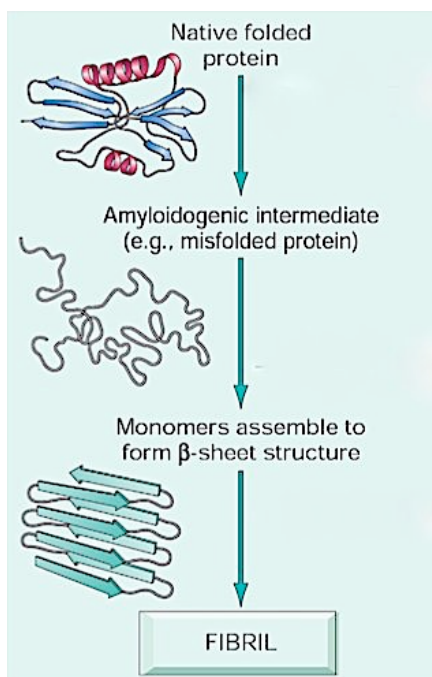


El amiloide se deposita en el espacio extracelular de tejidos y órganos (Virchow, 1854) en una gran variedad de condiciones clínicas patológicas aunque también puede aparecer de forma asintomática por lo que muchas veces es un hallazgo casual post mórtem. Histológicamente el amiloide tiene unas características tintoriales uniformes mostrando, tras la tinción con Rojo Congo, un color rojizo anaranjado y, bajo la luz polarizada, birrefringencia color verde manzana (Glenner, 1981; DiBartola, 1989).

Figura 1. Diagrama de una fibra de amiloide. Está formada por cuatro fibrillas (cada fibra puede estar formada hasta por seis fibrillas) enrolladas unas alrededor de otras con lugares de fijación para la tinción de Rojo Congo espaciados de forma regular (Robbins and Cotran, 2015).

1. Propiedades de las proteínas amiloides

A pesar de que el amiloide tiene la misma apariencia y características tintoriales, no pertenece a una única entidad química. Hasta la fecha se conocen hasta 31 proteínas amiloideas extracelulares en humana, 9 de las cuales han sido descritas en animales (Sipe *et al*, 2014). Estos depósitos se pueden crear a través de diferentes mecanismos patogénicos, por esta razón la amiloidosis no se considera una sola enfermedad sino un conjunto de enfermedades que tienen en común el depósito de proteínas con una apariencia similar.



El amiloide, tenga la procedencia que tenga, presenta la misma morfología. Ésta consiste en una estructura secundaria formada por fibras continuas que forman láminas β (plegadas y cruzadas) que, a su vez, están formadas por fibrillas (Glennner, 1980) (Figura 2).

Figura 2. Esquema de la patogenia de formación de las fibras amiloides. Los monómeros de las proteínas desnaturalizadas se unen dando lugar a una conformación estructural en forma de láminas beta que forma las fibrillas de amiloide (Robbins and Cotran, 2015).

2. Naturaleza química del amiloide

Aproximadamente el 95% del amiloide está formado por proteínas fibrilares y el 5% restante por proteína P y otras glicoproteínas (Snow, 1987). De todos los tipos de amiloide que se conocen, 3 son los más comunes en las especies domésticas:

a. Amiloide de cadena ligera (AL):

Derivado de cadenas ligeras de inmunoglobulinas (Ig) de células plasmáticas, su depósito se asocia con discrasias de células plasmáticas. El amiloide AL puede estar compuesto por cadenas completas de inmunoglobulinas, por porciones terminales de las cadenas de inmunoglobulinas o ambas. De las dos cadenas de inmunoglobulinas ligeras (λ , κ) la mayoría de los depósitos de AL amiloide están compuestos por cadenas ligeras λ o sus fragmentos (Arun, 1996) (Figura 3A).

b. Amiloide asociado (AA):

Las fibrillas están derivadas de la proteólisis de un precursor del suero denominado amiloide asociado al suero (AAS) que se sintetiza en el hígado y circula ligado a lipoproteínas (Levin, 1972). La producción de la proteína AAS aumenta durante procesos inflamatorios como parte de la fase de respuesta aguda, por lo tanto, este tipo de amiloidosis se relaciona con procesos inflamatorios crónicos (DeBeer, 1982). También es llamada amiloidosis secundaria (Figura 3B).

c. Proteína amiloide β ($A\beta$):

Derivado de la proteína precursora de amiloide (PPA). La forma de amiloide β contiene fragmentos de proteína precursora de amiloide y produce lesiones similares a la angiopatía amiloidea cerebral del Alzheimer en humanos y está relacionada con algunas formas de neurodegeneración cerebral en perros (Rofina, 2001a).

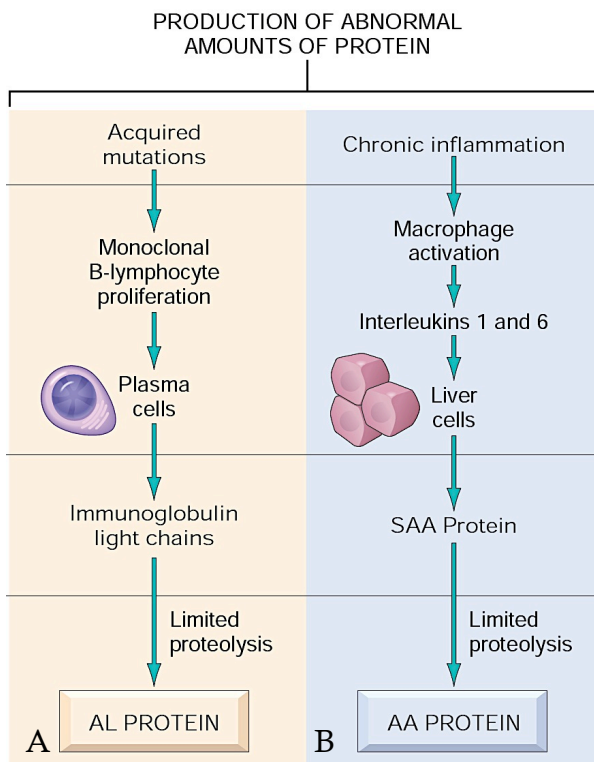


Figura 3. Diagrama de la patogenia de formación del amiloide AL y del amiloide AA.
A. El amiloide de cadena ligera (AL) proviene de las inmunoglobulinas que producen las células plasmáticas en algunos tipos de tumores de células plasmáticas. **B.** La proteína amiloide asociada (AA) proviene de la producción de amiloide asociado al suero (AAS) que es secretado a la circulación por los hepatocitos y que se deposita en los casos de inflamación crónica. En ambos procesos la falta de lisis proteica produce que el exceso de proteína se acumule en distintos tejidos del organismo (Robbins and Cotran, 2015).

3. Patogénesis y clasificación de la amiloidosis

La amiloidosis es el resultado de una mala conformación de proteínas desnaturalizadas que las hace insolubles y tienden a agregarse y acumularse en forma de fibrillas en el espacio extracelular. De forma normal las proteínas mal conformadas se degradan en los proteasomas del interior de las células. Parece que en la amiloidosis este mecanismo de control falla dando lugar al acúmulo extracelular de proteínas (DiBartola, 1989).

Las proteínas amiloides se pueden dividir en dos categorías: proteínas normales que tienen tendencia a una mala conformación, asociarse y formar fibrillas que se acumulan en grandes cantidades; y proteínas que

sufren una mutación que provoca que tengan predisposición a una conformación inapropiada y la subsiguiente agregación y depósito.

Además de la clasificación del amiloide en base a su naturaleza química también existe una clasificación de la amiloidosis a partir de la patogenia y la clínica (Glennner, 1980):

a. Amiloidosis sistémica

Se considera amiloidosis sistémica cuando el amiloide se deposita de forma generalizada en el organismo. La amiloidosis sistémica a su vez se puede clasificar en:

- i. **Amiloidosis primaria:** Es la forma más común de amiloidosis en humana. Se produce por el acúmulo de amiloide AL y se asocia con algunos desórdenes tumorales de células plasmáticas (ej. plasmocitoma extramedular, mieloma o mieloma múltiple). El caso más recientemente documentado de amiloidosis primaria en gatos es el de un amiloidoma AL λ intraocular con neoplasia de células plasmáticas (Kershaw *et al*, 2011).

- ii. **Amiloidosis secundaria reactiva:** Es la forma más común de amiloidosis en animales. Se produce por el acúmulo de amiloide AA y se denomina amiloidosis secundaria reactiva porque se produce como consecuencia de inflamaciones crónicas (Benditt *et al*, 1972, Benson *et al*, 1979), destrucción tisular o neoplasias (Benson *et al*, 1979) (exceptuando las neoplasias derivadas de células plasmáticas) aunque, en algunos casos, es idiopática ya que no se encuentra ninguna causa o enfermedad subyacente que explique el depósito de proteínas.

b. Amiloidosis hereditaria

La amiloidosis familiar o hereditaria es una forma sistémica de amiloide AA. Sigue patrones de distribución tisulares muy distintos en cada individuo por lo que se le dedica un apartado separado a la hora de hacer una clasificación. Se ha descrito en razas Siamesas y Abisinas en el gato (DiBartola *et al*, 1985; DiBartola *et al*, 1986; Zschesche, 1989; Linde-Sipman *et al*, 1997; Godfrey *et al*, 1998; Niewold *et al*, 1999; Beatty *et al*, 2002) y en el Shar Pei en perros (DiBartola *et al*, 1990). Los órganos más comúnmente afectados son riñón e hígado. Las fibras amiloides están compuestas por proteína AA por lo que se sospecha que esta forma de amiloidosis también puede estar relacionada con condiciones de inflamación crónica.

c. Amiloidosis localizada

En ocasiones el depósito de proteínas se limita a un solo órgano. Muchos de estos depósitos se suelen ver macroscópicamente como masas.

d. Amiloidosis endocrina

Consiste en el depósito de amiloide en los islotes de Langerhans pancreáticos en gatos, primates y humanos y puede dar lugar a una diabetes mellitus secundaria (Rubarth, 1935). El amiloide que se deposita en los islotes deriva del polipéptido amiloide de los islotes (PPAI), una proteína normal que secretan las células beta del páncreas (O'Brien *et al*, 1993). Se desconoce el mecanismo por el cual los productos de esta proteína se convierten en amiloidogénicos.

También se ha descrito depósitos amiloide en la corteza adrenal (DiBartola *et al*, 1989) aunque no se asocia con ninguna deficiencia funcional.

e. Amiloidosis asociada a la edad

El depósito de amiloide asociado a la edad puede ocurrir en varios órganos en animales seniles. Perros de avanzada edad pueden desarrollar cambios neurodegenerativos como amiloidosis cerebrovascular. Estos depósitos extracelulares pueden ser de varios tipos de proteínas pero la más común es el amiloide A β (Rofina *et al*, 2001a).

4. Amiloidosis en gatos.

Si en medicina humana la amiloidosis todavía es una patología poco comprendida en la medicina felina se considera un campo aún por explorar. Debido a ello esta afección está subdiagnosticada y en la mayoría de ocasiones es hallazgo casual de necropsia. A esto contribuye el hecho de que para el diagnóstico definitivo sea necesaria una biopsia del órgano sospechoso, lo cual no siempre es fácil de conseguir.

La amiloidosis hereditaria felina ha sido bastante estudiada a lo largo de los años y se han llegado a localizar dos sustituciones de aminoácidos en la secuenciación de la proteína AA que demuestran que el SAA de las razas orientales es pro-amiloidogénico (Linde-Sipman *et al*, 1997; Niewold *et al*, 1999).

Existen muy pocas publicaciones referentes a la amiloidosis sistémica reactiva y, las que hay, son de hace décadas (Clark *et al*, 1969). Se ha demostrado que en el gato doméstico existe una correlación positiva entre la infección con el virus de la Inmunodeficiencia felina (FIV) y la aparición de amiloidosis sistémica (Asproni, 2012). Se cree que es porque los gatos con FIV son más susceptibles de padecer infecciones e inflamaciones que lleguen a cronificarse.

Además de en gatos domésticos se han descrito depósitos de amiloide AA en felinos silvestres como leones (Williams *et al*, 2005), guepardos

(Bergstrom *et al*, 2006) o en el gato patinegro o de patas negras (Terio *et al*, 2008).

A pesar de que ya se están empezando a establecer patrones típicos de distribución tisular en gatos, todavía es necesaria la realización de estudios más detallados, comparativos y a gran escala de la tipificación histológica en cuanto a esta enfermedad. Así como establecer un consenso y una actualización en cuanto a la clasificación de la amiloidosis.

5. Descripción del caso.

Un gato común europeo, macho, de protectora se presentó en consulta con historia de insuficiencia renal crónica. Presentaba apatía, anorexia y deshidratación. El animal resultó negativo tanto al test rápido de ELISA frente al virus de la Leucemia como al de la Inmunodeficiencia felina. Las pruebas sanguíneas revelaban anemia y los parámetros renales muy elevados eran indicativos de daño renal grave. Debido a la gravedad del daño renal se eutanasió con pentobarbital sódico (Dolethal®).

II. OBJETIVOS

Teniendo en cuenta la falta de bibliografía reciente y actualizada de la amiloidosis sistémica felina y el escaso conocimiento de la misma, este trabajo se ha llevado a cabo con el propósito de analizar más detalladamente esta enfermedad. El objetivo es realizar un estudio post mórtem de un caso de amiloidosis sistémica en un gato común europeo con insuficiencia renal crónica, realizar la categorización del tipo de amiloide implicado en el proceso y hacer una descripción de los órganos afectados.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. Examen macroscópico.

Se realizó la técnica de necropsia de rutina y el examen macroscópico basado en la distribución, forma, tamaño, color y consistencia de las lesiones encontradas.

2. Estudio histológico.

Para el examen de microscopía óptica se realizó la toma de muestras de los órganos que macroscópicamente presentaban lesiones: riñón, hígado, bazo, pulmón, páncreas y lengua. Estas muestras fueron fijadas mediante inmersión en formol al 4% durante 48 horas y posteriormente fueron talladas, procesadas e incluidas en parafina. Una vez obtenidas las láminas cortadas con un espesor de 4µm mediante el microtomo se sometieron a tres procesos de tinción según los protocolos habituales: Hematoxilina y eosina, Rojo Congo y Tricrómico (Tabla 1). Usamos cada una de las tinciones en función del tejido o depósito de material que pretendíamos observar.

Muestras	H&E	Rojo Congo	Tricrómico
Riñón	5	4	2
Hígado	1	1	-
Páncreas	1	1	-
Bazo	3	1	-
Pulmón	2	1	-
Lengua	1	-	-

Tabla 1. Número y tipos de tinción utilizadas. La tabla contiene el número de muestras que se tomaron de cada órgano y qué tinciones se usaron con cada una. (-) No se realizó esta tinción del tejido muestreado.

IV. RESULTADOS

A continuación se muestran los resultados del análisis anatomopatológico de los diferentes órganos:

1. Riñón.

Macroscópicamente ambos riñones presentaban una reducción de su tamaño normal y mostraban la superficie irregular. Los vasos sanguíneos que recorren la corteza estaban atenuados. Se observaban áreas deprimidas y blanquecinas y de consistencia firme de 0.1 a 0.5 cm de diámetro a lo largo de todo el parénquima (Figura 4A). En estas zonas la cápsula presentaba cierta resistencia y adherencias con la corteza a la hora de decapsularlos. Al corte, correspondiendo con las zonas deprimidas, el color blanquecino se observaba en la corteza, médula y pelvis. Ambos riñones se encontraban achatados por la cara opuesta a la entrada del uréter presentando un aspecto más rectangular. Particularmente el riñón izquierdo estaba, además, achatado por los polos lo que le daba un aspecto más cuadrado y presentaba un quiste de 3 mm en la superficie renal de la cara opuesta a la entrada del uréter (Figura 4B).

En la microscopía las secciones de riñón valoradas presentaban el 100% de los glomérulos aumentados de tamaño con obliteración del espacio de Bowman a causa de un aumento del mesangio debido al depósito de un material grisáceo, acelular, amorfo y homogéneo (amiloide). En el 80% del intersticio medular se encontraba un depósito de la misma sustancia descrita anteriormente, la cantidad de la misma iba disminuyendo hacia la corteza y, en cambio, aumentaba hacia la pelvis renal. Esta sustancia producía una atrofia de la mayoría de los túbulos y la dilatación de otros (Figura 5A). De forma esporádica en el interior de algunos túbulos se observaba un material eosinófilo intenso, acelular y homogéneo (proteinuria). También se encontraba este mismo depósito de material compatible con amiloide en la pelvis renal. La túnica media de las arterias se encontraba engrosada a causa del depósito del mismo material

grisáceo, amorfo y acelular (amiloide). De forma multifocal y mayoritariamente en la corteza se observaba un infiltrado inflamatorio intersticial linfoplasmocitario de leve a moderado (Figura 5B).

Con todo ello el riñón presentaba una amiloidosis renal severa crónica con afección glomerular, del intersticio medular y de la túnica media de las arterias.

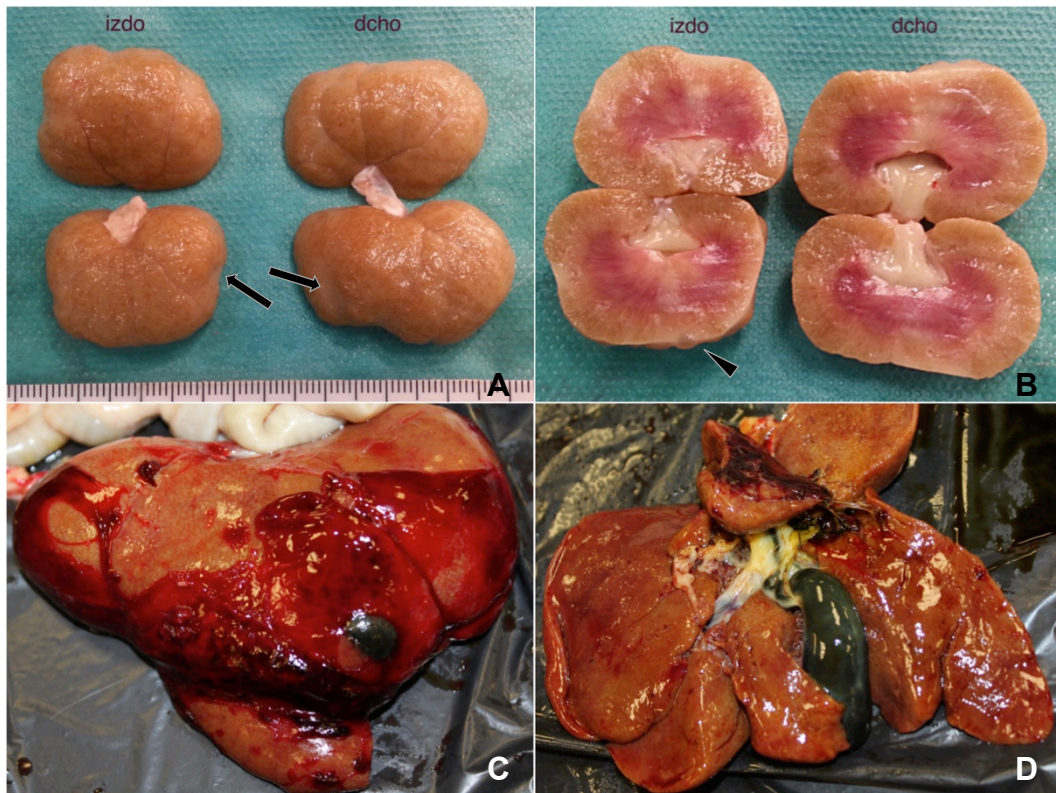


Figura 4. **Fotografías macroscópicas de riñones e hígado.** **A.** Se observa la superficie del parénquima renal rugosa con atenuación de los vasos que discurren por la cortical. Se aprecian áreas depresivas y blanquecinas (flecha). **B.** Las zonas blanquecinas se extienden a lo largo de corteza, médula y pelvis correspondiendo con las zonas depresivas. Se observa un quiste en la superficie del parénquima renal (punta de flecha). **C.** El hígado está aumentado de tamaño y presenta un patrón lobulillar difuso. Aproximadamente el 50% de la cara diafragmática del hígado está cubierta por un gran coágulo. **D.** Se observa una rotura que afecta a la totalidad del parénquima de la cara diafragmática del lóbulo caudado con un gran coágulo adherido a la superficie.

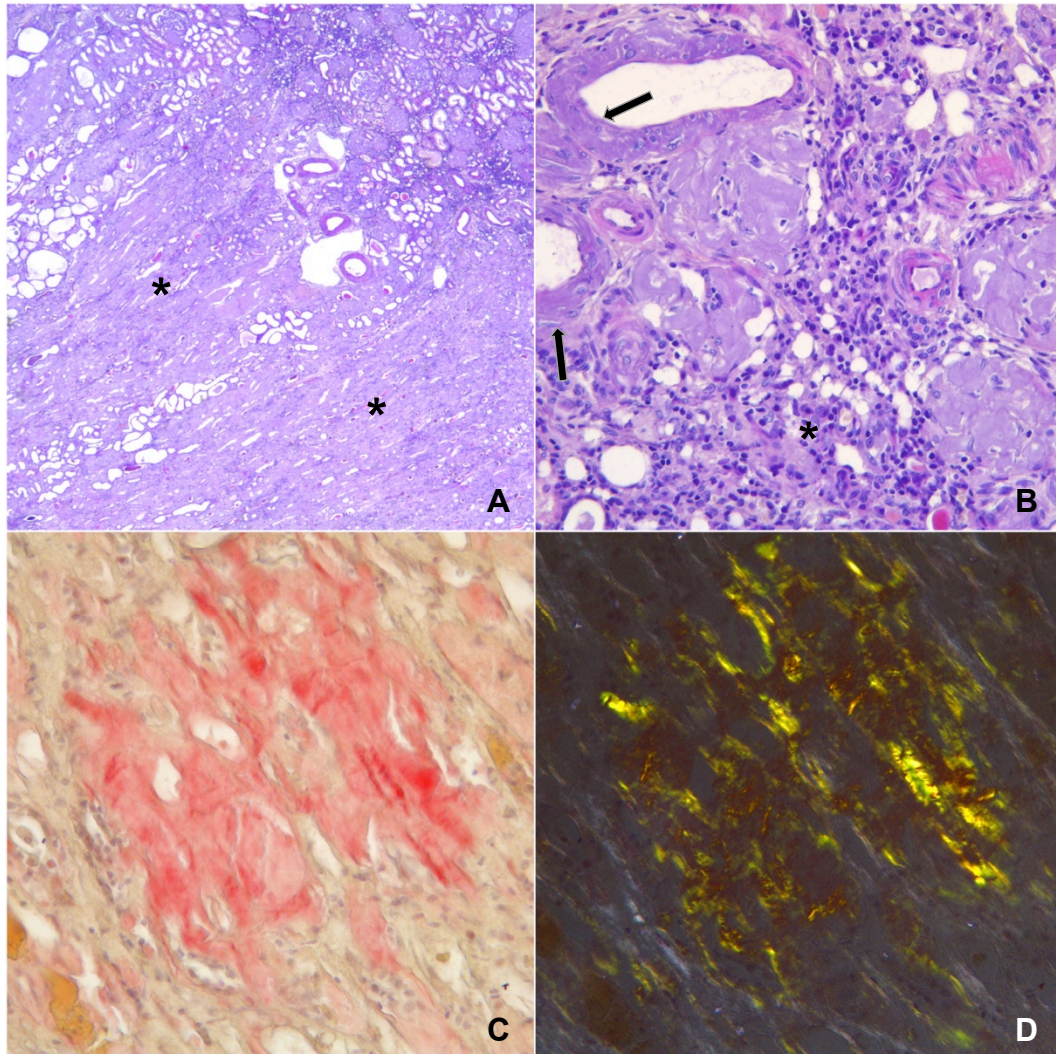


Figura 5. **Microfotografías de riñón.** **A.** Microfotografía de riñón que muestra depósito de amiloide en los glomérulos y en el intersticio de la médula (asterisco). Nótese que la atrofia de la mayoría de los túbulos y la dilatación de otros. Tinción con H&E (2x). **B.** Microfotografía de corteza renal que muestra el detalle del depósito de amiloide en los glomérulos. También se observa amiloide en la túnica media de las arterias (flecha). Nótese el infiltrado inflamatorio intersticial linfoplasmocitario (asterisco). Tinción con H&E (20x). **C.** Microfotografía de médula renal con tinción de Rojo Congo. El amiloide del intersticio de la médula se tiñe de color rojo intenso (40x). **D.** Microfotografía correspondiente con la imagen anterior que muestra la birrefringencia color verde que emiten los depósitos de amiloide bajo la luz polarizada (40x).

2. Hígado.

El hígado mostraba un aumento de tamaño de forma generalizada. Presentaba un patrón lobulillar difuso con un color blanquecino amarillento y una consistencia friable. El 50% de la cara diafragmática se encontraba cubierta por un gran coágulo y presentaba varias roturas del parénquima de distribución multifocal de alrededor de entre 0.5 y 2 cm de

diámetro con pequeños coágulos adheridos a las mismas (Figura 4C). En la cara visceral del lóbulo caudado se observaba una gran rotura del parénquima con un coágulo adherido a la zona de rotura (Figura 4D).

En el 80% de la sección histológica de hígado se observaba un depósito extracelular de material grisáceo, amorfo y acelular (compatible con amiloide) que mostraba un patrón centrolobulillar que afectaba a la totalidad de la muestra valorada (Figura 7A). Este depósito se localizaba a lo largo del espacio de Disse en los sinusoides hepáticos, se observaba una mayor cantidad en los sinusoides cercanos a la vena centrolobulillar e iba decreciendo a medida que se acercaba al espacio porta. También se observaba depósito compatible con amiloide en la venas centrolobulillares de los lobulillos hepáticos más afectados.

Con todo ello esta imagen era compatible con una amiloidosis hepática severa crónica con patrón de depósito centrolobulillar sinusoidal.

3. Páncreas.

En el examen macroscópico el páncreas presentaba un aumento de tamaño de forma generalizada y presentaba un color más aclarado de lo normal. En la superficie del parénquima y en la grasa adyacente al órgano se observaban áreas multifocales de 0.1 a 0.3 mm de diámetro de color blanquecino (necrosis grasa) (Figura 6A).

Histológicamente se observaba un depósito en el parénquima pancreático compatible con amiloide. La distribución era más severa en los acinos de la periferia de los lobulillos pancreáticos. También se observaban en la periferia de los conductos y en la túnica media de los vasos, sobre todo arterias. No se observan islotes de Langerhans pero de forma multifocal existían focos grandes y bien delimitados del material antes descrito que podían ser compatibles con islotes totalmente sustituidos por amiloide (Figura 7B).

En conjunto se observaba una amiloidosis pancreática severa crónica con afección perilobulillar, perivascular y periductal.

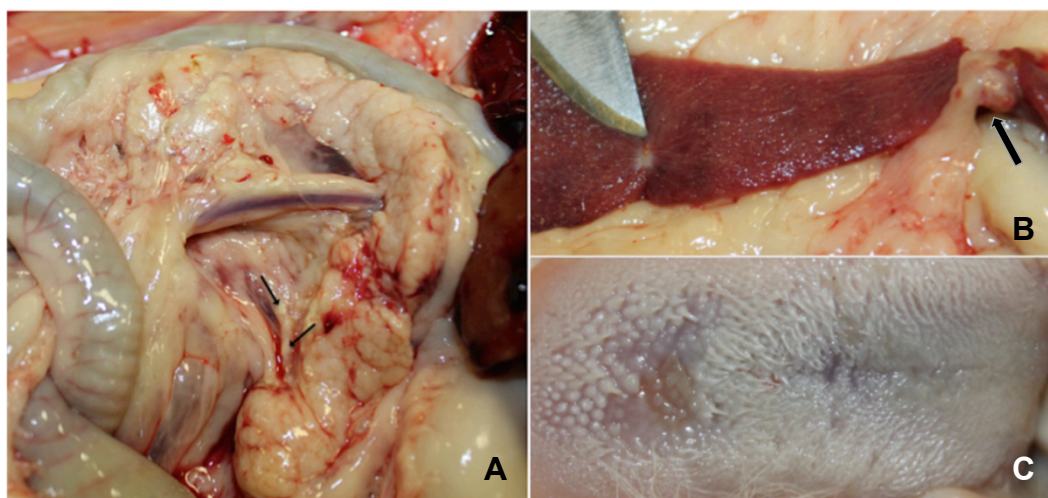


Figura 6. **Fotografía de páncreas, bazo y lengua.** **A.** El páncreas muestra un aumento de tamaño y una coloración más blanquecina. Se observan nódulos en la grasa adyacente de color blanco compatibles con necrosis grasa (flechas). **B.** El bazo presenta una zona de fibrosis deprimida y de color blanquecino que produce una retracción del parénquima. La flecha muestra una adherencia del órgano con el epiplón. **C.** En la lengua se observa una zona focal con erosión del epitelio y pérdida de papilas.

4. Bazo.

El bazo presentaba una disminución de tamaño generalizada. Se observaba una adherencia con el epiplón en el tercio medial del órgano. Presentaba una zona de 0.2 mm de diámetro en la cara parietal que producía la retracción del parénquima adyacente (fibrosis) (Figura 6B).

La microscopía reveló depósitos de material compatible con amiloide en la túnica media de las arteriolas de los folículos linfoides de la pulpa blanca. Había una ausencia casi total de pulpa roja.

En conjunto el bazo presentaba una amiloidosis leve con afectación de la túnica media arteriolar.

5. Pulmón.

Macroscópicamente los pulmones no presentaban lesiones aparentes.

En la histología del órgano se observó depósito de material compatible con amiloide en la periferia de bronquiolos y, de forma leve y esporádica, en la túnica media de algunas arterias.

Con todo ello se observaba una amiloidosis pulmonar leve con afección principalmente peribronquiolar y de la túnica media de las arterias.

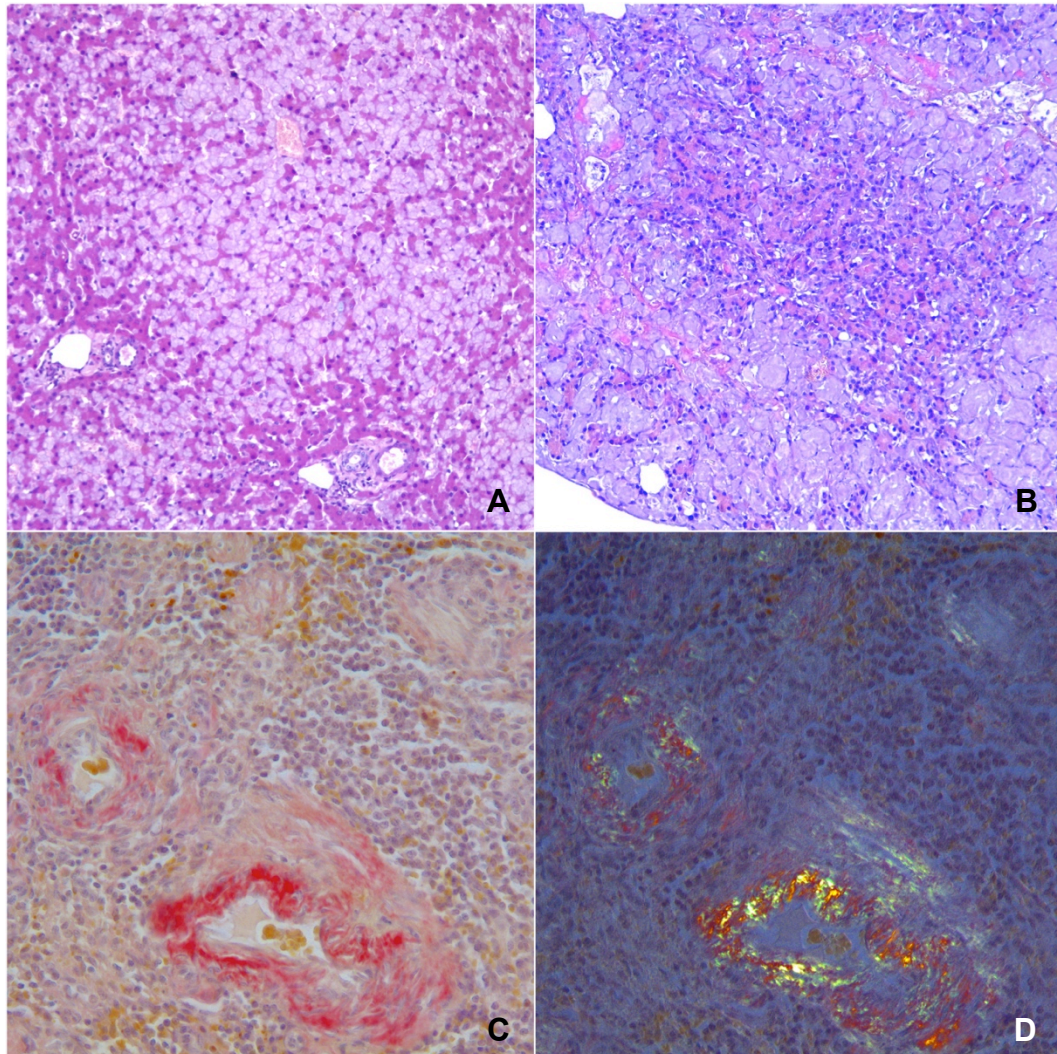


Figura 7. **Microfotografías de hígado, páncreas y bazo.** **A.** Microfotografía del hígado. El amiloide se deposita en el espacio de Disse de los sinusoides hepáticos siguiendo un patrón centrolobulillar. Tinción con H&E (10x). **B.** Microfotografía del páncreas que muestra el patrón de distribución del amiloide. Nótese que hay un mayor depósito de amiloide en la periferia del lobulillo pancreático. Tinción con H&E (10x). **C.** Microfotografía de la tinción Rojo Congo del bazo. Se observa el depósito de amiloide de un rojo intenso en la túnica media del bazo (20x). **D.** Microfotografía de muestra la imagen anterior bajo luz polarizada. Se observa la birrefringencia que corresponde con los depósitos de amiloide.

6. Lengua.

La lengua presentaba macroscópicamente una zona central de desprendimiento del epitelio con pérdida de las papilas de 1 cm de diámetro (Figura 6C).

Histológicamente se observan depósitos de material compatible con amiloide en los vasos de la submucosa de las papilas filiformes. En el

tejido conjuntivo de la zona ventral de la lengua se observaba un infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario.

En conjunto la lengua mostraba una amiloidosis leve en la pared de pequeños vasos y capilares.

7. Caracterización con la tinción Rojo Congo.

En la tinción con Rojo Congo los depósitos compatibles con amiloide de todos los órganos mostraban un color rojo más intenso que el resto del tejido y bajo la luz polarizada emitían birrefringencia color verde (Figuras 5C y 5D) (Figuras 7C y 7D).

8. Caracterización con la tinción Tricrómico.

El Tricrómico realizado en las muestras de riñón mostraba de leve a moderada fibrosis sobre todo en zonas de la corteza renal.

V. DISCUSIÓN

El animal se eutanasió a causa de la amiloidosis sistémica que padecía y que afectaba de forma severa a varios órganos, entre ellos el riñón, produciéndole la insuficiencia renal crónica por la que acudió a consulta. Al tratarse de una enfermedad que afecta a más de un órgano se caracteriza como Amiloidosis Sistémica Secundaria o Reactiva según la clasificación (Glennner, 1980). En la amiloidosis secundaria, el depósito de amiloide se produce como consecuencia de daño tisular o inflamación crónica (Benditt *et al*, 1972). Los depósitos proteináceos están constituidos por amiloide AA, el cual deriva de una proteína que interviene en la fase aguda de la inflamación llamada proteína amiloide asociada al suero (AAS) (Levin *et al*, 1972). Tras el daño tisular los macrófagos liberan interleuquinas, que estimulan a los hepatocitos para producir AAS (Sipe *et al*, 1982). Si la inflamación persiste en el tiempo el AAS se mantiene elevado en sangre. El aumento de AAS no es un requisito indispensable para que se desarrolle amiloidosis, se piensa que debe de haber más factores implicados como, por ejemplo, un fallo en la degradación del AAS. De forma normal las proteasas producidas por los monocitos degradan el AAS dando lugar a restos de proteína solubles (Lavie *et al*, 1978; Lavie *et al*, 1980). Se tiene constancia de que aunque aumente la cantidad de AAS las enzimas de los monocitos siguen siendo capaces de degradarlo. Pero un aumento de AAS unido a una incapacidad de degradación de los monocitos produce la formación de fibras insolubles de AA amiloide que se depositan en los distintos tejidos del organismo (DiBartola *et al*, 1989).

De este modo, los órganos afectados fueron riñón, hígado, páncreas, bazo, pulmón y lengua. Aunque los que presentaban mayor depósito de amiloide fueron riñón, hígado y páncreas. Según la bibliografía los órganos afectados de forma normal en la amiloidosis sistémica felina son el riñón, hígado, bazo, páncreas, tracto gastrointestinal y adrenales (Clark *et al*, 1969; Jakob, 1971; DiBartola *et al*, 1989); aunque también se ha descrito con menos frecuencia en corazón, pulmón, linfonodo, lengua,

tiroides, paratiroides, vejiga y gónadas (Clark *et al*, 1969; DiBartola *et al*, 1986; Linde-Sipman *et al*, 1997).

Así pues, el riñón es uno de los órganos más afectados en este caso. La imagen macroscópica de los riñones tenía el aspecto de una fibrosis renal severa. En cambio el Tricrómico mostró una cantidad de fibrosis mucho menor de la esperada. Macroscópicamente los riñones amiloidóticos se ven aumentados de tamaño y son de un color más aclarado (Newman, 2012). La insuficiencia renal crónica que presentaba el animal era debida a la amiloidosis renal grave que padecía, corroborando así el aumento de urea y creatinina y la proteinuria que presentaba. La proteinuria es un hallazgo muy común en pacientes con amiloidosis renal (Joss *et al*, 2000; Dember, 2006) y pueden presentar o no azotemia según el grado de afección renal (Godfrey *et al*, 1998, Williams *et al*; 2005). En este caso el amiloide se depositó principalmente en los glomérulos y en el intersticio medular. Varios estudios confirman el depósito de amiloide principalmente en el intersticio medular en gatos tanto en amiloidosis sistémica reactiva (Clark *et al*, 1969; DiBartola *et al*, 1989; Williams *et al*, 2005; Terio *et al*, 2008; Asproni *et al*, 2012) como en amiloidosis hereditaria en razas orientales (DiBartola *et al*, 1986; Zschiesche, 1989; Linde-Sipman *et al*, 1996; Godfrey *et al*, 1998). También se ha descrito necrosis papilar (Terio *et al*, 2008). DiBartola y colaboradores, en un estudio de 1986, observó que existía una correlación positiva entre la amiloidosis medular y la fibrosis intersticial e inflamación linfoplasmocitaria intersticial (DiBartola *et al*, 1986). Jakob menciona en una publicación que en muchos mamíferos que sufren amiloidosis sistémica el amiloide se localiza en el glomérulo aunque también puede darse en el intersticio renal o en las paredes vasculares e, incluso, sobre la membrana basal del epitelio tubular (Jakob, 1971).

Otro hallazgo generalizado en todos los órganos muestreados fue la presencia de amiloide en la túnica media de las arterias. Gruys describió que el patrón de depósito de amiloide AA en muchas especies animales

comprendía bazo, hígado, mucosa entérica y las paredes de las arterias (Gruys, 2004).

Las hemorragias y roturas del parénquima hepático probablemente fueron debidas a la degeneración producida por el depósito de amiloide. El depósito en el hígado se localizaba cerca de la vena centrolobulillar de los lobulillos hepáticos y, cuando el depósito era muy severo, afectaba por extensión a la vena centrolobulillar. En un estudio de amiloidosis sistémica felina de 1969, Clark y colaboradores describen el patrón de distribución observado en hígados con amiloidosis severa e indican que se localiza principalmente en las paredes de los vasos de los espacios porta y en el interior de los sinusoides, depositándose en primer lugar en el espacio de Disse, desordenando la arquitectura normal del órgano (Clark *et al*, 1969). DiBartola lo describe alrededor de la vena centrolobulillar extendiéndose hacia los sinusoides hepáticos en el espacio de Disse (DiBartola *et al*, 1986). Otros autores describen, también, su localización extracelular entre los sinusoides en el espacio de Disse (Godfrey *et al*, 1998; Beatty *et al*, 2002).

Por su parte, el bazo presentaba una disminución de tamaño. Esto podría ser debido a una contracción esplénica en respuesta a la pérdida de sangre a causa de las roturas hepáticas. Microscópicamente lo pudimos corroborar ya que el órgano presentaba una ausencia casi total de pulpa roja. En el bazo el depósito de amiloide se encontraba exclusivamente en las arteriolas, no se encontró en ninguna otra estructura más. En 2008, Terio y colaboradores en un estudio de amiloidosis sistémica en gatos patinegros o de patas negras (*Felis nigripes*) observó que el depósito de amiloide en el bazo incluía los centros germinales de los folículos y la túnica media de las arteriolas esplénicas (Terio *et al*, 2008). Tanto Clark como DiBartola describieron en un estudio de amiloidosis sistémica y otro de amiloidosis hereditaria respectivamente que en el bazo los principales depósitos se localizaban en el músculo liso de la cápsula y las trabéculas, de forma ocasional en los folículos linfoides y, muy frecuentemente, en las

túnicas media y adventicia de las arteriolas (Clark *et al*, 1969; DiBartola *et al*, 1986).

Por otro lado, el aspecto del páncreas, consistente en un aumento de tamaño y un color más aclarado, se correspondía con las lesiones histológicas. El depósito amiloide se localizaba principalmente entre los acinos en la periferia de los lobulillos pancreáticos, periductal y en la túnica media de las arteriolas. La bibliografía describe principalmente la amiloidosis de los islotes, que se localiza única y exclusivamente en los islotes de Langerhans (Rubarth, 1935) y el amiloide es de una naturaleza distinta que el amiloide AA. Pero si el páncreas se ve afectado por una amiloidosis sistémica (y no pancreática) la distribución del depósito es distinta. DiBartola y colaboradores describe en un estudio en gatos Abisinios con amiloidosis sistémica hereditaria que los depósitos de amiloide en el páncreas se encontraron en pequeños vasos y en el tejido conjuntivo interlobulillar pero no hubo depósitos en los islotes de Langerhans (DiBartola *et al*, 1986). En nuestro caso no pudimos identificar ningún islote pero sí encontramos focos de amiloide bien delimitados que, por el tamaño y la localización, son compatibles con los islotes de Langerhans completamente sustituidos por amiloide.

Por otra parte, los pulmones no presentaban lesiones macroscópicas pero la histología reveló depósito amiloide peribronquiolar y en la túnica media de las arterias, una publicación describe el mismo depósito de amiloide en pulmones de gatos con amiloidosis sistémica (Clark *et al*, 1969). DiBartola describe la misma localización pulmonar en gatos con amiloidosis hereditaria (DiBartola *et al*, 1986).

Para concluir, la lengua fue el último órgano muestreado debido a la úlcera que presentaba y encontramos depósito de amiloide en los pequeños vasos y capilares situados en el tejido conjuntivo de la submucosa. DiBartola y colaboradores describe el depósito de amiloide tanto en los vasos de la submucosa como en los vasos de la muscular (DiBartola *et al*, 1986).

En definitiva, el animal padecía una Amiloidosis Secundaria o Reactiva Sistémica con afección de todos los órganos muestreados: riñón, hígado, páncreas, bazo, pulmón y lengua. Los órganos más afectados eran riñón, hígado y páncreas. En todos los órganos se encontró amiloide en la túnica media de las arterias y arteriolas revelando así que es un lugar de predisposición al depósito de amiloide. En el riñón el principal depósito se encontraba en el intersticio medular, la pelvis y en los glomérulos. En el hígado seguía un patrón centrolobulillar y el amiloide se encontraba en el espacio de Disse de los sinusoides. El páncreas presentaba un patrón de distribución perilobulillar, periductal y de los islotes. En pulmón seguía un patrón peribronquiolar. El animal presentaba una amiloidosis muy severa por lo que es probable que tuviera depósito de amiloide en muchos otros órganos que no muestreamos. Al ser una animal de protectora es probable que desarrollara amiloidosis sistémica debido a las infecciones y parasitaciones que sufriera de forma recurrente a lo largo de su vida y que probablemente le causaran inflamaciones crónicas reiteradas.

VI. CONCLUSIONES

En el presente trabajo, en el cual se describe un caso de Amiloidosis Sistémica Felina secundaria a probables inflamaciones e infecciones crónicas se obtuvieron las siguientes conclusiones:

1. Los principales órganos afectados fueron riñón, hígado y páncreas; siendo el riñón el que presentaba las lesiones más graves.
2. La estructura más afectada del riñón era el intersticio medular seguido de los glomérulos.
3. El hígado presentaba un patrón de distribución centrolobulillar.
4. El páncreas exhibía una distribución perilobulillar, periductal y perivascular además de la típica de los islotes.
5. En el pulmón el depósito se encontraba alrededor de los bronquiolos.
6. El amiloide tenía afinidad por las tunicas de los vasos sanguíneos en todos los órganos, sobre todo en arterias y arteriolas.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Arun SS, Breuer W, Hermanns W: Immunohistochemical Examination of Light-chain Expression (lambda/kappa ratio) in Canine, Feline, Equine, Bovine and Porcine Plasma Cells, *J Vet Med Series A*. 1996; **43**(9): 573-576.

Asproni P, Abramo F, Millanta F, Lorenzi D and Poli A: Amyloidosis in Association with Spontaneous Feline Immunodeficiency Virus Infection, *J Fel Med Surg*. 2012; **15**(4): 300-306.

Beatty JA, Barris VR, Martin PA, Nicoll RC, France MP, Lamb WA *et al*: Spontaneous Hepatic Rupture in Six Cats with Systemic Amyloidosis, *J Small Anim Pract*. 2002; **43**: 355-363.

Benditt EP and Eriksen N: Chemical Similarity Among Amyloid Substances Associated with Long Standing Inflammation, *Lab Invest*. 1972; **26**: 615-625.

Benson MD and Cohen AS: Serum Amyloid A Protein in Amyloidosis, Rheumatic and Neoplastic Diseases, *Arthritis Rheum*. 1979; **22**: 36-42.

Bergstrom J, Ueda M, Une Y, Sun X, Misumi S, Shoji S *et al*: Analysis of Amyloid Fibrils in the Cheetah (*Acinonyx jubatus*), *Amyloid*. 2006; **13**(2): 93-98.

Clark L, Seawright AA: Generalised Amyloidosis in Seven Cats, *Vet Pathol*. 1969; **6**: 117-134.

Cohen AS: Preliminary Chemical Analysis of Partially Purified Amyloid Fibrils. *Lab Invest*. 1966; **15**: 66-83.

DeBeer FC, Mallya RK, Fagan EA: Serum Amyloid A Protein Concentration in Inflammatory Diseases and Its Relationship to the Incidence of Reactive Systemic Amyloidosis, *Lancet*. 1982; **2**: 231-234.

Dember LM.: Amyloidosis-Associated Kidney Disease, *J Am Soc Nephrol.* 2006; **17**: 3458-3471.

DiBartola SP and Benson MD: The Pathogenesis of Reactive Systemic Amyloidosis, *J Vet Int Med.* 1989; **3**: 31-41.

DiBartola SP, Benson MD, Dwulet FE and Cornacoff JB: Isolation and Characterization of Amyloid Protein AA in the Abyssinian Cat. *Lab Invest.* 1985; **52**: 485-489

DiBartola SP, Tarr MJ and Benson MD: Tissue Distribution of Amyloid Deposits in Abyssinian Cats with Familial Amyloidosis, *J Comp Path.* 1986; **96**: 387-398.

DiBartola SP, Tarr MJ, Webb DM and Giger U: Familial Renal Amyloidosis in Chinese Shar Pei Dogs, *J AM Vet Med Assoc.* 1990; **197**: 483-487.

Glenner GG: Amyloid Deposits and Amyloidosis: the Beta-fibrilloses, *New Eng J Med.* 1980; **302**: 1333-1343.

Glenner GG: The Bases of the Staining of Amyloid Fibers: their Physicochemical Nature and the Mecanism of their Dye-substrate Interaction. *Histochem Cytochem.* 1981;**13**: 1-37.

Godfrey DR and Day MJ: Generalised Amyloidosis in Two Siamese Cats: Spontaneous Liver Hemorrhage and ChronicRenal Failure, *J Small Anim Pract.* 1998; **39**: 442-447.

Gruys E.: Protein Folding Pathology in Domestic Animals, *J Zhejiang Univ Sci,* 2004; **5**(10): 1226-1238.

Howie AJ and Brewer DB: Optical Properties of Amyloid Stained by Congo Red: History and Mechanisms, *Micron.* 2009; **40**: 285-301.

Jakob W: Spontaneous Amyloidosis of Mammals, *Vet Pathol.* 1971; **8**: 292-306.

Johnson KH, Osborne CA and Barnes DM: Intracellular Substance with some Amyloid Staining Affinities in Pancreatic Acinar Cells of a Cat with Amyloidosis, *Vet Pathol.* 1970; **7**: 153-162.

Joss N, McLaughlin K, Simpson K and Boulton-Jones JM: Presentation, Survival and Prognosis Markers in AA Amyloidosis, *Q J Med.* 2000; **93**: 535-542.

Kaminsky W, Jin L *et al*: Polarimetric Imaging of Amyloid, *Micron.*, 2006; **37**: 324-338.

Kershaw O, Linet J, Linke RP and Gruber AD: Intraocular AL λ Amyloidoma with Plasma Cell Neoplasia in a Cat, *Vet Ophthalmol.* 2011; **14**: 88-92.

Kumar V, Abbas AK and Aster JC. Robbins and Cotran: Pathologic Basis of Disease. 9^a ed. Philadelphia, Elsevier, Saunders, 2015.

Lavie G, Zucker-Franklin D and Franklin EC: Degradation of Serum Amyloid A Protein by Surface-associated Enzymes of Human Monocytes, *J Exp Med.* 1978; **148**: 1020-1031.

Lavie G, Zucker-Franklin D and Franklin EC: Elastase-like Proteases on the Surface of Human Monocytes: Possible Role in Amyloid Formation, *J Immunol.* 1980; **125**: 175-180.

Levin M, Franklin EC, Frangione B and Pras M: The Amino Acid Sequence of a Major Non-immunoglobulin Component of Some Amyloid Fibrils, *J Clin Invest.* 1972; **51**: 2773-2776.

Linde-Sipman JS, Niewold TA, Tooten PCJ, de Neijs-Backer M and Gruys E: Generalized AA-amyloidosis in Siamese and Oriental Cats, *Vet Immunol Immunop.* 1997; **56**: 1-10.

Loeven KO: Spontaneous Hepatic Rupture Secondary to Amyloidosis in a Chinese Shar Pei, *J Am Anim Hosp Assoc.* 1994; **30**: 577-579.

Ludlage E, Murphy CL *et al*: Systemic AA Amyloidosis in the Common Marmoset, *Vet Pathol.* 2005; **42**: 117-124.

Newman SJ. The Urinary System. En: Zachary JF and McGavin MD, *Pathology Basis of Veterinary Disease.* 5^a ed. Missouri, Elsevier, 2012; 627-628.

Niewold TA, van der Linde-Sipman, Murphy C, Tooten PCJ and Gruys E: Familial Amyloidosis in Cats: Siamese and Abyssinian AA Proteins Differ in Primary Sequence and Pattern of Deposition, *Amyloid: Int J Exp Clin Invest.* 1999; **6**: 205-209.

O'Brien TD, Butler PC, Westermark P and Johnson KH: Islet Amyloid Polypeptide: A Review of Its Biology and Potential Roles in the Pathogenesis of Diabetes Mellitus, *Vet Pathol.* 1993; **30**: 317-332.

Rofina JE, Papaioannou N, Van Andel I, Van Ederen AM, Grossens M, Seceve M *et al*: Cerebrovascular Amyloidosis May Cause A Decrease of Blood Supply Leading to Oxidative Damage and Formation of Amyloid Plaques in the Aged Canine Brain. En: Bely M, Apathy A, *Amyloid and Amyloidosis IX.* Apathy, Budapest, Hungary, p.445-447.

Rubarth S: The Degeneration of Amyloid in the Langerhans' Cell Islands as the Cause of Diabetes Mellitus, *Scand Vet Tidsskr.* 1935; **25**: 750-761.

Sipe JD, Benson MD, Buxbaum JN, Ikeda S, Merlini G, Saraiva MJM *et al*: Nomenclature 2014: Amyloid Fibril Proteins and Clinical Classification of the Amyloidosis, *Amyloid.* 2014; **21**(4); 221-224.

Sipe JD and Cohen AS: Review: History of the Amyloid Fibril. *J Struct Biol.* 2000; **130**: 88-98.

Sipe JD, Vogel SN, Sztejn MB: The Role of Interleukin-1 in Acute Phase Serum Amyloid (SAA) and Serum Amyloid P (SAP) Biosynthesis. *Ann NY Acad Sci.* 1982; **389**: 137-150.

Snow AD, Willmer J, Kisilevsky R: Sulfated glycosaminoglycans: a common constituent of all amyloids?, *Lab Invest.* 1987; **56**: 120-123.

Terio KA, O'Brien T *et al*: Amyloidosis in Black-footed Cats (*Felis nigripes*), *Vet Pathol.* 2008; **45**: 393-400.

Virchow R: Ueber eine im Gehirn und Rückenmark des Menschen aufgefundenene Substanz mit der chemischen Reaction der Cellulose. *Virchow's Arch Path Anat Klin Med.* 1854; **6**: 135-38; 268-271.

Williams JH, van Wilpe E and Momberg: Renal Medullary AA Amyloidosis, Hepatocyte Dissociation and Multinucleated Hepatocytes in a 14-year-old free-ranging Lioness (*Panthera leo*), *Tydskr S Afr Vet Ver.* 2005; **76**(2): 90-98.

Yano BL, Hayden DW and Johnson KH: Feline Insular Amyloid: Incidence in Adult Cats with No Clinicopathologic Evidence of Overt Diabetes Mellitus, *Vet Pathol.* 1981; **18**: 310-315.

Zini E, Hauser B *et al*: Transient Laboratory Changes in a Cat with Repeated Hepatic Haemorrhages Due to Amyloidosis, *Veterinary Record.*, 2008; **162**: 24-26.

Zschiesche W and Jakob W.: Pathology of Animal Amyloidoses, *Pharmac. Ther.*, 1989; **41**: 49-83.