



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
DIN CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ**



TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

**PARTICULARITĂȚI DE DIAGNOSTIC ȘI
EVOLUȚIE ÎN BOALA POLICHISTICĂ
RENALĂ LA COPIL**

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

PROF. UNIV. DR. ION ROGOVEANU

STUDENT - DOCTORAND:

DR. DIANA-ȘTEFANIA MATEESCU

Craiova

2020

CUPRINS

1. Introducere	2
2. Stadiul actual al cunoașterii	2
3. Contribuția personală	3
4. Concluzii	8

Cuvinte cheie: rinichi polichistici, sindrom chistic hepatorenal, boală renală cronică, nefromegalie, nefrectomie, aquaporină, fibroză hepatică

1. Introducere

Sindromul chistic hepatorenal reprezintă un grup heterogen de maladii monogenice cu afectare severă ce prezintă un fond patologic comun. Acest sindrom poate fi depistat atât în perioada de vârstă neonatală precum și pediatrică și constă în anomaliile de dezvoltare ale ficatului și rinichilor.

Modificările includ proliferarea și dilatarea ductelor epiteliale la nivelul acestor țesuturi, cu depunerea anormală a matrixului extracelular. La nivel hepatic, fibroza hepatică se asociază cu chisturile ce prezintă epiteliu biliar, precum și cu un grad variabil de dilatare a tractului biliar intrahepatic.

Chisturile afectează și rinichii, în funcție de severitatea lor, determinându-se prognosticul acestui tip de sindrom. Afectarea hepatică este reprezentativă pentru ARPKD, iar în anumite cazuri este trăsătura clinică dominantă. Din totalul de pacienți ce suferă de ARPKD, este estimat că 40 %, prezintă o patologie organică duală, divizată egal între grupul de indivizi ce suferă de o afectare renală severă / afectare hepatobiliară medie, afectare renală medie/ afectare hepatobiliară severă, precum și afectarea medie concomitentă renală și hepatică.

2. Stadiul actual al cunoașterii

Patologia renală ereditară cel mai frecvent întâlnită este reprezentată de boala polichistică renală cu transmitere autozomal dominantă (ADPKD), prevalența sa fiind de 1:400 - 1 :1000 în SUA. Manifestările renale din cadrul ADPKD sunt determinate de prezența chisturilor însoțită de deteriorarea consecutivă a funcției rinichilor. Manifestările extrarenale sunt reprezentate de hipertensiunea arterială, aneurismele cerebrale și de prezența chisturilor la nivel hepatic. În aproximativ 85% din cazuri, mutația genei PKD1 determină debutul bolii polichistice renale cu transmitere autozomal dominante. Boala polichistică renală cu transmitere autozomal recesivă (ARPKD) are o incidență de 1:10 000 – 1: 40 000 și face parte din sindromul chistic hepatorenal congenital. Nefromegalia și hipoplazia pulmonară vor determina debutul detresei respiratorii la naștere și decesul perinatal la aproximativ 30% din pacienți.

3. Contribuția personală

Cercetarea a fost realizată pe un prim lot de studiu de 50 de pacienți cu vârste cuprinse între 3 luni și 16 de ani, diagnosticați cu boală polichistică renală, internați în cadrul Secției de Nefrologie Pediatrică din Spitalul Clinic de Urgență pentru copii „Maria Sklodowska Curie” din București. Perioada de monitorizare a fost de 6 ani (14 aprilie 2010 – 24 octombrie 2016).

Studiul retrospectiv a urmărit evaluarea sindromului chistic hepatorenal la nou născut și copil. Pacienții incluși în studiu au fost investigați clinico-biologic și radio-imagistic, în vederea stabilirii diagnosticului, cât și a conduitei terapeutice și postterapeutice. Boală chistică hepatorenală a fost detectată în

urma efectuării ecografiei fetale în trimestrul 2 de sarcină. Stabilirea diagnosticului de boală polichistică renală s-a realizat în urma corelării anamnezei familiale pozitive, cu rezultatele ultrasonografiei fetale și ale testării genetice.

În cazul bolii polichistice renale cu transmitere autozomal dominantă, s-au evidențiat mutații la nivelul genelor PKD 1 și PKD 2 ce codifică policistinele 1 și 2. În cazul ultrasonografiilor fetale neconcludente, s-a decis efectuarea rezonanței magnetice nucleare postnatale cu scopul de a confirma diagnosticul de boală polichistică renală. În funcție de situație, interpretarea rezultatelor s-a realizat diferit, astfel, diagnosticul de infecție de tract urinar pentru pacienții simptomatici s-a bazat pe o urocultură pozitivă ($\geq 10^5$ colonii/ml, germene unic) sau în cazul pacienților asimptomatici, cel puțin 2 probe în două zile diferite ($\geq 10^5$ colonii/ml, același germene). Prelucrarea statistică a fost realizată utilizând programul de prelucrare a datelor și numerelor, Microsoft Excel 2010. Pentru variabilele numerice, diferențele statistice au fost procesate prin utilizarea testul t- Student și ANOVA.

S-a considerat o diferență statistică atunci când valoarea p a fost mai mică de 0.05% (interval de încredere de 95%). US fetală a detectat prezența de chisturi renale la 20 de cazuri cu o vârstă gestațională cuprinsă între 16 și 20 de săptămâni, diagnosticul de rinichi polichistici confirmându-se ulterior postnatal prin efectuarea ecografiei renale. Diagnosticul neonatal s-a realizat la 4 din cazuri, iar cel postnatal la 26 de cazuri prin prezentarea la spital cu simptomatologie nespecifică patologiei renale.

Motivele principale de internare au fost reprezentate de evaluarea și reevaluarea nefrologică, acestea având un rol esențial în monitorizarea evoluției bolii polichistice renale la copil. Astfel, un nou născut prematur (VG=32 săpt) având antecedente heredo-colaterale (mama și bunica) cunoscute cu rinichi polichistici, a fost diagnosticat în urma realizării morfologiei fetale, cu boală renală polichistică, și testat pentru determinarea de mutații ale genelor PKD1 și

PKD2 (pozitive pentru ADPKD). Testul genetic a fost negativ, acesta revenind la control postnatal pentru o evaluare nefrologică, când i s-a efectuat o ecografie renală ce a avut un aspect sugestiv de boală renală polichistică de tip ARPKD. Ecografia renală postnatală a relevat: ambii rinichi cu sediu normal, dimensiuni mult crescute (RD- 18,2/10,6 cm; RS- 17/8cm), cu ștergerea diferențierii cortico-medulare bilateral, parenchimul renal înlocuit de multiple formațiuni chistice, cu diametru maxim de 2,2cm în treimea inferioară a rinichiului drept și respectiv 2 cm-polar inferior stâng.

Minimă dilatație la nivelul unei tije caliceale drepte de 9mm mediorenal. Fără imagini de calculi, fără alte dilatații de sistem pielocaliceal, vezică urinară în semirepleție, conținut transonic, perete regulat. Fără lichid la nivelul recesurilor peritoneale, uretere nevizualizabile.

Din cei 50 de pacienți cu boală polichistică renală, 42 au fost diagnosticați cu ITU, 6 nu au prezentat episoade de infecție urinară, iar la două din cazuri nu s-a consemnat prezența acesteia. Boala renală polichistică ADPKD (cu pattern de transmitere AD) a fost diagnosticată la 10 fete și 9 băieți, boala renală polichistică ARPKD (cu pattern de transmitere AR) a fost prezentă la 3 fete și 4 băieți, iar diagnosticul de rinichi multichistici și displazie chistică renală (cu pattern de transmitere nedeterminat) a fost pozitiv la 10 fete și 14 băieți. În studiul nostru am observat că din cei 19 pacienți cu boala polichistică renală de tip ADPKD (cu pattern AD), 18 dintre aceștia au fost diagnosticați postnatal, spre deosebire de cei ce au prezentat boala polichistică renală de tip ARPKD (cu pattern AR), care au fost diagnosticați preponderent prenatal. Aceste date sunt astfel în concordanță cu literatura care afirmă că doar 2% din pacienții cu ADPKD prezintă simptome înaintea vârstei de 15 ani. Diagnosticul prenatal de ARPKD poate fi suspectat începând cu săptămâna 15 de gestație, bazându-se pe rinichii măriți, hiperecogeni. Oligohidramniosul poate fi diagnosticat începând cu săptămâna 20 de gestație, fiind însoțit de creșterea în dimensiuni a rinichilor și hipoplazie pulmonară.

Cercetările au fost efectuate pe un al doilea lot de studiu ce a cuprins un număr de 22 de pacienți cu vârste cuprinse între două zile și 3 ani, diagnosticați cu boală polichistică renală, care au prezentat multiple internări în cadrul Secției de Nefrologie Pediatrică din Spitalul Clinic de Urgență pentru copii „Maria Sklodowska Curie” din București, fiind efectuat pe o perioadă de 3 ani (26 iulie 2015 – 30 octombrie 2018). Pacienții au fost evaluați clinic și paraclinic în momentul internării, iar piesele de rezecție post-nefrectomie au fost obținute de la departamentul de anatomie patologică al Spitalului Clinic de Urgență pentru copii „Maria Sklodowska Curie” din București.

De asemenea, s-a realizat un studiu de caz al unui nou născut prematur la Spitalul Clinic Județean de Urgență Craiova, cu vârstă gestațională de 32 de săptămâni, diagnosticat prenatal cu boală renală polichistică. Diagnosticul de boală polichistică renală a fost stabilit atât pe baza evaluării histopatologice realizate în Laboratorul de Tehnici Histologice, Histopatologice și Imunohistochimice din Centrul de Cercetare în Morfologie Microscopică și Imunologie al UMF Craiova, cât și pe baza testelor biochimice și al rezultatelor ecografiilor fetale și postnatale precum și al scintigrafiilor renale. Diagnosticul prenatal de boală polichistică renală (PKD- polycystic kidney disease) al pacienților din lotul studiat s-a bazat pe rezultatul ultrasonografiilor fetale efectuate la 16-22 de săptămâni de gestație. Aceste rezultate au fost corelate cu istoricul familial pozitiv de boală polichistică renală și cu prezența oligohidramniosului și a nefromegaliei.

Diagnosticul neonatal al PKD s-a bazat pe prezența maselor abdominale renale, hipoplaziei pulmonare și în consecință apariția detresei respiratorii caracterizată clinic prin tahipnee (frecvență respiratorie > 60 respirații/minut), geamăt expirator, dispnee (tiraj intercostal, subcostal și retracții sternale) și cianoză centrală. Faciesul Potter a fost întâlnit în cazul copiilor cu oligohidramnios sever, caracterizat prin apariția hipertelorismului, micrognației, epicantusului, urechilor jos implantate și nasului aplatizat. În

cazul pacienților cu debut tardiv al bolii polichistice renale cu transmitere autozomal dominantă, diagnosticul ADPKD s-a bazat pe prezența durerii lombare, în flancuri, asociată cu nefromegalia determinată de chisturi, asociată cu episoadele frecvente de ITU înaltă (febră, alterarea stării generale) și cu litiaza renală. Pentru evaluarea funcției renale a pacienților pediatrici, s-a utilizat scintigrafia renală nucleară. Evaluarea funcției renale s-a realizat calitativ (aprecierea imaginilor) și cantitativ (obținerea datelor funcționale) utilizând izotopul ^{99m}Tc -DTPA (99m Technetium-diethylenetriamine-pentaacetic acid), acesta fiind un radiotrasor dependent de filtrarea glomerulară.

Aspectul macroscopic renal post-nefrectomie a fost de rinchi polichistici, iar fragmentele de țesut renal au fost fixate în soluție de formaldehidă 10 % și procesate pentru includerea la parafină și secționarea blocurilor cu ajutorul microtomului în Departamentul de Anatomie Patologică al Spitalului Clinic de Urgență pentru copii „Maria Sklodowska Curie” din București și cel al Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova, iar pregătirea pentru imunohistochimie s-a realizat în Centrul de Cercetare în Morfologie Microscopică și Imunologie al UMF Craiova. Fragmentele de țesut renal au fost reevaluate la Centrul de Cercetare în Morfologie Microscopică și Imunologie al UMF Craiova și și apoi colorate cu hematoxilin-eozină pentru diagnosticul histopatologic de bază. Etapa următoare a constat în incubarea peste noapte, pe secțiuni la 4°C, a anticorpilor primari [(mouse anti-cluster of differentiation (CD) 34, Dako (Glostrup, Denmark), 1:100; mouse anti-CD45, Dako, 1:100; mouse anti-Ki67, Dako, 1:100; mouse anticollagen IV, Dako, 1:100; rabbit anti-albumin, Dako, 1:10 000, and mouse anti-aquaporin 1 (AQP1), Thermo Fischer Scientific (Waltham, Massachusetts, USA), 1:200].

Examinarea microscopică a confirmat înlocuirea parenchimului renal cu chisturile multiple tapetate de țesut cubic și țesut epitelial aplatizat împreună cu prezența zonelor de parenchim fetal restant separate de o stromă bogată. Examinarea imunohistochimică a vaselor de sânge, de la nivelul blocului de

control, folosind markerul CD 34, a evidențiat peretele normal al arterelor arcuate renale care formează arcade în jurul joncțiunii cortico-medulare, în contrast cu rinichii polichistici, ale căror vase de sânge prezintă un endoteliu subțiat. Markerul CD 34 a avut o exprimare crescută în rinichii polichistici comparativ cu blocul de control ($p < 0,05$). Un factor important care a contribuit la exprimarea crescută a markerului colagen IV ($p < 0,05$), a fost reprezentat de zonele de fibroză situate între tubii primitivi. Cu ajutorul markerului CD45, în rinichii polichistici s-a constatat acumularea de limfocite cu o dispunere difuză, în contrast cu limfocitele rare din blocurile de control ($p < 0,05$).

În rinichii polichistici, markerul pentru proliferare Ki67 a avut o exprimare intensă la nivelul tubilor imaturi ($p < 0,05$). Capacitatea de proliferare a fost crescută la nivelul epiteliului tubular față de cel glomerular. În cazul utilizării albuminei, s-a constatat o exprimare redusă la nivelul rinichilor polichistici ($p < 0,05$), comparativ cu blocurile de control, aceasta fiind asociată cu scăderea funcției renal. Funcția renală de transport a apei a fost evaluată utilizând markerul imunohistochimic aquaporina 1 (AQP1). În rinichii polichistici exprimarea AQP1 a fost difuză, la nivelul tuturor tubilor, indiferent de gradul lor de maturare, chiar și la nivelul epiteliului chistic. S-a demonstrat că procesul de chistogeneză din ADPKD este consecința gradului crescut de permeabilitate de la nivelul segmentelor nefronului cauzată de acțiunea proteinei AQP1. Modificările patologice din boala polichistică renală includ remodelarea membranelor bazale, creșterea expresiei colagenului de tip IV și alterările parenchimului renal. Inflamația interstițială a fost pusă în evidență cu ajutorul markerului imunohistochimic pentru limfocite CD45. Dilatațiile chistice împreună cu numărul crescut de macrofage și monocite de la nivelul țesutului renal interstițial fibrosat au determinat evoluția spre insuficiență renală cronică.

4. CONCLUZII

1. Cercetările au evidențiat importanța diagnosticului precoce (prenatal, neonatal, postnatal) al bolii polichistice renale.
2. Diagnosticul prenatal s-a bazat pe investigațiile genetice (evaluarea mutațiilor la nivelul genelor PKD1 și PKD2 pentru ADPKD și PKHD1 pentru ARPKD).
3. A fost identificat patternul de transmitere matern al bolii polichistice renale cu transmitere AD, fiind subliniată importanța anamnezei și a istoricului familial pozitiv de boală polichistică renală.
4. Am constatat că pacienții de sex feminin sunt mai expuși riscului de a dezvolta ADPKD, față de pacienții de sex masculin care vor dezvolta ARPKD.
5. Rezultatele ultrasonografiei prenatale au fost corelate cu istoricul familial pozitiv de boală polichistică renală, nefromegalie fetală și oligohidramnios.
6. Diagnosticul neonatal de boală polichistică renală s-a luat în considerare atunci când nou născuții au prezentat mase abdominale palpabile la nivelul flancurilor ce pot fi posibile cauze de distocii fetale.
7. Manifestările clinice au fost corelate cu investigațiile paraclinice (examen de laborator, ultrasonografie abdominală, scintigrafie renală) pentru diagnosticul complicațiilor frecvente ale PKD, reprezentate de ITU înalte recurente.
8. Examenul histopatologic a confirmat înlocuirea parenchimului renal cu chisturi multiple de dimensiuni variabile, tapetate cu epitelie aplatizată sau cubică, cu insule de parenchim restant separate de o stromă bogată.
9. Examinarea imunohistochimică a vaselor de sânge, de la nivelul blocului de control, folosind markerul CD 34, a evidențiat peretele normal al arterelor arcuate renale care formează arcade în jurul joncțiunii cortico-medulare, în contrast cu rinichii polichistici, ale căror vase de sânge prezintă un endoteliu

subțiat. Markerul CD 34 a avut o exprimare crescută în rinichii polichistici comparativ cu blocul de control.

10. Inflamația interstițială a fost pusă în evidență cu ajutorul markerului imunohistochimic pentru limfocite CD45.

11. Modificările patologice din boala polichistică renală au inclus remodelarea membranelor bazale, creșterea expresiei colagenului de tip IV și alterările parenchimului renal.

12. Deficiența de AQP1 va cauza apariția dilatației chistice de la nivelul tubilor proximali și un nivel scăzut de migrare celulară.

13. În boala polichistică renală cu transmitere AD, rezultatele cercetării noastre privind nivelul scăzut de AQP1 în tubii renali proximali sunt în concordanță cu literatura.

14. Dilatațiile chistice împreună cu numărul crescut de macrofage și monocite de la nivelul țesutului renal interstițial fibrozat au determinat evoluția spre insuficiență renală cronică.