



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
GRIGORE T. POPA IAȘI

**FACTORI MORFOLOGICI DE
PROGNOSTIC ÎN AFECTAREA RENALĂ
DIN LUPUSUL ERITEMATOS SISTEMIC
(LES)**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

CONDUCĂTORI ȘTIINȚIFICI

Prof. Univ. Dr. Irina-Draga Căruntu

Prof. Univ. Dr. Adrian Constantin Covic

DOCTORAND

Tudor Azoicăi

2019

CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT

CAPITOLUL 1	
REPERE MORFOLOGICE RENALE – ABORDARE MACRO ȘI MICROSCOPICĂ	1
1.1. ELEMENTE DE EMBRIOLOGIE	1
1.1.1. Evoluția pronefrosului	1
1.1.2. Evoluția mezonefrosului	2
1.1.3. Evoluția metanefrosului	2
1.2. REPERE ANATOMICE	3
1.2.1. Mijloace de fixare	4
1.2.2. Morfologia externă a rinichilor	4
1.3. REPERE HISTOLOGICE	4
1.3.1. Histoarhitectonie	4
1.3.2. Corpusculul renal	5
1.3.3. Tubii nefronului	8
1.3.4. Tubii colectori și ductele / canalele colectoare Bellini	10
1.3.5. Interstițiul renal	10
CAPITOLUL 2	
LUPUSUL ERITEMATOS SISTEMIC. CONSIDERENTE EPIDEMIOLOGICE, PATOGENICE, CLINICE ȘI DE TRATAMENT	11
2.1. EPIDEMIOLOGIE	11
2.1.1. Particularități epidemiologice geografice și rasiale	11
2.1.2. Particularități epidemiologice în funcție de gen	12
2.1.3. Particularități epidemiologice după vârsta de debut	12
2.1.4. Particularități epidemiologice privind evoluția bolii	13
2.1.5. Epidemiologia lupusului eritematos sistemic în România	14
2.2. ETIOLOGIE ȘI FACTORII DE RISC	16
2.2.1. Factorii genetici implicați în etiologia lupusului eritematos sistemic	16
2.2.2. Factori endocrini implicați în etiologia și riscul de lupus eritematos sistemic	17
2.2.3. Factori de mediu implicați în etiologia și riscul de lupus eritematos sistemic	18
2.3. PATOGENIE	18
2.4. ASPECTE CLINICE ȘI PARACLINICE	19
2.4.1. Aspecte clinice în lupusul eritematos sistemic	20
2.4.1.1. Simptomele constituționale	20
2.4.1.2. Afectarea sistemului musculo-scheletal	21
2.4.1.3. Afectarea cutanată și a mucoaselor	21
2.4.1.4. Vasculita sistemică	22
2.4.1.5. Boala tromboembolică	22
2.4.1.6. Afectarea pulmonară	23
2.4.1.7. Afectarea cardiacă	23
2.4.1.8. Afectarea neuropsihiatrică	24
2.4.1.9. Afectarea oftalmologică	24
2.4.1.10. Alte afectări organice	24
2.4.2. Aspecte paraclinice în lupusul eritematos sistemic	24
2.4.2.1. Evaluarea biologică	24
2.4.2.2. Evaluarea imagistică	25
2.4.2.3. Evaluarea anatomo-patologică	26
2.5. TRATAMENT	26
2.5.1. Tratamentul igieno-dietetic	26
2.5.2. Tratamentul imunosupresor specific	27
2.5.3. Vaccinarea pacienților cu lupus eritematos sistemic	28
CAPITOLUL 3	
NEFRITA LUPICĂ. EPIDEMIOLOGIE, PATOGENIE, MANAGEMENT CLINIC ȘI TERAPEUTIC	36
3.1. EPIDEMIOLOGIE	36
3.2. PATOGENIE	36
3.3. ASPECTE CLINICE, REPERE DE DIAGNOSTIC	39
3.4. TRATAMENT	42

CAPITOLUL 4	
VARIABILITATE MORFOLOGICĂ ÎN NEFRITA LUPICĂ: CLASE DE DIAGNOSTIC, SCORURI DE LEZIUNE, INDEXURI DE ACTIVITATE ȘI CRONICITATE, CORELAȚII CLINICO-MORFOLOGICE	45
4.1. INTRODUCERE	45
4.2. OBIECTIV	47
4.3. MATERIAL ȘI METODĂ	48
4.4. REZULTATE	52
4.4.1. Tabloul histopatologic al nefritei lupice – clase de diagnostic	52
4.4.2. Evaluarea semi-cantitativă a modificărilor morfologice corpusculare – scoruri de leziune corpusculară	55
4.4.3. Evaluarea semi-cantitativă a modificărilor morfologice tubulo-interstițiale – scoruri de leziune tubulo-interstițială	63
4.4.4. Evaluarea semi-cantitativă a statusului de activitate și cronicitate	70
4.4.5. Sinopsis al evaluărilor semi-cantitative a modificărilor morfologice corpusculare și tubulo-interstițiale și a statusului de activitate și cronicitate	76
4.4.6. Corelații clinico-morfologice în nefrita lupică. Variabilitatea scorurilor de leziune corpusculară și tubulo-interstițială, și a indexurilor de activitate și cronicitate, în raport de clasele de diagnostic	78
4.4.7. Corelații clinico-morfologice în nefrita lupică. Puterea predictivă a leziunilor histologice în raport de parametrii clinico-biologici	83
4.4.8. Corelații clinico-morfologice în nefrita lupică. Puterea predictivă a parametrilor clinico-biologici în raport de leziunile histologice	86
4.5. DISCUȚII	89
4.5.1. Valoarea puncției-biopsie renală – repere istorice și tendințe moderne	89
4.5.2. Valoarea evaluării calitative și semi-cantitative a modificărilor morfologice din nefrita lupică	94
4.5.2.1. Repere în evoluția cuantificării leziunilor morfologice renale	94
4.5.2.2. Revizuirea Clasificării ISP/RPS – principii de lucru, progrese, limite, perspective, raportare la rezultatele personale	95
4.5.3. Relevanța corelațiilor clinico-patologice în nefrita lupică. Valoarea predictivă a scorurilor de leziune corpusculară și tubulo-interstițială, și a indexurilor de activitate și cronicitate	108
CAPITOLUL 5	
POPULAȚII LIMFOCITARE ÎN NEFRITA LUPICĂ: ÎNTRE PATOGENIE ȘI FACTORI PROGNOSTICI	116
5.1. INTRODUCERE	116
5.2. OBIECTIV	119
5.3. MATERIAL ȘI METODE	119
5.4. REZULTATE	121
5.4.1. Caracteristici histopatologice ale lotului – sinopsis recapitulativ	121
5.4.2. Profilul limfocitelor T CD4+	122
5.4.3. Profilul limfocitelor T CD8+	128
5.4.4. Similitudini și diferențe între profilul limfocitelor T CD4+ și profilul limfocitelor T CD8+	135
5.5. DISCUȚII	138
CAPITOLUL 6	143
CONCLUZII	
CAPITOLUL 7	
PERSPECTIVE	145
BIBLIOGRAFIE	146

Teză de doctorat este ilustrată prin 48 figuri și 39 tabele. Rezumatul include un număr limitat din totalul acestora, menținând numerotarea din teză. Bibliografia selectivă prezentă în rezumat include 44 din totalul celor 411 referințe bibliografice ale tezei de doctorat.

CAPITOLUL 4

VARIABILITATE MORFOLOGICĂ ÎN NEFRITA LUPICĂ: CLASE DE DIAGNOSTIC, SCORURI DE LEZIUNE, INDEXURI DE ACTIVITATE ȘI CRONICITATE, CORELAȚII CLINICO-MORFOLOGICE

4.1. INTRODUCERE

Progresia afectării renale în lupusul eritematos sistemic (LES) determină o diversitate de leziuni morfologice glomerulare și interstițiale. Puncția-biopsie renală reprezintă standardul de aur în stabilirea diagnosticului. Acumulările observațiilor clinice și patologice s-au concretizat, în 1982, în prima clasificare WHO (*eng.* World Health Organisation) a glomerulonefritei lupice (Churg, Sobin, 1982). Această clasificare, apreciată ca simplă, ușor de învățat, rapid realizabilă și reproductibilă, a devenit metoda standard de încadrare diagnostică. Consecutiv, puncția-biopsie renală și-a câștigat valoarea de ghid pentru stabilirea terapiei în nefrita lupică (Lewis, 1999). Din 2004, pentru stabilirea diagnosticului histopatologic de nefrită lupică se aplică criteriile de diagnostic introduse prin Clasificarea ISN/RPS (*eng.* International Society of Nephrology/Renal Pathology Society) (Weening et al., 2004a, Weening et al., 2004b). Această nouă clasificare oferă nefropatologilor o caracterizare mult mai precisă a claselor de diagnostic, cu repercute în creșterea reproductibilității interobservatori (Markowitz, D'Agati, 2007, Markowitz, D'Agati, 2009, Giannico, Fogo, 2013). Trebuie menționate eforturile specialiștilor de a formula criterii de evaluare semi-cantitativă pentru aprecierea leziunilor active și/sau cronice. Aceste preocupări, inițiate în 1964 (Pollak et al., 1964), au fost concretizate în 1983 prin algoritmul de scor semi-cantitativ propus de Institutul Național de Sănătate (*eng.* National Institute of Health – NIH) al Statelor Unite ale Americii (Austin et al., 1983, Austin et al., 1984) care este utilizat și în prezent.

Trecerea în revistă a literaturii de specialitate dedicată nefritei lupice în ultimii 10 ani relevă în continuare nivelul scăzut de reproductibilitate, datorat neconcordanțelor în definirea parametrilor histologici, care conduc la variații importante interobservatori, în procesul de evaluare a leziunilor și de stabilire a clasei de diagnostic (Wilhelmus et al., 2015). Consecutiv, necesitatea revizuirii acestei clasificări a reprezentat o prioritate în nefropatologie. În 2016, un grup de experți în patologia nefritei lupice a inițiat realizarea unui consens în definirea leziunilor prezente în această entitate de diagnostic (Bajema et al., 2018). Acest demers științific a fost concretizat în raportul de consens care revizuieste Clasificarea ISN/RPS a nefritei lupice (Bajema et al., 2018).

4.2. OBIECTIV

Obiectivul principal al studiului nostru a constat în analiza modificărilor morfologice individuale identificate în nefrită lupică, prin raportare la clasele de diagnostic definite conform Clasificării ISN/RPS, în corelație cu nivelul de activitate și cronicitate. Suplimentar, analiza relației existente între încadrarea diagnostică și severitatea leziunilor histopatologice a vizat identificarea corelațiilor clinico-morfologice și a unor potențiali factori morfologici prognostici, care pot traduce valoare predictivă.

Obiectivul principal a fost susținut prin obiective secundare, care au vizat:

- conceperea și aplicarea unui algoritm de evaluare semi-cantitativă a componentei corpusculare, tradus într-un scor de leziune corpusculară;
- conceperea și aplicarea unui algoritm de evaluare semi-cantitativă a componentei tubulo-interstițiale, tradus într-un scor de leziune tubulo-interstițială;
- analiza corelațiilor clinico-patologice între clasele de diagnostic specifice nefritei lupice și scorurile de leziune corpusculară și tubulo-interstițială, precum și indexurile de activitate și cronicitate;
- stabilirea valorii predictive a scorurilor de leziune corpusculară și tubulo-interstițială, precum și indexurile de activitate și cronicitate, în relație cu parametri paraclinici de referință în nefrita lupică.

4.3. MATERIAL ȘI METODĂ

Prezentul studiu este fundamentat pe experiența de peste 20 de ani în diagnosticul, tratamentul și monitorizarea patologiei renale, și implicit a nefritei lupice, în cadrul Clinicii de Nefrologie și Serviciului de Anatomie Patologică și Prosectură – Spitalul Clinic „Dr. C. I. Parhon” Iași.

Pacienți

Lotul de studiu a inclus inițial un număr de 57 pacienți cu tablou clinic și paraclinic sugestiv de

nefrită lupică, internați în Clinica de Nefrologie a Spitalului Clinic „Dr. C. I. Parhon” Iași în intervalul 2003-2018. Pentru 53 de cazuri, diagnosticul anatomopatologic a confirmat încadrarea în nefropatia lupică. 4 cazuri au fost excluse din studiu, deoarece fragmentele tisulare prelevate nu au îndeplinit criteriile necesare pentru evaluarea microscopică.

Examenul histopatologic

Fragmentele bioptice au fost recoltate prin puncție-biopsie renală pe rinichi nativ, în cadrul Clinicii de Nefrologie. Fragmentele de puncție-biopsie renală au fost prelucrate standard, în conformitate cu protocolul specific de lucru aplicat în laboratoarele de histopatologie, pentru examenul în microscopie optică și în imunofluorescență. Fiecare caz a fost reevaluat prin examen microscopic. Etapa de reevaluare realizată personal a fost triplă, în paralel, de evaluarea efectuată de către studenta Mădălina Belibou, sub monitorizarea prof. dr. Irina-Drăga Căruntu – în cadrul lucrării de licență intitulată *Repere morfologice operaționale în diagnosticul glomerulonefritei lupice* (Belibou, 2016), și de alți doi patologici independenți.

Evaluare semi-cantitativă

Pentru evaluarea leziunilor prezente în fragmentele de puncție-biopsie renală analizate, am conceput și aplicat doi algoritmi de evaluare semi-cantitativă, primul pentru componenta corpusculară, al doilea pentru componenta tubulo-interstițială. Pentru fiecare leziune am acordat, în raport de severitate, un scor. Algoritmul de evaluare a componentei corpusculare propus și aplicat a condus la obținerea un scor final de leziune corpusculară (S_CR), rezultat prin sumarea tuturor valorilor individuale de scor acordate pentru fiecare parametru analizat, cu valoare maximă de 33. Algoritmul de evaluare a componentei tubulo-interstițiale propus și aplicat a condus la obținerea un scor final de leziune tubulo-interstițială (S_TI), rezultat prin sumarea tuturor valorilor individuale de scor acordate pentru fiecare parametru analizat, cu valoare maximă de 18.

Parametrii morfologici analizați și evaluați pentru scorul de leziune corpusculară (S_CR), respectiv scorul de leziune tubulo-interstițială (S_TI) sunt prezentați detaliat în cele ce urmează.

Scorul de leziune corpusculară

Componenta corpusculară – parametri cuantificați

- numărul total de corpusculi renali;
- numărul total de corpusculi renali integri;
- numărul de corpusculi renali cu leziuni (distribuția focală sau difuză):
 - distribuție focală – scor 1;
 - distribuție difuză – scor 2;
- modificările mezangiale (leziunea prezentă în mai mult de jumătate din numărul total al corpusculilor renali dintr-un fragment de puncție-biopsie renală):
 - hiper celularitate absentă – scor 0; hiper celularitate ușoară (minimum 3 celule într-o arie mezangială) – scor 1; hiper celularitate moderată (minimum 3 celule în două arii mezangiale) – scor 2; hiper celularitate marcată (minimum 3 celule în mai mult de două arii mezangiale) – scor 3;
 - proliferare mezangială absentă – scor 0; proliferare mezangială ușoară (depozitele mezangiale într-o arie mezangială) – scor 1; proliferare mezangială moderată (depozitele mezangiale în două arii mezangiale) – scor 2; proliferare mezangială marcată (depozitele mezangiale în mai mult de două arii mezangiale) – scor 3;
 - necroză fibrinoidă – scor 3;
 - transformare în scleroză – scor 4;
- afectarea endotelială:
 - absentă – scor 0; acumulare de celule inflamatorii (leucocite) intracapilare – scor 1; hiper celularitate endocapilară – scor 2; distrucție endotelială / necroză capilară – scor 3; trombi hialini – scor 3; transformare în scleroză – scor 4;
- modificările membranare: îngroșare cu aspect de „dublu contur” / „anse de sârmă”:
 - absente – scor 0; prezente – dublu contur – scor 1; prezente – anse de sârmă – scor 2; nu se pot aprecia, transformare în scleroză – scor 4;
- scleroza segmentară:
 - absentă – scor 0; prezentă în sub 50% din corpusculii renali – scor 1; prezentă în peste 50% din corpusculii renali – scor 2; nu se poate aprecia, scleroza totală – scor 3;
- crescentul: celular, fibro-celular, celular:
 - absent – scor 0; crescent celular – scor 1; crescent fibro-celular – scor 2; crescent fibrilar – scor 3;
- scleroza globală / glomeruloscleroza:
 - număr total de corpusculi renali sclerozați;

- absent – scor 0; prezentă sub 50% – scor 1; prezentă peste 50% - scor 2; prezentă peste 75% - scor 3; prezentă 90-100% - scor 4.

Scorul de leziune tubulo-interstițială

Componenta tubulo-interstițială – parametri cuantificați

- atrofia tubulară:
 - absentă – scor 0; prezentă sub 25% arie puncție-biopsie renală – scor 1; prezentă între 25-50% arie puncție-biopsie renală – scor 2; prezentă între 50-75% arie puncție-biopsie renală – scor 3; prezentă peste 75% arie puncție-biopsie renală – scor 4;
- dilatarea tubulară:
 - absentă – scor 0; prezentă – scor 1;
- infiltratul inflamator cronic interstițial:
 - absent – scor 0; prezent, slab reprezentat (sub 25% arie puncție-biopsie renală) – scor 1; prezent, moderat reprezentat (între 25-50% arie puncție-biopsie renală) – scor 2; prezent, bine reprezentat (între 50-75% arie puncție-biopsie renală) – scor 3; prezent, foarte bine reprezentat (peste 75% arie puncție-biopsie renală) – scor 4;
- infiltrat inflamator acut interstițial:
 - absent – scor 0; prezent – scor 1;
- fibroza interstițială:
 - absentă – scor 0; prezentă, slab reprezentată (sub 25% arie puncție-biopsie renală) – scor 1; prezentă, moderat reprezentată (între 25-50% arie puncție-biopsie renală) – scor 2; prezentă, bine reprezentată (între 50-75% arie puncție-biopsie renală) – scor 3; prezentă, foarte bine reprezentată (peste 75% arie puncție-biopsie renală) – scor 4;
- leziuni vasculare (hialinoză, fibroză intimală):
 - absente – scor 0; necroză fibrinoidă – scor 1; hialinoză – scor 2; fibroză intimală – scor 1.

În paralel, fiecare caz a fost evaluat ca activitate și cronicitate aplicând indexurile implementate prin algoritmul de scor semi-cantitativ propus de NIH (Austin et al., 1983).

Date clinice și paraclinice

Pentru pacienții incluși în lotul studiat, am analizat, în paralel cu profilul histopatologic, principalele caracteristici demografice și clinico-paraclinice (uree, creatinină, rata de filtrare glomerulară (RFG) (CKD-EPI), colesterol, trigliceride, proteinurie în 24 ore, raport proteine/creatinină, hemoglobină, leucocite, trombocite, VSH, anticorpi anti-ADNdc, anticorpi anti-fosfolipidici, fracțiunea C3 a complementului) care au caracterizat tabloul nefritei lupice. Aceste date au fost extrase din foile de observație ale pacienților. Din cei 53 de pacienți, 44 au fost de gen feminin, 9 de gen masculin, cu vârsta medie de 35 ± 13 ani.

Analiza statistică

Toate datele clinice, biologice și morfologice au fost stocate într-o bază de date standard, Excel. Preluarea statistică s-a realizat utilizând programul SPSS17. Valorile numerice s-au exprimat ca medii $\pm$ DS. Pentru analiza relației dintre variabilele considerate a fost utilizată corelația Pearson și T-test. Comparatiile între grupuri au fost evaluate prin analiza statistică de tip comparații multiple ANOVA. Pentru valoarea predictivă am aplicat analiza ROC (*eng.* Receiver Operating Characteristic) și evaluarea ariei de sub curbă (*eng.* Area Under the Curve – AUC).

Particularități de organizare în prezentarea și analiza rezultatelor

Pornind de la încadrarea diagnostică a cazurilor în clase și subclase de diagnostic ale nefritei lupice, în baza numărului de cazuri corespondent fiecărei entități de diagnostic și a particularităților histopatologice aferente, am decis să considerăm:

- pentru clasa II și clasa III: analiza grupată a tuturor cazurilor încadrate în cele două clase;
- pentru clasa IV: analiza grupată a tuturor cazurilor încadrate în clasa IV, fără raportare la subclase;
- pentru clasa V:
 - analiza grupată a tuturor cazurilor încadrate în clasa V și clasa V asociată cu clasa III/IV, definită drept clasa V compactă (evaluare 1);
 - analiza separată a cazurilor încadrate în clasa V și, respectiv, în clasa V asociată cu clasa III/IV, definită drept clasa V separată (evaluare 2);
- pentru clasa VI: analiza tuturor cazurilor încadrate în această clasă.

Această organizare, care a fundamentat studiul doctoral realizat, are ca punct de plecare complexitatea Clasificării ISN/RPS a nefritei lupice în 6 clase principale. Ne-am concentrat atenția asupra clasei V, care include clasa V pură – definită ca nefrită lupică membranoasă, și clasa V asociată

cu leziuni active de clasă III sau clasă IV – considerată nefrită lupică proliferativă mixtă, pentru care trebuie raportate ambele diagnostice. Am decis să realizăm în paralel două evaluări, care să permită o analiză aprofundată a profilului histologic care caracterizează această clasă diagnostică. Două argumente au stat la baza acestei decizii, și anume: (i) diferențele importante între evoluția și prognosticul clasei V pure și clasei V asociate cu clasa III/IV, (ii) datele limitate existente în literatură, care să documenteze, comparativ, tipul și amploarea leziunilor care fac diferența în interiorul clasei V (între subclase), precum și între clasa V (compactă și separată) și celelalte clase diagnostice.

4.4. REZULTATE

4.4.1. TABLOUL HISTOPATOLOGIC AL NEFRITEI LUPICE – CLASE DE DIAGNOSTIC

Tabelul 4.2. sintetizează încadrarea diagnostică în clasele de nefrită lupică, conform criteriilor de clasificare ISN/RPS.

Tabel 4.2. Clasificarea diagnostică a cazurilor de nefrită lupică

DIAGNOSTIC	# cazuri
<i>Nefrită lupică proliferativă mezangială – clasa II</i>	2
<i>Nefrită lupică focală – clasa III</i>	4
▪ Clasa III (A/C) Nefrită lupică focală cu leziuni active și cronice	2
▪ Clasa III (A/C) Nefrită lupică focală cu leziuni cronice	2
<i>Nefrită lupică difuză - clasa IV</i>	19
▪ Clasa IV-S (A) Nefrită lupică difuză segmentară cu leziuni active	1
▪ Clasa IV-S (A/C) Nefrită lupică difuză segmentară cu leziuni active și cronice	2
▪ Clasa IV-G (A) Nefrită lupică difuză globală cu leziuni active	1
▪ Clasa IV-G (A/C) Nefrită lupică difuză globală cu leziuni active și cronice	14
▪ Clasa IV-G (C) Nefrită lupică difuză globală cu leziuni cronice	1
<i>Nefrită lupică membranoasă - clasa V</i>	22
▪ Clasa V Nefrită lupică membranoasă	14
▪ Clasa V Nefrită lupică membranoasă asociată cu Clasa IV-S (A/C) Nefrită lupică difuză segmentară	2
cu leziuni active și cronice	
▪ Clasa V Nefrită lupică membranoasă asociată cu Clasa IV-G (A/C) Nefrită lupică difuză globală	6
cu leziuni active și cronice	
<i>Nefrită lupică sclerotică avansată - clasa VI</i>	6

4.4.2. EVALUAREA SEMI-CANTITATIVĂ A MODIFICĂRILOR MORFOLOGICE CORPUSCULARE – SCORURI DE LEZIUNE CORPUSCULARĂ

Analiza semi-cantitativă a leziunilor definite pentru componenta corpusculară prin algoritmul propus și aplicat a fost concretizată prin obținerea unei valori de S_{CR} pentru fiecare caz.

În raport de încadrarea diagnostică, valorile medii ale S_{CR} au fost calculate inițial considerând gruparea clasei II cu clasa III și, respectiv, gruparea clasei V cu clasa V asociată cu clasa III/IV. Această evaluare a evidențiat (Fig. 4.7.): creșterea evidentă a S_{CR} în secvența de severitate a diagnosticului, de la 6,5 pentru clasa II+III la 21 pentru clasa VI; valorile medii S_{CR} pentru clasa IV și clasa V (inclusiv V+IV) aproape similare (14,2 versus 14,18).

Cea de a doua modalitate de evaluare a separat cazurile diagnosticate ca și clasă V de cazurile diagnosticate ca și clasă V asociată cu clasa IV. În mod concret, am înregistrat scăderea S_{CR} mediu de la clasa IV (14,21) la clasa V (10,92), urmată de creșterea marcată a S_{CR} pentru clasa V+IV (19,87), la diferență redusă de S_{CR} mediu pentru clasa VI (21) (Fig. 4.8.).

Prin diferențele înregistrate între evaluarea 1 și evaluarea 2, pentru S_{CR}, rezultatele noastre au indicat necesitatea unei reconsiderări a clasificării, care să re poziționeze clasa V+IV ca entitate distinctă în raport de gravitate, și nu ca și componentă a clasei V.

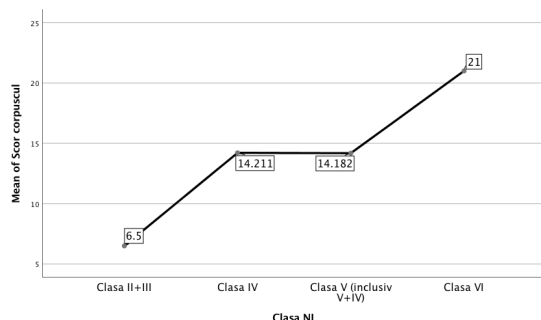


Fig. 4.7. S_CR – valori medii raportate la clasele de diagnostic ale nefritei lupice – evaluare 1

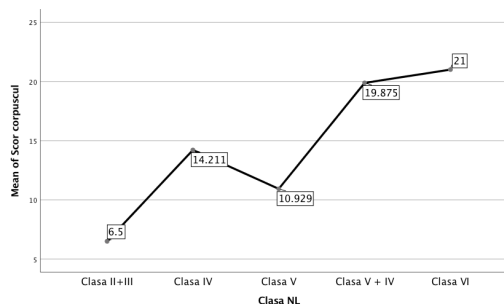


Fig. 4.8. S_CR – valori medii raportate la clasele de diagnostic ale nefritei lupice – evaluare 2

4.4.3. EVALUAREA SEMI-CANTITATIVĂ A MODIFICĂRII MORFOLOGICE TUBULO-INTERSTIȚIALE – SCORURI DE LEZIUNE TUBULO-INTERSTIȚIALĂ

Analiza semi-cantitativă a leziunilor definite pentru componenta tubulo-interstițială prin algoritmul propus și aplicat a fost concretizată prin obținerea unei valori de scor de leziune tubulo-interstițială (S_TI) pentru fiecare caz. În raport de încadrarea diagnostică, valorile medii ale S_TI au fost calculate inițial considerând gruparea clasei II cu clasa III și, respectiv, gruparea clasei V cu clasa V asociată cu clasa IV.

Rezultatele noastre au evidențiat (Fig. 4.9): o creștere evidentă a S_TI în secvența de severitate a diagnosticului, de la 2,66 pentru clasa II+III la 11,33 pentru clasa VI; valorile medii de S_TI pentru clasa IV și clasa V (inclusiv V+IV) foarte apropiate – 5,21, respectiv 5,68.

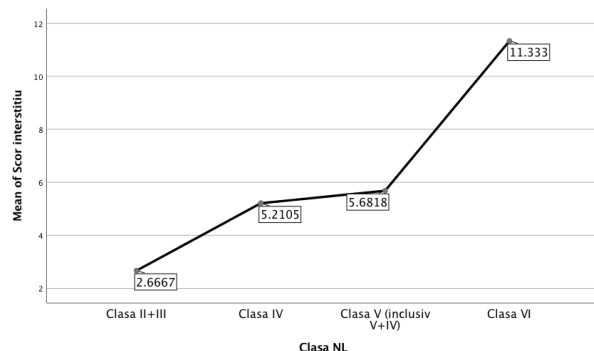


Fig. 4.9. S_TI – valori medii raportate la clasele de diagnostic ale nefritei lupice – evaluare 1

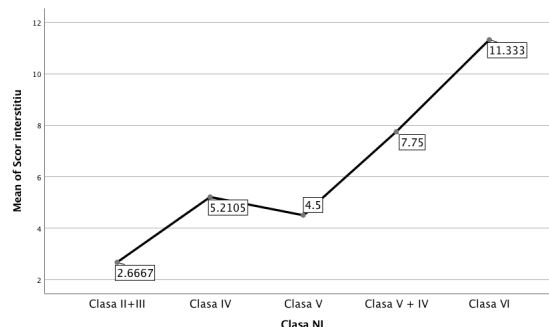


Fig. 4.10. S_TI – valori medii raportate la clasele de diagnostic ale nefritei lupice – evaluare 2

Cea de a doua modalitate de evaluare, considerând separat cazurile diagnosticate ca și clasă V de cazurile diagnosticate ca și clasă V asociată cu clasa IV, au evidențiat creșterea S_TI de la clasa II+III (2,66) la clasa IV (5,21), scăderea S_TI de la clasa IV la clasa V (4,5), urmată de creșterea S_TI pentru clasa V+IV (7,75), cu mult mai mic comparativ cu S_TI mediu pentru clasa VI (11,33) (Fig. 4.10).

Prin diferențele înregistrate între evaluarea 1 și evaluarea 2, pentru S_TI, rezultatele noastre au indicat necesitatea unei reconsiderări a clasificării, care să re poziționeze clasa V+IV ca entitate distinctă în raport de gravitate, și nu ca și componentă a clasei V.

4.4.4. EVALUAREA SEMI-CANTITATIVĂ A STATUSULUI DE ACTIVITATE ȘI CRONICITATE

Indexul de activitate (I_A) și, respectiv, indexul de cronicitate (I_C) a prezentat o mare variabilitate nu numai între clasele și subclasele diagnostice, dar și în cadrul aceleiași clase sau subclase.

Indexul de activitate

În raport de încadrarea diagnostică, valorile medii ale I_A au fost calculate inițial considerând gruparea clasei II cu clasa III și, respectiv, gruparea clasei V cu clasa V asociată cu clasa IV. Această evaluare a evidențiat (Fig. 4.11.):

- creșterea evidentă a statusului activ al leziunilor identificate de la clasa II+III (valoare medie 6) la clasa IV (valoare medie 13,57), urmată de o creștere modestă la clasa V (inclusiv V+IV) (valoare

medie 15,27) și o scădere dramatică la clasa VI (valoare medie 5,5);

- o diferență redusă, în valoarea efectivă a cifrelor, între I_A mediu pentru clasa IV și clasa V (inclusiv V+IV) – 13,57 versus 15,27.

Pentru a doua evaluare, am aplicat același tipar ca și pentru S_CR și S_TI, considerând separat cazurile diagnosticate ca și clasă V de cazurile diagnosticate în clasa V asociată cu clasa IV. Prin separarea clasei V de clasa V+IV, am înregistrat scăderea I_A de la clasa IV (13,57) la clasa V (12), urmată de creșterea I_A pentru clasa V+IV (21), cu scăderea dramatică pentru clasa VI (5,5) (Fig. 4.12).

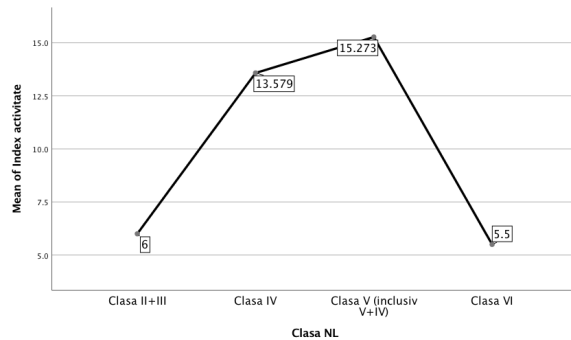


Fig. 4.11. I_A – valori medii raportate la clasele de diagnostic ale nefritei lupice – evaluare 1

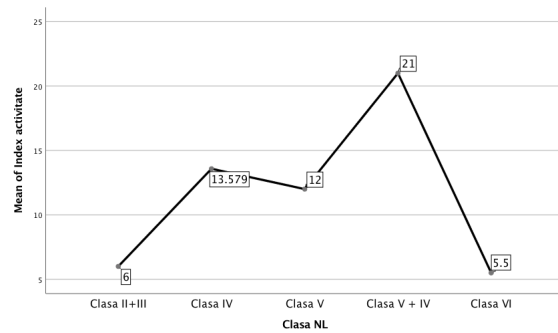


Fig. 4.12. I_A – valori medii raportate la clasele de diagnostic ale nefritei lupice – evaluare 2

Indexul de cronicitate

În raport de încadrarea diagnostică, valorile medii ale I_C au fost calculate inițial considerând gruparea clasei II cu clasa III și, respectiv, gruparea clasei V cu clasa V asociată cu clasa III/IV. **Această** evaluare a evidențiat (Fig. 4.13):

- o creștere evidentă a statusului cronic al leziunilor identificate de la clase II+III, IV și V (inclusiv V+IV) (valoare medie 6, respectiv 6,63, respectiv 6) la clasa VI (valoare medie 10,5);
- diferențe minime între clasa II+III, clasa IV și clasa V (inclusiv clasa V asociată cu clasa IV) – 6 versus 6,63 versus 6.

Datele obținute au evidențiat o similitudine importantă în dezvoltarea și progresia leziunilor cronice în nefrita lupică clasa II, clasa III, clasa IV și clasa V (inclusiv clasa V asociată cu clasa IV), cu toate că fiecare clasă constituie o entitate diagnostică distinctă în Clasificarea ISP/RPS.

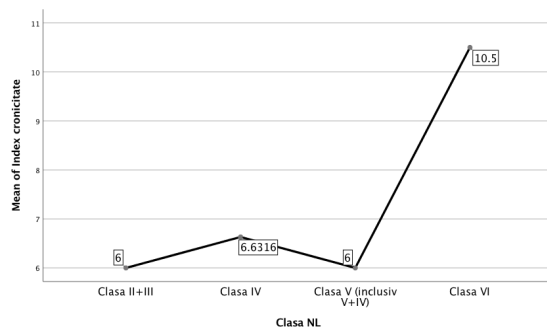


Fig. 4.13. I_C – valori medii raportate la clasele de diagnostic ale nefritei lupice – evaluare 1

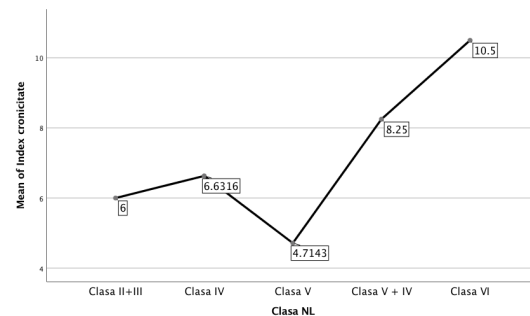


Fig. 4.14. I_C – valori medii raportate la clasele de diagnostic ale nefritei lupice – evaluare 2

A doua evaluare a fost realizată separând cazurile diagnosticate în clasa V de cazurile diagnosticate în clasa V asociată cu clasa IV. Am notat scăderea I_C de la clasa II+III (6) și clasa IV (6,63) la clasa V (4,71), urmată de creșterea I_C pentru clasa V+IV (8,25), și creșterea consecutivă la clasa VI (10,5) (Fig. 4.14).

Prin diferențele înregistrate între evaluarea 1 și evaluarea 2, pentru I_A și I_C, rezultatele noastre au indicat necesitatea de a segrega cele două subclase, V și respectiv V+IV, pentru o apreciere realistă a evoluției și prognosticului, precum și necesitatea unei reconsiderări a clasificării, care să re poziționeze clasa V+IV ca entitate distinctă în raport de gravitate, și nu ca și componentă a clasei V.

4.4.5. SINOPSIS AL EVALUĂRIILOR SEMI-CANTITATIVE A MODIFICĂRIILOR MORFOLOGICE CORPUSCULARE ȘI TUBULO-INTERSTIȚIALE ȘI A STATUSULUI DE ACTIVITATE ȘI CRONICITATE

Analiza semi-cantitativă bazată pe aplicarea S_CR și S_TI și, respectiv, a indexurilor de activitate și cronicitate a condus la obținerea unui tablou integrat și comparativ, în același timp, al gradului de severitate a modificărilor histopatologice care caracterizează fiecare caz în parte.

Rezultatele individuale obținute au fost raportate la fiecare clasă și subclasă de diagnostic a nefritei lupice.

4.4.6. CORELAȚII CLINICO-MORFOLOGICE ÎN NEFRITA LUPICĂ. VARIABILITATEA SCORURILOR DE LEZIUNE CORPUSCULARĂ ȘI TUBULO-INTERSTIȚIALĂ, ȘI A INDEXURILOR DE ACTIVITATE ȘI CRONICITATE, ÎN RAPORT DE CLASELE DE DIAGNOSTIC

Pentru pacienții incluși în lotul studiat am analizat, în paralel cu profilul histopatologic, principalele caracteristici demografice și clinico-paraclinice, care fundamentează tabloul nefritei lupice.

Analiza statistică de tip comparații multiple ANOVA realizată, considerând clasa V compactă (clasa V asociată cu clasa IV), a evidențiat prezența de diferențe semnificative statistic între clasele diagnostice de nefrită lupică pentru valorile creatininei ($p = 0,001$), RFG (CKD-EPI) ($p = 0,046$), trigliceridelor ($p = 0,016$) și fracțiunii C3 a complementului ($p = 0,031$) (Tabel 4.8.).

Rezultate similare au fost obținute în evaluarea de tip comparații multiple care a inclus, separat, clasa de diagnostic V și clasa de diagnostic V+IV, cu diferențe semnificative statistic între clasele diagnostice de nefrită lupică considerate, pentru valorile creatininei ($p = 0,003$), RFG (CKD-EPI) ($p = 0,066$), trigliceridelor ($p = 0,036$) și fracțiunii C3 a complementului ($p = 0,024$) (Tabel 4.9.).

Tabel 4.8. Caracteristici demografice și paraclinice raportate la clasele de diagnostic ale nefritei lupice – evaluare 1

PARAMETRI	TOTAL (N=53)	CLASA II+III (N=6)	CLASA IV (N=19)	CLASA V (N=22)	CLASA VI (N=6)	p*
Vârstă (ani)	35±13	32±9	38±16	35±12	31±11	0,619
Uree (mg%)	89,89±69,66	41,75±14,59	88,5±78,79	95,33±72,3	110±44,99	0,495
Creatinină (mg%)	1,69±1,79	1,03±0,77	1,2±0,78	1,54±1,36	4,45±3,56	0,001
RFG (ml/min)	68,18±40,84	75,01±41,45	72,98±36,24	74,1±43,87	24,44±14,75	0,046
Colesterol (mg%)	230,67±79,61	204,2±48,68	239,08±59,06	243,05±97,55	174,5±50,24	0,376
Trigliceride (mg%)	199,44±76,13	141±20,45	195,54±58,28	231,84±85,68	131,25±21,7	0,016
Proteinurie 24 (g/24h)	15,53±46,97	1,7±1,94	5,43±5,9	30,08±72,33	12,45±19,6	0,458
Raport proteine/creatinină	4,9±4,75	2,86±1,27	5,55±4,57	5,48±5,38	1,45±1,3	0,372
Hemoglobină (g%)	10,15±2,22	12,03±1,47	10,25±2,23	9,84±2,09	9,6±3	0,317
Leucocite (mm ³)	7246,07±4719,9	5023,5±2303,9	8659,4±5635,5	6434,7±3746,7	7626,1±6157,6	0,392
Trombocite (mm ³)	239100±114678,1	247500±108445,07	246647±141811,03	217080,9±93667,4	299200±103608,4	0,537
VSH (mm/2h)	68,27±41,06	51,8±29,84	58,81±39,29	82,3±38,71	56,5±62,47	0,232
Anticorpi anti-ADNdc	209,49±157,01	118,88±134,38	223,77±129,52	249,98±177,47	117,2±123,8	0,197
Anticorpi anti-fosfolipidici	16,17±10,36	12,88±10,84	22,3±12,75	14,28±8,26	0±0	0,398
C3	62,23±26,78	80,25±35,56	54,27±19,73	55,95±21,02	91,25±36,85	0,031

*ANOVA

Tabel 4.9. Caracteristici demografice și paraclinice raportate la clasele de diagnostic ale nefritei lupice – evaluare 2

PARAMETRI	Total (N=53)	Clasa II+III (N=6)	Clasa IV (N=19)	Clasa V (N=14)	Clasa V+IV (N=8)	Clasa VI (N=6)	p*
Vârstă (ani)	35±13	32±9	38±16	37±11	32±12	31±11	0,653
Uree (mg%)	89,89±69,66	41,75±14,59	88,5±78,79	69±56,38	138,12±78,14	110±44,99	0,113
Creatinină (mg%)	1,69±1,79	1,03±0,77	1,2±0,78	1,38±1,39	1,83±1,34	4,45±3,56	0,003
RFG (ml/min)	68,18±40,84	75,01±41,45	72,98±36,24	79,97±42,65	63,83±46,98	24,44±14,75	0,066
Colesterol (mg%)	230,67±79,61	204,2±48,68	239,08±59,06	259,23±107,8	213±72,62	174,5±50,24	0,327
Trigliceride (mg%)	199,44±76,13	141±20,45	195,54±58,28	235,17±91,75	226,14±80,81	131,25±21,7	0,036
Proteinurie 24h (g/24h)	15,53±46,97	1,7±1,94	5,43±5,9	39,15±82,3	2,89±2	12,45±19,6	0,357
Raport proteine /creatinină	4,9±4,75	2,86±1,27	5,55±4,57	6,05±6,28	4,43±3,31	1,45±1,3	0,459
Hemoglobină (g%)	10,15±2,22	12,03±1,47	10,25±2,23	10,42±2,26	8,91±1,46	9,6±3	0,211
Leucocite (mm ³)	7246±4719,9	5023,5±2303,9	8659,4±5635,5	6896,9±3912	5683,8±3582,2	7626,1±6157,6	0,51
Trombocite (mm ³)	239100±114678,1	247500±108445	246647±141811	248384,6±86028,6	166212,5±87195	299200±103608,4	0,317
VSH (mm/2h)	68,27±41,06	51,8±29,84	58,81±39,29	70,85±37,37	103,57±33,75	56,5±62,47	0,119
Anticorpi anti-ADNdc	209,49±157,01	118,88±134,38	223,77±129,52	190,9±165,71	342,7±164,42	117,2±123,8	0,06
Anticorpi anti-fosfolipidici	16,17±10,36	12,88±10,84	22,3±12,75	14,9±10,59	13,05±0,07	0±0	0,616
C3	62,23±26,78	80,25±35,56	54,27±19,73	63,22±19,32	43,83±19,29	91,25±36,85	0,024

*ANOVA

Analiza statistică comparativă tip ANOVA a valorilor medii ale S_CR și, respectiv, S_TI, precum și ale I_A și I_C, în varianta de evaluare a clasei V compactă, a evidențiat diferențe semnificative statistic între clasele diagnostice de nefrită lupică pentru S_CR ($p < 0,001$), S_TI ($p < 0,001$) și I_A ($p = 0,001$). Nu au fost obținute diferențe semnificative statistic pentru I_C (Tabel 4.10.).

Pe de altă parte, în condițiile în care am considerat clasa V separată – respectiv clasa V și clasa V+IV, am obținut diferențe semnificative statistic între toate clasele diagnostice de nefrită lupică, pentru toate cele 4 instrumente de evaluare semi-cantitativă – inclusiv pentru I_C ($p < 0,001$, $p = 0,022$) (Tabel 4.11.).

Tabel 4.10. Instrumente de evaluare semi-cantitativă raportate la clasele de diagnostic ale nefritei lupice – evaluare 1

EVALUARE SEMI-CANTITATIVĂ	CLASA II+III (N=6)	CLASA IV (N=19)	CLASA V (N=22)	CLASA VI (N=6)	TOTAL (N=53)	p*
S_CR	6,5±2,51	14,21±3,28	14,18±6,69	21±0,63	14,09±5,88	<0,001
S_TI	2,67±2,42	5,21±2,42	5,68±3,96	11,33±1,75	5,81±3,74	<0,001
I_A	6±4,65	13,58±4,4	15,27±8,17	5,5±3,99	12,51±7,18	0,001
I_C	6±4,65	6,63±2,93	6±4,44	10,5±1,64	6,74±3,9	0,081

*ANOVA

Tabel 4.11. Instrumente de evaluare semi-cantitativă raportate la clasele de diagnostic ale nefritei lupice – evaluare 2

EVALUARE SEMI-CANTITATIVĂ	CLASA II+III (N=6)	CLASA IV (N=19)	CLASA V (N=14)	CLASA V+IV (N=8)	CLASA VI (N=6)	TOTAL (N=53)	p*
S_CR	6,5±2,51	14,21±3,28	10,93±5,14	19,88±5,19	21±0,63	14,09±5,88	<0,001
S_TI	2,67±2,42	5,21±2,42	4,5±4	7,75±3,11	11,33±1,75	5,81±3,74	<0,001
I_A	6±4,65	13,58±4,4	12±8,07	21±4,54	5,5±3,99	12,51±7,18	<0,001
I_C	6±4,65	6,63±2,93	4,71±4,66	8,25±3,11	10,5±1,64	6,74±3,9	0,022

*ANOVA

Pentru rafinarea înțelegerii modului în care instrumentele propuse prin prezentul studiu doctoral (S_CR, S_TI) precum și instrumentele clasice (I_A, I_C) sunt eficiente în evaluarea semi-cantitativă a leziunilor lupice, am analizat statistic relația dintre valorile de scor / index stabilite pentru o clasă diagnostică și valorile de scor / index ale fiecăreia dintre celelalte clase diagnostice. Rezultatele obținute au diferit în funcție de încadrarea cazurilor în clasa V, în alternativa de evaluare 1, compactă (toate cazurile diagnosticate în clasă V și în clasă V+IV) (Tabel 4.12), și în alternativa de evaluare 2, cu separarea clasei V de clasa V+IV (Tabel 4.13). Excepție de la aceste diferențe a făcut indexul de cronicitate, pentru care nu s-au înregistrat diferențe semnificative statistic.

Tabel 4.12. Diferențe semnificative statistic ($p < 0,05$, ANOVA – comparație între grupuri) între S_CR, S_TI, I_A, I_C, în funcție de clasa nefropatiei lupice – evaluare 1

DIFERENȚE SEMNIFICATIVE	CLASA II+III	CLASA IV	CLASA V TOTAL	CLASA VI
S_CR	IV, V, VI	II+III, VI	II+III, VI	II+III, IV, V
S_TI	VI	VI	VI	II+III, IV, V
I_A	V	NU	II+III, VI	V
I_C	NU	NU	NU	NU

Tabel 4.13. Diferențe semnificative statistic ($p < 0,05$, ANOVA – comparație între grupuri) între S_CR, S_TI, I_A, I_C, în funcție de clasa nefropatiei lupice – evaluare 2

DIFERENȚE SEMNIFICATIVE	CLASA II+III	CLASA IV	CLASA V	CLASA V+IV	CLASA VI
S_CR	IV, V+IV, VI	II+III, V+IV, VI	V+IV, VI	II+III, IV, V	II+III, IV, V
S_TI	V+IV, VI	VI	VI	II+III	II+III, IV, V
I_A	V+IV	V+IV, VI	V+IV	II+III, IV, V, VI	IV, V+IV
I_C	NU	NU	VI	NU	V

4.4.7. CORELAȚII CLINICO-MORFOLOGICE ÎN NEFRITA LUPICĂ. PUTEREA PREDICTIVĂ A LEZIUNILOR HISTOLOGICE ÎN RAPORT DE PARAMETRII CLINICO-BIOLOGICI

Aplicarea analizei ROC pentru S_CR și S_TI, respectiv I_A și I_C și parametrii clinico-paraclinici considerați relevanți pentru afectarea renală specifică nefritei lupice a permis *studiul valorii predictive a acestor instrumente semi-cantitative, în sensul puterii lor predictive pentru severitatea afectării renale la momentul evaluării prin puncție-biopsie renală.*

Consecutiv, curbele ROC construite și evaluarea ariei de sub curbă au relevat:

- o bună predicție pentru o RFG < 60 ml/min (pragul de diagnostic clinic a bolii renale cronice stadiul III) la adresare (AUC 0,732, $p=0,004$) în raport de S_TI (fig. 4.17.);
- o bună predicție pentru o RFG < 30 ml/min la adresare (pragul de diagnostic clinic a bolii renale cronice stadiul IV), oferită de S_CR (AUC 0,740, $p=0,015$), S_TI (AUC 0,763 $p=0,008$), și I_C (0,763 $p=0,008$) (fig. 4.18.);
- absența puterii de predicție pentru o proteinurie $> 3,5$ g/24h (proteinurie de rang nefrotic) la adresare sau în momentul puncției-biopsie renală, în raport de ambele scoruri (AUC 0,491, $p=0,915$, respectiv AUC 0,528, $p=0,722$) și ambele indexuri (AUC 0,511, $p=0,887$, respectiv AUC 0,452, $p=0,545$) (fig. 4.19.).

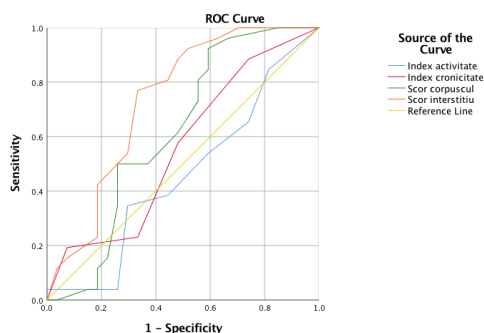


Fig. 4.17. Curba ROC pentru RFG < 60 ml/min la adresare

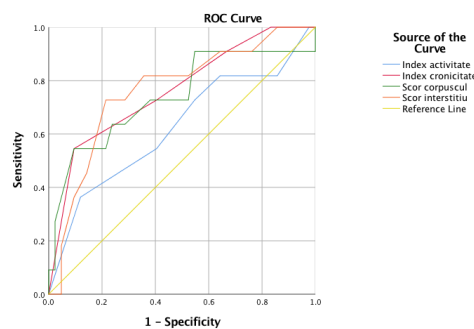


Fig. 4.18. Curba ROC pentru RFG < 30 ml/min la adresare

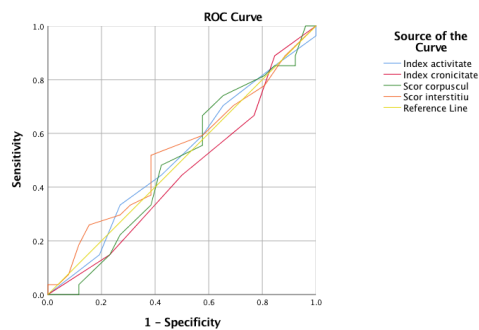


Fig. 4.19. Curba ROC pentru proteinurie > 3,5g/24h

4.4.8. CORELAȚII CLINICO-MORFOLOGICE ÎN NEFRITA LUPICĂ. PUTEREA PREDICTIVĂ A PARAMETRILOR CLINICO-BIOLOGICI ÎN RAPORT DE LEZIUNILE HISTOLOGICE

Rezultatele obținute în analiza puterii predictive a leziunilor histologice în relație cu parametrii clinico-biologici au condus la formularea unui punct de vedere care aduce în prim plan tabloul clinic al pacientului. Consecutiv, am analizat *valoarea predictivă a unor parametri paraclinici la adresare – ca reflexie a mecanismului patogenic și modificărilor morfologice consecutive.*

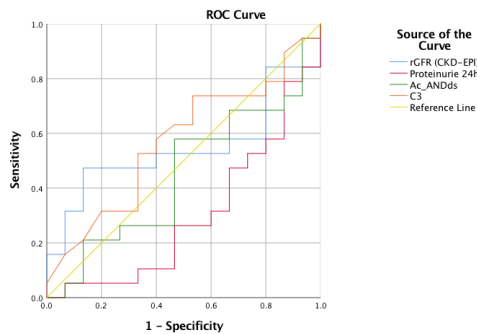


Fig. 4.20. Curba ROC: S_CR peste mediană ca predictor pentru RFG, proteinurie/24h, anticorpi anti-ADNdc și C3

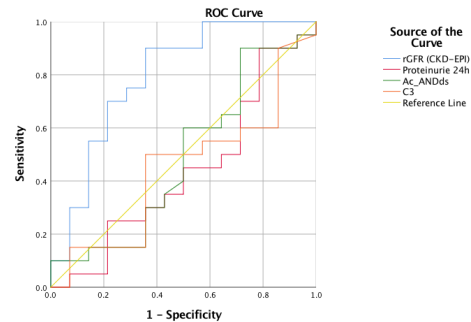


Fig. 4.21. Curba ROC: S_TI peste mediană ca predictor pentru RFG, proteinurie/24h, anticorpi anti-ADNdc și C3

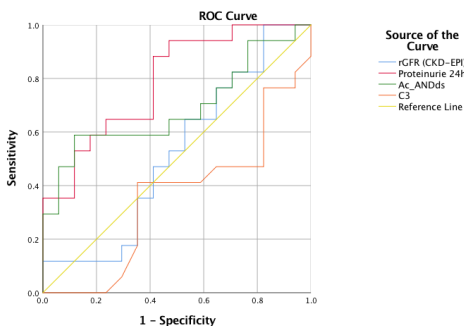


Fig. 4.22. Curba ROC: I_A peste mediană ca predictor pentru RFG, proteinurie/24h, anticorpi anti-ADNdc și C3

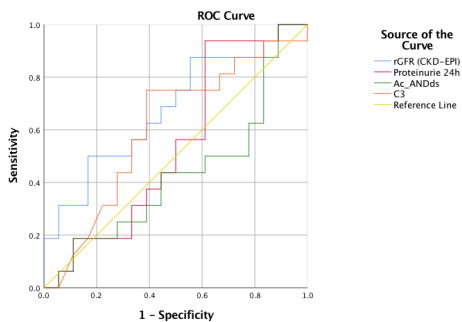


Fig. 4.23. Curba ROC: I_C peste mediană ca predictor pentru RFG, proteinurie/24h, anticorpi anti-ADNdc și C3

Curba ROC construită și evaluarea ariei de sub curbă pentru RFG, proteinurie, anticorpi anti-ADNdc și C3, în predicția unui S_CR peste mediană la adresare, a ilustrat o slabă predicție pentru toți parametrii paraclinici analizați (Fig. 4.20.).

Curba ROC construită și evaluarea ariei de sub curbă pentru RFG, proteinurie, anticorpi anti-ADNdc și C3, în predicția unui S_TI peste mediană la adresare a ilustrat o bună predicție pentru RFG (AUC 0,793, $p=0,004$) (Fig. 4.21.).

Curba ROC construită și evaluarea ariei de sub curbă pentru RFG, proteinurie, anticorpi anti-

ADNdc și C3, în predicția unui I_A peste mediană la adresare a ilustrat o bună predicție pentru proteinuria/24h (AUC 0,789, $p=0,004$) (Fig. 4.22.).

Curba ROC construită și evaluarea ariei de sub curbă pentru RFG, proteinurie, anticorpi anti-ADNdc și C3, în predicția unui I_C peste mediană la adresare a ilustrat o slabă predicție pentru toți parametrii paraclinici analizați (Fig. 4.23.).

4.5. DISCUȚII

4.5.1. VALOAREA PUNȚIEI-BIOPSIE RENALĂ – REPERE ISTORICE ȘI TENDINȚE MODERNE

Scurta incursiune în istoricul acestei tehnici susține valoarea sa, accentuată prin asocierea cu progresele înregistrate în histopatologie, imunologie, imunopatologie, biochimie și genetică și prin integrarea obligatorie în contextul clinic al pacientului. Perspectiva moleculară și genetică aduce plusvaloare în diagnostic, în principal în patologia renală ereditară (Reeve et al., 2009). Cu toate acestea, examenul histopatologic reprezintă placa turnantă în încadrarea bolilor renale, oferind reperele majore pentru substratul morfologic și patogenetic.

4.5.2. VALOAREA EVALUĂRII CALITATIVE ȘI SEMI-CANTITATIVE A MODIFICĂRIILOR MORFOLOGICE DIN NEFRITA LUPICĂ

4.5.2.1. Repere în evoluția cuantificării leziunilor morfologice renale

Clasificarea ISN/RPS include elemente de diferențiere între statusul activ și cronic, bazate pe morfologia corpusculului renal (Weening et al., 2004a, Weening et al., 2004b). În paralel, raportarea indexurilor de activitate și cronicitate (Austin et al., 1983), ca indicatori ai potențialului de reversibilitate sau ireversibilitate a leziunilor, oferă informații suplimentare asupra relației dintre substratul lezional și răspunsul terapeutic diferențiat (Wang et al., 2012).

4.5.2.2. Revizuirea Clasificării ISP/RPS – principii de lucru, progrese, limite, perspective, raportare la rezultatele personale

Trecerea în revistă a literaturii de specialitate axată asupra nefritei lupice relevă o variabilitate ridicată în interpretarea și raportarea leziunilor care conduc la clasificare, rata de consens interobservatori fiind scăzută datorită neconcordanțelor existente în Clasificarea ISP/RPS (Weening et al., 2004a, Weening et al., 2004b). Pornind de la această realitate, în 2016 un grup de experți în patologia nefritei lupice a inițiat revizuirea Clasificării ISP/RPS, urmărind propunerea unei clasificări actualizate, cu un grad mai ridicat de aplicabilitate și reproductibilitate (Bajema et al., 2018). Obiectivul urmărit a constat în realizarea unui consens pentru definirea leziunilor prezente în nefrita lupică (Bajema et al., 2018). Ca metodologie de lucru, grupul de experți a decis formularea a două tipuri de recomandări. *Recomandările de fază 1*, implementabile, au vizat elementele morfologice care au putut fi clarificate și definite precis, prin consensul participanților la reuniune. *Recomandările de fază 2* sunt recomandări de perspectivă, care vizează leziuni încă discutabile ca interpretare, pentru care sunt încă necesare evaluări bazate pe dovezi.

În conformitate cu articolul publicat în Kidney International în 2018 (Bajema et al., 2018) prezenta cercetare doctorală se încadrează într-un cadru de maximă actualitate. Ideea de la care am pornit în studiul doctoral a fost de a rafina nivelul de interpretare a leziunilor identificate, pentru a le putea corela cu intensitatea bolii. Astfel, algoritmul nostru de evaluare, construit înainte de publicarea articolului, precum și rezultatele noastre susțin valoarea studiului realizat.

4.5.3. RELEVANȚA CORELAȚIILOR CLINICO-PATOLOGICE ÎN NEFRITA LUPICĂ. VALOAREA PREDICTIVĂ A SCORURILOR DE LEZIUNE CORPUSCULARĂ ȘI TUBULO-INTERSTITIALĂ, ȘI A INDEXURILOR DE ACTIVITATE ȘI CRONICITATE

Trecerea în revistă a literaturii de specialitate relevă preocuparea de a stabili corelații între tabloul clinic al nefritei lupice și substratul histopatologic lezional prezent la nivelul corpusculilor renali și a componentei interstițiale, cu repercute în capacitatea de a anticipa evoluția și prognosticul (Schwartz et al., 2008). Cu toate că studiile dedicate acestui subiect nu sunt foarte numeroase, ele susțin valoarea predictivă pentru anumiți parametri histopatologici, în corespondență cu încadrarea clinică. Dificultatea acestui demers rezultă însă dintr-o multitudine de factori care includ: diferențele mari între design-ul studiilor (inclusiv prin caracteristicile populației studiate, dimensiunile loturilor, criteriile de selecție, clasa sau clasele de diagnostic analizate, parametrii clinici, paraclinici și morfologici

investigați), variabilitatea interobservatori în evaluarea modificărilor histopatologice, modificările survenite în clasificarea nefritei lupice (Singh et al., 2011).

Pornind de la datele prezente în fluxul principal, studiul nostru se individualizează prin două elemente. Primul element este reprezentat de abordarea diferențiată, în analiză, a clasei V de nefrită lupică. Astfel, pentru a putea aprecia valoarea încadrării diagnostice clasă versus subclasă, am considerat clasa V fără subclase (la care ne vom referi în continuare ca și clasa V compactă), și respectiv clasa V în varianta celor două subclase (la care ne vom referi în continuare ca și clasa V separată). Al doilea element, cu caracter de originalitate, este constituit de raportarea la cele două scoruri propuse – S_{CR} și S_{TI} , suplimentar sistemului clasic de evaluare semi-cantitativă care include I_A și I_C .

Rezultatele noastre relevă diferențe semnificative statistic între clasele de nefrită lupică și creatinina serică, RFG (CKD-EPI), trigliceride și fracțiunea C3 a complementului, în ambele variante de analiză statistică, ce au inclus clasa V compactă și clasa V separată.

Datele noastre au evidențiat un tabloul diferit al leziunilor corpusculare și tubulo-interstițiale, precum și al statusului de activitate și cronicitate, în clasa V compactă și clasa V separată. Cu toate acestea, în raport de parametrii paraclini, biologici, studiul doctoral indică un comportament similar al subclaselor încadrate în clasa V de nefrită lupică. Această constatare este un argument în favoarea propunerii de renunțare la diagnosticul de subclase în nefrita lupică (Hill et al., 2005, Sada et al., 2009, Haring et al., 2012), motivată de absența relevanței subclaselor în raport de prognostic (Hill et al., 2005, Sada et al., 2009, Haring et al., 2012, Satish et al., 2017).

Studiul doctoral aduce dovezi solide, suplimentare, în favoarea valorii evaluării substratului patologic al leziunilor specific nefritei lupice, modificările identificate având valoare predictivă. Rezultatele noastre completează datele din literatură comentate anterior, conform cărora indexul de activitate și indexul de cronicitate oferă informații consistente pentru aprecierea evoluției și prognosticului (Jacobsen et al., 1999, Bihl et al., 2006, Shariati-Sarabi et al., 2013, Satish et al., 2017, Wilson et al., 2018); infiltratul interstițial (Park et al., 1986, Esdaile et al., 1989, Hill et al., 2000, Hsieh et al., 2011, Wilson et al., 2018) este considerat factor independent de prognostic, iar fibroza interstițială și atrofia tubulară - factori predictivi semnificativi pentru supraviețuirea renală (Wilson et al., 2018).

Spre deosebire de unul dintre primele studii care analizează relevanța prognostică a leziunilor histopatologice în nefrita lupică, și care confirmă valoarea predictivă doar pentru I_C (Esdaile et al., 1989), datele noastre relevă semnificația analitică în aprecierea evoluției pentru toate cele 4 instrumente de evaluare semi-cantitativă – două clasice (I_A , I_C) și două originale (S_{CR} , S_{TI}). Merită de comentat, de asemenea, că valorile medii obținute de noi au fost mai mari decât cele raportate în literatură – I_A $12,51 \pm 7,18$ versus $5,48 \pm 4,138$ (Satish et al., 2017), I_C $6,74 \pm 3,9$ versus $1,52 \pm 2,374$ (Satish et al., 2017), ceea ce relevă, o dată în plus, variabilitatea interobservatori în evaluarea leziunilor de nefrită lupică, precum și heterogenitatea leziunilor.

În studiul nostru, corelațiile dintre clasele diagnostice și instrumentele de evaluare semi-cantitativă a leziunilor prezente au evidențiat nu numai caracterul evolutiv al leziunilor, dar și valoarea separării clasei V în subclase. Aceste rezultate constituie un argument pentru existența celor două subclase de diagnostic diferite în cadrul clasei V de nefrită lupică, respectiv nefrita lupică membranoasă (clasa V) și nefrita lupică membranoasă asociată cu nefrita lupică focală sau difuză (clasa III / IV), contrar propunerii de renunțare la diagnosticul de subclase motivată – așa cum am menționat anterior – de date care indică absența relevanței prognostice (Hill et al., 2005, Sada et al., 2009, Haring et al., 2012, Satish et al., 2017). Rezultatele obținute de noi oferă însă o perspectivă diferită asupra diferențelor histopatologice care reflectă leziuni de intensitate diferită. Consecutiv, evaluarea histologică, calitativă și semi-cantitativă, furnizează clinicianului acces la o informație rafinată, a cărei aplicabilitate în evaluarea prognostică nu este de neglijat.

Tabloul histopatologic permite o analiză axată asupra mecanismului patogenetic al nefritei lupice. Semnificația morfologică este amplificată la nivelul fiecărei entități diagnostic, deoarece leziunile renale identificate fundamentează secvența fiziopatologică, în succesiunea: (i) formare de complexe antigen-anticorp; (ii) leziune renală obiectivată morfologic. Intensitatea răspunsului imun specific nefritei lupice se corelează direct cu severitatea leziunilor prezente microscopic. Încadrarea diagnostică în clasa V trebuie analizată în raport cu două mecanisme patologice diferite. Clasa V definită ca glomerulonefrită membranoasă pură este caracterizată prin prezența complexelor imune în spațiul subepitelial, la distanță

de spațiul vascular – situație în care activarea sistemului complement pe cale clasică nu se finalizează cu influx de celule inflamatorii; consecutiv, leziunile sunt localizate la nivelul membranei bazale glomerulare. Pe de altă parte, clasa V include categoria de diagnostic glomerulonefrită membranoasă asociată cu glomerulopatie proliferativă difuză – clasa V+IV. Aceste cazuri reflectă un mecanism patogenetic care include localizarea depozitelor imune subepitelial, cu afectarea funcției membranei bazale glomerulare și a podocitelor (specifică pentru clasa V), dar și localizarea depozitelor imune subendotelial și mezangial, cu consecință în proliferare celulară (specifică pentru clasa IV). *Consecutiv, diferențele semnificative statistic înregistrate în analiza relației dintre valorile de scor / index stabilite pentru o clasă diagnostică și valorile de scor / index ale fiecăreia dintre celelalte clase diagnostice, în funcție de încadrarea cazurilor în clasa V compactă (clasa V și clasa V+IV) și respectiv clasa V separată (clasa V versus clasa V+IV) pot fi explicate în contextul fiziopatologic care fundamentează instalarea și dezvoltarea leziunilor morfologice.*

Unul dintre obiectivele majore ale studiului doctoral a vizat potențialul predictiv al tabloului clinico-morfologic prezent în nefrita lupică.

Analiza noastră demonstrează valoarea predictivă a leziunilor histologice, traduse prin valorile scorurilor și indexurilor, astfel: S_TI – pentru predicția unei RFG < 60 ml/min, ca indicator pentru boala renală cronică stadiul III la adresare; S_CR, S_TI, I_C – pentru predicția unei RFG < 30 ml/min la adresare, ca indicator pentru boala renală cronică stadiul IV la adresare. Nici unul dintre cele două scoruri și două indexuri nu au indicat o putere de predicție pentru o proteinurie de rang nefrotic (> 3,5g/24h) la adresare. Pe de altă parte, analiza noastră susține valoarea predictivă a unor parametri clinici, astfel: RFG – pentru predicția unui S_TI peste mediană; proteinuria - pentru predicția unui I_A.

Nu în ultimul rând, subliniem faptul că literatura de specialitate recentă indică neconcordanțe între tabloul clinic și tabloul histologic al nefritei lupice, în principal formele proliferative (Malvar et al., 2017). Consecutiv, aprecierea prognosticului și decizia terapeutică trebuie să se bazeze pe o evaluare complexă, integrată, a tabloului clinico-morfologic. În acest context, informația histopatologică furnizată de instrumentele semi-cantitative propuse (S_CR, S_TI) și operaționale în practica nefropatologică (indexul de activitate, indexul de cronicitate) are o semnificație marcată, oferind repere concrete pentru construirea unui plan de monitorizare personalizat.

În sinteză, originalitatea studiului nostru constă în propunerea unui fenotip paraclinic-histologic de gravitate care poate caracteriza nefrita lupică. Acest fenotip include două categorii de criterii:

- (i) *histologic, S_TI, ale cărui valori pot indica boala renală cronică stadiul III sau stadiul IV la adresare, alături de S_CR și I_C, ale căror valori pot indica boala renală cronică stadiul IV la adresare;*
- (ii) *clinic, RFG, ale cărei valori pot indica un S_TI peste mediană, și proteinuria ale cărei valori pot indica un I_A peste mediană.*

CAPITOLUL 5

POPULAȚII LIMFOCITARE ÎN NEFRITA LUPICĂ: ÎNTRE PATOGENIE ȘI FACTORI PROGNOSTICI

5.1. INTRODUCERE

Imunologic, nefrita lupică este considerată prototip pentru patologia autoimună caracteristică bolilor cronice datorate depunerii de complexe imune, cu activarea consecutivă a complementului pe cale clasică și alternativă (Wągrowska-Danilewicz, Danilewicz, 2014). Componenta autoimună recunoscută în mecanismul patogenetic implică activitatea anormală a limfocitului B (Ly B), care devine autoreactiv, precum și formarea de limfocite T (Ly T) activate anormale, cu rezultat în producția de autoanticorpi, complexe imune și citokine care determină dezvoltarea unui răspuns inflamator (Choi et al., 2012, Mohan, Putterman, 2015). Secvențele repetitive ale răspunsului inflamator determină evoluția cronică a bolii.

Trecerea în revistă a literaturii de specialitate axată asupra rolului limfocitelor în mecanismul patogenetic al nefritei lupice relevă faptul că studiile vizând profilul populațiilor limfocitare la om sunt limitate, cele mai multe date fiind rezultate din cercetări experimentale. Ly B intervin în patogenia

nefritei lupice prin anomalii de semnalizare și eșecul în toleranța imunologică. Studii pe modele murine au relevat mecanisme anormale de semnalizare prin limfocitele B, calea AKT/mTOR jucând un rol primordial (Wu et al., 2007). Ly T sunt cele mai frecvente celule inflamatorii identificate în leziunile renale atât la pacienții cu LES, cât și la modele experimentale murine de nefrită lupică (D'Agati et al., 1986, Diaz Gallo et al., 1992, Couzi et al., 2007, Deng et al., 2010). Se discută intens despre corelația existentă între compoziția infiltratului inflamator și severitatea afectării tubulo-interstițiale, cu rezultat în progresia leziunilor renale și risc de instalare a insuficienței renale terminale (Alexopoulos et al., 1990, Yu et al., 2010, Hsieh et al., 2011). Ly T prezente în interstițiul renal sunt predominant CD4+, CD28+, fără memorie, și CD8+.

5.2. OBIECTIV

Obiectivul principal al studiului nostru a constat în analiza profilului populației limfocitare T asociat leziunilor de nefrită lupică. Motivația care a determinat definirea acestui obiectiv a fost susținută de faptul că datele referitoare la implicarea Ly T în patogenia nefritei lupice, la subiecți umani, sunt limitate. Obiectivul principal a inclus două obiective secundare, care au vizat:

- caracterizarea calitativă și cantitativă a populației de LyT CD4+ și CD8+ prezente în diferite clase de nefrită lupică, în teritoriile periglomerulare, intraglomerulare și interstițiale;
- corelarea profilului cantitativ al LyT CD4+ și CD8+ cu S_CR, S_TI, I_A și I_C.

5.3. MATERIAL ȘI METODĂ

Pacienți

Lotul de studiu analizat a fost similar cu cel prezentat în Capitolul 5, secțiunea 5.2. Material și metodă – respectiv 53 de pacienți, diagnosticați histopatologic cu nefrită lupică și tratați în cadrul Clinicii de Nefrologie a Spitalului “Dr. C.I. Parhon” Iași, în perioada 2003-2018. În prezentarea și analiza rezultatelor am utilizat aceleași particularități de organizare, detaliate în secțiunea 5.2. Material și metodă. Materialul utilizat a fost reprezentat de blocurile de parafină corespunzătoare fragmentelor de țesut renal prelevate prin puncție-biopsie renală, anterior diagnosticate histopatologic ca nefrită lupică, care au fost prelucrate pentru examen IHC.

Examenul imunohistochimic

Colorația IHC pentru identificarea antigenelor complementare anticorpilor anti-CD4+ și anti-CD8+ (Tabel 5.1.) a fost realizată utilizând sistemul automat de colorare BenchMark XT (Ventana Medical System, Inc., Tucson, AZ).

Evaluarea cantitativă

Pentru evaluarea cantitativă a Ly T CD4+ și CD8+ am utilizat un scor raportat în literatură (Hsieh et al., 2011), adaptat pentru particularitățile histologice ale parenchimului renal. Ly T CD4+ și CD8+ au fost cuantificate în trei teritorii distincte: periglomerular (CD4_PG, CD8_PG), intraglomerular (CD4_IG, CD8_IG) și interstițial (CD4_IT, CD8_IT). Celulele marcate imunohistochimic au fost numărate utilizând o mărire de 400X. Pentru fiecare caz și fiecare teritoriu, rezultatele au fost exprimate ca număr de celule pozitive, imunoreactive, pe milimetru pătrat.

Analiza statistică

Preluarea statistică s-a realizat utilizând programul SPSS17. Valorile numerice s-au exprimat ca medii ± DS. Pentru analiza relației dintre variabilele considerate a fost utilizată corelația Pearson și T-test. Comparațiile între grupuri au fost efectuate utilizând testul non-parametric Mann-Whitney U și analiza multivariată ANOVA.

5.4. REZULTATE

5.4.1. CARACTERISTICI HISTOPATOLOGICE ALE LOTULUI – SINOPSIS RECAPITULATIV

Caracterizarea morfologică a leziunilor, realizată în cadrul studiului doctoral prin evaluarea semi-cantitativă bazată pe S_CR, S_TI, I_A și I_C, a evidențiat următoarele valori medii pentru clasele de nefrită lupică:

- S_CR: evaluare 1: 6,5 pentru clasa II+III, 14,2 pentru clasa IV, 14,18 pentru clasa V (inclusiv V+IV), 21 pentru clasa VI; evaluare 2: 6,5 pentru clasa II+III, 14,2 pentru clasa IV, 10,929 pentru clasa V, 19,875 pentru clasa V+IV, 21 pentru clasa VI.
- S_TI: evaluare 1: 2,66 pentru clasa II+III, 5,21 pentru clasa IV, 5,68 pentru clasa V (inclusiv V+IV),

21 pentru clasa VI; evaluare 2: 2,66 pentru clasa II+III, 5,21 pentru clasa IV, 4,5 pentru clasa V, 7,75 pentru clasa V+IV, 11,33 pentru clasa VI.

- I_A: evaluare 1: 6 pentru clasa II+III, 13,57 pentru clasa IV, 15,27 pentru clasa V (inclusiv V+IV), 5,5 pentru clasa VI; evaluare 2: 6 pentru clasa II+III, 13,57 pentru clasa IV, 12 pentru clasa V, 21 pentru clasa V+IV, 5,5 pentru clasa VI.
- I_C: evaluare 1: 6 pentru clasa II+III, 6,63 pentru clasa IV, 6 pentru clasa V (inclusiv V+IV), 10,5 pentru clasa VI; evaluare 2: 6 pentru clasa II+III, 6,63 pentru clasa IV, 4,71 pentru clasa V, 8,25 pentru clasa V+IV, 10,5 pentru clasa VI.

5.4.2. PROFILUL LIMFOCITELOR T CD4+

Evaluare calitativă

Analiza calitativă a relevat, în raport de corpusculii renali, dispunerea Ly T CD4+ preponderent periglomerular, foarte puține celule fiind prezente intraglomerular, în lumenul capilarelor glomerulare sau în mezangiu; Ly T CD4+ au fost prezente în interstițiu, printre structurile tubulare, cu organizare în general difuză.

Evaluare cantitativă

În ansamblul lotului studiat, numărul mediu de Ly T CD4+ cuantificat a fost de $111 \pm 78,40/\text{mm}^2$ de biopsie renală. În teritoriile diferite considerate în relație cu leziunile lupice, valorile medii cuantificate pentru Ly T CD4+ au relevat predominanța netă a Ly T CD4+ interstițiale ($\text{media}_{IT} = 70,24 \pm 44,87/\text{mm}^2$) versus periglomerulare ($\text{media}_{PG} = 37,69 \pm 39,49/\text{mm}^2$) versus intraglomerulare ($\text{media}_{IG} = 3,05 \pm 3,27/\text{mm}^2$).

În raport de clasele diagnostice de nefrită lupică, am obținut următoarele valori ale numărului mediu de Ly T CD4+:

- Nefrita lupică – clasa II+III (6 cazuri): media Ly T CD4+ a fost $81 \pm 56,56/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $32,67 \pm 10,52/\text{mm}^2$ periglomerular, $1,5 \pm 1,05/\text{mm}^2$ intraglomerular și $59,17 \pm 23,63/\text{mm}^2$ la nivelul interstițiului, ca rezultat al evaluării grupate pentru:
 - Nefrita lupică proliferativă mezangială – clasa II (2 cazuri): media Ly T CD4+ a fost $81 \pm 56,56/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $20,5 \pm 4,94/\text{mm}^2$ periglomerular, $1 \pm 1,41/\text{mm}^2$ intraglomerular și $59,5 \pm 50,20/\text{mm}^2$ la nivelul interstițiului;
 - Nefrita lupică focală – clasa III (4 cazuri): media Ly T CD4+ a fost $99,5 \pm 13,12/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $38,75 \pm 5,31/\text{mm}^2$ periglomerular, $1,75 \pm 0,95/\text{mm}^2$ intraglomerular și $59 \pm 9,48/\text{mm}^2$ la nivelul interstițiului;
- Nefrita lupică difuză – clasa IV (19 cazuri, din care 3 cazuri IV-S și 16 cazuri IV-G): media Ly T CD4+ a fost $110,05 \pm 42,37/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $33,31 \pm 13,11/\text{mm}^2$ periglomerular, doar $3,15 \pm 3,60/\text{mm}^2$ intraglomerular și $73,57 \pm 35,25/\text{mm}^2$ la nivelul interstițiului; valorile numerice medii ale Ly T CD4+ au fost foarte apropiate în cele două subclase diagnostice, respectiv $113 \pm 44,69/\text{mm}^2$ în clasa IV-G vs $94,33 \pm 27,06/\text{mm}^2$ în clasa IV-S;
- Nefrita lupică membranoasă – clasa V, clasa V+IV (22 cazuri): media Ly T CD4+ a fost $90,31 \pm 40,83/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $30,77 \pm 14,7/\text{mm}^2$ periglomerular, doar $3,77 \pm 3,58/\text{mm}^2$ intraglomerular și $55,77 \pm 25,55/\text{mm}^2$ la nivelul interstițiului, ca rezultat al evaluării grupate pentru:
 - Nefrita lupică membranoasă – clasa V (14 cazuri): media Ly CD4+ a fost $77,5 \pm 41,18/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $24,92 \pm 12,79/\text{mm}^2$ periglomerular, $2,57 \pm 2,92/\text{mm}^2$ intraglomerular și $50 \pm 28,35/\text{mm}^2$ interstițial;
 - Nefrita lupică membranoasă – clasa V asociată cu Nefrita lupică difuză – clasa IV (8 cazuri): media Ly CD4+ a fost $112,75 \pm 29,01/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $41 \pm 12,50/\text{mm}^2$ periglomerular, $5,87 \pm 3,83/\text{mm}^2$ intraglomerular și $65,87 \pm 16,78/\text{mm}^2$ la nivelul interstițiului.
- Nefrita lupică sclerotică avansată – clasa VI (6 cazuri): media Ly T CD4+ a fost $207,5 \pm 190,63/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $82 \pm 109,15/\text{mm}^2$ periglomerular, doar $1,67 \pm 1,51/\text{mm}^2$ intraglomerular și $123,83 \pm 92,79/\text{mm}^2$ la nivelul interstițiului.

Corelații clinico-patologice

În evaluarea generală a întregului lot investigat, considerând valorile obținute pentru toate cele 53 de cazuri analizate în cuantificarea la nivelul celor trei teritorii relevante, analiza statistică (test Mann-Whitney) a relevat diferențele semnificative statistic între Ly T CD4+ situate intra-, periglomerular și interstițial ($p < 0,0001$).

Analiza statistică a profilului cantitativ al Ly T CD4+ (t-test) între clasele de diagnostic comparate în dinamica clasificării care reflectă severitatea leziunilor (clasa II *versus* clasa III, clasa III *versus* clasa IV, clasa IV *versus* clasa V, clasa V *versus* clasa V+IV, clasa V *versus* clasa VI), pentru fiecare dintre cele 3 teritorii de interes, a evidențiat următoarele diferențe semnificative statistic (Tabel 5.5.):

- între Ly T CD4+ periglomerulare ($p = 0,0156$), în clasa II *versus* clasa III;
- între Ly T CD4+ interstițiale ($p = 0,0482$), în clasa IV *versus* clasa V;
- între Ly T CD4+ periglomerulare ($p = 0,0097$) și intraglomerulare ($p = 0,0338$), în clasa V *versus* clasa V+IV;
- între Ly T CD4+ interstițiale ($p = 0,0610$), în clasa V *versus* clasa VI.

Am notat absența diferențelor semnificative statistic între Ly T CD4+ cuantificate în clasa III *versus* clasa IV, și clasa IV-G *versus* clasa IV-S, în teritoriul periglomerular, intraglomerular și interstițial.

Tabelul 5.5. Diferențe semnificative statistic în profilul cantitativ al limfocitelor T CD4+, în raport de clasa diagnostică și teritoriile relevante

CLASA DIAGNOSTICĂ (t test)	LIMFOCITE T CD4+/mm ²		
	PG	IG	IT
II vs III	$p = 0,0156$	$p = 0,4689$	$p = 0,9836$
III vs IV	$p = 0,4305$	$p = 0,4562$	$p = 0,4289$
IV vs V	$p = 0,0760$	$p = 0,6246$	$p = 0,0486$
V vs V+IV	$p = 0,0097$	$p = 0,0338$	$p = 0,1162$
V vs VI	$p = 0,0610$	$p = 0,4831$	$p = 0,0125$

În paralel, analiza statistică de tip comparații multiple ANOVA realizată între toate clasele diagnostice, în evaluarea 1 (clasa V compactă – clasa V împreună cu clasa V+IV) și în evaluarea 2 (clasa V separată în clasa V și respectiv clasa V+IV), a evidențiat diferențe semnificative statistic între Ly T CD4+ periglomerulare și interstițiale (Tabel 5.6., Tabel 5.7.).

Tabelul 5.6. Diferențe semnificative statistic în profilul cantitativ al limfocitelor T CD4+, între toate clasele diagnostice și teritoriile considerate – evaluare 1

LIMFOCITE T CD4	Clasa II+III (N=6)	Clasa IV (N=19)	Clasa V total (N=22)	Clasa VI (N=6)	p (ANOVA)
CD4_PG	32,67±10,52	33,32±13,12	30,77±14,7	82±109,15	0,031
CD4_IG	1,5±1,05	3,16±3,61	3,77±3,58	1,67±1,51	0,328
CD4_IT	59,17±23,63	73,58±35,26	55,77±25,55	123,83±92,79	0,007

Tabelul 5.7. Diferențe semnificative statistic în profilul cantitativ al limfocitelor T CD4+, între toate clasele diagnostice și teritoriile considerate – evaluare 2

LIMFOCITE T CD4	Clasa II+III (N=6)	Clasa IV (N=19)	Clasa V pur (N=14)	Clasa V+IV (N=8)	Clasa VI (N=6)	p (ANOVA)
CD4_PG	32,67±10,52	33,32±13,12	24,93±12,8	41±12,5	82±109,15	0,045
CD4_IG	1,5±1,05	3,16±3,61	2,57±2,93	5,88±3,83	1,67±1,51	0,063
CD4_IT	59,17±23,63	73,58±35,26	50±28,35	65,88±16,79	123,83±92,79	0,012

Analiza statistică de corelație Pearson a evidențiat absența corelațiilor semnificative între S_CR și Ly T CD4+ prezente periglomerular ($p = 0,116$, $p = 0,2310$), intraglomerular ($r = 0,221$, $p = 0,1113$) și interstițial ($r = 0,223$, $p = 0,1083$), precum și între S_TI și Ly T CD4+ prezente periglomerular ($r = 0,064$, $p = 0,6443$), intraglomerular ($r = 0,192$, $p = 0,1654$) și interstițial ($r = 0,163$, $p = 0,2404$). Am obținut o corelație semnificativă între I_A și numărul Ly T CD4+ prezente doar în aria intraglomerulară ($r = 0,330$, $p = 0,0173$), rezultatele fiind fără semnificație statistică pentru aria periglomerulară ($r = 0,226$, $p = 0,1030$) și interstițială ($r = 0,085$, $p = 0,5373$). Nu au fost confirmate statistic corelații între I_C și Ly T CD4+ prezente în aria periglomerulară ($r = -0,069$, $p = 0,6177$), intraglomerulară ($r = 0,091$, $p = 0,5101$) și interstițială ($r = -0,035$, $p = 0,7984$).

5.4.3. PROFILUL LIMFOCITELOR T CD8+

Evaluarea calitativă

Evaluarea calitativă a relevat un număr mai mare de Ly T CD8+, comparativ cu populația de Ly T CD4+, cu dispoziție similară: condensare periglomerulară, prezență izolată intraglomerular și aglomerare difuză în interstițiu. Rar, Ly T CD8+ au format structuri nodulare omogene sau cu centru germinativ (noduli limfoizi secundari).

Evaluarea cantitativă

Populația de Ly T CD8+ a reprezentat subșetul de limfocite cel mai bine reprezentat. În ansamblul lotului studiat, numărul mediu de Ly T cuantificat a fost de $578,66 \pm 320,53/\text{mm}^2$ de biopsie renală. În teritoriile diferite evaluate în raport de leziunile lupice, valorile medii cuantificate pentru Ly T CD8+ au evidențiat predominanța marcată a Ly T CD8+ interstițiale ($\text{media}_{IT} = 372 \pm 206/\text{mm}^2$), urmată de un număr semnificativ de Ly T CD8+ periglomerulare ($\text{media}_{PG} = 195 \pm 130/\text{mm}^2$) și un număr relativ redus de Ly T CD8+ intraglomerulare ($\text{media}_{IG} = 11,11 \pm 16,51/\text{mm}^2$).

În analiza cantitativă a cazurilor în raport de clasele diagnostice de nefrită, am obținut următoarele valori ale numărului mediu de Ly T CD8+:

- Nefrita lupică – clasa II+III (6 cazuri): media Ly T CD8+ a fost $195,34 \pm 63,1/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $64 \pm 24,81/\text{mm}^2$ periglomerular, $4,67 \pm 7,63/\text{mm}^2$ intraglomerular și $126,67 \pm 30,66/\text{mm}^2$ la nivelul interstițiului, ca rezultat al evaluării grupate pentru:
 - Nefrita lupică proliferativă mezangială – clasa II (2 cazuri): media Ly T CD8+ a fost $158,5 \pm 23,33/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $65 \pm 15,55/\text{mm}^2$ periglomerular, $1/\text{mm}^2$ intraglomerular, $92,5 \pm 7,77/\text{mm}^2$ interstițial;
 - Nefrita lupică focală – clasa III (4 cazuri): media Ly T CD8+ a fost $140,25 \pm 25,25/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $45,25 \pm 23,38/\text{mm}^2$ periglomerular, $6,5 \pm 9,14/\text{mm}^2$ intraglomerular, $88,5 \pm 8,81/\text{mm}^2$ interstițial;
- Nefrita lupică difuză – clasa IV (19 cazuri, din care 3 cazuri IV-S și 16 cazuri IV-G): media Ly T CD8+ a fost $481,10 \pm 213,11/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $142,52 \pm 73,97/\text{mm}^2$ periglomerular, doar $15,47 \pm 23,09/\text{mm}^2$ intraglomerular și $323,10 \pm 151,26/\text{mm}^2$ la nivelul interstițiului; valorile medii ale Ly T CD8+ au fost foarte apropiate în cele două subclase diagnostice considerate, respectiv $482,31 \pm 222,64/\text{mm}^2$ în clasa IV-G versus $474,66 \pm 192,10/\text{mm}^2$ în clasa IV-S;
- Nefrita lupică membranoasă – clasa V, clasa V+IV (22 cazuri): media Ly CD8+ a fost $90,31 \pm 43,83/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $30,77 \pm 14,7/\text{mm}^2$ periglomerular, doar $3,77 \pm 3,58/\text{mm}^2$ intraglomerular și $55,77 \pm 25,55/\text{mm}^2$ la nivelul interstițiului, ca rezultat al evaluării grupate pentru:
 - Nefrita lupică membranoasă – clasa V (14 cazuri): media Ly CD8+ a fost $608,78 \pm 266,25/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $218,71 \pm 130,31/\text{mm}^2$ periglomerular, $8,07 \pm 15,43/\text{mm}^2$ intraglomerular, $382 \pm 169,05/\text{mm}^2$ interstițial;
 - Nefrita lupică membranoasă – clasa V asociată cu Nefrita lupică difuză – clasa IV (8 cazuri): media Ly CD8+ a fost $1001,75 \pm 142,99/\text{mm}^2$, cu următoarea distribuție: $338,25 \pm 101,44/\text{mm}^2$ periglomerular, $11,37 \pm 5,73/\text{mm}^2$ intraglomerular, $652,12 \pm 88,10/\text{mm}^2$ interstițial;
- Nefrita lupică sclerotică avansată – clasa VI (6 cazuri): media Ly CD8+ a fost $685,5 \pm 358,33/\text{mm}^2$, cu distribuția: $260,83 \pm 148,82/\text{mm}^2$ periglomerular, $10,5 \pm 6,56/\text{mm}^2$ intraglomerular și $414,16 \pm 207,60/\text{mm}^2$ la nivelul interstițiului.

Corelații clinico-patologice

În ansamblul lotului investigat, considerând valorile obținute pentru toate cele 53 de cazuri analizate în cuantificarea realizată în cele trei teritorii relevante, analiza statistică (test Mann-Whitney) a relevat existența diferențelor semnificative statistic între Ly T CD8+ situate intra-, periglomerular și interstițial ($p < 0,0001$).

Analiza statistică comparativă a profilului cantitativ al Ly T CD8+ (t-test) între clasele de diagnostic, conform secvenței de clasificare care indică severitatea leziunilor (clasa II versus clasa III, clasa III versus clasa IV, clasa IV versus clasa V, clasa V versus clasa V+IV, clasa V versus clasa VI), pentru fiecare dintre cele 3 teritorii relevante, a evidențiat următoarele diferențe semnificative statistic (Tabel 5.9.):

- între Ly T CD8+ periglomerulare ($p = 0,0182$) și respectiv intraglomerulare ($p = 0,0062$), în clasa III versus clasa IV;
- între Ly T CD8+ periglomerulare ($p = 0,0411$) și interstițiale ($p = 0,0118$), în clasa IV versus clasa V;

- între Ly T CD8+ periglomerulare ($p = 0,0374$) și interstițiale ($p = 0,0012$), în clasa V *versus* clasa V+IV;

Am înregistrat absența diferențelor semnificative statistic între Ly T CD8+ cuantificate în clasa II *versus* clasa III, clasa IV-G *versus* clasa IV-S, și clasa V *versus* clasa VI, în teritoriul periglomerular, intraglomerular și interstițial.

Tabelul 5.9. Diferențe semnificative statistic în profilul cantitativ al limfocitelor T CD8+, în raport de clasa diagnostică și teritoriile relevante

CLASA DIAGNOSTICĂ	LIMFOCITE T CD8+/mm ²		
	PG	IG	IT
II vs III	$p = 0,3524$	$p = 0,4673$	$p = 0,6182$
III vs IV	$p = 0,0182$	$p = 0,0062$	$p = 0,4598$
IV vs V	$p = 0,0411$	$p = 0,3071$	$p = 0,0118$
V vs V+IV	$p = 0,0374$	$p = 0,5701$	$p = 0,0012$
V vs VI	$p = 0,5327$	$p = 0,7177$	$p = 0,7194$

În paralel, analiza statistică de tip comparații multiple ANOVA realizată între toate clasele diagnostice, în evaluarea 1 (considerând clasa V compactă – clasa V împreună cu clasa V+IV) și în evaluarea 2 (considerând clasa V separată în clasa V și respectiv clasa V+IV), a evidențiat diferențe semnificative statistic între Ly T CD8+ periglomerulare și interstițiale (Tabel 5.10., Tabel 5.11.).

Tabelul 5.10. Diferențe semnificative statistic în profilul cantitativ al limfocitelor T CD8+, între toate clasele diagnostice și teritoriile considerate – evaluare 1

LIMFOCITE T CD8+	Clasa II+III (N=6)	Clasa IV (N=19)	Clasa V total (N=22)	Clasa VI (N=6)	p (ANOVA)
CD8_PG	64±24,81	158,32±91,06	228,91±163,49	260,83±148,83	0,022
CD8_IG	4,67±7,63	15,47±23,09	9,27±12,69	10,5±6,57	0,483
CD8_IT	126,67±30,66	328,37±154,04	421,27±209,96	414,17±207,61	0,006

Tabelul 5.11. Diferențe semnificative statistic în profilul cantitativ al limfocitelor T CD8+, între toate clasele diagnostice și teritoriile considerate – evaluare 2

LIMFOCITE T CD8+	Clasa II+III (N=6)	Clasa IV (N=19)	Clasa V pur (N=14)	Clasa V+IV (N=8)	Clasa VI (N=6)	p (ANOVA)
CD8_PG	64±24,81	158,32±91,06	166,43±161,48	338,25±101,44	260,83±148,83	0,001
CD8_IG	4,67±7,63	15,47±23,09	8,07±15,44	11,38±5,73	10,5±6,57	0,62
CD8_IT	126,67±30,66	328,37±154,04	324,86±175,11	590±155,47	414,17±207,61	<0,001

Analiza statistică de corelație Pearson a indicat corelații semnificative între S_CR și Ly T CD8+ prezente periglomerular ($r = 0,436$, $p = 0,017$), intraglomerular ($r = 0,341$, $p = 0,0140$) și interstițial ($r = 0,508$, $p = 0,0002$), cât și între S_TI și numărul de Ly T CD8+ prezente periglomerular ($r = 0,332$, $p = 0,0166$), intraglomerular ($r = 0,418$, $p = 0,0026$) și interstițial ($r = 0,366$, $p = 0,0083$).

Am obținut, de asemenea, corelații între I_A și Ly CD8+ prezente în aria periglomerulară ($r = 0,276$, $p = 0,0463$), intraglomerulară ($r = 0,312$, $p = 0,0245$) și interstițială ($r = 0,453$, $p = 0,0011$). Nu au fost confirmate statistic corelațiile între I_C și subseturile de Ly T CD8+ prezente în aria periglomerulară ($r = 0,178$, $p = 0,1995$), intraglomerulară ($r = 0,123$, $p = 0,4217$) și interstițială ($r = 0,140$, $p = 0,3125$).

5.4.4. SIMILITUDINI ȘI DIFERENȚE ÎNTRE PROFILULUI LIMFOCITELOR T CD4+ ȘI PROFILUL LIMFOCITELOR T CD8+

Populația de Ly T CD4+ a constituit subsetul de limfocite mult mai slab reprezentat la nivelul biopsiilor renale, comparativ cu Ly T CD8+.

În ansamblul lotului studiat, am înregistrat diferențe semnificative statistic între populația totală de Ly T CD4+ și populația totală de Ly T CD8+, evaluată prin numărul mediu de limfocite/mm² pentru fiecare caz ($p < 0,0001$).

Am obținut, de asemenea, diferențe semnificative statistic ($p < 0,0001$) între Ly T CD4+ și CD8+ prezente la nivel periglomerular ($\text{media}_{\text{CD4+}_{\text{PG}}} = 37,69 \pm 39,49/\text{mm}^2$ versus $\text{media}_{\text{CD8+}_{\text{PG}}} = 195,32 \pm 129,92/\text{mm}^2$), intraglomerular ($\text{media}_{\text{CD4+}_{\text{IG}}} = 3,05 \pm 3,27/\text{mm}^2$ versus $\text{media}_{\text{CD8+}_{\text{IG}}} = 11,11 \pm 16,51/\text{mm}^2$) și interstițial ($\text{media}_{\text{CD4+}_{\text{IT}}} = 70,24 \pm 44,87/\text{mm}^2$ versus $\text{media}_{\text{CD8+}_{\text{IT}}} = 390,15 \pm 271,29/\text{mm}^2$).

Diferențele semnificative statistic CD4+ versus CD8+ ($p < 0,05$) au fost înregistrate, de asemenea, pentru toate cele 3 localizări, la nivelul fiecărei clase de diagnostic, în ambele modalități de evaluare – considerând clasa V compactă (clasa V și clasa V+IV) și respectiv clasa V separată (clasa V, clasa V+IV).

5.5. DISCUȚII

Studiul nostru a analizat profilul populației limfocitare T prezentă în nefrita lupică, urmărind asocierea dintre subclasele de Ly T CD8+ (citotoxice) și CD4+ (helper), în distribuția lor teritorială periglomerulară, intraglomerulară și interstițială, și clasele diagnostice în paralel cu nivelul de activitate și cronicitate al leziunilor.

Datele noastre au evidențiat predominanța netă a Ly T CD8+, cu diferențe semnificative statistic față de Ly T CD4+ la nivel global, periglomerular, intraglomerular și interstițial, în toate clasele de diagnostic. Această constatare este în consens cu teoria imunologică care susține rolul de efector al Ly T CD8+ și cea de inițiator și țintă pentru Ly T CD4+ (Castellino et al., 2006). Mai mult, este demonstrată capacitatea unei populații distincte de Ly T CD4+ de a stimula apariția Ly T CD8+, optimizând astfel răspunsul imun prin capacitatea Ly T CD8+ de a exprima un fenotip citotoxic efector (Castellino et al., 2006). Datele obținute completează numărul limitat de studii publicate în literatura de specialitate, axate asupra rolului limfocitelor în patogenia și evoluția nefritei lupice (Blanco et al., 2005, Couzi et al., 2007).

Cuantificarea Ly T în infiltratul imun-inflamator oferă posibilitatea de analiză a rezultatelor în binomul: relație cu mecanismul patogenic cu accent imun – valoare prognostică.

Diferențele în localizarea periglomerulară, intraglomerulară și interstițială ale Ly T CD8+ și CD4+ identificate susțin capacitatea de influențare particulară a leziunilor glomerulare, pe de o parte, și a leziunilor interstițiale, pe de altă parte. Această observație este în consens cu ipoteza conform căreia leziunile de glomerulonefrită sunt consecința proceselor autoimune sistemice, în timp ce inflamația tubulointerstițială severă este asociată cu procese imunologice locale, *in situ* (Steinmetz et al., 2008, Chang et al., 2011). *În ansamblul lotului studiat, am demonstrat localizarea Ly T în principal la nivel interstițial, cu diferențe semnificative statistic între cele trei tipuri de arii considerate (periglomerular, intraglomerular și interstițial) atât pentru populația Ly T CD8+, cât și CD4+ pozitive.*

Cu referire strictă la corelațiile între dimensiunea populației Ly T CD8+ și, respectiv, CD4+, și clasele diagnostice de nefrită lupică, considerăm de interes comentarea unor particularități care diferențiază clar rolul celor două populații.

Populația Ly T CD8+ diferă semnificativ statistic, la nivel periglomerular și interstițial, între clasele diagnostice de nefrită lupică III, IV, V, V+IV, dar nu și între clasele diagnostice II și III și, respectiv, V și VI. Această constatare susține o accelerare constantă a răspunsului imun care poate influența pe de o parte leziunile glomerulare și, pe de altă parte, leziunile interstițiale, de la clasa III la clasa V. Absența diferențelor semnificative statistic între Ly T CD8+ în clasa II și clasa III poate fi interpretată prin prisma nivelului redus al activității imune citotoxice în stadiile inițiale. În mod contrar, absența diferențelor semnificative statistic între clasa V și clasa VI indică o epuizare a răspunsului imun în evoluție, în asociere cu glomeruloscleroza și fibroza interstițială extinsă care caracterizează stadiul VI al nefritei lupice. Absența diferențelor semnificative statistic între Ly T CD8+ intraglomerulare, între toate clasele diagnostice, este un argument în plus pentru mecanismul patogenic al leziunii glomerulare inițiale, diferit de cel al leziunii interstițiale.

Populația Ly T CD4+ a prezentat, în schimb, o altă dinamică numerică și, consecutiv, putem aprecia un comportament diferit. Absența diferențelor semnificative între clasa III și IV poate indica stabilitatea populației Ly CD4+, după ce a promovat activarea Ly T CD8+. Ly CD4+ se multiplică din nou la nivel interstițial între clasa IV, clasa V și clasa VI, evenimente care pot fi asociate cu accentuarea severității leziunilor interstițiale. Extrem de interesant, prezența diferențelor semnificative statistic între Ly CD4+ periglomerulare și intraglomerulare din clasa V și clasa V+IV poate fi corelată cu evoluția leziunilor glomerulare.

Conform datelor din literatura de specialitate, evaluarea infiltratului imun-inflamator în nefrita lupică poate indica procese patologice responsabile pentru leziuni renale ireversibile, iar prezența infiltratului imun-inflamator interstițial poate fi interpretată ca potențial factor prognostic (Esdaile et al., 1989, Park et al., 1986, Hill et al., 2000).

Consecutiv, am analizat relația dintre numărul de Ly T CD8+ și CD4+, S_CR, S_TI, I_A și I_C. În mod concret, am demonstrat faptul Ly T CD8+ sunt corelate cu leziunile dezvoltate atât la nivel glomerular (traduse prin S_CR), cu modificările interstițiale (traduse prin S_TI), precum și cu nivelul de activitate al leziunilor (evaluat prin I_A). Extrem de interesant este faptul că influența exercitată de Ly CD8+ se manifestă indiferent de localizarea lor. Această asumție este susținută prin corelațiile cu semnificație statistică obținute între S_CR și dimensiunea populației Ly T CD8+ localizate periglomerular, intraglomerular și interstițial. În paralel, cu raportare la modificările interstițiale, S_TI s-a corelat semnificativ cu numărul de Ly T CD8+ prezente periglomerular, intraglomerular și interstițial). În contrabalans cu această interrelație, subliniem absența corelațiilor semnificative între S_CR și S_TI, și populația de Ly T CD4+, în toate cele 3 localizări (periglomerular, intraglomerular și interstițial).

Analiza relației dintre populațiile Ly T CD4+ și CD8+ și I_A, respectiv I_C indică două aspecte care pot fi interpretate prin prisma semnificației prognostice, bazată pe dinamica mecanismului patogen.

Primul aspect susține intervenția majoră a Ly T CD8+ în definirea statusului de activitate al leziunilor nefritei lupice. În mod concret, I_A a fost corelat semnificativ cu populația de Ly T CD8+ prezente în aria periglomerulară, intraglomerulară și interstițială. Participarea Ly T CD4+ este mult mai limitată, datele noastre indicând doar corelația dintre I_A și numărul de Ly T CD4+ localizate intraglomerular – ceea ce explică leziunile inițiale, reflectate prin hiper celularitatea endocapilară. Aceste date completează raportările limitate din literatură, care vizează interrelația dintre infiltratul limfocitar și indexul de activitate al nefritei lupice (Esdaile et al., 1989, Park et al., 1986, Hill et al., 2000, Coutzi et al., 2007).

Al doilea aspect aduce în discuție statusul de cronicitate al leziunilor specifice nefritei lupice, în care gravitatea leziunilor deja instalate nu mai poate fi asociată cu răspunsul imunologic al populațiilor limfocitare. Dinamica evolutivă a leziunilor, tradusă prin prezența semilunelor fibroase în corpusculi, prezența instalării atrofiei tubulare și a fibrozei interstițiale, infiltratul inflamator predominant monocitar, poate explica absența corelațiilor semnificative între I_C și ambele subseturi de Ly T, CD4+ și CD8+, în toate cele 3 localizări (periglomerular, intraglomerular și interstițial). Astfel, putem aprecia că potențialul reactiv al Ly T, ca participante critice în răspunsul imun, este restricționat odată cu instalarea leziunilor cronice.

Sintetizând toate comentariile anterioare, studiul nostru a vizat identificarea posibilelor corelații dintre histologia leziunilor în raport de clase de nefrită lupică și dinamica infiltratului inflamator limfocitar, urmărind demonstrarea valenței prognostice a acestuia. Analiza rezultatelor noastre și proiecția acestora în contextul datelor publicate anterior (relative puține și discordante), prin prisma ecartului larg înregistrat în profilul numeric al populațiilor limfocitare T, susține valoarea prognostică diferită a Ly CD4+ și CD8+ în dezvoltarea leziunilor glomerulare și interstițiale.

CAPITOLUL 6 CONCLUZII

1. Algoritmul de evaluare semi-cantitativă propus, bazat pe scorul de leziune corpusculară și scorul de leziune tubulo-interstițială, asigură rafinarea evaluării leziunilor identificate și corelarea cu intensitatea și evoluția nefritei lupice. Datele obținute sunt comparabile cu cele mai recente realizări în înțelegerea și monitorizarea nefritei lupice. Cele două scoruri constituie instrumente utile pentru caracterizarea morfologică a nefritei lupice, care completează informațiile obținute prin utilizarea indexurilor de activitate și cronicitate, fără a diminua semnificația acestora.

2. Diferențele semnificative statistic înregistrate în analiza relației dintre valorile de scor / index stabilite pentru o clasă diagnostică și valorile de scor / index ale fiecăreia dintre celelalte clase diagnostice, în funcție de încadrarea cazurilor în clasa V compactă (clasa V și clasa V+IV) și respectiv

clasa V separată (clasa V *versus* clasa V+IV) trebuie interpretate în contextul fiziopatologic care fundamentează instalarea și dezvoltarea leziunilor morfologice. În raport de parametrii paraclinici, rezultatele noastre indică un comportament similar al subclaselor încadrate în clasa V de nefrită lupică. Această constatare este un argument în favoarea propunerii actuale de renunțare la diagnosticul de subclase în nefrita lupică, motivată de absența relevanței subclaselor în raport de prognostic.

3. Leziunile histologice traduse prin valorile scorurilor și indexurilor au valoare predictivă, astfel: (i) scorul de leziune tubulo-interstițială – pentru predicția unei RFG < 60 ml/min, ca indicator pentru boala renală cronică stadiul III la adresare; (ii) scorul de leziune corpusculară, scorul de leziune tubulo-interstițială și indexul de cronicitate – pentru predicția unei RFG < 30 ml/min la adresare, ca indicator pentru boala renală cronică stadiul IV la adresare.

4. Dintre parametrii clinici, valoarea predictivă a fost confirmată astfel: (i) RFG – pentru predicția unui scor de leziune tubulo-interstițială peste mediană; (ii) proteinuria – pentru predicția unui index de activitate peste mediană.

5. Corelațiile clinico-morfologice stabilite conduc la propunerea unui fenotip paraclino-histologic de gravitate care poate caracteriza nefrita lupică. Acest fenotip include două categorii de criterii: (i) histologic, scorul de leziune tubulo-interstițială, ale cărui valori pot indica boala renală cronică stadiul III sau stadiul IV la adresare, alături de scorul de leziune corpusculară și indexul de cronicitate, ale căror valori pot indica boala renală cronică stadiul IV la adresare; (ii) clinic, RFG, ale cărei valori pot indica un scor de leziune tubulo-interstițială peste mediană, și proteinuria ale cărei valori pot indica un index de activitate peste mediană.

6. Infiltratul limfocitar asociat nefritei lupice este constituit predominant din limfocite T CD8+. Populația limfocitară T CD8+ diferă semnificativ statistic față de populația limfocitară T CD4+ la nivel global, periglomerular, intraglomerular și interstițial, în toate clasele de diagnostic. Aceste diferențe susțin comportamentul diferit al celor două populații limfocitare T în patogenia nefritei lupice.

7. Profilul cantitativ al populației limfocitare T CD8+, în toate cele 3 localizări (periglomerular, intraglomerular și interstițial), se corelează cu intensitatea leziunilor glomerulare (evaluate prin scorul de leziune corpusculară) și interstițiale (evaluate prin scorul de leziune interstițială), precum și cu nivelul de activitate al nefritei lupice (evaluat prin indexul de activitate). Aceste corelații susțin potențialul prognostic al populației limfocitare T CD8+ în evoluția nefritei lupice.

8. Profilul cantitativ al populației limfocitare T CD4+ intraglomerulare se corelează cu nivelul de activitate al nefritei lupice (evaluat prin indexul de activitate). Această corelație indică intervenția limfocitelor T CD4+ în dezvoltarea hiper celularității endocapilare.

9. Absența corelațiilor semnificative între ambele populații limfocitare T CD4+ și CD8+, în toate cele 3 localizări (periglomerular, intraglomerular și interstițial) și nivelul de cronicitate (evaluat prin indexul de cronicitate) reflectă limitarea potențialului reactiv al limfocitelor T odată cu instalarea leziunilor cronice.

10. Variabilitatea profilului cantitativ al populațiilor limfocitare T CD8+ și CD4+, analizată în asocieră cu scorurile de leziune corpusculară și tubulo-interstițială și indexurile de activitate și cronicitate, explică posibilitatea relației neconcordanțe dintre leziunile glomerulare și tubulo-interstițiale.

CAPITOLUL 7 PERSPECTIVE

Studiul doctoral oferă perspective solide de abordare integrată, clinico-morfologică, a nefritei lupice, prin prisma rezultatelor personale obținute, care susțin actualitatea revizuirii Clasificării ISN/RPS a nefritei lupice și necesitatea de a identifica factori de predicție și prognostic.

Revizuirea Clasificării ISN/RPS a fost inițiată în 2016 și concretizată prin raportul de consens publicat în 2018 (Bajema et al., 2018), care formulează clarificări pentru definiții și modifică indexurile NIH pentru activitate și cronicitate. Consecutiv, sistemul de scoruri propuse și implementate în evaluarea nefritei lupice reprezintă un instrument operațional extrem de util, cu potențial în rezolvarea unei probleme majore în clasificare – anume reproductibilitatea scăzută în aprecierea leziunilor. Raportarea la cele două scoruri propuse - scorul de leziune corpusculară și scorul de leziune tubulo-

interstițială – poate complementa sistemului clasic de evaluare semi-cantitativă care include indexul de activitate și indexul de cronicitate, contribuind la creșterea gradului de reproductibilitate în evaluare.

Pe de altă parte, validarea unor factori predictivi și prognostici în baza tabloului histopatologic constituie un deziderat major în nefrologie, nefropatologie, imunologie și reumatologie. În acest context, rezultatele obținute în analiza potențialul predictiv al tabloului clinico-morfologic prezent în nefrita lupică pot reprezenta repere critice în abordarea personalizată a cazurilor de nefrită lupică. Subliniem, în acest context, valoarea propunerii unui fenotip paraclinic-histologic de gravitate care poate caracteriza nefrita lupică, care include două categorii de criterii, histologice și clinice. De asemenea, implicarea infiltratului limfocitar T, cu diferențele clare între subpopulația T CD8+ și T CD4+, reprezintă o zonă de interes științific în care cercetarea poate și trebuie să fie extinsă.

Nu în ultimul rând, discuția asupra caracterizării clasei V a nefritei lupice, prin raportare distinctă sau prin raportare cumulativă la subclasele existente în prezent, rămâne deschisă. Argumentele în favoarea eliminării subclaselor sunt susținute de variabilitatea intensității leziunilor, reflectată prin diferențele semnificative statistic între valorile scorurilor de leziune corpusculară și tubulo-interstițială și ale indexurilor de activitate și cronicitate. În paralel, însă, trebuie luate în considerare și argumente contra, susținute de parametrii paraclinici care indică un comportament similar al subclaselor încadrate în clasa V de nefrită lupică.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Alexopoulos E, Seron D, Hartley RB, Cameron JS. Lupus nephritis: correlation of interstitial cells with glomerular function. *Kidney Int* 1990; 37:100-109.
- Austin HA 3rd, Muenz LR, Joyce KM, et al. Diffuse proliferative lupus nephritis: identification of specific pathologic features affecting renal outcome. *Kidney Int* 1984; 25:689-695.
- Austin HA III, Muenz LR, Joyce KM et al. Prognostic factors in lupus nephritis. Contribution of renal histologic data. *Am J Med* 1983; 75:382-391.
- Bajema IM, Wilhelmus S, Alpers CE, et al. Revision of the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society classification for lupus nephritis: clarification of definitions, and modified National Institutes of Health activity and chronicity indices. *Kidney Int* 2018; 93:789-796.
- Belibou M. Repere morfologice operaționale în diagnosticul glomerulonefritei lupice. Lucrare de licență, U.M.F. "Grigore T. Popa" Iași, 2016.
- Bihl GR, Petri M, Fine DM. Kidney biopsy in lupus nephritis: Look before you leap. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21:1749-1752.
- Blanco P, Pitard V, Viallard JF, et al. Increase in activated CD8 T lymphocytes expressing perforin and granzyme B correlates with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2005; 52:201-211.
- Castellino F, Yee-Chen Huang A, Altan-Bonnet G, et al. Chemokines enhance immunity by guiding naive CD8+ T cells to sites of CD4+ T cell-dendritic cell interaction. *Nature* 2006; 440(7086):890-895.
- Chang A, Henderson S, Brandt D, Liu N, Guttikonda R, Hsieh C, et al. In Situ B cell-mediated immune responses and tubulointerstitial inflammation in human lupus nephritis. *J Immunol*, 2011, 186(3):1849-60.
- Choi J, Kim ST, Craft J. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus-an update. *Curr Opin Immunol* 2012; 24(6):651-657.
- Churg J, Sobin LH. Lupus nephritis. In: Churg J, Sobin LH (eds). *Renal Disease, Classification and Atlas of Glomerular Diseases*. New York: Igaku-Shoin, 1982, 127-149.
- Couzi L, Merville P, Deminiere C, et al. Predominance of CD8 T lymphocytes among periglomerular infiltrating cells and link to the prognosis of class III and class IV lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 2007; 56(7):2362-2370.
- D'Agati VD, Appel GB, Estes D, et al. Monoclonal antibody identification of infiltrating mononuclear leukocytes in lupus nephritis. *Kidney Int* 1986; 30:573-581.
- Deng GM, Liu L, Bahjat FR, et al. Suppression of skin and kidney disease by inhibition of spleen tyrosine kinase in lupus-prone mice. *Arthritis Rheum* 2010; 62:2086-2092.
- Diaz Gallo C, Jevnikar AM, Brennan DC, et al. Autoreactive kidney-infiltrating T-cell clones in murine lupus nephritis. *Kidney Int* 1992; 42:851-859.
- Esdaile JM, Levinton C, Federgreen W, et al. The clinical and renal biopsy predictors of long-term outcome in lupus nephritis: A study of 87 patients and review of the literature. *QJM* 1989; 72:779-833.
- Giannico G, Fogo AB. Lupus nephritis: is the kidney biopsy currently necessary in the management of lupus nephritis? *Clin J Am Soc Nephrol* 2013; 8(1):138-145.

- Haring CM, Rietveld A, van den Brand JA, Berden JH. Segmental and global subclasses of class IV lupus nephritis have similar renal outcomes. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23:149–154.
- Hill GS, Delahousse M, Nochy D, Bari  ty J. Class IV-S versus class IV-G lupus nephritis: Clinical and morphologic differences suggesting different pathogenesis. *Kidney Int* 2005; 68:2288–2297.
- Hill GS, Delahousse M, Nochy D, et al. A new morphologic index for the evaluation of renal biopsies in lupus nephritis. *Kidney Int* 2000; 58:1160–1173.
- Hsieh C, Chang A, Brandt D, et al. Tubulointerstitial inflammation and scarring predict outcome in lupus nephritis. *Arthritis Care Res* 2011; 63(6): 865–874.
- Jacobsen S, Starklint H, Petersen J, et al. Prognostic value of renal biopsy and clinical variables in patients with lupus nephritis and normal serum creatinine. *Scand J Rheumatol* 1999; 28(5): 288-299.
- Lewis EJ. The natural history and treatment of lupus nephritis. In: Lewis EJ, Schwartz MM, Korbet SM (eds). *Lupus Nephritis*. New York: Oxford University Press, 1999, 185–218.
- Malvar A, Pirruccio P, Alberton V, et al. Histologic versus clinical remission in proliferative lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2017; 32(8):1338-1344.
- Markowitz GS, D'Agati VD. Classification of lupus nephritis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18:220-225.
- Markowitz GS, D'Agati VD. The ISN/RPS 2003 classification of lupus nephritis: an assessment at 3 years. *Kidney Int* 2007; 71:491-495.
- Mohan C, Putterman C. Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Nat Rev Nephrol* 2015; 11(6):329-341.
- Park MH, D'Agati V, Appel GB, Pirani CL. Tubulointerstitial disease in lupus nephritis: relationship to immune deposits, interstitial inflammation, glomerular changes, renal function, and prognosis. *Nephron* 1986; 44:309-310.
- Pollak VE, Pirani CL, Schwartz FD. The natural history of the renal manifestations of systemic lupus erythematosus. *J Lab Clin Med* 1964; 63:537–550.
- Reeve J, Einecke G, Mengel M, et al. Diagnosing rejection in renal transplants: a comparison of molecular- and histopathology-based approaches. *Am J Transplant* 2009; 9(8):1802-1810.
- Sada KE, Makino H. Usefulness of ISN/RPS classification of lupus nephritis. *J Korean Med Sci* 2009; 24(Suppl):S7–10.
- Satish S, Deka P, Sanjeev Shetty M. A clinico-pathological study of lupus nephritis based on the International Society of Nephrology – Renal Pathology Society 2003 classification system. *J Lab Physicians* 2017; 9(3):149–155.
- Schwartz MM, Korbet SM, Lewis EJ, Collaborative Study Group. The prognosis and pathogenesis of severe lupus glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23:1298-1306.
- Shariati-Sarabi Z, Ranjbar A, Monzavi SM, et al. Analysis of clinicopathologic correlations in Iranian patients with lupus nephritis. *Int J Rheum Dis* 2013; 16(6):731-738.
- Singh S, Zhou XJ, Ahn C, Saxena R. A retrospective analysis of clinical presentation of lupus nephritis. *Am J Med Sci* 2011; 342:467–473.
- Steinmetz O, Velden J, Kneissler U, et al. Analysis and classification of B cell infiltrates in lupus and ANCA-associated nephritis. *Kidney Int* 2008; 74:448–457.
- W  growska-Danilewicz M, Danilewicz M. Clinico-pathological characteristics of segmental (IV-S) and global (IV-G) active subclasses of class IV lupus nephritis: a comparative study. *Pol J Pathol* 2014; 6 (3): 223-228.
- Wang GB, Xu ZJ, Liu HF, et al. Changes in pathological pattern and treatment regimens based on repeat renal biopsy in lupus nephritis. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125(16): 2890-2894.
- Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *Kidney Int* 2004a; 65:521-530.
- Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 2004b; 15:241-250.
- Wilhelmus S, Cook HT, No  l LH, et al. Interobserver agreement on histopathological lesions in class III or IV lupus nephritis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10:47–53.
- Wilson PC, Kashgarian M, Moeckel G. Interstitial inflammation and interstitial fibrosis and tubular atrophy predict renal survival in lupus nephritis. *Clin Kidney J* 2018; 11(2):207-218.
- Wu T, Qin X, Kurepa Z, et al. Shared signaling networks active in B cells isolated from genetically distinct mouse models of lupus. *J Clin Invest* 2007; 117:2186-2196.
- Yu F, Wu LH, Tan Y, et al. Tubulointerstitial lesions of patients with lupus nephritis classified by the 2003 International Society of Nephrology and Renal Pathology Society system. *Kidney Int* 2010; 77:820-829.