

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

Dottorato di ricerca in Scienze Mediche Generali e dei Servizi Ciclo XXVII

Settore Concorsuale di afferenza: 06/G1

Settore Scientifico disciplinare: MED/38

Outcome a lungo termine dei pazienti pediatrici con rene singolo
congenito: valutazione di marker laboratoristici e strumentali di danno
renale

Presentata da: Dott. Claudio La Scola

Coordinatore Dottorato

Prof. Nicola Rizzo

Relatore

Dott. Giovanni Montini

Esame finale anno **2015**

INDICE

1. INTRODUZIONE	5
1.1 Il rene singolo congenito	5
1.1.1 Definizione e incidenza	5
1.1.2 Eziopatogenesi e classificazione	5
1.1.3 Diagnosi	8
1.2 Evoluzione e prognosi del rene singolo congenito	8
1.2.1 L'ipertrofia compensatoria	8
1.2.2 Prognosi a lungo termine	9
1.3 Metodi di valutazione della funzione renale in pediatria	12
1.3.1 La velocità di filtrazione glomerulare (VFG)	12
1.3.2 L'ecografia renale	14
2. OBIETTIVI DELLO STUDIO	17
3. MATERIALI E METODI	18
3.1 Popolazione dello studio	18
3.2 Valutazioni eseguite	19
3.3 Misurazioni	20
3.4 Analisi statistica	22
4. RISULTATI	23
4.1 Dati demografici	23
4.1.1 Intera popolazione	23
4.1.2 Pazienti valutati con DTPA	24

4.2 Analisi primaria confronto con DTPA-VFG _____	25
4.2.1 Analisi tra marker glomerulari e tubulari di danno renale con DTPA-VFG _____	25
4.2.2 Analisi tra VFG stimate e DTPA-VFG _____	25
4.2.3 Analisi tra metodi di valutazione di crescita ecografica del rene singolo e DTPA-VFG _____	27
4.2.4 Analisi multivariata _____	29
4.3 Analisi secondaria confronto con <i>USL/H</i> _____	29
4.3.1 Caratteristiche generali _____	29
4.3.2 Analisi tra marker glomerulari e tubulari di danno renale con <i>USL/H</i> _____	29
4.3.3 Correlazione tra VFG stimate e <i>USL/H</i> _____	31
5. DISCUSSIONE e CONCLUSIONI _____	32
5.1 Discussione _____	32
5.2 Conclusioni _____	38
APPENDICE _____	40
BIBLIOGRAFIA _____	44

Capitolo 1

Introduzione

1.1 Il rene singolo congenito

1.1.1 Definizione e incidenza

Si definisce rene singolo congenito l'assenza anatomica o funzionale di un rene sin dalla nascita. Tale condizione rientra nel grande capitolo nefrourologico delle CAKUT (*Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract*), acronimo inglese che indica dei disordini primitivi di numero (es. rene singolo), dimensioni (es. ipodisplasia renale) e morfologia (es. rene a ferro di cavallo) dei reni e/o delle vie urinarie (es. reflusso vescico-ureterale) che si possono associare in maniera variabile tra loro. L'associazione di diverse anomalie peggiora la prognosi a lungo termine [1].

Nel complesso le CAKUT costituiscono il 20-30% delle malformazioni riscontrate in epoca prenatale e sono la principale causa d'insufficienza renale cronica e di trapianto renale in età pediatrica[2-5].

L'incidenza del rene singolo congenito nella popolazione varia da 1:450 [6] a 1:3200 [7] e si associa ad altre anomalie dei reni e delle vie urinarie nel 30% dei casi [8]. Il sesso maschile sembra essere più colpito del sesso femminile con un rapporto di 1,2-2,3:1.

1.1.2 Eziopatogenesi e classificazione

Il rene singolo congenito, come tutte le CAKUT, è il risultato di un alterato sviluppo embriologico renale.

Lo sviluppo fisiologico del tratto urinario è complesso, inizia alla III settimana di gestazione ed è caratterizzato dal susseguirsi in senso cranio-caudale di tre strutture di derivazione mesodermica: pronefro, mesonefro e metanefro (figura 1.1). Il pronefro e mesonefro vanno incontro a involuzione. Dal metanefro originerà il rene definitivo in seguito alla corretta interazione spazio-temporale e allo scambio di stimoli induttivi con la gemma ureterale da cui origineranno le vie urinarie [9].

I diversi fenotipi delle CAKUT sono strettamente dipendenti dalla fase dello sviluppo renale in cui avviene l'alterazione (figura 1.2).

Per quanto riguarda il rene singolo [7-9]:

1) Alterazioni delle fasi precoci del pronefro e mesonefro causano **l'agenesia renale**, con mancata formazione di rene, uretere ed emitrigono vescicale omolaterale.

2) Alterazioni della fase del metanefro causano quadri di **aplasia renale** o di **rene multicistico**.

Nella pratica clinica, tuttavia, non sempre è possibile porre una diagnosi differenziale tra le diverse forme di rene singolo soprattutto quando la diagnosi avviene nel periodo post-natale, poiché sia le forme di aplasia renale che di rene multicistico possono andare incontro a involuzione spontanea [10-12]. L'eziopatogenesi del rene singolo è multifattoriale. Giocano un ruolo importante mutazioni di geni regolatori dell'embriogenesi e fattori quali l'ostruzione del normale flusso urinario, la dieta materna, le infezioni connatali e i farmaci (per esempio inibitori del sistema renina-angiotensina). Sono note numerose mutazioni di geni regolatori dell'embriogenesi (PAX2, WT1, BMP4, EYA1, SIX1, GDNF, RET, HNF1-beta, TCF2, SALL1, KAL, AGTR2, UMOD) che, intervenendo precocemente durante la vita fetale, influenzano le tappe dello sviluppo. La mutazione di questi geni può provocare fenotipi diversi di CAKUT e viceversa, a parità di fenotipo, il gene mutato potrebbe essere diverso [13-71].

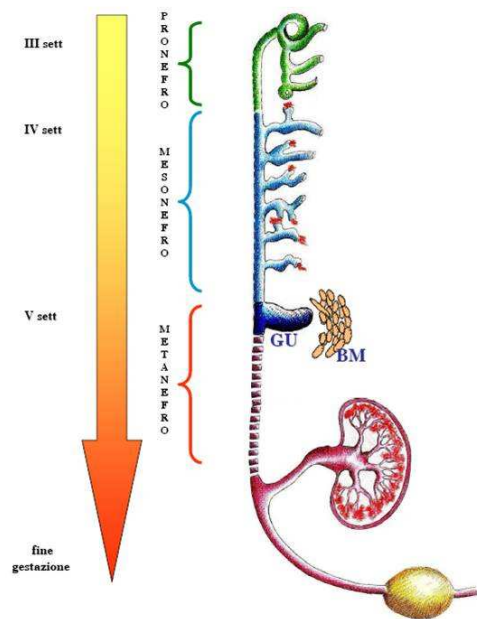


Figura 1.1 Fasi dello sviluppo embrio-fetale del rene e delle vie urinarie (G. gemma ureterale, BM. blastema metanefrico).

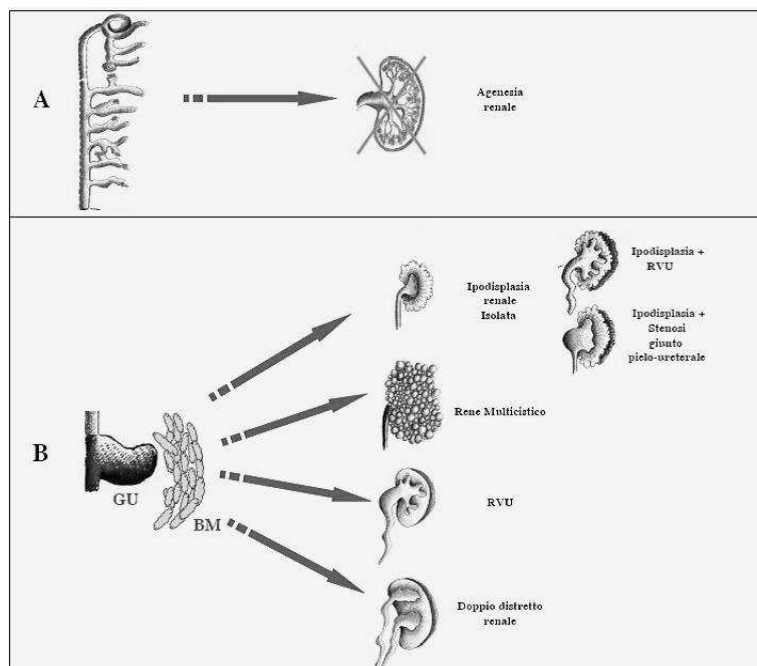


Figura 1.2. fenotipi CAKUT in base alla fase dello sviluppo del rene e delle vie urinarie. A: alterazioni della sequenza pronefro-mesonefro; B: alterazioni della fase metanefrica per l'inappropriata iterazione spazio-temporale tra gemma ureterale (GU) e blastema metanefrico (BM).

1.1.3 Diagnosi

La diagnosi di rene funzionalmente unico è prettamente radiologica e nella maggior parte dei casi è fatta in epoca prenatale nel corso delle ecografie di screening. Non sempre, però, l'ecografia prenatale è in grado di identificare i casi di rene singolo (es. ipertrofia della ghiandola surrenalica che occupa la loggia renale vuota o di ectopia renale [8, 18-19]).

La conferma diagnostica avviene mediante l'esecuzione di una scintigrafia renale statica con acido dimercaptosuccinico (DMSA) marcato con Tecnezio-99m, o con mercaptuacetil-triglicina 3 (MAG) marcata con Tecnezio-99m (figura 1.3).

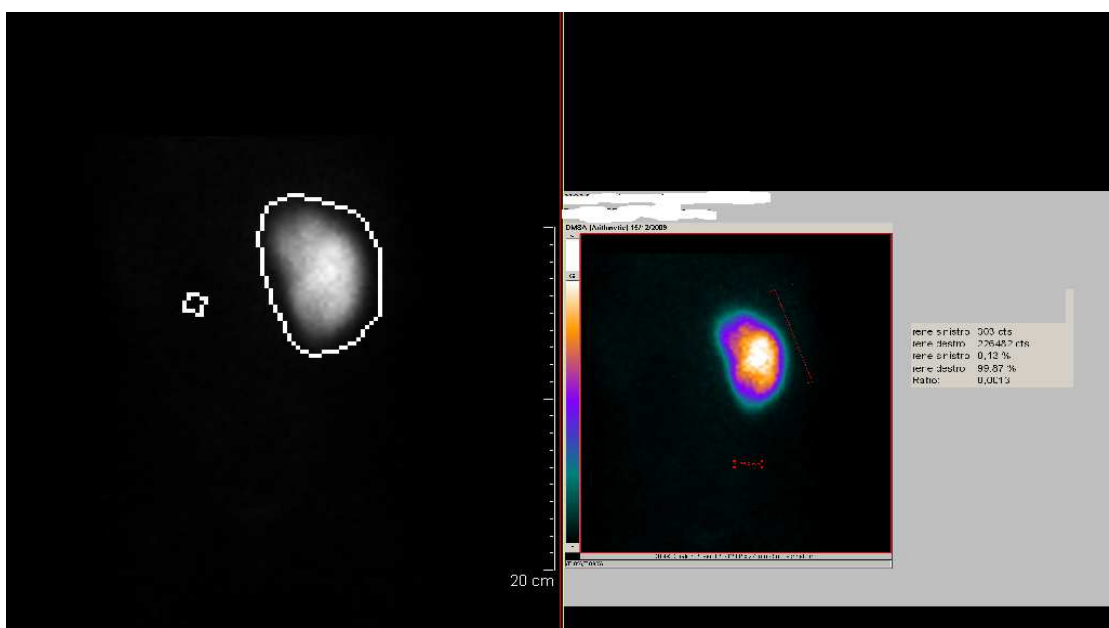


Figura 1.3: Scintigrafia renale con DMSA in un paziente con agenesia renale sinistra.

1.2 Evoluzione e prognosi del rene singolo congenito

1.2.1 L'ipertrofia compensatoria

Il numero di glomeruli nel rene singolo può variare da duecentomila a 1,8 milioni [20]. L'evoluzione fisiologica del rene singolo nella maggior parte

dei casi comporta lo sviluppo d'ipertrofia compensatoria con aumento delle dimensioni del rene, che può arrivare fino a due volte il volume di un rene normale entro i primi 4 anni di vita [21-23].

L'ipertrofia porterebbe, secondo alcuni autori, a un aumentato flusso ematico glomerulare con successiva iperfiltrazione [24-25] che a sua volta potrebbe provocare proteinuria con progressiva glomerulosclerosi e danno renale irreversibile [24-31]. Secondo altri autori, invece, l'aumento di dimensioni del rene singolo non sarebbe conseguenza dell'ipertrofia dei nefroni ma dell'iperplasia glomerulare. Tale dato è stato dimostrato mediante studi autoptici e su animali [32-34]. Maluf et al [32] hanno documentato mediante studi istologici che un rene singolo può presentare fino al doppio dei nefroni di un rene normale, con una massa fino a 1,8 volte maggiore.

Non è ancora stato del tutto chiarito, però, il ruolo prognostico dell'ipertrofia compensatoria nei soggetti con rene singolo congenito.

L'assenza d'ipertrofia compensatoria è stata riportata in diversi studi prognostici come fattore di rischio per lo sviluppo di outcome renale sfavorevole in pazienti con rene singolo [35-37]. Westland et al. hanno suggerito l'ipotesi che l'assenza dell'ipertrofia compensatoria potesse riflettere un numero ridotto di nefroni e/o nefroni displastici [37].

1.2.2 Prognosi a lungo termine

La prognosi a lungo termine dei bambini con rene solitario congenito è stata per molto tempo considerata buona. Tuttavia dall'inizio degli anni ottanta alcuni case report, studi retrospettivi e prospettici hanno posto qualche dubbio sulla reale benignità di questa condizione [17, 33-36, 38-44].

In uno studio retrospettivo su 157 adulti con agenesia renale e rene controlaterale normale [17] il 47% aveva sviluppato ipertensione, il 19% proteinuria, il 13% riduzione del filtrato glomerulare e il 4% era deceduto in seguito alle complicanze dell'insufficienza renale cronica terminale.

Gli autori dello studio hanno concluso che l'agenesia renale poteva aumentare il rischio di sviluppare danno renale.

Un altro studio [41] ha mostrato, come i soggetti con rene singolo associato ad altre anomalie (es. cicatrici da pielonefrite, reflusso vescicoureterale o uropatia ostruttiva) sviluppino ipertensione, proteinuria e insufficienza renale maggiormente rispetto a soggetti con rene singolo non complicato. Kiprof et al. [38] su 586 campioni chirurgici di rene hanno ritrovato glomerulosclerosi focale segmentale in 29 casi (4.9%) 5 dei quali presentanti agenesia renale unilaterale ($p < 0.05$). Gli stessi ricercatori su 9200 autopsie hanno trovato 7 casi di agenesia renale unilaterale; in 2 (29%) di questi casi la causa della morte era stata l'insufficienza renale cronica conseguente a sclerosi focale segmentale. Al momento della diagnosi di glomerulosclerosi focale segmentale, l'età media dei pazienti era di 25 anni.

Vu et al. [34] hanno seguito longitudinalmente una coorte di 99 bambini dal primo anno di vita. All'età di 5 anni il 22% aveva un filtrato glomerulare $< 80 \text{ ml/min/1.73m}^2$ e 11% aveva sviluppato proteinuria.

Sanna-Cherchi [42] et al., hanno riportato di 312 pazienti con CAKUT seguiti fino all'età di 30 anni; Il 29% dei 71 con rene singolo solitario e il 5% dei 40 con rene multicistico ha iniziato la dialisi ad un'età media di 20 anni. La sopravvivenza libera da dialisi a 30 anni era del 60% e dell' 80% rispettivamente.

Nel più recente studio longitudinale KIMONO su 223 pazienti con rene singolo un GFR $< 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$, proteinuria o ipertensione sono stati ritrovati nel 4, 13 e 22% dei bambini rispettivamente. L'analisi Kaplan-Meier ha mostrato una sopravvivenza cumulativa libera da danno renale (definito come ipertensione, filtrato glomerulare $< 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ o l'uso di un farmaco rene-protettivo) di circa il 75% a 10 anni e 55% a 15 anni [36].

Non è comunque chiaro quale sia la causa primaria di progressione del danno renale. Questa potrebbe derivare da alterazioni intrinseche del rene rimanente [36,37].

Tale ipotesi è rafforzata dal fatto che, soggetti sani che donano un rene per il trapianto presentano una prognosi a lungo termine eccellente. In uno studio condotto su 3698 donatori, operati tra il 1963 e il 2007 e studiati tra il 2003 e il 2007, il rischio di sviluppo d'insufficienza renale era più basso rispetto alla popolazione normale (con un'incidenza di 180 vs 268 casi/milioni/anno nella popolazione generale) [45].

In conclusione i soggetti con rene singolo congenito sembrerebbero presentare un maggior rischio di sviluppare ipertensione arteriosa, proteinuria e insufficienza renale di vario grado. La causa di tali eventi non è chiara, potendo attribuirsi a meccanismi patogenetici diversi.

Per questo motivo è importante seguire questi soggetti nel tempo con indagini cliniche, laboratoristiche e strumentali volte a valutare la funzione renale di questi pazienti nel tempo.

Allo stato attuale il monitoraggio di questi pazienti prevede il controllo di:

1. Dieta e stato nutrizionale;
2. Crescita;
3. Pressione arteriosa;
4. Studio del filtrato glomerulare (GFR);
5. Studio di marker di danno glomerulare (creatinina sierica, cistatina C sierica, proteinuria);
6. Studio di marker di danno tubulare (beta2 ed alfa 1 microglobulina urinaria);
7. Monitoraggio strumentale della morfologia e della crescita renale (ecografia).

Mancano, però, indicazioni univoche e validate sugli strumenti più adatti per valutare la funzione renale in bambini monorene, il tipo di follow-up da seguire e i marcatori di danno renale da valutare.

1.3 Metodi di valutazione della funzione renale in Pediatria

1.3.1 La velocità di filtrazione glomerulare (VFG)

La velocità di filtrazione glomerulare (VFG) è il metodo clinico più utilizzato per la valutazione della funzionalità renale.

Il *gold-standard* nella misurazione del VFG è la *clearance* dell'inulina, poiché essa è una sostanza che mantiene la sua concentrazione plasmatica costante, è liberamente filtrata dai glomeruli e non viene né secreta, né riassorbita, né sintetizzata, né metabolizzata dalle cellule tubulari renali. La quantità filtrata dai glomeruli corrisponde quindi a quella presente nell'urina [46-49]. Questa metodica è però costosa, non sempre disponibile e invasiva. Il dosaggio radioisotopico di traccianti glomerulari quali l'acido dietilene triaminopentacetico marcato con tecnezio 99m (DTPA), l'acido etilene diaminotetracetico marcato con cromo 51 e l'iotalamato marcato con Iodio 125, ha sostituito in parte la *clearance* dell'inulina, come metodica di riferimento nella misurazione della VFG. Questi radioisotopi hanno caratteristiche simili all'inulina, col vantaggio che la misurazione della VFG avviene dopo iniezione in bolo del radionuclide. Tali sostanze sono liberamente filtrate a livello glomerulare, non sono secrete dai tubuli renali e non presentano un'eliminazione extra-renale. I limiti di queste metodiche sono la sovrastima della VFG rispetto alla *clearance* dell'inulina e l'esposizione a radiazioni ionizzanti [50-52].

Nella pratica clinica, però, il filtrato glomerulare è stimato mediante l'utilizzo di formule basate sul dosaggio sierico di marker di danno glomerulare quali la creatinina (SCr) e la cistatina C (SCysC), e su parametri antropometrici quali l'altezza e il peso.

Diverse sono le formule riportate in letteratura, ma tra queste, le più utilizzare sono la formula di Schwartz [53] e la formula di Cockcroft [54].

L'equazione più utilizzata per il calcolo della VFG, nella popolazione pediatrica, è la formula di Schwartz, mentre Cockcroft è utilizzata maggiormente negli adolescenti e nella popolazione adulta. I valori di filtrato glomerulare ottenuti con la Schwartz sono utilizzati per stadiare la malattia renale cronica in età pediatrica [55]. Il filtrato glomerulare secondo Schwartz [53] si ottiene con la formula seguente: $VFG = K * \text{altezza} / \text{SCr}$; VFG [ml/min/1.73m²]; k=costante; altezza [cm]; SCr [mg/dl]. La costante K varia in base all'età, al sesso e al peso alla nascita (tabella 1.1).

Età	K
< 1 anno, SGA	0.33
< 1 anno, AGA	0.45
Maschi tra 2 e 12 anni	0.55
Femmine tra 2 e 21 anni	
Maschi tra 13 e 21 anni	0.65

Tabella 1.1: Valori della costante (K) nella formula di Schwartz.

La SCr è il *marker* di funzione glomerulare più utilizzato non solo in età pediatrica ma anche nell'adulto. Un suo incremento correla con l'alterazione della funzione e con il danno renale. E' prodotta in maniera relativamente costante dal nostro organismo.

Diversi però sono i limiti. Non è filtrata solo dal glomerulo ma anche dal tubulo prossimale, le concentrazioni plasmatiche sono influenzate dalla massa muscolare, dal sesso (maschi>femmine) e dall'età del soggetto. Infine i valori SCr, sono più alti nelle prime settimane di vita e ancor più nei nati pretermine [53, 56-57].

Nuovi marker endogeni di funzione renale, come la SCysC, sono stati studiati per aumentare l'accuratezza nella stima della VFG.

La SCysC è un inibitore delle proteasi ed è prodotta in maniera costante dalle cellule nucleate dell'organismo [58-61]; è eliminata dall'organismo unicamente attraverso il rene essendo filtrata liberamente a livello glomerulare, e completamente riassorbita e catabolizzata dalle cellule tubulari, senza ritornare nel versante ematico [41, 60].

I livelli plasmatici di SCysC potrebbero essere influenzati dalla funzione tiroidea e da alcuni farmaci antitumorali [58].

Vi sono due metodiche per dosarla: il metodo immuno-nefelometrico e immuno-tubodimerico. Tali metodi presentano dei limiti perché non sono stati completamente standardizzati, non sono disponibili in tutti i laboratori, presentano costi più alti e tempi più lunghi rispetto al dosaggio della creatinina sierica. Il metodo nefelometrico sembra offrire la miglior correlazione con la VFG misurata [59].

Sono state proposte diverse formule per il calcolo della VFG che utilizzano la SCysC [60-61] ma solo alcune sono state validate nella popolazione pediatrica: quelle di Filler e Lapage [62], di Bökenkamp [63], di Grubb [64] e di Zappitelli [65] che utilizzano unicamente la SCysC come variabile e un'equazione ricavata da Zappitelli et al che combina insieme SCr, ScysC e altezza [65]. Per quanto riguarda, però, l'utilità clinica della SCysC nella popolazione pediatrica, non vi è a ora indicazioni precise.

Alcuni studi hanno dimostrato come la ScysC sia un marker precoce di danno glomerulare e sia perciò più sensibile della SCr nell'individuare iniziali riduzioni della VFG, soprattutto per VFG tra 60 e 90 ml/min/1.73m², il cosiddetto "*creatinine-blind range*" [58-61].

1.3.2 L'ecografia renale

L'ecografia è una tecnica d'imaging sicura, non invasiva, indolore, facilmente tollerata che utilizzando onde sonore permette di produrre immagini dell'apparato urinario in tempo reale.

L'ecografia dà informazioni su:

- 1) **Anatomia e sede dei reni**
- 2) **Dimensioni renali** che consentono di valutare in maniera puntuale e nel tempo la crescita renale. La valutazione delle dimensioni renali si basa su specifici nomogrammi che valutano la lunghezza dei reni in rapporto alla lunghezza corporea o il volume dei reni in rapporto al peso del bambino [67] vedi figura 1.4
E' assodato che un soggetto che nasce con reni di dimensioni ridotte, ipoplasici, bilateralmente ha un rischio significativo di sviluppare insufficienza renale cronica [4-5, 42]. Nei soggetti con rene singolo la valutazione della crescita renale è considerata un valido strumento di studio del benessere vista anche la fisiologica tendenza all'ipertrofia. L'assenza di crescita compensatoria nei soggetti con rene singolo, come già riportato in precedenza [35-37], correlerebbe invece con un outcome renale sfavorevole.
- 3) **Ecogenicità renale**, indice ecografico dello stato di benessere dei reni. Tale parametro si valuta comparando l'ecogenicità della corteccia renale a quella del fegato. Quando la corteccia è più ecogena rispetto alle piramidi midollari, si parla di normale differenziazione corticomidollare.
- 4) **Sistema escretore**, per la ricerca di dilatazioni o altre anomalie anatomiche
- 5) **La vescica e lo spessore delle pareti vescicali**
- 6) **La vascolarizzazione e perfusione renale.**

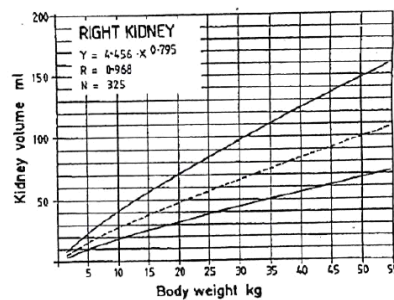
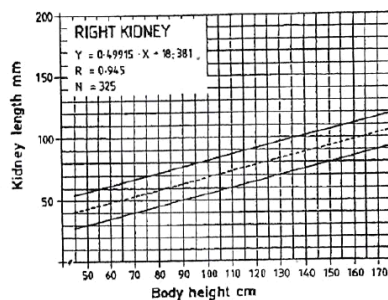
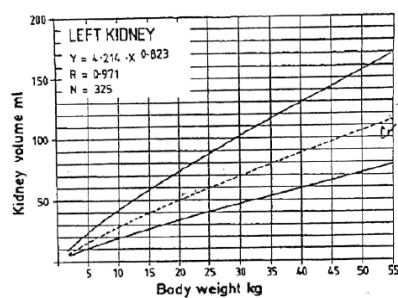
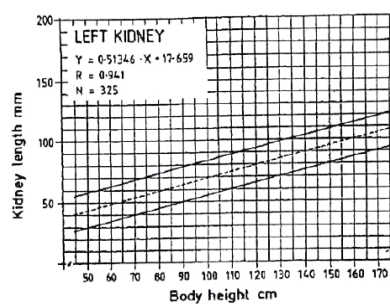


Figura 1.4: Nomogrammi della lunghezza renale vs statura e del volume renale vs peso corporeo; le curve rappresentano le media, il 5° e il 95° percentile [67].

Capitolo 2

Obiettivi dello studio

I bambini con rene singolo congenito, come mostrato da diversi studi [17, 33-36, 38-44], presenterebbero un rischio maggiore di sviluppare danno renale cronico con riduzione del filtrato glomerulare, ipertensione arteriosa, proteinuria.

Tali evidenze al momento vengono però alla luce solo da studi retrospettivi condotti per lo più in soggetti adulti in cui la diagnosi di rene singolo era stata posta per lo più in adolescenza o nella prima età adulta. Non è inoltre chiaro quali siano gli strumenti laboratoristici migliori per valutare precocemente il danno renale e che correlino meglio con la funzione renale: marker di tipo glomerulare (creatinina, cistatina C, proteinuria glomerulare), tubulare (β_2 –microglobulina.)

Abbiamo dunque disegnato uno studio di prospettico di coorte longitudinale della durata di 10 anni (ClinicalTrials.gov Identifier:NCT01831141) per valutare la prognosi renale a lungo termine in soggetti con rene singolo congenito (vedi appendice).

Nell'ambito di tale studio è stato inserito il progetto della tesi con lo scopo di valutare l'affidabilità di alcuni marker laboratoristici di danno renale di tipo glomerulare (creatinina, cistatina C e proteinuria) e tubulare (β_2 –microglobulina urinaria) di alcune formule per stimare il filtrato glomerulare e della crescita renale ecografica nel correlare con la funzione renale valutata come velocità di filtrazione glomerulare misurata con il DTPA. Quest'ultima metodica è considerata al pari della clearance dell'inulina una tecnica gold standard per la valutazione del filtrato.

CAPITOLO 3

Materiali e Metodi

Si tratta di uno studio nidificato all'interno di uno di coorte prospettico longitudinale osservazionale della durata di 10 anni, nato con l'obiettivo di determinare il rischio in una popolazione pediatrica di bambini con rene singolo di sviluppare insufficienza renale terminale, insufficienza renale cronica, ipertensione o proteinuria e di valutare eventuali fattori prognostici (ClinicalTrials.gov Identifier:NCT01831141). Il protocollo di studio si svolge presso la Struttura Semplice di Nefrologia e Dialisi Pediatrica c/o Ospedale Sant'Orsola-Malpighi di Bologna ed è stato approvato dal Comitato Etico dello stesso Ospedale in Aprile 2010 (vedi appendice I).

3.1 Popolazione dello studio

La popolazione del nostro studio è costituita da una coorte di pazienti pediatrici con diagnosi certa di rene singolo, afferiti alla Struttura Semplice di Nefrologia e Dialisi Pediatrica da 1 giugno 2010 al 30 maggio 2013.

Sono stati arruolati:

- Pazienti con diagnosi di rene singolo congenito già nota effettuata mediante l'esecuzione di ecografia renale e confermata con scintigrafia renale statica con DMSA o sequenziale con Mag3;
- Maschi e Femmine;
- Pazienti di età compresa tra 0-18 anni al momento dell'entrata nello studio;
- Pazienti per i quali si sia ottenuto il consenso a partecipare allo studio da parte dei genitori\esercenti la responsabilità genitoriale.

Sono stati esclusi dallo studio i pazienti che presentavano al momento dell'arruolamento:

- Insufficienza renale definita come filtrato glomerulare calcolato secondo Schwartz [53] al di sotto dei valori di normalità per età ed età gestazionale

stabiliti dalla National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative clinical practice guidelines for chronic kidney disease in children and adolescents [55];

- Pazienti con rene singolo associato a valvole dell'uretra posteriore;
- Pazienti diabetici;
- Pazienti con cardiopatie complesse o malattie vascolari;
- Pazienti con patologie autoimmuni.

Le diverse tipologie di rene singolo sono state classificate come segue:

1. Agenesia: assenza di un rene sospettata alle ecografie prenatali e confermata scintigraficamente;
2. Aplasia: presenza di un rene rudimentario all'ecografia con contributo funzionale relative alla scintigrafia renale <5%;
3. Rene Multicistico: struttura multiloculata formata da cisti non comunicanti all'ecografia renale e assenza di funzionalità alla scintigrafia renale;
4. Rene singolo non definito: diagnosi post-natale la cui causa rimane incerta.

3.2 Valutazioni eseguite

Al momento dell'arruolamento sono stati raccolti dati anamnestici fisiologici, gravidici e patologici.

A ogni visita sono stati valutati:

- Dati antropometrici: peso e altezza
- Dati laboratoristici: dosaggio creatinina sierica e cistatina C, proteinuria e beta2 microglobulinuria.
- Lunghezza ecografica del rene valutata come diametro bipolare (DBP);

Partendo dalla lunghezza renale misurata ecograficamente sono stati valutati:

- Il rapporto lunghezza ecografica del rene singolo sull'altezza corporea (US/h).
- La differenza percentuale ($\Delta\%$) tra lunghezza del rene misurata ecograficamente verso la lunghezza attesa (calcolata con le seguenti formule: $< 1\text{aa} = 3.28 \times \text{età (aa)} + 5.02$; $1-18 \text{ aa} = 0.38 \times \text{età (aa)} + 7.2$) [68]. Da un precedente studio retrospettivo (dati personali in corso di sottomissione a rivista scientifica) per la valutazione di fattori di rischio predittivi lo sviluppo d'insufficienza renale cronica in pazienti pediatrici con rene singolo congenito è emerso che: (1) il $\Delta\%$ mediano era significativamente più basso nei bambini con GFR patologico $<$ di $90 \text{ ml/min/1,73m}^2$ (-11% vs 0.2% , $p < 0.05$); (2) la sopravvivenza libera da insufficienza renale era del 49% vs 89% quando il $\Delta\%$ era categorizzato con un cut off $\leq -10\%$.
- La presenza o meno d'ipertrofia compensatoria, definita come lunghezza renale $>95^\circ$ percentile, in accordo con i nomogrammi di Dinkel et al. [67].

E' stata eseguita nei soggetti di età superiore ai due anni una scintigrafia con DTPA per la valutazione del filtrato glomerulare. Al momento dell'esecuzione della scintigrafia con DTPA sono stati rilevati i dati antropometrici, laboratoristici e la lunghezza renale.

3.3 Misurazioni

- Creatinina sierica (SCr) è stata dosata con il metodo colorimetrico (reazione di Jaffè).
- Cistatina C (ScysC) è stata dosata mediante la tecnica nefelometrica.
- La lunghezza renale è stata ricavata dalla misurazione ecografica del diametro bipolare del rene, dal profilo superiore sub capsulare a quello inferiore, con il paziente posto in posizione supina. E' stata utilizzata una sonda Convex da 8 MHz per i soggetti di età fino a 2 anni e una sonda Convex da 5 MHz, per quelli di età superiore ai 2 anni.

- La velocità di filtrazione glomerulare (VFG) è stata valutata mediante Scintigrafia renale con 99 Tc-DTPA (DTPA-VFG) ed è stata misurato con il metodo di Gates, senza prelievi, ponendo una gamma-camera dietro al soggetto, in regione lombare. Il radioisotopo 99 Tc-DTPA è stato somministrato n bolo. Simultaneamente è iniziata l'acquisizione d'immagini radiologiche. La VFG è stata misurata valutando la radioattività del radioisotopo dopo un minuto dalla somministrazione, attraverso le immagini radiologiche.
- Il filtrato glomerulare stimato (eVFG) è stato calcolato mediante le equazioni riportate in tabella 3.1. Sono state utilizzate formule basate sulla sola creatinina sierica (formula di Schwartz), sulla sola cistatina C sierica (formule di Zappitelli, Filler, Grubb e Bokenkamp) e su entrambe (equazione di Zappitelli).

Ser-VFG	
Schwartz [56]	$VFG = K \times h / SCr$ $K = 0.45 < 1 \text{ anni}$ $K = 0.55 \text{ maschi} < 14 \text{ e femmine } 1-21 \text{ anni}$ $K = 0.65 \text{ maschi } 14-21 \text{ anni}$
ScysC-VFG	
Filler [62]	$VFG = 10^{1.962 + (1.123 * \text{LOG}(1 / \text{ScysC}))}$
Grubb [64]	$VFG = 84.69 \times \text{ScysC}^{(-1.68)} (x 1.384 < 14 \text{anni})$
Bökenkamp.63]	$VFG = 137 / \text{ScysC} - 20.4$
Zappitelli [65]	$VFG = 75.94 / (\text{ScysC}^{1.17})$
SerScysC-VFG	
Zappitelli [65]	$VFG = (43.82 \times e^{0.003 \times h}) / (\text{CysC}^{0.635} \times \text{SCr}^{0.547})$

Tabella 3.1: Equazioni per calcolare la velocità di filtrazione glomerulare stimata VFG espressa in ml/min/1.73 m²; SCr [mg/dl]; SCysC [mg/L]; heigth (h) [cm].

3.4 Analisi statistica

Sono state eseguite due analisi una primaria sui pazienti che hanno eseguito la scintigrafia con DTPA il cui filtrato è stato considerato come gold standard e una secondaria, sull'intera popolazione, in cui la variabile più significativa all'analisi multivariata è stata presa come riferimento.

I dati sono stati raccolti in excel e analizzati con il programma statistico open source R.

Le variabili continue sono state analizzate con la regressione lineare e le curve calcolate con il metodo dei minimi quadrati. Le variabili continue con distribuzione in gruppi sono state analizzate utilizzando metodi non-parametrici, in particolare il Wilcoxon test per gruppi indipendenti. Il metodo Cox proportional hazard è stato utilizzato per l'analisi di regressione multipla dei fattori di rischio significativi. I risultati sono stati espressi mediante il coefficiente di correlazione e p value (p). Una correlazione con $p < 0.05$ è stata considerata statisticamente significativa.

Capitolo 4

Risultati

4.1 Dati demografici

4.1.1 Intera popolazione

Dal 1 giugno 2010 al 30 maggio 2013, sono stati screenati 140 bambini di questi 128 sono stati arruolati nello studio. A un'ultima rivalutazione 10/128 sono stati esclusi perché non soddisfacevano del tutto i criteri di eleggibilità. In totale dunque i pazienti arruolati sono stati 118 e di questi il 65% era di sesso maschile. La diagnosi di monorene è stata posta nel 65% dei casi in epoca prenatale, il lato più colpito è stato il destro nel 53%. Nel 41% dei casi la causa di rene singolo è stata il rene multicistico seguito dall'agenesia renale nel 24% dei casi e dall'aplasia renale nel 17% dei casi. In un rimanente 18% la causa è rimasta non definita. Il follow-up medio è di 2.1 ± 0.9 anni, l'età media al momento dell'arruolamento è stata di $5,32 \pm 5$ anni. I dati demografici sono riassunti nella tabella 4.1.

	N 118	
Follow-up medio in anni	2.1 ± 1.1	
Maschi	76/118	(65%)
Diagnosi prenatale	76/118	(65%)
Lato destro	62/118	(53%)
Tipo di rene singolo		
- Multicistico	48/118	(41%)
- Agenesia renale	29/118	(24%)
- Non definito	21/118	(18%)
- Aplasia	20/118	(17%)

Tabella 4.1 Dati demografici e caratteristiche cliniche della popolazione

4.1.2 Pazienti valutati con DTPA

La scintigrafia con DTPA per lo studio del filtrato glomerulare è stata eseguita in 74 soggetti all'età media di 7,3 anni, 51 maschi (68%). Il valore medio di DTPA-VFG era di 135 ± 44 ml/min/1.73m². Il valore medio della SCr era 0.47 ± 0.17 mg/dl e di SCysC di 1 ± 0.4 mg/L. I valori medi dei VCG stimati e le rispettive deviazioni standard sono riportati in tabella 4.2.

La lunghezza ecografica renale media era di 100 ± 17 mm, il rapporto USL/H medio di $0.8\pm 0,1$ e il $\Delta\%$ tra lunghezza renale misurata e attesa di $1,13\pm 11,4$ (tabella 4.2), il 66% aveva sviluppato ipertrofia renale.

Età anni	7,3±5
Maschi (%)	51 (74%)
SCr mg/dl	0.49±0.17
SCysC mg/L	1±0.4
DTPA-VFG	135±44
SCr-eVFG Schwartz	140±23
ScysC-eVFG Filler	98±35
ScysC-eVFG Grubb	136±70
ScysC-eVFG Bökenkamp	125±46
ScysC-eVFG Zappitelli	82±30
SCr-ScysC-eVFGZappitelli	70±19
Beta2 microglobulina U (mediana)	1,75 (range 1-27)
PrU/CrU	0,16±0,09
USL/H media	0.8±0.01
$\Delta\%$, media	1.13±11,4
Ipertrofia	49/74 (66%)

Tabella 4.2: Caratteristiche cliniche, laboratoristiche, strumentali e valutazione della VFG nella sottopopolazione di 74 pazienti che ha eseguito la scintigrafia con DTPA. La VFG ed eVFG sono espressi ml/min/1.73m²

4.2 Analisi Primaria confronto con DTPA-VFG

4.2.1 Analisi tra marker glomerulari (SCr, SCysC e PrU/CrU) e tubulari (Beta2-microglobulina urinaria) con DTPA-VFG

Per quanto riguarda i marker di funzione glomerulare, nei 74 pazienti in cui è stato studiato il DTPA-VFG, è stata riscontrata la sola correlazione di tipo inverso con la SCr (vedi figura 4.1). Nessuna correlazione è stata osservata invece con la SCysC, con il rapporto tra proteinuria e creatinuria (PrU/CrU) e con il marker di danno tubulare.

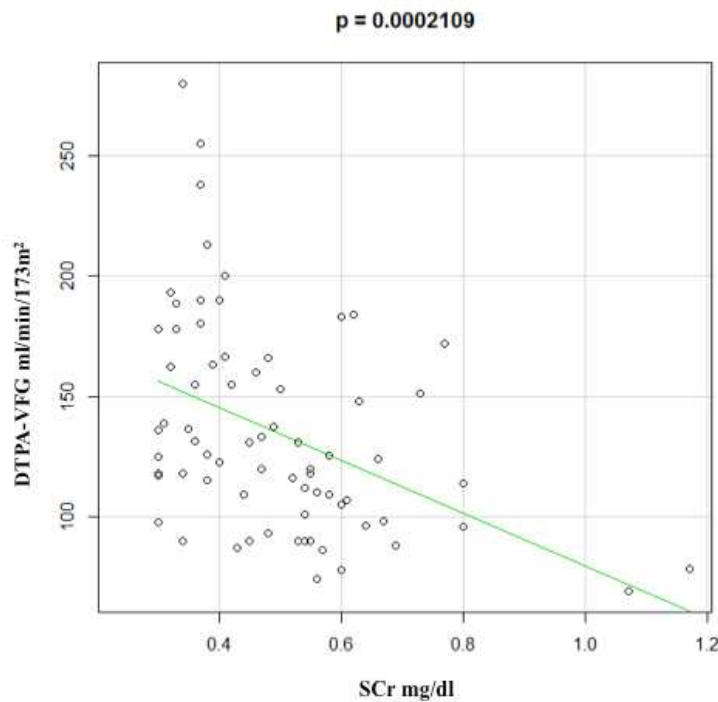


Figura 4.1: Correlazione statisticamente significativa tra e DTPA-VFG e SCr

4.2.2 Analisi tra VFG stimate e DTPA-VFG

Per quanto riguarda l'analisi tra le VFG calcolate mediante formule, e la DTPA-VFG, una correlazione debole e ai limiti della significatività è stata riscontrata con la formula SCrSCysC-Zappitelli che prende in considerazione sia i valori di creatinina sia di cistatina C (p=0.03, figura

4.2). Le altre formule di calcolo non sono risultate in grado di correlare con il gold standard. È riportata in figura 4.3 la correlazione non significativa con la formula di Schwartz che sfrutta la creatinina.

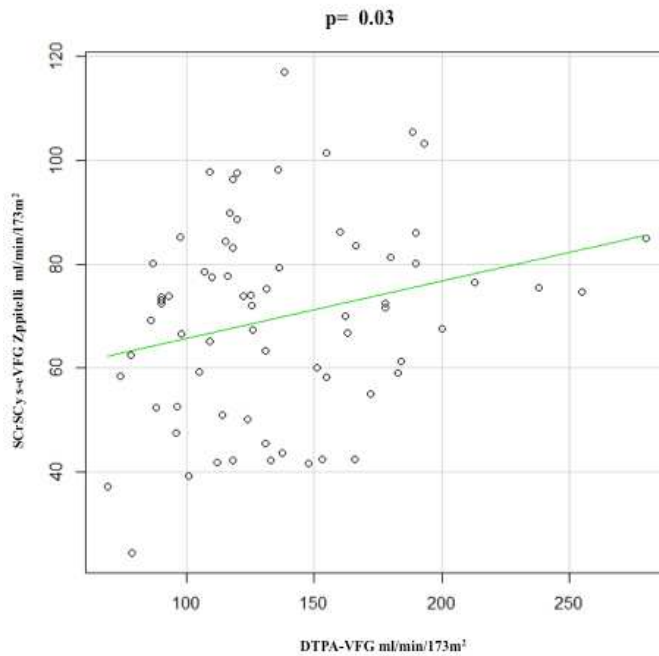


Figura 4.2: Correlazione significativa tra SCrSCysC-eVFG Zappitelli e DTPA-VFG.

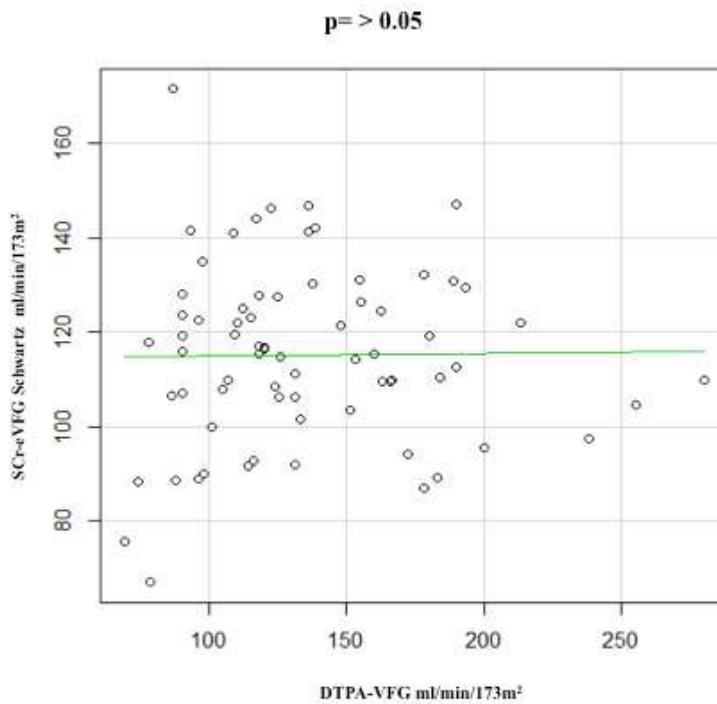


Figura 4.3: Regressione lineare non significativa tra SCr-eVFG Schwartz e DTPA-VFG

4.2.3 Analisi tra metodi di valutazione di crescita ecografica del rene singolo (USL/H , $\Delta\%$ tra lunghezza renale misurata e attesa e sviluppo d'ipertrofia) e DTPA-VFG

L'accuratezza di tre metodiche di valutazione della crescita renale è stata messa a confronto con il VFG misurato con scintigrafia con DTPA. Le tre metodiche valutano l'adeguatezza della crescita renale a partire dalla lunghezza del rene (diametro bipolare) e sono: il rapporto lunghezza ecografica/altezza corporea (USL/H), la differenza percentuale tra lunghezza misurata e attesa ($\Delta\%$) e la presenza d'ipertrofia compensatoria valutata come crescita superiore al 95° percentile rispetto ai nomogrammi di Dinkel.

L'unica correlazione statisticamente significativa è stata trovata con rapporto USL/H ($p=0.0003$ Figura 4.4). Non è stata trovata alcuna correlazione con il $\Delta\%$ (figura 4.5) Nessuna differenza tra le mediane di VFG- DTPA dei soggetti con e senza ipertrofia compensatoria (figura 4.6).

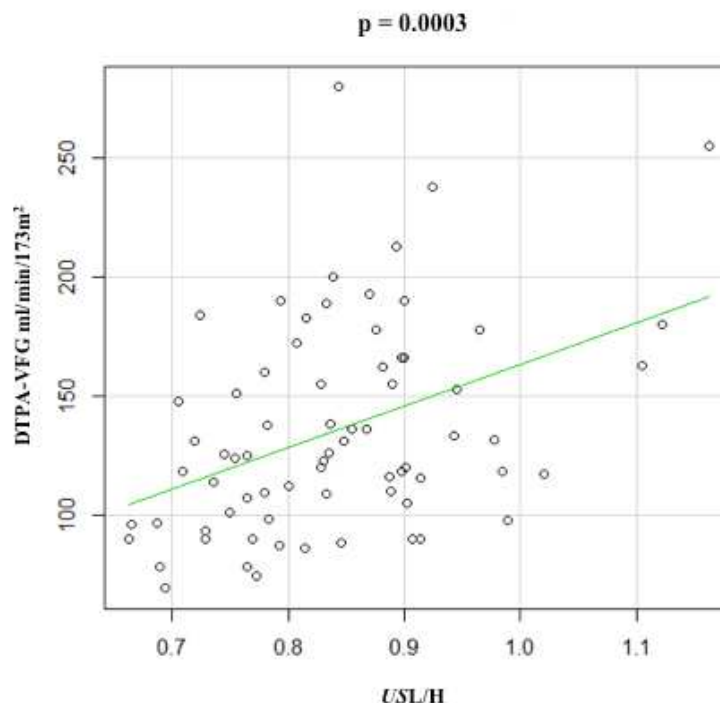


Figura 4.4: Correlazione significativa tra rapporto lunghezza renale e altezza corporea (USL/H) e DTPA-VFG.

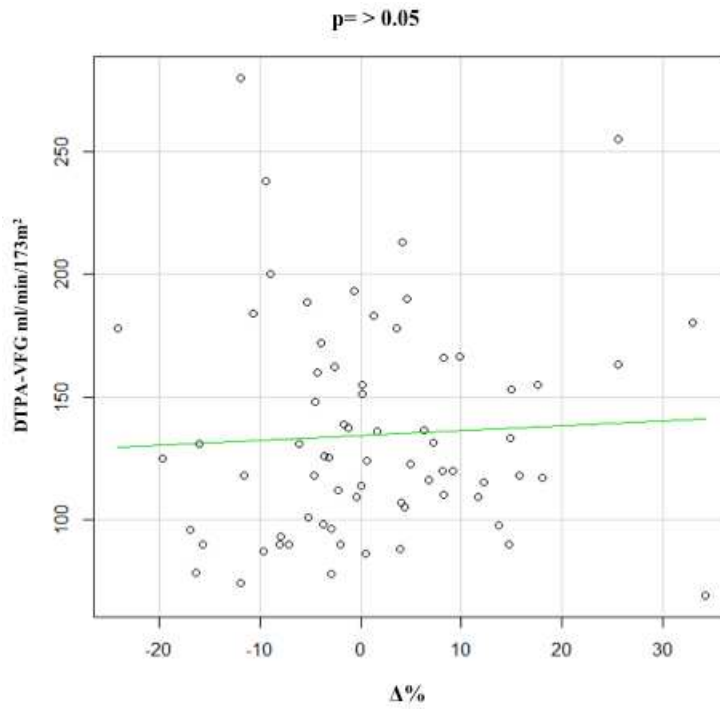


Figura 4.5: Correlazione tra differenza percentuale tra lunghezza misurata e attesa ($\Delta\%$) DTPA-VFG.

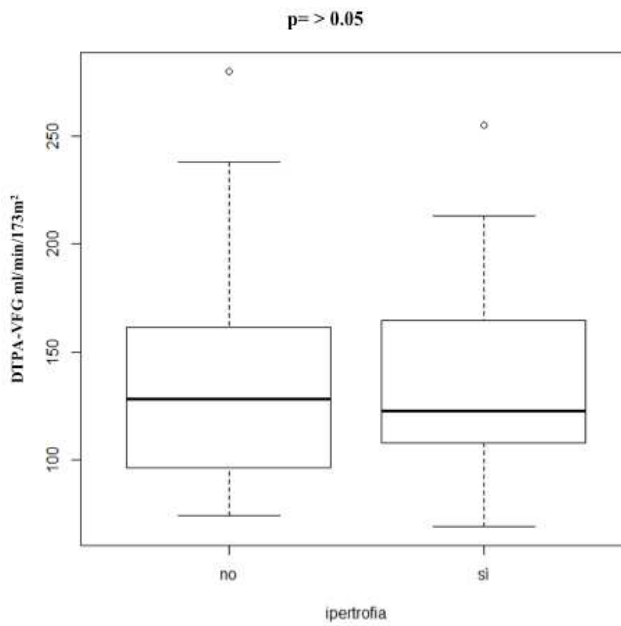


Figura 4.6: Box plot tra valori medi di DTPA-VFG dei soggetti con o senza ipertrofia

4.2.3 Analisi multivariata

E' stata eseguita un'analisi di regressione multipla con i parametri risultati significativi nell'analisi verso il DTPA-VFG. Nell'analisi di regressione multipla *USL/H* è risultato il marker che correla in maniera significativa e indipendente con il DTPA-VFG ($p=1.54^{-07}$).

4.3 Analisi secondaria confronto con *USL/H*

E' stata studiata nell'intera popolazione all'ultima visita la correlazione tra la crescita renale stimata con *USL/H* e i marker glomerulari (SCr, SCys e PrU/CrU), tubulari (Beta2 microglobulina urinaria) e con i VFG stimati con le diverse formule.

4.3.1 Caratteristiche generali

Nella tabella 4.3 sono riportati i dati demografici, laboratoristici ed ecografici dell'intera popolazione di 118 pazienti riguardo l'ultima visita (età media 8 ± 5 anni). Per quanto concerne i dati ecografici, la lunghezza ecografica media era di 100 ± 18 mm, il 73% presentava ipertrofia compensatoria; il rapporto lunghezza ecografica su altezza (*USL/H*) era di 0.84 ± 0.09 , il $\Delta\%$ tra lunghezza renale misurata e attesa di 0.77 ± 18 .

4.3.2 Correlazione tra marker glomerulari (SCr, SCysC e PrU/CrU) e tubulari (Beta2-microglobulina-urinaria) di danno renale con *USL/H*

L'analisi ha mostrato una forte correlazione di tipo inverso tra SCr e l'*USL/H*, valori di creatinina più elevati si associavano a un rapporto *USL/H* minore ($p=5.5-11$, figura 4.6) e una correlazione diretta con il rapporto proteinuria/creatinuria ($p=0.005$, figura 4.7). Nessuna correlazione è stata osservata con ScysC e la Beta2-microglobulina-urinaria.

Età anni	8±5
-----------------	-----

SCr mg/dl	0.5±0.19
SCysC mg/L	0.9±0.16
SCr-eVFG Schwartz	136±32
ScysC-eVFG Filler	106±21
ScysC-eVFG Grubb	145±43
ScysC-eVFG Bökenkamp	135±27
ScysC-eVFG Zappitelli	88±18
SCr-ScysC-eVFGZappitelli	74±16
Beta2 microglobulinaU mg/l	1 (range 0.5-4.7)
PrU/CrU	0,16±0,08
Lunghezza ecografia (mm)	110±18
USL/H media	0.84±0.09
Δ%, media	0.77±18
Ipertrofia	87/118 (73%)

Tabella 4.3: Caratteristiche cliniche, laboratoristiche, strumentali e VFG dei 118 pazienti all'ultima valutazione. I valori sono riportati come media e deviazione standard, eccetto che per la beta2 microglobulina urinaria di cui è riportata la mediana; la VFG è espressa in [ml/min/1.73m²].

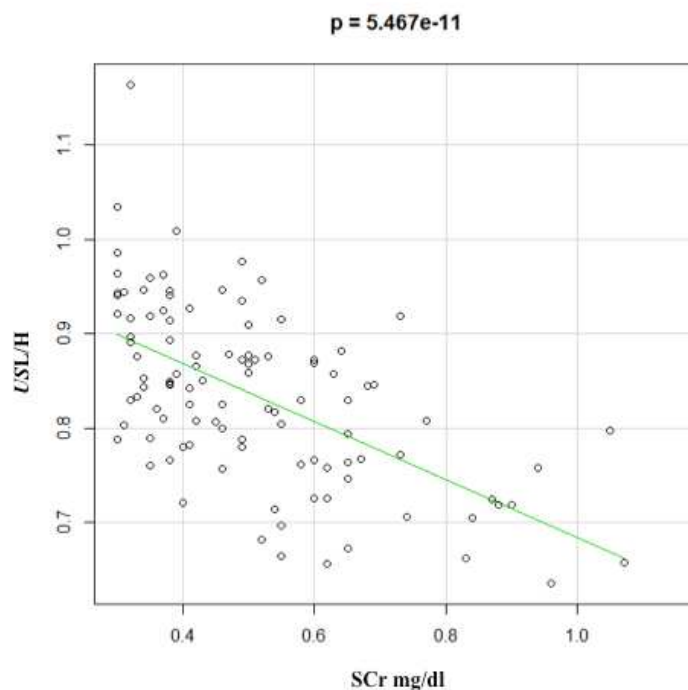


Figura 4.6: Correlazione significativa tra SCr e l'USL/H.

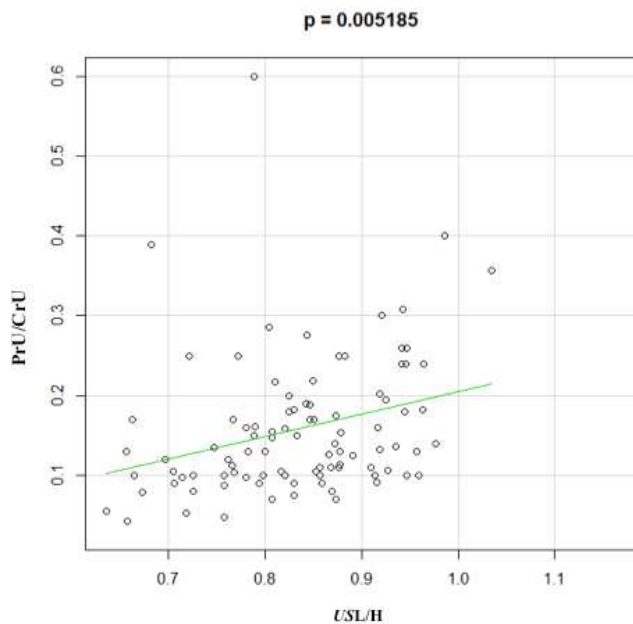


Figura 4.7: Correlazione significativa tra PrU/CrU e l'USL/H.

4.3.3 Correlazioni tra VFG stimate e USL/H

La correlazione tra le VFG calcolate con le diverse formule e l'*USL/H*, ha mostrato solamente una correlazione ai limiti della significatività con SCr-eVFG Schwartz (vedi figura 4.8).

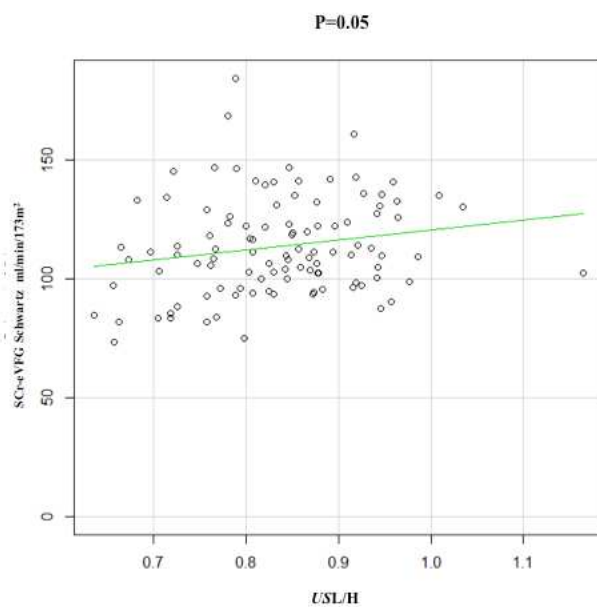


Figura 4.8: Correlazione ai limiti della significatività tra SCr-eVFG Schwartz e *USL/H*.

Capitolo 5

5.1 Discussione

La condizione di rene singolo congenito è stata oggetto negli ultimi 30 anni di continuo dibattito riguardo le conseguenze cliniche a lungo termine con diversi studi che hanno riportato un rischio concreto di danno renale cronico stimato intorno al 30% [37, 43].

La storia naturale di questa condizione non è completamente definita e non è chiara quale possa essere la patogenesi del danno. Pertanto non vi è accordo univoco su come monitorare questi pazienti, il follow-up cui sottoporli e i marker laboratoristici o esami strumentali da utilizzare in grado di identificare i pazienti a maggior rischio.

Il monorene, essendo un'anomalia strutturale dei reni della durata superiore ai tre mesi, può essere considerata una condizione di malattia renale cronica I stadio, come definito dalle linee guida KDOQI [55].

A maggior ragione, dunque, sono necessari marker capaci di valutare in modo sensibile la funzione renale e di individuare i pazienti a rischio di presentare una riduzione del filtrato glomerulare.

Nello studio oggetto della tesi è stata valutata l'affidabilità di alcuni marker laboratoristici di danno glomerulare e tubulare, di alcune formule per stimare il filtrato glomerulare e della crescita renale ecografica nel correlare con la funzione renale valutata come velocità di filtrazione glomerulare misurata con il DTPA. Quest'ultima metodica è considerata al pari della clearance dell'inulina una tecnica gold standard per la valutazione del filtrato [50-52].

La popolazione dello studio è di 118 pazienti con una prevalenza maggiore del sesso maschile, dato in linea con quanto descritto in letteratura. La diagnosi prenatale è stata fatta nel 65% dei casi. La mancanza di diagnosi in epoca prenatale, nonostante l'implementazione delle tecniche ecografiche di

diagnostica, è un dato riportato in letteratura [8, 18-19] e potrebbe essere la conseguenza dell'ipertrofia della ghiandola surrenalica nella loggia renale vuota, oppure di condizioni di aplasia renale. A differenza di quanto descritto in altri studi, nella nostra popolazione non c'è differenza per quanto riguarda il lato più colpito. Nessuno dei bambini arruolati al momento dell'ultima valutazione aveva sviluppato proteinuria o riduzione del filtrato glomerulare secondo le definizioni degli outcome fornite nella appendice. Il 70% dei soggetti ha sviluppato ipertrofia compensatoria e anche tale dato concorda con quanto riportato in letteratura [21-23].

Dalla valutazione dei marker renali di danno glomerulare (creatinina, cistatina C e proteinuria) e di danno tubulare, la beta2 microglobulina urinaria, è emerso che la sola creatinina è in grado di correlare in maniera statisticamente significativa con il gold standard utilizzato, ovvero il filtrato glomerulare misurato con DTPA. In particolare dall'analisi di regressione lineare è emerso come all'aumentare di valori di creatinina si riduca il filtrato glomerulare misurato. Si conferma dunque l'utilità della creatinina nel valutare la funzione renale a dispetto di altri marker come per esempio la cistatina C. Tale dato è emerso anche da altri studi. Recentemente Andersen et al., hanno studiato, in una coorte di 119 bambini con nefrouropatie, l'accuratezza della SCr e della SCysC utilizzando come gold standard il filtrato glomerulare valutato come clearance plasmatica del cromo EDTA [8]. La creatinina sierica è risultata il marker sierico che correlava meglio con il gold-standard. In precedenza, Stickle et al. in una popolazione di 67 bambini con diverse patologie renali, hanno dimostrato che la SCysC e la SCr avevano un'adeguatezza equivalente nello stimare la VFG se rapportate alla clearance dell'inulina [69].

Per quanto riguarda la cistatina C i dati riportati da altri studi non sempre concordano con quanto dimostrato dal nostro studio. Herget-Rosental et al. hanno dimostrato che dopo un intervento di nefrectomia, la VFG si riduceva

del 45% mentre la cistatina C aumentava del 50-100%; la creatinina invece aumentava ma con una latenza di tempo maggiore [70].

John et al. hanno dimostrato in 28 donatori di rene che 10 giorni dopo la nefrectomia alla riduzione del filtrato glomerulare era corrisposto un aumento della creatinina sierica nel 40% e della cistatina C nel 31% dei casi [71]. Nella nostra popolazione i valori medi di cistatina C al momento della valutazione con DTPA erano di circa 1 mg/L e quindi ai limiti superiori considerando come cut-off 0.95 mg/L (valore di riferimento per la ScysC [72]). Questo dato è in linea con quanto evidenziato da Wasilenwska et al. in una coorte di 36 soggetti con rene singolo congenito, dove il 40% dei pazienti presentava valori di SCysC >0.95 mg/L [73].

Per quanto riguarda la correlazione tra le formule di calcolo della VFG e il DTPA, è stata trovata solamente una debole correlazione con la formula di Zappitelli basata sulla creatinina e sulla cistatina C [65].

E' noto che l'accuratezza di formule ed equazioni sviluppate per stimare il filtrato glomerulare, e che utilizzano marker laboratoristici di funzione renale (es creatinina e cistatina C), possa variare in base alla popolazione studiata.

Nella fattispecie per quanto riguarda i pazienti con rene singolo, è stato dimostrato che tutte le formule per stimare la VFG mediante biomarker sierici mostrano imprecisione maggiore rispetto ai pazienti pediatrici con due reni [74,75]. Nella nostra popolazione i valori medi e le deviazioni standard dei filtrati ottenuti con le diverse formule utilizzate mostrano un'ampia variabilità con alcune di esse che tendono a sovrastimare il filtrato, a es la Schwartz, e altre come le formule di Zappitelli a sottostimarlo. Questa variabilità è stata osservata anche in altri studi. Nel 2011, Sharma et al., hanno studiato una popolazione di 240 bambini, stratificandola per valori di VFG, concludendo che l'accuratezza diagnostica delle diverse equazioni per calcolare la VFG con la SCysC, variava a seconda della VFG misurata. Le formule del VFG calcolate con la

ScysC, di Bökenkamp e Filler, erano più accurate nel valutare $VFG > 135$ ml/min/1.73m², mentre le formule di Zappitelli che utilizzavano la SCysC e la combinazione di SCr e SCysC erano più sensibili per $VFG < 90$ ml/min/1.73m² [76]. Quest'ultimo dato, riguardante la formula di Zappitelli che sfrutta sia la creatinina sia la cistatina C, sembrerebbe confermato anche dal nostro studio. La correlazione significativa tra SCr-ScysC-eVFG-Zappitelli e DTPA-VFG sembrerebbe maggiore, infatti, per i valori di filtrato più basso.

Lo studio ecografico per la valutazione della crescita renale nei pazienti con rene singolo congenito è considerato uno strumento utile per il follow-up. Una crescita compensatoria del rene singolo è un evento atteso e la massa renale può crescere fino a due volte rispetto a un rene normale (77). La valutazione della crescita compensatoria può essere valutata in vari modi. Nel nostro studio l'abbiamo valutata con tre metodiche (*USL/H*, differenza percentuale tra lunghezza misurata e attesa per età, in maniera binomiale come presenza o assenza di ipertrofia compensatoria) che sono state confrontate con il gold standard DTPA-VFG. L'unica metodica capace di correlare in maniera forte e indipendente (come dimostrato anche dalla multivariata) con DTPA-VFG è stata il rapporto tra lunghezza ecografica del rene e altezza corporea (*USL/H*) con un andamento di tipo lineare.

Questo risultato conferma come le dimensioni renali possano essere un indicatore, nei pazienti con rene singolo, di benessere renale. Infatti, una scarsa crescita renale correla con valori di VFG più bassi.

Questo risultato è in linea con quanto affermato da Wilson et al. [78], i quali hanno dimostrato, in una coorte di 74 bambini sani con rene singolo, che reni con lunghezza ecografica maggiore avevano un filtrato misurato mediante clearance dell'inulina superiore (Figura 5.1). Levitt et al., nel 1992, hanno trovato in una coorte di 82 pazienti con rene singolo acquisito per nefrectomia da tumore di Wilms, correlazione tra dimensione renale e

funzione renale a lungo termine ovvero che un rene con dimensioni $<2SD$ correlava con una bassa VFG [84].

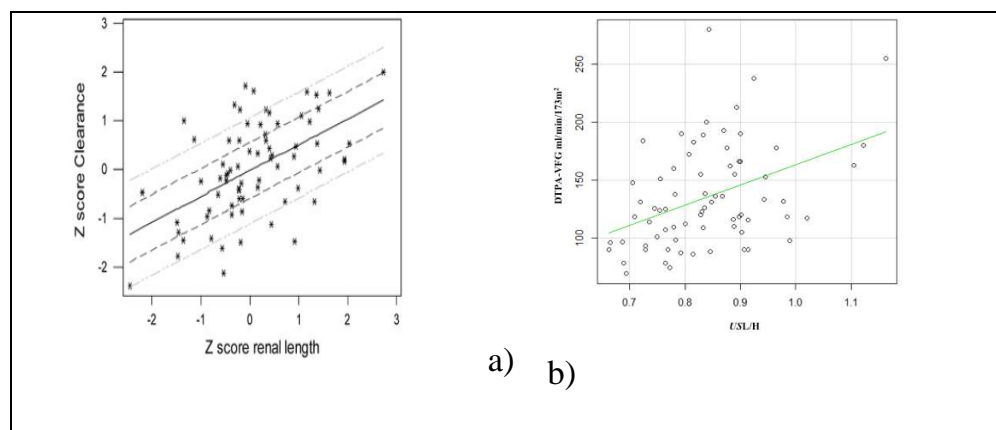


Figura 5.1: a) [83] correlazione significativa tra lunghezza renale corretta per l'altezza e la Clearance dell'inulina in soggetti con rene singolo congenito b) correlazione tra USL/H e DTPA-VFG nel presente studio.

Il rapporto *USL/H*, essendo la variabile indipendente più forte all'analisi multivariata, è stato utilizzato come riferimento per la valutazione dei marker di danno glomerulare, tubulare e delle formule di calcolo del filtrato al momento dell'ultima visita nell'intera popolazione studiata.

E' emersa una correlazione forte di tipo inverso con la creatinina e di tipo diretto ma ai limiti della significatività con il filtrato calcolato con la formula di Schwartz. In letteratura Paleologo et al., nel 2007, hanno dimostrato in una popolazione di 63 pazienti, 33 donatori di rene e 30 trapiantati di rene, come la lunghezza renale avesse un'accuratezza sovrapponibile ai test di laboratorio (SCr), nel valutare il GFR [80]. Nel 2007, Adibi et al., hanno dimostrato che le dimensioni ecografiche renali, correlavano con la VFG calcolata tramite la formula di Schwartz in 116 bambini sani [81].

Dall'analisi di correlazione tra SCysC e USL/H, nel presente studio, non è emersa alcuna significatività. Questo risultato è in contrasto con Wasilewska et al., i quali hanno trovato correlazione tra SCysC e lunghezza

ecografica renale rapportata all'altezza del soggetto. Viceversa gli stessi autori non hanno riscontrato correlazione con la creatinina [73].

In controtendenza appare invece la correlazione trovata tra rapporto proteinuria/creatinuria con l'USL/H. Da tale correlazione emergerebbe che a rapporti più alti di USL/H corrisponderebbero valori di proteinuria, anche se non patologici, più alti.

Tale risultato arriva a confermare i dubbi sul reale significato della crescita renale compensatoria in questi pazienti: ipertrofia dei nefroni rimanenti o iperplasia glomerulare?

Secondo l'ipotesi di Brenner, documentata in modelli sperimentali, a una riduzione della massa renale seguirebbe un adattamento dei rimanenti nefroni che oltre ad un certo limite condurrebbe a un aumento della perfusione renale con iperfiltrazione e graduale declino della funzione renale caratterizzata da proteinuria, ipertensione e declino del filtrato glomerulare [82].

Altri studi di tipo autoptico sia su uomini sia su animali hanno mostrato invece che nei pazienti con rene singolo potrebbe verificarsi una glomerulogenesi compensatoria [31-33]. Maluf in uno studio autoptico di due giovani morti improvvisamente, ha comparato un rene singolo congenito a un rene normale trovando che il rene singolo era 1.8 volte più pesante e aveva un numero di nefroni doppio senza evidenza d'ipertrofia glomerulare [31]. In maiali e pecore con rene singolo congenito, è stato dimostrato che la crescita compensatoria rifletteva principalmente la presenza d'iperplasia glomerulare, uguale al 70-75% del numero totale di nefroni dei controlli con due reni (32, 33).

Il limite principale dello studio al momento è dovuto al fatto che nessuno dei pazienti ha sviluppato un outcome renale sfavorevole secondo le definizioni fornite in appendice. Pertanto non è possibile stabilire dei cut-off di normalità, per i parametri che hanno mostrato una correlazione con il

DTPA-VFG quali il rapporto *USL/H* o di risolvere la controversia sul reale significato crescita compensatoria renale.

5.2 Conclusioni

Il nostro studio ha mostrato, così come avviene per altre patologie di tipo nefrourologico, che sia la creatinina sierica che l'ecografia renale sono due strumenti fondamentali, a basso costo, facilmente riproducibili e ripetibili per l'inquadramento e il follow-up dei pazienti con rene singolo congenito. Limiti importanti sono emersi invece, oltre che per le formule di stima del filtrato, per altri marker di danno renale come cistatina C e la beta due microglobulina urinaria. Pertanto, visti i costi e la non disponibilità in tutti i laboratori analisi, il loro utilizzo nella routine clinica non è al momento consigliabile.

Da stabilire in base all'andamento nel lungo termine, invece il reale significato del rapporto proteinuria/creatinuria.

APPENDICE

Studio osservazionale di coorte prospettico longitudinale:
OUTCOME A LUNGO TERMINE DEI PAZIENTI PEDIATRICI
CON RENE SINGOLO CONGENITO

L'arruolamento di pazienti del suddetto studio è iniziato in data 1/06/2010 e proseguirà fino al 30/5/2013 ed ha come setting la Struttura Semplice di Nefrologia e Dialisi Pediatrica dell'unità Operativa di Pediatria Specialistica del Dipartimento Attività integrata per la salute della donna, del bambino e dell'adolescente Azienda Ospedaliero – Universitaria di Bologna Policlinico Sant'Orsola – Malpighi diretta da Prof. A. Pession.

All'interno dello studio sono arruolati pazienti di entrambi i sessi con diagnosi di rene singolo congenito confermata mediante scintigrafia renale che presentino i seguenti criteri d'inclusione:

- età compresa tra 0-18 anni al momento dell'entrata nello studio;
- Acquisizione del consenso a partecipare allo studio da parte dei genitori\esercenti la responsabilità genitoriale.

L'esclusione dallo studio è prevista in caso di presenza al momento dell'arruolamento di:

- Insufficienza renale definita come filtrato glomerulare calcolato secondo Schwartz [53] al di sotto dei valori di normalità per età ed età gestazionale stabiliti dalla National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative clinical practice guidelines for chronic kidney disease in children and adolescents [55];
- Rene singolo associato a valvole dell'uretra posteriore;
- Diabete;

- Cardiopatie o malattie vascolari;
- Patologie autoimmuni.

Al momento dell'arruolamento dopo aver raccolto che l'anamnesi è stata raccolta, ciascun paziente è sottoposto a:

- Visita (parametri auxologici + PAO);
- Ecografia renale;
- Cistografia minzionale (se reflusso \geq al III grado, profilassi antibiotica);
- Esami laboratoristici per funzionalità glomerulare e tubulare (emocromo, elettroliti, creatinemia, azotemia, cistatina C, esame urine, proteinuria, microalbuminuria, elettroliti urinari, Beta2 microglobulina, Lisozima urinario, NGAL, NHE3, KIM1, NAG, Emogas analisi venosa);
- Scintigrafia con DTPA per studio clearance renale al tempo 0 ma non prima dell'età di due anni e comunque almeno tre mesi dopo l'esecuzione di altra metodica scintigrafica nucleare.

Durante le valutazioni di follow-up vengono eseguite:

- Visita, ecografia reni e vie urinarie, prelievo per funzionalità glomerulare e tubulare ogni sei mesi fino ai due anni di vita poi annualmente (se al momento dell'inclusione il bambino ha più di due anni controllo ogni sei mesi per il primo anno per eventuale completamento diagnostico e poi annuale);
- Scintigrafia con DTPA di controllo a tempi stabiliti in base all'età al momento dell'ingresso nello studio:
 - Se età \leq di 2 anni a 5 e 10 anni di età;

- Se età > di 2 anni prima determinazione al tempo 0 ed in seguito a 5 anni ed in seguito a fine follow-up.
- Holter pressorio a tempi stabiliti in base all'età al momento dell'ingresso nello studio:
- Se età ≤ di 7 anni: all'età di 7 anni, 10 anni e a fine follow-up;
 - Se età > di 7 anni e < di 10 anni: prima determinazione al tempo 0 e in seguito a 10 anni e in seguito a fine follow-up;
 - Se età ≥ di 10 anni: prima determinazione al tempo 0 e in seguito a 5 e 10 anni di follow-up
- Cistouretrografia minzionale (CUMS) di controllo solo su indicazione clinica;
- In caso d'infezione delle vie urinarie con febbre esecuzione di scintigrafia con DMSA a sei mesi dall'evento.

Gli outcome dello studio sono definiti nel modo seguente:

1. Insufficienza renale terminale definita secondo i criteri stabiliti dalla National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative clinical practice guidelines for chronic kidney disease in children and adolescents [58].
2. Insufficienza renale cronica definita secondo i criteri stabiliti dalla National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative clinical practice guidelines for chronic kidney disease in children and adolescents [58].

3. Ipertensione arteriosa definita come valori di pressione PAS o PAD $\geq 95^{\circ}$ secondo i valori stabiliti per centile di altezza dal National High Blood Pressure Education Program Working Group [83].
4. Proteinuria su campione di urine definita come rapporto PrU/CrU (mg/mg) stabiliti dalla National Kidney Foundation conference on proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, and elimination (PARADE) [84].

BIBLIOGRAFIA

1. Toka HR, Toka O, Hariri A, Nguyen HT. Congenital anomalies of kidney and urinary tract. *Semin Nephrol.* 2010 Jul;30(4):374-86.
2. Richter-Rodier M, Lange AE, Hinken B, Hofmann M, Stenger RD, Hoffmann W, Fusch C, Haas JP. Ultrasound screening strategies for the diagnosis of congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Ultraschall Med.* 2012 Dec. Schedl et al.
3. Renal abnormalities and their developmental origin. *Nat Rev Genet.* 2007 Oct;8(10):791-802. Review.
4. Ardissino G, Daccò V, Testa S, et al; Italkid Project. Epidemiology of chronic renal failure in children: data from the Italkid project. *Pediatrics.*2003;111(4).Available at: www.pediatrics.org/cgi/content/full/111/4/e382
5. North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies. Annual report, 2008. Available at: <https://web.emmes.com/study/ped>. Accessed January 30, 2012
6. Kass EJ, Bloom D. Anomalies of urinary tract in Edelman CM, *Pediatric renal disease*, Little Brown, Boston 1992; pp.2023-2025.
7. Rajesh et Al. Congenital renal agenesis: a review. *Saudi J Kidney Dis Transplant* 2003; 14(1):336-341.
8. Wolff A et Hillman K. Unilateral renal agenesis and the congenital solitary functioning kidney: developmental, genetic and clinical perspectives. *Bju International* 2006; 99, 17-21
9. Roseblum, N.D., Salomon, R. (2008), Disorders of kidney formation, in D.F. Geary, F. Schaefer, *Comprehensive Pediatric Nephrology*, Mosby Elsevier, Capitolo 7, pp. 131-142.
10. Hiraoka M, Tsukahara H, Ohshima Y, Kasuga K, Ishihara Y, Mayumi M. Renal aplasia is the predominant cause of congenital solitary kidneys. *Kidney Int* 2002; 61:1840-4 14

11. Rabelo EA, Oliveira EA, Diniz JS et al. Natural history of multicystic kidney conservatively managed: a prospective study. *Pediatr Nephrol* 2004; 19:1102–7
12. Valentini RP, Langenburg S, Imam A, Mattoo TK, Zerin JM. MRI detection of atrophic kidney in a hypertensive child with a single kidney. *Pediatr Nephrol* 2005; 20:1192–4
13. [Weber S](#). Novel genetic aspects of congenital anomalies of kidney and urinary tract. [Curr Opin Pediatr](#). 2012 Apr;24(2):212-8.
14. Nakanishi K, Yoshikawa N. Genetic disorders of human congenital anomalies of kidney and urinary tract (CAKUT). *Pediatrics International* 2003; 45: 610-16
15. Weber S, Moriniere V, Knüppel T, Charbit M, Dusek J, Ghiggeri GM, Jankauskienė A, Mir S, Montini G, Peco-Antic A, Wühl E, Zurowska AM, Mehls O, Antignac C, Schaefer F, Salomon R. Prevalence of mutations in renal developmental genes in children with renal hypodysplasia: results of the ESCAPE study. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Oct;17(10):2864-70
16. Arfeen S, Rosborough D, Luger AM, Nolph KD. Familial unilateral renal agenesis and focal and segmental glomerulosclerosis. *Am J Kidney Dis* 1993;21: 663
17. Barwick TD, Malhotra A, Webb JA, Savage MO, Reznek RH. Embryology of the adrenal glands and its relevance to diagnostic imaging. *Clin Radiol* 2005; 60: 953–9
18. Yuksel A, Batukan C. Sonographic findings of fetuses with an empty renal fossa and normal amniotic fluid volume. *Fetal Diagn Ther* 2004; 19:525–32
19. Hughson M, Farris AB 3rd, Douglas-Denton R, Hoy WE, Bertram JF. Glomerular number and size in autopsy kidneys: the relationship to birth weight. *Kidney Int*. 2003; Jun;63(6):2113-22
20. Hill LM, Nowak A, Hartle R, Tush B. Fetal compensatory renal hypertrophy with a unilateral functioning kidney. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 15:191–3

21. Glazebrook K, McGrath F, Steele BT. Prenatal compensatory renal growth: documentation with US. *Radiology* 1993; 189: 733–735
22. Abidari JM, Park KH, Kennedy WA, Shortliffe LD. Serial follow up of the contralateral renal size in children with multicystic dysplastic kidney. *J Urol.* 2002 Oct;168(4 Pt 2):1821-5; discussion 1825
23. Hostetter TH, Troy JL, Brenner BM. Glomerular hemodynamics in experimental diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1981; Mar;19(3):410-5.
24. Brenner BM, Meyer TW, Hostetter TH. Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. *N Engl J Med.* 1982; Sep 9;307(11):652-9
25. Fotino S. The solitary kidney: a model of chronic hyperfiltration in humans. *Am J Kidney Dis* 1989;13:88–98
26. Hedge S, Coulthard M G. Renal agenesis and unilateral nephrectomy: what are the risk of living with a single kidney? *Pediatr Nephrol* 2009; 24:439-446
27. Thorner P, Arbus G, Calermajer D, Baumal R. Focal segmental glomerulosclerosis and progressive renal failure associated with a unilateral kidney. *Pediatrics* 1984; 73:806–810
28. Lan RR, Huang JJ, Sung JM, Lid SN. Congenital solitary kidney: Review of 14 cases and their outcome on comparison with uninephrectomized patients. *Acta Nephrol* 1996; 10:26–31
29. Zucchelli P, Cagnoli L, Casanova S, Donini U, Pasquali S. Focal glomerulosclerosis in patients with unilateral nephrectomy. *Kidney Int* 1983; 24:649–655
30. Okuda S, Motomura K, Sanai T, Onoyama K, Fujishima M. High incidence of glomerular sclerosis in rats subjected to uninephrectomy at young age. *Nephron* 1988; 49:240–244
31. Maluf NS. On the enlargement of the normal congenitally solitary kidney. *Br J Urol* 1997; 79:836–841

32. Van Vuuren SH, Sol CM, Broekhuizen R et al. Compensatory Growth of Congenital Solitary Kidneys in Pigs Reflects Increased Nephron Numbers Rather Than Hypertrophy PLoS One 2012;7:e49735.
33. Lankadeva YR, Singh RR, Tare M, Moritz KM, Denton KM Loss of a kidney during fetal life: Long term consequences and lessons learnt. Am J Physiol Renal Physiol 2014;306:F791-800
34. Vu KH, Van Dyck M, Daniels H, Proesmans W. Renal outcome of children with one functioning kidney from birth. A study of 99 patients and a review of the literature. Eur J Pediatr.2008;167(8):885-890
35. Mansoor O, Chandar J, Rodriguez MM et al. Long-term risk of chronic kidney disease in unilateral multicystic dysplastic kidney.Pediatr Nephrol 2011; 26:597–603
36. Westland R, Kurvers RA, van Wijk JA, Schreuder MF. Risk Factors for Renal Injury in Children With a Solitary Functioning Kidney. Pediatrics. 2013 Jan 14.
37. Chevalier RL. When is one kidney not enough? Kidney International 2009; 76:475-477
38. Kiprof DD, Colvin RB McCluskey RT. Focal and segmental glomerulosclerosis and proteinuria associated with unilateral renal agenesis. Lab Invest 1982; Mar,46(3):275-81
39. Argueso LR, Ritchey ML, Boyle ET Jr, Milliner DS, Bergstralh EJ, Kramer SA.Prognosis of patients with unilateral renal agenesis. Pediatr Nephrol.1992;6(5):412-416
40. Kuwertz Broeking E, Brinkmann OA, Von Lengerke HJ, Sciuk J, Freund S, Bulla M et al. Unilateral multicystic dysplastic kidney: experience in children. BJU Int 2004;93(3):388-392
41. Seeman T et Al. Blood pressure, renal function, and proteinuria in children with unilateral renal agenesis. Kidney Blood Pres Res 2006; 29:210-15

42. Sanna-Cherchi S. et Al. Renal outcome in patients with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Kidney International* 2009; 76:528-533
43. Westland R, Schreuder MF, Bökenkamp A, Spreeuwenberg MD, van Wijk JA. Renal injury in children with a solitary functioning kidney--the KIMONO study. *Nephrol Dial Transplant*. 2011 May;26(5):1533-41.
44. Abou Jaoudé P, Dubourg L, Bacchetta J, Berthiller J, Ranchin B, Cochat P. Congenital versus acquired solitary kidney: is the difference relevant? *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 2188–2194
45. Ibrahim HN , Foley R , Tan L et Al. Long-term consequences of kidney donation, *N Engl J Med* 2009; 360: 459– 469.
46. Filler G, Yasin A, Medeiros M. Methods of assessing renal function. *Pediatr Nephrol*. 2013 Feb 17.
47. Filler G, Huang SH, Yasin A. The usefulness of cystatin C and related formulae in pediatrics. *Clin Chem Lab Med*. 2012 Dec;50(12):2081-91.
48. Blafox MD, Aurell M, Bubeck B et al. Report of the Radionuclides in Nephrourology Committee on renal clearance. *J Nucl Med* 1996; 37:1883-1890.
49. Piepsz A, Colarinha P, Gordon I et al: Guidelines for glomerular filtration rate determination in children. EANM guidelines
50. Rehling M Nielsen LE, Marqversen J. Protein binding of ^{99m}Tc-DTPA compared with other GFR tracers. *nucl Med Commun*. 2001 Jun;22(6):617-23.
51. Rehling M, Møller ML, Thamdrup B, Lund JO, Trap-Jensen J. Simultaneous measurement of renal clearance and plasma clearance of ^{99m}Tc-labelled diethylenetriaminepenta-acetate, ⁵¹Cr-labelled ethylenediaminetetra-acetate and inulin in man. *Clin Sci (Lond)*. 1984 May;66(5):613-9.
52. Piciotto G, Cacace G, Cesana P, et al: Estimation of chromium-51 ethylene diamine tetra-acetic acid plasma clearance: a comparative

- assessment of simplified techniques. *Eur J Nucl Med* 1992; 19:30-35.
53. Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM Jr, Spitzer A (1976) A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 58:259–263
54. Levey AS, et al. A More Accurate Method To Estimate Glomerular Filtration Equation from Serum Creatinine: A New Prediction Equation. *Annals of Internal Medicine* 1999; 130(6): 461-470
55. Hogg RJ, Furth S, Lemley KV, Portman R, Schwartz GJ, Coresh J, Balk E, Lau J, Levin A, Kausz AT, Eknoyan G, Levey AS. National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative. *Pediatrics*. 2003 Jun;111(6 Pt 1):1416-21
56. Seikaly MG, Browne R, Bajaj G, Arant BS Jr (1996) Limitations to body length/serum creatinine ratio as an estimate of glomerular filtration in children. *Pediatr Nephrol* 10:709–711
57. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. *Pediatric Clinics of North America* 1987; 34:571-590
58. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Li L, Beck GJ, Joffe MM, Froissart M, Kusek JW, Zhang YL, Coresh J, Levey AS. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney Int.* 2009 Mar;75(6):652-60.
59. Orlando R, Mussap M, Plebani M, Piccoli P, De Martin S, Floreani M, Padrini R, Palatini P. Diagnostic value of plasma cystatin C as a glomerular filtration marker in decompensated liver cirrhosis. *Clin Chem.* 2002 Jun;48(6 Pt 1):850-8.
60. Laterza OF, Price CP, Scott MG. Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? *Clin Chem.* 2002 May;48(5):699-707.
61. Bacchetta J, Cochat P, Rognant N, Ranchin B, Hadj-Aissa A, Dubourg L. [Which creatinine and cystatin C equations can be](#)

- [reliably used in children?](#) Clin J Am Soc Nephrol. 2011 Mar;6(3):552-60.
62. Filler G, Lepage N. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? *Pediatr Nephrol* 18: 981–985, 2003
 63. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C—a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics* 101: 875–881, 1998
 64. Grubb A, Nyman U, Bjork J, Lindstrom V, Rippe B, Sterner G, Christensson A. Simple cystatin C-based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children. *Clin Chem* 51: 1420–1431, 2005
 65. Zappitelli M, Parvex P, Joseph L, Paradis G, Grey V, Lau S, Bell L. Derivation and validation of cystatin C-based prediction equations for GFR in children. Source Department of Pediatrics, Montreal Children's Hospital, Quebec, H3H 1P3, Canada.
 66. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G (2002) Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 40:221–226
 67. Dinkel E, Ertel M, Dittrich M, Peters H, Berres M, Schulte-Wissermann H. Kidney size in childhood. Sonographical growth charts for kidney length and volume. *Pediatr Radiol*. 1985;15(1):38-43.
 68. Krill A, Salami S, Rosen L, Friedman SC, Gitlin J, Palmer LS. Evaluating compensatory hypertrophy: a growth curve specific for solitary functioning kidneys. *J Urol* 2012;188:1613-1617
 69. Stickle D, Cole B, Hock K, Hruska KA, Scott MG. Correlation of plasma concentrations of cystatin C and creatinine to inulin

- clearance in a pediatric population. *Clin Chem*. 1998 Jun;44(6 Pt 1):1334-8.
70. Herget-Rosenthal S, Pietruck F, Volbracht L, Philipp T, Kribben A. Serum cystatin C--a superior marker of rapidly reduced glomerular filtration after uninephrectomy in kidney donors compared to creatinine. *Clin Nephrol*. 2005 Jul;64(1):41-6.
71. John GT, Fleming JJ, Talaulikar GS, Selvakumar R, Thomas PP, Jacob CK. Measurement of renal function in kidney donors using serum cystatin C and beta(2)-microglobulin. *Ann Clin Biochem*. 2003 Nov;40(Pt 6):656-8.
72. Finney H, Newman DJ, Thakkar H, Fell JM, Price CP. Reference ranges for plasma cystatin C and creatinine measurements in premature infants, neonates, and older children. *Arch Dis Child*. 2000 Jan;82(1):71-5.
73. Wasilewska A, Zoch-Zwierz W, Jadeszko I et Al. Assessment of serum cystatin C in children with congenital solitary kidney. *Pediatr Nephrol* 2006; 21:688–93
74. Fassett RG, Venuthurupalli SK, Gobe GC, Coombes JS, Cooper MA, Hoy WE. Biomarkers in chronic kidney disease: a review. *Kidney Int*. 2011 Oct;80(8):806-21.
75. Tan JC, Ho B, Busque S, Blouch K, Derby G, Efron B, Myers BD. Imprecision of creatinine-based GFR estimates in uninephric kidney donors. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010 Mar;5(3):497-502.
76. Sharma AP, Yasin A, Garg AX, Filler G. Diagnostic accuracy of cystatin C-based eGFR equations at different GFR levels in children. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011 Jul;6(7):1599-608. Epub 2011 Jun 23.
77. Dinkel E, Britscho J, Dittrich M, Schulte-Wissermann H, Ertel M. Renal growth in patients nephrectomized for Wilms tumour as compared to renal agenesis. *Eur J Pediatr* 1988,147:54–58

78. Wilson BE, Davies P, Shah K, Wong W, Taylor CM. Renal length and inulin clearance in the radiologically normal single kidney. *Pediatr Nephrol*. 2003 Nov;18(11):1147-51.
79. Levitt GA, Yeomans E, Dicks Mireaux C, Breatnach F, Kingston J, Pritchard J. Renal size and function after cure of Wilms' tumour. *Br J Cancer*. 1992 Nov;66(5):877-82
80. Paleologo G, Abdelkawy H, Barsotti M, Basha A, Bernabini G, Bianchi A, Caprio F, Emad A, Grassi G, Nerucci B, Tregnaghi C, Rizzo G, Donadio C. Kidney dimensions at sonography are correlated with glomerular filtration rate in renal transplant recipients and in kidney donors. *Transplant Proc*. 2007 Jul-Aug;39(6):1779-81.
81. Adibi A, Adibi I, Khosravi P. Do kidney sizes in ultrasonography correlate to glomerular filtration rate in healthy children? *Australas Radiol*. 2007 Dec;51(6):555-9.
82. Brenner BM, Lawler EV, Mackenzie HS (1996) The hyperfiltration theory: a paradigm shift in nephrology. *Kidney Int* 49: 1774–1777
83. National High Blood Pressure Education Program Working Group. The fourth report on the diagnosis, evaluation and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 2004;114 (suppl):555-76
84. Hogg RJ, Portman RJ, Milliner D, Lemley KV, Eddy A, Ingelfinger J. Evaluation and management of proteinuria and nephrotic syndrome in children: recommendations from a pediatric nephrology panel established at the National Kidney Foundation conference on proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, and elimination (PARADE). *Pediatrics* 2000 Jun;105(6):1242-46.