

**TAVOLA ROTONDA**  
**Nefrourologia: dal feto all'età evolutiva**

Presidenti: ARDUINI D. (Roma) – DEL SAVIO M. (Ancona)  
Moderatore: CATALDI L. (Roma)

DI RENZO G.C. – LUZI G. (Perugia):  
**Aspetti morfologici e funzionalità renale nel feto**

MUSSAP M. (Padova):  
**Diagnosi precoce di danno renale feto-neonatale: nuovi markers**

SIMEONI U. (Marsiglia):  
**L'insufficienza renale acuta in età neonatale**

FANOS V. (Verona):  
**Nuove possibilità di diagnosi precoce in pediatria: la cistatina C**

AGOSTINIANI R. (Pistoia):  
**Infezione delle vie urinarie e reflusso vescica-uretrale in età pediatrica:  
percorsi diagnostico terapeutici**

# ASPETTI MORFOLOGICI E FUNZIONALITA' RENALE NEL FETO

*G. Luzi G.C.Di Renzo*

*Dipartimento Materno-infantile, Azienda Ospedaliera di Perugia  
Centro di Medicina Perinatale e della Riproduzione, Università di Perugia*

L'accurata conoscenza e lo studio della funzionalità renale fetale è imprescindibile per il management delle gravidanze ad alto rischio al fine di prevenire l'insufficienza renale perinatale.

La sopravvivenza dei nati con ritardo di accrescimento e/o pretermine < 1000 gr. è infatti fortemente condizionata dal grado di maturità renale. Il rene svolge un ruolo fondamentale nell'omeostasi fetale; da esso dipendono in vario modo la produzione del liquido amniotico, la maturità polmonare, la crescita fetale, l'equilibrio idroelettrolitico, la pressione sistemica, l'osmolalità plasmatica e l'eritropoiesi fetale.

## **Embriogenesi**

Il rene definitivo origina da tre abbozzi primitivi: il pronefro, il mesonefro, il metanefro. I primi due regrediscono e preparano il metanefro o rene definitivo, che completa il suo sviluppo congiungendosi con i dotti di Wolff; questi inducono la differenziazione del blastema metanefrogeno in parenchima renale. Lo sviluppo dei nefroni e delle vie escretrici continua fino alla 32°-36° settimana, alla nascita ciascun rene ha circa un milione di nefroni; la maturità renale si completa nel periodo post-natale. L'apparente migrazione del metanefro dalla pelvi alla fossa lombare è dovuta alla rapida espansione della porzione caudale dell'embrione: alla 14° settimana di gestazione il rene si trova di fronte alla terza vertebra sacrale, alla 36° settimana è situato all'altezza della prima vertebra lombare. Per quanto riguarda la vescica questa origina dalla sepimentazione della cloaca da parte del setto urorettale che la divide in una parte dorsale, nota come canale anorettale, e una parte anteriore nota come seno urogenitale.

## **Aspetti ecografici del rene fetale**

Ecograficamente i reni possono essere quindi visualizzati già alla 9° settimana di gestazione; in tale epoca essi appaiono come piccole strutture ovali iperecogene posti nell'emiaddome posteriore. Con l'avanzare dello sviluppo renale si evidenziano i sistemi calico-pielici sotto forma di strutture ecoprive nella parte centrale del rene fetale. Nel terzo trimestre la capsula diventa più evidente così come tra le piramidi e la corteccia. Lo studio della biometria renale ci ha permesso di definirne le curve di accrescimento; questo presenta un andamento rapido tra la 20° e la 34°-36° settimana di gestazione per poi raggiungere un plateau nell'ultimo mese di gravidanza.

La vescica fetale può essere visualizzata ecograficamente tra la 12° e la 13° settimana di gestazione. Normalmente il ciclo di riempimento vescicale ha una durata di 30-45 minuti. Tramite misurazioni seriate del volume vescicale si è stabilito che la produzione urinaria aumenta progressivamente durante la gestazione con un andamento simile a quello della crescita del volume renale ( da 0.16 ml/min a metà gravidanza a 0.46 ml/min a termine per un totale di 230-660 ml di urina al giorno). I tubuli del pronefro non divengono mai funzionanti in embrioni di mammifero, i mesonefri funzionano parzialmente, solo il rene definitivo o metanefro elabora urina vera.

## Aspetti emodinamici del rene fetale

Gersh asserisce che la funzione renale comincia nel feto umano tra la 10°-11° settimana di gestazione, il volume del filtrato glomerulare cresce proporzionalmente al peso fetale in toto e al peso del rene fetale, tuttavia se il volume viene corretto per il peso del parenchima renale (ml/min per g di peso di rene fetale) questo rimane costante e non appare correlato con l'epoca gestazionale. Pertanto sembrerebbe che sia la quantità di tessuto renale, cioè il numero dei nefroni, a condizionare il volume di filtrazione glomerulare. È stato ipotizzato che la somministrazione di glucocorticoidi favorisca la maturazione glomerulare e tubulare renale, tuttavia non è chiaro se questo effetto sia primitivo o secondario all'aumento dell'output cardiaco indotto dai glucocorticoidi stessi. Nell'ultimo trimestre di gravidanza il rene fetale riceve dal 2 al 4% della gettata cardiaca contro il 15-18% del rene neonatale.

Il flusso ematico intrarenale è relativamente basso nel feto rispetto al neonato ed è associato ad alte resistenze vascolari e ad una bassa frazione di filtrazione. È stata dimostrata l'esistenza di una redistribuzione del flusso ematico intrarenale nel feto diversa da quella esistente nel neonato; in quest'ultimo si osserva una maggiore perfusione dei glomeruli della zona esterna della corteccia rispetto al feto, dimostrando l'esistenza di uno shunt del flusso ematico dalla zona midollare alla corticale in rapporto alla maturità renale. Questa redistribuzione probabilmente contribuisce all'aumento del filtrato glomerulare che si osserva dopo la nascita. Con l'avanzare della gravidanza si osserva una diminuzione delle resistenze vascolari renali e intrarenali, un aumento della velocità di picco, un aumento della perfusione renale da 20ml/min a 22 settimane a 65ml/min a termine. Queste variazioni emodinamiche possono essere considerate l'espressione di processi angiogenetici attivi durante la vita fetale; tuttavia, come avviene anche nel polmone fetale una netta caduta delle resistenze vascolari si osserva solo nel periodo neonatale, come se tali reti vascolari si attivassero dopo la nascita. Vari fattori controllano il flusso renale durante la vita fetale: il sistema renina-angiotensina influenza l'emodinamica renale attraverso un'azione tonica che risulta minima in epoche prenatali precoci diventando preponderante con l'avanzare della gravidanza. Il sistema simpatico svolge un'azione di modulazione soprattutto in condizioni di stress fetale.

Come nel rene adulto anche nel rene fetale esiste un meccanismo di autoregolazione dei flussi ematici intrarenali dove la PGE<sub>2</sub>, la PGI<sub>2</sub> ed i EDRF, svolgono un ruolo importante di controllo. La somministrazione di indometacina provoca una drastica riduzione del flusso renale con conseguente oliguria. È dimostrato che gli effetti indotti dell'indometacina siano la conseguenza dell'aumento della concentrazione plasmatica di arginina vasopressina, ormone che stimola i recettori V<sub>1</sub> e V<sub>2</sub> a livello renale. La stimolazione di V<sub>2</sub> provoca un aumento della permeabilità dei tubuli collettori all'acqua con aumentato riassorbimento; la stimolazione di V<sub>1</sub> provoca un aumento della PGE<sub>2</sub> che blocca tale meccanismo di feedback negativo. L'indometacina inibendo la produzione di PGE<sub>2</sub> potenzia l'effetto sui recettori V<sub>2</sub> dell'arginina-vasopressina con conseguente oliguria.

Tale fenomeno si accentua con l'avanzare dell'età gestazionale. L'urina fetale è ipotonica rispetto al plasma, l'osmolarità varia tra i 100 e i 250 mOsm per Kg. Di H<sub>2</sub>O ed aumenta con l'età gestazionale. Una buona funzionalità renale fetale è caratterizzata da una concentrazione di Na < 100mg/dl, Cl < 90 mg/dl, osmolarità < 200mOsm, Ca < 8 mg/dl, Microglobulina < 4 mg/l e proteine totali < 20 mg/dl. Tali parametri subiscono variazioni in rapporto all'età gestazionale ed alla presenza di fattori ischemizzanti il rene (ipossia farmaci), pertanto possono essere utilizzati come indici di funzionalità renale. Varie sono le cause responsabili dell'incapacità del rene fetale di concentrare le urine. L'imaturità strutturale della midollare renale, caratterizzata da anse di Henle molto corte, e l'aumento relativo del flusso sanguigno in questa zona potrebbero spiegare tale fenomeno. È probabile in oltre che vi sia una incapacità relativa dell'ansa di Henle a riassorbire il Na e creare quindi un gradiente osmotico interstiziale efficace ai fini del riassorbimento. Una riduzione della produzione del liquido amniotico si osserva nei casi di feto con IUGR, risultando proporzionale alla gravità dell'ipossia fetale stessa. Non è ancora chiaro se tale riduzione sia la conseguenza di una diminuita perfusione renale che si verifica in risposta alle variazioni emodinamiche fetali,

oppure sia conseguenza all'aumento del riassorbimento tubulare di acqua libera secondario alla produzione di vasopressina. L'ipossia fetale è infatti un potente stimolo alla produzione del fattore antidiuretico, suggerendo l'ipotesi che l'oliguria possa essere un meccanismo di risposta fisiologica all'ipossiemia. Il significativo aumento delle resistenze al flusso sull'arteria renale, causato dal perdurare dello stato ipossico, può provocare da danni renali che giustificano quei casi di insufficienza renale riscontrati nei neonati con IUGR.

In conclusione l'esame ecografico dei reni fetali e il loro studio biometrico può aiutare nella determinazione della maturità degli stessi, inoltre la valutazione della quantità del liquido amniotico e della perfusione renale tramite velocimetria Doppler ci consentono un'indagine funzionale dei reni stessi. L'esame biochimico del liquido amniotico prelevato tramite amniocentesi ci permette una corretta valutazione dello stato di funzionalità renale fetale.

# DIAGNOSI PRECOCE DI DANNO RENALE FETO-NEONATALE: NUOVI MARKERS

Mario Plebani<sup>1,2</sup>, Michele Mussap<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servizio di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera di Padova

<sup>2</sup> Centro di Ricerca Biomedica, Regione Veneto, Castelfranco Veneto (TV)

## INTRODUZIONE

Lo studio delle malattie renali fetali e neonatali rappresenta per la Medicina di Laboratorio un importante stimolo professionale che richiede un continuo aggiornamento ed una specifica preparazione. Infatti, i meccanismi fisiopatologici che sottendono le diverse funzioni renali in questo periodo di sviluppo ed accrescimento sono completamente diverse e scarsamente paragonabili a quelle dell'adulto. Basti pensare che, mentre nell'adulto il flusso plasmatico renale è pari a circa il 20-25% della portata cardiaca, nel feto non supera il 4% e nel neonato a termine sano si aggira intorno al 6% alla nascita per poi raggiungere l'8-10% alla fine della prima settimana di vita. Questi valori così bassi si associano ad altri riscontri peculiari, quali un'elevata resistenza vascolare ed una bassa frazione di filtrazione che successivamente, nel corso delle prime settimane di vita, tendono ad equilibrarsi verso i valori dell'adulto. Pertanto l'interpretazione dei test biochimici comunemente utilizzati nell'adulto per valutare le diverse funzioni renali, tra cui la filtrazione glomerulare, il riassorbimento tubulare, il bilancio idro-salino, ecc. deve tener conto di importanti fattori che caratterizzano e condizionano le funzioni renali nella vita fetale e nel primo periodo di vita extrauterina. La sfida dei prossimi anni sarà quella di ampliare le possibilità diagnostiche in epoca prenatale e neonatale nella valutazione delle nefropatie in genere e delle nefrouropatie in particolare, rendendo utilizzabili nella pratica clinica test il cui significato diventa sempre più importante, come ad esempio la studio delle molecole di adesione, dei fattori di crescita e delle prostaglandine.

## CISTATINA C

La cistatina C, chiamata anche " $\alpha$ -trace protein" o "post- $\alpha$  protein", è una proteina basica di basso peso molecolare ( $M_r = 13.359$ ) contenente 120 aminoacidi (1). La cistatina C è prodotta dalla maggior parte dei tessuti e da un gran numero di cellule, inclusi i fibroblasti della cute e i macrofagi, i neuroni, i tessuti dell'embrione, le cellule muscolari lisce e le cellule neuroendocrine. La forma matura consiste in una singola catena polipeptidica non glicosilata, con due ponti disolfuro intramolecolari. A pH fisiologico la cistatina C è una proteina cationica e presenta un punto isoelettrico (PI) di 9,3. Nell'uomo il gene della cistatina C è localizzato nel cromosoma 20p11.2 appartenente alla cosiddetta classe di geni "*house-keeping*", cioè geni "conservativi", costantemente espressi in tutte le cellule dell'organismo (2). La biosintesi della cistatina C avviene pertanto in tutte le cellule nucleate dell'organismo, anche se la concentrazione può variare da tessuto a tessuto. Le più alte concentrazioni di cistatina C sono state misurate nel liquido seminale, nel liquido cefalo-rachidiano (liquor) e nel latte materno, dove si riscontrano livelli fino a 5-6 volte più elevati che nel plasma. Il rene è il principale sito catabolico della cistatina C. La proteina viene infatti liberamente filtrata dal glomerulo e quasi completamente riassorbita e catabolizzata nelle cellule del tubulo contorto prossimale. In condizioni fisiologiche, la proteina è presente nell'urina solo in tracce. Il tasso di sintesi relativamente costante di cistatina C in tutti i tessuti dell'organismo, la sua eliminazione quasi esclusivamente attraverso il filtro glomerulare e la sua scarsa dipendenza da molti fattori estrinseci, tra cui sesso, età, tipo di alimentazione, infezioni, stati nutrizionali, ecc., rappresentano condizioni potenzialmente ideali per un suo utilizzo clinico come marcatore biochimico endogeno di filtrazione glomerulare (3). Rispetto ad altre proteine plasmatiche di basso

PM, la cistatina C è di gran lunga meno influenzabile da processi extrarenali e dalle abitudini di vita, ed inoltre non si lega ad altre proteine plasmatiche (4).

La cistatina C può essere facilmente misurata nel sangue e nei liquidi biologici. Nel 1994 è stato descritto e reso disponibile in commercio un metodo immunologico in turbidimetria (PETIA: particle-enhanced turbidimetric immuno assay, Dako, Milano). Il metodo si basa su una reazione tra particelle standardizzate di polistirene (38 nm di diametro) che supportano anticorpi di coniglio anti-cistatina C umana e la cistatina C presente nel campione in esame (5). Questo metodo utilizza per le misure analitiche campione non diluito, ed è lineare in un ambito compreso tra 0,4 e 10,7 mg/L; inoltre il metodo può essere facilmente adattato ad analizzatori automatici di chimica clinica e può quindi essere impiegato nella pratica routinaria, poichè i risultati sono disponibili entro 15 minuti circa dal momento della centrifugazione dei campioni. Un altro metodo disponibile è quello in nefelometria (PENIA: particle-enhanced nephelometric immuno assay, Dade Behring, Milano) che si basa su un immunodosaggio con anticorpi specifici di coniglio anti-cistatina C umana legati covalentemente a particelle di clorometilstirene di diametro standardizzato pari a 80 nm (6). La diffusione in tutti i laboratori di questi metodi ha notevolmente incrementato gli studi sulla definizione degli intervalli di riferimento e sul significato clinico di questa proteina nello studio delle nefropatie.

## **DIAGNOSTICA BIOCHIMICA PRENATALE: IL LIQUIDO AMNIOTICO**

Da tempo, il volume del liquido amniotico è considerato un indice di funzione renale fetale, essendo significativamente ridotto o assente nei casi di mancato sviluppo o accrescimento dell'organo, mentre in condizioni normali aumenta fino a trenta volte tra la 10<sup>a</sup> e la 30<sup>a</sup> settimana di gravidanza (7). È ormai ben nota e documentata, ad esempio, l'associazione tra oligoidramnios e agenesia renale. Purtroppo numerosi fattori, tra cui l'ipossia, la somministrazione di farmaci corticosteroidi, ecc. influenzano la produzione ed il riassorbimento del liquido amniotico causando un'enorme variabilità del volume del liquido, particolarmente fino alla 20<sup>a</sup> settimana di gravidanza. La composizione biochimica del liquido amniotico riflette la maturazione e lo sviluppo del feto. È stato dimostrato che, nel corso della gravidanza, l'aumento progressivo di urea e creatinina nel liquido amniotico, associati alla caduta dei livelli di sodio e dell'osmolalità, rispecchiano la maturazione renale fetale. Tali osservazioni derivano dal fatto che l'urina fetale è il maggior costituente del liquido amniotico e pertanto variazioni biochimiche ed ormonali riflettono fedelmente la composizione dell'urina fetale. Tuttavia urea e creatinina, pur essendo marcatori specifici di alterata funzione renale, posseggono una bassa sensibilità e possono non variare significativamente nelle fasi precoci di una noxa patogena o nei casi di lieve compromissione della funzionalità del rene. Diverse proteine di basso peso molecolare (microglobuline, PM<50.000 D) sono presenti nel liquido amniotico e la loro provenienza sembra essere di esclusiva origine fetale (8). In particolare è emersa l'importanza di dosare alcune proteine di basso peso molecolare quali parametri non solo di funzionalità tubulare, ma anche di sviluppo e accrescimento renale. Anche la cistatina C nel liquido amniotico sembra derivare esclusivamente dal feto; in particolare, la sua concentrazione è più elevata nel liquido amniotico che nel sangue materno. Poiché non è ipotizzabile un meccanismo di passaggio transplacentare di questa proteina contro gradiente di concentrazione, la sua quota nel liquido amniotico non può che derivare dall'urina fetale. Ciò avvala l'ipotesi che la funzione renale fetale rappresenti il fattore più importante nel determinare il contenuto di proteine di basso peso molecolare nel liquido amniotico.

Un recente studio del Gruppo di Nefrologia Neonatale della Società Italiana di Neonatologia (SIN) ha evidenziato il valore predittivo della cistatina C nel liquido amniotico come indice di malformazione renale del feto (9). Confrontando un gruppo di gravidanze normali non complicate da malattie feto-materno-placentari (controlli) con un gruppo di pari età gestazionale (22-36 settimane) di gravidanze con malformazioni renali del feto, si è riscontrato che la concentrazione

nel liquido amniotico di cistatina C è significativamente più elevata nel secondo gruppo rispetto al primo (mediana ed intervallo interquartile: 1,37 [1,08÷1,75] vs 0,69 [0,53÷0,82] mg/L). Al contrario, la creatinina non dimostra differenze significative nei due gruppi (0,100 [0,06÷0,12] vs 0,09 [0,06÷0,14] mmol/L, rispettivamente).

## DIAGNOSTICA NEONATALE

L'insufficienza renale è uno dei problemi più comuni del neonato in unità di terapia intensiva. Nel neonato con insufficienza renale il flusso urinario è inferiore a 1mL/Kg/ora per un periodo di almeno 24 ore, mentre nel neonato sano oscilla tra 4 e 6 mL/Kg/ora; inoltre i valori di creatininemia si aggirano intorno a 88,4  $\mu$ mol/L (1,0 mg/dL) e quelli di urea intorno a 7 mmol/L (42,1 mg/dL). Tuttavia, i valori di creatininemia sono estremamente variabili, soprattutto in rapporto all'età gestazionale e a quella postnatale. Al termine della gravidanza la funzione renale fetale è regolata e dimensionata indipendentemente da quella materna. Anche la funzione di filtrazione appare chiaramente ancora non completamente sviluppata nel neonato. Nel neonato a termine sano, subito dopo la nascita, il filtrato glomerulare (GFR: Glomerular Filtration Rate) è molto variabile, ma generalmente aumenta nelle prime due ore di vita per poi diminuire fino a valori inferiori a quelli della nascita nelle successive due ore. Nel neonato pretermine, al contrario, il filtrato rimane costantemente basso fino alla 36<sup>a</sup> ora, anche se si osservano incrementi transitori tra la 12<sup>a</sup> e la 96<sup>a</sup> ora. Dopo il 4° giorno di vita il filtrato può ancora lievemente diminuire, ma più frequentemente si osserva un graduale incremento in relazione alla maturazione renale. In neonati pretermine di 25 settimane il filtrato non supera i 2mL/min/1,73m<sup>2</sup> nelle prime 24 ore.

Nel neonato la valutazione del filtrato viene comunemente effettuata nella pratica routinaria dosando la creatinina sierica e ricavandone la clearance attraverso la formula di Schwartz. Tuttavia è noto che nei primi giorni di vita la creatinina sierica è significativamente influenzata dalla creatininemia materna, e pertanto la stima del GFR non è accurata in questa fascia di età. In uno studio effettuato su 78 donne con gravidanza a termine non complicata (età gestazionale 37-43 settimane) abbiamo misurato nel sangue materno al momento del parto e nel sangue dei rispettivi neonati alla nascita, al 3° ed al 5° giorno di vita la creatinina e la cistatina C (10). I valori mediani (50° percentile) di creatinina e di cistatina C nel sangue materno sono rispettivamente 54,6  $\mu$ mol/L e 1,39 mg/L. Nei neonati, la concentrazione di cistatina C (50° percentile) diminuisce progressivamente: 2,11 mg/L alla nascita, 1,75 mg/L in terza giornata e 1,63 mg/L in quinta giornata. Nel neonato la cistatina C non è influenzata significativamente dal sesso, dall'età gestazionale e dal tipo di allattamento. Il risultato più importante è però l'assenza di correlazione tra la concentrazione di cistatina C materna e quella del rispettivo neonato ( $r=0,09$ ), mentre la correlazione è significativa per la creatinina ( $r=0,47$ ). Sulla base di tali risultati si può quindi ragionevolmente concludere che la cistatina C nel neonato non è influenzata dalla cistatina C materna, probabilmente a causa dell'impossibilità della molecola di attraversare la barriera placentare. Questo risultato indica che nel neonato la diminuzione progressiva della cistatina C dipende esclusivamente dalla concomitante maturazione della funzione di filtrazione renale, mentre l'analogo decremento della creatinina corrisponde allo smaltimento della quota materna durante la prima settimana di vita. Queste evidenze indicano chiaramente che l'uso della cistatina C nel periodo neonatale dovrebbe sostituire quello della creatinina nella valutazione della funzione renale.

## CONCLUSIONI

La misura del GRF rappresenta il test più importante di valutazione della funzione renale (11). Nel neonato, oltre alle problematiche esistenti per l'adulto, vi sono ulteriori limitazioni alla possibilità di ottenere stime accurate del filtrato, quali, ad esempio, la notevole difficoltà di misurare la clearance di sostanze endogene e l'impossibilità di utilizzare nella pratica routinaria metodi basati sulla somministrazione di sostanze esogene, quali i composti radiomarcanti, l'inulina, ecc. Conseguentemente, uno dei più diffusi e utilizzati criteri diagnostici di insufficienza renale nel neonato, è un incremento giornaliero del valore di creatininemia superiore a 17,7  $\mu$ mol/L (0,2

mg/dL) (12). Tuttavia, come noto, la creatinina sierica è estremamente variabile nel neonato, perché influenzata da diversi fattori extrarenali (massa muscolare, età gestazionale, età postnatale, ecc.). Inoltre, nei primi giorni di vita, una significativa quota di creatinina deriva dalla circolazione materna, scomparendo lentamente nel corso della prima settimana. La possibilità di ottenere stime del filtrato attraverso il dosaggio di proteine sieriche di basso peso molecolare è un'opportunità che va pertanto attentamente valutata. Tra queste proteine, la cistatina C sembra essere il marcatore biochimico endogeno di ridotto GFR dotato di maggiore efficienza diagnostica rispetto alle altre proteine e alla creatinina, come sempre più diffusamente viene dimostrato nella letteratura mondiale (13).

## BIBLIOGRAFIA

1. Mussap M, Plebani M. Vecchi e nuovi marcatori biochimici di filtrazione renale: il caso della cistatina C. [Rassegna]. *Biochim Clin* 1999;23:143-60
2. Ólafsson Í. The human cystatin C gene promoter: functional analysis and identification of heterogeneous mRNA. *Scand J Clin Lab Invest* 1995;55:597-607
3. Meier P, Froidevaux C, Dayer E, Blanc E. Cystatin C concentration and glomerular filtration rate. *Lancet*. 2001;357:634-5
4. Denium J, Derkx FHM: Cystatin for estimation of glomerular filtration rate? *Lancet* 2000;356:1624-5
5. Kyhse-Andersen J, Schmidt C, Nordin G, Andersson B, Nilsson-Ehle P, Lindström V, Grubb A. Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. *Clin Chem* 1994;40:1921-26
6. Mussap M, Ruzzante N, Varagnolo M, Plebani M. Quantitative automated particle-enhanced immunonephelometric assay for the routinary measurement of human cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 1998;36:859-65
7. Brace RA, Wolf EJ. Normal amniotic fluid volume changes throughout pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:382-88
8. Burghard R, Gordjani N, Leititis J, Bald R. Protein analysis in amniotic fluid and fetal urine for the assessment of fetal renal function and dysfunction. *Fetal Ther* 1987;2:188-96
9. Mussap M, Fanos V, Pizzini C, Marcolongo A, Chiaffoni G, Plebani M. Predictive value of amniotic fluid cystatin c levels for the early identification of fetuses with obstructive uropathies. *Br J Obstetr Gynecol* 2002;109:778-83
10. Cataldi L, Mussap M, Bertelli L, Ruzzante N, Fanos V, Plebani M. Cystatin C in healthy women at term pregnancy and in their infant newborns: relationship between maternal and neonatal serum levels and reference values. *Am J Perinat* 1999;16:287-95
11. Hentschel R, Lödige B, Bulla M.: Renal insufficiency in the neonatal period. *Clin Nephrol* 1996;46:54-8
12. Anand SK. Acute renal failure in the neonate. *Pediatr Clin North Am* 1992;39:791
13. Laterza OF, Price CP, Scott MG. Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? *Clin Chem*. 2002;48:699-707.

## Insufficienza renale acuta nel neonato

Umberto Simeoni

Département de néonatalogie, Hôpital de La Timone, Enfants, Université de la Méditerranée  
Marseille, France

Il neonato, specie se prematuro, è esposto ad un rischio assai elevato di insufficienza renale acuta. Questo rischio deriva dalla concomitanza di un stato fisiologico di immaturità della funzione renale e di circostanze patologiche specifiche dell'età neonatale.

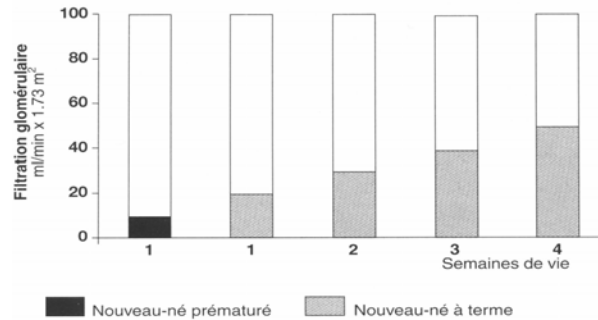


Fig. 1 – Maturazione della funzione renale nel primo mese di vita (Guignard, ref. 1)

L'immaturità glomerulare è legata, nel neonato a termine, alla prolungata transizione funzionale tra la vita intrauterina, durante la quale le funzioni di depurazione sono principalmente assicurate dalla placenta, alla fisiologia postnatale. Il flusso ematico del rene è basso, ed il flusso di filtrazione glomerulare neonatale, di 20 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (tenendo quindi conto della superficie corporea neonatale), a valori corrispondenti a uno stato di insufficienza renale cronica in un'adulto, per quanto tenda ad aumentare progressivamente nei primi mesi di vita. Queste caratteristiche sono appena sufficienti ad assicurare l'omeostasi in condizioni normali. Risultano ovviamente in uno stato di insufficienza renale acuta in presenza di un fattore patologico, anche di intensità relativamente lieve.

Norman-Assadi (1979)	23%	BUN ≥ 20 mg% and creatinine clearance < 2-3 ml/min
Chevalier (1984)	1%	serum creatinine > 1.5 mg/dl
Stapleton (1987)	8%	serum creatinine > 1.5 mg/dl with or without oliguria
Satolli (1994)	7.5%	BUN ≥ 25 mg% serum creatinine > 1 mg/dl oliguria (< 1 ml/kg/h)
Montini (1995)	10.8%	serum creatinine 1.35 mg/dl BUN ≥ 20 mg/dl

Fig.2 - Incidenza di IRA in relazione ai criteri diagnostici, (da Fanos V. et al. Ref 2)

Nel prematuro, in particolare se di età gestazionale molto bassa, la funzione glomerulare basale è ancora più bassa, e viene verosimilmente ulteriormente ridotta nel caso di un ritardo di crescita intrauterino.

Le circostanze patologiche che possono far precipitare uno stato di insufficienza renale acuta sono frequenti in età neonatale, e riconoscono diverse cause, riportate nella tab. sottostante (3):

- prerenali, sono le più comuni e si accompagnano generalmente a disturbi emodinamici e respiratori;
- renali (nefropatia tossica da farmaci, trombosi vascolari renali, asfissia neonatale);
- postrenali (nefrouropatie congenite ostruttive).

Tab. I - Cause di insufficienza renale acuta (ref. 3)

<b>ARF in newborn infants: causes</b>		
<b><i>Prerenal</i></b>	<b><i>Intrinsic</i></b>	<b><i>Postrenal</i></b>
Hypovolemia	Ischemic-hypoxic acute	Bilateral
Heart failure	tubular necrosis	obstructive
Septic shock	Corticomedullary necrosis	malformations
Dehydration	Renal venous/arterial	Fungus balls
Sodium deficiency	thrombosis	
Necrotizing	Pyelonephritis	
enterocolitis	Hemoglobinuria	
Hypoxia	Rhabdomyolysis	
Pharmacologic	Nephrotoxins	
indomethacin	aminoglycosides,	
ACE inhibitors	contrast media,	
	indomethacin,	
	amphotericin B	

L'espressione clinica dell'insufficienza renale acuta neonatale è particolare, principalmente nelle forme osservate nelle unità di terapia intensiva neonatale. Frequentemente essa si rivela in modo progressivo e rimane parziale, nell'assenza di un limite di discontinuità con l'imaturità funzionale fisiologica. La diuresi è spesso conservata o lievemente ridotta. La creatininemia deve essere interpretata secondo il suo profilo specifico neonatale: i valori fisiologici sono più alti nei neonati più immaturi, esiste un'aumento, normale, dei valori nei due primi giorni di vita, poi una riduzione progressiva nelle prime settimane, prima che riprenda un trend verso l'elevazione progressiva con l'età.

Più rare sono le forme classiche, di insufficienza renale acuta acuta anurica, osservate in caso eventi emodinamici legati alla chirurgia cardiaca, o di asfissia perinatale maggiore. Le complicanze dominanti sono l'iperpotassiemia, la ritenzione idrosodica con rischio respiratorio, neurologico, cardiaco, l'ipertensione arteriosa, i disturbi del metabolismo fosfo-calcico, l'acidosi metabolica, la denutrizione.

La terapia è in primo approccio conservativa, e consiste nel riequilibrare le funzioni prerenali (correzione dei disturbi emodinamici e respiratori), nella soppressione dei farmaci nefrotossici, o l'ottimizzazione delle loro dosi, la prevenzione delle complicanze metaboliche: terapia antiipertensiva (nicardipina in infusione endovenosa continua), terapia dell'iperpostassiemia (glucosio ed insulina, salbutamolo), correzione della calcemia, adattamento degli apporti di Na e di acqua alla diuresi, nutrizione artificiale. La terapia eziologica consiste nella correzione dei disturbi prerenali e farmacologici, dalla trombolisi da rTPa nel caso di trombosi vascolare renale, alla correzione di un'eventuale ostruzione malformativa delle vie urinarie, alla somministrazione di teofillina (antagonista dell'adenosina) nel caso di insufficienza renale vasomotoria da ipossia.

La depurazione extrarenale, da effettuare sia mediante dialisi peritoneale, sia con l'emodialisi e/o l'emofiltrazione, viene attuata in presenza di complicanze metaboliche non controllate dalla terapia conservatrice. Le indicazioni, nel neonato prematuro o gravemente asfittico, rimangono difficili di stabilire nei casi in cui si tema l'evoluzione verso uno stato di insufficienza renale cronica ad inizio

neonatale, la cui prognosi è meno favorevole sia per la funzione e, in determinate situazioni, per la vita.

### **Bibliografia**

Guignard JP. Aggréssion du rein immature In Proceedings of the 12th International Workshop on Neonatal Nephrology. (Fanos V, Cataldi L. Ed.) Med Sur Ped 2002, 24,2:105-110

Fanos V., Khoory B.J., Cataldi L.: "Postischaemic acute renal failure in newborns: physiopathological aspects and early diagnosis" in L. Cataldi, V. Fanos, U. Simeoni "Neonatal Nephrology in Progress" Lecce, Agorà, 1996 pp. 237-249

Simeoni U. Insufficienza renale acuta nel neonato. Atti del 7.o Corso avanzato di Nefrologia Neonatale e Pediatrica, Roma, 12-14 febbraio 2003

## Nuove possibilità di diagnosi precoce in pediatria: la cistatina C

*Vassilios Fanos, Luigi Cataldi \**

*Clinica Pediatrica - Università di Verona*

*\*Divisione di Neonatologia - Università Cattolica del Sacro Cuore, Policlinico Gemelli, Roma*

### INTRODUZIONE

Recentemente la cistatina C è stata proposta come marcatore biochimico dotato di una sensibilità diagnostica superiore a quella della creatinina, nelle situazioni in cui vi è una modesta riduzione del filtrato glomerulare. Il suo impiego può essere molto vantaggioso nelle situazioni in cui la creatininemia è ancora normale (il cosiddetto "blind creatinine period"), e si sta verificando un iniziale danno glomerulare.

Nel corso degli ultimi anni si è assistito ad un notevole incremento di interesse sulla cistatina C nella letteratura internazionale, con un aumento quasi esponenziale dei lavori pubblicati su Medline. Scopo della presente rassegna è quello di fornire una breve panoramica sui dati pubblicati e sulle potenzialità di impiego della cistatina C in nefrologia con particolare attenzione all'età neonatale e pediatrica.

### FISIOPATOLOGIA DELLA CISTATINA C

La cistatina C è una piccola proteina basica di PM13.359 Dalton, costituita da una catena polipeptidica non glicosilata contenente 120 residui aminoacidici. Essa appartiene, con altre nove proteine, alla superfamiglia delle cistatine (11). Quest'ultima è costituita da tre famiglie di proteine: i membri della prima famiglia (cistatine A e B) sono localizzati prevalentemente all'interno delle cellule, quelli della seconda (cistatine C, D, S, SN e SA) prevalentemente nello spazio extracellulare interstiziale, mentre quelli della terza famiglia (chininogeni a basso e ad elevato PM) si trovano prevalentemente nel comparto intravascolare (12). Una quarta famiglia, non ancora ben definita, includerebbe nella superfamiglia delle cistatine alcune glicoproteine ( $\alpha_2$ -HS glicoproteine, ecc.) che contengono due "domains" strettamente correlati ai "domains" delle cistatine (13). Tutte queste proteine hanno in comune fra loro un'azione inibitoria e modulatoria nei confronti dell'attività proteolitica delle proteinasi, ma ogni cistatina possiede un suo specifico ambito di azione, e pertanto l'attività inibitoria totale anti-proteasica nei vari liquidi biologici risulta di ampio spettro. Il gene che codifica per la cistatina C appartiene alla cosiddetta classe di geni "house-keeping", cioè geni "conservativi", costantemente espressi in tutte le cellule nucleate dell'organismo. Nell'uomo il gene per la cistatina C è localizzato nel cromosoma 20p11.2 (14, 15). Essa sembra svolgere un ruolo attivo nell'inibizione della replicazione virale ed inoltre inibisce il rilascio di calcio determinato dal paratormone. La cistatina C è prodotta a livello di tutte le cellule nucleate dell'organismo e la velocità della sua produzione è costante. Essa è pressoché completamente filtrata attraverso la membrana glomerulare, senza una significativa secrezione tubulare (16). La sintesi ed il rilascio della proteina non sembrano essere significativamente influenzati dalla massa muscolare. Parimenti, non essendo influenzata dagli stati infiammatori e/o tumorali la cistatina C non è una proteina della cosiddetta "fase acuta". Il rene è il principale sito catabolico della cistatina C, poiché la proteina, grazie al suo basso PM ed alla sua carica positiva a Ph fisiologico, viene liberamente filtrata dal glomerulo e pressoché completamente riassorbita, catabolizzata e degradata nelle cellule del tubulo contorto prossimale. La produzione costante di cistatina C in tutti i tessuti dell'organismo, la sua eliminazione attraverso il filtro glomerulare e la sua indipendenza da molti fattori estrinseci, tra cui sesso, età, alimentazione, flogosi e neoplasie, rappresentano condizioni potenzialmente ideali per un

marcatore biochimico endogeno di filtrazione glomerulare (17,18,19). La variabilità biologica della cistatina C nello stesso soggetto non supera il 5%. Non sono presenti inoltre variazioni circadiane (17,18,20). Studi eseguiti sull'adulto con insufficienza renale acuta o cronica, hanno evidenziato che la cistatina C, nei casi di ridotta filtrazione glomerulare, è il test dotato di migliore sensibilità in confronto non solo ad alcune proteine di basso PM, ma anche alla stessa creatinina (20,21,22). La creatinina sembra ancora il migliore indicatore per la rilevazione dei cambiamenti temporali della funzione renale in individui con malattia renale già individuata (23).

### CENNI SUI METODI DI DETERMINAZIONE DELLA CISTATINA C

La cistatina C può essere dosata nel sangue e nei liquidi biologici con diversi metodi immunometrici (di immunodiffusione radiale semplice ed amplificata enzimaticamente, radioimmunologici, fluoroimmunometrici, immunoenzimatici, immunoturbidimetrico a particelle amplificate ed immunonefelometrico). Tutti questi metodi si basano su reazioni immunologiche in vitro, fra specifici anticorpi anti-cistatina C umana e la cistatina presente nel campione in esame (24). Tuttavia, la scarsa praticabilità routinaria di alcuni metodi, come ad esempio l'immunodiffusione radiale, unita agli elevati costi e ai lunghi tempi di risposta analitici dei metodi radioimmunologici (25), fluorimetrici (26) ed immunoenzimatici (24) ha per molto tempo impedito l'applicazione routinaria del test nei laboratori clinici. Due recenti metodi hanno notevolmente incrementato gli studi sugli intervalli di riferimento e sul significato clinico della cistatina C nello studio delle nefropatie: il metodo PETIA (particle-enhanced turbidimetric assay) ed il metodo PENIA (particle-enhanced nephelometric immuno assay). La descrizione accurata di questi due metodi esula dagli scopi prevalentemente clinici di questa rassegna: si rimanda pertanto ad esaurienti revisioni.

### LA CISTATINA C NEL BAMBINO

Non sono numerosi sino ad oggi gli studi dedicati alla cistatina C nell'età pediatrica. Essi verranno brevemente presi in considerazione di seguito.

Nello studio di Bokenkamp e coll. (28) si è cercato di definire un intervallo di riferimento per le concentrazioni sieriche di cistatina C nei bambini. Quest'ultima è stata misurata con metodica immunoturbidimetrica in 258 bambini (165 maschi, 93 femmine, di età media di 6,29 anni, range 1 giorno-18 anni) esenti da malattie renali. Per confronto è stata misurata negli stessi campioni anche la creatinina. La concentrazione di cistatina C era più elevata i primi giorni di vita (range 1,64-2,59 mg/l) con una rapida diminuzione durante i primi 4 mesi. Secondo gli autori i livelli elevati di cistatina C durante il primo anno di vita probabilmente riflettono il ridotto grado di filtrazione glomerulare dei neonati e dei lattanti. Oltre il primo anno di vita, la concentrazione di cistatina C diventava costante, con un intervallo di riferimento di 0,7-1,38 mg/l. Per contro le concentrazioni della creatinina sierica aumentano costantemente con il progredire dell'età.

Stickle e coll. (29) hanno eseguito, in una popolazione pediatrica, una correlazione tra le concentrazioni sieriche di cistatina C e creatinina e la clearance dell'inulina. In questo studio, cistatina C e creatinina sono state misurate in pazienti pediatrici (4-19 anni) con malattia renale per i quali era disponibile anche la clearance dell'inulina. Le analisi dei dati sono state divise in due gruppi di età: gruppo A (4-12 anni, n = 26) e gruppo B (12-19 anni, n = 34). L'analisi dei dati con le curve ROC ha evidenziato i seguenti risultati: per il gruppo A per valori di cistatina C >1.2 mg/L, sensibilità = 80%, specificità = 91%; e per il gruppo B per valori di cistatina C >1.4 mg/L, sensibilità = 87%, specificità = 100%. L'affidabilità diagnostica della cistatina C era superiore, anche se in maniera non significativa, a quella della creatinina. Gli autori concludono che la determinazione della cistatina C sembra essere almeno equivalente alla misurazione della creatininemia per la valutazione della VFG, nei pazienti pediatrici.

Helin e coll. (30) hanno confrontato i livelli sierici della cistatina C e della creatinina in una popolazione 69 bambini, (di età compresa tra 1-16 anni e comprendente bambini con sia il grado di filtrazione glomerulare normale che ridotto, determinati tramite la clearance della Creatinina-EDTA. La correlazione fra il reciproco della concentrazione di cistatina C e la filtrazione glomerulare era significativamente più importante ( $p < 0,05$ ), di quella fra la concentrazione reciproca della creatinina e la filtrazione glomerulare. Questi dati erano validi anche per il gruppo dei bambini con insufficienza renale.

Dati simili sono stati ottenuti da Bokenkamp e coll. (31) su 184 bambini, in cui la filtrazione glomerulare era stata valutata con la clearance dell'inulina. Il cut-off di 1,39 mg/L della concentrazione della cistatina C presenta una sensibilità del 90% ed una specificità del 86%. Anche in questo lavoro la cistatina C, a differenza della creatinina, è indipendente dall'età, dal sesso, e dall'altezza.

Un valore soglia della normalità di 1.3 mg/L si è associato ad una buona accuratezza diagnostica al di sopra dei 2 anni anche nell'esperienza di Ylinen (32). Successivamente gli stessi autori hanno riscontrato per la cistatina C un'efficienza diagnostica del 98%, rispetto all'88% per la creatinina.

In 5 lavori internazionali di confronto con markers esogeni di riferimento (inulina, Cr-EDTA) per la valutazione della clearance in pediatria, il coefficiente di correlazione lineare tra reciproco della cistatina C o della creatinina era a favore della prima in 4/5 casi.

Dati molto interessanti sono stati segnalati da Plebani e coll. anche nel bambino con trapianto renale dove la cistatina C sembra parametro più sensibile rispetto alla creatinina nella definizione di un danno renale lieve/moderato (33).

Il lavoro di Filler e coll. su 381 bambini di età compresa tra 1 e 18 anni invece si conclude affermando che un completo studio di clearance non può essere sostituito dal dosaggio di cistatina C o  $\beta$ -2-microglobulina (34).

#### LA CISTATINA C NEL NEONATO

Nel neonato le problematiche di valutazione della funzionalità glomerulare con la creatininemia sono ancora più numerose e peculiari rispetto alle altre età pediatriche. Infatti la creatininemia neonatale nei primi giorni di vita è espressione in larga misura della creatininemia materna. Inoltre la creatininemia è più elevata nel neonato di basso peso ed è inversamente correlata all'età gestazionale. Nel neonato immaturo occorrono poi fenomeni di riassorbimento tubulare, determinando una sottostima del filtrato glomerulare. Ed ancora si assiste ad una continua maturazione delle competenze glomerulo-tubulari (a favore del glomerulo ed a sfavore del tubulo) che rende difficile la valutazione e l'interpretazione dei fenomeni di filtrazione, riassorbimento e secrezione tubulare. Infine occorre ricordare che nella maggior parte dei laboratori la determinazione della creatininemia avviene con il metodo colorimetrico di Jaffe. Tale metodo risente dell'azione dei cromogeni sia endogeni quali la bilirubina (il neonato, a questo proposito, è "fisiologicamente" itterico) o esogeni quali, ad esempio, le cefalosporine (va ricordato che è opportuno eseguire prima il prelievo per la creatininemia e successivamente somministrare la cefalosporina) (35).

Un'altra considerazione importante da fare è che il neonato è frequentemente esposto a condizioni notoriamente nefrotossiche (ad esempio il distress respiratorio, la sepsi, lo scompenso cardiocircolatorio, la nefropatia tossica secondaria a farmaci) che possono significativamente alterare la filtrazione glomerulare e la perfusione renale. In questi casi è molto importante poter

disporre di un indice estremamente sensibile di stima della VFG prima della comparsa dei classici segni clinici, come l'oliguria e dell'incremento dei tradizionali parametri di nefrotossicità (35). La sensibilità del marcatore può consentire ad esempio di diagnosticare precocemente un'insufficienza renale di tipo prerenale (nefropatia vasomotoria, reversibile), prima che questa si stabilizzi e diventi parenchimale o intrinseca e sia troppo tardi per intervenire efficacemente.

Abbiamo pubblicato i primi dati mondiali sulla cistatina C neonato con metodo PETIA (36, 37), calcolando i percentili (mg/L) nella prima settimana di vita. I valori del 50°, 75°, 90° percentile sono in prima giornata: 2.11, 2.48, 2.67; in terza giornata 1.75, 1.98, 2.24; in quinta giornata 1.63, 1.81, 1.95 rispettivamente.

Inoltre abbiamo riportato i primi dati preliminari sulla cistatina C in neonati affetti da insufficienza renale acuta. Tali dati suggeriscono valori medi di cistatina C intorno a 3 mg/L con valori massimi fino a 5 mg/L (38).

Recentemente è stata impiegata la cistatina C, accanto ad altri parametri fini e precoci di valutazione del danno renale, nella valutazione di un potenziale danno nefrotossico preclinico in età neonatale da sovradosaggio di un antibiotico (39), confermando le aspettative riposte sull'impiego della cistatina C in epoca neonatale (40).

Harmoinen e coll. (41) hanno riportato i valori di normalità della cistatina C sia nel neonato a termine, sia pretermine. Questi ultimi presentano valori leggermente superiori a quelli dei neonati a termine. Inoltre i valori di cistatina C si riducono dopo la prima settimana di vita. Un altro dato particolarmente interessante del lavoro è che, alla nascita, i valori non sono significativamente differenti in neonati pretermine di diversa età gestazionale.

## LA CISTATINA C NEL LIQUIDO AMNIOTICO

Un'altra applicazione della cistatina C è il suo dosaggio nel liquido amniotico come marcatore, questa volta tubulare, per la valutazione dello stato di salute del rene fetale. L'aumento della cistatina C nel liquido amniotico, in situazioni di danno tubulare renale, è correlabile al suo ridotto riassorbimento tubulare. Abbiamo osservato in feti con uropatia ostruttiva che i livelli di cistatina C nel liquido amniotico sono significativamente più elevati rispetto ai controlli ( $p < 0.0015$ ), mentre non è stata riscontrata nessuna differenza nei livelli di creatinina nei due gruppi. L'accuratezza diagnostica nel discriminare i feti con uropatia ostruttiva è stata del 96% per la cistatina c e del 62% per la creatinina (42). Pertanto la cistatina C si affianca utilmente ad altri marcatori, quali gli elettroliti, l'osmolarità, la beta-2-microglobulina e l'alfa-1-microglobulina per l'esatta definizione della funzione renale tubulare fetale.

## CONCLUSIONI

**La cistatina C, pur presentando caratteristiche lontane da quelle tradizionalmente richieste ad un marcatore ideale di filtrazione glomerulare, è risultata, in studi clinici sull'adulto e nel bambino, pari se non superiore alla creatinina nella diagnostica precoce degli stati di insufficienza renale. Risulta di rilevante importanza la possibilità di avere a disposizione un marker sierico affidabile più precoce della creatininemia nella identificazione di un danno renale iniziale e non stabilizzato (43).**

Giova, in sede conclusiva, ricordare le conclusioni del lavoro di Finney e coll. A proposito della cistatina C sierica: a) la cistatina C è un marcatore migliore rispetto alla creatininemia nel neonato pretermine; b) un singolo intervallo di riferimento può essere utilizzato per la cistatina C in pediatria, indipendentemente dal sesso, a partire dal primo anno di vita; c) la cistatina C rappresenta una modalità di misurazione più pratica e più specifica rispetto alla creatinina nella popolazione pediatrica.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Brzin J, Popovic T, Turk V. Human cystatin, a new protein inhibitor of cysteine proteinases. *Biochem Biophys Res Comm* 1984;118:103-6
- 2) Barrett AJ, Fritz H, Grubb A, et al. Nomenclature and classification of the proteins homologous with the cysteine-proteinase inhibitor chicken cystatin. *Biochem J* 1986;236:312-16
- 3) Rawlings ND, Barrett AJ. Evolution of proteins of the cystatin superfamily. *J Mol Evol* 1990;30:60-71
- 4) Abrahamson M, Olafsson í, Pálsdóttir C, et al. A structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J* 1990;268:287-94
- 5) Olafsson I. The human cystatin C gene promoter: functional analysis and identification of heterogeneous mRNA. *Scand J Clin Lab Invest* 1995;55:597-607
- 6) Bokenkamp A, Ciarimboli G, Kilian I, et al. Determination of the glomerular sieving coefficient for cystatin C in the perfused rat kidney model. *Pediatr Nephrol* 1998;12 (7):abs. P047
- 7) Simonsen O, Grubb A, Thysell H. The blood serum concentration of cystatin C (g-trace) as a measure of the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 1985;45:97-103
- 8) Grubb AO. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. *Clin Nephrol* 1992;38(Suppl.1):S20-S27
- 9) Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO, Price CP. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Intern* 1995;47:312-8
- 10) Nilsson-Ehle P, Grubb A. New markers for the determination of GFR: iohexol clearance and cystatin C serum concentration. *Kidney Internat* 1994;46(Suppl.47):s17-s19
- 11) Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH. Reference intervals for serum cystatin C and serum creatinine in adults. *Clin Chem Lab Med* 1998 Jun;36(6):393-7
- 12) Tian S, Kusano E, Ohara T, et al. Cystatin measurements and its practical use in patients with various renal diseases. *Clin Nephrol* Aug;48(2):104-8 1997
- 13) Keevil BG, Kilpatrick ES, Nichols SP, et al. Biological variation of cystatin C: implications for the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 1998 44 (7). 1535-1539
- 14) Poulik MD, Perry DJ, Vokac E, Sekine T. Post-gamma globulin. II. Radioimmunoassay determination of levels of post-gamma globulin and  $\beta_2$ -microglobulin. *Clin Chim Acta* 1983;128:249-60
- 15) Joronen I, Hopsu-Havu VK, Manninen M, et al. Detection of low molecular weight cysteine proteinase inhibitors by time-resolved fluoroimmunoassay. *J Immunol Methods* 1986;86:243-7
- 16) Jung K, Pergrande M. Sandwich enzyme immunoassay of cystatin C in serum with commercially available antibodies. *Clin Chem* 1993;39:1895-90
- 17) Mussap M, Plebani M. Vecchi e nuovi marcatori biochimici di filtrazione renale: il caso della cistatina C. *Bioch Clinica* 1999; 23; 3: 143-160
- 28) Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Reference values for cystatin C serum concentrations in children. *Pediatr Nephrol* 1998; 12: 125-129
- 29) Stickle D, Cole B, Hook K, et al. Correlation of plasma concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in a pediatric population. *Clin Chem* 1998, 44 (6): 1334-1338
- 30) Helin I, Axenram M, Grubb A. Serum cystatin C as a determinant of glomerular filtration rate in children. *Clin Nephrol* 1998; 49 (4):221-225
- 31) 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* 1998;101: 875-881
- 32) Ylinen E, Ala-Houhala M, Harmoinen A, et al. Cystatin C: a new parameter for renal function in children. *Pediatr Nephrol* 1998; 12 (7): P 204

- 33) Plebani M, Dall'Amico R, Mussap M, et al. Is serum cystatin C a sensitive marker of glomerular filtration rate? A preliminary study on renal transplant patients. *Renal Failure* 1998; 20 (2): 303-309
- 34) Filler G, Priem, Vollmer I, Witt I, Gellerman J, Jung K. Diagnostic sensitivity of serum cystatina C and  $\beta$ 2microglobulin for detection of impaired glomerular filtration rate (GFR). *Pediatr Nephrol* 1998,12 (7):abs. P046
- 35) Fanos V, Cataldi L. Antibiotic Nephrotoxicity in the newborn. *Drug Saf* 1999 Mar;20(3):245-67
- 36) Mussap M, Plebani M, Fanos V, Bertelli L, Cataldi L. Serum cystatin C in healthy full-term newborns: preliminary reference values for a promising endogenous marker of glomerular filtration rate. *Pren Neonat Med.* 2 (1997): 1-5
- 37) Cataldi L, Mussap M, Bertelli L, Ruzzante N, Fanos V, Plebani M. Cystatin C in healthy women at term pregnancy and in their infant newborns: relationship between maternal and neonatal serum levels and reference values. *Am J Perinat* 1999; 16 (6): 287-295
- 38) Fanos V, Mussap M, Ruzzante N, et al. Serum cystatin C as a new marker of changes in glomerular filtration rate in newborns: preliminary results. Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Congress ALANEPE, Havana, Cuba, 18-22 November 1996, 87-88
- 39) Fanos V, Mussap M, Khoory BJ, et al. Renal tolerability of teicoplanin in a case of neonatal overdose. *J Chemoth* 1998; 10 (5):381-384
- 40) Dati F. Laboratory management: new trends in neonatal nephrology. In: L. Cataldi, V. Fanos, U. Simeoni. *Neonatal Nephrology in Progress*. Agorà ed, Lecce 1996, 291-305
- 41) Harmoinen A, Ylinen E, Ala-Houhala M, Janas M, Kaila M, Kouri T. Reference intervals for cystatin C in pre- and full-term infants and children. *Pediatr Nephrol* 2000 Nov;15(1-2):105-8
- 42) Mussap M, Fanos V, Pizzini C, Marcolongo A, Chiaffoni G, Plebani M. Predictive value of amniotic cystatin C levels for the early identification of fetuses with obstructive uropathies. *BJOG* 2002; 109: 778-783
- 43) Fanos V, Mussap M, Plebani M, Cataldi L. Cystatin C in pediatric nephrology. Present situation and prospect. *Minerva Pediatrica* 1999; 51: 1-8
- 44) 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; 82: 71-75

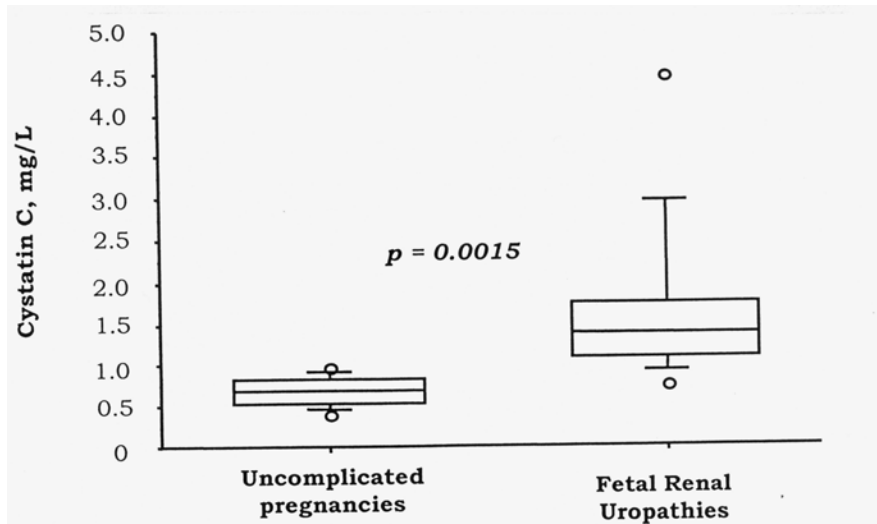


Figura 1a. Capacità della cistatina C nel liquido amniotico di discriminare tra feti da gravidanze non complicate e feti con uropatia ostruttiva

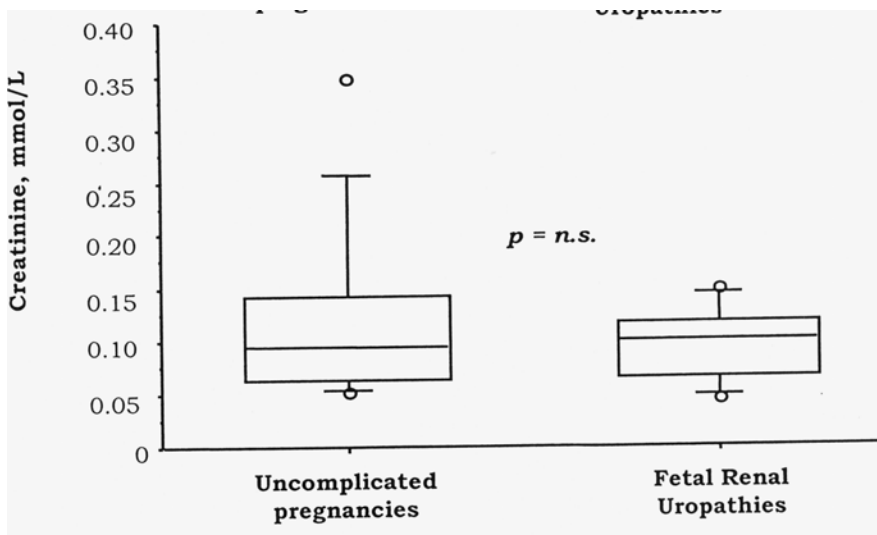


Figura 1b. Incapacità della cistatina C nel liquido amniotico di discriminare tra feti da gravidanze non complicate e feti con uropatia ostruttiva

## Infezioni delle vie urinarie e reflusso vescico-ureterale in età pediatrica: percorsi diagnostico-terapeutici.

Rino Agostiniani, \*Vassilios Fanos, °Luigi Cataldi

Unità Operativa di Pediatria, Ospedale di Pescia, ASL 3 Pistoia

\* Clinica Pediatrica, Università di Verona

° Università Cattolica del Sacro Cuore, Policlinico Gemelli, Roma

Il reflusso vescico-ureterale (RVU) rappresenta l'argomento attualmente più controverso di tutta la nefrologia pediatrica.

Le conoscenze di questi ultimi anni, favorite dalla sempre più accurata diagnosi ecografica prenatale, consentono di inquadrare il RVU in maniera diversa rispetto al passato; in molti oggi si domandano quale sia il reale significato clinico dei reflussi di basso grado e, soprattutto, quale sia la loro incidenza, dato il numero enorme di RVU diagnosticati in neonati e lattanti assolutamente asintomatici, sottoposti a cistografia minzionale per la presenza di una lieve pielectasia o per patologia renale controlaterale.

Verosimilmente il RVU non rappresenta l'espressione di un'unica patologia, bensì un fenomeno urodinamico comune ad entità patologiche diverse, al punto da poter essere considerato, nei gradi più bassi, un evento para-fisiologico transitorio ed essere associato, nei gradi più alti, a gravi alterazioni strutturali del parenchima renale.

Il RVU diagnosticato in epoca perinatale appare come una patologia a sè stante, sulla cui eziologia sono state avanzate diverse ipotesi embriogenetiche (teoria della "gemma ureterale", teoria dell'ostruzione uretrale fetale transitoria). Esso si presenta come un fenomeno prevalentemente maschile, associato ad alterazioni congenite del parenchima renale spesso gravi e di natura displasica, con un decorso poco modificabile dai comportamenti adottati dopo la nascita.

Diversa è la situazione nelle forme di reflusso scoperte in epoca più tardiva; si tratta, in questo caso, di forme solitamente sintomatiche, diagnosticate in seguito ad un episodio di IVU, con prevalenza femminile, spesso associate a disfunzioni minzionali minori. In questi casi la natura del danno renale ha aspetti chiaramente acquisiti ed evolutivi; rara è la lesione renale generalizzata e prevalgono i danni focali (scars), aggravati dal ripetersi degli episodi infettivi.

Nella tabella 1 sono presentate le due popolazioni principali di pazienti, appena descritte.

**Tab1**

	<b>ESORDIO</b>	<b>SESSO</b>	<b>STORIA DI IVU</b>	<b>IMAGING</b>	<b>GRAVITA' IRC</b>	<b>FREQUENZA</b>
<b>Forma congenita</b>	prenatale	maschi	assente	ipodisplasia idronefrosi	maggiore	minore
<b>Forma acquisita</b>	postnatale	femmine	presente	scarring segmentale	minore	maggiore

Una distinzione così netta può, in realtà, apparire eccessivamente riduttiva, specie se consideriamo lo spettro estremamente diversificato di situazioni cliniche che caratterizza il nostro lavoro quotidiano. Non va dimenticato che la diagnosi prenatale porta alla scoperta precoce solo dei reflussi più gravi, in cui è presente una dilatazione significativa del tratto escretore od i segni del danno parenchimale renale.

I reflussi minori, con reni di aspetto normale, sfuggono largamente al riconoscimento in epoca neonatale; questo aspetto non sembra presentare una significativa rilevanza clinica, dato che si tratta

di situazioni destinate in gran parte a risolversi spontaneamente nel primo anno di vita. Infatti, se il RVU neonatale è di grado lieve e senza segni di danno renale generalizzato congenito, si tratta quasi sempre di un reperto incidentale, destinato ad evoluzione spontanea ed in cui praticamente assenti sono le complicanze infettive.

Spaventa piuttosto, a questo proposito, l'eccesso di "attenzioni mediche" che troppo spesso viene riservato a questi bambini.

D'altra parte la granitica relazione tra reflusso, infezione, danno pielonefritico e "scar", che per tanti anni ha caratterizzato le nostre scelte diagnostiche e terapeutiche, comincia a lentamente a vacillare; da tempo era stato evidenziato come tale relazione non trovasse conferme assolute nella pratica clinica ed è esperienza comune il reperimento di "scars" renali in assenza di reflusso, o, viceversa, di reflussi anche di grado elevato, senza episodi documentabili di infezione ed in assenza di danno renale.

Peraltro negli ultimi anni il ruolo delle cicatrici renali nel determinare complicanze a lungo termine, quali proteinuria, ipertensione arteriosa e insufficienza renale, è stato ridimensionato.

La probabilità che si instaurino complicanze tardive importanti causate da IVU in bambini con reni precedentemente normali come struttura e funzione, sono basse.

E' invece l'ipodisplasia renale, associata o meno a reflusso vescico-ureterale, il fattore che rende la prognosi peggiore in termini di probabilità di recidiva dell'infezione e di evolutività del danno renale. Dai dati del Registro Italiano dell'Insufficienza Renale Cronica in trattamento conservativo in età pediatrica (ItalKid) possiamo osservare come l'ipodisplasia renale, associata o meno a uropatie malformative, rappresenti complessivamente il 57,3% delle cause; l'ipodisplasia associata a RVU costituisce da sola il 25,8% dei casi ed è la prima causa di IRC nel bambino e nell'adolescente. Ancora dai dati dell'ItalKid emerge che l'età dei bambini al momento della diagnosi di RVU è molto bassa (mediana 3 mesi): il danno renale displasico ed il conseguente deficit funzionale sembrano essere quindi più di tipo "congenito" che acquisito come risultato di infezioni urinarie ricorrenti e scarring.

Le infezioni delle vie urinarie (IVU) nel bambino continuano comunque a rappresentare un problema di grande interesse e di dibattito continuo, come testimoniato dal numero e dalla qualità delle pubblicazioni scientifiche e degli interventi su questo tema.

Le conoscenze acquisite negli anni recenti sul rapporto fra IVU, RVU e scarring renale e sul ruolo fondamentale svolto dall'infezione, hanno certamente indirizzato il medico verso un atteggiamento meno "aggressivo", sia nel senso di una diminuzione del ricorso alla correzione chirurgica del RVU a favore di una terapia medica, sia nella maggiore selezione dei bambini da sottoporre ad esami diagnostici e nell'impiego di metodiche meno invasive (ecografia, medicina nucleare). Infine, il ruolo delle anomalie funzionali della vescica ha assunto un'importanza crescente nella patogenesi non solo delle IVU ricorrenti, particolarmente delle femmine in età scolare, ma anche nel sostenere alcune forme di RVU maggiore in bambini piccoli, generalmente maschi: da qui l'utilità di completare le indagini diagnostiche con uno studio urodinamico.

La definizione del percorso diagnostico di un bambino con IVU e/o con RVU è quindi un tema estremamente attuale, ma anche controverso ed in costante evoluzione: il confronto dei risultati delle varie esperienze in corso fornirà certamente delle indicazioni più precise.

### **Diagnosi**

I dati sull'incidenza delle IVU nelle varie fasce di età, sui rapporti fra IVU e RVU e fra pielonefrite acuta e scarring renale hanno certamente contribuito ad individuare dei gruppi a maggior rischio su cui indirizzare gli accertamenti diagnostici. Dalla grande mole delle esperienze riportate viene ridimensionato il significato del RVU di grado lieve-medio, quando non complicato da infezioni ricorrenti, nel determinare un danno renale cronico importante. Viene invece confermato il ruolo determinante del danno renale congenito displasico, tipicamente associato ai gradi maggiori di RVU, che rappresenta la principale causa di insufficienza renale cronica nel bambino.

Lo scopo delle indagini radiologiche e strumentali è di individuare precocemente quelle anomalie anatomiche e funzionali dell'apparato urinario (RVU, ostruzioni, disfunzioni vescicali), che possono comportare recidive di infezioni e rischio di danno renale progressivo, in modo da avviare un programma di trattamento e controlli nel tempo.

L'ecografia è l'indagine iniziale in tutti i pazienti con IVU ed è metodica capace di fornire elementi fondamentali per la diagnosi, specie nei bambini più piccoli nei quali la funzione renale non è ancora ideale per l'esecuzione di esami scintigrafici o con mezzo di contrasto.

La diagnosi differenziale tra pielonefrite acuta ed infezione del basso tratto urinario risulta spesso difficile: il principale segno ecografico di pielonefrite è l'ingrandimento (focale o diffuso) del rene, mentre segni collaterali sono l'ispessimento della mucosa della pelvi renale, l'ipotonia della pelvi renale e la presenza di urina corpuscolata in sede vescicale.

Nella valutazione del danno parenchimale la scintigrafia con DMSA rappresenta il gold standard sia nella fase acuta, sia a danno già stabilizzato; l'esame va eseguito entro la prima settimana dall'episodio acuto oppure non prima di 5-6 mesi, per identificare la presenza di eventuali cicatrici.

Il power Doppler, per l'elevata capacità di evidenziare la vascolarizzazione, può essere utilizzato per studiare le condizioni che alterano la perfusione del rene, come la pielonefrite acuta. In condizioni normali ed in pazienti sufficientemente collaboranti, il decorso rettilineo delle arterie interlobari intorno alle piramidi è facilmente visualizzabile, sia nelle scansioni longitudinali che assiali, mentre il flusso nelle arterie interlobulari appare come un alone colorato al di sotto della superficie corticale del rene. In corso di pielonefrite acuta, è possibile evidenziare un'area di ipovascolarità, solitamente di aspetto triangolare. Le arterie interlobari situate alla periferia di questa area, stirate e compresse dal parenchima adiacente edematoso, appaiono curvilinee invece che rette, al punto da essere paragonate all'artiglio di un rapace.

In letteratura vi sono dati discordanti sulla sensibilità diagnostica dell'ecografia nella diagnosi di RVU; la mancata uniformità nelle modalità di esecuzione dell'esame può, in una certa parte dei casi, spiegare queste differenze. Se è innegabile che i reflussi di basso grado sfuggono largamente all'indagine ecografica, appare improbabile che un ecografista esperto non sia capace di rilevare quegli aspetti (ureterectasia e/o dilatazione pielo-caliceale e/o ipodisplasia renale) che inducono a sospettare la presenza di un RVU di grado  $\geq 3$ .

L'ecografia non rappresenta certamente lo strumento per la diagnosi definitiva; il suo ruolo consiste nell'evidenziare i segni di sospetto, che possono indirizzare all'approfondimento diagnostico.

Nello studio di pazienti con reflusso vescico-ureterale vengono utilizzate varie metodiche cistografiche: radiologiche, che impiegano ultrasuoni (cistasonografia), o che utilizzano traccianti radioattivi (cistoscintigrafia).

Quale sia la metodica da scegliere e quale sia il momento in cui utilizzarla è argomento controverso. L'indagine d'elezione per la diagnosi di RVU rimane attualmente la cistouretrografia minzionale (CUM): se eseguita correttamente, la metodica è altamente sensibile per la determinazione del reflusso. I vantaggi della CUM includono la capacità di evidenziare lesioni ostruttive dello sbocco vescicale (valvole uretrali posteriori), la descrizione di anomalie morfologiche vescicali (trabecolazioni e diverticoli) e della giunzione ureterovesicale (diverticoli periuretrali) e la determinazione del reflusso intrarenale. Il principale svantaggio di questa tecnica è l'irradiazione gonadica, soprattutto nelle ragazze.

Per l'individuazione del RVU sono disponibili anche tecniche radioisotopiche (dirette ed indirette), la cui sensibilità nell'evidenziare un RVU significativo risulta sovrapponibile a quella della CUM. Il principale vantaggio di questa metodica, rispetto alla CUM, è un'esposizione alle radiazioni notevolmente inferiore, mentre lo svantaggio è la limitata risoluzione spaziale, che nella maggior parte dei casi non consente la determinazione di una eventuale ostruzione uretrale o delle anomalie anatomiche della giunzione ureterovesicale.

Per tali motivi, l'approccio diagnostico più diffuso al RVU, prevede l'esecuzione della CUM quale esame iniziale nei bambini che presentano un'infezione del tratto urinario, in particolare nei maschi, in cui deve essere esclusa l'ostruzione uretrale. La cistografia con radionuclidi può essere utilizzata

per il successivo follow-up dei bambini con reflusso e per lo screening degli individui asintomatici a rischio.

Lo stesso ruolo viene proposto per la cistisonografia, anche se, in mani esperte, la tecnica ha dimostrato, prendendo la CUM come tecnica diagnostica di riferimento, una sensibilità del 100% ed una specificità del 97% nella diagnosi di RVU.

Le indicazioni agli esami strumentali possono comunque differire da centro a centro. Riportiamo di seguito le linee guida Svedesi presentate all'ultimo congresso della *European Society of Paediatric Nephrology* sull'approccio clinico al paziente in occasione di una prima IVU alta (tabelle 2 e 3).

**Tab 2**

<b>Linee guida Svedesi in occasione di prima IVU alta (Jodal, ESPN 2002)</b>
• Anamnesi (comprese le abitudini minzionali e intestinali e familiarità per nefropatia e IRC)
• E.O.: compreso esame addome, genitali esterni e dorso
• Misurazione PA
• Creatinina plasmatica
• Esami strumentali

**Tab 3**

<b>Linee guida Svedesi in occasione di prima IVU alta (Jodal, ESPN 2002)</b>
<b>ESAMI STRUMENTALI</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Bambini &lt;2 anni               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ecografia renale entro 2-4 settimane</li> <li>• Cistouretrografia minzionale (CUM) entro 1-2 mesi</li> <li>• (DMSA dopo 6-12 mesi)</li> </ul> </li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Bambini &gt;2 anni               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ecografia renale entro 1-2 mesi (CUM, se patologica)</li> <li>• DMSA dopo 6-12 mesi (CUM, se patologica)</li> <li>• CUM, se DMSA non disponibile</li> </ul> </li> </ul>

### **Trattamento**

Alla luce delle recenti acquisizioni emerge che le strategie preventive e terapeutiche del danno renale da RVU si possono dirigere esclusivamente nella direzione della diagnosi precoce della patologia, nel trattamento tempestivo degli episodi infettivi e, seppure non concordemente, della profilassi antibiotica. Infatti la prevenzione delle infezioni delle vie urinarie mediante profilassi antibiotica o monitoraggio clinico è utile esclusivamente per evitare l'insorgenza di ulteriori IVU e, quindi, di lesioni renali, ma non è in grado di modificare la progressione di un danno renale già esistente.

Una volta verificata la presenza di RVU, l'approccio terapeutico al paziente è, prevalentemente, di tipo medico e si avvale sia della terapia antibiotica acuta degli episodi infettivi, che ha lo scopo immediato di eliminare i sintomi ed eradicare il germe responsabile dell'infezione, che della profilassi antibiotica serale. Generalmente, il solo sospetto clinico della presenza di una IVU alta impone che la terapia venga iniziata tempestivamente, con un antibiotico ad ampio spettro scelto in base alla conoscenza dei germi maggiormente implicati nell'eziologia delle IVU e senza attendere il risultato dell'antibiogramma. Solo in un secondo tempo, in base all'andamento della sintomatologia clinica e al risultato dell'antibiogramma, può essere necessario (ma ciò avviene raramente) scegliere un antibiotico più adeguato.

Per quanto riguarda il follow up, la profilassi antibiotica serale continuativa è particolarmente indicata nei pazienti con RVU di grado maggiore, in cui il rischio di IVU e danno renale è più elevato, ma essa è in alcuni casi gravata da una scarsa compliance familiare.

La terapia osservazionale rappresenta una valida alternativa alla profilassi antibiotica, particolarmente per i reflussi di grado medio-lieve: essa si avvale del monitoraggio dei sintomi clinici sospetti per IVU e dell'esecuzione successiva di un esame urine ed urinocoltura o, in alternativa, dell'esecuzione di sticks per nitriti e leucociti, seguiti, se positivi, da urinocoltura.

Durante il follow up il trattamento medico prevede nuovamente l'esecuzione di esami strumentali, quali un'ecografia da eseguirsi una volta all'anno, un controllo cistografico, quando non si evidenzino più segni ecografici di RVU e comunque non prima di 2 anni dalla cistografia precedente e la ripetizione della scintigrafia renale, in rapporto al danno renale preesistente o a nuove infezioni intercorrenti.

Restano aperti alcuni problemi, tra i quali il timing più corretto per il follow up di questi pazienti, il momento più opportuno per la sospensione della profilassi antibiotica e la reale necessità di monitoraggio di un RVU sterile.

Secondo i dati dell'*International Reflux Study*, si verifica un maggior numero di episodi infettivi nella popolazione di reflussi trattata con terapia medica (21%) rispetto a quella sottoposta ad intervento chirurgico (10%), ma non vi è differenza significativa per ciò che riguarda il danno renale valutato a distanza nelle due casistiche.

Analogamente è nota l'alta probabilità che il RVU primitivo, anche di grado medio-grave, possa tendere spontaneamente a guarigione; questo avviene in percentuale elevata e crescente nel tempo specialmente per i RVU senza dilatazione (I, II e III grado) ed in misura maggiore quanto minore è il grado di RVU. Per i RVU con dilatazione (IV e V grado) le percentuali di risoluzione spontanea si attestano tra il 20 e il 50% a seconda delle casistiche.

Le indicazioni al trattamento chirurgico rimangono la ricorrenza di infezioni urinarie nonostante la profilassi antibiotica, la persistenza di un RVU di grado elevato, una scarsa compliance familiare alla terapia medica o, in alcuni casi, una scelta familiare specifica.

Recentemente sono state proposte, ed accolte con interesse, alcune tecniche di profilassi "non convenzionale": i probiotici ed il succo di mirtillo.

Il *Lactobacillus GG* è un ceppo probiotico di origine umana dotato di interessanti caratteristiche utili nella pratica clinica, tra cui sono da menzionare: a) sopravvivenza del LGG nel succo gastrico, capacità di adesione ed attività antimicrobica; b) prevenzione dei disturbi intestinali; c) stimolazione del sistema immunitario locale; d) assenza di effetti nocivi.

Il LGG è di gran lunga il probiotico più studiato nell'adulto e nel bambino.

La selezione dei ceppi di *Lactobacillus* per il potenziale utilizzo urologico viene eseguita sulla base di alcune proprietà:

- capacità di adesione all'urotelio ("inibizione competitiva, effetto barriera");
- produzione di biosurfactant ("imbrigliamento dei patogeni");
- produzione di idrogeno perossido ("blocco della crescita batterica").

Il LGG possiede la prima e la terza di queste caratteristiche.

Tenendo conto anche dei dati epidemiologici delle IVU (prevalenza del germe *E. Coli*), il LGG potrebbe offrire potenziali vantaggi di impiego nelle IVU recidivanti del bambino, sia come presidio di associazione alla tradizionale antibioticoprofilassi, sia come eventuale unico presidio preventivo, in particolare nei bambini con assenza di uropatie malformative.

Il mirtillo contiene polifenoli stabili, le proantocianidine, sostanze con attività antivirale, antibatterica antiadesiva ed antiossidante che inibiscono selettivamente le adesine prodotte dai batteri e riducono l'adesione batterica alle cellule uroepiteliali.

In virtù di tali proprietà e di alcuni studi clinici sulla riduzione della batteriuria e della piuria dopo assunzione di succo di mirtillo, tenuto conto della sicurezza del prodotto e del potenziale vantaggio dell'assenza di pressione selettiva nei confronti delle resistenze batteriche, è stato suggerito l'impiego di tale sostanza naturale nella prevenzione delle IVU recidivanti.

## Bibliografia

- Anderson NG, Abbott GD, Mogridge N, Allan RB, Maling TM, Wells JE. Vesicoureteric reflux in the newborn: relationship to fetal renal pelvic diameter. *Pediatr Nephrol* 1997 Oct;11(5):610-6
- Ardissino G, Daccò V, Testa S, Taioli E, Claris-Appiani A, Marra G, Edefonti A, Sereni F. *Epidemiology of chronic renal failure in children: data from the ItalKid project.* [www.italkid.org](http://www.italkid.org)
- Connolly LP, Treves ST, Connolly SA, Zurakowski D, Share JC, Bar-Sever Z, Mitchell KD, Bauer SB. Vesicoureteral reflux in children: incidence and severity in siblings. *J Urol* 1997 Jun;157(6):2287-90
- Downs SM. *Technical Report: urinary tract infections in febrile infants and young children. The Urinary Tract Subcommittee of the American Academy of Pediatrics Committee on Quality Improvement.* *Pediatrics* 1999; 103:e54.
- Godley ML, Desai D, Yeung CK, Dhillon HK, Duffy PG, Ransley PG. *The relationship between early status, and the resolution of vesico-ureteric reflux and bladder function at 16 months.* *BJU International* 2001; 87:457-62.
- Hansson S, Esbjorner E, Jakobsson B on behalf of Swedish Pediatric Nephrology Association. Outcome of dilated vesicoureteral reflux in young children with urinary tract infection. *Pediatr Nephrol* 2002; 17: C 67
- Hoberman A, Chao H-P, Keller DM, Hickey R, Davis HW, Ellis D. *Prevalence of urinary tract infection in febrile infants.* *J Pediatr* 1993; 123:17-23.
- Hoberman A, Charron M, Hickey R, Baskin M, Kearney DH, Wald ER. *Imaging studies after a first febrile urinary tract infection in young children.* *N Engl J Med* 2003; 348:195-202.
- Hohenfeller K, Wingen AM, Nauroth O, Whul E, Mehls O, Scafer F. Impact of ACE I/D gene polymorphism on congenital renal malformations. *Pediatr. Nephrol* 2001; 16: 356-61
- Ilyas M, Mastin ST, Richard GA. *Age-related radiological imaging in children with acute pyelonephritis.* *Pediatr Nephrol* 2002; 17:30-4.
- International Reflux Committee: Medical versus Surgical treatment of primary vesicoureteral reflux. *Pediatrics* 1981; 67: 392
- Jakobsson B, Esbjorner E, Hansson S. *Minimum incidence and diagnostic rate of first urinary tract infection.* *Pediatrics* 1999; 104:222-6.
- Jodal U, Lindberg U. Guidelines for management of children with urinary tract infection and vesico-ureteric reflux. Recommendations from a Swedish state-of-the-art conference. Swedish Medical Research Council. *Acta Paediatr Suppl* 1999 Nov;88(431):87-9
- Lama G, Russo M, De Rosa E, Mansi L, Piscitelli A, Luongo I, Esposito Salsano M. *Primary vesicoureteric reflux and renal damage in the first year of life.* *Pediatr Nephrol* 2000;15:205-10.
- Lin DS, Huang SH, Lin CC, Tung YC, Huang TT, Chiu Nc, Koa HA, Hung HY, Hsu CH, Hsieh WS, Yang DI, Huang FY. *Urinary tract infection in febrile infants younger than eight weeks of age.* *Pediatrics* 2000; 105(2):E20.
- Mandell J, Paltiel HJ, Peters CA, Benacerraf BR. Prenatal findings associated with a unilateral nonfunctioning or absent kidney. *J Urol* 1994 Jul;152(1):176-8
- Marra G, Barbieri G, Dell'Agnola CA, Caccamo ML, Castellani MR, Assael BM. Congenital renal damage associated with primary vesicoureteral reflux detected prenatally in male infants. *J Pediatr* 1994 May;124(5 Pt 1):726-30
- Noe Hn, Wyatt RJ, Peeden JN Jr, Rivas ML. *The transmission of vesicoureteral reflux from parent to child.* *J Urol* 1992; 148:1869-71.
- Nuutinen M, Uhari M, Murphy MFG, Hey K. *Clinical guidelines and hospital discharges of children with acute urinary tract infections* *Pediatr Nephrol* 1999; 13: 45-9.
- Ohtomo Y, Nagaoka R, Kaneko K, Fukuda Y, Miyano T, Yamashiro Y. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism in primary vesicoureteral reflux. *Pediatr. Nephrol* 2001; 16: 648-52

Ozen S, Alikasifoglu M, Saatci U, Bakkaloglu A, Besbas N, Kara N, Kocak H, Erbas B, Unsal I, Tuncbilek E. Implications of certain genetic polymorphisms in scarring in vesicoureteric reflux: importance of ACE polymorphism. *Am J Kidney Dis* 1999; 34: 140-45

Pattaragarn A, Alon US. *Urinary tract infection in childhood: Review of guidelines and recommendations*. *Minerva Pediatr* 2002; 54:401-13.

Rosenberg AR, Rossleigh MA, Brydon MP, Bass SJ, Leighton DM, Farnsworth RH. *Evaluation of acute urinary tract infection in children by dimercaptosuccinic acid scintigraphy: a prospective study*. *J Urol* 1992; 148:1746-9.

Valle JP, Vallee MPD, Greenfield SP, Wan J and Springate J. Contemporary incidence of morbidity related to vesicoureteral reflux. *Urology*. 1999 Apr; 53(4):812-5.

---

<sup>i</sup> Zamboni G, Antoniazzi F, Tatò L. Use of the gonadotropin-releasing hormone agonist triptorelin in the diagnosis of delayed puberty in boys. *J Pediatr* 1995; 126: 756-8.

<sup>ii</sup> Rosenfeld RG, Albertsson-Wikland K, Cassorla F, Frasier SD, Hasegawa Y, Hintz RL, Lafranchi S, Lippe B, Loriaux L, Melmed S, Preece MA, Ranke MB, Reiter EO, Rogol AD, Underwood LE, Werther GA. Diagnostic controversy: The diagnosis of childhood growth hormone deficiency revisited. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1532-40.

<sup>iii</sup> Hindmarsh PC, Swift PGF. An assessment of growth hormone provocation tests. *Arch Dis Child* 1995; 72: 362-8.

<sup>iv</sup> Preece MA. Making a rational diagnosis of growth-hormone deficiency. *J Pediatr* 1997; 131 [Suppl]: S 61-4

<sup>v</sup> Werther GA. Growth hormone measurements vs. auxology in treatment decisions: the Australian experience. *J Pediatr* 1996; 128 [Suppl]: S 47-51.

<sup>vi</sup> MINISTERO DELLA SANITA' COMMISSIONE UNICA DEL FARMACO: Provvedimento 29 ottobre 1997 Aggiornamento delle "note" riportate nel provvedimento 30 dicembre 1993 concernente la riclassificazione dei medicinali e nelle successive modificazioni.

<sup>vii</sup> Maghnie M, Salati B, Bianchi S, Rallo M, Tinelli C, Autelli M, Aimaretti G, Ghigo E. Relationship between the morphological evaluation of the pituitary and the growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone Plus arginine in children and adults with congenital hypopituitarism. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1574-9.

<sup>viii</sup> Cacciari E, Tassoni P, Parisi G, Pirazzoli P, Zucchini S, Mandini M, Cicognani A, Balsamo A. Pitfalls in diagnosing impaired growth hormone (GH) secretion: retesting after replacement therapy of 63 patients defined as GH deficient. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 1284-9.

<sup>ix</sup> Frindik JP, Baptista J. Adult height in growth hormone deficiency: historical perspective and examples from the national cooperative growth study. *Pediatrics* 1999; 104: 1000-4.

<sup>x</sup> Cutfield W, Lindberg A, Albertsson Wikland K, Chatelain P, Ranke MB, Wilton P. Final height in idiopathic growth hormone deficiency: the KIGS experience. KIGS International Board. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88: 72-5.

<sup>xi</sup> Grumbach MM, Bin-Abbas BS, Kaplan SL. The growth hormone cascade: progress and long-term results of growth hormone treatment in growth hormone deficiency. *Horm Res* 1998; 49 Suppl 2: 41-57.

<sup>xii</sup> Hintz RL. Final height of growth hormone-treated patients with growth hormone deficiency: the North American experience. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88: 70-1.

<sup>xiii</sup> Drake WM, Carroll PV, Maher KT, Metcalfe KA, Camacho-Hubner C, Shaw NJ, Dunger DB, Cheetham TD, Savage MO, Monson JP. The Effect of Cessation of Growth Hormone (GH) Therapy on Bone Mineral Accretion in GH-Deficient Adolescents at the Completion of Linear Growth. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1658-63.

<sup>xiv</sup> Bernasconi S, Street ME, Volta C, Mazzardo G. Final height in non-growth hormone deficient children treated with growth hormone. The Italian Multicentre Study Group. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997;47:261-266.

<sup>xv</sup> Guyda HJ. Four decades of growth hormone therapy for short children: what have we achieved? *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4307-16.

- <sup>xvi</sup> Hintz RL, Attie KM, Baptista J, Roche A for the Genentech Collaborative Group. Effect of growth hormone treatment on adult height of children with idiopathic short stature. *N Engl J Med* 1999; 340: 502-7.
- <sup>xvii</sup> Buchlis JG, Irizarry L, Crotzer BC, Shine BJ, Allen L, MacGillivray MH. Comparison of final heights of growth hormone-treated Vs untreated children with idiopathic growth failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1998: 1075-9.
- <sup>xviii</sup> Yanovsky JA, Rose SR, Municchi G, Pescovitz OH, Hill SC, Cassorla FG, Cutler GB Jr. Treatment with a Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Agonist in Adolescents with Short Stature. *NEJM* 2003; 348: 908-17.
- <sup>xix</sup> Pasquino AM, Pucarelli I, Roggini M, et al. Adult height in short normal girls treated with gonadotropin-releasing hormone analogs and growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 619-22.
- <sup>xx</sup> Rosenfeld RG, Attie KM, Frane J, Brasel JA, Burstein S, Cara JF, Chernausk S, Gotlin RW, Kuntze J, Lippe BM, Mahoney CP, Moore WV, Saenger P, Johanson AJ. Growth hormone therapy of Turner's syndrome: beneficial effect on adult height. *J Pediatr* 1998; 132: 319-24.
- <sup>xxi</sup> Cohn JE, Strong LE, Hughes WL, Mulford DJ, Ashworth JN, Melin M et al. Preparation and properties of serum and plasma proteins. IV. A System for the separation into fractions of the protein and lipoprotein components of biological tissues and fluids. 1946;459-475 *J Am Chem Soc*
- <sup>xxii</sup> Harris JR, Kirkham R, Perry RJ. Introduction: Plasma Fractionation. In Harris JR (ed.) *Blood separation and plasma fractionation*. Wiley Liss, New York 1991: 1-13
- <sup>xxiii</sup> Mannucci PM, Tuddenham EG. The hemophilias--from royal genes to gene therapy. *N Engl J Med* 2001; 344(23):1773-1779
- <sup>xxiv</sup> Rosen FS, Cooper MD, Wedgwood RJ. The primary immunodeficiencies. *N Engl J Med* 1995; 333(7):431-440
- <sup>xxv</sup> Levi M, Ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med* 1999; 341(8):586-592
- <sup>xxvi</sup> Cines DB, Blanchette VS. Immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 2002; 346(13):995-1008
- <sup>xxvii</sup> Newburger JW, Takahashi M, Burns JC, Beiser AS, Chung KJ, Duffy CE et al. The treatment of Kawasaki syndrome with intravenous gamma globulin. *N Engl J Med* 1986; 315(6):341-347.
- <sup>xxviii</sup> Kazatchkine MD, Kaveri SV. Immunomodulation of autoimmune and inflammatory diseases with intravenous immune globulin. *N Engl J Med* 2001; 345(10):747-755.
- <sup>xxix</sup> Contreras M. The prevention of Rh haemolytic disease of the fetus and newborn--general background. *Br J Obstet Gynaecol* 1998; 105 Suppl 18:7-10.
- <sup>xxx</sup> CPMP, Note for Guidance: Core Summary of Product Characteristics for Human Hepatitis B Immunoglobulin, i.m., III/3464/92
- <sup>xxxi</sup> Marzano A, Salizzoni M, Debernardi-Venon W, Smedile A, Franchello A, Ciancio A et al. Prevention of hepatitis B virus recurrence after liver transplantation in cirrhotic patients treated with lamivudine and passive immunoprophylaxis. *J Hepatol* 2001; 34(6):903-910
- <sup>xxxii</sup> ABRA Quality plasma program. *The journal of American Blood Resource Association*; 1998: (6): 104-109
- <sup>xxxiii</sup> FDA: Revised preventive measures to reduce the possible risk of transmission of CJD and vCJD by blood and blood products. <http://www.fda.gov/cber/gdlines/cjdvcjd.htm>
- <sup>xxxiv</sup> Committee for proprietary medicinal products (CPMP). Plasma derived medicinal products: position paper on ALT testing. CPMP/BWP/385/99; London 26 July 1999.
- <sup>xxxv</sup> Committee for proprietary medicinal products (CPMP). The introduction of Nucleic Acid Amplification Technology (NAT) for the detection of hepatitis C virus RNA in plasma pools. CPMP/BWP/390/97
- <sup>xxxvi</sup> Glynn SA, Kleimann SH, Wright DJ. International application of the incidence rate/window period model. *Transfusion* 2002; (4):966-970
- <sup>xxxvii</sup> Santagostino E et al. Transmission of parvovirus b19 by coagulation factor concentrates exposed to 100°C after lyophilization. *Transfusion* 1997;37:517-22.
- <sup>xxxviii</sup> Laub R, Strengers P. Parvoviruses and blood products. *Pathol Biol (Paris)* 2002; 50(5):339-348
- <sup>xxxix</sup> Brown KE, Young NS, Barbosa LH. Parvovirus b19: implications for transfusion medicine: Summary of a workshop. *Transfusion* 2001;41:130-135

- 
- <sup>xi</sup> Committee for proprietary medicinal products (CPMP). Note for guidance on plasma derived medicinal products. London 25 January 2001; CPMP/BWP/269/95 rev. 3
- <sup>xlii</sup> Committee for proprietary medicinal products (CPMP). Note for guidance on virus validation studies (revised). CPMP/BWP/268/95
- <sup>xliii</sup> Horowitz B, Lazo A, Grossberg H, Page G, Lippin A, Swan G. Virus inactivation by solvent/detergent treatment and the manufacture of SD-plasma. *Vox Sang* 1998; 74 Suppl 1:203-206
- <sup>xliiii</sup> Uemura Y, Yokoyama K, Nishida M, Suyama T. Immunoglobulin preparation: safe from virus transmission? *Vox Sang* 1989; 57(1):1-3.
- <sup>xliv</sup> Blumel J, Schmidt I, Willkommen H, Lower J. Inactivation of parvovirus B19 during pasteurization of human serum albumin. *Transfusion* 2002; 42(8):1011-1018
- <sup>xlv</sup> Raccomandazione per fronteggiare la parziale carenza di mercato di fattore VIII ricombinante Circolare 12 Aprile 2001, n. 800.5/01. Ministero della Sanità, GU n°105 05/2001: 67-68.
- <sup>xlvi</sup> Mannucci PM, Santagostino E, Di Bona E, Gentili G, Ghirardini A, Schiavoni M et al. The out break of hepatitis A in Italian patients with hemophilia: facts and fancies. *Vox Sang* 1994; 67 Suppl 1:31-35.
- <sup>xlvii</sup> Mannucci PM, Gdovin S, Gringeri A, Colombo M, Mele A, Schinaia N et al. Transmission of hepatitis A to patients with hemophilia by factor VIII concentrates treated with organic solvent and detergent to inactivate viruses. The Italian Collaborative Group. *Ann Intern Med* 1994; 120(1):1-7.
- <sup>xlviii</sup> Decreto Ministero Sanità 22/4/96
- <sup>xlix</sup> [www.pedigrionine.net](http://www.pedigrionine.net) (access March 3<sup>rd</sup> 2003)