

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA**

**DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO**

Direttore: Ch.mo Prof. Giorgio Perilongo

TESI DI LAUREA

## **Rene a ferro di cavallo**

**prognosi nefrologica di una coorte di pazienti pediatrici**

RELATORE: Prof. Liviana Da Dalt

CORRELATORE: Dott. Davide Meneghesso

LAUREANDO: Pierluigi De Marzo

Matricola: 1151699

ANNO ACCADEMICO 2021/2022



## INDICE

.....	1
<b>ABSTRACT IN ITALIANO</b> .....	7
<b>ABSTRACT IN INGLESE</b> .....	11
<b>INTRODUZIONE</b> .....	15
<b>1. IL RENE</b> .....	15
<b>1.1. Anatomia macroscopica</b> .....	15
1.1.1. La corticale e la midollare renale.....	16
1.1.2. Vascolarizzazione renale.....	17
1.1.3. Anatomia microscopica del rene.....	18
<b>1.2. Fisiologia renale</b> .....	23
<b>1.3. Composizione urine</b> .....	24
<b>1.4. Parametri funzionali del rene</b> .....	25
<b>2. EMBRIOGENESI DELL'APPARATO URINARIO</b> .....	28
<b>2.1. Pronefro</b> .....	30
<b>2.2. Mesonefro</b> .....	31
<b>2.3. Metanefro</b> .....	32
<b>2.4. Ascesa renale e collocazione degli ureteri</b> .....	34
<b>2.5. Maturazione vescica ed uretra</b> .....	35
<b>2.6. Sviluppo vascolare renale</b> .....	36
<b>3. CAKUT- malformazioni congenite del rene</b> .....	38
<b>3.1. Manifestazioni fenotipiche CAKUT</b> .....	39
<b>3.2. Forme di CAKUT dovute ad alterazioni della gemma ureterale</b> .....	41
<b>3.3. Forme di CAKUT dovute ad alterazioni della MET</b> .....	42
<b>3.4. Forme di CAKUT dovute ad alterazioni della morfogenesi</b> .....	42
<b>3.5. Altri locus genici associati alle CAKUT</b> .....	43
<b>3.6. Gli effetti delle Copy-number variations nelle CAKUT</b> .....	44
<b>3.7. Ruolo dell'epigenetica nelle CAKUT</b> .....	46
<b>4. IL RENE A FERRO DI CAVALLO</b> .....	50
<b>4.1. Anomalie embriologiche nel rene a ferro di cavallo</b> .....	51
<b>4.2. Caratteristiche anatomiche del rene a ferro di cavallo</b> .....	53
<b>4.3. Vascolarizzazione del rene a ferro di cavallo</b> .....	55
<b>4.4. Complicanze associate al rene a ferro di cavallo</b> .....	57
4.4.1. Ostruzione pelvi-ureterale.....	57
4.4.2. Rene displasico-cistico.....	58
4.4.3. Nefrolitiasi.....	58
4.4.4. Infezioni delle vie urinarie e malattia da reflusso vescico-uretrale.....	59
4.4.5. Quadri traumatici.....	59

4.4.6. Sindromi e altre patologie associate al rene a ferro di cavallo .....	60
4.5. Rischio di patologia maligna.....	61
4.6. Tecniche di imaging per la diagnosi di HSK.....	63
Ecografia renale .....	63
Cistouretrografia minzionale.....	64
Scintigrafia renale.....	64
Tomografia computerizzata.....	64
Risonanza magnetica .....	64
4.7. Profilassi antibiotica nei soggetti con HSK .....	65
<b>SCOPO DELLO STUDIO .....</b>	<b>68</b>
<b>MATERIALI E METODI.....</b>	<b>70</b>
<b>RISULTATI.....</b>	<b>74</b>
Caratteristiche popolazione e aspetti morfologici HSK .....	75
Diagnosi prenatale .....	75
Diagnosi postnatale .....	76
Anomalie associate all'HSK.....	78
Indagini strumentali di 1° e 2° livello.....	80
Analisi cliniche e strumentali di controllo .....	83
Prognosi nefrologica .....	85
<b>DISCUSSIONE.....</b>	<b>88</b>
Caratteristiche demografiche e morfologiche .....	88
Prognosi nefrologica .....	89
Percorso diagnostico .....	92
Quadro clinico dei soggetti con HSK .....	94
Profilassi antibiotica .....	95
<b>CONCLUSIONE.....</b>	<b>98</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>100</b>





## ABSTRACT IN ITALIANO

**Background:** Il rene a ferro di cavallo (HSK) rappresenta la principale anomalia congenita di fusione del tratto urinario. Deriva dalla combinazione di tre anomalie anatomiche del rene: ectopia, malrotazione e alterazioni vascolari. A livello morfologico, l'anomalia consiste in due strutture renali fuse ai poli inferiori da un istmo parenchimale o fibroso. Tale fusione dei reni si verifica in circa 1 individuo su 400-600 e si riscontra più frequentemente negli uomini che nelle donne (rapporto 2:1). Il quadro clinico del paziente pediatrico può essere molto variabile, con l'anomalia che in buona parte dei casi risulta asintomatica; tuttavia, al contempo aumenta in maniera rilevante l'incidenza di alcune complicanze nefrourologiche.

**Scopo dello studio:** Definire le caratteristiche demografiche di una popolazione di pazienti con diagnosi di HSK e studiarne anche la prognosi nefrologica. Inoltre, l'intenzione è quella di elaborare un percorso diagnostico-terapeutico, puntando particolare attenzione sull'eventuale necessità di una profilassi antibiotica.

**Materiali e metodi:** Abbiamo condotto uno studio retrospettivo osservazionale di coorte multicentrico in pazienti pediatrici con diagnosi di rene a ferro di cavallo (HSK), identificati presso il reparto di nefrologia pediatrica del dipartimento di salute della donna e del bambino dell'Azienda Ospedaliera di Padova e presso l'azienda Ospedaliero-Universitaria Sant'Orsola di Bologna. Sono stati considerati i pazienti afferiti dal 01/01/2012 al 31/12/2021 per patologia nefrourologica. Per ogni paziente sono stati acquisiti i seguenti dati: anamnesi gravidica e perinatale; anamnesi fisiologica; anamnesi patologica recente e remota; funzionalità renale, parametri auxologici; rilevamenti pressori; dosaggio della proteinuria; presenza di anomalie urologiche ed extra-urologiche.

**Risultati:** In questo studio sono stati esaminati 91 pazienti, 54 di sesso maschile (59%), 37 di sesso femminile rappresentano il (41%), con un rapporto M:F di 1.5:1. A livello morfologico, 28 soggetti (32%) presentava un quadro di displasia/ipoplasia renale mentre nel 68% (59 casi) del totale il rene aveva una morfologia nella norma. Inoltre, 68 soggetti (96%) aveva come sede di fusione il polo inferiore, mentre il restante 4% (3 casi) presentava una sede di fusione al polo

superiore. L'istmo è composto da parenchima in 63 pazienti (89%), al contrario, in 8 pazienti (11%) è presente un istmo fibroso. La media del peso della nascita dei soggetti è pari a 2837 gr. La media dell'età gestazionale è 38 SG. All'ecografia prenatale il rene a ferro di cavallo è stato individuato nel 10% dei casi (8 soggetti) mentre è rimasto misconosciuto nel 63,7% (51 casi) e diagnosi errata nel 26,3% (21 pazienti). All'ecografia postnatale la diagnosi iniziale corretta è avvenuta in 57 pazienti (79% dei soggetti esaminati) mentre i restanti 15 pazienti (21%) hanno ricevuto una diagnosi iniziale errata. Le cause che hanno portato alla diagnosi del HSK sono state: IVU, 14 soggetti (24%); incidentale, 40 casi (69%); colica renale, 2 pazienti (3,5%); ritenzione urinaria, 2 soggetti (3,5%). Sono stati individuati 20 pazienti (24%) con un quadro di dilatazione delle vie urinarie mentre nel restante 76% (63 casi) questa condizione era assente. Alla prima ecografia di controllo è stata riscontrata: DBP emirene sinistro con valori nella norma in 55 casi (95%), ipoplasico in 3 pazienti (5%); DBP emirene destro con valori nella norma nel 81% dei casi (47 soggetti) e 11 casi di ipoplasia (19%). Sono stati svolti esami di secondo livello, tra cui la cistouretrografia minzionale (VCUG), eseguita su 30 pazienti (33%) e no nei restanti 61 pazienti (67%). Le motivazioni che hanno portato allo svolgimento di tale esame sono: infezione urinaria, 16 (20%); routine, 6 (7,5%); dilatazione delle vie urinarie, 5 (6,2%); ipoplasia renale, 1 (1,2%). I dati della scintigrafia renale relativi al contributo funzionale dei due emireni sono: emirene destro con media 48,3%, deviazione standard (0,17), intervallo di valori (0,08-0,94); emirene sinistro con media 51,7%, deviazione standard (0,18), intervallo di valori (0,06-0,89). All'ultima ecografia svolta: altezza media (109,73 cm), intervallo di valori (55-175 cm), deviazione standard (38,45); DBP emirene sinistro, valori nella norma in 53 casi (87%), 7 casi di ipoplasia (11%) e 1 caso di ipertrofia (2%); DBP emirene destro con valori nella norma nel 85% dei casi (52 soggetti), ipoplasia in 8 pazienti (13%) e 1 caso di ipertrofia (1%). All'interno della popolazione sono stati riscontrati: IVU, 27 soggetti (30%); nefrolitiasi, 7 soggetti (7,7%); tumore di Wilms, 1 caso (1%); IRC, 6 casi (6,6%); proteinuria, 5 casi (5,5%); ipertensione, 5 casi (5,5%); traumi renali, 2 casi (2,2%).



**Conclusioni:** Il rene a ferro di cavallo è un'anomalia anatomica congenita che può influenzare la prognosi nefrologica dei pazienti, difatti è stato evidenziato un aumento dell'incidenza delle varie complicanze nefrourologiche (IVU, proteinuria, RVU, ipertensione, dilatazioni). A livello diagnostico, l'ecografia postnatale risulta particolarmente efficiente mentre eventuali esami di 2° livello (VCUG, scintigrafia, TC, RM) sono utili, in presenza di sintomatologia, per studiare la prognosi dei pazienti. In presenza di HSK, il rischio di IVU è maggiore, tale complicanza risulta ancora più probabile in caso sia presente anche RVU e/o dilatazione; la concomitanza di questi fattori in paziente con HSK può richiedere l'avvio di una profilassi antibiotica a causa del rischio elevato di IVU. Infine, considerando che la popolazione in esame è estremamente giovane, l'eventuale comparsa di complicanze ed eventuali lesioni nefrourologiche in età pediatrica potrebbe causare una severa compromissione e alterazione della normale funzionalità renale nel soggetto adulto.



## ABSTRACT IN INGLESE

**Background:** Horseshoe kidney (HSK) represents the major congenital fusion anomaly of the urinary tract. It results from the combination of three anatomical abnormalities of the kidney: ectopy, malrotation and vascular changes. On a morphological level, the anomaly consists of two renal structures fused at the lower poles by a parenchymal or fibrous isthmus. This fusion of the kidneys occurs in approximately 1 in 400-600 individuals and is found more frequently in men than in women (2:1 ratio). The clinical picture in the paediatric patient can be very variable, with the anomaly being asymptomatic in the majority of cases; however, the incidence of certain nephrourological complications increases significantly.

**Objective:** The aim is to define the demographic and morphological characteristics of a population of patients diagnosed with HSK, also studying their nephrological prognosis. In addition, the intention is to develop a diagnostic and management pathway, focusing on the possible need for antibiotic prophylaxis.

**Materials and methods:** We conducted a retrospective observational multicentre cohort study in paediatric patients with a diagnosis of horseshoe kidney (HSK), identified at the paediatric nephrology department of the women's and children's health department of the Azienda Ospedaliera di Padova and at the Azienda Ospedaliero-Universitaria Sant'Orsola di Bologna. Patients admitted from 01/01/2012 to 31/12/2021 for nephrourological pathology were considered. The following data were acquired for each patient: pregnancy and perinatal history; physiological history; recent and remote pathological history; renal function, auxological parameters; blood pressure measurements; proteinuria dosage; presence of urological and extra-urological abnormalities.

**Results:** In this study, 91 patients were examined, 54 male (59%), 37 female (41%), with an M:F ratio of 1.5:1. At the morphological level, 28 subjects (32%) had a picture of renal dysplasia/hypoplasia, while in 68% (59 cases) of the total, the kidney had normal morphology. In addition, 68 subjects (96%) had the lower pole as fusion site, while the remaining 4% (3 cases) had an upper pole fusion site. The isthmus was composed of parenchyma in 63 patients (89%), in contrast, a fibrous

isthmus was present in 8 patients (11%). The average birth weight of the subjects is 2837 g. The average gestational age is 38 SG. At prenatal ultrasound the horseshoe kidney was detected in 10% of cases (8 subjects) while it was misdiagnosed in 63.7% (51 cases) and misdiagnosed in 26.3% (21 patients). At postnatal ultrasound, the initial correct diagnosis was made in 57 patients (79% of the subjects examined) while the remaining 15 patients (21%) received an initial incorrect diagnosis. The causes leading to the diagnosis of HSK were: UTI, 14 subjects (24%); incidental, 40 cases (69%); renal colic, 2 patients (3.5%); urinary retention, 2 subjects (3.5%). There were 20 patients (24%) with a picture of urinary dilatation while in the remaining 76% (63 cases) this condition was absent. At the first follow-up ultrasound examination, the following were found: left haemirene DBP with values in the normal range in 55 cases (95%), hypoplastic in 3 patients (5%); right haemirene DBP with values in the normal range in 81% of cases (47 subjects) and 11 cases of hypoplasia (19%). Second-level examinations were carried out, including urinary cystourethrography (VCUG), performed in 30 patients (33%) and not in the remaining 61 patients (67%). The reasons for performing this examination were: urinary infection, 16 (20%); routine, 6 (7.5%); urinary dilatation, 5 (6.2%); renal hypoplasia, 1 (1.2%). The renal scintigraphy data on the functional contribution of the two hemirenals are: right hemirenals with mean 48.3%, standard deviation (0.17), range of values (0.08-0.94); left hemirenals with mean 51.7%, standard deviation (0.18), range of values (0.06-0.89). At the last ultrasound scan performed: mean height (109.73 cm), range of values (55-175 cm), standard deviation (38.45); DBP left haemyrene, values in the normal range in 53 cases (87%), 7 cases of hypoplasia (11%) and 1 case of hypertrophy (2%); DBP right haemyrene with values in the normal range in 85% of cases (52 subjects), hypoplasia in 8 patients (13%) and 1 case of hypertrophy (1%). Within the population, the following were found: UTI, 27 subjects (30%); nephrolithiasis, 7 subjects (7.7%); Wilms' tumour, 1 case (1%); CKD, 6 cases (6.6%); proteinuria, 5 cases (5.5%); hypertension, 5 cases (5.5%); renal trauma, 2 cases (2.2%).

**Conclusions:** The horseshoe kidney is a congenital anatomical abnormality that can influence the nephrological prognosis of patients; an increased incidence of various nephrourological complications (UTI, proteinuria, RVU, hypertension, dilatations) has been shown. At the diagnostic level, postnatal ultrasound is particularly efficient, possible 2nd level examinations (VCUG, scintigraphy, CT scan, MRI) are useful to study the patients' prognosis. In the presence of HSK, the risk of UTI is higher, this complication is even more likely if RVU and/or dilatation is also present; the concomitance of these factors in patients with HSK may require antibiotic prophylaxis due to the high risk of UTI. Finally, considering that the population under consideration is extremely young, the possible appearance of complications and nephrourological lesions in paediatric age could cause severe impairment and alteration of normal renal function in the adult subject.



## INTRODUZIONE

### 1. IL RENE

#### 1.1. Anatomia macroscopica

I reni sono organi pari, localizzati in sede retroperitoneale nella parte posteriore dell'addome, ai lati della colonna vertebrale. Il polo superiore del rene è a livello della XII vertebra toracica, mentre quello inferiore raggiunge la III vertebra lombare. Il rene destro è leggermente più basso del sinistro. Il polo superiore è rivolto più medialmente rispetto all'inferiore. Nell'uomo adulto il peso di ciascun rene oscilla tra 125 e 170 g, mentre nella donna è tra 115 e 155g. Il peso si riduce con l'età. Il diametro longitudinale è circa 11-12 cm, mentre quello trasversale è circa 5-7 cm; lo spessore del rene è 2,5-3 cm. Sulla faccia interna di ogni rene vi è l'ilo, che raccoglie la pelvi, l'arteria e la vena renale, i vasi linfatici, un nervo del plesso e l'uretere. L'ilo continua in una cavità, dove l'uretere si espande per formare la pelvi. L'ilo è ruotato leggermente in avanti rispetto al muscolo psoas, mentre la parte convessa è ruotata posteriormente. Ciascun rene è coperto da una capsula fibrosa e liscia facilmente rimovibile quando gli organi sono normali [Fig. 1] [1].

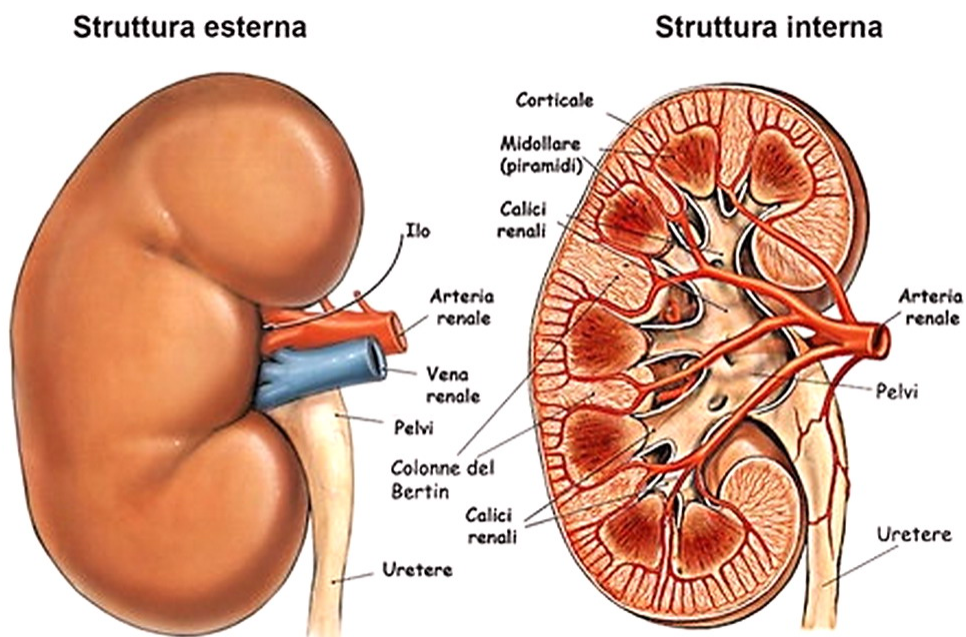


Fig. 1: rappresentazione dell'anatomia macroscopica del rene.

### 1.1.1. La corticale e la midollare renale

Il rene è rivestito da una propria capsula fibrosa di origine connettivale; dalla superficie interna della capsula si dipartono dei tralci che si addentrano per un breve tratto nel parenchima renale. In corrispondenza dell'ilo la capsula si riflette a rivestire il seno renale. La sezione frontale del rene permette di distinguere due zone principali: una zona profonda, ovvero la zona midollare, e una superficiale, la zona corticale.

La zona midollare del rene, di aspetto striato, presenta un'organizzazione in 8-18 formazioni coniche, chiamate piramidi renali di Malpighi, che con la loro base continuano nella corticale, mentre con il loro apice arrotondato sporgono nel seno renale. Gli apici costituiscono le papille renali; spesso due o più papille possono essere fuse assieme e in tal caso una papilla rappresenta l'apice comune di più piramidi e prende il nome di cresta renale. L'estremità libera delle papille, ovvero, l'area cribrosa, presenta 15-30 forellini o forami papillari, che corrispondono allo sbocco dei dotti papillari di Bellini. I dotti di Bellini, insieme ai dotti collettori, percorrono assialmente le piramidi renali, dando così l'aspetto striato tipico della midollare renale.

La zona corticale del rene è compresa tra la base delle piramidi e la superficie dell'organo ma si spinge anche profondamente fra le piramidi stesse, costituendo le colonne renali di Bertin.

Nella zona corticale si distinguono due regioni: una parte radiata e una parte convoluta. La parte radiata è costituita dai raggi midollari di Ferrein, che originano dalla base delle piramidi renali e decorrono nella corticale in maniera perpendicolare alla base stessa, assottigliandosi progressivamente e arrestandosi a breve distanza dalla superficie del rene. Ogni raggio midollare è costituito dai tubuli renali rettilinei e conferisce un aspetto finemente striato. La parte convoluta è presente fra i raggi midollari e va a costituire le colonne renali. Inoltre, rappresenta anche la sostanza corticale fra l'apice dei raggi midollari e la superficie del rene, prendendo il nome di cortex corticis. Ha un aspetto finemente granuloso dato dai corpuscoli renali e dai tratti convoluti dei tubuli renali.



In ciascun rene si possono distinguere i lobi e i lobuli. Il lobo è costituito da una piramide renale con il corrispondente strato della corticale. Quindi il numero dei lobi sarà pari a quello delle piramidi. Il lobulo, invece, è costituito da un raggio midollare e dalla parte convoluta che lo circonda [2].

### **1.1.2. Vascolarizzazione renale**

In virtù della funzione svolta dai reni, quest'organo riceve un grande afflusso di sangue, pari a 1 l/min.

Ogni rene riceve sangue dall'arteria renale dal lato corrispondente (ramo collaterale dell'aorta addominale). I reni possono ricevere sangue anche da arterie provenienti dalle arterie mesenteriche superiore, soprarenale, testicolare e ovarica e arterie accessorie dell'aorta addominale o dalla parte iniziale dell'arteria renale.

All'interno del seno renale, prima di entrare nel parenchima, l'arteria renale si divide in un due rami, anteriore e posteriore, dai quali avranno origine le arterie segmentarie che si svilupperanno fino a dare le arterie interlobari che decorrono attraverso le colonne di Bertine situate ai lati delle piramidi e da ognuno di esse nascerà l'arteria arcuata che decorre tra corticale e la midollare esterna in senso parallelo alla superficie del rene. Dalle arterie arcuate prendono origine le arterie interlobulari, che decorrono in senso perpendicolare alle arterie arcuate dal confine cortico-midollare alla superficie renale. Le arteriole afferenti dei glomeruli originano dai piccoli rami delle arterie interlobulari.

Dopo aver costituito la matassa glomerulare, il circolo arterioso si continua in arteriola efferente che sbocca nel circolo venoso peritubulare. Questo circolo si continua nelle vene superficiali che decorrono dapprima parallelamente alla superficie del rene e dopo perpendicolarmente, formando così le vene interlobulari che saranno vicine alle rispettive arterie. Dalla confluenza delle vene interlobali e arcuate ha origine la vena renale che sbocca nella vena cava inferiore [1].

### 1.1.3. Anatomia microscopica del rene

Il nefrone rappresenta l'unità funzionale del rene e ciascuno di essi ne contiene dai 700.000 ai 1.200.000 [Fig. 2].

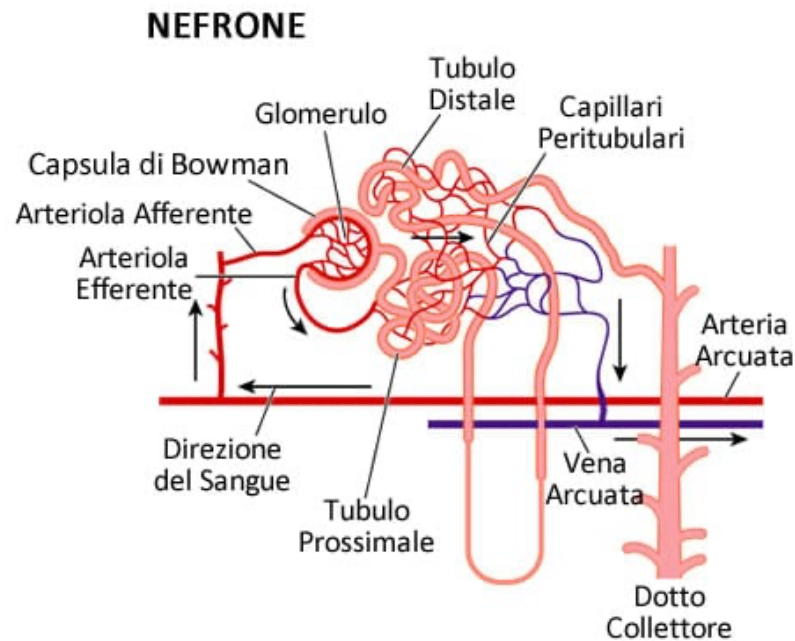


Fig. 2: schematizzazione della struttura del nefrone, unità funzionale del rene.

Il nefrone è una struttura complessa costituita da:

- corpuscolo renale di Malpighi: composto dal glomerulo e dalla capsula di Bowman;
- tubulo renale: suddiviso in tubulo prossimale, ansa di Henle, tubulo distale e dotto collettore.

L'estremità prossimale del tubulo si invagina e si dispone attorno ai capillari glomerulari con una struttura simile a un calice a doppia parete nel quale si distinguono un foglietto parietale ed uno viscerale, separati da un lume, lo spazio capsulare.

Il calice epiteliale prende il nome di capsula di Bowman. Il glomerulo consiste in un gomito di vasi capillari che si avvolge su sé stesso costituendo la cosiddetta matassa glomerulare.

Insieme, il glomerulo renale e la capsula di Bowman costituiscono il cosiddetto corpuscolo renale di Malpighi. Il vaso arterioso dal quale origina il glomerulo è detto arteriola afferente, mentre il vaso a valle del glomerulo è detto arteriola efferente.

La funzione di filtrazione del sangue è garantita dalla membrana di filtrazione, composta da:

- endotelio del capillare glomerulare: endotelio fenestrato caratterizzato dalla presenza di numerosi pori o fenestrature, situati tra una cellula e l'altra; costituisce la prima barriera al passaggio del sangue;
- membrana basale: è composta da tre strati, ovvero lamina rara esterna (dove poggiano i podociti), parte centrale e lamina rara interna (dove poggiano le cellule endoteliali);
- epitelio viscerale: è composto da cellule denominate podociti, costituiti da numerosi prolungamenti chiamati pedicelli. Tali estroflessioni avvolgono i capillari glomerulari e sono in diretto contatto con la membrana basale.

Lo spazio compreso tra le circonvoluzioni della matassa glomerulare è occupato dal mesangio intraglomerulare, un tessuto costituito dalle cellule mesangiali. Queste cellule presentano forma irregolare e sono dotate di propaggini citoplasmatiche che avvolgono le pareti dei capillari glomerulari. Possiedono due funzioni: una funzione contrattile e una funzione fagocitaria. In particolare, la capacità contrattile si attiva nel momento in cui queste cellule vengono stimulate dall'angiotensina II, con lo scopo di ridurre il flusso sanguigno all'interno del glomerulo.

Un'altra struttura di vitale importanza è l'apparato iuxtaglomerulare, localizzato in corrispondenza del polo vascolare del corpuscolo renale e costituito dalle seguenti strutture: le cellule iuxtaglomerulari dell'arteriola afferente (cellule granulose), la macula densa del tubulo distale e il mesangio extraglomerulare.

Le cellule iuxtaglomerulari sono situate nella parete dell'arteriola afferente della sua penetrazione nel corpuscolo renale. Queste cellule rappresentano degli elementi epitelioidi che sostituiscono le fibrocellule muscolari lisce della tonaca media del vaso.

Sono cellule voluminose che presentano nel citoplasma dei granuli PAS-positivi; in tali granuli è contenuta la renina, una molecola ad azione vasopressoria. Inoltre, presentano microfilamenti contrattili come le fibrocellule muscolari. Fra le cellule si osservano anche dei terminali assonici contenenti catecolamine, in quanto la secrezione di renina è regolata dalla stimolazione del sistema nervoso autonomo simpatico.

Le cellule iuxtaglomerulari, data la loro particolare localizzazione, sono stimulate dalla pressione esistente nell'arteriola afferente e immettono in circolo renina in quantità variabile secondo i valori pressori. L'azione della renina è indiretta: essa trasforma l'angiotensinogeno in angiotensina I che viene a sua volta degradata ad angiotensina II. Quest'ultima determina la contrazione della muscolatura liscia delle arteriole riducendone il calibro, con aumento conseguente della pressione arteriosa. L'angiotensina II stimola anche la secrezione di aldosterone da parte della corticale surrenale con conseguente aumento del riassorbimento di ioni  $\text{Na}^+$  e dell'escrezione di ioni  $\text{K}^+$  e  $\text{H}^+$  a livello del tubulo distale (si tratta del sistema RAA, ossia renina-angiotensina-aldosterone).

Le cellule iuxtaglomerulari producono anche l'eritropoietina, ormone stimolante l'eritropoiesi.

La macula densa è il tratto di parete del tubulo distale che si trova in diretto contatto con il polo vascolare del corpuscolo renale. In questo distretto le cellule tubulari sono piccole, povere di citoplasma e con nuclei molto ravvicinati, da qui il nome di macula densa. La macula densa instaura stretti rapporti con gli altri componenti dell'apparato iuxtaglomerulare. Infatti, essa rappresenta un chemorecettore che registra le variazioni nella composizione chimica del contenuto tubulare e, in particolare, della concentrazione di sodio. Dopodiché trasferisce uno stimolo di tipo umorale alle cellule iuxtaglomerulari.

Il mesangio extraglomerulare è composto da un gruppo di cellule, denominate cellule di Goormaghtigh, situate fra arteriola afferente e arteriola efferente, in diretto rapporto con le cellule iuxtaglomerulari e con la macula densa. Similmente al mesangio intraglomerulare, le cellule del mesangio extraglomerulare sono immerse in una matrice organizzata in lamine basali. Attraverso questo sistema di lamine, gli stimoli chimico-fisici che vengono recepiti dalla macula densa, vengono trasmessi alle cellule iuxtaglomerulari. Per cui il mesangio extraglomerulare ricopre un ruolo di mediatore fra la macula densa e le cellule iuxtaglomerulari [3,4].

Il secondo componente del nefrone, oltre al corpuscolo di Malpighi, è il tubulo renale, suddiviso in più segmenti con funzioni diverse:

- Tubulo Prossimale: inizia in corrispondenza del polo urinario del corpuscolo renale ed è costituito da due parti: la parte convoluta, iniziale, che segue un percorso tortuoso ed è localizzata esclusivamente nella zona corticale, e la parte retta, che ha andamento rettilineo e percorre la midollare. Nel complesso il tubulo prossimale è lungo circa 15 mm. Le cellule a questo livello presentano sulla loro superficie luminale il cosiddetto orletto a spazzola, composto da numerosi microvilli che aumentano la superficie apicale di più di 30 volte. Le cellule della porzione convoluta del tubulo prossimale possiedono un apparato lisosomiale che partecipa al riassorbimento e alla degradazione delle macromolecole provenienti dall'ultrafiltrato. Nello specifico, le proteine sono riassorbite mediante il meccanismo di endocitosi, in seguito al quale si formano piccole vescicole denominate endosomi; questi vanno incontro alla fusione con i lisosomi, affinché gli enzimi litici qui presenti possano degradare le proteine (proteolisi). Il riassorbimento molecolare che ha luogo a livello del tubulo prossimale è un processo estremamente selettivo basato sulla carica elettrica, la dimensione e la forma delle proteine;
- Ansa di Henle: i nefroni ad ansa corta che iniziano dai glomeruli superficiali e mediani della corticale hanno un tratto discendente dell'ansa relativamente breve, mentre i nefroni ad ansa lunga, presentano una branca discendente che giunge fino alla midollare interna;

- Tubulo Distale: si compone di tre parti, ovvero il tratto spesso della branca ascendente dell'ansa di Henle, la macula densa e il tubulo convoluto distale che termina nel dotto collettore;
- Dotto Collettore: presenta tre segmenti, ossia il tratto corticale, il tratto midollare esterno e il tratto midollare interno. Due tipi di cellule, in particolare, vanno a comporre questo tratto del tubulo renale: cellule chiare o cellule principali, che sono alla base dei meccanismi di riassorbimento di sodio, cloro, potassio, acqua e urea, e cellule scure (interposte tra le principali) ricche di mitocondri e contenenti elevati livelli di anidrasi carbonica, deputate soprattutto all'acidificazione dell'urina. In particolare, il tratto corticale è composto soprattutto da cellule chiare, il tratto midollare esterno è composto per il 75% da cellule chiare e per il 25% da cellule scure, mentre il tratto midollare interno si compone per il 90% da cellule chiare e per il 10% da cellule scure [2].

## 1.2. Fisiologia renale

Da un punto di vista funzionale, il rene svolge svariate funzioni, ovvero:

- regolazione dell'equilibrio elettrolitico tramite un adeguato controllo sul riassorbimento, filtrazione, escrezione e secrezione di svariati ioni e sostanze, quali  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , glucosio, amminoacidi, acido urico e urea;
- mantenimento dell'equilibrio acido-base e controllo del pH ematico, tramite la gestione degli scambi  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{H}^+$ ;
- controllo del volume dei liquidi corporei tramite processi di recupero ed eliminazione di acqua; in virtù di ciò, l'urina sarà, in base alle necessità dell'organismo, ipertonica, ipotonica o isotonica (rispettivamente con concentrazione di soluti maggiore, minore o uguale a quella ematica);
- produzione e rilascio di eritropoietina, renina, prostaglandine e sintesi di 1,25-diidrossicolecalciferolo, implicato nella regolazione dei livelli del calcio ematico. Più specificatamente, l'eritropoietina è l'ormone che media il processo di maturazione dei globuli rossi (eritropoesi) a livello del midollo osseo, la renina concorre alla regolazione della pressione sanguigna agendo sul sistema RAA (renina-angiotensina-aldosterone), infine abbiamo le prostaglandine i cui effetti sono vari e apprezzabili in diversi contesti fisiologici;
- partecipa all'omeostasi di proteine a basso peso molecolare e di ormoni polipeptidici come l'insulina;
- svolge funzioni metaboliche: a livello corticale, tramite la beta-ossidazione degli acidi grassi e nella gluconeogenesi a partire dall'acido lattico e amminoacidi glucogenetici; a livello midollare, metabolismo anaerobico tramite la glicolisi.

### 1.3. Composizione urine

La composizione delle urine presenta una variabilità interindividuale dovuta a sesso, età, dieta ed eventuali comorbidità del soggetto.

Circa il 95% del volume urinario totale è composto da acqua, mentre il 5% restante è rappresentato da urea, azoto, creatinina, elettroliti, acido urico, amminoacidi, sali minerali ed eventuali scarti metabolici di farmaci, la concentrazione e la proporzione di questi costituenti può variare in base al quadro clinico specifico che viene esaminato.

In condizioni di salute, la quota di glucosio, amminoacidi e proteine urinarie è pari a zero. Il valore del pH varia nel range 4,6-8,0. Tale parametro riflette la capacità renale di regolare la concentrazione di ioni  $H^+$  nel plasma e nei liquidi extracellulari, questo è reso possibile soprattutto tramite i processi di riassorbimento del sodio e la secrezione di  $H^+$  ed ammonio a livello dei tubuli renali.

Il quantitativo di urine prodotto nell'unità di tempo si definisce come diuresi. Un adulto sano e normopeso avrà una diuresi che oscilla tra i 1000 e 1800 ml, il tutto dipenderà da molte variabili che abbiamo già visto in precedenza (peso, età, sesso, alimentazione, comorbidità e così via).

Eventuali alterazioni della diuresi si definiranno come:

- Oliguria: < 500 ml/die
- Poliuria: > 2000 ml/die
- Anuria: < 100 ml/die.



#### 1.4. Parametri funzionali del rene

Per comprendere, valutare e controllare la funzionalità renale è importante definire alcuni parametri fondamentali, ovvero:

- Flusso ematico renale (FER): circa il 20% della gittata cardiaca è destinata ai reni, ciò significa che la velocità di flusso ematico renale (FER) equivale a circa 1.200 ml/min e in una velocità di flusso plasmatico renale (FPR) di circa 600 ml/min. Il FER è influenzato e regolato da svariati ormoni circolatori e da fattori autocrini come trombossani, endotelina e angiotensina.
- Velocità filtrazione glomerulare (VFG): la definizione di questo parametro è estremamente importante poiché una sua variazione si correla fortemente alla presenza di patologie renali. La VFG si definisce come il volume di liquido filtrato nell'unità di tempo, il cui valore medio è di 120-125 ml/min, ovvero circa 180 litri al giorno. Di tutti questi liquidi, solo 2 litri verranno realmente eliminati con le urine, mentre la porzione restante verrà riassorbita. Questo parametro renale rispetta l'equazione di Sterling.
- Studiando tale equazione, è possibile comprendere quali sono le variabili da cui dipende la VFG:
  - Pressione netta di ultrafiltrazione, risultante dal bilancio tra le forze idrostatiche e colloidale-osmotiche agenti sulle barriere di filtrazione;
  - Coefficiente di ultrafiltrazione ( $K_f = \text{permeabilità} \times \text{superficie filtrante}$ ) dove la superficie filtrante equivale all'area della superficie dei capillari, e la permeabilità si riferisce all'interfaccia costituita dall'endotelio e dalla capsula di Bowman;
  - Una riduzione del numero di capillare glomerulari funzionanti;

- Una riduzione della permeabilità dei capillari glomerulari, ad esempio processi infettivi;
  - Un aumento della pressione all'interno della capsula di Bowman, ad esempio eventi ostruttivi;
  - Un aumento della pressione colloidale-osmotica del sangue
- Autoregolazione del FER e della VFG: in presenza di oscillazione della PA media all'interno del range tra 80 e 180 mmHg, si attivano specifici meccanismi atti a mantenere costante il valore del FER e della VFG. Si tratta del meccanismo di autoregolazione renale che si articola in:
- Feedback tubulo-glomerulare: la macula densa è capace di alterare la resistenza glomerulare in risposta ai cambiamenti della portata attraverso il nefrone distale. In pratica, la macula densa utilizza la composizione del fluido tubulare come indicatore della VFG. Una grande concentrazione di NaCl è indicativa di una VFG elevata, mentre una bassa concentrazione indica una VFG diminuita. In seguito al rilevamento di alti livelli di NaCl, la macula densa rilascia alcune molecole di segnalazione che determinano la vasocostrizione dell'arteriola afferente, portando a un calo della VFG;
  - In caso di riduzione della VFG, si attiva un altro meccanismo ormonale di autoregolazione, ovvero il sistema RAA. In pratica, si osserva un aumento della renina plasmatica, la quale procede alla conversione dell'angiotensinogeno, rilasciato dal fegato, in angiotensina I. L'angiotensina I viene successivamente convertita in angiotensina II dall'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) presente nei capillari polmonari. L'angiotensina II è un potente vasocostrittore che provoca un restringimento dell'arteriola efferente. Questo meccanismo si attiva soprattutto in alcune condizioni mediche, come la stenosi dell'arteriola renale, che possono indurre un calo della VFG [5].



## 2. EMBRIOGENESI DELL'APPARATO URINARIO

Lo sviluppo dei vertebrati prevede la formazione di tre strati germinali, l'ectoderma, il mesoderma e l'endoderma, che contengono le cellule staminali progenitrici per l'organismo embrionale. In particolare, il mesoderma è lo stato che si interpone tra gli altri due, da questo originano numerosi tessuti e organi (muscolo scheletrico, gonadi, cuore), tra cui l'apparato genito-urinario [Fig. 3].

Buona parte delle nostre conoscenze sullo sviluppo renale derivano da studi condotti su modelli roditori ma anche studi su altri vertebrati, come pesci e uccelli [6].

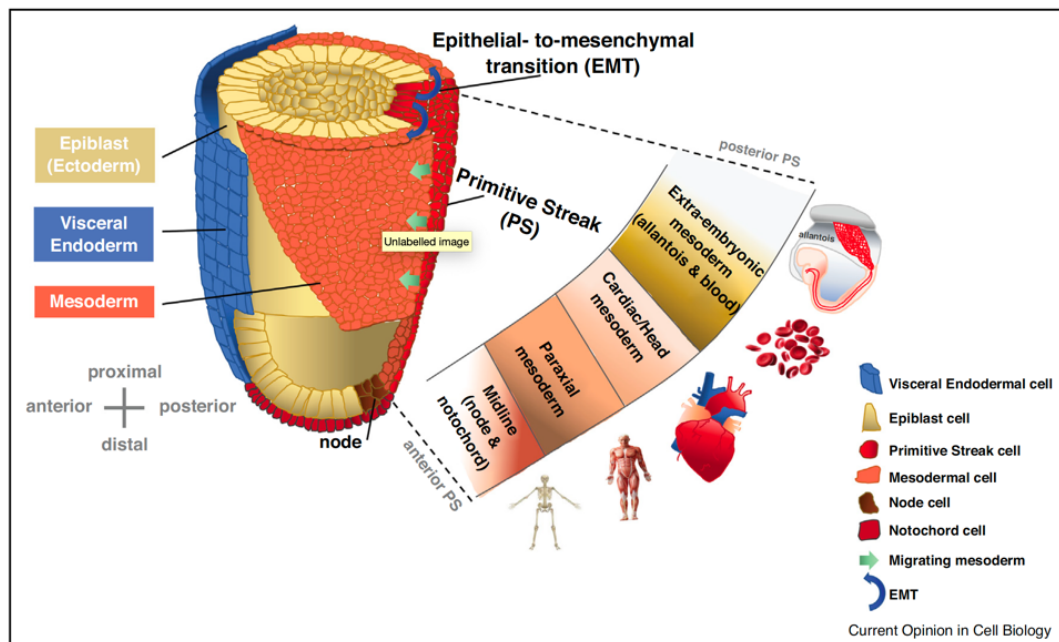


Fig. 3: organizzazione strutturale della gastrula e derivazione dei vari tessuti corporei.

Il mesoderma appare nel corso della 3<sup>o</sup> settimana gestazionale in seguito al processo di gastrulazione, che comporta la formazione di tre foglietti germinativi. La gastrulazione inizia con la formazione sulla superficie dell'epiblasto della linea primitiva. Questa, costituita da una sottile doccia circondata da rilievi cellulari, termina in posizione cefalica con il nodo primitivo. Le cellule epiblastiche che si invaginano a livello della linea primitiva e che vanno a disporsi tra l'endoderma neoformato e l'epiblasto danno origine al mesoderma.

Inizialmente le cellule mesodermiche costituiscono una lamina di tessuto lasso bilateralmente alla linea mediana.

A partire dal 17° giorno cominciano a definirsi le diverse sezioni del mesoderma: il mesoderma parassiale, medialmente, e placca laterale (lateralmente). In seguito, quest'ultima verrà ulteriormente divisa in strato mesodermico parietale, e strato mesodermico viscerale. Lo strato di mesoderma interposto tra la placca laterale e il mesoderma parassiale prende il nome di mesoderma intermedio [7].

Nella specie umana l'embriogenesi renale ha luogo a partire dalla 3° settimana gestazionale (SG) e prosegue fino alla 34° settimana.

Durante lo sviluppo dei vertebrati, dal mesoderma nasce in sequenza spazio-temporale una serie di tre strutture renali: pronefro, mesonefro e il metanefro.

Nei mammiferi e in altri amnioti, il pronefro e il mesonefro esistono come strutture transitorie e sono indotti dalla formazione e dalla migrazione posteriore del dotto nefrico, successivamente pronefro e mesonefro daranno origine al metanefro che poi si svilupperà nel rene definitivo [6].

## 2.1. Pronefro

Il pronefro è il primo tipo di rene a formarsi negli embrioni dei vertebrati.

Il primo passo della pronefrogesi è la formazione del mesoderma intermedio durante la gastrulazione, da questo si svilupperanno due cordoni di cellule, dette corde nefrogene. Nel mesoderma intermedio anteriore, i progenitori del filtro sanguigno glomerulare migrano e si fondono sulla linea mediana e reclutano un apporto di sangue. I progenitori dei tubuli, localizzati più posteriormente, vanno incontro a epitelizzazione e si fondono con la cloaca.

La via di segnalazione Notch regola la formazione di cellule multiciliate nei tubuli e queste cellule contribuiscono a spingere il filtrato verso la cloaca. Lo stress luminale causato dal flusso lungo il tubulo attiva la migrazione collettiva anteriore dei tubuli prossimali e induce lo stiramento e la proliferazione dei segmenti più distali.

In definitiva, questi processi creano un rene semplice a due nefroni, in grado di riassorbire e secernere soluti ed espellere l'acqua in eccesso, processi fondamentali per l'omeostasi dei fluidi corporei [8].

Il pronefro rappresenta una struttura funzionale negli anfibi e nei pesci mentre nell'uomo rappresenta una struttura rudimentale e transitoria.

## 2.2. Mesonefro

Intorno al 25° giorno gestazionale i tubuli del pronefro e il segmento craniale del dotto pronefrico vanno incontro a degenerazione e la porzione residua prende il nome di dotto mesonefrico, o di Wolff (DW). Al contempo, il DW attiva la sintesi di una nuova serie di tubuli renali nel tratto toracico e lombare superiore del mesenchima adiacente.

In pratica, viene stimolato un processo di aggregazione del mesenchima mesonefrico che va incontro alla transizione mesenchimo-epiteliale (MET), dando origine alle vescicole renali. Successivamente, queste ultime si allungano a dare dei tubuli escretori che sboccano nel dotto di Wolff [9]. Si formano, in tutto, circa 30-40 vescicole che costituiscono il mesonefro o rene mesonefrico maturo [9].

A mano a mano che vengono indotti nuovi tubuli in direzione caudale, i tubuli mesonefrici più craniali vanno incontro a regressione per apoptosi. In particolare, nel maschio alcuni tubuli mesonefrici si trasformano in condotti efferenti, mentre ciascun dotto di Wolff si differenzia a dare l'epididimo, il dotto deferente, il dotto eiaculatore e la vescichetta seminale. Al contrario, nella femmina si assiste a una regressione totale sia dei tubuli mesonefrici che del DW [10].

Il mesonefro fa parte della regione aorta-gonado-mesonefro (AGM) che funge da microambiente embrionale unico. Le linee di cellule stromali AGM selezionate sono altamente efficienti nel supportare il mantenimento e l'espansione delle cellule staminali e progenitrici ematopoietiche di topo e umane. Inoltre, viene dimostrato che le linee cellulari stromali AGM sono anche potenti induttori della differenziazione ematopoietica delle cellule staminali embrionali [11].

### 2.3. Metanefro

All'inizio della 5° SG, il metanefro, che è il rene permanente dei mammiferi, inizia la sua formazione come gemmazione dall'estremità caudale del dotto mesonefrico. Questo primo evento richiede un segnale di induzione dal mesenchima metanefrico circostante (originatosi dalla porzione caudale del mesoderma intermedio) che indurrà la formazione di un'invaginazione del DW, definita come gemma ureterica [12].

Il mesenchima metanefrico stimola la gemma a crescere e a ramificarsi ripetutamente secondo il meccanismo di biforcazione a T, dando vita all'albero ureterale [13]. Da quest'ultima si originano i dotti collettori, i calici e la pelvi renale. La regione della gemma ureterica che non si addentra nel MM diventa l'uretere.

In parallelo al processo di ramificazione, le cellule epiteliali a livello delle punte dell'albero ureterico innescano il complesso meccanismo di nefrogenesi. Essenzialmente, il tessuto mesenchimale del blastema è spinto ad addentarsi attorno alle estremità delle ramificazioni della gemma formando il cappuccio mesenchimale. Le cellule componenti il cappuccio subiscono la transizione mesenchimo-epiteliale (MET), questo porta alla formazione di una vescicola renale polarizzata. Tale vescicola si allunga dando prima una forma a virgola e successivamente acquisisce una struttura tubulare con forma a "S". Da questo tubulo si svilupperanno i vari segmenti del nefrone: la porzione superiore del corpuscolo si trasforma nel tubulo contorto distale, la porzione centrale forma il tubulo prossimale, l'ansa di Henle e il tubulo retto distale, e, infine, dal tratto finale si origina il corpuscolo renale.

L'epitelio di rivestimento interno del corpuscolo si differenzia in podociti glomerulari, mentre le cellule della superficie esterna maturano in cellule epiteliali parietali della capsula di Bowman. All'interno della capsula giungono i capillari e il mesangio che vengono, in questo modo, avvolti da un monostrato di podociti [13].



Durante questo processo di maturazione si stabilisce inoltre il collegamento fra il tubulo a “S” e la punta della ramificazione uretrale, nonché dotto collettore neoformato. In questo modo il filtrato glomerulare di ciascuna capsula di Bowman confluisce nel sistema collettore [14].

Normalmente, le prime fasi di ramificazione uretrale portano alla formazione della pelvi renale, dei calici maggiori e dei calici minori. Solamente nelle generazioni successive di ramificazione inizia in parallelo la nefrogenesi: ogni singola punta induce la genesi di due nefroni e con la graduale formazione di nuove ramificazioni i nefroni vengono trasportati assieme alla punta da una generazione all'altra.

Il processo di ramificazione termina verso la 15°-20° SG mentre la generazione di nuovi nefroni continua fino alla 36° SG.

Lo schema di ramificazione bifida si verifica circa 15 volte nello sviluppo del metanefro umano [15].

Se il processo fosse totalmente efficiente, si avrebbero in tutto circa 32.700 nefroni, ma il rene umano può arrivare a contenere più di un milione di nefroni grazie alla formazione di arcate nefrogeniche. Nonostante la nefrogenesi si concluda in epoca prenatale, la completa maturazione del sistema urinario si raggiunge solo dopo alcuni mesi dalla nascita [16].

#### **2.4. Ascenza renale e collocazione degli ureteri**

Man mano che l'addome aumenta di dimensioni, i metanefri si sposteranno gradualmente sul versante cefalico e acquisiscono una posizione posteriore.

Intorno alla 9° SG arriveranno ad occupare la loro posizione definitiva, ovvero in prossimità dei muscoli dorsali, all'altezza delle prime quattro vertebre lombari. Durante l'ascenza si osserva l'allungamento degli ureteri e la rotazione del rene in senso mediale di circa 90°, che porta l'ilo renale ad assumere una posizione antero-mediale [17].

I reni in età fetale possiede un aspetto lobulato e sono visibile, all'ecografia, a partire dalla 12 SG, anche se la loro struttura si apprezzabile dopo la 20° SG.

Gli ureteri sono le strutture di giunzione che permettono il flusso urinario della pelvi verso la vescica. Si sviluppano a partire dalla porzione della gemma ureterica che rimane all'esterno del blastema metanefrico.

Il processo maturativo dipende dalla condensazione di cellule mesenchimali che diventano cellule muscolari lisce contrattili, in grado di spingere l'urina verso la vescica. I condotti ureterali si allungo in direzione della cloaca e, inizialmente, si aprono nel DW.

In seguito, avviene la separazione tra l'apparato urinario e genitale grazie all'eliminazione apoptotica del tratto caudale del dotto nefrico, compreso fra il punto in cui emerge la gemma ureterica e la cloaca. In questo modo gli ureteri vanno a sboccare autonomamente nella parete vescicale, mediante il meato uretrale, all'altezza del collo della vescica [18].

## 2.5. Maturazione vescica ed uretra

La vescica e l'uretra si originano a partire dalla cloaca, una camera di derivazione endodermica localizzata all'estremità caudale dell'embrione, che rappresenta un compartimento dove collidono i canali urogenitale e anorettale. Fra la 6° e la 7° SG, il setto urorettale separa la cloaca in due parti: il seno urogenitale, posto anteriormente e dal quale originano le vie urinarie inferiori; il canale anale, localizzato posteriormente.

La diversificazione del seno urogenitale si svolge in maniera diversa in base al sesso. Nei soggetti di sesso maschile è suddiviso in tre regioni: superiore, pelvica e fallica. La porzione superiore genera la vescica urinaria, la parte intermedia o pelvica genera il segmento prostatico e membranoso dell'uretra, e la porzione fallica genera l'uretra peniena.

Anche nella femmina, la vescica prende origine dalla parte superiore del seno urogenitale, mentre la porzione pelvica dà origine all'uretra e al terzo inferiore della vagina [19].

La parte posteriore del seno urogenitale presenta un'area triangolare, di derivazione mesodermica, chiamata trigono vescicale. Questo origina dalla fusione dell'estremità caudale dei dotti mesonefrici con la parete del seno stesso, in corrispondenza dello sbocco nella cloaca. Nel maschio i DW si trasformano nei dotti eiaculatori e migrano ventralmente e inferiormente rispetto allo sbocco ureterale per poi convergere nell'uretra prostatica. In seguito, il tessuto mesodermico del trigono vescicale viene sostituito con epitelio endodermico [10].

La vescica fetale è apprezzabile all'ecografo a partire dalla 10° SG e il suo svuotamento è osservabile a partire dalla 15° SG. La capienza della vescica varia da 10 cc alla 30° settimana a 50 cc al termine della gravidanza [20].

## **2.6. Sviluppo vascolare renale**

La penetrazione della gemma ureterica all'interno del mesenchima metanefrico induce, dal giorno successivo, lo sviluppo dei primi capillari attorno al perimetro del metanefro e intorno alla gemma stessa [21].

Alla 8°-10° SG, i capillari iniziano a maturare e ad organizzarsi intorno ai corpuscoli, con una forma S. Tali capillari esprimono la molecola CD31 e il recettore del VEGF (fattore di crescita dell'endotelio vascolare). In contemporanea, l'arteria renale derivante dall'aorta dorsale si inserisce nel metanefro, quest'ultimo vaso incomincia a ramificarsi fino a dare origine alle arteriole glomerulari afferenti.

Ad oggi, esistono controversie sull'origine delle cellule endoteliali che compongono il sistema vascolare renale. Esistono due teorie che cercano di spiegare l'origine della vascolarizzazione renale: una di queste sostiene che quest'ultima deriva da alcune cellule progenitrici presenti all'interno del metanefro, tramite il processo di neoangiogenesi [22], mentre, l'altra suggerisce che le cellule endoteliali renali derivano, tramite il meccanismo di angiogenesi, dai vasi preesistenti situati al di fuori del metanefro [23].



### 3. **CAKUT- malformazioni congenite del rene**

Le anomalie congenite dei reni e delle vie urinarie (CAKUT) sono disordini embrionali che insorgono durante lo sviluppo e si traducono in uno spettro di difetti dei reni e delle vie di deflusso (ureteri, vescica, uretra) [24]. Le malformazioni urogenitali rappresentano più del 20% dei difetti congeniti [25] e sono presenti in più dell'1% dei nati vivi. La maggior parte dei casi di CAKUT viene diagnosticata con l'ecografia prenatale, che esamina i reni, le vie escrettrici e, soprattutto, il volume del liquido amniotico. Dopo la 18° settimana di gestazione, il liquido amniotico è composto principalmente da urina prodotta dai reni fetali. L'ecografia prenatale individua correttamente una CAKUT nel 60%-85% dei neonati, soprattutto se l'imaging viene eseguito nel terzo trimestre. I restanti casi di CAKUT sono per lo più diagnosticati dopo che un neonato o un bambino presenta un'infezione delle vie urinarie che richiede l'esecuzione di ecografie e/o altri studi di imaging per esaminare i reni e le vie di deflusso [24]. In generale, le CAKUT rappresentano la causa di insufficienza renale terminale nel 40-50% dei casi pediatrici e nel 7% dei casi in età adulta [26].

Le CAKUT possono presentare forme familiari (colpiscono, quindi, più membri della stessa famiglia) ma anche come componente di sindromi genetiche complesse. La familiarità per le CAKUT è stata confermata in diversi studi ed è stimata al 4-20% [28]. Nonostante ciò, la maggior parte dei casi di CAKUT è sporadica e sembra essere provocata da mutazioni de novo in specifici geni [29].

La diagnosi genetica delle CAKUT si è rivelata impegnativa a causa dell'eterogeneità genetica e fenotipica e per la penetranza genetica incompleta. Le cause monogeniche di CAKUT sono state identificate utilizzando diversi approcci, tra cui le analisi di mutazioni di un singolo gene, l'utilizzo di pannelli genici o il sequenziamento dell'intero esoma. È stato identificato un ruolo delle ripetizioni delle copy number variations (CNV). Numerosi studi sostengono l'influenza di fattori epigenetici e ambientali sullo sviluppo del rene e sulla storia naturale delle CAKUT, suggerendo che la patogenesi di questa sindrome sia multifattoriale [27].

### 3.1. Manifestazioni fenotipiche CAKUT

Tali alterazioni vengono classificate principalmente su base anatomica:

- Difetti del parenchima renale: agenesia renale, ipoplasia renale, displasia renale e rene displastico multicistico;
- Difetti delle vie urinarie: ostruzione della giunzione pielo-ureterale, ostruzione della giunzione uretero-vescicale, megauretere primario e reflusso vescico-uretrale;
- Malformazioni del tratto urinario inferiore: estrofia della vescica, agenesia vescicale, valvole uretrali posteriori e l'atresia uretrale;
- Difetti di posizione e fusione come il doppio distretto renale e il rene a ferro di cavallo [Fig. 4].

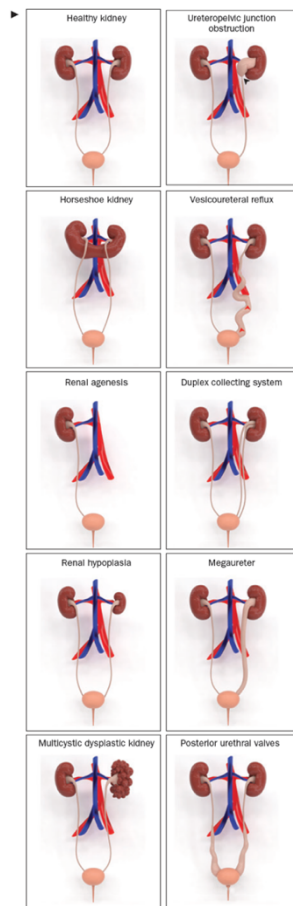


Fig.4: spettro di manifestazione fenotipiche delle CAKUT

Durante il processo di embriogenesi esistono delle specifiche interazioni e signaling molecolari, che si sviluppano secondo un preciso ordine spazio-temporale. Una qualsiasi alterazione di tale processo, a qualsiasi livello, può tradursi nella comparsa di una malformazione.

La classificazione anatomica delle CAKUT è possibile grazie a studi di imaging e assiste i pediatri nella determinazione di diagnosi, di follow-up e di gestione di questi pazienti.

Ad oggi non esistono delle linee guida standardizzate che possano uniformare il processo decisionale clinico per i pazienti con CAKUT, questo è dovuto alla mancanza di studi longitudinali sviluppati in maniera sistemica.

Nello specifico, l'assenza di questi studi impedisce ai medici di poter discriminare tra i pazienti con ridotta funzionalità renale, destinati a progredire verso l'insufficienza renale, da quei pazienti che hanno un decorso più benigno. Pertanto, una migliore comprensione dell'eziologia molecolare delle CAKUT può essere un punto di partenza nello sviluppo di linee guida cliniche standardizzate per migliorare la prognosi [30].



### **3.2. Forme di CAKUT dovute ad alterazioni della gemma ureterale**

I geni che, se mutati, sono coinvolti nella genesi di CAKUT nell'uomo sono coinvolti nel controllo delle prime fasi della morfogenesi del rene, ossia l'induzione del mesenchima metanefrico da parte della gemma ureterica e la transizione mesenchimale-epiteliale [31].

La gemmazione ureterica è promossa dalla segnalazione di GDNF attraverso il suo recettore RET. Dato il ruolo centrale della via di segnalazione GDNF-RET nella gemmazione ureterica, è probabile che mutazioni nei geni che regolano questa via possano causare la CAKUT. Questi meccanismi di regolazione includono fattori di trascrizione come PAX2, EYA1 e SALL1.

Inoltre, è stato dimostrato che le mutazioni di PAX2 portano a fenotipi renali variabili in tutto lo spettro della CAKUT, tra cui ipodisplasia renale, cisti renali da reflusso vescico-ureterale e reni displastici multicistici sono i più comuni [32].

Le mutazioni in EYA1 portano alla sindrome branchio-oto-renale (BOR), caratterizzata da perdita dell'udito, difetti strutturali dell'orecchio, fistola o cisti branchiale e CAKUT, che va da una lieve ipoplasia renale all'agenesia [33].

Mutazioni in SALL1 portano alla sindrome di Townes-Brocks (TBS), caratterizzata da anomalie renali, ani, dell'orecchio e del pollice. Un fenotipo CAKUT isolato è stato riportato in un paziente con una mutazione in SALL1 [34].

La BMP4 è espressa nelle cellule mesenchimali che circondano il dotto di Wolff e inibisce la segnalazione di GDNF-RET [35].

### **3.3. Forme di CAKUT dovute ad alterazioni della MET**

Uno step cruciale all'interno del processo di embriogenesi renale è la formazione delle cellule epiteliali che compongono il nefrone, ciò è reso possibile grazie alla transizione mesenchimale-epiteliale. Le proteine WNT, cioè WNT9b e WNT4, che agiscono all'interno della via di segnalazione delle WNT, svolgono un ruolo critico in questo processo [35, 36]. Inoltre, recenti studi indicano che la via di segnalazione WNT è parzialmente regolata da SIX2 [37]. È interessante notare che mutazioni in WNT4 o SIX2 sono state identificate in pazienti pediatrici con CAKUT [38]. Altri importanti attori chiave del MET sono i ligandi del fattore di crescita dei fibroblasti (FGF), come Fgf8 e Fgf9 [35, 36].

### **3.4. Forme di CAKUT dovute ad alterazioni della morfogenesi**

La gemma ureterica va incontro a un processo di ramificazione in serie e all'estremità di ogni ramificazione inizieranno a generarsi dei nuovi nefroni. I geni implicati in questo processo sono vari.

Uno dei fattori che regolano questo processo è l'angiotensina 2. L'angiotensina 2 attiva sia il recettore dell'angiotensina di tipo 1 che quello di tipo 2 sulla gemma ureterica per stimolare la ramificazione. Inoltre, è necessaria per l'allungamento del dotto collettore [39]. Di conseguenza, mutazioni nei geni che codificano diversi componenti del sistema renina-angiotensina: AGT (angiotensinogeno), REN (renina), ACE (enzima di conversione dell'angiotensina) e AGTR1 (recettore dell'angiotensina II di tipo 1) sono state collegate al distinto e grave fenotipo di CAKUT nell'uomo della disgenesia tubulare renale [40]. Questo raro disturbo fetale autosomico recessivo è caratterizzato dall'insorgenza precoce di anuria persistente che porta all'oligoidramnios e alla sequenza di Potter, secondaria all'assenza o alla differenziazione incompleta dei tubuli prossimali.

### 3.5. Altri locus genici associati alle CAKUT

All'interno dei vari studi condotti per comprendere le basi genetiche delle CAKUT sono stati trovati alcuni locus genici responsabili della patologia stessa, anche se non è ancora chiaro a che punto del processo nefrogenico agiscano.

HNF1B è un fattore essenziale per l'embriogenesi del rene, del pancreas e del fegato ed è espresso nel dotto di Wolff (DW) fin dalle prime fasi dello sviluppo del rene [41]. Le mutazioni in HNF1B sono state originariamente riconosciute come causa della sindrome delle cisti renali e del diabete (RCDS) [42]. Successivamente, mutazioni e delezioni di HNF1B sono state segnalate tra gli individui con CAKUT isolato che comprende diverse malformazioni renali in tutto il suo spettro, come l'ipodisplasia renale, il rene displastico multicistico, la malattia renale cistica, il rene singolo e l'oligomeganefronia [34, 43]. Le mutazioni di HNF1B sono state riconosciute anche come causa di anomalie del tratto genitale, test di funzionalità epatica elevati, iperuricemia [44].

Per quanto riguarda il meccanismo patogenetico, è stato identificato un legame tra le mutazioni di HNF1B e la malattia policistica renale autosomica recessiva (ARPKD), causata da mutazioni in PKHD1 (malattia policistica renale ed epatica 1). Poiché HNF1B regola direttamente la trascrizione di PKHD1, le mutazioni in HNF1B possono inibire l'espressione del gene PKHD1 e quindi possono contribuire alla formazione di cisti renali nell'uomo con RCDS [45].

Attualmente, HNF1B e PAX2 sono considerati i geni che causano più frequentemente CAKUT. Tuttavia, essi sono responsabili di non più del 5-15 % dei casi a seconda della coorte esaminata [34, 46, 47].

Mutazioni di DSTYK sono state rilevate in sette dei 311 (2,3%) pazienti non imparentati con CAKUT, in particolare, uno studio ha dimostrato che DSTYK è un regolatore positivo della fosforilazione di ERK a valle dell'attivazione del recettore FGF durante lo sviluppo del rene [48].

### 3.6. Gli effetti delle Copy-number variations nelle CAKUT

Per lo studio della genetica nelle CAKUT, un nuovo approccio è rappresentato dallo studio delle varianti del copy number variations (CNV). Difatti, lo sviluppo dell'apparato urinario è particolarmente sensibile al dosaggio genico e i difetti nella struttura del genoma; ad esempio, le delezioni di tratti genetici sono sempre più riconosciuti come una causa importante di malformazioni congenite [49]. Si stima, infatti, che siano alla base del 16% dei casi di CAKUT [50].

In riferimento a quanto appena detto, esistono svariate anomalie renali associate a sindromi causate da delezioni genomiche, come le sindromi di Williams, Alagille, branchio-oculo-facciali, Kallmann, le cisti renali e il diabete [51-52].

Come già discusso in precedenza, microdelezioni del cromosoma 17q12, che includono parzialmente l'HNF1B, si verificano ricorrentemente de novo in pazienti con CAKUT e malattia renale, con o senza diabete mellito [52]. Le delezioni genomiche in questa regione si associano a un'insorgenza più precoce del fenotipo renale rispetto ai pazienti con mutazioni puntiformi nell'HNF1B [52].

Inoltre, in aggiunta alle delezioni geniche più piccole e alle mutazioni puntiformi già conosciute, una grande delezione identificata mediante array-CGH che colpisce PAX2 è stata recentemente descritta per la prima volta come causa rara della sindrome del coloboma renale, [53].

Un'analisi delle CNV su tutto il genoma utilizzando un microarray di SNP in 522 individui con agenesia o ipoplasia renale ha rivelato rare CNV >100 kb che hanno interrotto regioni codificanti per i geni nel 16,6% dei pazienti [54].

In uno studio su pazienti con ipodisplasia renale è emerso che il carico di CNV rare di grandi dimensioni (>100 kb) è risultato significativamente più elevato nei casi di ipodisplasia renale [54]. Un totale di 34 CNV note precedentemente associate a disturbi genomici sono state identificate nel 10,5% di questa coorte. Le CNV più frequenti comprendevano delezioni ai loci 17q12 e 22q11 che causano rispettivamente la malattia renale e la sindrome del diabete e la sindrome di DiGeorge [54].

In uno studio successivo, CNV >200 kb sono state trovate nel 10,1% dei pazienti con un ampio spettro di condizioni CAKUT, tra cui ipoplasia renale, displasia, agenesia, displasia multicistica, doppio distretto renale, VUR, ostruzione della giunzione vescico-ureterale o ureteropelvica e valvole uretrali posteriori [55].

Questi studi suggeriscono che le CNV contribuiscono all'eziologia di CAKUT e chiamano in causa i geni all'interno dei loci CNV e le regioni non codificanti che potrebbero funzionare come elementi regolatori essenziali nello sviluppo del rene, come responsabili della malattia [54, 56, 57].

Altro aspetto importante è che la nefrogenesi è sensibile alla variazione del dosaggio genico, il che sottolinea l'importanza di rilevare le CNV nei pazienti con anomalie congenite come parte delle procedure diagnostiche.

### 3.7. Ruolo dell'epigenetica nelle CAKUT

I cambiamenti nell'attività o nell'espressione dei geni che non sono causati da cambiamenti nella sequenza del DNA di un gene sono noti come cambiamenti epigenetici e comprendono processi come la metilazione del DNA o la modifica degli istoni. Poiché le caratteristiche epigenetiche sono spesso tessuto-specifiche e vengono rimodellate dinamicamente da fattori ambientali, la valutazione dell'epigenoma deve avvenire quando la CAKUT insorge durante l'embriogenesi e all'interno del tessuto embrionale interessato [58,59].

Dati i numerosi meccanismi molecolari, strettamente regolati, che sono attivi durante lo sviluppo del rene e del tratto urinario, la determinazione dei fattori epigenetici che regolano la trascrizione del DNA è cruciale per comprendere l'eziologia delle CAKUT [60].

Tra i meccanismi epigenetici, due sono i più rilevanti nella malattia renale: la metilazione della citosina del DNA e la modificazione della coda degli istoni [60]. Ambedue i meccanismi possono agire sui processi di espressione genica, sia in senso attivatorio che inibitorio, con conseguenze di vari tipo a carico del processo di nefrogenesi.

Un'indagine sulla metilazione della citosina a livello genomico in campioni di tubuli provenienti da individui sani e da pazienti con CKD ha mostrato che le regioni metilate in modo differenziato si sovrappongono principalmente a regioni putative di enhancer e contengono motivi di legame per fattori di trascrizione specifici per il rene, come SIX2 [61]. Le conseguenti differenze nell'espressione genica si sono correlate con i cambiamenti nel pattern di metilazione e hanno interessato numerosi geni della via del TGF- $\beta$  [61].

È interessante notare che PAX2 funziona in una rete epigenetica che determina la specificità tissutale reclutando PTIP, una proteina nucleare ubiquitaria che agisce come cofattore della metiltransferasi H3K4, promuovendo così l'assemblaggio di un complesso di metiltransferasi dell'istone H3K4 nei siti bersaglio del DNA di PAX2 [62].

La regolazione della metilazione degli istoni in modo spaziale e temporale può quindi essere ottenuta attraverso proteine legate al DNA specifiche per lo sviluppo e il tessuto, come PAX2, che inducono il mesoderma intermedio a diventare cellule epiteliali renali. Nel complesso, questi dati suggeriscono che i cambiamenti epigenetici potrebbero essere istruttivi e predeterminare la suscettibilità alla malattia, oppure potrebbero attivare determinate vie in risposta a un danno renale.

Un ulteriore meccanismo epigenetico importante per lo sviluppo delle CAKUT riguarda i micro-RNA. Questi piccoli RNA non codificanti hanno il compito di legare gli mRNA e contrastarne la sintesi proteica mediante la degradazione e/o inibizione della traduzione. Uno studio ha identificato 73 micro-RNA coinvolti nello sviluppo renale di pazienti con CAKUT isolato. In particolare, sono state evidenziate delle varianti potenzialmente patologiche per due micro-RNA (MIR18B1 e MIR99A) [63].

L'obiettivo finale è quello di migliorare la pratica clinica identificando biomarcatori epigenetici che possano servire come indicatori predittivi e che possano essere modificati da farmaci terapeutici. L'eterogeneità delle alterazioni epigenetiche tra i vari tipi di tessuto e le variazioni epigenetiche tra lo sviluppo e l'età adulta, tuttavia, rendono difficile la raccolta di campioni appropriati, creando così una notevole sfida per gli studi epigenetici sulle CAKUT nell'uomo.







#### 4. IL RENE A FERRO DI CAVALLO

Il rene a ferro di cavallo (HSK) è la più comune anomalia congenita di fusione del tratto urinario, che combina tre anomalie anatomiche: ectopia, malrotazione e alterazioni vascolari. Nella maggior parte dei casi, l'anomalia consiste in due strutture renali fuse ai poli inferiori da un istmo parenchimale o fibroso. In rari casi, l'istmo collega i poli superiori e si crea un HSK invertito. Tale fusione dei reni si verifica in circa 1 individuo su 400-600 e si riscontra più frequentemente negli uomini che nelle donne (rapporto 2:1) [64].

Non è nota una determinazione genetica e razziale, sebbene la HSK sia stata segnalata in gemelli identici e in fratelli della stessa famiglia [64, 65]. La HSK viene riscontrata con una frequenza ancora maggiore nei neonati e nei bambini dopo l'esame autoptico, il che suggerisce che l'incidenza reale è superiore a quella stimata sulla base di esami di imaging [66]. L'HSK negli adulti è di solito un disturbo asintomatico e la sua individuazione è accidentale durante una pielografia endovenosa (IVP), un'ecografia di routine o una tomografia computerizzata (TC) eseguita per altri motivi [67].

Nei soggetti in età pediatrica, le eventuali manifestazioni cliniche possono essere varie e molto sfumate, la patologia può presentarsi con quadri acuti oppure può rimanere silente.

Dal punto di vista clinico, l'HSK negli adulti decorre solitamente in maniera asintomatico, tuttavia rappresenta comunque un fattore di rischio aumentato per eventuali complicanze nefrourologiche, come le infezioni delle vie urinarie, l'idronefrosi o la formazione di calcoli.

#### 4.1. Anomalie embriologiche nel rene a ferro di cavallo

Le ipotesi sulle cause che portano al rene a ferro di cavallo sono numerose e rappresentano un punto finale comune a più eziologie.

I vari meccanismi che possono essere considerati sono: fattori posizionali e fusioni anomale legate alla vicinanza delle cellule metanefriche (dovute ad anomalie nella migrazione), fattori intrauterini (ambiente materno ed esposizione a teratogeni), anomalie genetiche e cromosomiche [68].

Durante la risalita renale, la flessione o la rotazione dell'estremità caudale delle strutture renali embrionali o della colonna vertebrale possono essere sufficienti a causare la fusione [69]. È stato confermato che i blastemi metanefrici negli embrioni normali sono in stretta vicinanza l'uno all'altro prima della risalita [70].

L'opinione consolidata è che durante la risalita, essi si trovino in stretta apposizione mentre attraversano una biforcazione arteriosa [71]. In generale, più completa è la fusione, più ectopica è la posizione [72].

In modo simile, anche lievi alterazioni della posizione di arterie chiave (ad esempio, ombelicale o iliaca comune) possono causare un'alterazione del percorso di migrazione renale e la conseguente fusione [Fig. 5] [73].

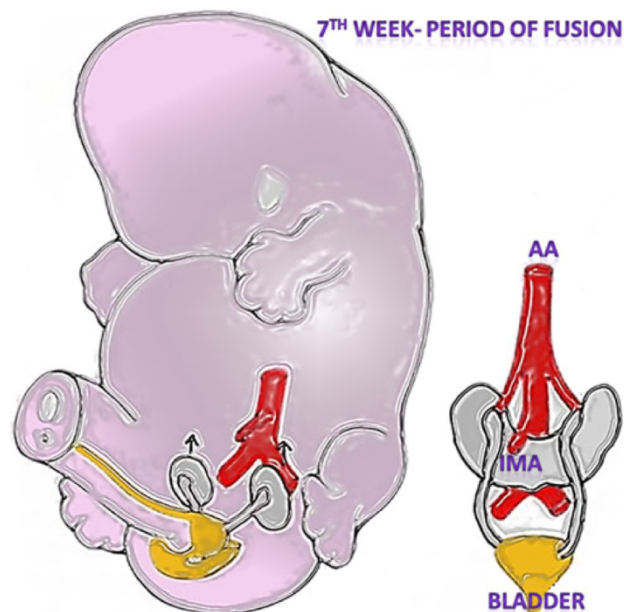


Fig. 5: Schematizzazione del processo di embriogenesi del HSK

Il fatto che le anomalie di fusione possano verificarsi sia in modo simmetrico che asimmetrico fornisce ulteriori indicazioni sulla causa [74]. I reni a ferro di cavallo simmetrici sono il risultato di fattori che influenzano in egual misura entrambe le strutture metanefriche [69]. Questi possono includere anomalie di crescita o di flessione ventrale all'interno di una pelvi embrionale ristretta [74]. I reni a ferro di cavallo asimmetrici o fusi lateralmente sono il risultato di uno spostamento asimmetrico delle strutture metanefriche [69]. L'eziologia può includere la flessione sul versante laterale del tronco o la rotazione in senso caudale dell'embrione [74].

L'apparato genitourinario e la colonna vertebrale originano da componenti distinte del mesoderma, ma sono relativamente sincroni nel loro sviluppo, per cui questa associazione può anche rappresentare un difetto o una sequenza del campo di sviluppo [75].

È stato suggerito che l'eziologia del caratteristico istmo o ponte possa essere dovuta a tessuto mesenchimale ectopico piuttosto che a una "fusione primaria". Ciò ha fatto seguito all'osservazione che nella maggior parte dei reni a ferro di cavallo, l'"istmo" è composto da un consistente tessuto parenchimale (Fig. 6) [76]. Questo tessuto nefrogenico ectopico si sarebbe formato a causa di una migrazione incompleta o anomala delle cellule nefrogeniche posteriori attraverso la vena primitiva [76, 77].

Durante le settimane 6-8 di sviluppo, la risalita renale è accompagnata da una rotazione mediale di 90° [78]. Questo comporta la rotazione dell'ilo da una posizione anteriore a una mediale, così come un'inclinazione dell'asse renale, con il polo superiore che giace posteromediale rispetto al polo inferiore [79]. Lo spettro di anomalie del rene a ferro di cavallo comprende la malrotazione, con conseguente passaggio degli ureteri anteriormente all'istmo o ai reni [80]. I casi più comuni sono la rotazione incompleta o la mancata rotazione, ma possono verificarsi anche iperrotazione e rotazione inversa [78].

#### 4.2. Caratteristiche anatomiche del rene a ferro di cavallo

I reni possono essere disposti in posizione simmetrica; i reni a forma di U si osservano nel 42% delle incidenze di HSK. Un'altra variante morfologica del HSK è il risultato di una fusione laterale rispetto alla colonna vertebrale ed è chiamato HSK a forma di L. Quest'ultimo tipo si verifica nel 58% delle incidenze di HSK [81] (Fig. 6).

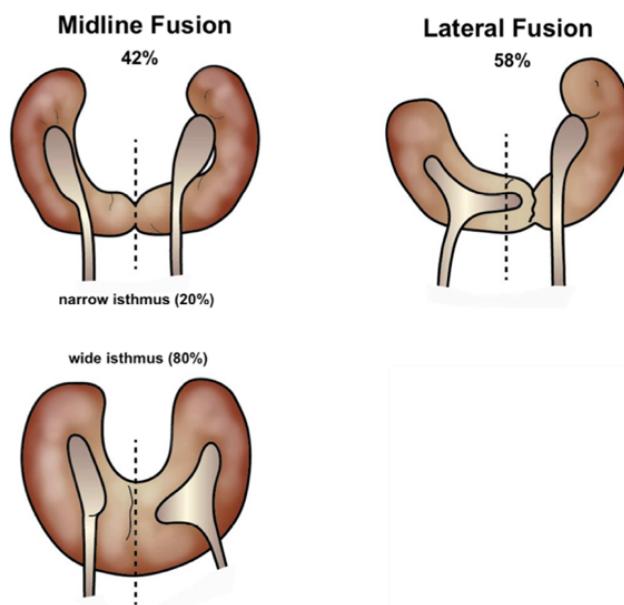


Fig. 6: statistiche riguardanti le possibili conformazioni del HSK.

L'asimmetria è più comunemente dominante a sinistra (70 %) [82]. In oltre il 90% dei casi, la fusione tra i reni si verifica al polo inferiore; tuttavia, si può osservare anche una fusione al polo superiore, con conseguente "HSK invertita" (5-10%). Nell'80% dei casi di HSK, l'istmo contiene parenchima renale, con un 20% di tessuto fibroso [83].

L'HSK può essere localizzato ovunque lungo il percorso previsto per la normale risalita renale dalla pelvi al medio addome [Fig. 7].

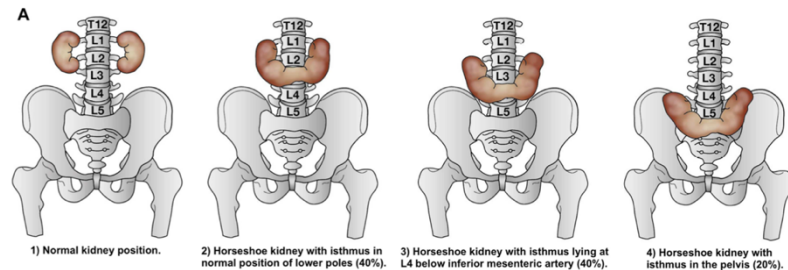


Fig. 7: possibili conformazioni e localizzazioni anatomiche del HSK

Tuttavia, si trova più comunemente in posizione lombare inferiore rispetto alla normale posizione dei reni, perché l'ascensione dell'istmo renale è impedita dall'IMA (arteria mesenterica inferiore). Questa posizione anomala comporta la compressione dell'HSK contro la colonna vertebrale lombare e predispone potenzialmente a gravi lesioni in seguito a un trauma addominale, poiché l'HSK è privato della protezione delle costole. L'istmo è situato a livello della 3° o 5° vertebra lombare, sotto l'origine dell'IMA e anteriormente all'aorta addominale (AA) e alla vena cava inferiore (IVC). Nell'HSK, la mancata rotazione che invece si osserva fisiologicamente nei reni normali, è responsabile della disposizione atipica del sistema calico-pielico. In particolare, l'ilo renale si trova anteriormente ai calici, che possono essere rivolti verso la colonna vertebrale, o verso il basso [84, 85]. La giunzione ureteropielica (UPJ) è situata più in alto del normale e l'uretere, mentre scende verso la vescica, attraversa la superficie anteriore dell'istmo renale sul bordo interno della parte superiore di ciascun rene. Questa situazione può portare a un'ostruzione dell'UPJ di vario grado. [85].

### 4.3. Vascolarizzazione del rene a ferro di cavallo

Esiste un'ampia variabilità nella struttura vascolare del rene a ferro di cavallo, considerando che le arterie renali (RA) possono originare dall'AA, dalle arterie iliache comuni (CIA) e dall'IMA [86].

In virtù di questo, è stato proposto un sistema di classificazione con sei modelli di base di alimentazione arteriosa per ciascun segmento HSK (Fig. 8) [87].

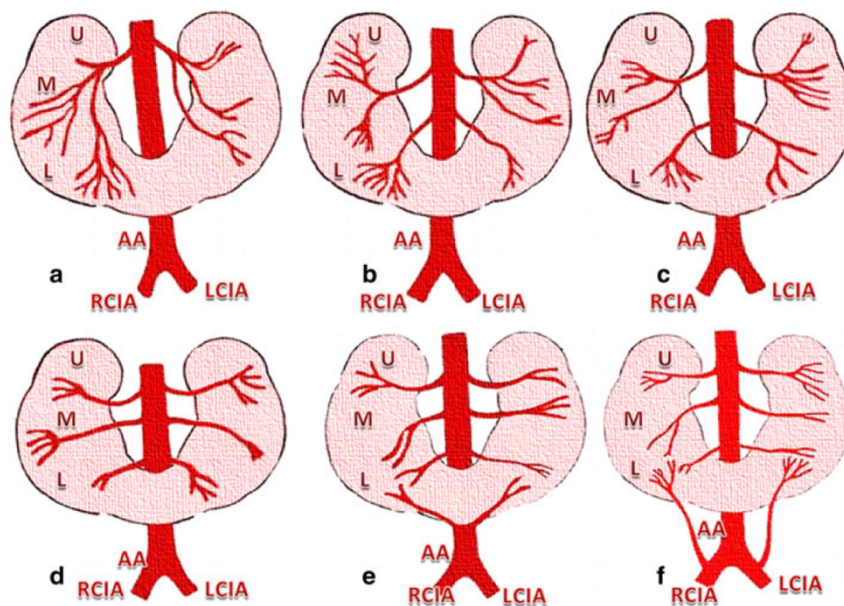


Fig. 8: classificazione delle possibili strutture vascolari nel rene.

In questa classificazione, ogni segmento HSK è alimentato da una singola arteria, esclusa la circolazione collaterale. In particolare:

- Tipo A: l'alimentazione arteriosa può seguire il modello normale con una singola RA che alimenta i segmenti superiore (U), medio (M) e inferiore (L);
- Tipo B: i segmenti U e M possono essere alimentati da una singola RA con un ramo dall'AA che entra in ciascun segmento L;
- Tipo C: le arterie dei segmenti L nascono dall'AA da un tronco comune e i segmenti U e M sono riforniti da una singola RA su entrambi i lati;

- Tipo D: i segmenti U e M sono riforniti da più RA;
- Tipo E: l'istmo è rifornito anche da arterie che nascono al di sotto dell'istmo stesso e che di solito hanno origine da AA;
- Tipo F: i segmenti L fusi possono essere alimentati da rami arteriosi provenienti dall'arteria iliaca comune (CIA) o, raramente, dall'arteria iliaca interna (ipogastrica) o dall'arteria sacrale media (MSA) [87].

Nella maggior parte dei casi, l'HSK è rappresentato dai tipi E (28%) e F (24%).



#### **4.4. Complicanze associate al rene a ferro di cavallo**

Almeno un terzo dei pazienti con rene a ferro di cavallo rimane asintomatico e il rene a ferro di cavallo viene spesso scoperto come reperto accidentale [88]. Tuttavia, in virtù della sua anatomia e della sua embriogenesi, il rene a ferro di cavallo è predisposto a diverse complicazioni ed entità patologiche. L'apporto ematico variabile, la presenza di un istmo mediano e di un punto di inserzione anomalo degli ureteri contribuiscono all'incidenza di complicanze. Quando i sintomi sono presenti, di solito sono dovuti a ostruzione, calcoli o infezione. In particolare, l'infezione delle vie urinarie è il sintomo di presentazione più comune nei bambini [89].

##### **4.4.1. Ostruzione pelvi-ureterale**

Il reperto associato più comune nel rene a ferro di cavallo è l'ostruzione a livello della giunzione pieloureterale [90]. Può essere bilaterale e si verifica fino al 35% dei pazienti con rene a ferro di cavallo. L'ostruzione è probabilmente secondaria a un'inserzione più craniale degli ureteri nella pelvi renale, con conseguente ritardo nello svuotamento pelvico. Gli ureteri superiori divergono lateralmente sull'istmo e poi convergono inferiormente [91]. Anche questo decorso anomalo dell'uretere anteriormente all'istmo può contribuire all'ostruzione.

La diagnosi di ostruzione della giunzione pieloureterale viene fatta per lo più in seguito a episodi di IVU, con un aspetto ecografico tipico di una pelvi ampia con un uretere alto e una zona di transizione stretta tra l'uretere e la pelvi. È anche comunemente rilevata alla scintigrafia renale. L'ostruzione può essere parziale o intermittente nel rene a ferro di cavallo così come avviene nel rene fisiologicamente localizzato.

Esistono diverse opzioni di trattamento per l'ostruzione della PUJ in un rene a ferro di cavallo. Le tecniche chirurgiche comprendono la pieloureteroplastica a cielo aperto o l'ureterocalicostomia e possono avvalersi delle più recenti tecniche laparoscopiche [92].

#### **4.4.2. Rene displasico-cistico**

Si ritiene che il rene displasico-cistico derivi da un'ostruzione intrauterina congenita, spesso correlata all'ostruzione della giunzione pielo-ureterale. La maggior parte dei casi è asintomatica e viene scoperta con l'ecografia prenatale. Nella metà dei casi, il rene controlaterale presenta una serie di anomalie, tra cui l'ostruzione della giunzione pielo-ureterale, il reflusso vescico-ureterale (RVU) associato o meno a nefropatia congenita da reflusso [93]. Il rene colpito è solitamente di dimensioni ridotte e contiene molteplici componenti cistiche con assenza di corticale sovrastante e mancanza di opacizzazione del sistema collettore negli studi di imaging con contrasto.

#### **4.4.3. Nefrolitiasi**

La prevalenza di calcoli nel rene a ferro di cavallo varia dal 20 al 60% [94, 95]. Si ritiene che la calcolosi sia dovuta a una combinazione di stasi urinaria e infezioni associate alla dilatazione, all'ostruzione della PUJ e al reflusso vescico-ureterale [96]. È anche possibile che l'orientamento dei calici possa compromettere il deflusso urinario, con conseguente stasi e formazione di calcoli. I calcoli sono spesso multipli e vengono solitamente rilevati e sottoposti a follow-up mediante radiografia diretta dell'addome. Sebbene la TC senza contrasto sia più sensibile nell'individuazione dei calcoli, viene generalmente utilizzata per casi selezionati; ad esempio, risulta particolarmente utile nel rilevamento dei calcoli ureterici e può essere preziosa prima della litotrissia percutanea dei calcoli. Le indicazioni per il trattamento sono simili a quelle per un rene fisiologico. Le opzioni di trattamento chirurgico includono la litotrissia extracorporea a onde d'urto e la chirurgia a cielo aperto [95].

#### **4.4.4. Infezioni delle vie urinarie e malattia da reflusso vescico-uretrale**

Il rene a ferro di cavallo è particolarmente predisposto alle infezioni urinarie. Ciò è dovuto alla combinazione di malattia da reflusso, stasi urinaria e formazione di calcoli. L'infezione si verifica fino a un terzo dei pazienti. L'infezione urinaria è una delle principali fattori di rischio di morbidità e mortalità nei pazienti con rene a ferro di cavallo. La via di infezione più comune è quella ascendente e la RVU è una causa sottostante comune [88]. La RVU si verifica in circa la metà dei pazienti con rene a ferro di cavallo e risulta bilaterale in circa il 10% dei casi. Lo spettro di presentazioni cliniche con RVU è molto ampio e dovrebbe essere preso in considerazione nei pazienti con infezioni ricorrenti, proteinuria e insufficienza renale non ancora conclamata.

L'esame strumentale gold standard per la diagnosi di RVU è il cistouretrografia minzionale (CUMS).

Le alterazioni secondarie includono l'evidenza di cicatrici parenchimali, clubbing caliceale, dilatazione uretrali e alterazioni della mucosa. La tomografia computerizzata e la risonanza magnetica sono indagini diagnostiche eccellenti per la valutazione delle alterazioni secondarie del reflusso, ma non consentono una valutazione dinamica del reflusso.

#### **4.4.5. Quadri traumatici**

A causa della sua posizione bassa e della presenza dell'istmo sulla linea mediana, il rene a ferro di cavallo è più soggetto a lesioni causate da traumi addominali diretti [97]. Il rene a ferro di cavallo non è ben protetto dalle costole e può essere compresso e lesionato attraverso la colonna vertebrale lombare in seguito a un trauma. Inoltre, la presenza di un'ostruzione della giunzione pielo-uretrale predispone ulteriormente il rene al trauma. L'imaging con la TC è una componente importante nella valutazione del rene traumatizzato. Può aiutare a selezionare i pazienti che richiedono un intervento chirurgico e quelli che possono essere gestiti in modo conservativo.

#### **4.4.6. Sindromi e altre patologie associate al rene a ferro di cavallo**

Il rene a ferro di cavallo può essere riscontrato in pazienti che presentano diversi quadri sindromici che coinvolgono coinvolgimento anche il sistema cardiovascolare, scheletrico, gastrointestinale. Alcune di queste anomalie sono incompatibili con la sopravvivenza a lungo termine e portano al decesso nel periodo perinatale. Tali anomalie includono problemi cardiovascolari, come i difetti ventricolo-settali, anomalie ossee, come le emivertebre e la scoliosi, nonché anomalie neurologiche, come il mielomeningocele [98,99]

Altre associazioni includono i colobomi dell'iride, la malattia policistica del rene dell'adulto, l'ipospadia o il criptorchidismo e le anomalie uterine, come l'utero bicornuto o la vagina settata [99].

Il rene a ferro di cavallo è anche associato a una serie di sindromi e anomalie cromosomiche, come la sindrome di Turner, la trisomia 18 e la sindrome oro-cranio-digitale. La sopravvivenza in questi casi dipende in larga misura dalla gravità delle anomalie associate.

#### **4.5. Rischio di patologia maligna**

La distribuzione dei tumori renali nei pazienti con rene a ferro di cavallo è nettamente diversa da quella riscontrata nella popolazione generale. Nella popolazione generale, l'83% dei tumori renali è costituito da adenocarcinoma, il 7,7% è costituito da carcinoma a cellule transizionali, il 3,7% è costituito dal sarcoma e solo il 5,6% sono tumori di Wilms [100].

Al contrario, il tumore di Wilms (WT), rappresenta il 28% dei tumori maligni nei pazienti con rene a ferro di cavallo. Le altre neoplasie sono rappresentate da adenocarcinoma (45%), carcinoma a cellule transizionali (20%) e sarcoma (7%) [101].

Il rischio di sviluppare una WT in un HSK è aumentato da due a otto volte rispetto alla popolazione generale [102, 103]. La WT è più comune in un HSK che in qualsiasi altra anomalia di fusione renale; il motivo può essere legato all'embriogenesi dell'HSK poiché il WT deriva da una proliferazione anomala del blastema metanefrico. Si ipotizza che la lesione embriologica che dà luogo a un HSK lo predisponga a un WT [103].

I bambini con WT in un HSK presentano maggiori problemi di diagnosi ed è comune che la diagnosi venga stabilita solo al momento dell'intervento chirurgico per altre indicazioni urologiche. Date le caratteristiche anatomiche peculiari dell'HSK, la diagnosi e l'individuazione di una massa maligna risulta più complicata [102].

La massa tumorale può comprimere uno o più ureteri, causando una dilatazione del sistema pielo-ureterale. Se la massa è unilaterale, nella maggior parte dei casi l'uretere è spostato medialmente e anteriormente. Quando il tumore origina dall'istmo, gli ureteri sono spostati anteriormente e lateralmente [102].

Altre patologie maligne che possono riguardare il rene, sebbene siano molto rari, sono i tumori neuroendocrini (NET).

Circa un terzo di essi si verifica nel contesto di un HSK in pazienti di età compresa tra 23 e 79 anni, senza alcuna preferenza di genere [104].

Le teorie sulle cause sottostanti includono l'origine da una cellula staminale multipotenti, la crescita di una componente neuroendocrina monoclonale all'interno di un teratoma e la derivazione da cellule neuroendocrine intercalate nella metaplasia intestinale mucosa del sistema pelvico-ureterale [105, 106]. È stata anche suggerita una condizione teratogenetica comune che porta alla formazione di un HSK e alla successiva comparsa di un tumore carcinoide [105].

Spesso i NET renali sono reperti incidentali [104] e la sindrome da carcinoide è raramente presente [105].

I sintomi più comuni sono il dolore addominale e la perdita di peso; meno comunemente vengono segnalate ematuria con o senza febbre [107].

I NET possono apparire come una massa renale solida o cistica alla TAC [108]. Sono maligni e possono metastatizzare ai linfonodi, al fegato e alle ossa [105, 109].

#### **4.6. Tecniche di imaging per la diagnosi di HSK**

La diagnosi di rene a ferro di cavallo può essere fatta con la maggior parte delle metodiche di imaging, con TC e RM che consentono di osservare al meglio l'anatomia del rene a ferro di cavallo e la sua relazione con le altre strutture [110]. In molti casi, tuttavia, la diagnosi viene fatta inizialmente con l'ecografia o l'urografia endovenosa. Sebbene la frequenza di utilizzo dell'urografia venosa stia diminuendo in tutto il mondo, in molti centri viene ancora eseguita come indagine di prima linea nei pazienti con infezioni ricorrenti delle vie urinarie. All'urografia endovenosa, il sistema collettore ha un aspetto caratteristico a causa di una rotazione incompleta verso l'interno della pelvi renale, che è rivolta verso l'esterno [111].

L'urografia non è in grado di differenziare in modo affidabile tra un istmo fibroso e uno parenchimale e, se si pianifica un intervento chirurgico, è spesso necessaria una diagnostica per immagini in sezione (TC o RM).

##### **Ecografia renale**

All'ecografia, il dato chiave per la diagnosi di rene a ferro di cavallo è il rilevamento di un istmo mediano che unisce i due poli inferiori del rene attraverso la linea mediana [112]. Questo è meglio visibile posizionando la sonda ecografica sulla parete addominale anteriore e scansionando orizzontalmente lungo la linea mediana in direzione cranio-caudale. Nei casi in cui l'istmo è costituito da una sottile banda fibrosa, questo reperto sulla linea mediana può essere difficile da vedere. Altre caratteristiche, come la malrotazione e l'alterazione dell'asse renale, possono essere difficili da valutare all'ecografia. La diagnosi è facile da fare nei bambini e nei pazienti magri. Inoltre, l'ecografia è molto dipendente dall'operatore e la familiarità con le caratteristiche di imaging di un rene a ferro di cavallo consente di migliorare l'accuratezza della diagnosi.

### **Cistouretrografia minzionale**

La cistouretrografia minzionale è un esame strumentale di 2° livello che permette di diagnosticare e di classificare l'eventuale presenza di dilatazioni delle vie urinarie e della RVU. Studi sull'utilizzo della cistouretrografia minzionale per la diagnosi di HSK sono pressoché nulli, data anche la presenza di altre metodiche di imaging efficaci nel confermare la presenza di HSK. Detto ciò, in virtù del maggior rischio di IVU associato alla presenza di dilatazioni delle vie urinarie e di RVU, la cistouretrografia minzionale acquisisce un importante valore prognostico nei pazienti con HSK.

### **Scintigrafia renale**

Un rene a ferro di cavallo può essere diagnosticato con indagini di medicina nucleare che utilizzano radionuclidi marcati con tecnezio. Poiché questi composti sono assorbiti dal tessuto renale funzionante, l'asse anomalo di un rene a ferro di cavallo può essere facilmente identificato. Inoltre, quando l'istmo è composto da tessuto renale funzionante piuttosto che da tessuto fibroso, può essere visto come una banda continua attraverso la linea mediana [113]. Nei bambini, la scintigrafia renale con acido  $^{99m}\text{Tc}$ -dimercaptosuccinico è comunemente usata per valutare la presenza di cicatrici renali e le anomalie associate, come il rene a ferro di cavallo, sono spesso rilevate incidentalmente.

### **Tomografia computerizzata**

La TC con mezzo di contrasto è il metodo di scelta per la valutazione di un rene a ferro di cavallo, in quanto consente un'osservazione precisa dell'anatomia e dei rapporti di un rene a ferro di cavallo, oltre a permettere la valutazione di potenziali complicazioni. Alla TC, è possibile osservare come l'istmo attraversa la linea mediana; inoltre, la presenza di tessuto in aumento distingue il tessuto funzionale dell'istmo dal tessuto fibroso.

### **Risonanza magnetica**

Anche la risonanza magnetica consente di rappresentare con precisione l'anatomia e i rapporti del rene a ferro di cavallo e di identificare le complicanze associate. Inoltre, l'angio-RM fornisce informazioni utili sulla vascolarizzazione del rene.



#### **4.7. Profilassi antibiotica nei soggetti con HSK**

Ad oggi, non esistono linee guida o studi ben precisi sul rapporto costo/beneficio dell'avvio di una profilassi antibiotica nei soggetti pediatrici affetti da HSK.

Le indicazioni possono essere ricavate generalmente dagli studi sul reflusso vescico-uretrale, dove diversi autori suggeriscono l'utilizzo della profilassi solo nei reflussi di alto grado.

Detto ciò, le ragioni e il razionale a favore della somministrazione di una profilassi antibiotica a basso dosaggio sono:

- concentrazioni minime di alcuni antibiotici riducono la capacità di adesione dei batteri;
- lo stesso antibiotico può disturbare la capacità di adesione di batteri portatori di diversi tipi di adesine;
- una dose inibitoria di antibiotico può determinare una riduzione delle adesine e inibire la formazione o l'espressione delle adesine di superficie nei batteri in crescita;
- l'inibizione dell'adesione di E. coli da parte della pefloxacina a dosi subinibitorie è associata a una riduzione della produzione di proteine da parte delle fimbrie e alla fragilità delle membrane esterne.

Particolare attenzione va posta alla tossicità renale dell'antibiotico, soprattutto nei primi anni di vita [114].

Il danno indotto dall'IVU, che può aggiungersi a quello causato dalla nefrouropatia malformativa sottostante, può essere ulteriormente aggravato e ampliato dalla somministrazione erranea di un antibiotico potenzialmente nefrotossico [114], soprattutto nei primi anni di vita.

La dose del trattamento antibiotico di profilassi nei neonati sé pari al 30% della dose completa in età pediatrica.





## **SCOPO DELLO STUDIO**

Il nostro studio si pone diversi scopi.

Il primo scopo dello studio è la descrizione delle caratteristiche demografiche e cliniche di una coorte di pazienti in età pediatrica con diagnosi di rene a ferro di cavallo.

Un secondo scopo è la valutazione retrospettiva della prognosi nefrologica dei pazienti secondo i vari end point presi in considerazione in questo studio (IVU, nefrolitiasi, RVU, ostruzioni, ipertensione arteriosa, proteinuria, dilatazioni).

Un terzo scopo è la determinazione e l'elaborazione di un protocollo diagnostico-terapeutico dei soggetti con HSK. In particolare, si vuole determinare se l'indagine ecografica è sufficiente per la diagnosi di HSK e in quali casi sia necessaria l'esecuzione di esami di 2° livello, come la scintigrafia renale e cistouretrografia minzionale.

Un ulteriore scopo è l'individuazione di possibili segni e sintomi che possano guidare in maniera più decisa e sicura l'iter diagnostico per il rene a ferro di cavallo.

L'ultimo scopo è quello di definire l'eventuale necessità di avviare una profilassi antibiotica nei soggetti con HSK. In particolare, si vuole comprendere se tale profilassi vada avviata in tutti i pazienti con diagnosi di HSK (a prescindere dalla sintomatologia) o se sia preferibile attuarla solo in specifiche condizioni.



## **MATERIALI E METODI**

È stato condotto uno studio retrospettivo osservazionale di coorte multicentrico in pazienti pediatriche con diagnosi di rene a ferro di cavallo (HSK), identificati presso il reparto di nefrologia pediatrica del dipartimento della salute della Donna e del Bambino dell'Azienda Ospedaliera di Padova e presso l'azienda Ospedaliero-Universitaria Sant'Orsola di Bologna. Sono stati considerati i pazienti afferiti dal 01/01/2012 al 31/12/2021 per patologia nefro-urologica.

Criteri di inclusione:

- pazienti con diagnosi confermata ecograficamente e/o scintigraficamente di rene a ferro di cavallo;
- pazienti con età al momento della prima valutazione compresa tra 0 e 18 anni.

Criteri di esclusione:

- pazienti con diagnosi definitiva di altra forma di CAKUT durante il percorso diagnostico;
- pazienti con età al momento della prima valutazione > 18 anni.

Per ogni paziente sono stati acquisiti i seguenti dati: anamnesi gravidica e perinatale; anamnesi fisiologica; anamnesi patologica recente e remota; funzionalità renale, parametri auxologici; rilevamenti pressori; dosaggio della proteinuria; presenza di anomalie urologiche ed extra-urologiche.

I seguenti dati, per ciò che riguarda la struttura di Padova, sono stati acquisiti grazie alla piattaforma Galileo (referti degli esami di imaging, esami di laboratorio, lettere di dimissione e consulenze ambulatoriali).

I dati raccolti sono stati inseriti, in maniera anonima, all'interno di un database, creato specificamente per questo studio, in formato file Excel, il tutto dopo aver acquisito il consenso informato per ogni paziente.

Al momento del controllo ecografico, abbiamo definito come “nella norma” le dimensioni longitudinali del rene comprese tra 5 e il 95esimo percentile secondo i diagrammi di Dinkell (Fig. 9), il quale considera due variabili ovvero dimensione del rene e altezza del paziente.

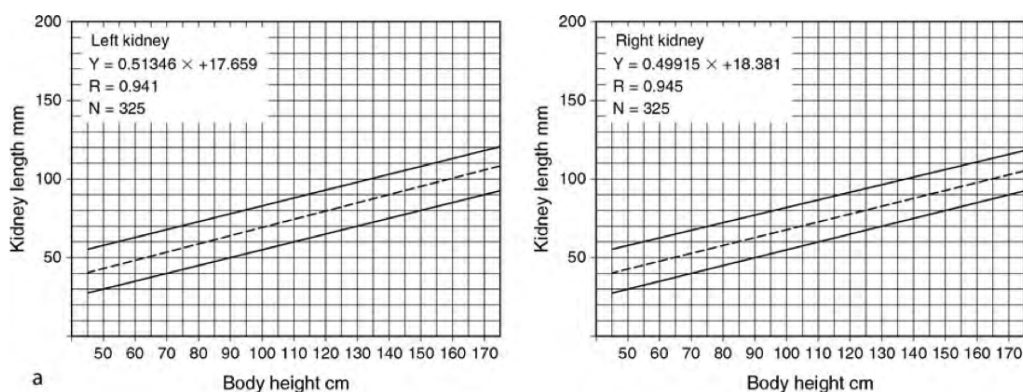


Fig. 9: Diagramma di Dinkell

In fase di acquisizione dei valori pressori nell’ultima visita nefrologica, abbiamo definito l’eventuale presenza di un quadro ipertensivo avendo come riferimento i valori percentili nei pazienti pediatrici:

- Per PAS e/o PAD compresi tra il 90esimo e il 95esimo percentile, abbiamo un quadro di pre-ipertensione;
- Per PAS e/o PAD superiori al 95esimo percentile, abbiamo un’ipertensione conclamata.

Tali percentili vengono definiti usando come variabili: età; altezza; sesso; valori pressione.

Dallo studio delle ultime analisi ematiche, abbiamo definito come “fisiologico” valori di PrU/CrU inferiori a 0,2 mentre valori di PrU/CrU superiori o uguali a 0,2 sono stati definiti “patologico”.

Una volta confermata la diagnosi di HSK, al follow-up ecografico sono stati osservati i seguenti parametri: peso; altezza; diametro antero-posteriore del rene.

In base al grado di complessità della patologia, sono stati eseguiti esami di secondo livello, quali:

- scintigrafia renale dinamica e/o statica: definendo il contributo funzionale di ciascun rene e l'eventuale presenza di ostruzioni;
- cistografia minzionale (VCUG): definendo il motivo che ha portato all'esecuzione dell'esame e l'eventuale grado di reflusso.

Le analisi statistiche sono state condotte utilizzando metodi di statistica descrittiva e inferenziale adeguati alla numerosità del campione ed alle variabili dello studio.





## **RISULTATI**

In base a criteri di inclusione di esclusione definiti per questo studio, nel periodo di tempo che va da Gennaio 2012 a Dicembre 2021 sono stati identificati 91 soggetti in età pediatrica con diagnosi di rene a ferro di cavallo, individuati grazie alle strutture ambulatoriali dell'azienda ospedaliera di Padova e dell'azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna Policlinico Sant'Orsola, nello specifico, 28 (30,8%) pazienti provenienti dalla struttura di Padova e 63 (69,2%) pazienti dalla struttura ospedaliera di Bologna. I seguenti soggetti sono stati seguiti e analizzati prendendo in considerazione le caratteristiche morfologiche del HSK, le informazioni relative alla nascita e l'insieme di dati acquisiti tramite tecniche di imaging di 1° e 2° livello, esami ematochimici e visite ambulatori.

## Caratteristiche popolazione e aspetti morfologici HSK

Su 91 pazienti, 54 sono di sesso maschile, pari al 59%, mentre i pazienti di sesso femminile rappresentano il 41% (37 casi) del totale, con un rapporto M:F di 1.5:1 .

Per quanto riguarda i soggetti in cui è stato possibile osservare le caratteristiche morfologiche del rene a ferro di cavallo, si è visto come 28 soggetti (32%) presentava un quadro di displasia/ipoplasia renale mentre nel 68% (59 casi) del totale il rene aveva una morfologia nella norma.

Inoltre, 68 soggetti (96%) aveva come sede di fusione il polo inferiore, invece, il restante 4% (3 casi) presentava una sede di fusione al polo superiore.

Per ciò che riguarda le proprietà dell'istmo nel HSK, 63 pazienti (89%) manifestano un istmo parenchimale, al contrario, 8 pazienti (11%) posseggono un istmo fibroso.

La media del peso della nascita dei soggetti è pari a 2837 gr, con un intervallo di valori di (700-4000 gr). La media dell'età gestazionale è 38 SG, con un intervallo di valori di (31-35 SG) (Tabella I).

Tabella I: caratteristiche popolazione e aspetti morfologici HSK

<b>SESSO</b>	M: 54/91 (59%)	
	F: 37/91 (41%)	
<b>IPOPLASIA/DISPLASIA</b>	Si: 28/87 (32%)	
	No: 59/87 (68%)	
<b>SEDE DI FUSIONE</b>	Polo superiore: 3/71 (4%)	
	Polo inferiore: 68/71 (96%)	
<b>ISTMO</b>	Parenchimale: 63/71 (89%)	
	Fibroso: 8/71 (11%)	
<b>INFORMAZIONE sulla NASCITA</b>	Peso alla nascita	Media: 2837 gr Intervallo valori: (700-4000 )
	Età gestazionale	Media: 38 Intervallo valori:(31-45)

## Diagnosi prenatale

Passando allo studio ecografico del feto, in epoca prenatale, il rene a ferro di cavallo è stato individuato nel 10% dei casi (8 soggetti) mentre 51 pazienti (63,7%) sono rimasti con un HSK misconosciuto e 21 pazienti (26,3%) hanno ricevuto una diagnosi errata; nello specifico, il tipo di anomalie riscontrate erroneamente sono (Tabella II):

- dilatazione delle vie urinarie: 6 soggetti (28,6%)
- loggia renale vuota: 4 soggetti (19%)
- pielectasia: 3 soggetti (14,3%)
- ipoplasia renale: 4 soggetti (19%)
- ectopia renale: 3 soggetti (14,3%)
- agenesia renale: 1 soggetto (4,8%)

Tabella II: analisi statistiche diagnosi prenatale

<b>DIAGNOSI PRENATALE</b>	Si: 8/80 (10%)	
	No: 72/80 (90%)	
<b>DIAGNOSI PRENATALE NON CORRETTA</b>	Si: 21/80 (26,3%)	Dilatazione vie urinarie: 6/21 (28,6%) Loggia renale vuota: 4/21 (19%) Pielectasia: 3/21 (14,3%) Ipoplasia renale: 4/21 (19%) Ectopia renale: 3/21 (14,3%) Agenesia renale: 1/21 (4,8%)
	No: 53/80 (73,7%)	

## **Diagnosi postnatale**

Considerando le diagnosi in epoca postnatale, la diagnosi iniziale corretta è avvenuta in 57 pazienti (79% dei soggetti esaminati). I restanti 15 pazienti (21%), hanno ricevuto una diagnosi iniziale errata, in particolare, il tipo di anomalie erroneamente diagnosticate sono (Tabella III):

- dilatazione delle vie urinarie: 4 soggetti (26,7%)
- ectopia renale: 4 (26,7%)
- ipoplasia renale: 6 (40%)
- agenesia renale: 1 (6,6%)

Le cause che hanno portato alla diagnosi del HSK sono varie, ovvero:

- IVU: 14 soggetti (24%)
- Incidentale: 40 (69%)
- Colica renale: 2 (3,5%)
- Ritenzione urinaria: 2 (3,5%)

L'età media di comparsa delle complicanze nefrourologiche che hanno portato alla diagnosi è di 11 mesi. Nello studio sono stati individuati 20 pazienti (24%) con un quadro di dilatazione delle vie urinarie mentre nel restante 76% (63 casi) questa condizione era assente.

Il tipo di dilatazioni riscontrate sono:

- Dilatazione pellica: 14 soggetti (74%)
- SGUP: 2 (11%)
- Dilatazione calici: 1 (5%)
- Megaurettere: 1 (5%)
- Idronefrosi: 1 (5%)

Tabella III: analisi statistiche diagnosi postnatale

<b>DIAGNOSI POSTNATALE INIZIALE</b>	Si: 57/72 (79%)	
	No: 15/72 (21%)	
<b>DIAGNOSI POSTNATALE INIZIALE NON CORRETTA</b>	Si: 15/72 (21%)	Dilatazione vie urinarie: 4/15 (26,7%) Ectopia renale: 4/15 (26,7%) Ipoplasi renale: 6/15 (40%) Agenesia renale: 1/15 (6,6%)
	No: 57/72 (79%)	
<b>CAUSA DIAGNOSI</b>	IVU: 14/58 (24%)	
	Incidentale: 40/58 (69%)	
	Colica renale: 2/58 (3,5%)	
	Ritenzione urinaria: 2/58 (3,5%)	
<b>ETA' COMPLICANZE</b>	Media: 11 mesi	
<b>DILATAZIONE VIE URINARIE</b>	Si: 20/83 (24%)	
	No: 63/83 (76%)	
<b>TIPO DILATAZIONE</b>	Dilatazione pellica: 14/19 (74%)	
	SGUP: 2/19 (11%)	
	Dilatazione calici: 1/19 (5%)	
	Megaurettere: 1/19 (5%)	
	Idronefrosi: 1/19 (5%)	

## Anomalie associate all'HSK

È stata riscontrata la presenza di anomalie genito-urinarie associate nel 10% dei casi (8 soggetti) mentre erano assenti nel rimanente 90% (71 soggetti), nello specifico, le anomalie genito-urinarie riscontrate sono state: 4 casi di ipospadia; 1 caso di criptorchidismo; 1 caso di testicolo ad ascensore.

In 10 pazienti (11%) presentavano anche delle malattie sindromiche, quali: sindrome Hinman; sindrome Loeys-Dietz; traslazione 13:15; sindrome Vacter; sindrome Turner; BIDOD syndrome; mosaicismo 45X/46 XY; duplicazione Xq23; duplicazione 2; neurofibromatosi 1. Nel restante 89% dei casi (81 pazienti) non erano presenti sindromi.

Dallo studio è emersa la presenza di anomalie extra renali in 16 pazienti (17,6%), al contrario, in 75 pazienti (82,4%) tale condizione era assente. Le anomalie riscontrate sono state: 8 casi di anomalie cardiache; ritardo psicomotorio; cisti spleniche; neurofibromi; macrocrania; scoliosi; anomalie intestinali; palatoschisi; adenomatosi polmonare (Tabella IV).

Tabella IV: anomalie associate a HSK

<b>ANOMALIE GENITO-URINARIE</b>	Si: 8/79 (10%)	Ipospadia: 4 Criptorchidismo: 1 Testicolo ad ascensore: 1
	No: 71/79 (90%)	
<b>ANOMALIE EXTRA-RENALI</b>	Si: 16/91 (17,6%)	Cardiache: 8 Ritardo psicomotorio Cisti spleniche Neurofibromi Macrocrania Scoliosi Intestinali Palatoschisi Adenomatosi polmonare
	No: 75/91 (82,4%)	
<b>SINDROMI</b>	Si: 10/91 (11%)	Sindrome Hinman Sindrome Loeys-Dietz Traslazione 13:15 Sindrome Vacter Sindrome Turner BIDOD syndrome Mosaicismo 45X/46 XY Duplicazione Xq23 Duplicazione 2 Neurofibromatosi 1
	No: 81/91 (89%)	

## **Indagini strumentali di 1° e 2° livello**

Al controllo ecografico, sono stati presi in considerazione l'altezza, il DBP dell'emirene destro e sinistro.

La prima ecografia è stata fatta su una coorte di pazienti in cui l'età media al momento dell'esame ecografico era pari a 3,3 anni. Per ciò che riguarda le altre informazioni ecografiche, è stata riscontrata un'altezza media di 83,13 cm, con un intervallo di valori pari a [49-146,8 cm] e una deviazione standard di 37,41. Il DBP dell'emirene sinistro è risultato con valori nella norma in 55 casi (95%), con riscontro di 3 casi (5%) di ipoplasia. Il DBP dell'emirene destro presenta valori nella norma nel 81% dei casi (47 soggetti) e 11 casi (19%).

Sono stati svolti esami di secondo livello, tra cui la cistouretrografia minzionale (VCUG), la quale è stata eseguita su 30 pazienti (33%) mentre nei restanti 61 pazienti (67%) no. Le motivazioni che hanno portato allo svolgimento di tale esame sono:

- IVU: 16 (20%)
- Routine: 6 (7,5%)
- Dilatazione: 5 (6,2%)
- Ipoplasia: 1 (1,2%)

In seguito alla VCUG, sono stati individuati 8 casi di reflusso (26,7%); volendo definire i vari gradi di reflusso, abbiamo riscontrato:

- Reflusso dx: 4 casi di reflusso di IV grado, 3 casi di reflusso di III grado;
- Reflusso sx: 2 casi di reflusso di IV grado, 2 casi di reflusso di III grado, 1 caso di reflusso di I grado.



Un ulteriore esame di secondo livello che è stato eseguito è la scintigrafia renale, nello specifico, in 57 pazienti (64%) è stata svolta al momento della diagnosi di HSK, mentre nel restante 36% dei casi (32 soggetti), l'esame è avvenuto in un momento diverso da quello della diagnosi di HSK. In 44 casi (57%) è stata svolta una scintigrafia statica DMSA mentre per 33 soggetti (43%) è stata utilizzata la scintigrafia dinamica MAG3. Dai risultati della scintigrafia statica DMSA è emerso:

- un contributo funzionale medio del rene destro pari a 47% e una deviazione standard di 0,16, mediana con valore di 48,5% e con un intervallo di valori di [0,08-0,76];
- un contributo funzionale medio del rene sinistro pari a 53% e una deviazione standard di 0,16, mediana con valore di 51,5% e con un intervallo di valori di [0,2-0,89].

Tramite la scintigrafia dinamica MAG3, si è visto che:

- il contributo funzionale medio del rene destro è 51%, con una deviazione standard di 0,2, mediana pari a 53% e un intervallo di valori compreso tra 0,2 e 0,94;
- il contributo funzionale medio del rene sinistro è 49%, con una deviazione standard di 0,2, mediana pari a 47% e un intervallo di valori compreso tra 0,06 e 0,79.

Tralasciando il tipo di scintigrafia renale utilizzata, i dati relativi al contributo funzionale dei due emireni sono:

- Destro: media pari a 48,3%, una deviazione standard di 0,17, mediana pari a 49% e un intervallo di valori che va da 0,08 a 0,94;
- Sinistro: media pari a 51,7%, una deviazione standard di 0,18, mediana pari a 51% e un intervallo di valori che va da 0,06 a 0,89.

Analizzando i singoli pazienti, abbiamo riscontrato: dominanza del rene destro in 25 soggetti (43,1%); dominanza del rene sinistro in 28 pazienti (48,3%); contributo funzionale uguale tra i due reni in 5 soggetti (8,6%).

Attraverso la scintigrafia è stato anche possibile identificare 9 casi (26%) di pazienti con ostruzione delle vie urinarie, mentre nel restante 74% (25 casi) l'ostruzione era assente (Tabella V).

Tabella V: analisi indagini di 1° e 2° livello

<b>PRIMA ECOGRAFIA RENALE</b>	Età	Media: 3,3 anni
	Altezza	Media: 83,13 cm Intervallo valori: (49-146,8) Deviazione standard: 37,41
	DBP emirene sx	Nella norma: 55/58 (95%) Ipoplasi: 3/58 (5%)
	DBP emirene dx	Nella norma: 47/58 (81%) Ipoplasi: 11/58 (19%).
<b>VCUG</b>	Si: 30/91 (33%)	IVU: 16 (20%) Routine: 6 (7,5%) Dilatazione: 5 (6,2%) Ipoplasi: 1 (1,2%)
	No: 61/91 (67%)	
	Presenza reflusso: 8/30 (26,7%)	
<b>GRADO REFLUSSO VESCICO-URETERALE</b>	Dx	IV: 4 III: 3 Assente: 3
	Sx	IV: 2 III: 2 II: 1 Assente: 3
<b>SCINTIGRAFIA ALLA DIAGNOSI</b>	Si: 57/89 (64%)	Statica DMSA: 44/77 (57%) Dinamica MAG3: 33/77 (43%)
	No: 32/89 (36%)	
<b>SCINTIGRAFIA STATICA DMSA contributo funzionale</b>	Dx	Media: 0,47 Mediana: 0,485 Intervallo valori: (0,08-0,76) Deviazione standard: 0,16
	Sx	Media: 0,53 Mediana: 0,515 Intervallo valori: (0,2-0,89) Deviazione standard: 0,16
<b>SCINTIGRAFIA DINAMICA MAG3 contributo funzionale</b>	Dx	Media: 0,51 Mediana: 0,53 Intervallo valori: (0,2-0,94) Deviazione standard: 0,2
	Sx	Media: 0,49 Mediana: 0,47 Intervallo valori: (0,06-0,79) Deviazione standard: 0,2
<b>SCINTIGRAFIA RENALE contributo funzionale</b>	Dx	Media: 0,483 Mediana: 0,49 Intervallo valori: (0,08-0,94) Deviazione standard: 0,17
	Sx	Media: 0,517 Mediana: 0,51 Intervallo valori: (0,06-0,89) Deviazione standard: 0,18
<b>DOMINANZA RENALE</b>	Dx: 25/58 (43,1%) Sx: 28/58 (48,3%) Uguale: 5/58 (8,6%)	
<b>OSTRUZIONI ALLA SCINTIGRAFIA</b>	Si: 9/34 (26%) No: 25/34 (74%)	

## **Analisi cliniche e strumentali di controllo**

I soggetti dello studio sono stati valutati in maniera completa valutando gli ultimi dati relativi a visita ambulatoriale, esami bioumorali e controllo ecografico.

All'ultima visita nefrologica è risultato:

- Età media pari a 7,68 anni ed media del periodo di follow-up di 4,7 anni;
- un peso medio dei soggetti pari a 30,5 kg con deviazione standard di 19,7 e intervallo dei valori compreso tra 3,4 e 63 kg;
- un'altezza media di 122 cm, con deviazione standard pari a 35 e un intervallo dei valori compreso tra 64 e 175 cm;
- una pressione arteriosa sistolica (PAS) che risulta sotto il 90esimo percentile in 58 pazienti (87,9%), compresa tra il 90esimo e il 95esimo percentile (pre-ipertensione) nel 1,5% dei casi (1 soggetto) mentre è superiore al 95esimo percentile (ipertensione conclamata) in 7 pazienti (10,6%);
- una pressione arteriosa diastolica (PAD) che risulta sotto il 90esimo percentile in 56 pazienti (84,8%), compresa tra il 90esimo e il 95esimo percentile (pre-ipertensione) nel 7,6% dei casi (5 soggetti) mentre è superiore al 95esimo percentile (ipertensione conclamata) in 5 pazienti (7,6%);

Sono stati esaminati gli ultimi esami ematici, dai quali è emerso:

- un'altezza media di 128,6 cm, con deviazione standard pari a 33,16 e un intervallo dei valori compreso tra 50 e 177 cm;
- un valore medio di creatinina di 0,47 mg/dL, con deviazione standard di 0,19 e un range di valori che va da 0,16 a 1,07 mg/dL;
- un eGFR superiore a 90 mL/min/1.73m<sup>2</sup> in 38 pazienti (86,4%) mentre è stato trovato un 60<eGFR<90 (IRC allo stadio iniziale) nel 13,6% dei casi (6 pazienti);
- il rapporto PrU/CrU (proteine nelle urine/creatina nelle urine) è risultata fisiologica in 51 soggetti (96%) mentre era patologica nel 4% dei soggetti (2 pazienti).

Relativamente all'ultima ecografia svolta è stata riscontrata un'altezza media di 109,73 cm, mediana pari a 102 cm, un intervallo di valori pari a (55-175 cm) e una deviazione standard di 38,45. Il DBP dell'emirene sinistro è risultato con valori nella norma in 53 casi (87%), 7 casi di ipoplasia (11%) e 1 caso di ipertrofia (2%). Il DBP dell'emirene destro presenta valori nella norma nel 85% dei casi (52 soggetti) mentre un quadro di ipoplasia era presente in 8 soggetti (13%) e infine 1 caso (2%) di ipertrofia (Tabella VI).

Tabella VI: analisi cliniche e strumentali di controllo

<b>ULTIMA VISITA NEFROLOGICA</b>	Età	Media: 7,68 anni
	Peso	Media: 30,5 Kg Intervallo valori: (3,4-63) Deviazione standard: 19,7
	Altezza	Media: 122 cm Intervallo valori: (64-175) Deviazione standard: 35
	PAS	PAS < 90 percentile: 58/66 (87,9%) 90 < PAS < 95 percentile: 1/66 (1,5%) PAS > 95 percentile: 7/66 (10,6%)
	PAD	PAD < 90 percentile: 56/66 (84,8%) 90 < PAD < 95 percentile: 5/66 (7,6%) PAD > 95 percentile: 5/66 (7,6%)
	Durata follow-up	Media: 4,7 anni
<b>ULTIMI ESAMI EMATICI</b>	Altezza	Media: 128,6 cm Intervallo valori: (50-177) Deviazione standard: 33,16
	Creatinina	Media: 0,47 mg/dL Intervallo valori: (0,16-1,07) Deviazione standard: 0,19
	eGFR	Media: 121,12 Deviazione standard: 18,65 eGFR > 90: 38/44 (86,4%) 60 < eGFR < 90: 6/44 (13,6%)
	PrU/CrU	Fisiologica: 51/53 (96%) Patologica: 2/53 (4%)
<b>ULTIMA ECOGRAFIA RENALE</b>	Altezza	Media: 109,73 cm Mediana: 102 cm Intervallo valori: (55-175) Deviazione standard: 38,45
	DBP emirene sx	Nella norma: 53/61 (87%) Ipoplasico: 7/61 (11%) Ipertrofico: 1/61 (2%)
	DBP emirene dx	Nella norma: 52/61 (85%) Ipoplasico: 8/61 (13%) Ipertrofico: 1/61 (2%)

## Prognosi nefrologica

Infine, è stato esaminata la prognosi nefrologica di questi pazienti, attraverso lo studio di specifici outcome, quali (Tabella VII):

- IVU: manifestatasi in 27 soggetti (30%);
- Nefrolitiasi: sviluppatasi in 7 soggetti (7,7%);
- Tumore di Wilms: presente 1 caso (1%);
- IRC: 6 casi (6,6%);
- Proteinuria: evidenziata in 5 casi (5,5%);
- Ipertensione: evidenziata in 5 casi (5,5%);
- Traumi renali: rilevati 2 casi (2,2%).

Tabella VII: statistiche sulla prognosi nefrologica dei pazienti

<b>OUTCOME PAZIENTE</b>	IVU: 27/91 (30%)
	Nefrolitiasi: 7/91 (7,7%)
	Tumore Wilms: 1/91 (1%)
	IRC: 6/91 (6,6%)
	Proteinuria: 5/91 (5,5%)
	Ipertensione: 5/91 (5,5%)
	Traumi renali: 2/91 (2,2%)





## DISCUSSIONE

### **Caratteristiche demografiche e morfologiche**

Il primo scopo dello studio è la descrizione delle caratteristiche demografiche e cliniche di una coorte di pazienti in età pediatrica con diagnosi di rene a ferro di cavallo.

L'asimmetria è più comunemente dominante a sinistra (70%) [82]. In oltre il 90% dei casi, la fusione tra i reni si verifica al polo inferiore; tuttavia, si può osservare anche una fusione al polo superiore, con conseguente "HSK invertita" (5-10%). Nell'80% dei casi di HSK, l'istmo contiene parenchima renale, con un 20% di tessuto fibroso [83]. Tale fusione dei reni si verifica in circa 1 individuo su 400-600 e si riscontra più frequentemente negli uomini che nelle donne (rapporto 2:1) [64].

Dai dati raccolti dal nostro studio, è stato osservato come la differenza di incidenza di HSK fra i due sessi (M:F pari a 1,5:1) sia inferiore a quella descritta in letteratura. Coerentemente con i dati presenti in letteratura, dalla scintigrafia e dall'ecografia si evince una dominanza sinistra nel rene a ferro di cavallo, con un rene destro che ha una probabilità più alta di essere ipoplasico rispetto al rene sinistro. Nonostante ciò, è da precisare che nel nostro studio le percentuali di casi con dominanza sinistra risulta inferiore a quella definita in letteratura. Per ciò che riguarda la sede di fusione e le caratteristiche tissutali dell'istmo, i nostri dati si allineano alle informazioni bibliografiche, con la differenza che nel nostro studio, la sede di fusione a livello del polo inferiore è più frequente (96%) ma ciò potrebbe anche essere dovuto a un bias di campionamento della popolazione studiata.

Un ulteriore dato osservato è la presenza di displasia/ipoplasia nel rene a ferro di cavallo, in letteratura non è ben chiaro quale sia l'incidenza di questa caratteristica ma nel nostro studio, al momento della diagnosi, è risultata pari al 32%, un valore significativo e relativamente elevato. Interessante notare come la percentuale di reni ipoplasici vada a scendere durante la crescita dei soggetti, questa differenza è probabilmente dovuta al fatto che l'ecografia è operatore dipendente. Si tratta di un aspetto che potrebbe essere indagato in studi futuri.



## **Prognosi nefrologica**

Un secondo scopo dello studio è la valutazione retrospettiva della prognosi nefrologica dei pazienti secondo i vari end point presi in considerazione in questo studio (IVU, nefrolitiasi, RVU, ostruzioni, ipertensione arteriosa, proteinuria, dilatazioni).

In virtù della sua anatomia e della sua embriogenesi, il rene a ferro di cavallo è predisposto a diverse complicazioni ed entità patologiche [89]. Il reperto associato più comune nel rene a ferro di cavallo è l'ostruzione a livello della regione della pelvi e dell'uretere [90]. Può essere bilaterale e si verifica fino al 35% dei pazienti con rene a ferro di cavallo.

La prevalenza di calcoli nel rene a ferro di cavallo varia dal 20 al 60% [94, 95]. Si ritiene che la calcolosi sia dovuta a una combinazione di stasi e infezioni associate alla dilatazione, all'ostruzione della PUJ e al reflusso [96].

La VUR si verifica in circa la metà dei pazienti con rene a ferro di cavallo e la duplicazione è presente in circa il 10%. L'infezione si verifica fino a un terzo dei pazienti. L'infezione ascendente è la via di infezione più comune e la VUR è una causa sottostante comune [88].

Per quanto riguarda il rischio di ipertensione e di proteinuria nei soggetti con HSK, ad oggi, si ipotizza la presenza di una correlazione, dove il rene a ferro di cavallo rappresenta un fattore di rischio ma in letteratura non esistono studi mirati e ben chiari che abbiano confermato e definito tale relazione.

La distribuzione dei tumori renali nei pazienti con rene a ferro di cavallo è nettamente diversa da quella riscontrata nella popolazione generale [100]. Il tumore di Wilms (WT) rappresenta il 28% dei tumori maligni nei pazienti con rene a ferro di cavallo, mentre il restante sono rappresentati da adenocarcinoma (45%), carcinoma a cellule transizionali (20%) e sarcoma (7%) [101]. Il rischio di sviluppare una WT in un HSK è aumentato da due a otto volte rispetto alla popolazione generale [102, 103].

In base ai risultati ottenuti col nostro studio, l'incidenza di IVU e di ostruzioni urinarie sono rispettivamente del 30% e del 26%; questi dati sono in linea con quelli riportati in letteratura; al contrario, i casi di RVU nel nostro studio (26,7%) risultano di gran lunga inferiori, questo potrebbe essere dovuto a un bias statistico dovuto alle dimensioni del campione e all'assenza di VCUG in alcuni pazienti.

L'incidenza di nefrolitiasi nel nostro campione (7,7%) risulta bassa rispetto ai dati riportati in letteratura. Sarebbe importante studiare la veridicità di questo dato in relazione all'incidenza dei fattori di rischio sottostanti e alla finestra temporale in cui sono stati osservati i soggetti del nostro studio, poiché questa diversa incidenza potrebbe essere dovuta alla scelta del range temporale usato per il nostro studio.

Per ciò che riguarda il rischio di patologia maligna, si può notare come il Tumore di Wilms sia stata l'unica neoplasia osservata nel nostro campione, a conferma del fatto che è probabilmente la patologia maligna più frequente nei soggetti con HSK. Per quanto riguarda il dato sull'incidenza acquisito tramite il nostro studio non risulta sufficientemente significativo, sia per le dimensioni del campione che per un periodo di osservazione troppo ristretto per poter diagnosticare la patologia. A confermare di ciò, in letteratura si riporta come i casi di WT sono maggiormente diagnosticati in età adulta.

Il rene a ferro di cavallo è più soggetto a lesioni conseguenti a traumi addominali diretti a causa della sua posizione bassa e della presenza dell'istmo sulla linea mediana [97]. Il rene a ferro di cavallo non è ben protetto dalle costole e può essere compresso e lesionato attraverso la colonna vertebrale lombare in seguito a un trauma. Inoltre, la presenza di un'ostruzione della giunzione pielo-ureterale predispone ulteriormente il rene al trauma.

Nel nostro studio, gli episodi di traumi sono stati 2 (2,2%), si tratta di un dato che potrebbe essere correlato alle alterazioni anatomiche dell'HSK, che porta il rene ad avere minore protezione e quindi maggior rischio di lesione. Per confermare questo sospetto sarebbe utile indagare in maniera più specifica la dinamica del trauma in modo da capire se può essere correlato o meno alle peculiarità anatomiche del rene a ferro di cavallo.

L'incidenza dell'ipertensione arteriosa diagnostica nei pazienti dello studio è pari al 5,5% tuttavia se consideriamo che in sede ambulatoriale sono stati riscontrati vari pazienti con pre-ipertensione o ipertensione conclamata, questo valore di incidenza potrebbe essere sottostimato. Non è stato sempre possibile effettuare Holter nelle 24 ore per confermare la diagnosi; pertanto, questi valori anormali potrebbero essere trascurabili poiché dovuti a uno stato emotivo alterato dei pazienti, causato dalla "white coat hypertension".

Nel nostro studio, sono stati acquisiti valori di PrU/CrU ed eGFR dei vari pazienti, i dati su questi due biomarker sono risultati alterati in alcuni casi. Questa informazione ci permette di dedurre e ipotizzare che la presenza di rene a ferro di cavallo in età pediatrica possa rappresentare una causa di disfunzione renale.

Nel nostro studio sono già presenti 6 pazienti (6,6%) con IRC al primo stadio; tuttavia, considerando che l'incidenza della proteinuria e dell'ipertensione nei pazienti è pari al 5,5%, è legittimo affermare che con un follow up più lungo, questa percentuale potrebbe aumentare.

## **Percorso diagnostico**

Un terzo scopo dello studio è la determinazione e l'elaborazione di un possibile protocollo gestionale e diagnostico dei soggetti con HSK. In particolare, si vuole determinare se l'indagine ecografica sia sufficiente ed efficiente per la diagnosi e quali sono i casi e le condizioni in cui si rende necessario l'esecuzione di esami di 2° livello (scintigrafia e cistografia minzionale).

La diagnosi di rene a ferro di cavallo può essere fatta con la maggior parte delle metodiche di imaging, con TC e RM che consentono di osservare al meglio l'anatomia del rene a ferro di cavallo e la sua relazione con le altre strutture [110]. In molti casi, tuttavia, la diagnosi viene fatta inizialmente con l'ecografia o l'urografia endovenosa. All'ecografia, il dato chiave per la diagnosi di rene a ferro di cavallo è il rilevamento di un istmo mediano che unisce i due poli inferiori del rene attraverso la linea mediana [112]. Un rene a ferro di cavallo può essere diagnosticato con studi di medicina nucleare che utilizzano radionuclidi marcati con tecnezio. Poiché questi composti sono assorbiti dal tessuto renale funzionante, l'asse anomalo di un rene a ferro di cavallo può essere facilmente identificato. Inoltre, quando l'istmo è composto da tessuto renale funzionante piuttosto che da tessuto fibroso, può essere visto come una banda continua attraverso la linea mediana [113]. La TC con contrasto è il metodo di scelta per la valutazione di un rene a ferro di cavallo, in quanto consente un'osservazione precisa dell'anatomia e dei rapporti di un rene a ferro di cavallo, oltre a permettere la valutazione di potenziali complicazioni. Anche la risonanza magnetica consente di rappresentare con precisione l'anatomia e i rapporti del rene a ferro di cavallo e di identificare le complicanze associate.

Nel nostro studio, l'ecografia ha rappresentato l'esame strumentale principale nell'analisi dei soggetti con HSK, in particolare, ne è stata testata l'efficacia diagnostica sia in epoca prenatale che postnatale. È stato possibile osservare come l'ecografia prenatale sia risultata efficace e utile solo nel 10% dei casi, definendo quindi una chiara inappropriatazza diagnostica prenatale.

Nonostante ciò, è stato interessante notare come la rilevazione di anomalie anatomiche, sebbene fossero sbagliate, sia avvenuta nel 26,3% dei casi (21 soggetti), mentre nei casi restanti non è stata rilevata alcuna anomali; questo può rappresentare un dato importante poiché le alterazioni ecografiche nel rene a ferro di cavallo potrebbero essere molto simili a quelle presenti in altre anomalie anatomiche. Nello specifico, le diagnosi erronee più frequenti sono state: dilatazione delle vie urinarie (28,6%); loggia renale vuota e ipoplasia renale (ambedue 19%); ectopia renale e pielectasia (14,3%).

Analizzando l'efficacia diagnostica dell'ecografia in epoca postnatale, la diagnosi esatta è stata acquisita in prima battuta nel 79% dei casi (57 soggetti) mentre nel 21% è stata fatta una diagnosi erronea. Questo dato permette di notare come l'ecografia risulti utile per giungere alla diagnosi di HSK, inoltre, la capacità diagnostica potrebbe essere sottostimata poiché l'ecografia è un test operatore-dipendente. Da notare come le principali anomalie anatomiche riscontrate erroneamente al posto dell'HSK sono: ipoplasia renale (40%); ectopia renale (26,7%); dilatazione vie urinarie (26,7%); agenesia renale (6,6%). In virtù di quest'ultimi dati, sarebbe importante comprendere se le alterazioni ecografiche presenti nel HSK e quelle presenti in quest'ultime anomalie sono simili oppure no, poiché nel primo caso l'efficienza dell'ecografia sarebbe prossimo al valore ottenuto in questo studio (79% di capacità diagnostica) mentre in caso contrario, vorrebbe dire che le diagnosi errate potrebbero essere avvenute per una conoscenza non approfondita dell'anatomia e delle caratteristiche dell'HSK. Se quest'ultima ipotesi si rivelasse vera, si potrebbe concludere che l'ecografia possiede un'efficienza diagnostica estremamente elevata.

È importante notare che le complicanze nefrourologiche che hanno portato alla diagnosi ecografica di HSK sono comparse, in media, all'11esimo mese di vita.

I nostri dati confermano la buona accuratezza diagnostica dell'ecografia nei pazienti con HSK; nell'ottica di un sistema sanitario pubblico come quello italiano, la possibilità di giungere alla diagnosi di HSK con un esame ecografico, piuttosto che con esami costosi di 2° livello (TC, RM, scintigrafia), è un aspetto estremamente importante.

Esami più complessi e specifici quali scintigrafia, VCUG, TC, RM permetterebbero di giungere alla diagnosi di HSK con assoluta certezza, detto ciò, considerando l'efficienza diagnostica dell'ecografia (confermata anche dal nostro studio) e il costo sanitario di tali esami, risulta poco sensato utilizzare questi esami di 2° livello per la diagnosi; al contrario, risultano utili in quei soggetti in cui la presenza di complicanze e sintomatologia richiede un maggior dettaglio di immagine e comprensione del quadro clinico del paziente. Di conseguenza, scintigrafia, VCUG, TC e RM risultano necessari in specifici casi al fine di definire al meglio la prognosi nefrologica dei pazienti.

### **Quadro clinico dei soggetti con HSK**

Un ulteriore scopo dello studio è l'individuazione di possibili segni e sintomi che possano guidare in maniera più decisa e sicura l'iter diagnostico per il rene a ferro di cavallo. Il rene a ferro di cavallo rappresenta nella maggioranza dei casi, una condizione asintomatica ma quando i sintomi sono presenti, di solito sono dovuti a ostruzione, calcoli o infezione, con l'infezione delle vie urinarie che è il sintomo di presentazione più comune nei bambini [89].

Dai dati acquisiti dallo studio, si conferma come la diagnosi di HSK nella maggioranza dei casi, il 69%, sia giunta in via del tutto accidentale per un controllo ecografico avvenuto per motivazioni non di natura nefrourologica; ciò conferma i dati già presenti in letteratura, ovvero che l'HSK è una condizione per lo più asintomatica.

Considerando invece il restante 31% dei casi, l'indagine strumentale è stata guidata dalla presenza di sintomatologia urinaria e coerentemente con la letteratura, sebbene il quadro clinico sintomatologico possa essere molto sfumato, il sintomo principale è l'infezione delle vie urinarie.

In virtù di questo, se un soggetto pediatrico nel suo primo anno di vita presenta alcuni dei sintomi visti prima, in particolare episodi di IVU di natura non ben definita, è possibile che la causa sia un'anomalia anatomica congenita sottostante e tra queste, va presa in considerazione anche il rene a ferro di cavallo.

### **Profilassi antibiotica**

L'ultimo scopo è quello di definire l'eventuale necessità di avviare una profilassi antibiotica nei soggetti con HSK. In particolare, si vuole comprendere se tale profilassi vada avviata in tutti i pazienti con diagnosi di HSK (a prescindere dalla sintomatologia) o se sia preferibile attuarla solo in specifiche condizioni.

La letteratura evidenzia come il reflusso vescico-ureterale (VUR) è da tempo riconosciuto come associato a infezioni delle vie urinarie (IVU), cicatrici renali e malattia renale cronica (CKD); tanto da far nascere il concetto di "nefropatia da reflusso", in base al quale il RVU è stato considerato il colpevole, predisponendo alle infezioni urinarie ricorrenti e fornendo un condotto attraverso il quale l'infezione poteva risalire ai reni con conseguente cicatrizzazione e distruzione. Considerando invece lo studio svolto da G. Montini, sono presenti dati consistenti che dimostrano che la RVU non è l'orco che si pensava fosse e che non è importante trovarla dopo un'IVU (con alcune eccezioni). [115]. Nonostante ciò, in relazione al nostro studio, è importante precisare che, in letteratura, non è stato studiato l'eventuale correlazione tra HSK e RVU.

Detto ciò, oltre al RVU, un altro fattore di rischio per IVU è la dilatazione delle vie urinarie; si può notare come l'incidenza di IVU nei bambini con dilatazione delle vie urinarie di grado 1 e 2 è stata di circa il 5% mentre arriva al 23% in caso di dilatazioni di grado 3 e 4 [116].

Avendo definito i fattori di rischio per IVU, è altrettanto importante evidenziare con il 10-20% delle IVU può provocare un danno renale permanente (cicatrice), il cui significato a lungo termine (ipertensione o proteinuria) in reni precedentemente normali è ancora oggetto di studio [117].

Avendo evidenziato in precedenza come il rene a ferro di cavallo presenti un'incidenza di IVU (30%) in età pediatrica superiore rispetto a quello della popolazione normale, è da capire se il rapporto costo/beneficio di un eventuale profilassi antibiotica sia favorevole o meno. Attraverso studi di associazione fatti tra dilatazione delle vie urinarie e IVU ed anche tra RVU e IVU, si è visto come nel primo caso l'odds ratio è pari a 2,51 mentre nel secondo caso l'odds ratio è 3,5; di conseguenza, combinando i dati del nostro studio e le informazioni presenti in letteratura, si può ipotizzare l'esistenza di una forte associazione.

Considerando questo tipo di relazione, l'utilizzo di una profilassi antibiotica in un soggetto con HSK a prescindere dalla sintomatologia risulterebbe inutile e deleterio; al contrario, in caso di ritrovamento di dilatazione delle vie urinarie e/o reflusso vescico-urinario, l'avvio di una profilassi antibiotica risulta essere un approccio preventivo estremamente funzionale e razionale. L'avvio di ulteriori studi su questo argomento, attuando una diversificazione in base al grado di RVU e al grado di dilatazione permetterebbe di arrivare alla creazione di un algoritmo decisionale molto più preciso e definito sulla gestione del rischio di IVU e di eventuale profilassi antibiotica nei pazienti con rene a ferro di cavallo





## CONCLUSIONE

Dai dati del nostro studio è possibile evidenziare un aumento generale dell'incidenza delle varie complicanze nefrourologiche. Questo conferma che il rene a ferro di cavallo è un'anomalia anatomica congenita che influenza negativamente la prognosi nefrourologica dei pazienti. Inoltre, considerando che la popolazione dello studio è composta da pazienti pediatriche, la comparsa di complicanze ed eventuali lesioni in così giovane età potrebbe causare una compromissione della funzionalità renale con conseguente sviluppo di IRC in età adulta. La diagnosi di HSK può essere fatta con un alto livello di sicurezza tramite ecografia postnatale. Esami di secondo livello come CUMS, scintigrafia renale, TC e RM svolgono un ruolo importante nei casi complicati. Utilizzando le informazioni ricavate dal nostro studio, è possibile creare un algoritmo diagnostico-terapeutico, ciò permette di migliorare l'approccio clinico ai soggetti con rene a ferro di cavallo (Fig. 10).

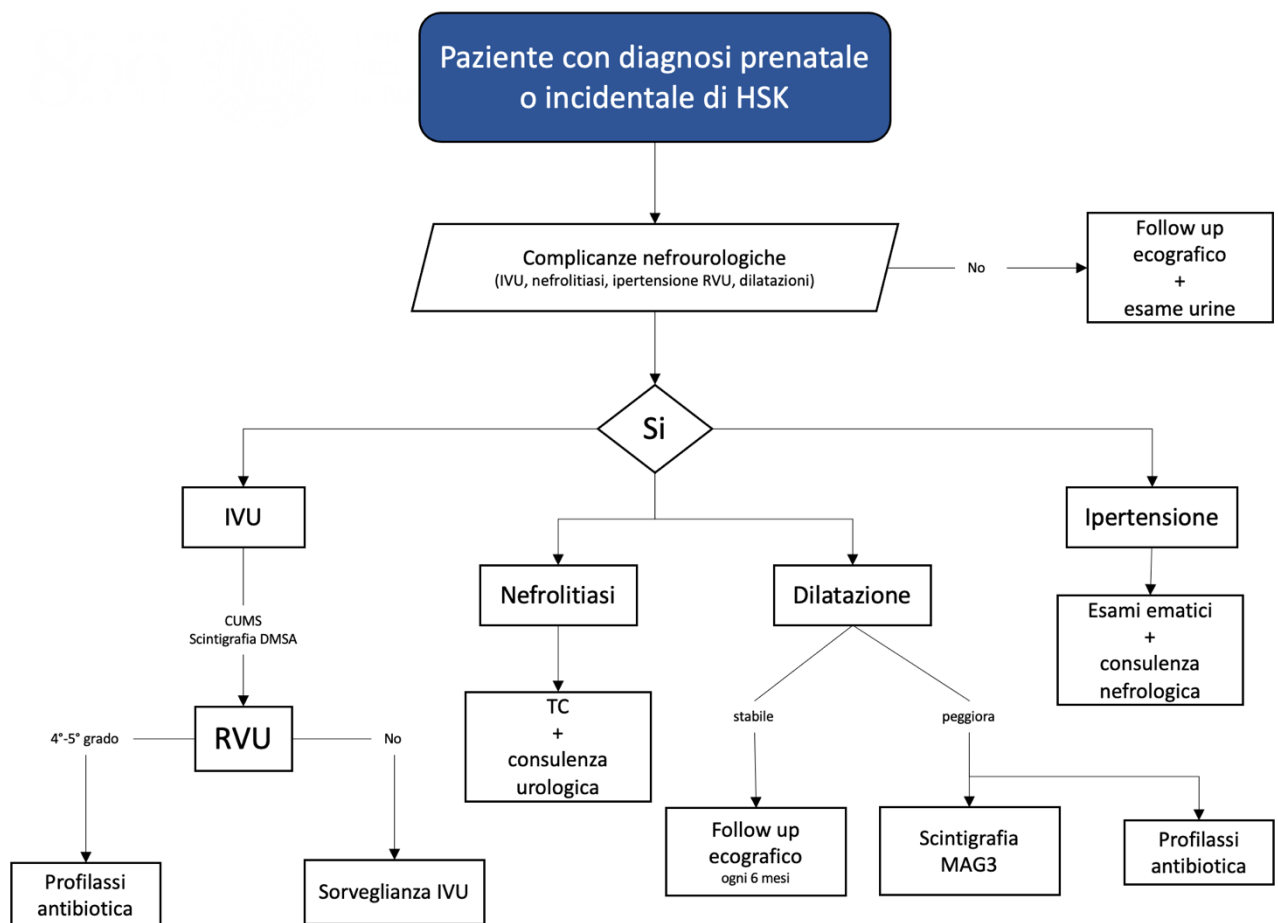


Fig. 10: flow chart sul percorso diagnostico-terapeutico dei soggetti con HSK



## BIBLIOGRAFIA

1. Schena F, Selvaggi F, Gesualdo L, Battaglia M. Malattie dei reni e delle vie urinarie; 2008.
2. Garibotto G, Biancone L, Pontremoli R. Manuale di nefrologia. Torino: Minerva medica; 2017.
3. Curr Opin Nephrol Hypertens. maggio 2009;18(3):226–32.
4. Gyarmati G, Shroff UN, Riquier-Brison A, Kriz W, Kaissling B, Neal CR, Arkill KP, Ahmadi N, Gill IS, Moon J-Y, Desposito D, Peti-Peterdi J. A new view of macula densa cell microanatomy. *Am J Physiol-Ren Physiol.* 320(3): F492–504.
5. Brunzel NA. Fundamentals of urine and body fluid analysis. 2021.
6. Wingert RA, Davidson AJ. The zebrafish pronephros: A model to study nephron segmentation. *Kidney Int.* maggio 2008;73(10):1120–7.
7. Ferretti E, Hadjantonakis A-K. Mesoderm specification and diversification: from single cells to emergent tissues. *Curr Opin Cell Biol.* dicembre 2019; 61:110–6.
8. Naylor, R. W., Qubisi, S. S., & Davidson, A. J. (2017). Zebrafish Pronephros Development. *Kidney Development and Disease*, 27–53.doi:10.1007/978-3-319-51436-9\_2
9. Moritz KM. Factors influencing mammalian kidney development: implications for health in adult life. Berlin: Springer; 2008. 78 pag. (Advances in anatomy, embryology and cell biology).
10. De Felici M, Boitani C, Bouchè M, Canipari R, Dolfi A, Filippini A, Musarò A, Papaccio G, Salustri A. Lo sviluppo dell'apparato urogenitale. In: Embriologia umana: morfogenesi, processi molecolari, aspetti clinici. Padova: Piccin; 2016. pag. 306–14.
11. WEISEL, K. C., & MOORE, M. A. S. (2005). Genetic and Functional Characterization of Isolated Stromal Cell Lines from the Aorta-Gonado-

Mesonephros Region. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1044(1), 51–59. doi:10.1196/annals.1349.007

12. Moritz, K. M., & Wintour, E. M. (1999). Functional development of the meso- and metanephros. *Pediatric Nephrology*, 13(2), 171–178. doi:10.1007/s004670050587
13. Goodwin K, Nelson CM. Branching morphogenesis. *Development*. 15 maggio 2020;147(10): dev184499.
14. Gilbert SF, Barresi MJF, Cecconi F. Mesoderma intermedio e della lamina laterale. In: *Biologia dello sviluppo*. Bologna: Zanichelli; 2018. pag. 630–40.
15. Al-Awqati Q, Goldberg MR. Architectural patterns in branching morphogenesis in the kidney. *Kidney Int*. 1998;54(6):1832–42.29
16. Bertram JF, Douglas-Denton RN, Diouf B, Hughson MD, Hoy WE. Human nephron number: implications for health and disease. *Pediatr Nephrol Berl Ger*. settembre 2011;26(9):1529–33.
17. Sadler TW, Langman J. Urogenital System. In: *Langman’s medical \_embryology*. 9th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. pag. 321–36.
18. Stewart K, Bouchard M. Coordinated cell behaviours in early urogenital system morphogenesis. *Semin Cell Dev Biol*. dicembre 2014; 36:13–20.
19. Kruepunga N, Hikspoors JPJM, Mekonen HK, Mommen GMC, Meemon K, Weerachayanukul W, Asuvapongpatana S, Eleonore Köhler S, Lamers WH. The development of the cloaca in the human embryo. *J Anat*. dicembre 2018;233(6):724–39.

20. Fägerquist M, Fägerquist U, Odén A, Blomberg SG. Fetal urine production and accuracy when estimating fetal urinary bladder volume. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001;17(2):132–9.
21. Loughna S, Hardman P, Landels E, Jussila L, Alitalo K, Woolf AS. A molecular and genetic analysis of renalglomerular capillary development. *Angiogenesis.* 1997;1(1):84–101.
22. Kolatsi-Joannou M, Li XZ, Suda T, Yuan HT, Woolf AS. Expression and potential role of angiopoietins and Tie-2 in early development of the mouse metanephros. *Dev Dyn.* settembre 2001;222(1):120–6.
23. Sariola H, Ekblom P, Lehtonen E, Saxén L. Differentiation and vascularization of the metanephric kidney grafted on the chorioallantoic membrane. *Dev Biol.* aprile 1983;96(2):427–35.
24. Murugapopathy, Vasikar; Gupta, Indra R. (2020). A Primer on Congenital Anomalies of the Kidneys and Urinary Tracts (CAKUT). *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 15(5), 723–731. doi:10.2215/CJN.12581019
25. Garne E, Dolk H, Loane M, Eurocat PAB on Behalf Of. Eurocat Website Data on Prenatal Detection Rates of Congenital Anomalies. *J Med Screen.* giugno 2010;17(2):97–8.
26. Westland R, Schreuder MF, van Goudoever JB, Sanna-Cherchi S, van Wijk JAE. Clinical Implications of the Solitary Functioning Kidney. *Clin J Am Soc Nephrol.* 7 maggio 2014;9(5):978–86.
27. Nicolaou, Nayia; Renkema, Kirsten Y.; Bongers, Ernie M. H. F.; Giles, Rachel H.; Knoers, Nine V. A. M. (2015). Genetic, environmental, and epigenetic

factors involved in CAKUT. *Nature Reviews Nephrology*, (),  
.doi:10.1038/nrneph.2015.140

28. Bulum B, Ozçakar ZB, Ustüner E, Düşünceli E, Kavaz A, Duman D, Walz K, Fitoz S, Tekin M, Yalçinkaya F. High frequency of kidney and urinary tract anomalies in asymptomatic first-degree relatives of patients with CAKUT. *Pediatr Nephrol Berl Ger*. Novembre 2013;28(11):2143-7.
29. Nicolaou N, Renkema KY, Bongers EMHF, Giles RH, Knoers NVAM. Genetic, environmental, and epigenetic factors involved in CAKUT. *Nat Rev Nephrol*. dicembre 2015;11(12):720–31.
30. Westland R, Renkema KY, Knoers NVAM. Clinical Integration of Genome Diagnostics for Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract. *Clin J Am Soc Nephrol*. 7 gennaio 2021;16(1):128–37.
31. Vivante, Asaf; Kohl, Stefan; Hwang, Daw-Yang; Dworschak, Gabriel C.; Hildebrandt, Friedhelm (2014). Single-gene causes of congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT) in humans. *Pediatric Nephrology*, 29(4), 695–704.doi:10.1007/s00467-013-2684-4
32. Bower M, Salomon R, Allanson J, Antignac C, Benedicenti F, Benetti E, Binenbaum G, Jensen UB, Cochat P, DeCramer S, Dixon J, Drouin R, Falk MJ, Feret H, Gise R, Hunter A, Johnson K, Kumar R, Lavocat MP, Martin L, Moriniere V, Mowat D, Murer L, Nguyen HT, Peretz-Amit G, Pierce E, Place E, Rodig N, Salerno A, Sastry S, Sato T, Sayer JA, Schaafsma GC, Shoemaker L, Stockton DW, Tan WH, Tenconi R, Vanhille P, Vats A, Wang X, Warman B, Weleber RG, White SM, Wilson-Brackett C, Zand DJ, Eccles M, Schimmenti LA, Heidet L (2012) Update of PAX2 mutations in renal coloboma syndrome and establishment of a locus-specific database. *Hum Mutat* 33:457–466

33. Abdelhak S, Kalatzis V, Heilig R, Compain S, Samson D, Vincent C, Weil D, Cruaud C, Sahly I, Leibovici M, Bitner-Glindzicz M, Francis M, Lacombe D, Vigneron J, Charachon R, Boven K, Bedbeder P, Van Regemorter N, Weissenbach J, Petit C (1997) A human homologue of the *Drosophila* eyes absent gene underlies branchio-oto-renal (BOR) syndrome and identifies a novel gene family. *Nat Genet* 15: 157–164
34. Weber S, Moriniere V, Knuppel T, Charbit M, Dusek J, Ghiggeri GM, Jankauskiene A, Mir S, Montini G, Peco-Antic A, Wuhl E, Zurowska AM, Mehls O, Antignac C, Schaefer F, Salomon R (2006) Prevalence of mutations in renal developmental genes in children with renal hypodysplasia: results of the ESCAPE study. *J Am Soc Nephrol* 17:2864–2870
35. Dressler GR (2009) Advances in early kidney specification, development and patterning. *Development* 136:3863–3874
36. Reidy KJ, Rosenblum ND (2009) Cell and molecular biology of kidney development. *Semin Nephrol* 29:321–337
37. Park JS, Ma W, O'Brien LL, Chung E, Guo JJ, Cheng JG, Valerius MT, McMahon JA, Wong WH, McMahon AP (2012) Six2 and Wnt regulate self-renewal and commitment of nephron progenitors through shared gene regulatory networks. *Dev Cell* 23:637–651
38. Vivante A, Mark-Danieli M, Davidovits M, Harari-Steinberg O, Omer D, Gnatek Y, Cleper R, Landau D, Kovalski Y, Weissman I, Eisenstein I, Soudack M, Wolf HR, Issler N, Lotan D, Anikster Y, Dekel B (2013) Renal hypodysplasia associates with a WNT4 variant that causes aberrant canonical WNT signaling. *J Am Soc Nephrol* 24: 550–558
39. Reidy KJ, Rosenblum ND (2009) Cell and molecular biology of kidney development. *Semin Nephrol* 29:321–337



40. Gribouval O, Gonzales M, Neuhaus T, Aziza J, Bieth E, Laurent N, Bouton JM, Feuillet F, Makni S, Ben Amar H, Laube G, Delezoide AL, Bouvier R, Dijoud F, Ollagnon-Roman E, Roume J, Joubert M, Antignac C, Gubler MC (2005) Mutations in genes in the renin- angiotensin system are associated with autosomal recessive renal tubular dysgenesis. *Nat Genet* 37:964–968
41. Coffinier C, Thepot D, Babinet C, Yaniv M, Barra J (1999) Essential role for the homeoprotein vHNF1/HNF1beta in visceral endoderm differentiation. *Development* 126:4785–4794
42. Lindner TH, Njolstad PR, Horikawa Y, Bostad L, Bell GI, Sovik O (1999) A novel syndrome of diabetes mellitus, renal dysfunction and genital malformation associated with a partial deletion of the pseudo-POU domain of hepatocyte nuclear factor-1beta. *Hum Mol Genet* 8:2001– 2008
43. Edghill EL, Bingham C, Ellard S, Hattersley AT (2006) Mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta and their related phenotypes. *J Med Genet* 43:84–90
44. Bellanne-Chantelot C, Chauveau D, Gautier JF, Dubois-Laforgue D, Clauin S, Beaufils S, Wilhelm JM, Boitard C, Noel LH, Velho G, Timsit J (2004) Clinical spectrum associated with hepatocyte nuclear factor-1beta mutations. *Ann Intern Med* 140:510–517
45. Hiesberger T, Bai Y, Shao X, McNally BT, Sinclair AM, Tian X, Somlo S, Igarashi P (2004) Mutation of hepatocyte nuclear factor- 1beta inhibits Pkhd1 gene expression and produces renal cysts in mice. *J Clin Invest* 113:814–825
46. Thomas R, Sanna-Cherchi S, Warady BA, Furth SL, Kaskel FJ, Gharavi AG (2011) HNF1B and PAX2 mutations are a common cause of renal hypodysplasia in the CKiD cohort. *Pediatr Nephrol* 26: 897–903

47. Madariaga L, Moriniere V, Jeanpierre C, Bouvier R, Loget P, Martinovic J, Dechelotte P, Leporrier N, Thauvin-Robinet C, Jensen UB, Gaillard D, Mathieu M, Turlin B, Attie-Bitach T, Salomon R, Gubler MC, Antignac C, Heidet L (2013) Severe prenatally renal anomalies associated with mutations in HNF1B or PAX2 genes. *Clin J Am Soc Nephrol* 8:1179–1187
48. Sanna-Cherchi S, Sampogna RV, Papeta N, Burgess KE, Nees SN, Perry BJ, Choi M, Bodria M, Liu Y, Weng PL, Lozanovski VJ, Verbitsky M, Lugani F, Sterken R, Paragas N, Caridi G, Carrea A, Dagnino M, Materna-Kirylyuk A, Santamaria G, Murtas C, Ristoska-Bojkovska N, Izzi C, Kacak N, Bianco B, Giberti S, Gigante M, Piaggio G, Gesualdo L, Vukic DK, Vukojevic K, Saraga-Babic M, Saraga M, Gucev Z, Allegri L, Latos-Bielenska A, Casu D, State M, Scolari F, Ravazzolo R, Kirylyuk K, Al-Awqati Q, D'Agati VD, Drummond IA, Tasic V, Lifton RP, Ghiggeri GM, Gharavi AG (2013) Mutations in DSTYK and dominant urinary tract malformations. *N Engl J Med* 369:621–629
49. Verbitsky M, Westland R, Perez A, Kirylyuk K, Liu Q, Krithivasan P, Mitrotti A, Fasel DA, Batourina E, Sampson MG, Bodria M, Werth M, Kao C, Martino J, Capone VP, Vivante A, Shril S, Kil BH, Marasà M, Zhang JY, Na Y-J, Lim TY, Ahram D, Weng PL, Heinzen EL, Carrea A, Piaggio G, Gesualdo L, Manca V, Masnata G, Gigante M, Cusi D, Izzi C, Scolari F, van Wijk JAE, Saraga M, Santoro D, Conti G, Zamboli P, White H, Drozd D, Zachwieja K, Miklaszewska M, Tkaczyk M, Tomczyk D, Krakowska A, Sikora P, Jarmoliński T, Borszewska-Kornacka MK, Pawluch R, Szczepanska M, Adamczyk P, Mizerska-Wasiak M, Krzemien G, Szmigielska A, Zaniew M, Dobson MG, Darlow JM, Puri P, Barton DE, Furth SL, Warady BA, Gucev Z, Lozanovski VJ, Tasic V, Pisani I, Allegri L, Rodas LM, Campistol JM, Jeanpierre C, Alam S, Casale P, Wong CS, Lin F, Miranda DM, Oliveira EA, Simões-E-Silva AC, Barasch JM, Levy B, Wu N, Hildebrandt F, Ghiggeri GM, Latos-Bielenska A, Materna-Kirylyuk A, Zhang F, Hakonarson H, Papaioannou VE, Mendelsohn CL, Gharavi AG, Sanna-Cherchi S. The copy number

variation landscape of congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Nat Genet.* gennaio 2019;51(1):117–27.

50. Susztak K. Understanding the epigenetic syntax for the genetic alphabet in the kidney. *J Am Soc Nephrol JASN.* gennaio 2014;25(1):10–7.
51. Anad, F. et al. Alagille syndrome and deletion of 20p. *J. Med. Genet.* 27, 729–737 (1990).
52. Mefford, H. C. et al. Recurrent reciprocal genomic rearrangements of 17q12 are associated with renal disease, diabetes, and epilepsy. *Am. J. Hum. Genet.* 81, 1057–1069 (2007).
53. Hoefele, J. et al. A novel interstitial deletion of 10q24.2q24.32 in a patient with renal coloboma syndrome. *Eur. J. Med. Genet.* 55, 211–215 (2012).
54. Sanna-Cherchi, S. et al. Copy-number disorders are a common cause of congenital kidney malformations. *Am. J. Hum. Genet.* 91, 987–997 (2012).
55. Caruana, G. et al. Copy-number variation associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Pediatr. Nephrol.* 30, 487–495 (2015).
56. Uchiyama, Y. et al. Kif26b, a kinesin family gene, regulates adhesion of the embryonic kidney mesenchyme. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 107, 9240–9245 (2010).
57. Selleri, L. et al. Requirement for Pbx1 in skeletal patterning and programming chondrocyte proliferation and differentiation. *Development* 128, 3543–3557 (2001).

58. Li S-Y, Park J, Guan Y, Chung K, Shrestha R, Palmer MB, Susztak K: 58. DNMT1 in Six2 progenitor cells is essential for transposable element silencing and kidney development. *J Am Soc Nephrol* 30: 594–609, 2019
59. Wanner N, Vornweg J, Combes A, Wilson S, Plappert J, Rafflenbeul G, Puelles VG, Rahman RU, Liwinski T, Lindner S, Grahammer F, Kretz O, Wlodek ME, Romano T, Moritz KM, Boerries M, Busch H, Bonn S, Little MH, Bechtel-Walz W, Huber TB: DNA methyltransferase 1 controls nephron progenitor cell renewal and differentiation. *J Am Soc Nephrol* 30: 63–78, 2019
60. Susztak K. Understanding the epigenetic syntax for the genetic alphabet in the kidney. *J Am Soc Nephrol JASN*. gennaio 2014;25(1):10–7.
61. Ko, Y. A. et al. Cytosine methylation changes in enhancer regions of core profibrotic genes characterize kidney fibrosis development. *Genome Biol.* 14, R108 (2013).
62. Patel, S. R., Kim, D., Levitan, I. & Dressler, G. R. The BRCT-domain containing protein PTIP links PAX2 to a histone H3, lysine 4 methyltransferase complex. *Dev. Cell* 13, 580–592 (2007).
63. Kohl S, Chen J, Vivante A, Hwang D-Y, Shril S, Dworschak GC, Van Der Ven A, Sanna-Cherchi S, Bauer SB, Lee RS, Soliman NA, Kehinde EO, Reutter HM, Tasic V, Hildebrandt F. Targeted sequencing of 96 renal developmental microRNAs in 1213 individuals from 980 families with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. agosto 2016;31(8):1280–3.
64. Yoshinaga K, Kodama K, Tanii I, Toshimori K (2002) Morphological study of a horseshoe kidney with special reference to the vascular system. *Anat Sci Int* 77:134–139

65. Gleason PE, Kramer SA (1995) Ectopic kidneys and renal fusion anomalies. AUA Update Ser 33:268–271
66. Parrott TS, Skandalakis JE, Gray SW (1994) The kidney and ureter. In: Skandalakis G (ed) Embryology for surgeons, 2nd edn. Williams & Wilkins, Baltimore, pp 618–622
67. Boatman DL, Cornell SH, Ko'ln CP (1971) The arterial supply of horseshoe kidneys. Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med 113:447–451
68. Woolf AS, Winyard PJD, Hermanns MH, Welham SJM. Maldevelopment of the Human Kidney and Lower Urinary Tract. In: The Kidney. Elsevier BV; 2003. p. 377-93.
69. Cook WA, Stephens FD. Fused kidneys: morphologic study and theory of embryogenesis. Birth defects original article series. 1976; 13:327-40.
70. Decter RM. Renal Duplication and Fusion Anomalies. Pediatric Clinics of North America. 1997; 44:1323-41.
71. Friedland GW, De Vries P. Renal ectopia and fusion. Urology 1975; 5:698-706.
72. Gray S, Skandalakis J. Embryology for Surgeons: the embryological basis for the treatment of congenital defects. Philadelphia: Saunders; 1972.
73. Boyden EA. Description of a horseshoe kidney associated with left inferior vena cava and disc- shaped suparenal glands, together with a note on the occurrence of horseshoe kidneys in human embryos. Anat Rec 1931; 51:187-211.

74. Cook WA, Stephens FD. Fused Kidney: morphologic study and theory of embryogenesis. In: Stephens F, editor. Congenital anomalies of the kidney, urinary and genital tracts (2nd ed). London: Martin Dunitz; 2002. p. 293-301.
75. Rai AS, Taylor TKF, Smith GHH, Cumming RG, Plunkett-Cole M. Congenital abnormalities of the urogenital tract in association with congenital vertebral malformations. JBJS 2002;84:891-5.
76. Doménech-Mateu JM, Gonzalez-Compta X. Horseshoe kidney: A new theory on its embryogenesis based on the study of a 16-mm human embryo. Anat Rec 1988;222:408-17.
77. Evans D. Urogenital System Organs. In: Stevenson R, editor. Human malformations and related anomalies (2nd ed). Oxford, New York: Oxford University Press; 2005. p. 1161-250.
78. Ritchey M. Anomalies of the Kidney. In: Belman A, King L, Kramer SA, editors. Clinical Pediatric Urology. CRC Press; 2001. p. 537-59.
79. Wu H, Snyder H. Developmental and Positional Anomalies of the Kidneys. In: Holcomb III GW, Murphy JD, Ostlie DJ, editors. Ashcraft's Pediatric Surgery (6th ed). Philadelphia: Saunders Elsevier; 2014. p. 709-17.
80. Mouriquand P, Panait N. Renal Fusions and Ectopia. Pediatric Surgery: Elsevier BV; 2012. p. 1405-10.
81. Oktem, H.; Gozil, R.; Calguner, E.; Bahcelioglu, M.; Mutlu, S.; Kurkcuoglu, A.; Yucel, D.; Senol, E.; Babus, T. & Kadioglu, D. Morphometric study of a horseshoe kidney. Med. Princ. Pract., 17(1):80-3, 2008.
82. Glodny, B.; Petersen, J.; Hofmann, K. J.; Schenk, C.; Herwig, R.; Trieb, T.; Koppelstaetter, C.; Steingruber, I. & Rehder, P. Kidney fusion anomalies

revisited: clinical and radiological analysis of 209 cases of crossed fused ectopia and horseshoe kidney. *B. J. U. Int.*, 103(2):224-35, 2009.

83. Taghavi, K.; Kirkpatrick, J. & Mirjalili, S. A. The horseshoe kidney: Surgical anatomy and embryology. *J. Pediatr. Urol.*, 12(5):275-80, 2016.
84. Dajani AM (1966) Horseshoe kidney: a review of twenty-nine cases. *Br J Urol* 38:388–402
85. Gupta M, Pandey AK, Goyal N (2007) Horseshoe kidney-a case report. *Nepal Med Coll J* 9:63–66
86. Basso LS, Pasqualotto FF, Godoy AEG (2011) Abnormal vascular supply of the horseshoe kidney: case report and review of the literature. *Int J Exp Clin Anat* 5:48–52
87. Boatman DL, Cornell SH, Ko'ln CP (1971) The arterial supply of horseshoe kidneys. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 113:447–451
88. Cascio S, Sweeney B, Granata C, Piaggio G, Jasonni V, Puri P. Vesicoureteric reflux and ureteropelvic Junction Obstruction in children with horseshoe kidney: treatment and outcome. *J Urol* 2002; 167: 2566-8.
89. Schacht MJ, Sakowicz B, Rao MS. Intermittent abdominal pain in a patient with horseshoe kidney. *J Urol* 1983; 130: 749–51
90. Fernbach SK, Davis TM. The abnormal renal axis in children with spina bifida and gibbus deformity – the pseudohorseshoe kidney. *J Urol* 1986; 136: 1258–60.

91. Dewan PA, Clark S, Condron S, Henning P. Point of technique: ureterocalycostomy in the management of pelvi-ureteric junction obstruction in the horseshoe kidney. *BJU Int* 1999; 84: 366–8.
92. Friedland GW, deVries PA, Nino-Murcia M, Cohen R, Rifkin MD. Congenital anomalies of the urinary tract. In: Pollack HM (ed). *Clinical Urography*, Vol. 1. W. B. Saunders, Philadelphia, PA, 1990; 559–787.
93. Belk RA, Thomas DF, Mueller RF et al. A family study and the natural history of prenatally detected unilateral multicystic dysplastic kidney. *J Urol* 2002; 167: 666–9.
94. Evans WP, Resnick MI. Horseshoe kidney and urolithiasis. *J Urol* 1981; 125: 620–21.
95. Lampel A, Hohenfellner M, Schultz-Lampel D et al. Urolithiasis in horseshoe kidneys: therapeutic management. *Urology* 1996; 47: 182–6.
96. Shokeir AA, El-Nahas AR, Shoma AM et al. Percutaneous nephrolithotomy in treatment of large stones within horseshoe kidneys. *Urology* 2004; 64: 426–9.
97. Murphy JT, Borman KR, Dawidson I. Renal autotransplantation after horseshoe kidney injury: a case report and literature review. *J Trauma* 1996; 40: 840–44.
98. Nino-Murcia M, deVries PA, Friedland GW. Congenital anomalies of the kidneys. *Clin Uroradiol* 2000; 1:690–763.
99. Pitts WR Jr, Muecke EC. Horseshoe kidneys: a 40-year experience. *J Urol* 1975; 113 : 743–6.



100. Smith-Behn J, Memo R: Malignancy in horseshoe kidney. *South Med J* 81:1451-1452, 1981.
101. Eliason EL, Stevens LW: Wilms' tumor in a horseshoe kidney. *Ann Surg* 119:788-790, 1944.
102. Gay BB Jr, Dawes RK, Atkinson GO Jr, Ball TI Jr (1983) Wilms' tumor in horseshoe kidneys: radiologic diagnosis. *Radiology* 146: 693±697
103. Mesrobian HJ, Kelalis PP, Hrabovsky E, Othersen HB Jr, DeLorimier A, Nesmith B (1985) Wilms' tumor in horseshoe kidney: a report from the National Wilms' Tumor Study. *J Urol* 133: 1002±1003
104. Javidan J, Korman HJ, Amin MB, et al: Miscellaneous tumors of the genitourinary tract; in Volgezang NJ, Scardino PT, Shipley WU: *Comprehensive Textbook of Genitourinary Oncology*, ed 2. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000, Ch 67, pp 1141–1142.
105. Krishnan B, Truong LD, Saleh G, Sirbasku DM, Slawin KM: Horseshoe kidney is associated with an increased relative risk of primary renal carcinoid tumor. *J Urol* 1997; 157:2059– 2066.
106. Shibata R, Okita H, Shimoda M, Asakura H, Murai M, Sakamoto M, Hata J: Primary carcinoid tumor in a polycystic kidney. *Pathol Int* 2003; 53:317–322.
107. Isobe H, Takashima H, Higashi N, Murakami Y, Fujita K, Hanazawa K, Fujime M, Matsumoto T: Primary carcinoid tumor in a horseshoe kidney. *Int J Urol* 2000;7:184–188.
108. Souliè M, Escourrou G, Vazzoler N, Seguin P, Suc B, Pontonnier F, Plante P: Tumeur carcinoid primitive et rein en fer à cheval: Une association possible. *Progr Urol* 2001; 11:301– 3

109. Lodding P, Hugosson J, Hansson G: Primary carcinoid tumor with ossification masquerading as calyx stone in a horseshoe kidney. *Scand J Urol Nephrol* 1997; 31:575–578.
110. Koff SA, Wise HA. Anomalies of the kidneys. *Adult Ped Urol* 1996; 3: 2178–93.
111. Snow BW. Ectopic kidneys and renal fusion anomalies. *AUA Update Series* 1987; Lesson 6; VI: 2–5.
112. Banerjee B, Brett I. Ultrasound diagnosis of horseshoe kidney. *Br J Radiol* 1991; 64: 898–900.
113. Kao PF, Sheih CP, Tsai MF, Tzen KY. The <sup>99m</sup>Tc-DMSA renal scan and <sup>99m</sup>Tc-DTPA diuretic renogram in children and adolescents with incidental diagnosis of horseshoe kidney. *Nucl Med Commun* 2003; 24: 525–30.
114. Fanos V, Cataldi L. Antibacterial induced nephrotoxicity in the newborn. *Drug Safety* 1999; 20(3): 245-267.
115. Hewitt, Ian; Montini, Giovanni (2020). Vesicoureteral reflux is it important to find? *Pediatric Nephrology*, doi:10.1007/s00467-020-04573-9
116. Sencan A, Carvas F, Hekimoglu IC, Caf N, Sencan A, Chow J, et al. Urinary tract infection and vesicoureteral reflux in children with mild antenatal hydronephrosis. *J Pediatr Urol* 2014 May 9
117. Antibiotic treatment of pyelonephritis in children. Recent advances. G. Montini