

## GSFS variante collapsing in corso di abuso di steroidi anabolizzanti: Case Report

Nefrologo in corsia

**Marta Flachi<sup>1</sup>, Viola Menghi<sup>1,2</sup>, Maria Rita Moschella<sup>1</sup>, Paola De Giovanni<sup>1</sup>, Marcello Monteverchi<sup>1</sup>, Davide Cerretani<sup>1</sup>, Daniela Grimaldi<sup>1</sup>, Olga Baraldi<sup>3</sup>, Benedetta Fabbrizio<sup>4</sup>, Gaetano La Manna<sup>3</sup> e Angelo Rigotti<sup>1</sup>**



Marta Flachi

<sup>1</sup> UO Nefrologia e Dialisi AUSL Romagna Ospedale Infermi Rimini

<sup>2</sup> Medicina Interna ISS Repubblica di San Marino,

<sup>3</sup> UO Nefrologia Dialisi e Trapianto Policlinico S. Orsola-Malpighi Bologna,

<sup>4</sup> SSD di Diagnostica Istopatologica e Molecolare degli Organi solidi e del relativo Trapianto Policlinico S. Orsola-Malpighi Bologna

### Corrispondenza a:

Dott.ssa Marta Flachi

U.O. Nefrologia e Dialisi AUSL Romagna Ospedale Infermi Rimini

Via Settembrini n. 2 - 47923 Rimini, Italia

Tel: 3477587403

e-mail: marta.flachi@auslromagna.it

### ABSTRACT

Gli steroidi androgeni anabolizzanti orali (AAS) sono una famiglia di ormoni il cui uso è notevolmente aumentato negli ultimi decenni tra i body-builders. L'abuso degli AAS, in particolare in associazione ad altri farmaci o supplementi nutrizionali e carichi proteici, può causare uno spettro di patologie a carico di diversi organi con un meccanismo dose, tempo e sostanza relato. Il rene, principale metabolizzatore di tali sostanze, può subire un danno sia acuto che cronico con lo sviluppo di una ESKD. In letteratura sono segnalati case reports di sviluppo di glomerulosclerosi segmentaria focale (FSGS) in coloro che abusano di AAS, tuttavia il link fra FSGS ed AAS è ancora poco conosciuto e limitato a case reports.

Noi riportiamo il caso di un giovane body-builder che ha sviluppato una FSGS variante collapsing con ESKD dopo prolungato abuso di AAS, dieta fortemente iperproteica e altre supplementazioni dietetiche. Visto il quadro rapido ed irreversibile presentato, il paziente è stato sottoposto a test genetico che ha evidenziato una mutazione nel gene ACTN4, predisponente e causale di alcune forme genetiche di FSGS. Il quadro renale di FSGS sviluppato dal nostro paziente è stato sicuramente un caso molto complesso, provocato da diversi fattori. La proteina mutante del gene ACTN4 rende il citoscheletro dei podociti più vulnerabile ad insulti esterni. Ciò spiegherebbe perchè in coloro che presentano la mutazione solo i soggetti sottoposti ad un "ambiente esterno sfavorevole", come quello che può essere relato all'uso di sostanze come AAS, possano sviluppare una patologia.

**Parole chiave:** Steroidi androgeni anabolizzanti, malattia renale cronica terminale (ESKD), glomerulosclerosi segmentaria focale variante collapsing

## Introduzione

Gli steroidi androgeni anabolizzanti orali (AAS) sono una famiglia di ormoni che include testosterone e suoi derivati, naturali e sintetici. Il loro uso è notevolmente aumentato negli ultimi decenni tra i body-builders; da uno studio svedese gli AAS vengono utilizzati da più del 75% di coloro che praticano il body-building come agonismo e dal 24% di coloro che lo praticano come hobby, al fine di aumentare le prestazioni fisiche, l'aspetto estetico e la sensazione di benessere (1, 2).

L'abuso degli AAS, in particolare se in associazione ad altri farmaci o a supplementi nutrizionali e carichi proteici, può causare uno spettro di patologie a carico di diversi organi con un meccanismo dose e tempo relato, con danni d'organo diversi a seconda del tipo di sostanza utilizzata (3 – 5).

Le conseguenze sull'apparato endocrino includono atrofia testicolare, ridotta fertilità e ginecomastia (6). Gli effetti sul metabolismo lipidico includono un aumento delle LDL e riduzione delle HDL, che possono indurre uno stato ateromasico diffuso. Gli effetti degli AAS sul sistema cardiovascolare sono molteplici: danno miocardico diretto, cardiomiopatia ipertrofica con rischio di alterazioni elettriche ed avvento di aritmie anche fatali, stato aterogeno, effetti protrombotici e vasospastici, aumentata viscosità plasmatica per aumento dell'aggregazione piastrinica (7, 8).

Il rene può essere uno degli organi coinvolti nel danno indotto dagli AAS essendo primariamente responsabile del metabolismo di queste sostanze. Il danno renale può essere indotto anche da altre cause concomitanti: lo stress muscolare a cui tali soggetti si sottopongono può causare danno rabdomiolitico e deplezione di volume con conseguente insufficienza renale acuta (AKI); il dolore muscolare porta spesso il body-builder all'uso cronico di antinfiammatori non steroidei (FANS) con conseguente nefrotossicità (9, 10).

Più recentemente, sono stati descritti casi di nefrite interstiziale dopo uso di creatina (11) e glomerulosclerosi segmentaria focale (FSGS) da abuso di AAS (12, 13).

Herlitz et al riportano 10 casi di FSGS in una corte di 10 body-builders dopo abuso a lungo termine di AAS, ipotizzando una forma secondaria di FSGS che avviene con un meccanismo duplice: iperfiltrazione glomerulare conseguente all'aumento della massa muscolare e meccanismo di nefrotossicità diretta (14).

Tuttavia, il collegamento fra FSGS ed AAS è ancora poco conosciuto e limitato a case reports.

Noi riportiamo il caso di un giovane body-builder che ha sviluppato una FSGS variante collapsing con insufficienza renale cronica (ESKD) dopo prolungato abuso di AAS, dieta fortemente iperproteica e altre supplementazioni dietetiche.

## Caso clinico

Un ragazzo di 32 anni giungeva presso il nostro ambulatorio nefrologico nel Luglio 2016 con un quadro di insufficienza renale severa con diuresi conservata (creatinina plasmatica 12.86 mg/dL, urea 208 mg/dL, eGFR 4 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> calcolato secondo CKD-EPI), non nota in precedenza (l'unico dato precedente della creatinina plasmatica del settembre 2015 era di 1.2 mg/dL). Veniva quindi ricoverato presso il reparto di Nefrologia. All'esame urine erano presenti microematuria (+3) e proteinuria 200 mg/dL, pari a 3.82 g/die, in assenza di flogosi. L'emocromo mostrava una moderata anemia con Hb 10,7 g/dl, il colesterolo totale era 237 mg/dl, l'HDL 70 mg/dl, l'LDL 150 mg/dl, i trigliceridi 241 mg/dl. L'uricemia era 10.5 mg/dl. Normale era la funzionalità epatica. Il Testosterone sierico era 1,84 nmol/L (r.n. 7,60-31,4), il 17 beta-estradiolo era 31,8 (r.n.100-190). Clinicamente il paziente aveva un Body Mass Index (BMI) di 33 (peso 107 kg, h 180 cm) legato sostanzialmente all'importante massa muscolare, in assenza di edemi. Presentava una ipertensione arteriosa severa (220/120 mmHg). I livelli del complemento sierico e delle sue frazioni (C3, C4, C1q, CH50) erano nel range di normalità. Negativi erano inoltre gli anticorpi ANA, anti-DNA, anti-GBM, ANCA e anti-PLA2R. Le IgG erano ridotte (4.80 g/L, range 7-16), con lieve riduzione delle IgM (0,35 g/L, range 0,4-2,3), compatibili con il quadro disprotidemico (albuminemia 30 g/L) da sindrome nefrosica, IgA in range di normalità (0,73 g/L, range 0,7-4). L'aldosterone plasmatico in ortostatismo era elevato (8986 ng/L, range 22-360) con rapporto aldosterone/renina 67,1 ratio (val.normalità<45). Negativi i Markers virali per l'epatite B, C e HIV e i parvovirus B19. Il Quantiferon era negativo. Assente la Proteinuria di Bence Jones, metanefrine e aldosterone erano in range di normalità. Il PTH era 279 ng/L.

All'RX torace non lesioni pleuro-polmonari né versamenti, ma cardiomegalia importante confermata dall'ecocardiogramma che evidenziava un'ipertrofia ventricolare sinistra con ipocinesia (FE 32%). Negativo il

Test per malattia di Fabry (Alfa-Galattosidasi leucocitaria di 40 nmoli/mg/h con v.n. 20-65) e la ricerca di sostanza amiloide nel grasso periombelicale.

All'Ecografia addominale: steatosi epatica. Reni bilateralmente aumentati di volume con diametro longitudinale massimo di 14 cm e trasverso di 6 cm; parenchima leggermente assottigliato (1.6 cm), iperecogeno, con scarsa differenziazione cortico-midollare. L'indice di resistenza vascolare intraparenchimale era di 0,7.

Il FOO era negativo per retinopatia ipertensiva e per altre possibili patologie.

Da circa 12 anni il paziente praticava assiduamente body-building facendo abuso di AAS, assunti per iniezione i.m. e per os (enantone 500 mg/die, stanozalolo 2 mg/kg), associati ad una dieta ad alto contenuto proteico (> 200 g/die), creatina 7 d/mese e aminoacidi ramificati (1 g/die).

Da circa due anni assumeva mesterolone e gonadotropine per riduzione della libido ed era stato sottoposto ad intervento di nodulectomia mammaria bilaterale per ginecomastia.

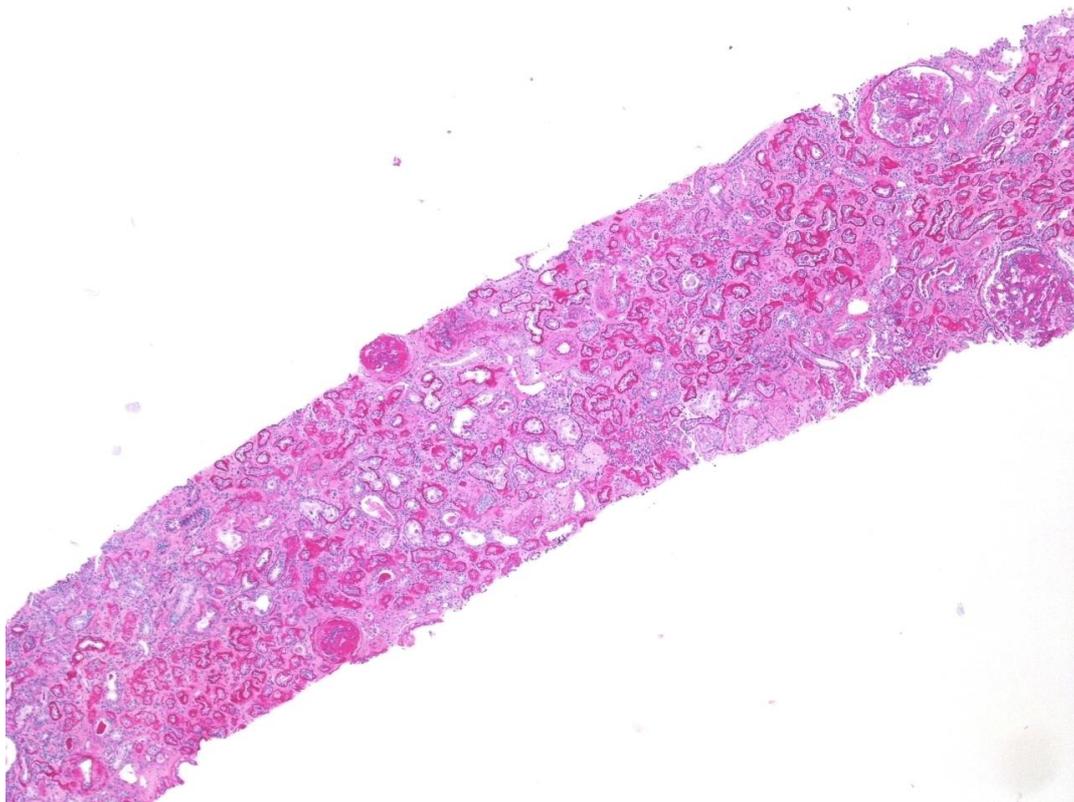
Aveva inoltre fatto abuso di ibuprofene 600 mg al giorno per due anni (2014-2015) per dolori alla schiena e alle mani.

Circa 3 mesi prima del ricovero aveva effettuato, per due mesi, un ciclo di terapia con Testosterone Enantato alla dose di 500 mg i.m. alla settimana.

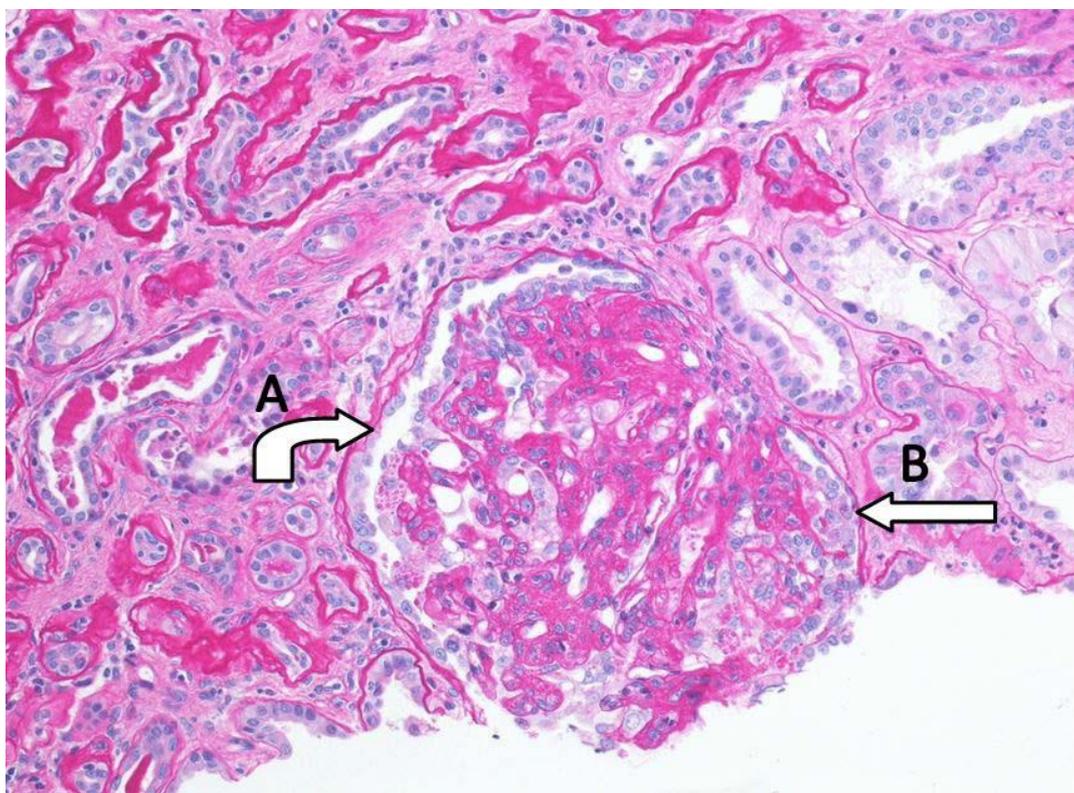
All'anamnesi familiare risultava una familiarità positiva per patologie renali nel ramo materno, in particolare la madre presentava una microematuria persistente (70-130 emazie), isolata, con funzione renale normale (creatinina 0,86 mg/dl e eGFR calcolato sec. CKD-EPI in 77ml/min.), il fratello gemello della madre presentava microematuria isolata ed aveva una figlia con microematuria isolata. L'altro fratello della madre non gemello non aveva nessun reperto urinario patologico. Lo zio della madre era deceduto a 30 anni per insufficienza renale terminale (ESKD) da causa non precisata. Era inoltre presente una ipercolesterolemia familiare.

Il quadro laboratoristico rivisto più volte confermava un quadro di insufficienza renale cronica molto avanzata con proteinuria in range nefrosico. Veniva iniziata una terapia antipertensiva con Enalapril 10 mg/die, furosemide 50 mg/die, metoprololo 100 mg 2 volte al dì e Amlodipina 10 mg/die, ottenendo un buon controllo pressorio (<140/80 mmHg). Nell'ipotesi di una glomerulonefrite rapidamente evolutiva, in attesa di ulteriori accertamenti, veniva intrapreso un trattamento steroideo con boli e.v. di metilprednisolone 1 g/die per 3 giorni consecutivi e quindi prednisone 60 mg/die per os, che però non determinava alcuna modifica della proteinuria. Veniva escluso al momento, in attesa dei risultati degli altri test clinici, un trattamento con Ciclofosfamide, anche per il riscontro allo spermogramma di azospermia completa.

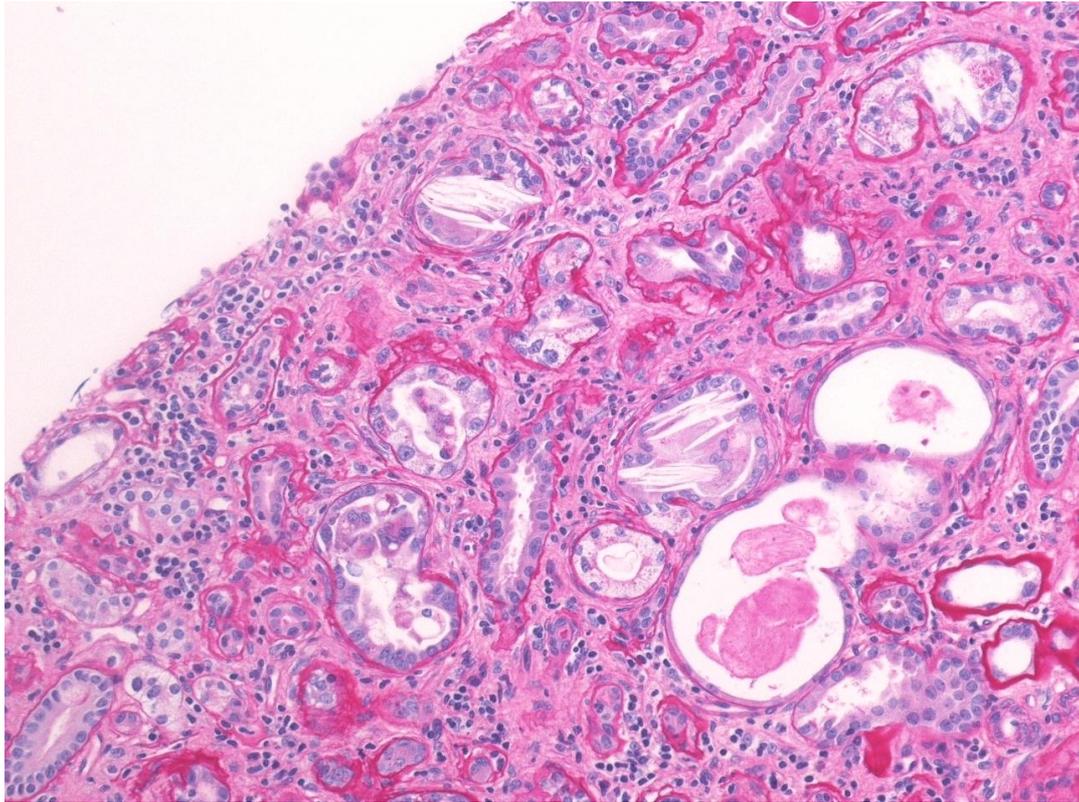
Dopo 20 giorni dalla prima nostra osservazione veniva eseguita una biopsia renale TC guidata, perché le notevoli masse muscolari delle regioni lombari non avevano consentito, in un tentativo precedente, un efficace approccio lombare ecoguidato. Alla **Microscopia Ottica** venivano analizzati 9 glomeruli, di cui 7 in sclerosi globale. I due glomeruli non ancora completamente sclerotici, presentavano dimensioni notevolmente aumentate, flocculo globalmente contratto e sclerotico, iniziale tubularizzazione della capsula di Bowman, marcata ipertrofia e iperplasia podocitaria, con formazione di pseudo-semilune, numerose cellule schiumose e numerose gocce proteiche, arteriosclerosi moderata e arteriolosclerosi grave, atrofia tubulare e fibrosi interstiziale gravi, aree di infiammazione interstiziale cronica e presenza di cellule schiumose, vacuolizzazione citoplasmatica, proliferazione epiteliale e numerosi aghi lipidici intraluminali con reazione giganto-cellulare ([Figura 1](#), [Figura 2](#), [Figura 3](#), [Figura 4](#)).



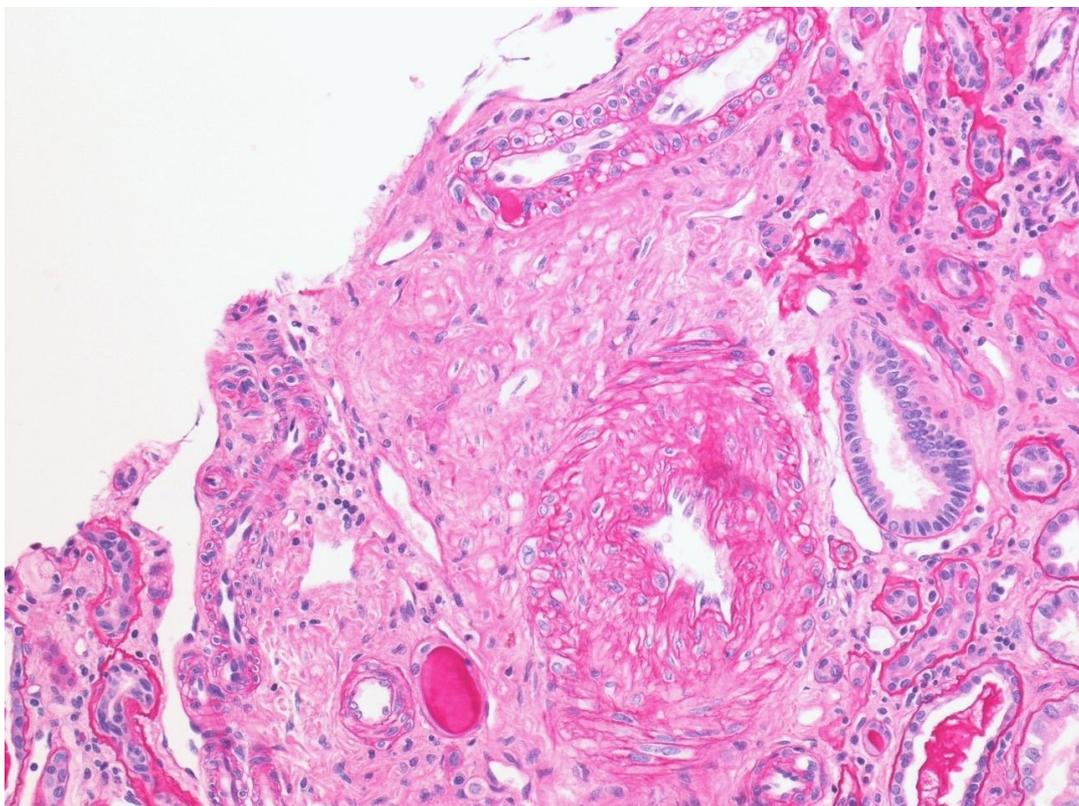
**Figura 1 (PAS-4X). Basso ingrandimento: alterazioni parenchimali croniche severe e diffuse a tutti i compartimenti renali.**



**Figura 2 (PAS-20X). Glomerulopatia collapsing / epitelio viscerale reattivo ipercellulare: anse capillari non ben definite, con affollamento periferico di podociti attivati "rotondi" (pseudo-semiluna cellulare - freccia A). Podociti con gocce di riassorbimento proteico (freccia B)**



**Figura 3 (PAS-20X).** Diffusi aspetti di intrappolamento di aghi di colesterolo nel lume dei tubuli, con reazione giganto-cellulare circostante.



**Figura 4 (PAS-20x).** Arteriosclerosi grave, con marcata riduzione del lume vascolare.

All'**Immunofluorescenza** venivano analizzati quattro glomeruli: metà erano in sclerosi globale e metà in sclerosi segmentaria ed erano presenti minimi depositi aspecifici di IgM, C3 e C1q.

Alla **microscopia elettronica** venivano analizzati tre glomeruli, che risultavano in sclerosi completa, con vacuolizzazione lipidica dell'epitelio tubulare, presenza di alcuni cristalli di colesterolo, tubulite e reduplicazione della membrana basale tubulare. Alcuni cilindri. Infiltrato infiammatorio di grado moderato e fibrosi interstiziale.

In conclusione, il quadro istologico deponeva per un rene in fase terminale, con residui aspetti di glomerulosclerosi segmentaria focale e globale, con le caratteristiche della variante "collapsing", associati ad arteriosclerosi moderata ed arteriolosclerosi grave, atrofia tubulare e fibrosi interstiziale grave con aree di infiammazione interstiziale cronica.

Nonostante il mantenimento di una buona diuresi, gli esami confermavano un quadro di ESKD, per cui venne avviato un trattamento dialitico cronico con ritmo trisettimanale, inizialmente con accesso vascolare tramite CVC giugulare dx e successivamente con FAV distale all'avambraccio sinistro.

Ecocardiogrammi di controllo seriatati eseguiti dopo l'avvio del trattamento emodialitico hanno mostrato un progressivo miglioramento della cinetica ventricolare con una FE a 3 mesi del 65%, pur persistendo l'ipertrofia ventricolare. Una scintigrafia miocardica ha escluso danni da ipoperfusione. La diuresi, che si era mantenuta discreta già dall'inizio del trattamento dialitico (tra i 700 e i 1000 ml/die), era incrementata dopo i primi sei mesi. A un anno dall'inizio della dialisi il paziente non ha più incrementi di peso interdialitici, ma ha ancora necessità depurative. In ogni caso abbiamo potuto ridurre il ritmo dialitico da tri a bisettimanale.

Abbiamo supposto che l'abuso di AAS e di FANS e la dieta iperproteica spinta abbiano contribuito notevolmente allo sviluppo dell'insufficienza renale e che quindi la completa astensione dai farmaci nefrotossici abbia consentito la parziale ripresa funzionale renale.

Visto il drammatico e rapido andamento dell'IR e il riscontro di una chiara positività familiare per malattia renale, abbiamo supposto l'esistenza di una patologia genetica di base alla quale si è sovrapposto un evento acuto probabilmente tossico. Sono stati effettuati dei test genetici per la ricerca di mutazioni correlabili alla presenza della GSFS è stato eseguito al paziente e alla madre.

Il test è stato eseguito mediante sequenziamento diretto mediante Sanger dell'esone 10 del gene ACTN4.

In entrambi i soggetti l'analisi genetica ha mostrato la presenza di una variante c.(929G>A)+(=)p.(Arg310Gln)+(=) identificata nell'esone 10 del gene ACTN4, determinante la sostituzione dell'aminoacido Arginina con l'aminoacido Glutamina in posizione 310 nella sequenza polipeptidica. Tale variante, ereditata dalla madre, riportata in letteratura scientifica, è associata ad inibizione del complesso ACTN4/CLP36 (CM116876) ed è identificata come gene predisponente e causale di alcune forme genetiche di glomerulosclerosi focale e segmentaria.

## Discussione

La FSFG è un pattern di patologia glomerulare nella quale il podocita modifica le caratteristiche strutturali e funzionali secondariamente o a una riduzione dei nefroni (ablazione chirurgica di un rene, agenesia o riduzione di sezione di un rene), o per un'aumentata domanda della filtrazione glomerulare dovuta ad un aumento dello stress emodinamico sul glomerulo (15–17). Il quadro renale di FSGS sviluppato dal nostro paziente è sicuramente un caso molto complesso, nel quale hanno giocato un ruolo importante diversi fattori. In letteratura è noto che vi siano alcune forme di FSGS geneticamente determinate, in cui prevalgono le varianti genetiche responsabili di danno podocitario (18, 19). Tra queste vi è anche la variante c.929G>A del gene ACTN4, che è quella riscontrata nel nostro paziente. Questa forma risulta inoltre resistente alle terapie con cortisone e immunosoppressori. La mutazione genetica dell'ACTN4 codifica per la proteina alfa-actina 4. La proteina mutante rende il citoscheletro dei podociti più vulnerabile ad insulti esterni. Ciò spiegherebbe perché in coloro che presentano la mutazione, solo i soggetti sottoposti ad un "ambiente esterno sfavorevole" sviluppino la malattia e gli altri no.

Herlitz et al osservarono che tutti i body-builders studiati con FSFG presentavano già all'esordio una sindrome nefrosica associata ad un quadro istologico di glomerulosclerosi più evidente rispetto ad altri pazienti con FSFG secondaria non da AAS. Loro ipotizzavano pertanto che, oltre allo stress meccanico relato all'elevato body mass, gli stessi AAS potessero esercitare un effetto nefrotossico diretto, basandosi sull'evidenza che nei test *in vitro* il testosterone aveva dimostrato un effetto tossico sul glomerulo (14).

Inoltre in questi soggetti concomita abitualmente l'uso di altre sostanze, come supplementi proteici e vitaminici che, in maniera acuta o cronica, inducono ulteriore nefrotossicità. In letteratura è segnalata la possibilità infatti di una nefrocalcosi indotta da una tossicità da vitamina D di cui facevano uso i body-builders (20, 21).

I fattori ambientali che hanno fatto la differenza, nel nostro caso, sono stati molteplici: il paziente presentava sicuramente un importante quadro di iperfiltrazione glomerulare indotto dall'elevato BMI e dall'alto apporto costante di supplementi proteici dietetici; c'è stato sicuramente un danno nefrotossico diretto da abuso prolungato di AAS, che hanno determinato anche i danni specifici podocitari responsabili della FSGF; ci sono stati i danni provocati dall'abuso di FANS e dalla deposizione di cristalli di colesterolo secondari alla dislipidemia. Il danno renale indotto dall'azione di tutti questi fattori, associato alla predisposizione genetica, fondamentale, ha portato al quadro di FSGF e all'insufficienza renale terminale.

Questo è un caso emblematico che conferma come i vari fattori ambientali sfavorevoli possano determinare patologie molto serie e spesso irreversibili, slatentizzando una predisposizione genetica, che da sola non avrebbe dato segni clinici evidenti e non sarebbe stata in grado di determinare la malattia conclamata, o l'avrebbe provocata eventualmente solo in età più avanzata.

L'uso -o meglio l'abuso- di AAS è un problema molto attuale nei giovani ragazzi che, stimolati da modelli estetici sempre più condizionanti, facilitati da informazioni e propagande distorte, possono avere un accesso sempre più facile, tramite i siti di vendita su internet, all'acquisto di vari farmaci e sostanze potenzialmente nocivi. Il nostro paziente non conosceva chiaramente i possibili effetti avversi legati all'uso di tali sostanze, né tantomeno sapeva di avere una mutazione genetica sfavorevole. Riteniamo quindi fondamentale che venga effettuata una seria campagna educativa nelle strutture e nelle palestre rivolta ai giovani che affrontano queste discipline e ai loro trainers.

## BIBLIOGRAFIA

1. Fink HH, Burgoon LA, Mikesky ARE. *Practical Applications in Sports Nutrition*, 2nd edn. Sudbury, MA: Jones and Bartlett; 2009: 220-254.
2. Lindstrom M, Nilsson A, Katzman P, Janzon I, Dymling J. Use of anabolic-androgenic steroids among body builders: Frequency and attitudes. *J Intern Med* 225: 407-411.
3. Shahidi NT. Review of chemistry, biological action and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. *Clinical Therapeutics* 2001; 23: 1355-1390.
4. Sjoqvist F, Garle M, Rane A. Use of doping agents, particularly anabolic steroids, in sports and society. *Lancet* 2008;371:1872-82.
5. Sullivan ML, Martinez CM, Gennis P, Gallagher EJ. The cardiac toxicity of anabolic steroids. *Prog Cardiovasc Dis* 1998;41: 1-15.
6. Rahnama CD, Lipshultz LI, Crosnoe LE, Kovac JR, KIM ED. Anabolic steroid-induced hypogonadism: diagnosis and treatment. *Fertil Steril* 2014;5:1271-9.
7. Mochizuki RM, Richter KJ. Cardiomyopathy and cerebrovascular accident associated with anabolic-androgenic steroid use. *Phys sportsmed* 1998; 16:109-114.
8. Liu PY, Death AK, Handelsman DJ. Androgens and cardiovascular disease. *Endocr Rev* 2003;24:313-40.
9. Patel Dr, Gyamfi R, Torres A. Exertional rhabdomyolysis and acute kidney injury. *Phys Sportsmed* 2009; 37:71-9.
10. Kenney WL. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the kidney. *Curr Sports Med Rep* 2002; 1:125-6.
11. Koshy JM, Griswold E, Schneeberger EE. Interstitial nephritis in a patient taking creatine. *N engl J Med* 1999;340:814.
12. Almkhatar SE, Abbas AA, Muhealdeen DN, Hughson MD. Acute kidney injury associated with androgenic steroids and nutritional supplements in bodybuilders. *Clinical Kidney Journal* 2015; 8:415-419.
13. Harrington P, Ali Galil, Chan A. The development of focal segmental glomerulosclerosis secondary to anabolic steroid abuse. *BMJ Case Reports* 2011; pii: bcr0720114531. doi: 10.1136/bcr.07.2011.4531.
14. Herlitz LC, Markowitz GS, Farris AB et al. Development of focal segmental glomerulosclerosis after anabolic steroid abuse. *J Am Soc Nephrol* 2010;21: 163-72.
15. Rennke HG, Klein PS. Pathogenesis and significance of nonprimary focal and segmental glomerulosclerosis. *Am J Kidney Dis* 1989; 13:443-56.
16. Schwimmer JA, Markowitz GS, Valeri AM, Imbriano LG, Alvis R, D'Agati VD. Secondary focal segmental glomerulosclerosis in non obese patients with increased muscle mass. *Clin Nephrol* 2003; 60:233-41.
17. Kambham N, Markowitz GS, Valeri AM, Li J, D'Agati VD. Obesity-related glomerulopathy: an emerging epidemic. *Kidney Int* 2001; 59: 1498- 1509.
18. Akchurin O, Reidy KJ. Genetic causes of proteinuria and nephrotic syndrome: impact on podocyte pathobiology. *Pediatr Nephrol* 2015;30 (2): 221- 223.
19. De Vriese AS, Sethi S, Nath KA, Glassock RJ, Fervenza FC. Differentiating Primary, Genetic, and Secondary FSGS in Adults: A Clinicopathologic Approach. *J Am Soc Nephrol* 2018 Mar;29(3):759-774.
20. Mashour S, Turner JF, Merrell R. acute renal failure, oxalosis and vitamin C supplementation: a case report and review of the literature. *Chest* 2000;118:561-563.
21. Liborio AB, Nasseralla JC, Gondim AS et al. The case: renal failure in a bodybuilder athlete. Diagnosis: nephrocalcinosis secondary to exogenous vitamin D intoxication. *Kidney International* 2014; 85:1247-1248.