

## Un bambino con severo ritardo di crescita e cisti renali

Nefrologo in corsia

Gianluca Vergine<sup>1</sup>, Elisa Ravaioli<sup>1</sup>, Viviana Palazzo<sup>2</sup>, Giovanni Gambaro<sup>3</sup>, Sabrina Giglio<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UO Pediatria, Ospedale Infermi Rimini, ASL Romagna

<sup>2</sup>UO Genetica Medica, Ospedale Meyer Firenze

<sup>3</sup> UO Nefrologia, Policlinico Universitario A. Gemelli-Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma



Gianluca Vergine

**Corrispondenza a:**

Gianluca Vergine

UOC Pediatria Ospedale Infermi Rimini

ASL Romagna, Viale Settembrini 2

47923 Rimini

Tel +039 0541705034

Fax +039 0541705930

Email gianluca.vergine@auslromagna.it

### ABSTRACT

Descriviamo il caso di un bambino di 5 anni che viene valutato in ambulatorio di endocrinologia per iposomia. In anamnesi riferita poliuria e familiarità per calcolosi renale. Tra gli accertamenti previsti per la bassa statura esegue un'ecografia addominale che evidenzia reni di normali dimensioni con segni di differenziazione cortico-midollare, diffusa iperecogenicità midollare con riduzione dello spessore corticale e cisti cortico-midollari. I reperti ecografici, confermati anche in RM ci orientano verso una nefropatia cistica geneticamente determinata, del tipo nefronoftisi o malattia cistica midollare (MSK). L'analisi molecolare per la nefronoftisi tipo 1 non evidenzia delezioni del gene *NPHP1*. Anche l'analisi dei geni *HNFb1* e *UMOD* risultano negative. Ricontriamo inoltre una acidosi metabolica severa con funzione renale normale ed ipopotassiemia, reperto non usuale in una nefronoftisi. Eseguiamo quindi anche l'analisi molecolare per acidosi tubulare distale (dRTA) che evidenzia la associazione di due varianti genetiche su due geni implicati nella dRTA (*ATP6V1B1* e *SLC4A1*). Queste "doppie mutazioni" sono state ereditate dalla madre che tuttavia non presenta il fenotipo classico della dRTA. Tali varianti attualmente non soddisfano i criteri per una diagnosi molecolare conclusiva di dRTA ma rappresentano varianti di incerto significato clinico. Tuttavia considerando la clinica ed i dati di laboratorio si può ragionevolmente concludere che il bambino abbia una diagnosi "verosimile" di acidosi tubulare distale. A sostegno dell'ipotesi diagnostica, l'inizio della terapia con sodio bicarbonato e citrato di potassio ha determinato una rapida ripresa della crescita staturoponderale. In letteratura è descritta l'associazione tra acidosi tubulare distale e cisti renali. L'ipotesi è che l'ipopotassiemia cronica possa giocare un ruolo eziopatogenetico nella formazione delle cisti renali.

**PAROLE CHIAVE:** ritardo di crescita, cisti renali, acidosis tubulare, ipopotassiemia

## Caso clinico

Descriviamo il caso di GL, maschio di 4 anni e mezzo che viene inviato dal pediatra curante all'ambulatorio di endocrinologia pediatrica per iposomia. Il bambino è nato a termine da parto spontaneo, senza problemi perinatali, l'acquisizione delle tappe psicomotorie è risultata nella norma. Il peso e la lunghezza nei primi 4 anni di vita si sono sempre mantenuti al di sotto del terzo percentile. Al momento della visita il peso è di 14,3 kg (3° percentile) e l'altezza di 96 cm (<3° percentile). Obiettivamente il bambino ha uno sviluppo corporeo armonico, l'obiettività cardiorespiratoria ed addominale risultano nella norma, i genitali esterni maschili risultano normoconformati ed il volume testicolare è di 2 ml bilateralmente.

La storia clinica è muta, se si eccettua una poliuria che i genitori riferiscono da circa un anno ma che non è stata mai quantificata né indagata.

L'altezza della madre è 161 cm, quella del padre 173 cm, con una statura target  $173,5 \pm 10$  cm.

L'anamnesi familiare è positiva per una calcolosi renale sia nel genitore paterno che materno.

Un rallentamento della crescita staturo-ponderale potrebbe essere una manifestazione di patologia cronica oppure endocrinologica e dovrebbe essere tempestivamente indagato da parte del pediatra.

Tra le molteplici cause di bassa statura le principali sono:

- bassa statura idiopatica/familiare
- ritardo di crescita intrauterina
- ritardo costituzionale di crescita e pubertà
- deficit nutrizionali
- sindromi genetiche malformative
- cromosomopatie
- aploinsufficienza del gene SHOX
- malattie metaboliche
- nefropatie: insufficienza renale cronica, tubulopatie
- malattie endocrine
- malattie croniche
- malattie ossee

Eseguiamo pertanto una serie di accertamenti in merito all'inquadramento della bassa statura che ci permettono di evidenziare:

- funzionalità epatorenale ed uricemia nella norma
- calcio, fosforo, fosfatasi alcalina, PTH nella norma
- emocromo, assetto marziale, indici di flogosi nella norma
- immunoglobuline nella norma
- antitransglutaminasi negative
- funzionalità tiroidea e studio della funzionalità ipotalamo ipofisaria nella norma

- età ossea che mostra un ritardo di 2 anni
- esame urine normale con ph 7

Viene eseguita anche una ecografia addominale che mostra fegato e milza normali, ma evidenzia “aspetto displasico di entrambi i reni che presentano segni di de-differenziazione cortico-midollare con diffusa iperecogenicità midollare e lieve riduzione dello spessore corticale; al passaggio cortico-midollare sono inoltre visibili alcune piccole formazioni cistiche con diametro per lo più compreso fra 10 e 15 mm; incerto il rilievo di qualche minuscolo deposito calcifico. Il diametro bipolare renale rientra nei limiti di norma per l’età”.

Eseguiamo pertanto una uro-RM che conferma il quadro ecografico evidenziando reni di dimensioni normali per età (80 mm di diametro longitudinale) con midollare impegnata da numerose piccole formazioni cistiche del diametro max di 16 mm. In fase funzionale conservato potere emuntorio della corticale, per quanto di spessore discretamente ridotto; alterata appare invece la fase di equilibrio per relativa disomogeneità di segnale a livello midollare (Figura 1).



**Figura 1. Uro-RM, sequenza T2 che evidenzia numerose formazioni cistiche in sede midollare in sezione coronale ed assiale**

I reperti ecografici e di RM ci orientano verso una nefropatia cistica geneticamente determinata, del tipo nefronoftisi o malattia cistica midollare (MSK).

Nell’ambito degli accertamenti per la bassa statura eseguiamo anche emogasanalisi che evidenzia una severa acidosi metabolica, con ph di 7.25, HCO<sub>3</sub> 15, BE -13 cui si associa ipokaliemia (2.2 mEq/L) con sodiemia, cloremia ed anion gap nella norma. Studiamo quindi il tubulo renale la cui funzionalità risulta nella norma: frazione di escrezione del sodio 0.2% (v.n. <1%), riassorbimento tubulare dei fosfati (TRP) 92% (v.n. >85%), calciuria/creatininuria 0.2 (v.n. <0.2), frazione escrezione acido urico 17% (v.n. <25%). Facciamo anche un esame audiometrico che esclude una ipoacusia.

A questo punto il dato rilevante è quello di una malattia cistica renale geneticamente determinata, sebbene non sia tipica l’associazione con acidosi metabolica ed ipopotassiemia.

Eseguiamo l’analisi molecolare per la nefronoftisi tipo 1 che non evidenzia delezioni del

gene *NPHP1*. Questo gene, infatti, si associa alla forma più frequente e nel 70% dei bambini affetti sono state osservate delezioni omozigoti. Tale risultato non ci permette comunque di escludere la diagnosi di nefronoftisi vista l'eterogeneità genetica di questa condizione. Infatti, oltre la possibile presenza di mutazioni puntiformi del gene *NPHP1*, dobbiamo considerare il coinvolgimento di tutti gli altri geni fino ad oggi descritti come causativi di questo disordine genetico (circa 20 differenti geni). Anche l'analisi molecolare del gene *UMOD* (uromodulina) così come quella del gene *HNFb1* sono risultate nella norma. Mutazioni di *UMOD*, che codifica per proteine espresse a livello del ciglio, sono responsabili di tre patologie tubulo interstiziali, la malattia midollare cistica tipo 2 (MCKD2), la nefropatia iperuricemica giovanile familiare e la malattia glomerulocistica renale (GCKD). Mutazioni di *HNFb1*, fattore di trascrizione implicato nella embriogenesi di rene, fegato e pancreas si associano a forme familiari di GCKD (1) (2).

Rimane da chiarire l'eziologia della acidosi tubulare e della ipopotassiemia. Siamo di fronte ad una nefronoftisi o una malattia cistica midollare con acidosi? Oppure si tratta di una acidosi tubulare distale con ipopotassiemia a cui si associano cisti renali corticomidollari?

Procediamo pertanto all'analisi molecolare dei geni implicati nella acidosi tubulare distale che caratteristicamente si può associare ad ipopotassiemia. Il sequenziamento diretto degli esoni 1-14 del gene *ATP6V1B1* ci ha permesso di evidenziare la presenza in eterozigosi della variante di sequenza c.[687G>A [=] p.[Gly228Gly] [=]. Tale variante è stata identificata in eterozigosi nell'esone 7 del gene *ATP6V1B1* in posizione 687 e comporta la sostituzione dell'ultimo nucleotide dell'esone 7 ed è stata precedentemente descritta in letteratura (3). L'analisi bioinformatica mediante il programma BDGP associa tale variante alla perdita del sito donatore di splicing dell'introne 7.

L'analisi molecolare degli esoni 1-20 del gene *SLC4A1* ha evidenziato la presenza in eterozigosi della variante di sequenza c.[2122C>A];[=] p.[Leu708Met]; [=]. Tale variante è stata identificata in eterozigosi nell'esone 17 del gene *SLC4A1* in posizione 708 e comporta la sostituzione dell'aminoacido Leucina con l'aminoacido Metionina (3). L'analisi di predizione con i programmi bioinformatici indicano la variante come probabilmente patogenetica (Polyphen 2) benigna (SIFT) e patogenetica (Mutation Taster).

L'analisi molecolare del gene *ATP6VOA4* è risultata negativa.

Le stesse varianti sono state riscontrate nella madre e nel fratello del paziente, che tuttavia sono asintomatici se si eccettua una microlitiasi in assenza di acidosi o di cisti renali.

Quindi in conclusione è stata individuata la associazione di due varianti genetiche su due geni implicati nella dRTA (*ATP6V1B1* e *SLC4A1*). Queste "doppie mutazioni" sono state ereditate dalla madre che tuttavia non presenta il fenotipo classico della dRTA, probabilmente per penetranza incompleta o per la presenza di geni modificatori protettivi. Tali varianti attualmente non soddisfano i criteri per una diagnosi molecolare conclusiva di dRTA ma rappresentano varianti di incerto significato clinico.

In considerazione dei dati clinici, laboratoristici e molecolari, ritenendo probabile la diagnosi di dRTA, abbiamo iniziato terapia con sodio bicarbonato e citrato di potassio che ha determinato una rapida normalizzazione dell'equilibrio acido base e della potassiemia ed una ripresa della crescita staturponderale, dal 3° al 50° percentile per altezza e dal 3° al 25° percentile per peso (Figura 2).

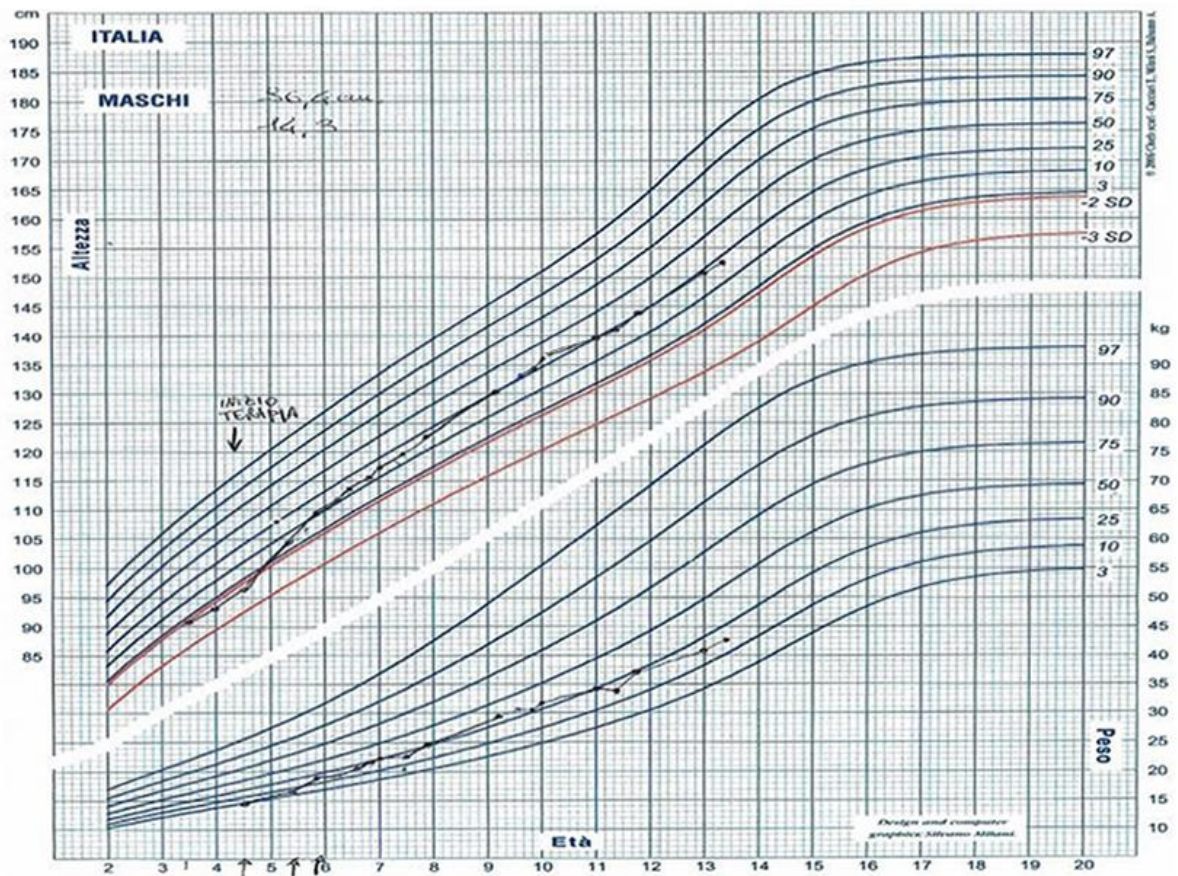


Figura 2. Curva di crescita staturponderale che mostra il netto miglioramento dopo l'inizio della terapia alcalinizzante

Attualmente il bambino ha 14 anni, la funzione renale e gli elettroliti sono normali in corso di terapia alcalinizzante.

## Discussione

L'acidosi tubulare renale (RTA) è caratterizzata da una persistente acidosi metabolica con anion gap normale, causata da un ridotto riassorbimento dei bicarbonati da parte del tubulo prossimale (acidosi tubulare prossimale, pRTA) o da insufficiente acidificazione urinaria da parte delle cellule alfa-intercalate del tubulo distale (acidosi tubulare distale, dRTA). Quest'ultima si può trasmettere con modalità sia autosomica dominante (AD) che recessiva (AR). Le forme a trasmissione AD tipicamente si manifestano negli adolescenti ed in età adulta, sono più spesso causate da mutazioni del gene *SLC4A1* che codifica per lo scambiatore basolaterale  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  e si possono associare ad anemia emolitica. Le forme AR sono associate a mutazioni del gene *ATP6V0A4* e *ATP6V1B1*, che codificano per le subunità rispettivamente A4 e B1 della pompa apicale  $\text{H}^+/\text{ATPasi}$ . Mutazioni del gene *ATP6V1B1* si possono associare a sordità neurosensoriale (4).

Dal punto di vista laboratoristico la dRTA è caratterizzata da acidosi metabolica ipercloremica con anion gap normale, ipopotassiemia, ipercalciuria e nefrocalcinosi. Nonostante la severa acidosi metabolica questi pazienti non riescono ad acidificare le urine ed avranno un pH urinario  $>5.5$ .

Clinicamente sono bambini che si presentano all'attenzione del curante per vomiti ripetuti, stipsi o alvo diarroico ma soprattutto sono bambini che non crescono, proprio come nel nostro caso. Spesso vi è una poliuria causata dal ridotto potere di concentrazione urinaria determinato dalla

ipopotassiemia e dalla nefrocalcinosi.

Nel nostro caso il ritardo di crescita con riferita poliuria associato al riscontro laboratoristico di acidosi metabolica con ipopotassiemia ci ha permesso di porre il sospetto diagnostico. L'analisi molecolare ha evidenziato un quadro di non facile interpretazione; sono state infatti identificate due varianti genetiche su due diversi geni della dRTA ereditate dalla madre, che tuttavia non soddisfano i criteri per una diagnosi molecolare conclusiva di dRTA. Tuttavia, riteniamo che i dati clinico-laboratoristici, sebbene non associati ad una genetica del tutto chiara, ci suggeriscono di porre diagnosi "probabile" di acidosi tubulare distale. È nostra intenzione studiare con le nuove tecnologie a disposizione (sequenziamento ad alta processività) se eventuali varianti patogenetiche in altri geni, oltre quelli classicamente noti per dRTA, potrebbero essere responsabili di questi quadri clinici ascrivibili ad acidosi distale.

Ma il nostro paziente prima di tutto presentava un quadro di cisti renali multiple che ci aveva orientato inizialmente verso una malattia cistica renale geneticamente determinata. Le malattie cistiche renali ereditarie comprendono le seguenti entità cliniche:

- rene policistico autosomico dominante (ADPKD) e recessivo (ARPKD)
- nefronoftisi
- cisti glomerulari corticali o tubulari con interessamento tubulo-interstiziale del rene in ambito di sindromi note (s.oro-faciale-digitale, s.di Jeune, s.di Joubert, s. di Zellweger, trisomia 13, s. di Meckel-Gruber, s. di Bardet-Biedl, s. di Beckwith-Widemann)
- cisti glomerulari associate a diabete, iperuricemia e interessamento epatico, dovute a mutazione del gene HNF1 $\beta$
- malattie cistiche della midollare renale (MSK)
- sclerosi tuberosa

L'insieme di queste malattie viene oggi definito con il termine più ampio di "malattie ciliari", cioè causate da alterazioni dei geni che sintetizzano proteine appartenenti ad un organello cellulare presente in diversi tessuti (rene, fegato, apparato respiratorio, ecc.), chiamato appunto "cilio". Le caratteristiche ecografiche ed alla RM del nostro paziente ci avevano fatto ipotizzare una nefronoftisi o una malattia cistica della midollare renale. Tuttavia in una nefronoftisi con funzione renale normale non si osserva mai una acidosi metabolica, pertanto, vista anche la familiarità per calcoli renali abbiamo pensato ad una malattia cistica midollare (MSK, rene a spugna midollare), che si può associare ad alterazioni della acidificazione e concentrazione urinaria. Contro tale ipotesi vi è il reperto alla uroRM che non risulta peculiare di MSK, sebbene il gold standard per la diagnosi sia l'urografia, che non è stata eseguita. Anche la storia clinica di un ritardo di crescita e di una acidosi metabolica così severa e precoce non è un elemento tipico dei pazienti con MSK. Da segnalare che recentemente Carboni et al (5) hanno descritto due pazienti con acidosi tubulare distale e varianti nei due geni delle forme recessive che presentavano un quadro urografico che poteva essere compatibile con MSK. Tuttavia anche in questi pazienti il quadro clinico, la severità dell'acidosi e del ritardo di crescita deponevano più per una dRTA che per un MSK (6).

In letteratura è invece descritta l'associazione tra dRTA e cisti renali (7). Tale associazione è stata confermata in un recente studio di Besouw et al (8). Gli autori hanno analizzato il follow-up a lungo termine di una casistica di 24 bambini con dRTA ed hanno osservato che 9/24 pazienti (37%) avevano sviluppato durante il follow-up cisti renali midollari, la cui eziologia rimane da chiarire. Lo sviluppo di cisti renali in questa coorte di pazienti non era correlato all'età di inizio della terapia, alla diagnosi molecolare ed alla funzione renale. Gli autori ipotizzano che l'ipopotassiemia cronica

che si associa alla acidosi tubulare possa causare la formazione delle cisti renali. Studi sperimentali su modelli animali hanno infatti dimostrato come la ipopotassiemia cronica determina una iperplasia dei tubuli collettori della midollare con conseguente ostruzione e successiva dilatazione tubulare. A conferma di tale ipotesi è lo studio di Torres et al (9), che ha confrontato una coorte di pazienti con iperaldosteronismo ed ipopotassiemia con una coorte di controllo con ipertensione essenziale ed ha evidenziato come lo sviluppo di cisti renali fosse significativamente più frequente nei pazienti con ipopotassiemia. Il meccanismo patogenetico di tale associazione rimane ancora non chiaro. Crediamo che il metodo migliore per indagare questi casi con quadro clinico “non tipico” sia oggi il sequenziamento Next Generation Sequencing, cioè la possibilità di ottenere un sequenziamento ad alta processività di tutto il genoma. Infatti, in un unico esperimento, e con ormai costi ridotti, si può ovviare alla necessità di analizzare solo alcuni geni, mentre si raccoglie l'intero spettro delle variazioni genomiche aumentando la possibilità di fare una diagnosi precisa per ciascun paziente. Studi a lungo termine su casistiche più ampie di pazienti pediatrici con acidosi tubulare potrebbero fornire ulteriori informazioni in merito al possibile meccanismo eziopatogenetico di tale associazione ed alla prognosi renale a lungo termine di questa tipologia di pazienti.

## BIBLIOGRAFIA

---

1. Zaucke F, Boehnlein JM, Steffens S, Polishchuk RS, Rampoldi L, Fischer A, Pasch A, Boehm CW, Baasner A, Attanasio M, Hoppe B, Hopfer H, Beck BB, Sayer JA, Hildebrandt F, Wolf MT. "Uromodulin is expressed in renal primary cilia and UMOD mutations result in decreased ciliary uromodulin expression". *Hum Mol Genet.* 2010 May 15;19(10):1985-97.
2. Bingham C, Bulman MP, Ellard S, Allen LI, Lipkin GW, Hoff WG, Woolf AS, Rizzoni G, Novelli G, Nicholls AJ, Hattersley AT. "Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1beta gene are associated with familial hypoplastic glomerulocystic kidney disease". *Am J Hum Genet.* 2001 Jan;68(1):219-24.
3. Palazzo V, Provenzano A, Becherucci F, Sansavini G, Mazzinghi B, Orlandini V, Giunti L, Roperto RM, Pantaleo M, Artuso R, Andreucci E, Bargiacchi S, Traficante G, Stagi S, Murer L, Benetti E, Emma F, Giordano M, Rivieri F, Colussi G, Penco S, Manfredini E, Caruso MR, Garavelli L, Andrulli S, Vergine G, Miglietti N, Mancini E, Malaventura C, Percesepe A, Grosso E, Materassi M, Romagnani P, Giglio S. "The genetic and clinical spectrum of a large cohort of patients with distal renal tubular acidosis". *Kidney Int.* 2017 May;91(5):1243-1255.
4. Santos F, Ordóñez FA, Claramunt-Taberner D, Gil-Peña H. "Clinical and laboratory approaches in the diagnosis of renal tubular acidosis" *Pediatr Nephrol.* 2015 Dec;30(12):2099-107.
5. Carboni I, Andreucci E, Caruso MR, Ciccone R, Zuffardi O, Genuardi M, Pela I, Giglio S. "Medullary sponge kidney associated with primary distal renal tubular acidosis and mutations of the H<sup>+</sup>-ATPase genes". *V* 2009 Sep;24(9):2734-8.
6. Gambaro G, Fabris A, Lupo A. "MSK and dRTA: a puzzling association". *Nephrol Dial Transplant.* 2010 May;25(5):1724; author reply 1725. Epub 2010 Feb 26.
7. Igarashi T, Kosugi T. "The incidence of renal cyst formation in patients with primary distal renal tubular acidosis". *Nephron.* 1994;66(4):474.
8. Besouw MTP, Bienias M, Walsh P, Kleta R, Van't Hoff WG, Ashton E, Jenkins L, Bockenhauer D. "Clinical and molecular aspects of distal renal tubular acidosis in children". *Pediatr Nephrol.* 2017 Jun;32(6):987-996.
9. Torres VE, Young WF Jr, Offord KP, Hattery RR. "Association of hypokalemia, aldosteronism, and renal cysts". *N Engl J Med.* 1990 Feb 8;322(6):345-51.