

Aspetti clinici inusuali e ingannevoli dell'acidosi tubulare renale distale all'esordio. Utilità della diagnosi molecolare

Giulia Liccioli¹, Aldesia Provenzano², Sabrina Giglio², Ivana Pela¹

¹Sezione di Nefrologia pediatrica; ²UO di Genetica Azienda Ospedaliera Universitaria Meyer, Firenze

Indirizzo per corrispondenza: ivana.pela@unifi.it

Unusual and misleading clinical features of distal renal tubular acidosis at the onset. The utility of molecular diagnosis

Key words: distal renal tubular acidosis, Urine, biochemical alterations, genetic defect

Abstract Primary distal renal tubular acidosis (dRTA) is a genetic disease in which the α -intercalated cells of the collecting duct are unable to secrete H^+ and to acidify urine, resulting in hyperchloremic metabolic acidosis. Other biochemical alterations are hypokalemia, hypercalciuria and hypocitraturia. Clinical features include growth retardation, hypotonia, vomiting, polyuria and dehydration. Classification of dRTA is based on genetic defect and three different forms, one autosomal dominant and two autosomal recessive, can be recognized. Our Department of Sciences for Woman and Child's Health at Meyer Children's Hospital in Florence (Italy) started a programme of clinical and molecular study of dRTA, with genetic screening of mutations responsible for the disease. Some particular cases in which clinical presentation and biochemical parameters at the onset were unusual and made differential diagnosis difficult, while molecular study was very useful to define dRTA, are reported.

RIASSUNTO

L'acidosi tubulare renale distale (ATRd) è una malattia genetica nella quale le cellule α -intercalate del tubulo distale sono incapaci di secernere ioni H^+ e di acidificare le urine, causando un quadro di acidosi metabolica ipercloremica e altre alterazioni metaboliche quali ipokaliemia, ipercalciuria, ipocitraturia. Clinicamente le caratteristiche tipiche sono il ritardo di crescita, l'ipotonica muscolare, il vomito, la poliuria e la disidratazione. La classificazione dell'ATRd è basata sul difetto genetico e si distinguono tre forme, una autosomica dominante e due recessive.

Da due anni presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria Meyer di Firenze è stato avviato un programma di studio dell'ATRd sotto il profilo clinico e molecolare, con la ricerca delle mutazioni implicate nella patologia. Riportiamo in questo

lavoro alcuni casi particolari da noi osservati, in cui la presentazione clinica dell'ATRd all'esordio e i parametri laboratoristici avevano caratteristiche inusuali che hanno reso più difficoltoso l'iter diagnostico e per i quali l'analisi delle mutazioni sul DNA si è rivelata veramente utile per la definizione diagnostica.

INTRODUZIONE

L'Acidosi Tubulare Renale Distale (o ATRd), detta anche "classica" o Tipo 1, è una malattia appartenente al gruppo delle acidosi tubulari renali, disordini clinici causati da vari difetti di trasporto ionico a livello del tubulo renale da cui risulta un eccessivo accumulo ematico di acidi, responsabile dell'acidosi metabolica cronica tipica di queste patologie.

Le **acidosi tubulari renali** si classificano in:

- Acidosi tubulare renale prossimale (ATRp) o tipo 2
- Acidosi tubulare renale distale (ATRd) o classica o tipo 1
- Acidosi tubulare "combinata" prossimale e distale o tipo 3
- Acidosi tubulare iperkaliemica o tipo 4

La ATR distale è caratterizzata dall'incapacità delle cellule α -intercalate del tubulo distale e del dotto collettore a secernere H^+ e ad acidificare le urine al di sotto di un pH di 5,5 in seguito a uno stimolo di acidemia sistemica. Si tratta di una malattia genetica rara, la cui distribuzione geografica riguarda soprattutto il bacino del Mediterraneo e il Medio Oriente, in particolare le zone di endogamia in cui unioni tra consanguinei hanno favorito il manifestarsi delle forme a ereditarietà autosomica recessiva. Alla base del malfunzionamento dei trasportatori di membrana implicati nella genesi dell'ATRd ci sono difetti a carico di tre geni, la cui identificazione è avvenuta nel corso dell'ultima decade, permettendo di iniziare, solo in alcuni centri specializzati, una diagnostica genetico-molecolare della malattia.

L'ATRd viene classificata in tre forme, a seconda del gene interessato dalla mutazione:

- ATRd a ereditarietà autosomica dominante, causata da mutazioni che colpiscono il gene SLC4A1, che codifica per lo scambiatore cloro/bicarbonato Cl^-/HCO_3^- basolaterale AE1
- ATRd a ereditarietà autosomica recessiva con compromissione dell'udito, causata da mutazioni che colpiscono il gene ATP6V1B1, che codifica per la isoforma della subunità B1 della pompa H^+ -ATPasi vacuolare
- ATRd a ereditarietà autosomica recessiva senza compromissione dell'udito, causata da mutazioni che colpiscono il gene ATP6V0A4 che codifica per la isoforma della subunità $\alpha 4$ della ATPasi vacuolare

Caratteristiche comuni di tutte le ATRd sono l'acidosi metabolica la cui gravità è variabile, ma per lo più importante per le forme recessive (fino a valori di pH ematico <7), accompagnata da alterazioni elettrolitiche quali l'ipercloremia e l'ipokaliemia. Reperti tipici sono anche l'ipercalcemia, dovuta a un'eccessiva mobilizzazione di fosfato di calcio dall'osso quale tentativo di compensare l'acidosi sistemica, e l'ipocitraturia. Questi fattori, insieme all'elevato pH urinario, favoriscono un'eccessiva deposizione di Ca^{2+} a livello del parenchima renale, che causa nefrocalcinosi, talvolta accompagnata da urolitiasi, condizioni che a lungo termine possono condurre a insufficienza renale cronica.

Lo spettro clinico comprende una sintomatologia non specifica con ritardo di crescita staturo-ponderale, poliuria, anoressia, vomito, disidratazione, causa di stipsi cronica e talvolta febbre, e ipotonia muscolare. In assenza di terapia, col tempo si sviluppano nei bambini alterazioni ossee che possono condurre a rachitismo e osteomalacia. Infine, in un'elevata percentuale di casi si osserva una sordità neurosensoriale progressiva e profonda, che nonostante nelle prime descrizioni fosse ascritta soltanto all'ATRd dovuta a mutazioni del gene *ATP6V1B1*, può essere riscontrata anche nell'ATRd per mutazioni del gene *ATP6V0A4*. La sordità neurosensoriale deriva dal fatto che la pompa H^{+} -ATPasi è espressa anche nell'orecchio interno dove svolge l'importante funzione di mantenere il pH acido nell'endolinfa, essenziale per la trasmissione del segnale acustico, e pertanto le mutazioni che la coinvolgono hanno conseguenze non solo sulla funzione renale ma anche sulla funzione uditiva^{1,2}.

Da due anni a cura della Sezione di Nefrologia Pediatrica e l'UO di Genetica Medica dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Meyer di Firenze è stato avviato un programma di studio dell'ATRd sotto il profilo clinico e molecolare, volto a definire l'eterogeneità genetica e la variabilità fenotipica della malattia. Nel periodo considerato sono stati studiati 22 soggetti: la maggior parte di essi aveva già un forte sospetto diagnostico di ATRd basato sulla sintomatologia clinica e sui reperti di laboratorio per cui in questi bambini l'analisi molecolare è servita a confermare la diagnosi di ATRd su base genetica. In tre bambini, invece, la malattia si è manifestata con aspetti inusuali, per cui la ricerca delle mutazioni sui geni coinvolti è stata fondamentale per definire la diagnosi in tali confondenti quadri clinici. Riportiamo in questo lavoro gli elementi clinici salienti dei tre pazienti con le problematiche della diagnosi differenziale posta da ciascuno di essi.

CASI CLINICI

Caso 1: ATRd o iperossaluria tipo 1?

Una bambina di 1 anno e mezzo è stata ricoverata presso la nostra struttura per approfondimenti diagnostici, dopo un iter di vari ricoveri in altri ospedali che aveva portato alla diagnosi di iperossaluria tipo 1. La sua sintomatologia era esordita nel primo mese di vita con vomito, scarso accrescimento, riscontro di acidosi metabolica iperclorêmica, urine costantemente alcaline ($\text{pH} > 7$), ipercalcemia e nefrocalcinosi. A causa della nefrocalcinosi, era stata determinata l'ossaluria,

che era risultata aumentata, per cui era stata effettuata la diagnosi di iperossaluria tipo 1 e iniziata la terapia con bicarbonato di sodio e piridossina, con la prospettiva tuttavia di una progressione verso l'insufficienza renale terminale.

Alla nostra osservazione la bambina si presentava in buone condizioni generali, con normale sviluppo staturo-ponderale e psicomotorio. L'acido ossalico nelle urine risultava ripetutamente nei limiti della norma per l'età, sia in corso di trattamento con vitamina B6 che dopo la sospensione della terapia per 7 giorni. Gli elementi anamnestici a disposizione e il buon sviluppo staturo-ponderale durante la terapia con bicarbonato di sodio, hanno indirizzato la diagnosi verso una forma di acidosi tubulare; l'indagine genetica ha mostrato una mutazione sul gene recessivo *ATP6V0A4*, confermando definitivamente l'ipotesi diagnostica.

Mentre è di comune riscontro, in pazienti affetti da iperossaluria, lo sviluppo di un'acidosi tubulare distale secondaria al danno renale dovuto alla deposizione di ossalato nel parenchima renale^{3,4}, l'associazione tra ATRd e aumentata escrezione urinaria di ossalato è stata più raramente riportata in letteratura⁵⁻⁷. I pochi studi fino a oggi effettuati sull'associazione tra ATRd e iperossaluria non hanno potuto evidenziare l'esatto meccanismo patogenetico; tra le ipotesi avanzate la più convincente sembra essere l'assenza di *Oxalobacter formigenes*, un batterio che degrada l'ossalato, nell'intestino della bambina nel periodo in cui è stata evidenziata l'iperossaluria. *Oxalobacter formigenes* è un batterio anaerobio, in relazione simbiotica con l'uomo, che colonizza l'intestino dei lattanti fra i 9 e i 12 mesi di età e che regola la degradazione e l'assorbimento intestinale dell'acido ossalico e quindi la sua escrezione renale⁸.

In conclusione, in questa bambina l'analisi molecolare ha permesso di raggiungere la diagnosi di ATRd, escludendo con certezza un'alternativa caratterizzata da una superiore morbilità e mortalità.

Caso 2: ATRd o ipercalcemia idiopatica con nefrocalcinosi?

Due bambine, entrambe di 5 mesi di vita, sono giunte all'osservazione con una sintomatologia caratterizzata da poliuria, polidipsia, acidosi metabolica iperclorêmica, lieve insufficienza renale, ipercalcemia, ipercalcemia e nefrocalcinosi. In particolare in un caso la calcemia era 14,7 mg/dl e il rapporto calcemia/creatinuria mg/mg di 0,91; nell'altro caso i valori erano rispettivamente di 13,2 mg/dl e di 1,2 mg/dl. Tra le ipotesi diagnostiche erano contemplate l'ipercalcemia idiopatica e l'intossicazione da vitamina D.

In realtà, come riportato in letteratura⁹⁻¹², una delle cause di ipercalcemia può essere l'ATRd, probabilmente a causa sia di una liberazione di calcio dall'osso secondaria all'acidosi, sia di un'incompleta escrezione del calcio endogeno per la ridotta filtrazione glomerulare legata alla disidratazione propria dello scompenso metabolico della malattia. In epoca neonatale questo fenomeno è ancora più accentuato, a causa della bassa filtrazione glomerulare caratteristica di tale periodo della vita. In entrambe le bambine le indagini genetiche hanno evidenziato una mutazione patogenetica dell'ATRd, in una sul gene *ATP6V1B1* e nell'altra sul gene *ATP6V0A4*.

Come ulteriore conferma che non esistevano altre anomalie metaboliche oltre la diagnosi di ATRd primitiva, la terapia con alcali ha condotto alla normalizzazione del pH ematico e dell'escrezione urinaria di calcio.

Caso 3: ATRd o malattia metabolica con iperammoniemia?

Tra i pazienti giunti alla nostra osservazione, quattro bambini presentavano elevati livelli di ammoniemia al momento della diagnosi, con valori di 100, 94, 150 e 128 µg/dl. Nel contesto di un quadro clinico caratterizzato da deficit di crescita, ipotonia e ritardo psicomotorio, il riscontro di iperammoniemia può indurre ad avanzare il sospetto diagnostico di un errore congenito del metabolismo.

D'altro canto, oltre a condurre indagini nell'ambito delle malattie del metabolismo, è opportuno in taluni casi ricercare elementi che possano orientare verso altre diagnosi possibili. L'acidosi metabolica ipercloremica in presenza di urine alcaline, l'ipercalcemia e la nefrocalcinosi che sovente è possibile mettere in evidenza fin dalle prime settimane di vita, dovrebbero indirizzare verso l'ATRd. In letteratura sono infatti stati riportati alcuni casi di pazienti affetti da ATRd con valori plasmatici elevati di ammonio, che si sono normalizzati dopo l'inizio della terapia con alcali. In tali pazienti l'iperammoniemia è probabilmente il risultato di uno squilibrio tra l'aumentata sintesi di ammonio, in risposta all'acidosi metabolica, e l'alterazione dell'escrezione urinaria di ammonio

tipica della ATRd^{13,14}. In tutti i casi osservati la conferma della diagnosi di ATRd è risultata dalle indagini molecolari, che hanno evidenziato in 2 bambini mutazioni nel gene *ATP6V1B1* e negli altri 2 mutazioni nel gene *ATP6V0A4*.

Probabilmente, l'iperammoniemia di lieve entità all'esordio di una ATRd è un reperto più frequente di quanto atteso, per cui occorre includere la diagnosi differenziale di ATRd ogniquale sia presente tale condizione.

COMMENTO

Di fronte a un bambino che giunga all'osservazione con una sintomatologia caratterizzata da ridotto accrescimento staturale-ponderale, dispepsia, anoressia, vomito frequente, disidratazione, ipotonia muscolare è opportuno valutare l'equilibrio idroelettrolitico e acido-base. Nel caso in cui si riscontrino acidosi metabolica, sono possibili diagnosi molto diverse. Fondamentale è il calcolo del gap anionico plasmatico [$\text{Na}^+ - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-)$] (valori normali 12 ± 4 mEq/l), che permette di distinguere le forme con gap invariato o acidosi ipercloremiche, di origine renale, da quelle con gap aumentato o acidosi normocloremiche, da cause extrarenali, come ad esempio le acidurie organiche.

Le principali cause di acidosi metabolica sono riassunte nella *Tabella I*.

Acidosi metaboliche ipercloremiche	Acidosi metaboliche normocloremiche
Malattie renali primitive: acidosi tubulari renali (ATR distale, prossimale e iperkaliemica) Patologie renali secondarie: disordini del metabolismo del calcio, sindromi disprotidemiche, malattie autoimmuni, sindrome nefrosica Anomalie del tratto urinario Post-ipocapnia Ingestione di cloruro di ammonio Perdite gastrointestinali di bicarbonato: diarrea, fistole pancreatiche ecc.	Acidosi lattica: ipossia, shock, insufficienza epatica acuta Chetoacidosi: diabete, digiuno protratto, alcol Acidurie organiche: propionica, glutarica, metilmalonica ecc. Intossicazioni: salicilati, metanolo, glicole etilenico

Qualora venga accertata l'origine renale dell'acidosi metabolica, occorre individuare il tipo di ATR, sulla base del quadro clinico e dei dati di laboratorio del paziente. Le caratteristiche

all'esordio di ognuna delle varie forme di ATR sono riportate in *Tabella II*.

Tipo di ATR	Ereditarietà	Caratteristiche
Distale o tipo 1	Dominante o recessiva	Acidosi metabolica Ritardo di crescita Vomito/disidratazione Ipokaliemia Ipercloremia Ipercalcemia Ipocitratemia Nefrolitiasi/nefrocalcinosi Rachitismo/osteomalacia Sordità neurosensoriale frequente
Prossimale o tipo 2	Dominante o recessiva, sporadica Talvolta associata ad altre anomalie e/o disfunzioni del tubulo prossimale	Acidosi metabolica Anomalie oculari (cheratopatia, cataratta, glaucoma) Anomalie dello smalto dentario Ritardo di crescita/dello SpM Ipokaliemia Iperamminoaciduria Glicosuria Ipofosforemia/ipofosfatemia $\uparrow \alpha 1$ microglobulina urinaria
"Combinata" prossimale e distale o tipo 3	Recessiva	Acidosi metabolica Osteopetrosi Ipokaliemia Cecità Sordità Nefrocalcinosi precoce
Iperkaliemica o tipo 4	Dominante o recessiva	Acidosi metabolica Iperkaliemia Perdita di sali Iperensione arteriosa Iperaldosteronemia e iperreninemia

Nell'ATRD la nefrocalcinosi è quasi sempre presente fin dalle prime epoche della vita, perciò l'ecografia renale deve essere eseguita in tutti i soggetti in cui esista il sospetto clinico di ATRd. Inoltre è importante monitorare il dosaggio della calciuria, con la modalità più adeguata in base all'età del soggetto. Nei bambini che non hanno raggiunto il controllo sfinterico, si calcola il rapporto calciuria/creatininuria, mmol/mmol, in un singolo campione di urine (il cui valore normale deve

rimanere $< 0,80-0,20$ a seconda dell'età); negli altri soggetti si determina la calciuria nelle urine delle 24 ore (il valore normale è inferiore a 4 mg/kg/die).

In coloro nei quali la malattia si manifesta in modo incompleto, è utile effettuare il test di Wrong e Davies: la somministrazione di un carico di cloruro d'ammonio (100 mg/kg per os) non comporta la riduzione del pH urinario al di sotto di 5,5 (*Tabella III*).

	pH	HCO ₃ ⁻	pCO ₂	K ⁺	Cl ⁻	Ca ²⁺	Citrato	Gap Anionico
Sangue	< 7,35	↓	↓	↓	↑			invariato
Urina	> 5,5			↑		↑	↓	aumentato

La terapia consiste nel somministrare supplementi di alcali sotto forma di bicarbonato di sodio e citrato di potassio. Il bicarbonato di sodio normalizza il pH e riduce in tal modo la calciuria; il citrato di potassio reintegra il K⁺ ed è anche utile per aumentare la citraturia e ridurre la tendenza alla precipitazione dei sali di calcio nelle urine. Nei bambini fino a 4-5 anni si somministrano da 5 a 8 mmol/kg/24 h di citrato o bicarbonato, successivamente sono sufficienti 3-4 mmol/kg. È importante che la terapia sia distribuita in non meno di 4 - 5 somministrazioni al giorno.

In conclusione, i pazienti giunti alla nostra osservazione hanno mostrato uno spettro clinico all'esordio dell'ATRD piuttosto omogeneo nella sintomatologia ma variabile in alcuni parametri biochimici. Tutti i bambini, infatti, hanno manifestato ritardo di crescita, anoressia, vomito e disidratazione, talvolta rachitismo, associati a acidosi metabolica ipercloremica, ipercalcemia e ipocitraturia.

Nei casi illustrati in dettaglio, all'esordio dell'ATRD sono emersi particolari dati biochimici, che indirizzavano verso una diagnosi alternativa. È dunque importante tenere considerazione, nell'iter diagnostico differenziale, la possibilità che l'ipercalcemia, l'iperammoniemia e l'iperossaluria possano far parte del quadro della ATRd all'esordio. Tuttavia oggi disponiamo di una preziosa risorsa in più, la possibilità di eseguire la ricerca genetica delle mutazioni specifiche di questa patologia nei casi di più difficile interpretazione.

Bibliografia

- Rodríguez Soriano J. Renal tubular acidosis: the clinical entity. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:2160-70.
- Fry AC, Karet FE. Inherited Renal Acidoses. *Physiology* 2007;22:202-11.
- Ito H, Kotake T, Suzuki F. Incidence and clinical features of renal tubular acidosis-1 in urolithiasis. *Urol Int* 1993;50:82-5.
- Dempsey EF, Forbes AP, Melick RA, Henneman PH. Urinary oxalate excretion. *Metabolism* 1960;9:52-8.
- Mehler K, Stapenhorst L, Beck B, Hoppe B. Hyperoxaluria in patients with primary distal renal tubular acidosis. *Pediatr Nephrol* 2003;18:722-3.
- Cheng JH, Fu YK, Chen WP, Hwang BT, Chen SM, Lin CY. Type I primary hyperoxaluria associated with type I renal tubular acidosis. *Int J Pediatr Nephrol* 1987;8:235-8.
- Tasic V, Korneti P, Gucev Z, Hoppe B, Blau N, Cheong HI. Atypical presentation of distal renal tubular acidosis in two

siblings. *Pediatr Nephrol* 2008;23:1177-81.

- Neuhaus TJ, Belzer T, Blau N, Hoppe B, Sidhu H, Leumann E. Urinary oxalate excretion in urolithiasis and nephrocalcinosis. *Arch Dis Child* 2000;82:322-6.
- Rodd C, Goodyer P. Hypercalcemia of the newborn: etiology, evaluation, and management. *Pediatr Nephrol* 1999;13:544-7.
- Rodríguez-Soriano J, García-Fuentes M, Vallo A, Álvarez-Granda JL. Hypercalcemia in neonatal distal renal tubular acidosis. *Pediatr Nephrol* 2000;14:354-5.
- Maruyama K, Shinohara M, Hatakeyama S, Onigata K. Distal renal tubular acidosis associated with hypercalcemia and nephrocalcinosis in an infant. *Pediatr Nephrol* 2002;17:977-8.
- Pela I, Seracini D, Lavoratti G, Materassi M. Hypercalcemia and distal renal tubular acidosis: an association not only in the newborn. *Pediatr Nephrol* 2003;18:850.
- Miller SG, Schwartz GJ. Hyperammonemia with distal renal tubular acidosis. *Arch Dis Child* 1997;77:441-4.
- Seracini D, Poggi GM, Pela I. Hyperammonaemia in a child with distal renal tubular acidosis. *Pediatr Nephrol* 2005;20:1645-7.
- Greenbaum LA. Electrolyte and Acid-Base Disorders (cap. 52). In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF. *Nelson Textbook of Pediatrics*, 18th edition, 2007.
- Fry AC, Karet FE. Inherited Renal Acidoses. *Physiology* 2007;22:202-11.