

# Insufficienza respiratoria nel neonato a termine: quando la causa è nel DNA

*Respiratory failure in full-term newborns: when the cause is in the DNA*

Giulia Roberto<sup>1\*</sup>, Liesbeth Duijts<sup>2</sup>, Sanne F. Kloosterman<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Pediatria, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Università degli Studi di Pavia

<sup>2</sup> Department of Pediatrics, division of Respiratory Medicine and Allergology, Erasmus MC, University Medical Center Rotterdam, Rotterdam, The Netherlands

\* primo autore

**Corrispondenza:** Giulia Roberto **e-mail:** giulia.roberto01@universitadipavia.it

**Riassunto:** Le mutazioni del gene ABCA3 (ATP-binding cassette protein A3) responsabili delle interstizio-patie polmonari pediatriche sono state associate a distress respiratorio neonatale. La clinica dipende dal tipo di mutazione. Riportiamo il caso clinico di un neonato a termine con una mutazione letale di ABCA3, non migliorato con le cure ad oggi disponibili. Studi randomizzati e prospettici dei diversi approcci terapeutici possono modificare la prognosi della malattia e ottenere un trattamento condiviso.

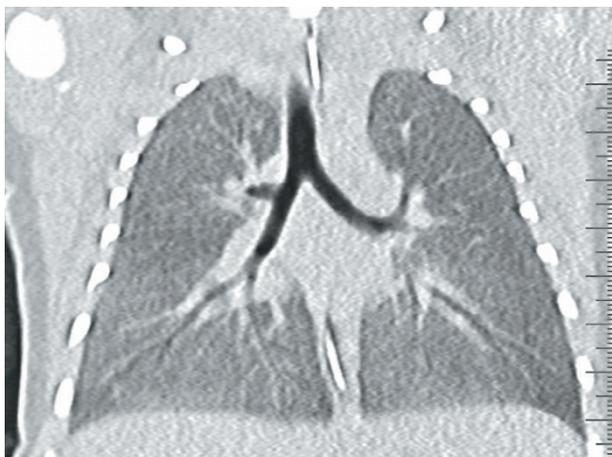
**Parole chiave:** chILD, surfattante, TC toracica, trapianto polmonare, genetica.

**Summary:** ABCA3 (ATP-binding cassette protein A3) gene mutations causing pediatric interstitial lung disease, have been associated with neonatal respiratory distress. The clinical manifestations depend on the underlying mutations. We report a clinical case of a term-newborn with a lethal mutation of ABCA3 who didn't improve despite the current therapies. Randomized and prospective studies of the different therapeutic approaches may change prognosis of this disease and obtain a unique treatment.

**Keywords:** child, surfactant, chest CT, lung transplantation, genetics.

## CASO CLINICO

N. è nata a termine con taglio cesareo per difficoltosa espulsione durante il parto, dopo gravidanza non complicata e in assenza di fattori di rischio materno per infezione. Peso alla nascita adeguato all'età gestazionale, punteggio Apgar 9-10. Da sottolineare la consanguineità dei genitori, originari del Marocco. Circa tre ore dopo la nascita, comparsa di segni di distress respiratorio quali tachipnea e gemiti persistenti, per cui è stato avviato supporto respiratorio non invasivo con HFNC (High Flow Nasal Cannula). La radiografia del torace in seconda giornata di vita ha mostrato un aumento simmetrico e diffuso della trama interstiziale. A causa di una sospetta infezione perinatale sono stati eseguiti test microbiologici (emocoltura e pannello virale) ed è stata avviata una doppia terapia antibiotica, interrotta dopo 48 ore una volta esclusa la causa infettiva del quadro. In diagnosi differenziale, è stata inoltre esclusa un'origine cardiaca del distress respiratorio, in assenza di una differenza di saturazione pre e post-dut-tale, con reperti di normalità all'ecocardiografia e all'elettrocardiogramma. La dinamica respiratoria è peggiorata ulteriormente sei giorni dopo la nascita e l'alto sospetto clinico di una chILD (children's



**Fig. 1- 2:** TC torace a sei giorni di vita. *Chest CT at 6 days of age.*

Interstitial Lung Disease, malattia interstiziale polmonare infantile) ha guidato le successive indagini diagnostiche. È stata eseguita una TC del torace (Figura 1-2) che ha mostrato un pattern caratteristico con anomalie diffuse del parenchima a vetro smerigliato e un pattern interstiziale reticolare in entrambi i polmoni (altamente indicativo di carenza congenita di surfattante).

È stata avviata una terapia con prednisolone (2 mg/kg) e idrossiclorochina (8 mg/kg). Successivamente è stata aggiunta l'azitromicina (10 mg/kg per tre volte a settimana). L'analisi completa dell'esoma (WES, Whole Exome Sequencing) ha identificato la variante patogena c.4681C> T in omozigosi nel gene ABCA3, quale causa di deficit congenito di surfattante. Nelle settimane seguenti il sistema HFNC non è mai stato interrotto con raggiungimento del supporto respiratorio massimale a 45 giorni di vita (flusso pari a 8 litri/minuto, FiO2 pari a 1.0). Data la prognosi sfavorevole correlata a queste specifiche mutazioni riportate in letteratura e lo stato critico della paziente, è stato proseguito un trattamento (di supporto) di tipo palliativo. La piccola è deceduta a 11 settimane di vita.

## DISCUSSIONE

I disordini genetici della produzione di surfattante includono i deficit della proteina B (SP-B), proteina C (SP-C) e di ABCA3 (1). In particolare, la proteina ABCA3 è codificata da un gene situato sul braccio corto del cromosoma 16 contenente 33 esoni a trasmissione autosomica recessiva. La sua funzione è quella di trasportare fosfolipidi importanti per la biogenesi dei corpi lamellari, una forma di immagazzinamento del surfattante (2). Le conseguenze cliniche della mutazione di questo gene sono differenti e possono causare quadri di diversa gravità, dal distress respiratorio neonatale severo alle interstizio-patie polmonari con esordio successivo alla prima infanzia (3). Il caso clinico illustrato descrive una forma di insufficienza respiratoria neonatale a prognosi infausta, secondaria a mutazione del gene ABCA3 (OMIM 601615). In particolare, la variante c.4681C>T determina un codone di stop prematuro ed è stata precedentemente descritta in letteratura in sette pazienti, deceduti entro i primi cinque mesi di vita (4, 5). In letteratura sono riportate più di duecento mutazioni del gene ABCA3 con una forte correlazione genotipo-fenotipo. Come dimostrato da Wambach et al. (2014) le mutazioni *frameshift* e *nonsense* sono predittive di presentazione neonatale ed esito infausto, mentre le mutazioni *missense*, *splicing* e con inserzioni/delezioni non sono associate in modo prevedibile all'età di presentazione né alla prognosi. Infatti, non tutti i pazienti affetti da tale mutazione vanno incontro ad una forma ingravescente di insufficienza respiratoria neonatale. Una presentazione meno severa è dovuta alla presenza della funzione residua di ABCA3, che dal punto di vista clinico può causare sintomi aspecifici suggestivi di una chILD (quali dispnea, tosse non produttiva, crepitazioni, clubbing e arresto della crescita) (1). Per i diversi quadri clinici che possono derivare dalla mutazione di ABCA3, Matsumura *et al.* hanno classificato tale mutazione in due tipi: tipo I con un'alterazione ed un blocco del traffico intracellulare; tipo II con l'azione di idrolisi-ATP dipendente di ABCA3 conservata ma ridotta (6). Le forme cliniche più severe sembrano essere secondarie a mutazioni omozigoti di tipo I o eterozigoti di tipo I-II: alla luce di tali considerazioni, la variante in omozigosi c.4681C > T (Arg 1561 Stop) riscontrata nella nostra paziente può quindi essere considerata di tipo I. La diagnosi differenziale di fronte ad un neonato a termine con distress respiratorio severo non è affatto semplice e comprende numerose ed eterogenee condizioni: infezioni congenite e acquisite, cardiopatie, diabete gestazionale materno, aspirazione di meconio, malattie metaboliche, fibrosi cistica, malformazioni polmonari, discinesia ciliare primitiva, chILD. In particolare, nel grande capitolo delle chILD, le due categorie da prendere in considerazione sono le forme caratteristiche dei primi due anni di vita (displasia alveolo-capillare, PIG-glicogenosi polmonare interstiziale, NEHI-iperplasia delle cellule neuroendocrine dell'infanzia, linfoangectasia polmonare congenita) e le forme secondarie a deficit di surfattante (SP-B, SP-C, ABCA3). Il sospetto diagnostico per una sindrome da deficit di surfattante nasce di fronte ad alterazioni diffuse all'imaging polmonare accanto ad una storia familiare suggestiva per pneumopatia cronica o in caso di consanguineità. Per un corretto iter diagnostico è fondamentale eseguire una TC del torace, che pur non potendo in questo caso definire da sola la diagnosi può esserne di supporto. L'alterazione diffusa e bilaterale del parenchima polmonare a vetro smerigliato ("ground-glass"), l'ispessimento della trama interstiziale e la presenza di piccole cisti polmonari contenenti aria sono i reperti TC caratteristici di queste sindromi. La ricerca di mutazioni dei geni SFTPB, SFTPC, ABCA3 e dei geni Nkx-2.1 e FOXF1 (questi ultimi da ricercare rispettivamente in presenza di distress respiratorio severo, ipotonia ed ipotiroidismo congenito e insufficienza respiratoria associata a ipertensione polmonare refrattaria) permette di raggiungere la diagnosi (7). In caso di mancata diagnosi genetica, il passo successivo suggerisce l'esecuzione di una

biopsia polmonare per l'esame istologico. Non esistono ad oggi protocolli specifici per il trattamento dei pazienti con deficit di surfattante. Le strategie terapeutiche si basano sui farmaci utilizzati per le chILD (8). I corticosteroidi sono i farmaci di prima scelta (prednisone 1-2 mg/kg, metilprednisolone 10-30 mg/kg in base alla severità di malattia), seguita dall'idrossiclorochina (6,5-10 mg/kg). La scelta tra questi due farmaci dipende da diversi fattori, quali la gravità di malattia e l'esperienza del singolo centro ospedaliero; si può inoltre considerare la loro associazione in caso di mancata risposta clinica. Un'altra categoria di farmaci utilizzata in aggiunta a quelli sopracitati sono i macrolidi a dose profilattica per la loro azione antinfiammatoria e la capacità di accumularsi nelle cellule epiteliali e nei fagociti (9). Nel caso della mutazione di ABCA3, risultati favorevoli sono stati riscontrati nei casi con funzione residua del gene (10). È stata dimostrata l'efficacia dei corticosteroidi in vitro grazie alla loro capacità di aumentare l'espressione di ABCA3. Accanto ad esempi di pazienti con mutazioni di ABCA3 che abbiano risposto alle cure, si trovano anche casi di deterioramento clinico (11). Questo è il caso della nostra paziente, in cui la combinazione dei tre farmaci somministrati (corticosteroidi, azitromicina, idrossiclorochina) non ha interrotto o per lo meno attenuato il danno polmonare. Il trapianto di polmone rappresenta oggi il trattamento di scelta per le malattie polmonari pediatriche allo stadio terminale. I trapianti polmonari sotto l'anno di vita rappresentano meno del 5% del totale e i pochi centri esperti si trovano soprattutto in Nord America (1). L'indicazione principale è rappresentata dall'ipertensione polmonare (38%), seguita dal deficit di surfattante (21%). Il trapianto di polmone rimane quindi l'unica reale possibilità per poter prolungare la sopravvivenza dei pazienti con mutazione di ABCA3, nonostante il basso numero di casi riportati in letteratura (12). È associato a numerose complicanze a lungo termine e ad un'alta mortalità post-trapianto; questi fattori possono contribuire alla decisione dei genitori di non eseguire il trapianto polmonare in circa il 50% dei casi (13). La prognosi di sopravvivenza a 5 anni nei bambini con deficit di surfattante sottoposti a trapianto polmonare è circa del 50% (14). L'alto tasso di mortalità, le complicanze post-trapianto e la scarsa disponibilità di donatori d'organo rendono il trapianto di polmone nella prima infanzia una strada difficilmente percorribile nella realtà clinica (15). Le terapie per queste malattie polmonari monogeniche rimangono quindi limitate e poco specifiche. Nuove opportunità per il futuro di questi pazienti potrebbero nascere dall'utilizzo della terapia genica. Vettori non virali e virali hanno dato risultati positivi nel campo del trasferimento genico polmonare (16). In studi preclinici sono stati generati modelli murini per ciascun deficit di surfattante dimostrando che i topi knockout SP-B sviluppavano grave distress respiratorio e morivano entro poche ore dalla nascita, mentre con il ripristino di SP-B attraverso vettori adeno-associati la loro sopravvivenza migliorava. I topi knockout ABCA3 hanno un risultato simile ai topi knockout SP-B e non sopravvivono (17). Il principale obiettivo della terapia genica per le malattie con perdita di funzione sarebbe quello di esprimere il gene ABCA3 a livelli fisiologici all'interno degli pneumociti (18).

## CONCLUSIONE

Il decorso clinico dei pazienti con mutazioni del gene ABCA3 è molto eterogeneo. Le mutazioni di ABCA3 rappresentano una rara diagnosi differenziale di distress respiratorio nel neonato. Sebbene attualmente non esista una terapia specifica, una diagnosi corretta e precoce è essenziale per una consulenza mirata poiché la malattia è ereditata in modo autosomico recessivo. Inoltre, nei bambini più grandi con tale mutazione è possibile evitare test diagnostici non necessari e morbilità risultanti da una diagnosi tardiva. È necessario che le strategie terapeutiche per le malattie polmonari interstiziali in età pediatrica vengano randomizzate e controllate per ottenere linee guida condivise. Ciò porterebbe così a maggiori conoscenze sull'efficacia degli interventi farmacologici in questa rara patologia con fenotipi estremamente variabili.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Moore GP., et al. *Novel mutation in ABCA3 resulting in fatal congenital surfactant deficiency in two siblings*. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2014;189(6):750-2.
- (2) ERS handbook. *Paediatric Respiratory Medicine*. 2<sup>nd</sup> Edition. 2021.
- (3) Bullard JE., et al. *ABCA3 deficiency: neonatal respiratory failure and interstitial lung disease*. Semin. Perinatol. 2006;30(6):327-34.
- (4) Winter J., et al. *Neonatal respiratory insufficiency caused by an (homozygous) ABCA3-stop mutation: a systematic evaluation of therapeutic options*. Klin. Padiatr. 2014;226(2):53-8.
- (5) Kröner C., et al. *Lung disease caused by ABCA3 mutations*. Thorax. 2017; 72:213-220.
- (6) Matsumura Y., et al. *Characterization and classification of ATP-binding cassette transporter ABCA3 mutants in fatal surfactant deficiency*. J. Biol. Chem. 2006; 281: 34503–34514.
- (7) Kurland G., et al. *ATS Committee on Childhood Interstitial Lung Disease (chILD) and the chILD Research Network. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: classification, evaluation, and management of childhood interstitial lung disease in infancy*. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2013; 188(3): 376-94.
- (8) Clement A., et al. *Interstitial lung diseases in children*. Orphanet J. Rare Dis. 2010; 5: 22.
- (9) Cho JG., et al. *ABCA3 deficiency from birth to adulthood presenting as paediatric interstitial lung disease*. Respirol Case Rep. 2020; 8(7): e00633.
- (10) Clement A., et al. *Dramatic Improvement by Macrolides in Surfactant Deficiency with ABCA3 Mutation*. In: San Diego Convention Center: Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2009; 79:A3011
- (11) Ciantelli M., et al. *Fatal respiratory failure in a full-term newborn with two ABCA3 gene mutations: a case report*. J. Perinatol. 2011; 31: 70–72.
- (12) Faro A., et al. *Lung Transplantation for Inherited Disorders of Surfactant Metabolism*. Neo Reviews. 2008; 9: e468–e476.
- (13) Werner R., et al. *Pediatric lung transplantation as standard of care*. Clin. Transplant. 2021;35(1): e14126.
- (14) Eldridge WB., et al. *Outcomes of Lung Transplantation for Infants and Children with Genetic Disorders of Surfactant Metabolism*. J. Pediatr. 2017;184: 157-164.e2.
- (15) Hamvas A. *Evaluation and management of inherited disorders of surfactant metabolism*. Chin. Med. J. (Engl) 2010; 123: 2943–2947.
- (16) Tu G., et al. *Non- Replicating Epstein-Barr Virus-Based Plasmids Extend Gene Expression and Can Improve Gene Therapy In Vivo*. J. Biol. Chem. 2000; 275, 30408–30416.
- (17) Ban N., et al. *ABCA3 as a lipid transporter in pulmonary surfactant biogenesis*. J. Biol. Chem. 2007;282(13):9628-9634.
- (18) Cooney AL., et al. *Gene Therapy Potential for Genetic Disorders of Surfactant Dysfunction*. Front. Genome Ed. 2022; 3: 785829.