

# ChILD: Quando dobbiamo trattare? Caso Clinico

*When should we treat ChILD? Case Report*

**Tommaso Zini<sup>1\*</sup>, Paolo Del Greco<sup>2\*</sup>, Maria Elena Guerzoni<sup>3</sup>, Chiara Caparrelli<sup>2</sup>, Claudia Calogero<sup>2</sup>, Grazia Fenu<sup>2</sup>, Barbara Maria Bergamini<sup>3&</sup>, Enrico Lombardi<sup>2&</sup>**

<sup>1</sup> Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

<sup>2</sup> Broncopneumologia, Azienda Ospedaliero Universitaria "Anna Meyer", Firenze

<sup>3</sup> Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Materno-Infantili e dell'Adulto, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

\*primo autore; &autore senior

**Corrispondenza:** Tommaso Zini **e-mail:** tommaso.zini@yahoo.it

**Riassunto:** Una bambina di 23 mesi veniva ricoverata per infezione respiratoria da RSV-A e Rhinovirus. Richiedeva ossigenoterapia per 10 giorni. Il fratello era deceduto all'età di 18 mesi per insufficienza respiratoria progressivamente ingravescente. Era stata posta diagnosi di malattia polmonare interstiziale (chILD), disordine del surfattante, associato a mutazione di ABCA3. Nella bambina è stata dimostrata la stessa variante genetica. Quando trattare? Come prevenire la progressione di malattia?

**Parole chiave:** ChILD, ABCA3, Surfattante

**Summary:** A 23-month-old girl was hospitalized for RSV-A and Rhinovirus respiratory infection. She required oxygen therapy for 10 days. Her brother had died at the age of 18 months of progressively worsening respiratory failure. He was diagnosed with interstitial lung disease (chILD), surfactant disorder, associated with ABCA3 mutation. The same genetic variant was determined in the girl. When should we treat the child? How to prevent further progression of the disease?

**Keywords:** ChILD, ABCA3, Surfactant

## CASO CLINICO

A Novembre 2021 una bambina di 23 mesi di origine tunisina veniva ricoverata per Insufficienza Respiratoria Acuta (IRA) presso la Pediatria dell'AOU di Modena. A domicilio, per un quadro di febbre associato a tosse stizzosa, la piccola, su consiglio del Curante, era già stata sottoposta ad antibioticoterapia orale con amoxicillina (80 mg/kg/die); successivamente, per la comparsa di dispnea, veniva condotta presso il Pronto Soccorso Pediatrico. All'ingresso: FC 134 bpm, FR 36 apm, SpO<sub>2</sub> 85-88%. Alla valutazione clinica presentava distress respiratorio (polipnea e tosse, rientramenti al giugulo e sottodiaframmatici), respiro sibilante (ridotto ingresso aereo e broncospasmo diffuso – primo episodio) e ossigenodipendenza. Veniva impostata terapia inalatoria con salbutamolo e ipratropio bromuro e terapia corticosteroidea sistemica, si avviava inoltre ossigenoterapia a basso flusso. L'emogasanalisi venosa risultava sostanzialmente nella norma e non si evidenziavano alterazioni rilevanti agli esami ematici eseguiti in urgenza (PCR 0.9 mg/dl). La radiografia del torace mostrava un piccolo consolidamento polmonare in area paracardiaca destra, in assenza di versamenti pleurici. Gli accertamenti cardiologici risultavano negativi. Il SARS-CoV-2 non veniva rilevato al tampone naso-faringeo PCR-RT d'ingresso, né ai successivi controlli. Ricoverata presso il Reparto di Pediatria per le cure e gli accertamenti del caso, la bambina proseguiva la terapia con ossigeno a basso flusso, broncodilatatori inalatori, metilprednisolone ev e antibioticoterapia empirica a largo spettro con ceftriaxone ev e azitromicina orale. Durante la degenza si osservava un lento miglioramento clinico, con possibilità di sospensione dell'O<sub>2</sub> dopo circa 10 giorni, oltre che radiologico. La ricerca di virus respiratori tramite PCR-RT su secrezioni respiratorie rilevava la positività per Virus Respiratorio Sinciziale A (RSV-A) e Rhinovirus; negativa la ricerca di patogeni batterici. Le indagini bioumorali di controllo non evidenziavano un rialzo significativo degli indici di flogosi e lo screening immunologico di primo livello risultava nella norma. Malgrado il lento decorso clinico e la difficoltà allo svezzamento dall'ossigenoterapia, la bambina veniva infine dimessa in completo benessere, eupnoica, asintomatica, con buoni parametri vitali stabili in aria ambiente.

La storia clinica della bambina non evidenziava problematiche particolari, eccetto uno scarso accrescimento staturale-ponderale, specie basso peso (<-2 SD WHO). In anamnesi familiare, il fratello maggiore aveva avuto un episodio di insufficienza respiratoria acuta all'età di 15 mesi in corso di infezione da patogeni multipli (*Adenovirus*, *Rhinovirus*, *Cytomegalovirus*, *Chlamydia pneumoniae*) (1).

Si evidenziano di seguito analogie e differenze nella presentazione clinica dei due fratelli. In primo luogo, entrambi avevano una storia neonatale muta, un quadro di scarso accrescimento (basso peso) e un esordio di malattia nel secondo anno di vita (sebbene nel fratello fosse stato più precoce, 15 mesi vs 23 mesi). Entrambi presentavano un quadro iniziale di insufficienza respiratoria acuta lieve, associato al reperto radiografico di consolidamento polmonare ed al riscontro di isolati virali su campioni di secrezioni respiratorie. Benché per il fratello fossero stati isolati anche batteri respiratori (verosimili contaminanti), il trattamento aveva incluso un precoce uso di antibiotici risultati efficaci; nonostante sul lavaggio bronco-alveolare (BAL) fosse stato isolato anche il *Cytomegalovirus*, la prosecuzione dell'iter diagnostico aveva escluso un primario coinvolgimento di da tale virus. Per entrambi quindi l'esordio di malattia era dovuto a un'infezione delle basse vie aeree da virus respiratori multipli (*Respiratory Syncytial Virus*, RSV e *Rhinovirus vs Adenovirus e Rhinovirus*).

Dopo un iniziale transitorio miglioramento, il decorso clinico del fratello si era caratterizzato per un quadro di insufficienza respiratoria acuta rapidamente ingravescente, per cui il paziente veniva trasferito dalla Pediatria di Modena alla Terapia Intensiva presso l'AOU Meyer di Firenze. Il bambino veniva intubato per necessità di assistenza invasiva con ventilazione meccanica, fino ad ossigenazione extracorporea a membrana (ECMO, *ExtraCorporeal Membrane Oxygenation*). La broncoscopia e il lavaggio broncoalveolare avevano rivelato la presenza di materiale proteinaceo positivo all'acido periodico di Schiff. La TC torace ad alta risoluzione (HRTC, *High Resolution Computed Tomography*) aveva evidenziato un quadro di malattia polmonare interstiziale (ILD, *interstitial lung disease* non specifica, con opacità diffuse a vetro smerigliato, collasso alveolare e ispessimento interstiziale). Tra le terapie farmacologiche eseguite: antibiotici e valganciclovir, corticosteroidi, idrossiclorochina, azitromicina. I ripetuti lavaggi alveolari avevano sortito scarso effetto e la somministrazione di surfattante esogeno aveva determinato un beneficio minimo e transitorio. All'età di 18 mesi si assisteva al decesso del piccolo, per il quale il trapianto polmonare era stato proposto come opzione terapeutica. I test diagnostici eseguiti, incluse le indagini immunologiche e genetiche (NGS esoma, *NGS-Next Generation Sequencing*), facevano emergere in un soggetto immunocompetente la presenza di un disordine del surfattante geneticamente determinato e sostenuto da una mutazione del gene *ABCA3* (*ATP Binding Cassette Subfamily A Member 3*). In particolare, era stata dimostrata la presenza in omozigosi della variante: c.[3135G>C];[=] p.[Gln1045His];[=] nell'Esone 22 del gene *ABCA3* (NM\_001089.2)

La presenza in eterozigosi della stessa variante era stata ritrovata nei genitori, portatori sani, apparentemente non consanguinei, tuttavia originari della stessa cittadina tunisina.

Le indagini genetiche eseguite sulla sorella di 23 mesi dimostravano la stessa variante di *ABCA3* in omozigosi.

La bambina, dimessa in completo benessere, eseguiva presso i centri di Modena e Firenze ulteriori indagini che includevano il test del sudore (negativo) e un controllo radiologico con HRTC a distanza dall'episodio acuto, che evidenziava un minimo iniziale ispessimento interstiziale (ILD non specifica), tuttavia non evolutivo e di grado lieve. Nel corso del follow-up, la bambina si manteneva asintomatica nei periodi intercritici, con buoni livelli di SpO<sub>2</sub> in aria ambiente. Tuttavia, nel terzo anno di vita la bambina presentava un secondo episodio di riacutizzazione respiratoria in corso di infezione delle basse vie aeree (Metapneumovirus), con miglioramento dopo un breve ciclo di metilprednisolone e alcuni giorni di ossigenoterapia (somministrata per un breve periodo anche attraverso CPAP). Seguiva completo benessere respiratorio. In ragione del quadro di chILD lieve, non progressiva e non necessitante di assistenza ventilatoria, si optava per la monoterapia con Azitromicina, 10 mg/kg/die per 3 giorni a settimana.

## DISCUSSIONE

La malattia polmonare interstiziale del bambino o *childhood interstitial lung disease* (chILD) comprende uno spettro complesso ed eterogeneo di oltre 200 malattie rare, del neonato e del bambino (2). Le chILD potenzialmente associate a fibrosi polmonare progressiva in soggetti immunocompetenti includono i disordini del surfattante, tra cui le mutazioni di *ABCA3* (3). Il gene *ABCA3* codifica per la proteina *ATP-binding cassette transporter A3*, ovvero per un trasportatore transmembrana di fosfolipidi, necessario per l'assemblaggio del surfattante nei corpi lamellari delle cellule alveolari di tipo II. L'alterata funzione di *ABCA3* determina la formazione di corpi lamellari densi atipici, riconoscibili in microscopia elettronica. I test genetici favoriscono un iter diagnostico non invasivo quando vi sia il sospetto clinico di chILDs già ben note, tra cui disordini del surfattante associati a delezioni o mutazioni nei geni coinvolti nella produzione e/o nella funzione (*SFTPA1* (*Surfactant Protein A1*), *SFTPA2* (*Sur-*

*factant Protein A2*), SFTPB (*Surfactant Protein B*), SFTPC (*Surfactant Protein C*), ABCA3 e NKX2.1 (*NK2 homeobox 1*)), e nel catabolismo (CSF2RA (*Colony Stimulating Factor 2 Receptor Subunit Alpha*) e CSF2RB (*Colony Stimulating Factor 2 Receptor Subunit Beta*)) (2,4). Previa raccolta della storia clinica ed accurata valutazione clinica, l'iter diagnostico per le chILD si avvale anzitutto di RX e TC del torace, test genetici, broncoscopia e BAL, dai quali si possono ricavare pattern radiologici specifici o altri dati dirimenti il quesito diagnostico. Un approccio più invasivo con biopsia polmonare deve essere considerato quale eventuale step ultimo della flowchart diagnostica (4). Nel caso della bambina portata in esame, l'anamnesi familiare, associata a studi di imaging polmonare e indagini genetiche ha soddisfatto il quesito diagnostico e, almeno in fase iniziale, non si è reso necessario procedere con indagini invasive.

Oltre al trapianto di polmone, non esiste ad oggi una cura specifica per chILD da mutazione di ABCA3. Le opzioni di terapia farmacologica empirica attualmente disponibili per le chILD includono ossigeno, corticosteroidi, idrossiclorochina e azitromicina, e si basano sul concetto di sopprimere l'infiammazione per prevenire la progressione alla fibrosi polmonare (2). Farmaci largamente impiegati sono i corticosteroidi: in fase acuta, metilprednisolone ev boli, 10-30 mg/kg/die in monodose giornaliera, per 3 giorni consecutivi, a intervalli mensili; in fase cronica, metilprednisolone ev boli a dose ridotta e a intervalli distanziati, oppure terapia orale con prednisone, 1-2 mg/kg/die. Altra opzione, da intendersi come risparmiatore di steroidi è l'idrossiclorochina, a dosaggio di 6-10 mg/kg/die, da preferire ove vi siano dati a favore di un'evoluzione in senso pro fibrotico. Tra gli schemi di trattamento può essere inclusa l'azitromicina orale, a dosaggio di 10 mg/kg/die, per 3 giorni alla settimana, il cui razionale d'uso risiede nell'azione antinfiammatoria-immunomodulatoria, oltre che antibiotica del macrolide. In caso di malattia refrattaria, può essere preso in considerazione il ricorso ad altri immunosoppressori, tra cui azatioprina, ciclofosfamide, metotrexate. Attualmente la scelta dei protocolli di trattamento empirico dipende anzitutto dall'esperienza del centro che ha in cura il paziente, con grande eterogeneità e limitata diversificazione secondo la patogenesi, perlopiù misconosciuta, delle singole chILDs. In epoca di sperimentazione di nuove strategie terapeutiche e in particolare di farmaci anti-fibrotici (tra cui il nintedanib), è urgente la standardizzazione dei rilievi clinici e strumentali per meglio definire il grado di fibrosi polmonare in età pediatrica, particolarmente in caso di interstiziopatia associata a fibrosi progressiva (2). Si affacciano inoltre nuove frontiere nel trattamento delle chILD, con crescenti dati a supporto del ruolo benefico della terapia cellulare nel prevenire la progressione della malattia interstiziale e nel promuovere riparazione-rigenerazione del polmone danneggiato; di particolare interesse la sperimentazione delle cellule mesenchimali stromali o *Mesenchymal stem cells* (MSCs) (5,6).

Per i disordini del surfattante associati a varianti di ABCA3 andrebbero fatte alcune considerazioni. In letteratura, tali disordini costituiscono uno spettro eterogeneo per i quali è stata tentata una correlazione genotipo-fenotipo distinguendo due fenotipi maggiori: mutazioni che determinano malattia a esordio precoce e rapidamente fatale (*early lethal mutations*), con decesso entro i primi 6 mesi o comunque nei primi 5 anni di vita; mutazioni associate a lunga sopravvivenza (*prolonged survival*) fino all'infanzia, all'adolescenza o all'età adulta (10). In una revisione di 185 casi pediatrici (neonati/bambini) con mutazioni del gene ABCA3 a trasmissione autosomica recessiva (omozigoti ed eterozigoti composti), è stato dimostrato che le mutazioni *frameshift* e nonsense sono predittive di un esordio precoce, in epoca neonatale, e hanno valore prognostico negativo, con esito infausto. Viceversa, per mutazioni *missense*, o del sito di *spicing*, o inserzioni/delezioni, non sono state evidenziate chiare correlazioni (11). Anche nel primo caso, tuttavia, per varianti patogenetiche teoricamente associate a insufficienza respiratoria neonatale e morte entro il primo anno di vita (in assenza di trapianto polmonare), sono stati pubblicati casi aneddotici in cui la sopravvivenza del soggetto è arrivata ai 5 anni di vita e oltre (12). Nel caso della bambina in esame, definito un quadro clinico di chILD lieve e stabile secondaria a mutazione di ABCA3 a trasmissione autosomica recessiva e per il quale non si rendeva necessario alcun supporto respiratorio, è stato discusso anzitutto se e quando proporre l'inizio di un trattamento, al fine di prevenire la progressione di malattia. Sono state considerate le analogie con la storia del fratello che, portatore della stessa variante patogenetica e posto in condizioni ambientali sovrapponibili, era deceduto dopo soli 3 mesi dall'esordio di malattia. In letteratura non sono stati ritrovati casi comparabili con correlazione genotipo-fenotipo a prognosi particolarmente favorevole (secondo sesso, età o altre variabili), che giustificassero di procrastinare una terapia di prima linea per chILD. È stato pertanto deciso di intraprendere una terapia farmacologica precoce con azitromicina in monoterapia, a dosaggio di 10 mg/kg/die, per 3 giorni a settimana. In letteratura, tuttavia, sono stati proposti schemi terapeutici tra cui l'uso in prima linea di corticosteroidi, oppure l'impiego dell'idrossiclorochina sia in protocolli

di fase acuta (terapie di associazione) sia in fase cronica (monoterapia) (7,8). Un attento monitoraggio clinico, comprensivo di registrazioni saturimetriche notturne in benessere, e radiologico (al fine di evidenziare un'evoluzione in senso pro-fibrotico), è indispensabile per guidare eventuali variazioni del trattamento verso una terapia steroidea o con idrossiclorochina. Infine la ciclosporina A è stata identificata come modulatore farmacologico specifico per alcune varianti di ABCA3 in modelli cellulari; tale molecola può dunque essere considerata come terapia di seconda linea (9).

## CONCLUSIONI

È stato descritto un caso di chILD da disordine del surfattante causato da mutazione del gene ABCA3, con quadro clinico lieve e stabile associato a elementi prognostici sfavorevoli secondo storia familiare. Sono state discusse le ragioni che hanno portato a iniziare un protocollo di terapia farmacologica empirica con azitromicina orale, impostando uno stretto monitoraggio clinico e radiologico, finalizzato a intervenire precocemente con eventuali ulteriori opzioni di trattamento, in caso di aggravamento o evoluzione in senso pro-fibrotico. Il progresso nella terapia delle chILD e la scoperta di nuove terapie mirate ai disordini da deficit di ABCA3 sono necessari per auspicare in un miglioramento della prognosi e intervenire ancor più efficacemente sulla progressione di malattia. Sebbene ulteriori studi siano necessari a supporto, le terapie cellulari rappresentano un elemento di speranza per il futuro dei bambini con chILD.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Snyder D., et al. *Malattie interstiziali polmonari in età pediatrica (chILDs)*. *Pneumologia Pediatrica*. 2017;17(68):23-27.
- (2) Deterding R.R., et al. *Approaching Clinical Trials in Childhood Interstitial Lung Disease and Pediatric Pulmonary Fibrosis*. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 2019; 200(10):1219–1227.
- (3) Nathan N., et al. *Pulmonary Fibrosis in Children*. *J. Clin. Med.* 2019; 8(9):1312.
- (4) Ferraro V.A., et al. *Children's Interstitial and Diffuse Lung Diseases (ChILD) in 2020*. *Children (Basel)*. 2020; 7(12):280.
- (5) Pelizzo G., et al. *Mesenchymal Stromal Cells for the Treatment of Interstitial Lung Disease in Children: A Look from Pediatric and Pediatric Surgeon Viewpoints*. *Cells*. 2021; 10(12):3270.
- (6) Brennan L.C., et al. *Cellular Therapy for the Treatment of Paediatric Respiratory Disease*. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(16):8906.
- (7) Kitazawa H., et al. *Interstitial lung disease in two brothers with novel compound heterozygous ABCA3 mutations*. *Eur. J. Pediatr.* 2013; 172(7):953-957.
- (8) Shaaban W., et al. *Hydroxychloroquine, a successful treatment for lung disease in ABCA3 deficiency gene mutation: a case report*. *J. Med. Case Rep.* 2021; 15(1):54.
- (9) Forstner M., et al. *High-Content Screening Identifies Cyclosporin A as a Novel ABCA3-Specific Molecular Corrector*. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2022; 66(4):382-390.
- (10) Cho J.G., et al. *ABCA3 deficiency from birth to adulthood presenting as paediatric interstitial lung disease*. *Respirol. Case Rep.* 2020; 8(7):e00633.
- (11) Wambach J.A., et al. *Genotype-phenotype correlations for infants and children with ABCA3 deficiency*. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2014; 189(12):1538-1543.
- (12) El Boustany P., et al. *Unusual long survival despite severe lung disease of a child with biallelic loss of function mutations in ABCA-3*. *Respir. Med. Case Rep.* 2018; 23:173-175.