

Un caso di retinite pigmentosa e bronchiectasie

A Case of Retinitis Pigmentosa and Bronchiectasis

Andrea La Tessa¹, Grazia Fenu², Claudia Calogero², Enrico Lombardi²

¹ Scuola di specializzazione in Pediatria, Università di Firenze

² Broncopneumologia pediatrica, AOU Anna Meyer, Firenze

Corrispondenza: Claudia Calogero **e-mail:** claudia.calogero@meyer.it

Riassunto: Un ragazzo di 13 anni, con storia di retinite pigmentosa diagnosticata all'età di 5 anni, esordisce con un quadro clinico di sindrome del lobo medio del polmone destro. All'esame colturale su escreato e BAL vengono isolati MSSA e *S. Pneumoniae*. La HRCT del torace evidenzia la presenza di bronchiectasie cilindriche a carico di entrambi i polmoni. La TC del massiccio facciale mostra sinusite cronica. Ai successivi esami colturali su escreato viene isolata *P. Aeruginosa*. L'analisi genetica su CFTR risulta negativa e l'esame ultrastrutturale delle cilia non mostra alterazioni.

Per la storia di distrofia retinica e bronchiectasie viene quindi eseguita un'analisi genetica (NGS) con riscontro di una mutazione in emizigosi nel gene RPGR sul cromosoma X (Xp21,1) e diagnosi di Discinesia Ciliare Primitiva. Questo caso mostra il complesso iter diagnostico di un caso di discinesia ciliare primitiva con ereditarietà *X-linked* associata a mutazione del gene RPGR. Il quadro è esordito con distrofia retinica e in seguito con coinvolgimento polmonare (bronchiectasie bilaterali).

La Discinesia Ciliare Primitiva è una malattia rara che di solito presenta ereditarietà autosomica recessiva, è caratterizzata da un difetto strutturale o una ridotta funzione delle cilia, che determina infezioni respiratorie ricorrenti esitanti in bronchiectasie, otiti ricorrenti e sinusite cronica. Circa il 50% dei pazienti presenta *situs inversus* e la maggior parte dei pazienti maschi risulta infertile per immobilità degli spermatozoi. Il coinvolgimento oculare è invece raro.

Parole chiave: retinite pigmentosa, discinesia ciliare primaria, malattie rare.

Summary: A 13-year-old boy with history of retinitis pigmentosa (diagnosed at age 5) presented with right middle lobe syndrome. Sputum and BAL cultures were positive for methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*. HRCT scan showed cylindrical bronchiectasis on both lungs. Further investigations involved a CT scan of paranasal sinuses that showed findings of chronic sinusitis, and a subsequent sputum culture, that was positive for *Pseudomonas aeruginosa*. CFTR gene analysis, immunological exams, and electron microscope cilia ultrastructure were normal. Due to the clinical history of retinitis pigmentosa and bronchiectasis, an NGS analysis was performed with findings of a hemizygous mutation in the *RPGR* gene on the X chromosome (Xp21,1).

This case showed a challenging diagnosis of X-linked transmission of primary ciliary dyskinesia (PCD), associated with a mutation in the *RPGR* gene, presenting initially with ocular symptoms (retinal dystrophy) and subsequently with pulmonary involvement (bilateral bronchiectasis). PCD is a rare disease usually transmitted as an autosomal recessive trait, with impaired function and structural defect of cilia leading to recurrent respiratory infections, mainly bronchiectasis, chronic sinusitis and serous otitis. About 50% of patients display *situs inversus* and most male patients are infertile due to immotile spermatozoa. Ocular involvement is rare.

Keywords: retinitis pigmentosa, primary ciliary dyskinesia, rare diseases.

CASO CLINICO

Un ragazzo di 13 anni con retinite pigmentosa accede in pronto soccorso (PS) dopo 2 episodi di febbre associata a tosse persistente nonostante due cicli di terapia antibiotica (claritromicina e azitromicina) nel corso dei 2 mesi precedenti.

In PS gli indici di flogosi risultano nella norma mentre la radiografia (RX) del torace mostra un addensamento a livello del lobo medio. Il paziente viene quindi dimesso con indicazione di effettuare antibiotico terapia con ciprofloxacina.



Fig. 1: TC del torace ad alta risoluzione (HRCT).

to un ulteriore ciclo di antibiotico terapia (levofloxacin) e indicazione a effettuare la tomografia computerizzata (TC) del torace.

La TC del torace (Figura 1) mostra la presenza di bronchiectasie cilindriche prevalentemente nel lobo medio con aree limitate di pattern a “ground glass” e “tree-in-bud”.

Dopo visione della TC, si avviano fisioterapia respiratoria con *Pep-mask* e accertamenti comprensivi di esami immunologici (nella norma), spirometria (*pattern* ostruttivo non broncoreversibile), frazione di ossido nitrico esalato (FeNO) bronchiale normale ed esame delle ciglia al microscopio elettronico a trasmissione (TEM) che non evidenzia anomalie. La TC del massiccio facciale documenta un quadro di sinusite mascellare cronica. La coltura dell'escreato risulta positiva per *Pseudomonas Aeruginosa*.

Durante la successiva ospedalizzazione, viene somministrata terapia eradicante endovenosa per *Pseudomonas Aeruginosa*, eseguita l'analisi genetica del gene Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR) che risulta negativa e viene ripetuto l'esame ultrastrutturale delle ciglia che risulta nuovamente negativo.

Preso visione della storia clinica suggestiva con presenza di bronchiectasie associate a retinite pigmentosa è stata quindi eseguito il sequenziamento di nuova generazione (NGS) su geni associati a Discinesia Ciliare Primaria (DCP) tra cui Retinitis Pigmentosa GTPase Regulator (RPGR).

Il risultato di tale indagine ha messo in luce una mutazione c.[547C>T];[O], P.[Pro183Ser];[O] nel gene RPGR in emizigosi ereditata dalla madre, mai descritta in letteratura.

Al *follow-up*, condotto 2-3 volte/anno, venivano ripetuti funzionalità respiratoria, esame colturale dell'escreato (che nel tempo ha evidenziato colonizzazione da *P. Aeruginosa*, *MSSA*, *M. Catarrhalis*, *H. Influenzae*), esami ematici comprensivi di *workup* immunologico risultati sempre nella norma.

La TC del torace effettuata a 3 anni dalla diagnosi mostra un peggioramento del *pattern* con bronchiectasie cilindriche e variciformi in entrambi i polmoni, soprattutto a carico del polmone destro, con aree di “ground glass” e “tree-in-bud” nel polmone destro.

Discussione

La DCP rappresenta un gruppo di patologie eterogenee dal punto di vista clinico e genetico con disordine strutturale o funzionale delle ciglia, caratterizzate principalmente da ridotta *clearance* mucociliare nelle vie aeree.

La prevalenza è di circa 1:10-20000 su nati vivi.

L'ereditarietà è spesso autosomica recessiva, sebbene sia riportata in letteratura anche tipo *X-linked*.

La patogenesi della malattia origina da difetti funzionali e strutturali della ciglia. Sia le ciglia che i flagelli condividono al loro interno la medesima struttura con l'assonema composto da nove doppiette di microtubuli con al centro un'altra coppia di microtubuli. Bracci di dineina interni

Un mese dopo il ragazzo presenta un nuovo episodio di febbre e tosse con lieve rialzo degli indici di flogosi (PCR 0.86 mg/dl) e all'RX torace la persistenza dell'addensamento nel lobo medio. Viene quindi ricoverato per eseguire vari accertamenti. Tuberculin skin test, quantiferon e test del sudore risultano negativi.

La broncoscopia evidenzia una normale anatomia bronchiale con abbondante muco purulento nelle vie aeree e gli esami infettivologici su lavaggio broncoalveolare (BAL) documentano un esame colturale positivo per *S. Aureus* meticillino sensibile (MSSA) e Polymerase Chain Reaction (PCR) positiva per *S. Pneumoniae*. Viene prescrit-

e esterni si inseriscono nelle doppiette periferiche. A partire dall'idrolisi dell'ATP, i bracci di dineina permettono il movimento delle coppie di microtubuli determinando il battito delle ciglia. Le ciglia mobili sono presenti anche in tessuti extra-respiratori.

Il quadro clinico è pertanto variabile ma è generalmente caratterizzato da infezioni respiratorie ricorrenti sia a carico delle alte che delle basse vie respiratorie, otiti ricorrenti, sinusite cronica presenza di bronchiectasie (1). Il sito inverso è presente in circa il 50% dei pazienti. La maggior parte dei pazienti maschi sono sterili per l'immotilità degli spermatozoi. Talvolta è stata riscontrata l'associazione con altre patologie quali il rene policistico, l'idrocefalo, la polisplenia, l'atresia delle vie biliari extraepatiche, la retinite pigmentosa.

DIAGNOSI

Data la rarità della patologia e il difficile iter diagnostico, la diagnosi andrebbe sempre confermata in un centro specialistico di riferimento. Il *workup* diagnostico della DCP consta di una combinazione di test diagnostici e un fenotipo clinico tipico ma attualmente non vi è un test diagnostico "gold standard" per questa patologia.

Il test per la misurazione dell'ossido nitrico nasale (nNO) può essere molto utile per lo *screening* dei pazienti affetti (anche se valori normali non possono escludere la diagnosi), ma è consigliato nei bambini sopra i cinque anni di età (1). Il valore di *cut-off* nNO < a 77 nl/min è suggestivo di DCP. Il test è sensibile, rapido, non invasivo e i risultati sono immediatamente disponibili. Tuttavia, in alcuni casi di DCP i livelli di nNO possono essere normali. Possono esservi inoltre possibili falsi positivi in caso di infezioni o fibrosi cistica.

Il questionario **PICADAR (PrImary CiliARy DyskinesIA Rule)** valuta la probabilità che il paziente con tosse catarrale persistente, insorta nella prima infanzia, abbia la DCP (2) (Tabella 1).

Tab. 1: *Pazienti con un punteggio PICADAR ≥10 hanno più del 90% di probabilità di risultare positivi ai test per la DCP, mentre un punteggio ≥5 indica più dell'11% di possibilità di avere la DCP*

Domanda	Risposta	Punteggio
Il paziente è nato a termine oppure no?	A termine	2
Ha presentato sintomi respiratori nel periodo neonatale (tachipnea, tosse, polmonite, ecc.)?	Sì	2
È stato ricoverato in terapia intensiva neonatale?	Sì	2
Ha un'alterazione della lateralità (<i>situs inversus</i> o eterotassia)?	Sì	4
Ha un difetto cardiaco congenito?	Sì	2
Ha una rinite persistente?	Sì	1
Ha presentato sintomi cronici a carico dell'orecchio o alterazioni dell'udito?	Sì	1

L'analisi della funzione e della struttura delle ciglia dell'apparato respiratorio. I campioni di epitelio ciliato si possono ottenere mediante *brushing* nasale o mediante broncoscopia. È importante che il paziente non abbia avuto infezioni acute delle vie aeree superiori nelle 4-6 settimane precedenti. Le linee guida dell'European Respiratory Society (ERS) suggeriscono di eseguire prima la **videomicroscopia ad alta velocità (HSVA)** e successivamente la **TEM** se la HSVA è alterata (3).

La HSVA viene utilizzata per determinare se le ciglia hanno normale coordinazione, frequenza e pattern di battito.

La TEM riesce ad identificare anomalie strutturali, risultando diagnostica quando riconosce un difetto ultrastrutturale tipico, tuttavia può essere normale in circa il 10-20% dei pazienti con DCP.

Il test all'immunofluorescenza, che utilizza anticorpi specifici per varie proteine dell'assonema ciliare risulta ad oggi ancora poco diffuso nella pratica clinica.

La tomografia computerizzata ad alta risoluzione (HRCT) e l'esame colturale dell'espettorato, possono identificare precocemente complicanze gravi, come le bronchiectasie e le colonizzazioni batteriche, responsabili di una prognosi sfavorevole.

GENETICA

Attualmente sono state identificate mutazioni in più di 40 geni codificanti per proteine ciliari, di trasporto o strutturali associate a DCP.

Esiste un'ampia eterogeneità di mutazioni genetiche. Alcune correlano a specifici difetti ultrastrutturali: mutazioni nei bracci esterni di dineina (DNAH5, DNAH9, DNAH12, DNAI1, ARMC4, CCDC103), bracci interni di dineina (DNALI1), raggi di connessione ed apparato centrale (RSPH4A, RSPH9). Il difetto ultrastrutturale più frequentemente identificato è l'assenza del braccio esterno di dineina (ODA).

Le mutazioni più frequenti sono a carico di DNAH5 nel 28% dei pazienti e DNAI1 nel 2-10% dei pazienti, mentre TXNDC3, DNAH11 e DNAI2 sono coinvolti più raramente (4).

ALGORITMO DIAGNOSTICO

L'ERS e la American Thoracic Society (ATS) hanno entrambe redatto degli algoritmi diagnostici per la DCP. L'ERS ha individuato 3 categorie di rischio di malattia (da poco probabile a molto probabile), mentre l'algoritmo ATS tende all'eventuale conferma diagnostica (5).

Entrambe le linee guida ribadiscono che il percorso diagnostico non è lineare in quanto non esiste un singolo test risolutivo, concordando che è possibile la diagnosi di DCP definitiva in presenza di varianti patogeniche bialleliche o TEM indicativa. Tuttavia in circa il 30% dei casi l'ultrastruttura è normale o non è possibile identificare una variante genetica causativa.

Mentre l'ERS affida la valutazione clinica iniziale al PICADAR, l'ATS utilizza un questionario di screening di 4 *items*: per essere positivo ne devono essere presenti almeno 2.

Entrambe le suddette società scientifiche ritengono la misurazione di nNO abbia buona specificità e sensibilità sebbene possa essere normale in alcuni genotipi (Tabella 2). Dato che il suo valore discriminante dipende dall'età, la misurazione di nNO è raccomandata solo dopo i 5 anni di età. Secondo l'ATS la diagnosi di DCP può essere confermata da 2 valori anomali di nNO, secondo l'ERS è necessaria anche un'alterata HSVA.

Nelle linee guida ATS la HSVA non è raccomandata, data la scarsa standardizzazione di questa metodica, mentre il test genetico allargato a >12 geni ha un maggiore valore diagnostico rispetto alla TEM (5).

Da entrambi i *consensus* si evince comunque che ogni test aggiuntivo incrementa l'accuratezza diagnostica.

GENE RPGR

Il gene RPGR codifica per la proteina omonima, una GTPasi che svolge un ruolo chiave della struttura di collegamento tra il segmento interno ed esterno dei fotorecettori e potrebbe avere anche un ruolo nel determinare il corretto orientamento delle cilia anche nel tessuto respiratorio. Mutazioni nel gene RPGR sono responsabili di circa il 70%-90% di tutti i casi di XLRP (X-Linked Retinitis Pigmentosa) (6).

Tab. 2: Diagnostica nella malattia da gene *RPGR* e diagnosi differenziale con altri geni che non danno alterazioni alla TEM (6).

Difetto genetico	TEM	nNO	HSVA	Immunofluorescenza
RPGR	Di solito normale	Basso o normale	Anormale	Normale
DNAH11	100% normale	Basso	Anormale	Talvolta anormale
HYDIN	100% normale	Basso	Non diagnostico	Normale
CCNO/MCIDAS	No cilia	Basso	Analisi non possibile	Normale in <i>CCNO</i> , Anormale in <i>MCIDAS</i>
Nexin Link/DRC Genes - CCDC65, CCDC164, GAS8	Di solito normale	Basso	Anormale in <i>CCDC65, CCDC164</i> , Non-diagnostico in <i>GAS8</i>	Normale
Nexin Link/DRC Genes -CCDC39, CCDC40	Difetto IDA, il 50% delle cilia ha anche disorganizzazione dei microtubuli	Basso	Anormale	Anormale
RSPH4A, RSPH9, RSPH3	fino al 50% delle cilia è normale	Basso	Anormale	Anormale
RPSPH1	fino al 80% delle cilia è normale	Basso o normale	Non diagnostico	Anormale

CONCLUSIONI

La malattia determinata dalla mutazione del gene *RPGR*, ancora scarsamente definita dato il ristretto numero di casi, sembra caratterizzarsi per la precocità dei sintomi respiratori simil-DCP, mentre la degenerazione retinica si può presentare durante l'infanzia o rimanere silente fino alla terza decade di vita. Non è solitamente presente *situs inversum*.

L'analisi ciliare ultrastrutturale risulta di solito nella norma.

Questo caso clinico mostra il complesso iter diagnostico che a volte può essere necessario per arrivare alla diagnosi di Discinesia Ciliare Primitiva.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Shapiro AJ, Josephson M, Rosenfeld M et al. *Accuracy of Nasal Nitric Oxide Measurement as a Diagnostic Test for Primary Ciliary Dyskinesia. A Systematic Review and Meta-analysis.* Ann Am Thorac Soc. 2017 Jul;14(7):1184-1196.
- (2) Behan L, Dimitrov BD, Kuehni CE et al. *PICADAR: a diagnostic predictive tool for primary ciliary dyskinesia.* Eur Respir J. 2016 Apr;47(4):1103-12.
- (3) Shapiro AJ, Leigh MW. *Value of transmission electron microscopy for primary ciliary dyskinesia diagnosis in the era of molecular medicine: Genetic defects with normal and non-diagnostic ciliary ultrastructure.* Ultrastruct Pathol. 2017 Nov-Dec;41(6):373-385.
- (4) Lucas JS, Davis SD, Omran H et al. *Primary ciliary dyskinesia in the genomics age.* Lancet Respir Med. 2020 Feb;8(2):202-216.
- (5) Shoemark A, Dell S, Shapiro A et al. *ERS and ATS diagnostic guidelines for primary ciliary dyskinesia: similarities and differences in approach to diagnosis.* Eur Respir J. 2019 Sep 5;54(3):1901066.
- (6) Patnaik SR, Raghupathy RK, Zhang X et al. *The Role of RPGR and Its Interacting Proteins in Ciliopathies.* J Ophthalmol 2015;2015:414781.