



Bari,  
7-10 novembre 2013

# La Pubertà

**Piernicola Garofalo**

**UOC Endocrinologia- AOOR Villa Sofia-Cervello**

**Palermo**



Bari,  
7-10 novembre 2013

## **Il sottoscritto *Piernicola Garofalo***

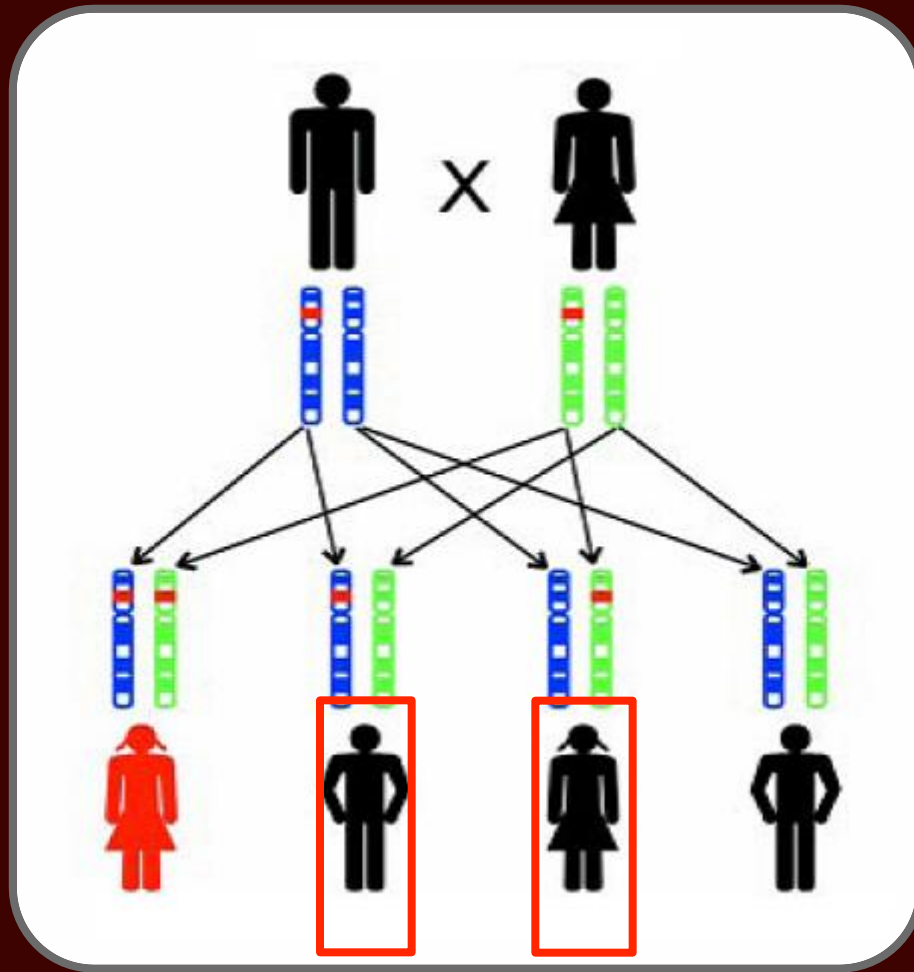
**in qualità di Docente del presente corso,  
consapevole che chiunque rilascia dichiarazioni mendaci è punito ai sensi  
del codice penale e delle leggi speciali in materia, ai sensi e per gli effetti  
dell'art. 3.3 sul Conflitto di Interessi, pag. 17 del Reg. Applicativo  
dell'Accordo Stato-Regione del 5 novembre 2009**

## **DICHIARA**

**che negli ultimi due anni ha avuto rapporti diretti e indiretti di consulenza  
con finanziamenti con le seguenti ditte, portatrici di interessi commerciali in  
campo sanitario:**

**Merck-Serono, Lilly, Ferring, Italfarmaco, Novo  
Nordisk, Novartis, Pfizer, Ipsen.**

# *Autosomal Recessive inheritance*





## FORME CLINICHE DELLA SAG DA DEFICIT DI 21-OH



Bari,  
7-10 novembre 2013

- SAG classica con perdita di Sali
- SAG classica virilizzante semplice
- SAG non classica, a insorgenza tardiva, “late onset”

# Clinical management: periodo pre/puberale

## Problema clinico

Crescita staturale ridotta

Sviluppo puberale precoce

## Presidi diagnostici

- Et  ossea
- P.A.
- Velocit  di crescita
- 17-OH-P/ACTH
- Renina

- Stadiazione
- Eco pelvi
- Eco testicoli
- Eco surreni

## Presidi terapeutici

- Riduzione dell'idrocortisone a 8-10 mg/m<sup>2</sup>

- GnRH analoghi

## **ZONE GRIGIE**

- **Grado di soppressione dell'asse ACTH/Surrene**
- **Fluoroidrocortisone in tutti i casi di SAG classica**
- **Trattamento delle forme Non Classiche**
- **Terapia con GH**
- **Inibitori dell'aromatasi/ SARM**
- **Terapia con GnRH analoghi**
- **Attività fisica**
- **Gestione degli eventi stressanti**

# Clinical management: periodo adolescenziale

## Problema clinico

## Presidi diagnostici

## Presidi terapeutici

### 1) Compliance

- 17-OH-P/ACTH
- Renina
- Valutazione clinica
- Eco testicolare

- Attività di supporto psicologico
- Steroidi long-acting  
Desametazone (0,375mg)  
Prednisone (1-2 mg)
- Idrocortisone MR

### 2) Irsutismo

- Indice di Ferriman/Gallway
- Eco pelvi
- FSH, LH, Androgeni

- Spironolattone
- Flutamide
- Ciproterone acetato
- Estro-progestinici
- Inositolo

## **ZONE GRIGIE**

- **Identità di genere**
- **Attività sessuale**
- **Attività sportiva**
- **Disfunzione adreno-midollare**
- **Mineralizzazione ossea**
- **Composizione corporea**
- **Ambulatori per la transizione**



# Clinical management: età di transizione

## Problema clinico

## Presidi diagnostici

## Presidi terapeutici

### 1) Fertilità

- Steroidi ovarici
- Eco pelvi
- Esame seminale
- Eco testicolare

- Induzione ovulatoria x banking.
- Crioperservazione gameti maschili.

### 2) Sindrome metabolica

- Studio trombofilico
- Pattern lipidico
- Sensibilità all'insulina
- P.A.
- BMI

- ASA, AC folico, B<sub>6</sub>
- Statine
- Insulin sensitizers
- Anti-ipertensivi

## **ZONE GRIGIE**

- **Counselling riproduttivo**
- **Insulino resistenza**
- **Dislipidemia**
- **Obesità**
- **Ipertensione**
- **S. depressiva**
- **Sorveglianza oncologica**
- **Osteopenia/osteoporosi**



# Storia di Gabriele



Bari,  
7-10 novembre 2013

Data di nascita 22-4-88

Alla terza settimana di vita ricovero per vomito e diagnosi di S. Adreno Genitale con perdita di sali.

Da allora in terapia continua con idrocortisone e fluoroidrocortisone.

Seguito al S. Matteo di Pavia fino al 2003 epoca in cui giunge alla nostra osservazione.



# Storia di Gabriele



Bari,  
7-10 novembre 2013

## 1° osservazione 13-1-2003

Peso Kg 64 Stadio puberale PH4-5G4-5I4

Testicoli bilateralmente 20 ml

H 176,2 (90°)

Target 170,5 (26°)

## Esami eseguiti:

17 OHPg: 8,4

ACTH: 25

PRA : 1,1

Aldosterone: 21

DHEAS: 1,0

CLU: 348 (38-208)

Terapia praticata:

Idrocortisone 35 mg/die

Florinef 0,05 mg/ die

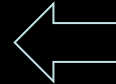
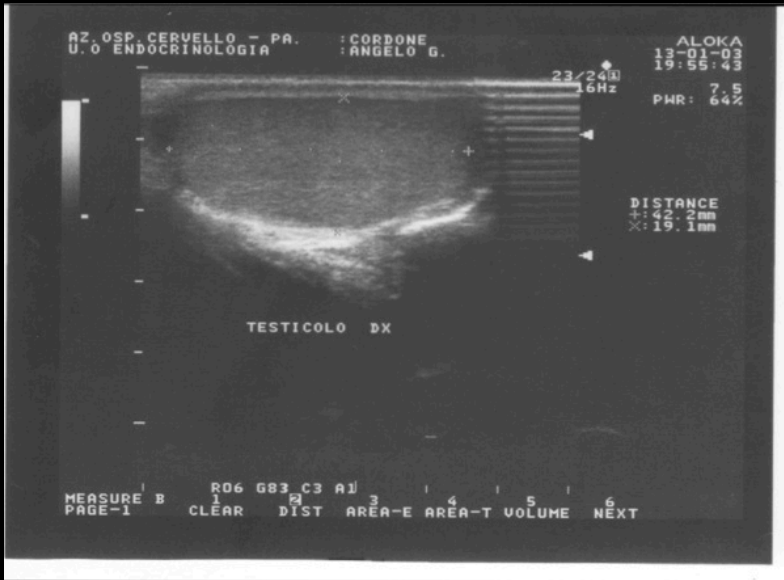
Testosterone: 465



# Scansione ecotesticoli 2003

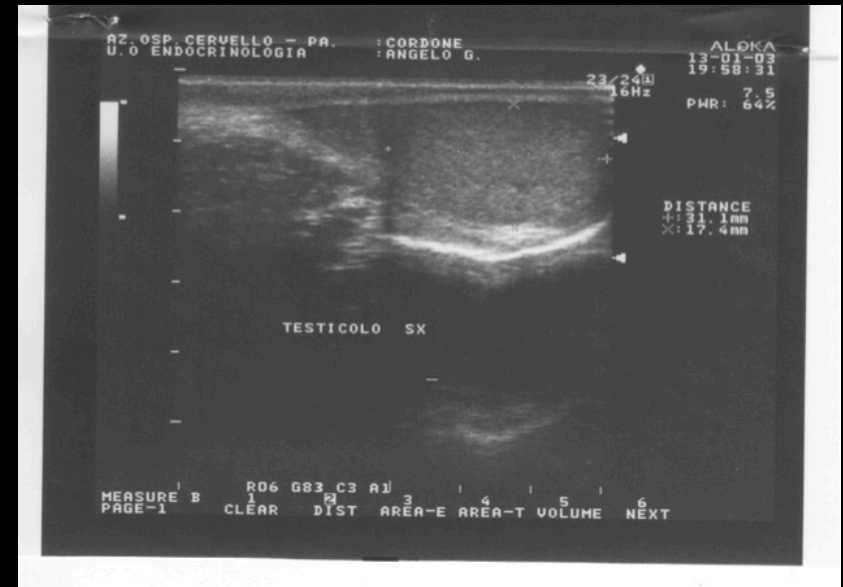
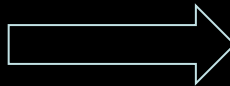


Bari,  
7-10 novembre 2013



Testicolo dx

Testicolo sn



# Storia di Gabriele



## 3° osservazione 9-1-2004

Peso Kg 65,5      Stadio puberale PH5G5-5I5

H 176,2      Testicoli bilateralmente 20 ml

### Esami eseguiti:

17 OHPg: > 20

Test.tot 281

ACTH 67,9

PRA 95,3

Aldosterone: 54,9

DHEAS 2,0

CLU: 86,4 (38-208)

Terapia praticata:  
Idrocortisone 30 mg/die  
Florinef 0,1 mg<sup>1</sup>/<sub>2</sub> cp die

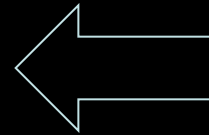
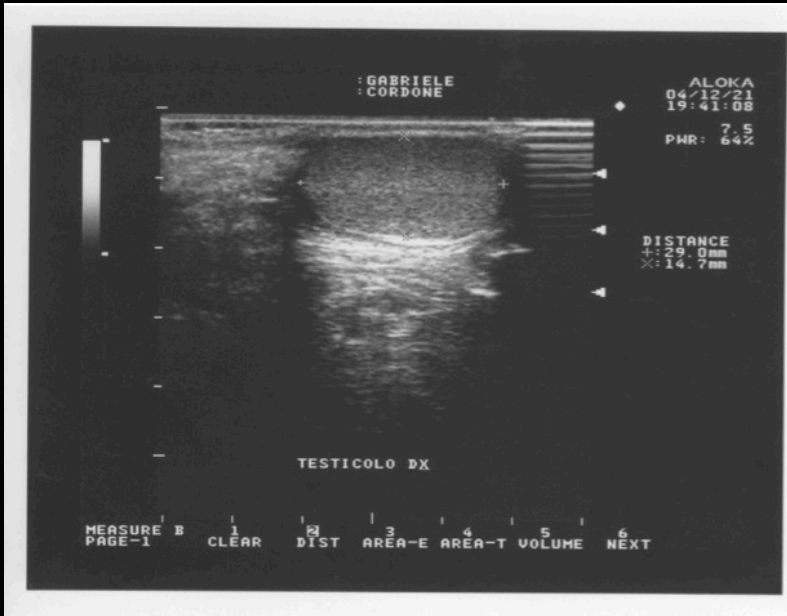
Buona compliance; seguito  
ancora dalla madre!



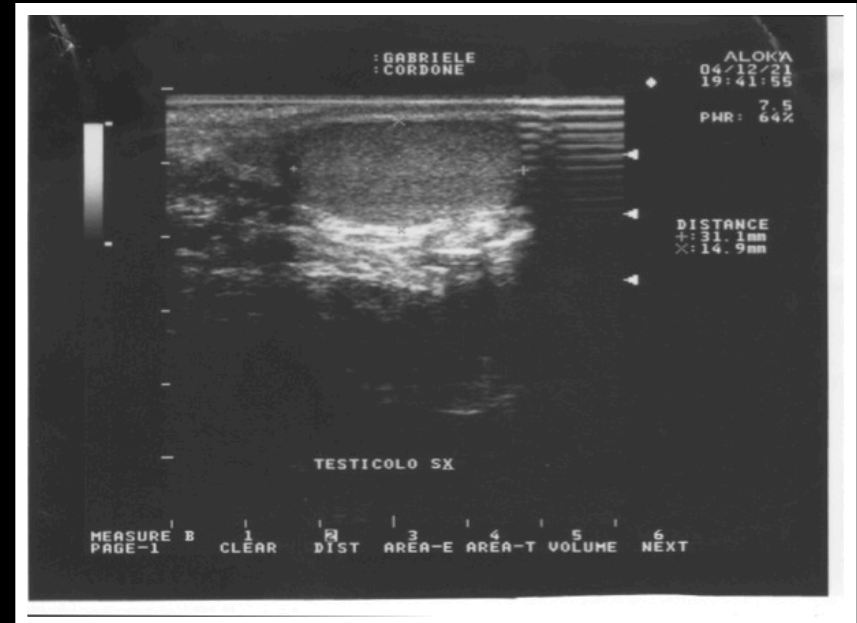
# Eco testicolare 2004



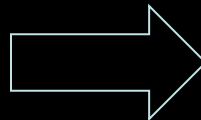
Bari,  
7-10 novembre 2013



Testicolo dx



Testicolo sn



# Storia di Gabriele



## 6° osservazione 16-6-2005

Peso Kg 71 Stadio puberale PH5G5-5I5

H 176,2 Testicoli bilateralmente 20 ml

### Esami eseguiti:

17 OHPg: > 25

Test.tot 289

ACTH 253

PRA 138

Aldosterone: 136

DHEAS 0,9

CLU: 275 (38-208)

Terapia praticata:  
Idrocortisone 30 mg/  
die  
Fluoridrocortisone  
0,05 mg/die

Si aumenta terapia  
fluoridrocortisone 0.1 mg/  
die

Scarsa compliance!!!!





# Storia di Gabriele



Bari,  
7-10 novembre 2013

## 8° osservazione 11-10-2006

Peso Kg 69,5

H 176,2

### Esami eseguiti:

17 OHPg: 24

Test.tot 297

ACTH 54

PRA 24,3

Aldosterone: 53,8

DHEAS 1,8

CLU: 250 (38-208)

Terapia praticata:  
Idrocortisone 30 mg/  
die  
Florinef 0,1 mg $\frac{1}{2}$  cp  
die

Aderenza alla terapia  
mantenuta con difficoltà.



Bari,  
7-10 novembre 2013

**Nel Giugno 2009 (21 anni) sospende arbitrariamente la terapia per un impegno di lavoro stagionale.  
Riprende correttamente i farmaci in settembre.**



# Storia di Gabriele



Bari,  
7-10 novembre 2013

## Esami eseguiti: Luglio 2009

17 OHPg: >25

Test.tot : 1208

ACTH : 951

PRA : 15,4

DHEAS 1,81

CLU: 10,8 (38-208)

Non pratica terapia  
da un mese



Bari,  
7-10 novembre 2013

# Torna a Febbraio 2010



# Storia di Gabriele



Bari,  
7-10 novembre 2013

## Esami eseguiti Febbraio 2010

17 OHPg: 8

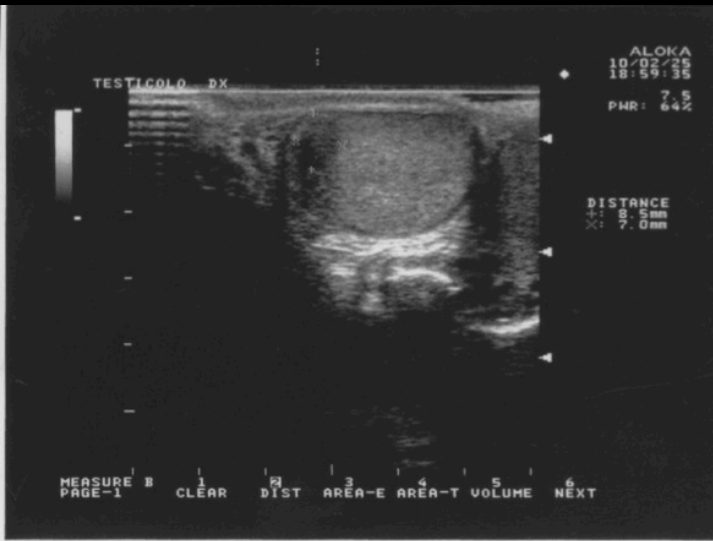
Test.tot : 867

DHEAS: 1,5

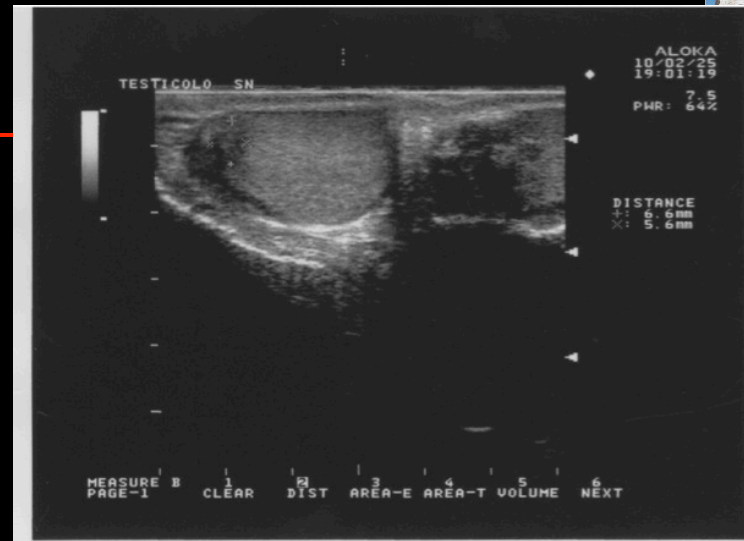
ESEGUE ETG TESTICOLI



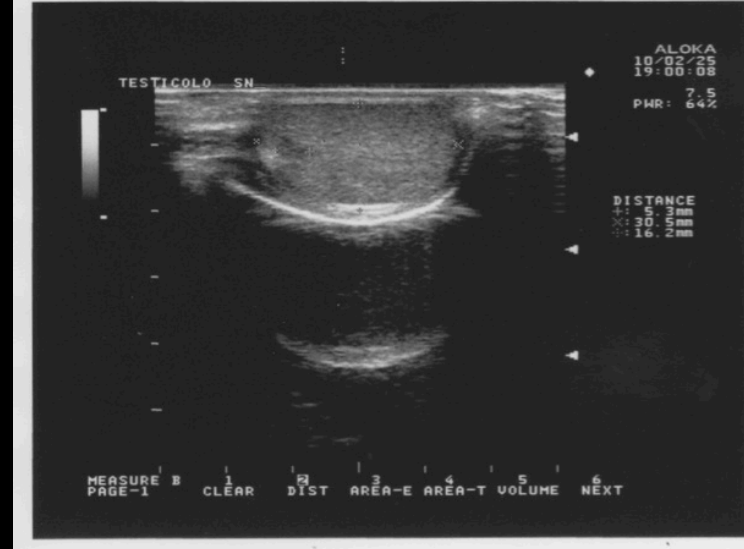
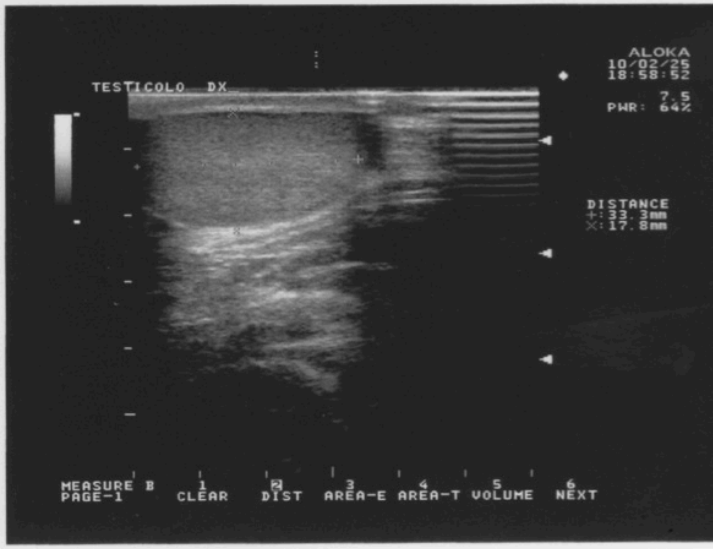
Bari,  
novembre 2013



Testicolo dx



Testicolo sn





# Storia di Gabriele



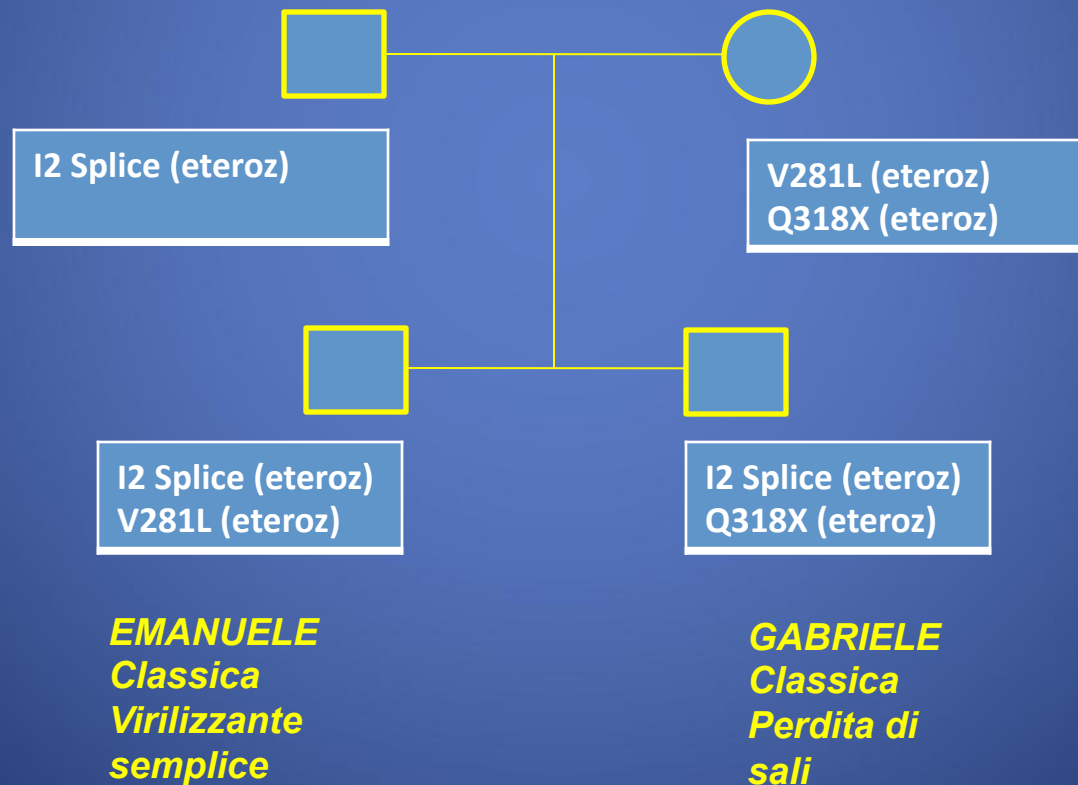
Bari,  
7-10 novembre 2013

Nel 2012 (24anni) si trasferisce a Milano per motivi di lavoro.

Non effettua controlli né segue più regolarmente la terapia consigliata.

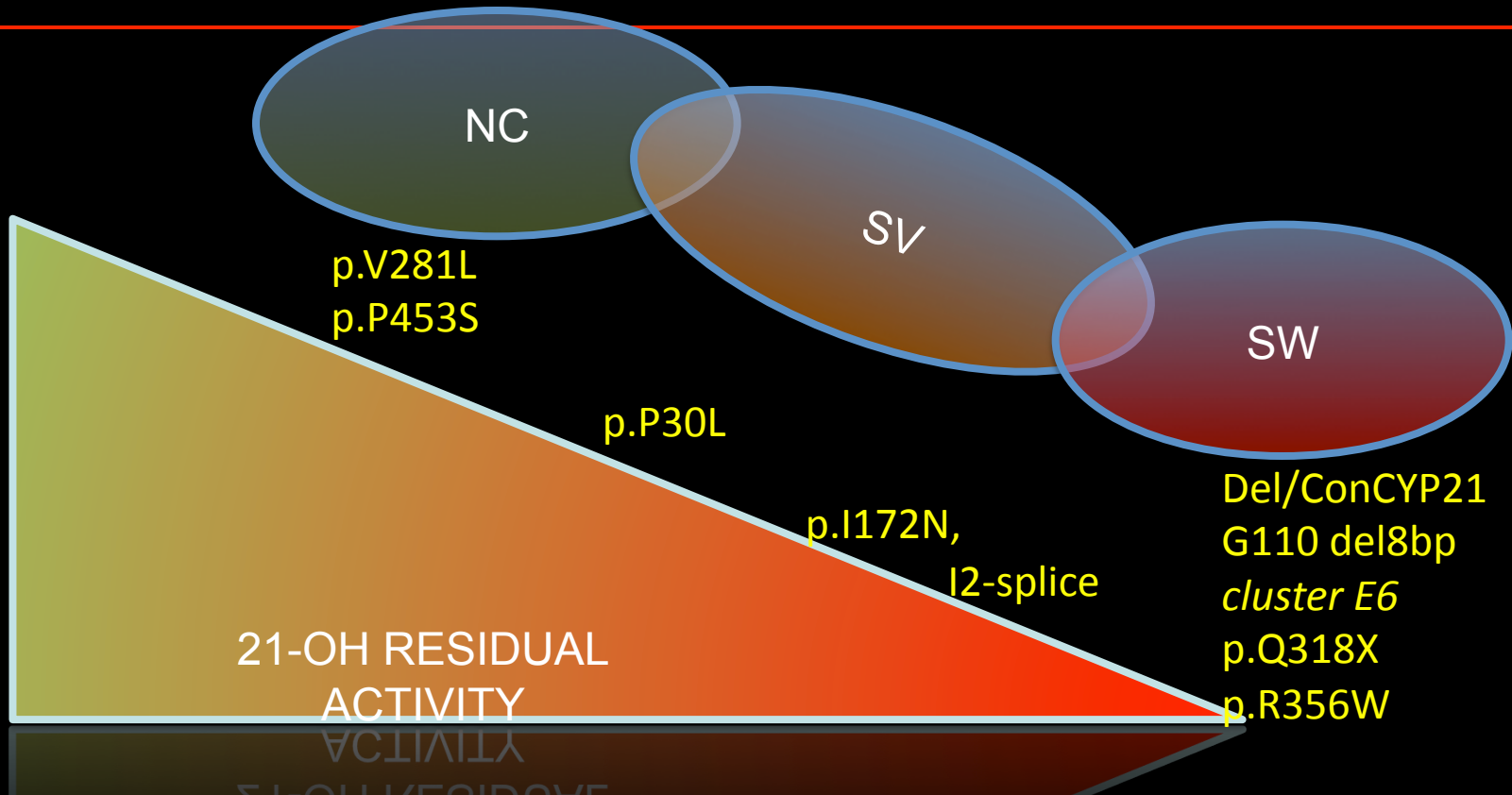
Ad un controllo, nel 2013, rilievo di massa in sede testicolare.....

# Gabriele: genotipo ed albero genealogico





# 10 mutations seem to be enough correlated to a specific phenotype



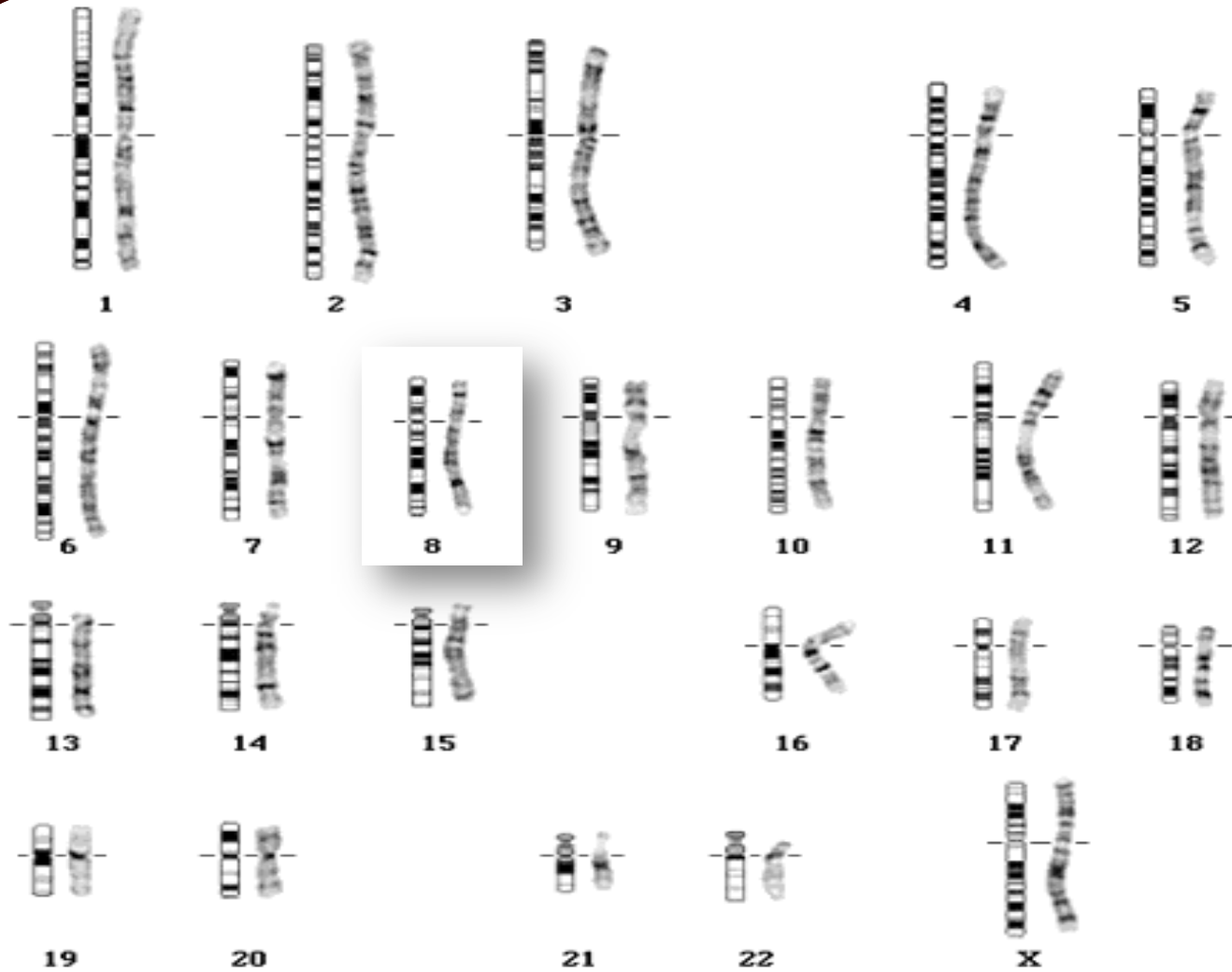
WT	C	B	A	Null
99%	30-50%	20-30%	1-5%	0%

Tabella 1. Tipi di deficienza responsabili della Sindrome AdrenoGenitale				
Deficienza	Gene difettivo	Locus	Enzima	Incidenza
21-OHD	<i>CYP21A2</i>	6p21.3	P450c21	1/27 - 1/10.000
11 $\beta$ -OHD	<i>CYP11B1</i>	8q24.3	P450c11	1/5000 - 1/200.000
Aldosterone Def	<i>CYP11B2</i>	8q24.3	P450aldo	Rara
17 $\alpha$ -OHD	<i>CYP17</i>	10q24.3	P450c17	Rara
3 $\beta$ -HSD	<i>HSD 3B2</i>	1p13.1	3 $\beta$ -HSD	Rara
Lipoid Hyperplasia	<i>STAR</i>	8p11.2		Rara

Tabella 2. Classificazione della SAG da 21OHD in base al genotipo ed al fenotipo clinico.			
Genotipo	Mutazione/i	Attività' della 21OH	Fenotipo clinico
Null	Del/ConCYP21, del8bp, <i>cluster E6</i> , p.Q318X, p.R356W	0 %	Classico con perdita di sali
A	p.P30L, I2splice	1-5 %	
B	p.I172N	20-30%	Classico Virilizzante semplice
C	p.V281L, p.P453S	30-50%	
WT	Nessuna	100%	Normale

Da AME FLASH 2011  
Niceta M. Bono M, Garofalo P

# Genetics of 11 $\beta$ -OHD



10

50

51

55

X

Y

## Genetics of 11 $\beta$ -OHD: *CYP11B1* gene 8q24.3



**Gene ID:** 1584 high homology with *CYP11B2*

- DNA size 6.02 Kb, 9 exons
- mRNA size 2092 bp
- Protein size: 530 aa

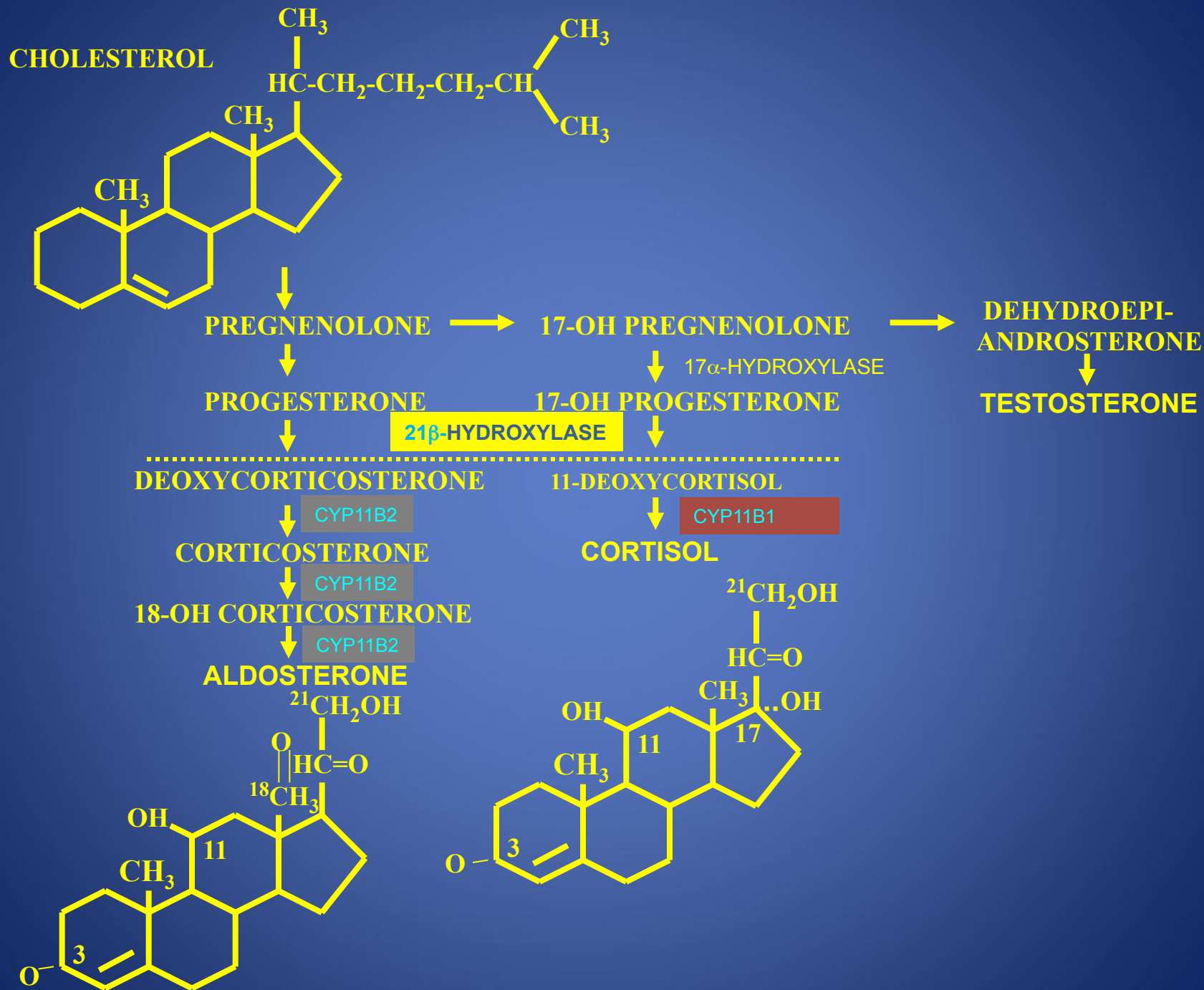
<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/all.php> 2010

67 genetic alterations registered in HGMD

- Missense/Non-sense
- Splice, Ins/Conv, small Ins/Del

### **Common Mutations**

Cluster exons 2, 6, 7, and 8  
p.R448H, p.P94L, p.A368D



<b>MUTAZIONE CYP11B1</b>	<b>Fenotipo clinico descritto</b>	<b>Fenotipo clinico osservato</b>
R43Q / $\longrightarrow$ /A386V eter $\longrightarrow$	Alterati livelli enzimatici 30-50% rispetto alla norma (2006) Iperplasia adrenale? (2002)	Pubarca ed ircarca precoce
R43Q/ $\longrightarrow$ / A386V eter $\longrightarrow$	Alterati livelli enzimatici 30-50% rispetto alla norma (2006) Iperplasia adrenale? (2002)	Pubarca precoce, irsutismo
D82H eteroz	Ridotta attività enzimatica?	Pubarca precoce
A180T eteroz	Polimorfismo?	Pubarca precoce
A180T eteroz	Polimorfismo?	Pubarca precoce
D187N eteroz	Polimorfismo?	Pubarca precoce

<b>MUTAZIONE CYP11B2</b>	<b>Fenotipo clinico descritto</b>	<b>Fenotipo clinico osservato</b>
K173R omoz	Iperensione per bassa Renina (2005)	Irsutismo; PCOS
K173R omoz	Iperensione per bassa Renina (2005)	Pubertà precoce
V386A eteroz	Ipoaldosteronismo iperreninamico congenito(2006)	Irsutismo; oligomenorrea.
V386A eteroz	Iperaldosteronismo iperreninamico congenito(2006)	
V386A eteroz	Iperaldosteronismo iperreninamico congenito(2006)	



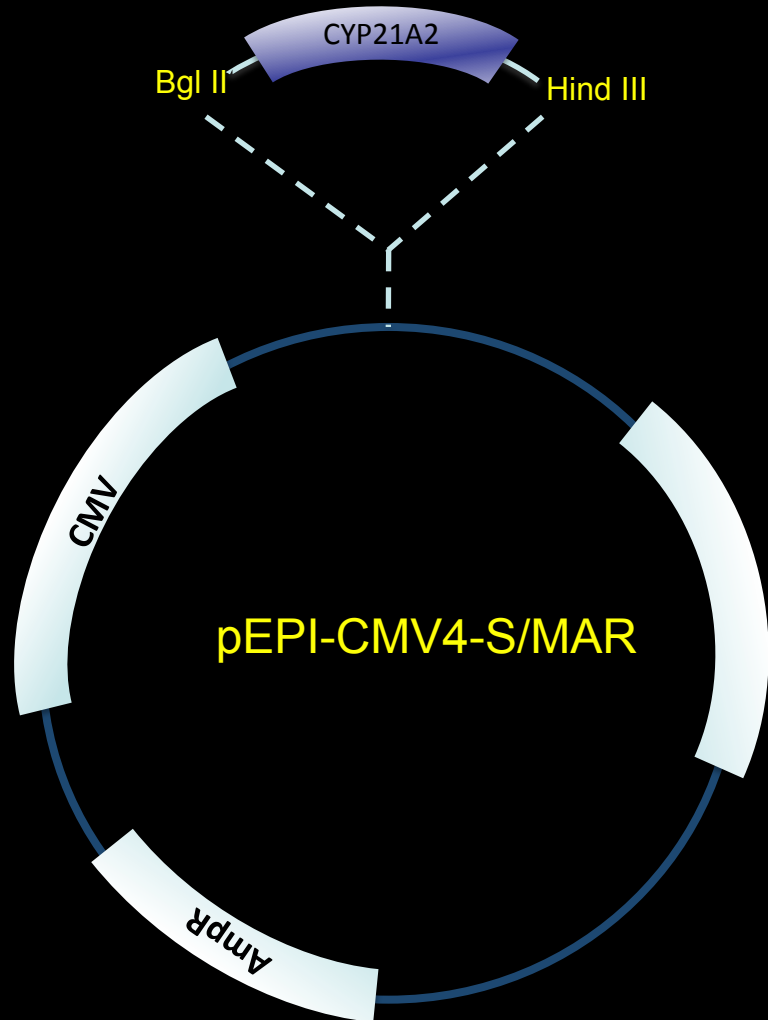
Bari,  
7-10 novembre 2013

# *Functional analysis*

# Genotype vs. Phenotype

## *In vitro* functional analysis

- Cloning CYP21A2 in a plasmid vector
- *In vitro* Site direct mutagenesis
- Sub-cloning *CYP21-mut* into the pEPI-CMV4-CYP21-S/MAR vector
- Transfection in COS-7 expression system (Monkey Kidney fibroblasts derived cell line)
- Immuno-Fluorescence Assay







Bari,  
7-10 novembre 2013

## Ongoing Research in CAH

- **Epidemiology**: Identification of a genotype in a particular geographic area
- **Etiopathology**: functional genomics
  - Genotype-phenotype correlation
  - New genetic variants
- **Novel therapies**: gene therapy



Bari,  
7-10 novembre 2013





Bari,  
7-10 novembre 2013

**Alla Ditta Bristol Meyer Squibb  
via del Murillo  
04010 Sermoneta (LT)  
p.c. Al Ministero della salute  
D.G.F.D.M.  
Via della Sierra Nevada, 60  
00144 ROMA**

Il sottoscritto medico Dr.....

in servizio presso.....

chiede a titolo gratuito

alla ditta BRISTOL MEYER SQUIBB

la fornitura del medicinale: FLORINEF 0,1 mg

nella quantità di.....100 compresse.....

per la cura del paziente (iniziali).....

indirizzo.....

affetto da.....

Tale farmaco verrà impiegato sotto la diretta responsabilità dello scrivente medico curante dopo aver ottenuto, ai sensi del D.M. 1.9.1995, il consenso informato del paziente o, in caso di minori o incapaci, chi esercita la patria potestà.

Data.....



Alla Spett.le Società  
Sanofi-Aventis S.p.A.

Viale Bodio 17/b  
20158 MILANO

p.c. Al Ministero della salute

D.G.F.D.M.

Via della Sierra Nevada, 60  
00144 ROMA



Bari,  
7-10 novembre 2013

Il sottoscritto medico Dr......

in servizio presso.....

chiede a titolo gratuito

alla ditta Sanofi -Aventis S.p.A.

la fornitura del medicinale: Idrocortisone orale 10 mg

nella quantità di.....

per la cura del paziente (iniziali).....

indirizzo.....

affetto da.....

Tale farmaco verrà impiegato sotto la diretta responsabilità dello scrivente medico curante dopo aver ottenuto, ai sensi del D.M. 1.9.1995, il consenso informato del paziente o, in caso di minori o incapaci, chi esercita la patria potestà.

Data.....