

**Università degli Studi di Pisa**  
**Facoltà di Medicina e Chirurgia**  
**Scuola di Specializzazione in Pediatria**  
**Direttore: Prof. Giuseppe Saggese**



**Tesi di Specializzazione in Pediatria:**

**“Disordini dello sviluppo sessuale con cariotipo 46, XY (46,XY DSD).**

*Analisi dello stato gonadico, minerale osseo e valutazione metabolica in persone con diagnosi molecolare di sindrome da insensibilità completa agli androgeni.”*

Relatore: Chir.mo Prof. Giuseppe Saggese

Candidato: Dr.ssa Eleonora Dati

*Anno Accademico 2010/2011*

*Ai miei genitori.*

## **Indice**

**Riassunto**.....pg. 1

### **Introduzione**

*Premessa*.....pg. 4

*Disordini della Differenziazione Sessuale*.....pg. 5

*46,XY DSD*.....pg. 8

*Sindrome da insensibilità completa agli androgeni*.....pg. 11

*SIA: caratteristiche cliniche*.....pg. 14

*SIA: caratteristiche endocrine*.....pg. 15

*SIA: la gonadectomia*.....pg. 17

*SIA: la densità minerale ossea*.....pg. 18

*Gli aspetti psicologici nei 46,XY DSD*.....pg.21

**Scopi della tesi**.....pg.25

### **Pazienti e metodi**

*Pazienti*.....pg.26

*Parametri strumentali e di laboratorio*.....pg.26

*Valutazione psicologica*.....pg.28

*Analisi statistica*.....pg.28

## **Risultati**

<i>La rivalutazione della diagnosi.....</i>	<b>pg.30</b>
<i>Le mutazioni del gene AR.....</i>	<b>pg.32</b>
<i>SIA completa: le modalità di presentazione.....</i>	<b>pg.35</b>
<i>SIA completa: la valutazione auxologica.....</i>	<b>pg.36</b>
<i>SIA completa: la densità minerale ossea.....</i>	<b>pg.38</b>
<i>SIA completa: la composizione corporea.....</i>	<b>pg.46</b>
<i>SIA completa: l'assetto metabolico.....</i>	<b>pg.47</b>
<i>Gli aspetti psicologici.....</i>	<b>pg.50</b>

<b><u>Discussione</u>.....</b>	<b>pg.55</b>
--------------------------------	--------------

<b><u>Conclusioni</u>.....</b>	<b>pg.67</b>
--------------------------------	--------------

<b><u>Appendice</u>.....</b>	<b>pg.70</b>
------------------------------	--------------

<b><u>Bibliografia</u>.....</b>	<b>pg.73</b>
---------------------------------	--------------

## **Riassunto**

**Premessa.** I Disordini della Differenziazione Sessuale (DSD) sono un insieme di condizioni congenite nelle quali lo sviluppo del sesso cromosomico, gonadico o anatomico risulta atipico rispetto agli usuali processi embrionali. La nascita di un bambino con DSD richiede strategie di gestione a lungo termine, coinvolgenti molte figure professionali che devono saper lavorare insieme alla famiglia per risolvere le numerose problematiche specifiche per le varie età.

**Scopo della tesi.** Analizzare un gruppo (n. 54) di persone con 46,XY DSD e verificare la correttezza della diagnosi. Valutare nel sottogruppo con insensibilità completa agli androgeni (la diagnosi più frequente): il motivo di presentazione clinica; la statura finale rispetto al target genetico; lo stato minerale osseo; la funzionalità dell'asse riproduttivo; la composizione corporea e l'assetto metabolico; il fenotipo psicologico; e correlare i risultati ottenuti con: stato gonadico e compliance con la terapia ormonale sostitutiva.

**Risultati.** La diagnosi di insensibilità completa agli androgeni è stata confermata nel 77.8% delle persone, nel restante 22.2% la diagnosi è stata riassegnata nell'ambito dei 46, XY DSD.

In 38 persone con diagnosi molecolare di SIA completa è stato possibile notare che i motivi più frequenti di valutazione clinica risultano essere l'ernia inguinale (42.1%) e l'amenorrea primaria (39.47%).

Le caratteristiche auxologiche delle persone oggetto di questo studio sono sovrapponibili alla popolazione femminile di riferimento. La statura finale in un sottogruppo di donne adulte è risultata significativamente superiore al target genetico calcolato sia per il sesso maschile che per il sesso femminile.

Nel gruppo pediatrico, il BMD è risultato significativamente ridotto alla valutazione DXA a livello lombare e total body e alla valutazione con QUS, mentre è risultato normale a livello del collo del femore.

Nel gruppo delle pazienti adulte il BMD è risultato significativamente ridotto a livello lombare, femorale e total body, mentre è risultata normale alla valutazione con QUS. La valutazione con DXA ha messo in evidenza un BMD significativamente ridotto a tutti i livelli esaminati nelle pazienti gonadectomizzate rispetto a quelle non-gonadectomizzate.

La composizione corporea è risultata normale rispetto alla popolazione di riferimento sia per il gruppo pediatrico che per il gruppo adulte. Nel gruppo adulto è stato possibile riscontrare ipercolesterolemia in 13/21 pazienti (62%), ipertrigliceridemia in 4/21 pazienti (19%) ed elevati valori di HOMA-IR in 5/13 pazienti (38.5%), indipendentemente dal BMI.

Le donne intervistate presentano un livello culturale ed occupazionale maggiore rispetto alla popolazione femminile italiana, ma una minore percentuale di matrimonio ed una maggiore percentuale di pazienti che vivono ancora nelle famiglie di origine. L'orientamento sessuale prevalente in questo gruppo di donne è risultato eterosessuale a conferma della correttezza dell'assegnazione del sesso. Inoltre, in base alla loro esperienza le pazienti suggeriscono una comunicazione della diagnosi effettuata con gradualità, calma, sincerità e chiarezza dall'inizio, per permettere una piena consapevolezza sulle varie opzioni terapeutiche e una scelta consapevole in età adulta.

**Conclusioni.** Le persone con SIA completa tendono a presentare ridotti di BMD, soprattutto a livello lombare, la gonadectomia rappresenta un fattore di rischio per lo sviluppo di osteopenia/osteoporosi ed una buona compliance alla HRT sembra migliorare il BMD. Le donne con gonadi intatte hanno una migliore salute ossea.

Nelle persone adulte con SIA completa sono presenti un alterato profilo lipidico e insulino-resistenza. La gonadectomia e la HRT non sembrano influire la composizione corporea ed il profilo metabolico. L'ipercolesterolemia e l'insulino-resistenza potrebbero essere caratteristiche aggiuntive del fenotipo della SIA completa.

A coloro che sono direttamente coinvolti nella gestione di persone con DSD è richiesta una comunicazione progressivamente sempre più aperta, che rappresenta un importante aspetto della “care” di queste condizioni.

## **Introduzione**

### ***Premessa***

La nascita di un bambino con genitali ambigui (1/4500) oltre a rappresentare un'emergenza medica in alcune situazioni che devono essere affrontate in tempi rapidi, richiede strategie di gestione a lungo termine, coinvolgenti molte figure professionali le quali devono avere la capacità di lavorare insieme alla famiglia per risolvere le problematiche specifiche per le varie età. Considerati i progressi nella diagnosi, nella chirurgia, nella comprensione degli aspetti psicosociali e nel riconoscimento del ruolo attivo del paziente e/o della sua famiglia in questo ambito, le società scientifiche di endocrinologia pediatrica americana (Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society) ed europea (European Society of Pediatric Endocrinology) hanno realizzato una Consensus Conference a Chicago nel 2006 (1) con lo scopo di effettuare una revisione di nomenclatura, definizioni, classificazioni e gestione delle varie forme di ambiguità dei genitali e di tutte le condizioni di disordini della differenziazione sessuale, che fino ad allora era molto eterogenea, poco conforme ai progressi scientifici degli ultimi 20 anni ed inadeguata alla descrizione clinica delle varie patologie, oltre che penalizzante e socialmente inaccettabile per le persone affette.

### ***Disordini della Differenziazione Sessuale***

Secondo quanto convenuto nella Consensus LWEPS/ESPE, tutte le condizioni congenite nelle quali lo sviluppo del sesso cromosomico, gonadico o anatomico risulta atipico rispetto agli usuali processi embrionali devono essere raggruppate sotto il termine di *Disordini della Differenziazione Sessuale* (DSD) (1).

In effetti, tutte queste condizioni derivano da un'alterazione del normale sviluppo delle gonadi e dei genitali nel feto che si svolge in tre fasi. In sintesi, durante un primo *stadio indifferenziato* strutture primitive si sviluppano in maniera identica in embrioni XX oppure XY indipendentemente dall'assetto cromosomico e dalla produzione ed azione ormonale (determinazione sessuale). La seconda fase consiste nella *determinazione della gonade* primitiva in testicoli o ovaie ad opera di specifici geni. Nella terza fase, *differenziazione sessuale*, la produzione degli ormoni delle gonadi fetali, soprattutto quella dei testicoli, permette la differenziazione in senso maschile o femminile dei genitali interni ed esterni (Figura 1) (2).

I DSD rappresentano dunque un'ampia serie di condizioni, che possono essere diversamente inquadrare, considerando che ogni nuova scoperta in ambito genetico-molecolare determina un aggiornamento della classificazione stessa (3). Nella figura 2 è riportata la classificazione nelle tre principali categorie di DSD rispetto al cariotipo elaborata durante la Consensus di Chicago (1).

In questa tesi, saranno presi in esame alcuni aspetti solo per quanto riguarda i 46,XY DSD.

Figura 1. Sviluppo sessuale nel maschio. Percorso dalla gonade primordiale alla determinazione e differenziazione sessuale.

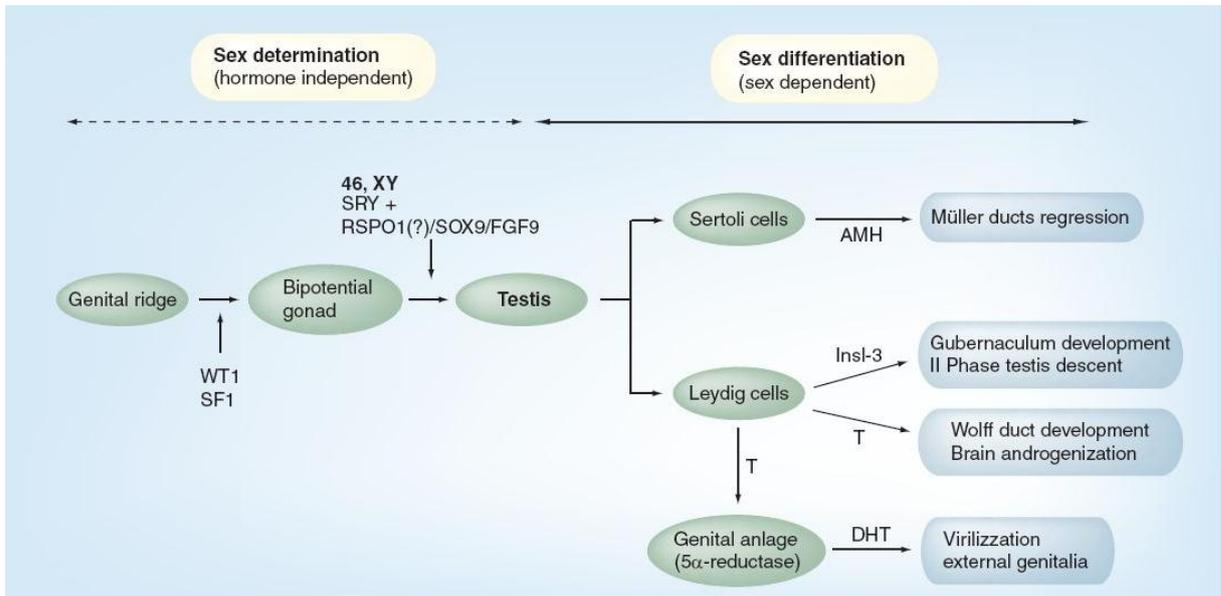


Figura 2. Classificazione DSD in base alla Consensus di Chicago (LWPES/ESPE) (1, 3).

Sex chromosome DSD	46,XY DSD	46,XX DSD
A: 47,XXY (Klinefelter syndrome and variants)	A: Disorders of gonadal (testicular) development	A: Disorders of gonadal (ovarian) development
B: 45,X (Turner syndrome and variants)	1. Complete or partial gonadal dysgenesis (e.g. SRY, SOX9, SFI, WTI, DHH etc)	1. Gonadal dysgenesis
C: 45,X/46,XY (mixed gonadal dysgenesis)	2. Ovotesticular DSD	2. Ovotesticular DSD
D: 46,XX/46,XY (chimerism)	3. Testis regression	3. Testicular DSD (e.g. SRY+, dup SOX9, RSP01)
	B: Disorders in androgen synthesis or action	B: Androgen excess
	1. Disorders of androgen synthesis	1. Fetal
	LH receptor mutations	3β-hydroxysteroid dehydrogenase 2 HSD3B2
	Smith—Lemli—Opitz syndrome	21-hydroxylase ( <i>CYP21A2</i> )
	Steroidogenic acute regulatory protein mutations	P450 oxidoreductase ( <i>POR</i> )
	Cholesterol side-chain cleavage( <i>CYP11A1</i> )	11β-hydroxylase ( <i>CYP11B1</i> )
	3β-hydroxysteroid dehydrogenase 2 ( <i>HSD3B2</i> )	Glucocorticoid receptor mutations
	17α-hydroxylase/17,20-lyase ( <i>CYP17</i> )	2. Fetoplacental
	P450 oxidoreductase ( <i>POR</i> )	Aromatase ( <i>CYP19</i> ) deficiency
	17β-hydroxysteroid dehydrogenase( <i>HSD17B3</i> )	Oxidoreductase ( <i>POR</i> ) deficiency
	5α-reductase 2 ( <i>SRD5A2</i> )	3. Maternal
	2. Disorders of androgen action	Maternal virilizing tumours (e.g. luteomas)
	Androgen Insensitivity Syndrome	Androgenic drugs
	Drugs and environmental modulators	
	C: Other	C: Other
	1. Syndromic associations of male genital development (e.g. cloacal anomalies, Robinow, Aarskog, Hand-Foot-Genital, popliteal pterygium)	1. Syndromic associations (e.g. cloacal anomalies)
	2. Persistent Müllerian duct syndrome	2. Müllerian agenesis/hypoplasia e.g. MURCS)
	3. Vanishing testis syndrome	3. Uterine abnormalities (e.g. MODY5)
	4. Isolated hypospadias ( <i>CXorf6</i> )	4. Vaginal atresis (e.g. KcKusick—Kaufman)
	5. Congenital hypogonadotropic hypogonadism	5. Labial adhesions
	6. Cryptorchidism ( <i>INSL3</i> , <i>GREAT</i> )	
	7. Environmental influences	

## 46,XY DSD

Nell'embrione umano intorno alla quarta settimana dopo la fecondazione a partire da un ispessimento del mesonefrio coperto da epitelio celomatico si sviluppa la cresta urogenitale che da poi origine al sistema urinario e genitale. In questa fase la gonade indifferenziata risulta bipotente e può svilupparsi sia in ovaio sia in testicolo (2).

Nel caso di un embrione XY, durante la settima settimana di vita intrauterina, la gonade si differenzia in testicolo grazie all'azione di un complesso pattern genetico tra cui un ruolo chiave è giocato da un gene denominato SRY (*Sex determining gene of Y chromosome*). SRY è localizzato sul braccio corto del cromosoma Y e rappresenta il principale "interruttore" della determinazione testicolare. Altri geni autosomici partecipano a questo processo di determinazione, tra i quali WT1, SOX9 e SF1 che potenziano l'azione di SRY, mentre una "over-espressione" di WNT4 e DAX1 ne inibisce l'azione (4).

I testicoli sono formati da cellule di Sertoli e cellule germinali, circondate da una membrana basale e cellule peritubulari. Le cellule di Sertoli producono l'ormone antimulleriano (AMH) e l'inibina B. Nel tessuto interstiziale si differenziano poi le cellule di Leydig che secernono ormoni androgeni ed INSL3 (*Insulin Like Factor 3*) (2).

L'AMH è un ormone glicoproteico responsabile della regressione dei dotti di Muller che nella femmina danno origine a utero, tube di Falloppio e terzo superiore della vagina. L'AMH è secreto in elevati livelli dal periodo della determinazione testicolare alla pubertà e in bassi livelli successivamente. Nella vita fetale l'espressione di AMH è attivata da SOX9 e potenziata da SF1 e WT1 indipendentemente dal controllo delle gonadotropine. Solo successivamente FSH stimolerà la produzione di AMH, la cui sintesi sarà inibita alla pubertà dagli ormoni androgeni (5).

Il testosterone è sintetizzato dalle cellule di Leydig a partire da una molecola di colesterolo attraverso l'azione coordinata dei vari enzimi della steroidogenesi

gonadica (Figura 3), molti dei quali sono regolati da SF1. Durante il primo trimestre di gravidanza, il testosterone è responsabile direttamente della differenziazione dei dotti di Wolff in epididimo, vasi deferenti e vescichette seminali. Questo processo richiede alte concentrazioni di testosterone, in assenza delle quali i dotti di Wolff vanno incontro ad involuzione. Il testosterone agisce poi probabilmente sul sistema nervoso centrale determinandone un imprinting in senso maschile (2, 6).

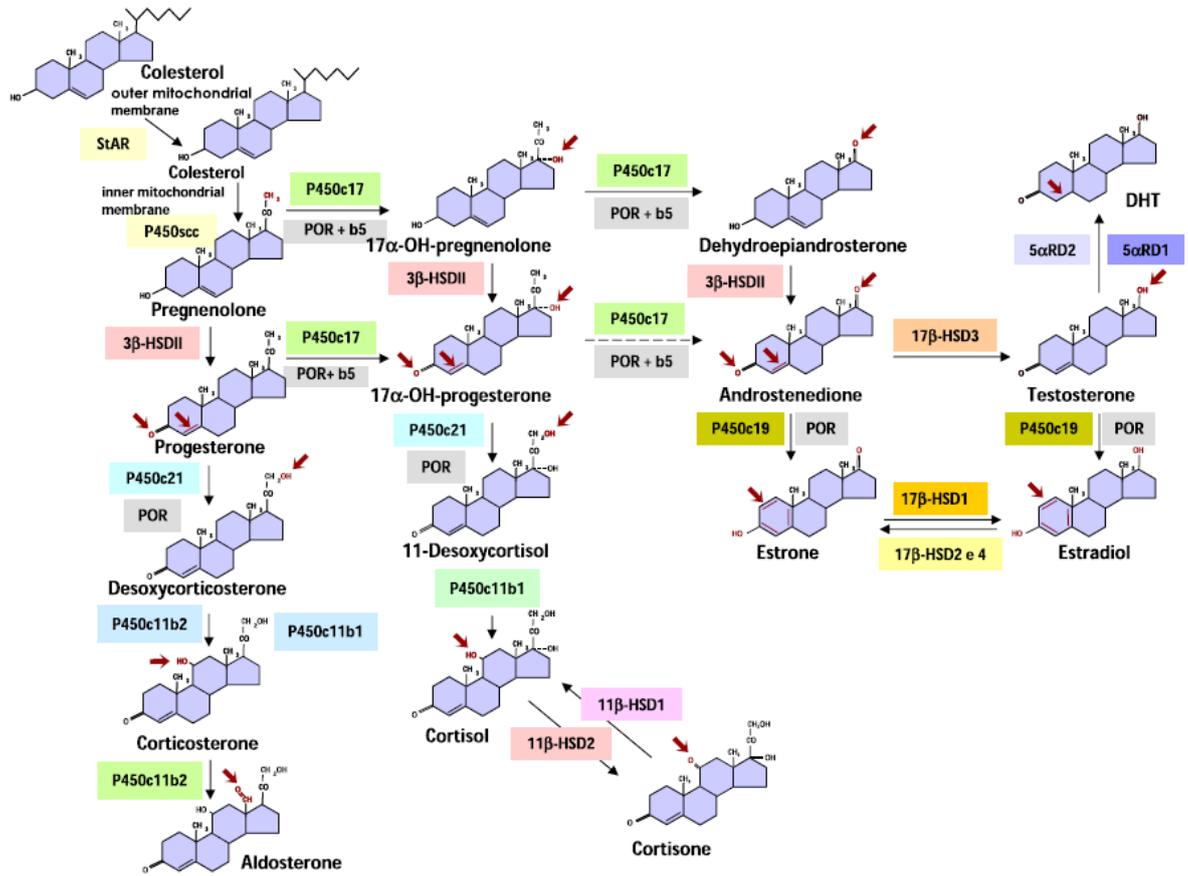
A livello di alcuni tessuti bersaglio il testosterone è convertito dall'enzima 5-alfa-reduttasi in diidrotestosterone (DHT), metabolita che possiede una più alta affinità per il recettore degli androgeni (AR) rispetto al testosterone. Il DHT rappresenta il principale responsabile della virilizzazione del seno urogenitale e dei genitali esterni che si verifica tra la decima e la quattordicesima settimana di gestazione (7).

INSL3 è un peptide prodotto dalle cellule di Leydig e regolato da hCG ed LH, dopo il suo legame ad uno specifico recettore sembra partecipare con gli ormoni androgeni alla discesa dei testicoli ed allo sviluppo del gubernaculum testis.

È stato ipotizzato che nella vita postnatale INSL3 possa avere un ruolo nello sviluppo e nel mantenimento della massa ossea (2).

Una qualsiasi variazione in uno degli eventi qui sopra sintetizzati, sia per un deficit di produzione ormonale che per una resistenza all'azione di uno specifico ormone, può causare un 46,XY DSD, risultandone una delle numerose forme riportate in figura 2.

Figura 3. Steroidogenesi surrenale e testicolare (8).



## **Sindrome da insensibilità completa agli androgeni**

La sindrome da insensibilità agli androgeni (SIA) rappresenta uno dei più frequenti e dei più tipici 46,XY DSD (2, 3). Nel registro elaborato dal Consorzio EuroDSD circa il 25% degli oltre mille casi riportati sono rappresentati dalla SIA (9). Descrizioni aneddotiche di questa sindrome si trovano fin dal Talmud ed è stato supposto che ne fossero affette donne famose come Giovanna D'Arco e la Regina Elisabetta I d'Inghilterra (10). Si tratta quindi di una situazione non nuova, ma che ha conosciuto una migliore definizione clinica, endocrina e genetica solo a partire dagli anni '50 del secolo scorso (10, 11).

La SIA è una condizione genetica, X-linked (OMIM #300068), ad espressione nel solo sesso maschile, dovuta ad anomalie nel gene di AR, che mappa nel locus Xq11-12 e funziona quindi in emizigosi nel maschio (10). A causa di tali anomalie si ha la sintesi di un recettore anomalo per cui gli ormoni androgeni non possono esplicare la loro azione a livello dei tessuti bersaglio sia durante la vita intrauterina che in quella postnatale (10, 11), derivandone un deficit totale (*SIA completa*) o parziale (*SIA incompleta o parziale*) dei caratteri sessuali maschili primitivi e secondari.

AR è codificato dal gene per il recettore degli androgeni (circa 90 kb), di cui la regione codificante consiste di circa 2750 nucleotidi organizzata in 8 esoni (A-H o 1-8) e 7 introni; tale gene determina la sintesi di una proteina di 919 residui amminoacidici (peso molecolare circa 110 kD). AR è un recettore citosolico ubiquitario composto da 4 regioni principali: la regione NH<sub>2</sub>-terminale, codificata dall'esone A, rappresenta il "domain" di transattivazione, la regione centrale, codificata dagli esoni B e C, rappresenta il "DNA-binding domain" e permette il legame del complesso ormone-recettore con il DNA; una regione "cerniera" (hinge domain) connette il DNA binding domain con la successiva regione COOH-terminale, codificata dagli esoni D - H, deputata a legare l'androgeno ("hormone binding domain") (10, 11). La regione N-terminale presenta due sequenze omopolimeriche di lunghezza variabile [CAG, n = 21

(range 11 – 31); GGN, n = 23 (range 10 – 25)], che intervengono nel modulare l'attività del recettore. La regione del “DNA-binding domain” contiene un elevato numero di residui di cisteina che attraverso ponti disolfuro legano 2 atomi di zinco determinando una struttura terziaria denominata "zinc-finger" particolarmente adatta al legame con il DNA. Tale struttura è altamente conservata durante la filogenesi ed è comune anche ai recettori degli altri ormoni steroidei, degli ormoni tiroidei e della vitamina A (10, 11). Questo singolo recettore lega tutti gli androgeni, sebbene con differente affinità. In condizioni basali, il AR si trova localizzato nel citoplasma complessato con le “heat shock protein”. Dopo il legame con gli androgeni, si ha la dissociazione del recettore da queste proteine, la dimerizzazione e la traslocazione nel nucleo dove il complesso androgeno-AR interagisce con specifiche sequenze di DNA (androgen responsive element) anche mediante l'interazione con proteine co-regolatorie specifiche (es. ARA24, ARA54, ARA55, ARA70) e aspecifiche (es. SRC, CBP/p300) (Figura 4) (10).

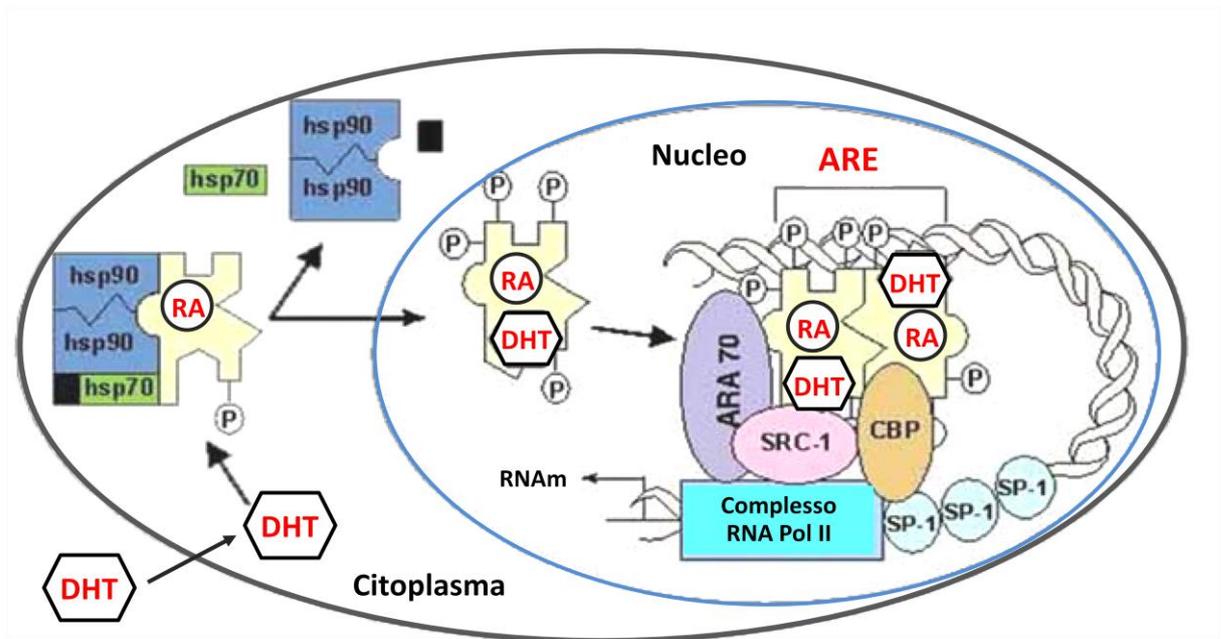


Figura 4. Schematizzazione del processo di interazione tra AR e suo ligando: l'androgeno (DHT) diffonde nel citoplasma e si lega al recettore (AR), precedentemente inattivo e complessato con le "heat shock protein" (hsp). Il complesso AR/DHT migra poi nel nucleo dimerizza e si lega a specifiche sequenze di DNA (ARE = *androgen responsive element*). Il processo di trascrizione viene modulato da proteine di co-regolazione nucleare specifiche (ARA, SRC-1) e aspecifiche (CBP) (da 10, 12; mod.).

### ***SIA: caratteristiche cliniche.***

La SIA completa, descritta per la prima volta da Morris nel 1953 (12) (prevalenza stimata 1: 20,000 - 1: 99,000 nati/anno con cariotipo 46,XY) rappresenta il quadro estremo di mancata androgenizzazione per alterazione del gene AR (10, 11).

Il fenotipo è quello di una donna normale sia prima che dopo la pubertà, ma con vagina a fondo cieco di lunghezza variabile. I genitali interni sono invece assenti; infatti, la normale azione dell'AMH durante la vita intrauterina determina la regressione delle strutture mulleriane (utero, annessi femminili), mentre, per la resistenza al testosterone, non si differenziano le strutture wolffiane (*sindrome della pelvi vuota*) (10, 13). I testicoli sono localizzati nell'addome, nel canale inguinale o nelle grandi labbra e possono determinare l'insorgenza di un'ernia inguinale, che si ritiene rappresentare il segno clinico principale di esordio in una bambina prepubere essendo presente in circa il 60-80% dei casi; si ritiene inoltre che l'1 - 2 % di neonate con ernia inguinale risulti affetto da SIA completa (1, 13).

Alla pubertà, queste adolescenti sviluppano un habitus femminile normale con seno adeguatamente sviluppato per lo stadio puberale e con distribuzione del grasso corporeo di tipo femminile, ma con scarso accrescimento dei peli pubici ed ascellari (10, 13). La vagina, sebbene di lunghezza ridotta, risulta usualmente adeguata per i rapporti sessuali senza la necessità di interventi chirurgici e/o dilatativi (11, 13); il clitoride è di dimensioni normali o lievemente ridotte (10). Il menarca è assente ed è questo il motivo principale di consultazione medica in epoca puberale.

Oggi ai motivi di consultazione medica si aggiunge la diagnosi prenatale, in particolare la discordanza tra fenotipo femminile alla nascita e cariotipo maschile in diagnosi prenatale (14).

Dal punto di vista auxologico, lo spurt di crescita puberale è simile a quello femminile per intensità (picco di velocità di crescita 7.4 cm/anno) e per

cronologia (età media al momento del picco 12.7 anni) (15, 16). La statura finale si colloca in posizione intermedia tra quella dei maschi e quella delle femmine senza differenze significative tra le donne in cui l'induzione della pubertà viene effettuata farmacologicamente per una gonadectomia prepuberale (vedi dopo) e quelle con sviluppo puberale spontaneo. Il ciclo mestruale e la possibilità di fertilità sono ovviamente assenti. L'orientamento psicologico è femminile e la vita di coppia soddisfacente (12).

***SIA: caratteristiche endocrine.***

Nei primi mesi di vita, i pochi dati a disposizione suggeriscono l'assenza del picco post-natale di LH e testosterone nelle bambine con SIA completa, mentre nei lattanti con SIA parziale i livelli basali di LH e di testosterone sono normali o aumentati (10, 17). Il DHT può essere normale o ridotto (10).

Nel periodo prepuberale, i dati endocrinologici sono usualmente non informativi in condizioni basali, per cui è necessario effettuare un test hCG per la diagnostica differenziale con gli altri disordini della differenziazione sessuale, che più frequentemente si possono presentare con quadro clinico e cromosomico simile a quello della SIA (18). Un adeguato incremento del testosterone durante il test permette inoltre di confermare la presenza delle gonadi, quando queste risultano non-palpabili. La stessa informazione può essere oggi ottenuta con il dosaggio dell'AMH o dell'Inibina B (18), i cui valori risultano ben dosabili in condizioni basali anche nel periodo prepuberale (11).

Dalla pubertà in poi a causa della resistenza periferica agli androgeni e della sovrastimolazione esercitata sulle gonadi dalle maggiori concentrazioni di LH conseguenti al mancato feed-back inibitorio per l'insensibilità a livello ipotalamico, classicamente sono riportati valori normali o aumentati di testosterone, rispetto al range di normalità maschile per età e stadio puberale (10, 11, 19) (Tabella 1).

Risulta aumentato anche l'indice di sensibilità agli androgeni [testosterone (ng/ml) x LH (UI/L): v.n. < 40.000] (19). I livelli di FSH sono nella norma o di poco aumentati (10, 19). Si ritrovano inoltre maggiori livelli circolanti di estrogeni in parte dovuti ad una maggiore secrezione testicolare indotta dagli aumentati livelli di LH (Tabella 1) ed in parte causati da un'aumentata aromatizzazione a livello periferico del testosterone (10, 13, 19). La femminilizzazione del fenotipo dipende sia dagli aumentati livelli estrogenici sia dal fatto che la loro azione periferica non viene contrastata, in tutto o in parte, dagli steroidi sessuali maschili (10).

Merita di essere ricordato che gli estrogeni, anche se aumentati, presentano concentrazioni inferiori a quelle di una donna adulta, per cui queste persone potrebbero avere un deficit estrogenico relativo anche in assenza di gonadectomia. Data la resistenza agli androgeni, i livelli di SHBG sono simili a quelli rilevati nelle femmine e tale rilievo può essere utilizzato a scopo diagnostico in fase prepuberale con l'esecuzione di appositi test di sensibilità (20, 21).

Tabella 1. Steroidi sessuali gonadici nelle donne con SIA completa e gonadi intatte (28).

	São Paulo (n = 8)	Barcelona (n = 11)	Lübeck/Pisa (n = 36)	Adult reference values	
Age, years	16.5 (14-34)	20.0 (13.5 – 40)	17.0 (14.0 – 40)	females	males
Estradiol, pg/ml	30 (22-40)	33 (20-73)	33 (17 – 70)	80 (10-400)	30 (10-50)
Testosterone, ng/dl	341 (186-1033)	590 (144-1350)	640 (180-1500)	38 (20-85)	350 (200-1000)

### ***SIA: la gonadectomia.***

La più temuta complicanza medica della SIA completa, cioè la degenerazione maligna dei testicoli, ha determinato in passato il ricorso alla gonadectomia precoce effettuata anche allo scopo di non dover rivelare il motivo dell'intervento in età adolescenziale/adulta (10). Nella SIA parziale, l'intervento di rimozione delle gonadi ha inoltre lo scopo di prevenire un'eventuale virilizzazione del fenotipo nelle minori allevate come femmine (23, 24).

Per quanto riguarda il rischio neoplastico si ritiene che questo sia relativamente basso nella SIA completa soprattutto prima del raggiungimento della maggiore età e probabilmente inferiore al 1% (23, 24). Quindi, sebbene sia adeguato un accurato follow-up ecografico delle gonadi, alcuni autori suggeriscono oggi il mantenimento delle stesse o la gonadectomia, se necessaria, solo dopo il completamento dello sviluppo puberale, tenendo conto dei vantaggi di ordine psicologico e pratico di una pubertà spontanea e del basso rischio neoplastico nelle prime decadi di vita (21, 23).

Una recente revisione della letteratura, ha invece riportato un rischio neoplastico nella donna adulta tra l'1 e il 22%, ribadendo l'importanza della gonadectomia profilattica (25). Si deve però sottolineare che tali dati derivano principalmente da studi abbastanza datati, nei quali la diagnosi era basata principalmente sui dati clinici e sul cariotipo, potendo essere incluse pazienti affette da 46, XY DSD ma non da SIA completa.

La condizione di ipogonadismo ipergonadotropo, che insorge necessariamente dopo l'asportazione chirurgica delle gonadi, richiede ovviamente un'adeguata terapia ormonale sostitutiva (HRT) dall'adolescenza in poi (26, 27, 28). Nelle ragazze operate prima della pubertà la HRT ha lo scopo di assicurare lo sviluppo dei caratteri sessuali secondari, il normale spurt puberale di crescita, il raggiungimento delle proporzioni corporee normali e del picco di massa ossea, un'adeguata distribuzione del grasso corporeo e delle masse muscolari, la maturazione psicosessuale e psicosociale, normali relazioni sociali e sessuali ed

uno stato complessivo di buona salute (26, 27, 28). L'HRT è fondamentale anche nelle donne che si sottopongono alla gonadectomia durante o dopo l'adolescenza per completare e/o mantenere le caratteristiche del fenotipo femminile e per prevenire la perdita di massa ossea (26, 27, 28).

***SIA: la densità minerale ossea.***

Gli steroidi sessuali regolano l'accrescimento scheletrico sia nell'uomo che nella donna (29). In entrambi i sessi, gli androgeni e gli estrogeni esercitano le loro specifiche azioni sulla crescita ossea e sul BMD principalmente tramite l'attivazione di specifici recettori (30, 31, 32). Sia i recettori  $\alpha$  e  $\beta$  degli estrogeni sia AR sono infatti espressi nell'uomo, così come nel ratto, a livello di osteoclasti, osteoblasti, osteociti e condrociti (33). Quindi il fenotipo scheletrico e la salute ossea di ambedue i sessi sono dovute ad una adeguata produzione di steroidi sessuali ed ad una risposta ottimale alla loro azione a livello periferico (31).

La salute ossea rappresenta un rilevante problema per tutte le persone con 46,XY DSD, soprattutto in quelle sottoposte ad asportazione delle gonadi o con insufficiente produzione di steroidi sessuali (26, 27). In letteratura sono presenti solo pochi dati sullo studio del fenotipo osseo in questi disordini e sulle conseguenze della gonadectomia (27, 32). La maggior parte dei pochi dati disponibili mostra comunque che ridotti livelli di BMD si ritrovano in particolare nella SIA completa (Tabella 2). Inoltre il BMD risulta ridotto sia per i valori di riferimento del sesso femminile (sesso fenotipico) sia per quelli maschili (sesso cromosomico/gonadico) (32).

Usualmente, il BMD a livello lombare è risultato maggiormente compromesso rispetto al BMD a livello del collo del femore (Tabella 2), suggerendo un ruolo specifico degli androgeni sull'osso trabecolare (34).

Si hanno però diverse limitazioni nei risultati presenti in letteratura che riguardano spesso singole pazienti o piccoli campioni analizzati anche con

diverse metodiche densitometriche difficilmente comparabili tra loro. Inoltre, i valori di BMD sono a volte raccolti in gruppi eterogenei di pazienti per presenza/assenza delle gonadi, per tipologia e durata della terapia sostitutiva. La diagnosi di SIA è stata a volte basata solamente sulla clinica e sul cariotipo, risultandone così la possibilità, come nel caso del rischio neoplastico, di includere pazienti con altri tipi di 46,XY DSD, i quali se sottoposti ad adeguata terapia ormonale sostitutiva meno facilmente presentano alterazioni della densità ossea (32, 34) (Tabella 2).

Nella SIA completa il deficit di BMD sembra essere maggiore nelle donne sottoposte a gonadectomia anche se successivamente trattate con HRT. Ciò potrebbe essere dovuto sia alla mancata azione degli androgeni sul tessuto osseo conseguenti alla completa resistenza a questi ormoni, sia alla perdita con l'asportazione delle gonadi di altri ormoni prodotti dal testicolo come INSL3, che potrebbero svolgere un ruolo nel mantenimento della massa ossea nella vita extrauterina (2, 31, 34). Mancano tuttavia ancora dati adeguati nelle persone con SIA completa che non si sono sottoposte a gonadectomia.

Tabella 2. BMD in persone con 46,XY DSD (32).

Author	DSD form	n	Age (range, years)		Genetic analysis	ERT-status	BMD values			Fractures
			at GR	at BA			lumbar	femoral	r.v.	
Soule et al. [1995]	CAIS	6	1–29	13–38	no	v.c. <sup>a</sup>	↓↓	↓↓	F	1*/6
Muñoz-Torres et al. [1995]	CAIS	1	17	17	no	b.g.	↓↓	↓↓	F	–
Vered et al. [1997]	CAIS	1	32	39	no	no	↓↓	↓↓	F	–
Mizunuma et al. [1998]	CAIS	2	19/28	19/28	no	b.g.	LN/↓↓	N/LN	F	–
Bertelloni et al. [1998]	CAIS	10	1–18 <sup>c</sup>	4–20	yes	b.g./v.c.	↓↓ <sup>b</sup>	ND	F/M	0/10
Marcus et al. [2000]	CAIS <sup>d</sup>	22	1–31	11–65	no	v.c.	↓ <sup>e</sup>	N <sup>e</sup>	F	6**/22
	PAIS (Fs) <sup>d</sup>	6	1–23	25–49	no	v.c.	N	N	F	0/6
Costa et al. [2001]	5α-RD (Ms)	4	NP	25–40	yes	–	N	N	M	–
Tian et al. [2005]	CAIS	14	NP (10/14) AG (7/14)	– –	? ?	? ?	↓↓ (6/10) ↓↓	↓↓ (5/10) ↓↓	F/M F/M	– –
Sobel et al. [2006]	CAIS	12	13–42 <sup>f</sup>	17–62	yes/no	b.g./v.c.	↓↓ <sup>d</sup>	↓ <sup>d</sup>	F/M	–
	PAIS (Ms)	2	NP	26/42	no	–	N <sup>d</sup>	N <sup>d</sup>	M	–
	5α-RD	16	NP	15–42	yes/no	–	N <sup>d</sup>	N <sup>d</sup>	M	–
Danilovic et al. [2006]	CAIS	5	11–27 <sup>f</sup>	20–25	yes	good/fair	↓ <sup>b</sup>	N <sup>b</sup>	F/M	0/5
	PAIS (Fs)	3	14–20	24–32	yes	good/fair	↓ <sup>b</sup>	N <sup>b</sup>	F/M	0/3
	PAIS (Ms)	3	NP	14–24	yes	–	N <sup>d</sup>	N	F/M	0/3
Han et al. [2008]	CAIS	46	15.9 <sup>g</sup>	32.2 <sup>e</sup>	yes/no	good	↓↓	↓	F	–
	46,XYGD	18	20.3 <sup>g</sup>	29.3	no	good	↓↓	↓	F	–
Taes et al. [2009]	CAIS	1	15	31	yes	no	↓↓ <sup>h</sup>	↓	F	1 <sup>†</sup> /1

GR = Gonad removal; BA = bone analysis; r.v. = reference values used to evaluate BMD status; v.c. = variable compliance with ERT; b.g. = before gonadectomy; F = female sex; M = male sex; Fs = assigned female sex of rearing; Ms = assigned male sex of rearing; 5α-RD = 5α-reductase-2 deficiency; NP = not performed; AG = after gonadectomy; ↓↓ = very low; ↓ = low; LN = low-normal; N = normal.

<sup>a</sup> Variable degree of sex steroid deficiency in the years before BMD measurement.

<sup>b</sup> Also corrected for apparent bone volume by mathematical formulas.

<sup>c</sup> Two prepubertal girls and one adolescent with intact gonads are included.

<sup>d</sup> Self-reported diagnosis (no biochemical or genetic data available to support diagnosis).

<sup>e</sup> Also corrected for body weight.

<sup>f</sup> Reduced after correction for apparent volumetric BMD.

<sup>g</sup> Two women with intact testes are included.

<sup>h</sup> Mean age.

<sup>†</sup> Reduced values were reported per volumetric bone density by pQCT at radius.

\* More than 1 fracture.

\*\* 3/6 had more than 1 fracture.

‡ Typical osteoporotic fracture for minor trauma.

### **Gli aspetti psicologici nei 46,XY DSD.**

La gestione clinica ottimale di una persona con DSD dovrebbe essere effettuata da un team multidisciplinare di esperti nel settore e dovrebbe comprendere:

- assegnazione del sesso nel neonato se è presente ambiguità dei genitali;
- valutazione e gestione clinica a lungo termine compresa l'adozione di adeguate modalità di transizione dalle cure pediatriche a quelle dell'adulto;
- comunicazione "aperta" con il paziente, i genitori e la famiglia e loro coinvolgimento nella partecipazione nelle decisioni terapeutiche;
- rispetto delle preoccupazioni del paziente e della famiglia;
- assicurazione della massima confidenzialità e del segreto professionale (1).

Da tutto ciò emerge quanto sia importante per una presa in carico olistica dei pazienti e delle loro famiglie anche un management psicosociale, che se gestito da psicologi/psichiatri esperti nel campo dei DSD rappresenta un supporto fondamentale per l'accettazione della condizione e per la compliance alla sua gestione (1).

Per quanto riguarda l'identità sessuale si deve distinguere tra le definizioni di "*identità di genere*", che denota la percezione di se stesso come uomo, donna oppure una percezione indeterminata e di "*identità di ruolo*", che si riferisce ai comportamenti, le attitudini, i tratti della personalità, i quali in un determinato contesto storico e socio-culturale identificano il ruolo sociale di femmine e maschi (35).

Nell'ambito dei DSD, le persone con SIA completa vengono ovviamente cresciute come donne ed hanno una indubbia identità di genere femminile (35), in quanto non sviluppano disturbi dell'identità di genere né necessitano di rassegnazione del sesso "sociale" (36). Più complesso risulta questo aspetto negli altri 46,XY DSD, a partire dalle SIA parziali; in genere non esistono regole prestabilite ma ogni situazione richiede una valutazione specifica che tenga conto anche del contesto socio-culturale in cui il soggetto vive (35, 36).

In ambito psicosociale, un altro aspetto di rilievo è quello della comunicazione con gli “altri”, che può essere sintetizzato dalla frase: “vivere una vita normale con un segreto è più dannoso rispetto a vivere una vita senza segreti ma con la ragionevole possibilità di stigma e vergogna?” (35).

Il problema della comunicazione riguarda poi anche il rapporto medico/genitori, medico/paziente e genitori/figli per quanto riguarda la corretta rivelazione delle informazioni mediche. Quelle più delicate riguardano il cariotipo e lo stato delle gonadi, soprattutto se discordanti con il sesso assegnato. Altri aspetti delicati da sono quelli relativi alla spiegazione sulla necessità di terapie per indurre e mantenere i caratteri sessuali secondari, se necessarie, e sulla infertilità/ipofertilità, spesso presente nei DSD. Ogni comunicazione può infatti sollevare difficili problematiche emotive, per cui deve essere comprensibile, ripetuta/integrata negli anni ed adeguata alla capacità di comprensione dei genitori e del bambino (35).

Tutto ciò non è sempre facile da attuare nella pratica clinica perché si scontra spesso con le resistenze dei genitori ad una completa rivelazione di tutti i dati biologici, la loro paura che tali rivelazioni possano compromettere la felicità del bambino/a o dell'adolescente e creare in esso problemi psicologici/emotivi e relazionali. È tuttavia dimostrato come persone informate con completezza ed adeguatezza nei vari momenti della crescita abbiano maggiori possibilità di affrontare tutte le problematiche correlate ai DSD e di sviluppare una migliore immagine positiva di se stessi (35).

Ancora più complessa risulta essere la comunicazione e le conseguenti decisioni rispetto ad eventuali interventi chirurgici, soprattutto perché in alcuni casi come nella SIA completa non ci sono dati “evidence-based” a supporto delle possibili scelte (gonadectomia, dilatazione vaginale, ecc...), mentre in altri casi, come ad esempio nelle gravi ambiguità dei genitali esterni, vi può essere la necessità di interventi chirurgici nei primi anni di vita non solo per motivi estetici ma anche funzionali (35). Questo comporta ovviamente che genitori e medici devono

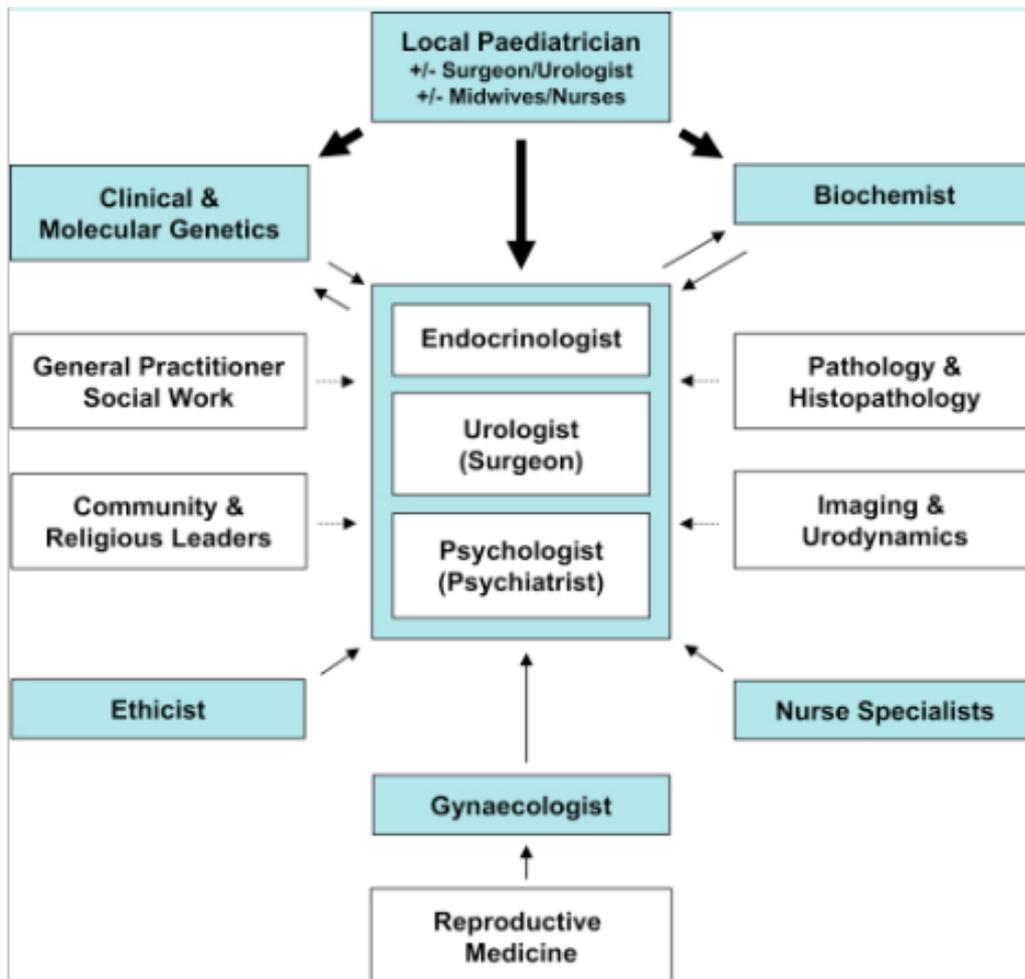
decidere per i bambini e sul loro futuro in base alle conoscenze e alle indicazioni ritenute più valide in determinati momenti, che possono nel corso degli anni con il miglioramento delle conoscenze su questi complessi quadri clinici.

Ultimo, ma non meno importante aspetto è quello della sessualità, cioè l'innamoramento, gli incontri, l'attrazione, l'abilità a costruire relazioni intime, i rapporti sessuali, la possibilità di sposarsi e crescere dei bambini (1). Tutti gli adolescenti si affacciano a tutto ciò con ansia e preoccupazione; quelli con DSD possono avere molti motivi di amplificazione di queste ansie e paure. Diverse problematiche sessuali sono infatti risultate più frequenti in persone con DSD rispetto a coetanei non-DSD (37, 38).

Come accennato, nella SIA completa l'orientamento è eterosessuale (39); in generale, queste donne non differiscono dalle altre rispetto ad aspetti della vita come il matrimonio e le relazioni intime, seppure debbano convivere con il problema della sterilità (35, 38, 39).

In conclusione, la gestione di un individuo con DSD rappresenta una difficile sfida per i medici e psicologi e richiede un approccio olistico da parte di un team multidisciplinare che in condizioni ideali dovrebbe essere composto come delineato in figura 5 (40). In questo contesto si inseriscono i gruppi di supporto e le associazioni di genitori, che sono sorti e cresciuti in molti paesi negli ultimi anni. La possibilità di condividere con coetanei con la stessa condizione con il supporto delle famiglie è riconosciuto come un "valore terapeutico aggiunto" per tutte le condizioni mediche croniche, oltre ad essere di stimolo per i professionisti per un migliore approccio alla "care" delle varie problematiche e per la ricerca (1).

Figura 5. Team multidisciplinare (40).



## **Scopi della tesi**

Gli scopi di questa tesi sono stati:

- verificare la correttezza della diagnosi di “sindrome di Morris” in un gruppo di persone con cariotipo 46,XY e fenotipo femminile;
- valutare in quelle con SIA completa:
  - il motivo di presentazione clinica;
  - la statura finale rispetto al target genetico;
  - lo stato minerale osseo;
  - la funzionalità dell’asse riproduttivo;
  - la composizione corporea e l’assetto metabolico;
  - il fenotipo psicologico;
- correlare i risultati ottenuti con:
  - stato gonadico;
  - compliance con la terapia ormonale sostitutiva.

## **Pazienti e metodi**

### ***Pazienti.***

Dal 2006 al 2012 sono state valutate 54 persone (età media  $26.9 \pm 12.8$  anni; range 4 – 50 anni) con fenotipo femminile, cariotipo 46,XY e pregressa diagnosi di “sindrome di Morris”.

Tutti le partecipanti sono state reclutate attraverso l’Associazione Italiana Sindrome da Insensibilità agli Androgeni (AISIA).

Per ogni paziente sono stati eseguiti:

- dosaggio ormonale di LH (UI/L), FSH (UI/L), testosterone (ng/ml),  $\Delta 4$ androstenedione ( $\mu\text{g/ml}$ ), DHT (pg/ml), estradiolo (pg/ml) con comuni metodi di laboratori;
- in un gruppo di 14 persone è stato inoltre effettuato un profilo steroideo con metodica Tandem-Mass, secondo il procedimento messo a punto presso l’Università di Kiel nell’ambito del progetto EuroDSD;
- l’analisi standard del cariotipo su cultura di linfociti da sangue periferico;
- l’analisi molecolare del gene AR tramite PCR (Polymerase Chain Reaction) e sequenziamento 3130XI Genetic Analyzer (Applied).

Nelle pazienti con assenza di mutazione nel gene AR sono stati inoltre valutati i seguenti geni coinvolti nella differenziazione sessuale: SF1,  $5\alpha$ reduttasi tipo2,  $17\beta$ idrossilasi tipo3, gene per il recettore dell’LH.

### ***Parametri strumentali e di laboratorio.***

In tutti i pazienti con mutazione del gene AR sono stati valutati i seguenti parametri clinici e di laboratorio:

- statura (cm) misurata con statimetro a muro tipo Harpende e peso (kg), in ogni paziente sia la statura che il peso sono il risultato della media di tre consecutive misurazioni;
- BMI (body mass index) calcolato con la formula:  $\text{peso (kg)}/\text{statura (m)}^2$ ;

- statura, peso e BMI sono state espresse in SDS [dato del paziente – media della popolazione)/DS della popolazione] in accordo con gli standard di Cacciari et al. (41);
- statura media parentale (MPH), calcolata secondo la formula: statura madre + statura padre  $-13/2$  per il sesso femminile e statura madre + statura padre  $+13/2$  per il sesso maschile; successivamente espressa in SDS in accordo con Cacciari et al. (41).
- BMD a livello del collo femorale, delle vertebre lombari (L2-L4) e total body (TB) misurata con densitometria a raggi X (DXA) (Lunar DPX-L, Lunar Radiation Corp., Madison, WI, USA). I valori di ogni paziente sono stati comparati con i valori di riferimento per età e sesso femminile riportati da Boot et al (42) e Kroger et al (43). È stato poi calcolato il BMD volume come contenuto minerale osseo per volume osseo stimati con il metodo di Kroger et al. (43) assumendo che il corpo vertebrale lombare e il collo femorale abbiano una forma cilindrica, per ridurre l'effetto confondente delle dimensioni vertebrali e femorali. Ambedue i gruppi di valori sono stati ottenuti con la stessa macchina e lo stesso software da noi utilizzato per questa tesi.
- Densità dell'osso corticale a livello falangeo con la densitometria ad ultrasuoni (QUS, DBM Sonic, IGEA, Carpi, Modena, Italy). In particolare, con tale metodica sono stati determinati AD-SoS (m/s) e BTT ( $\mu$ s), che misurano rispettivamente la velocità dell'ultrasuono attraverso la falange prossimale e la differenza tra il momento in cui il primo picco del segnale ricevuto raggiunge il suo massimo e il tempo che sarebbe misurato se non ci fosse tessuto osseo ma solo tessuto molle tra i trasduttori. I risultati sono stati confrontati con i valori di riferimento per età e sesso ottenuti con tale strumentazione (44).

- Composizione corporea con la densitometria a raggi X. I valori espressi in SDS sono stati confrontati con i valori di riferimento per età e sesso riportati da van der Sluis et al. (45).
- Profilo lipidico (colesterolo totale, trigliceridi), unitamente a dosaggio di insulina e glicemia con calcolo dell'HOMA-IR secondo la formula  $\text{glicemia (mmol/l)} \times \text{insulinemia} / 22.5$ .

### *Valutazione psicologica.*

Lo studio delle problematiche psicologiche è stato ottenuto utilizzando un questionario ad hoc anonimo di autocompilazione volto ad indagare le seguenti tematiche:

- classe socio-economica di appartenenza, educazione e stato civile;
- età alla diagnosi ed età e modalità di comunicazione della diagnosi;
- storia chirurgica;
- terapia ormonale sostitutiva;
- interventi psicologici effettuati;
- tematiche relative alla propria condizione di DSD che destano le principali preoccupazioni nei pazienti;
- vita e rapporti sessuali.

I primi quattro punti prevedevano una risposta tipo si/no, nei restanti le risposte erano a scelta multipla (mai, raramente, alcune volte, spesso, sempre).

I risultati sono stati comparati con i dati della popolazione femminile italiana di pari età (46, 47).

### *Analisi statistica.*

I risultati sono stati espressi come media  $\pm$  DS.

Per l'analisi dei dati è stato utilizzato il test  $t$  di Student a due variabili.

L'analisi di contingenza è stata fatta con il test di Fisher. Le correlazioni tra i coefficienti espressi in Z-score sono state eseguite con la regressione lineare

semplice secondo la formula di Pearson. L'analisi statistica è stata eseguita con un software: SPSS (Statistical Package of Social Sciences, Chicago, IL, USA) per Windows versione 19.0.

Un valore di  $p$  inferiore a 0.05 è stato considerato significativo.

L'analisi statistica dei risultati psicologici è stata effettuata con il test di Fisher (Fischer Exact Test) per le comparazioni non parametriche e con il test  $t$  di Student per lo studio delle differenze tra i gruppi con distribuzione normale.

## **Risultati**

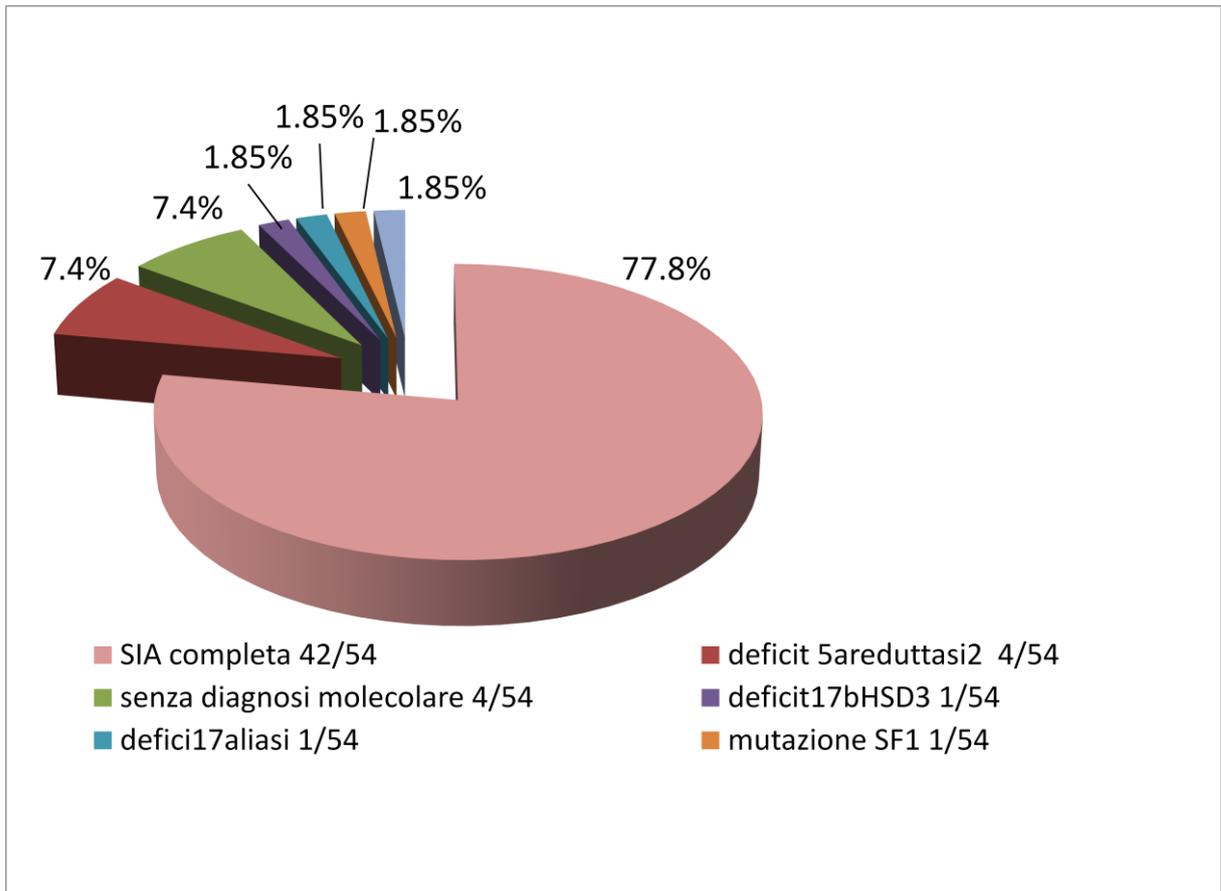
### ***La rivalutazione della diagnosi.***

Delle 54 persone con diagnosi di “sindrome di Morris” basata su un fenotipo femminile e un cariotipo 46,XY, la diagnosi di SIA completa è stata confermata dall’analisi molecolare del gene AR nel 77.8% dei casi (n. 42/54). In queste pazienti, erano presenti 8 coppie di sorelle; altre 3 pazienti avevano sorelle affette probabilmente da SIA completa, ma non sono ancora state valutate.

Tutte le persone con diagnosi di “sindrome di Morris” non confermata, avevano subito la gonadectomia; non essendo quindi possibile lo studio ormonale di tali pazienti con le comuni tecniche di laboratorio, è stata eseguita una rivalutazione della documentazione clinica disponibile, talvolta risalendo anche a molti anni fa, alla ricerca di dati anamnestici, clinici e/o laboratoristici che potessero suggerire diagnosi alternative nell’ambito dei 46 XY, DSD.

Sulla base di tali dati e delle frequenze dei vari quadri clinici riportate nel progetto EuroDSD (9) sono state eseguite le indagini molecolari ed in spettrometria tandem mass, che hanno permesso di riassegnare le diagnosi come riportato in figura 6.

Figura 6. 46,XY DSD: distribuzione delle diagnosi, dopo indagini geneticomolecolari e Tandem Mass. (Pazienti n.54).



### ***Le mutazioni del gene AR.***

Le 42 mutazioni in emizigosi del gene AR che hanno permesso la diagnosi definitiva di SIA completa, sono state localizzate su tutti gli 8 esoni che compongono tale gene (n. 39) e sull'introne 1 (n. 3), secondo la distribuzione riportata in figura 7a.

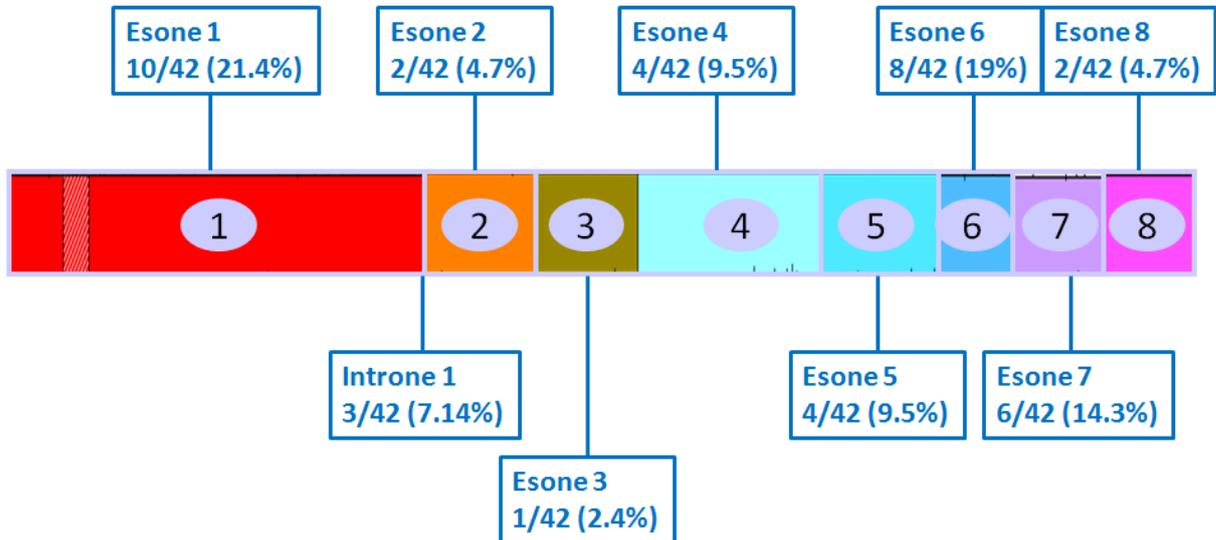
Il 33.3% è risultata già descritta in letteratura e riportata nel database internazionale della McGill University (50), il restante 66.7% non è stato riportato precedentemente in letteratura (Figura 7b).

Le mutazioni già riportate in letteratura, sono state sottoposte a studi funzionali dimostrandone la patogenicità. Per quanto riguarda le nuove mutazioni non sono ancora state sottoposte a studio funzionale, ma la loro posizione in zone critiche del recettore suggerisce la probabile alterazione della funzione della proteina.

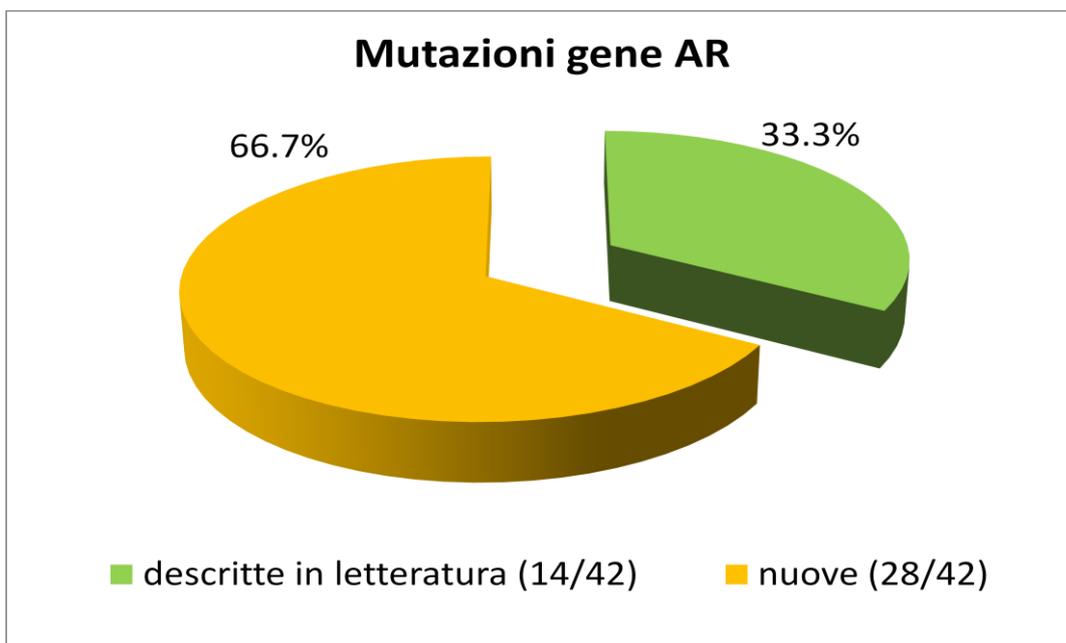
Le mutazioni trovate sono rappresentate in figura 7.

Figura 7. Mutazioni gene AR.

a) localizzazione delle mutazioni



b) riportate in letteratura vs nuove mutazioni



Tra queste pazienti è stato selezionato un gruppo di 38 persone (età media  $26.2 \pm 11.7$  anni, range 4 - 47 anni) con maggiore disponibilità di tutti i vari dati clinici. Ulteriormente divisi in due sottogruppi: pediatrico (n.13) e adulto (n.25), le cui caratteristiche sono riportate in tabella 3.

Tabella 3. SIA completa: caratteristiche cliniche di n. 38 pazienti [età  $26.2 \pm 11.7$  anni (range 4 - 47 anni)] con diagnosi molecolare di mutazione nel gene AR.

	<i>Gruppo pediatrico</i>	<i>Gruppo adulto</i>
pazienti, n	13	25
età, anni	$13.1 \pm 4.7$	$32.8 \pm 7.9$
bambini/adolescenti	5/8	-
gonadectomia/gonadi intatte, n.	5/13	4/25
età gonadectomia, anni	$9.2 \pm 6.6$	$18.3 \pm 8.5$
gonadectomia pre/post-pubere, n.	3/5	5/21
HRT/non HRT, n.	5/0	21/9

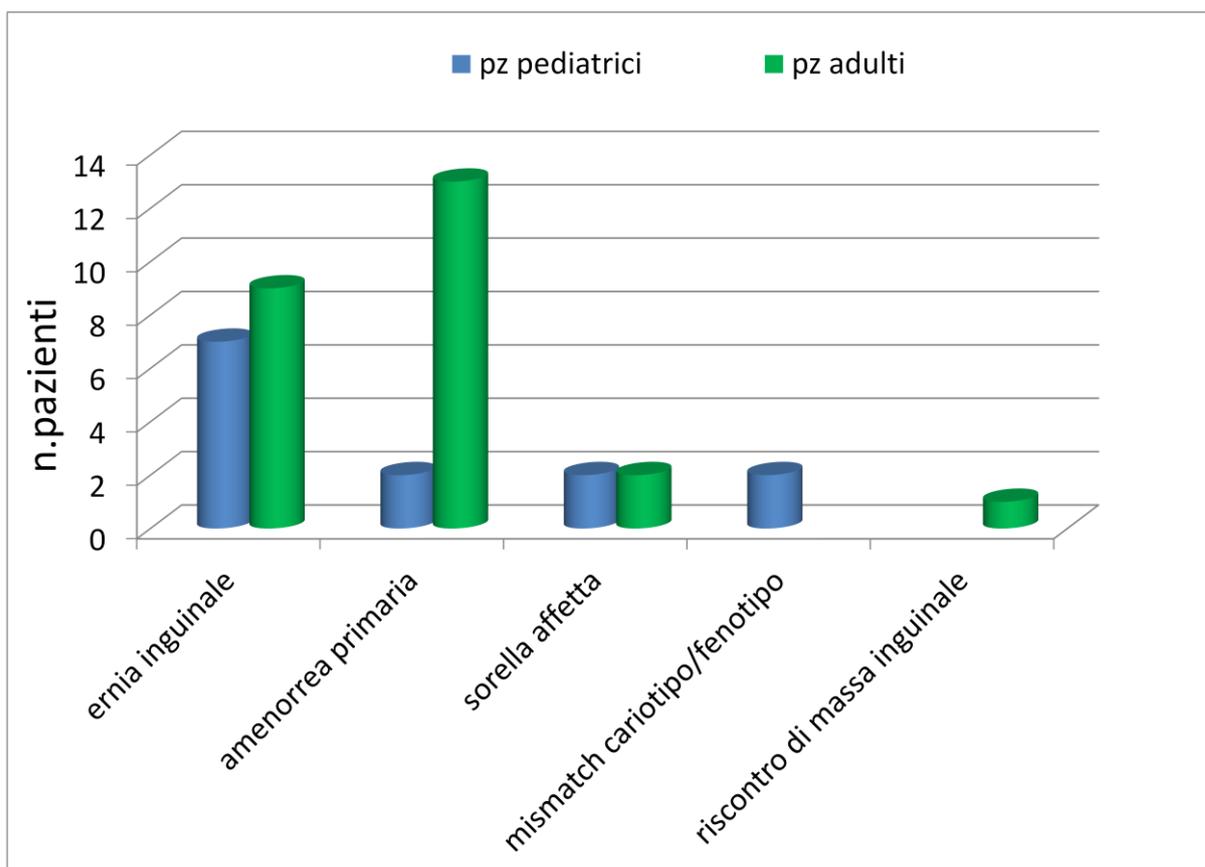
HRT: terapia ormonale sostitutiva.

***SIA completa: le modalità di presentazione.***

Nel gruppo di pazienti pediatrici (età 0-18 anni) il motivo più frequente di presentazione è risultato l'ernia inguinale (7/13; 53.8%), seguito con equa distribuzione dall'amenorrea primaria (2/13; 15.4%), dalla diagnosi sospettata perché era già presente in famiglia una figlia affetta (2/13; 15.4%) e dal mismatch cariotipo/fenotipo alle indagini prenatali (2/13; 15.4%) (Figura 8).

Nel gruppo delle donne adulte (età >18 anni) il motivo più frequente di presentazione è risultato l'amenorrea primaria (13/25; 52%), seguito dall'ernia inguinale (9/25; 36%), dalla diagnosi sospettata perché era già presente in famiglia una figlia affetta (2/25; 8%) ed in un caso per il riscontro occasionale di una massa sospetta in regione addominale (1/25; 4%), (Figura 8).

Figura 8. SIA completa: motivi di osservazione clinica.



### ***SIA completa: la valutazione auxologica.***

Le caratteristiche auxologiche delle 38 pazienti con SIA completa sono riportate in tabella 4 suddivise per i due sottogruppi.

La statura media di entrambi i gruppi non è risultata significativamente differente rispetto a quella dei valori normali di riferimento (41).

La statura finale nel sottogruppo adulto, valutata in 10 pazienti, è risulta significativamente superiore sia per il target genetico calcolato per il sesso maschile (sesso cromosomico) che per il sesso femminile (sesso fenotipico) ( $p = 0.0005$ ) (figura 9).

Nella popolazione adulta, la statura delle donne che hanno subito la gonadectomia in epoca prepuberale è risultata significativamente maggiore rispetto a quella delle donne gonadectomizzate dopo la pubertà (rispettivamente:  $1.54 \pm 1.7$  SDS vs  $0.33 \pm 0.9$  SDS;  $p = 0.05$ ).

Il BMI, nel sottogruppo pediatrico è risultato nella norma per età e sesso femminile, eccetto che in 3 pazienti adolescenti dove è stata rilevata una condizione di sovrappeso. Nella popolazione adulta sono risultate presenti 4 donne in sovrappeso (12.9%) e 4 donne obese (12.9%) (Tabella 4).

Tabella 4. SIA completa: valutazione auxologica (n.38).

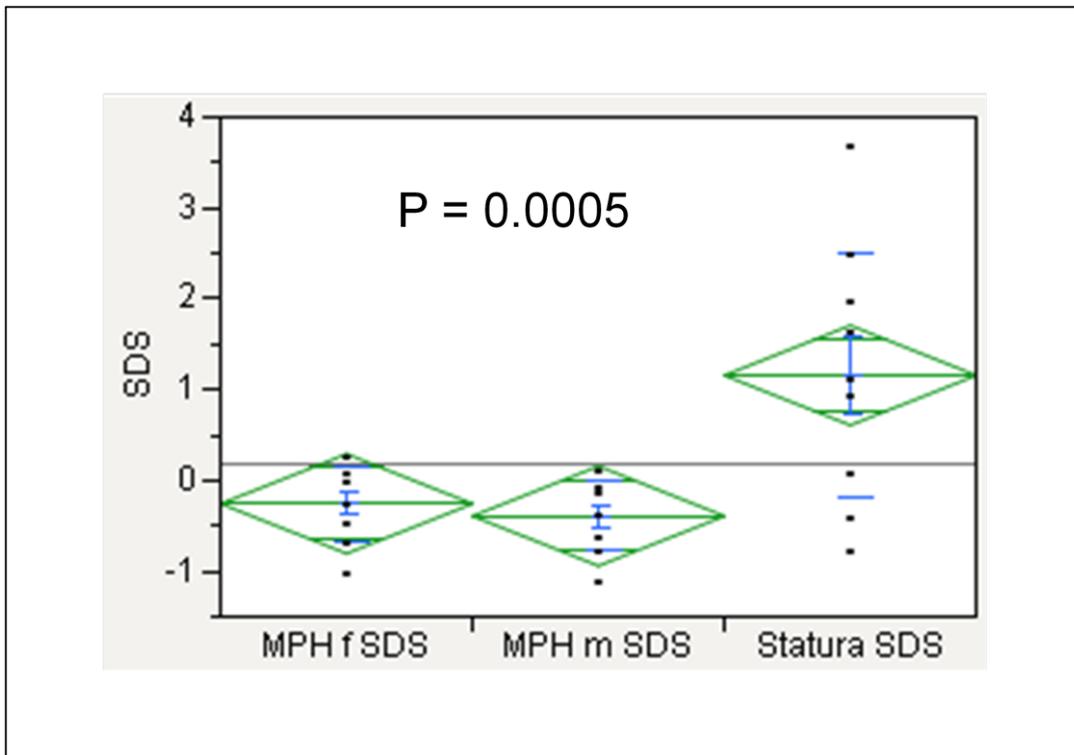
	Gruppo pediatrico	Gruppo adulto
pazienti, n	13	25
Statura, SDS	$0.44 \pm 0.9^*$	$0.77 \pm 1.19^*$
MPH, SDS	$-0.086 \pm 0.492$ f $-0.184 \pm 0.475$ m	$-0.36 \pm 0.4$ f $-0.48 \pm 0.4$ m
BMI, SDS	$0.26 \pm 1.22$	$0.56 \pm 1.43$
sovrappeso, n	3/13	4/25
obesi, n	0/13	4/25

f = calcolato per la popolazione femminile

m = calcolato per la popolazione maschile

\*p = n.s. vs 0

Figura 9. SIA completa: statura finale vs target genetico.



***SIA completa: la densità minerale ossea.***

Nel gruppo pediatrico, il BMD è risultato significativamente ridotto alla valutazione DXA a livello lombare e total body e alla valutazione con QUS, mentre è risultato normale il BMD a livello del collo femorale (Tabella 3). Nelle adolescenti è risultato maggiormente compromesso il BMD a livello lombare. Nelle bambine la densità minerale ossea è risultata nella norma a tutti i livelli (Tabella 5).

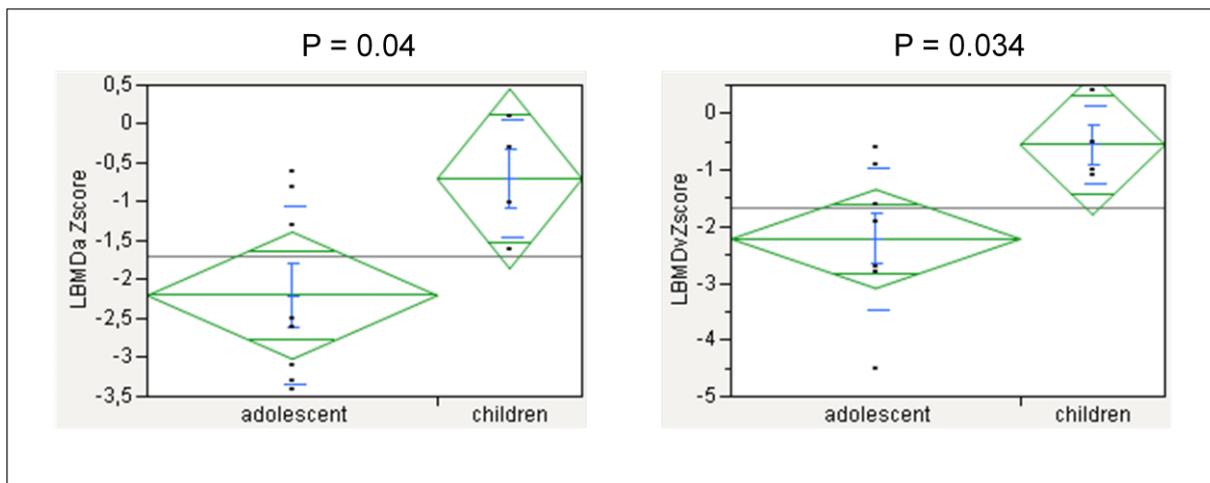
Non sono state rilevate differenze statisticamente significative tra i pazienti pediatrici gonadectomizzati e quelli con le proprie gonadi (dati non riportati).

Confrontando i risultati nelle bambine e nelle adolescenti, il BMD a livello lombare è significativamente ridotto nelle seconde rispetto alle prime, come mostrato in tabella 5 e figura 10.

Tabella 5. BMD nel gruppo pediatrico e significatività verso 0.

Z-score	Pediatrici		Bambine (n. 5)		Adolescenti (n. 8)	
	media $\pm$ DS	p vs 0	media $\pm$ DS	p vs 0	media $\pm$ DS	p vs 0
L2-L4 BMD area	-1.7 $\pm$ 1.23	0.0003	-0.7 $\pm$ 0.75	n.s.	-2.2 $\pm$ 1.13	0.0005
L2-L4 BMD vol	-1.66 $\pm$ 1.33	0.0006	-0.55 $\pm$ 0.7	n.s.	-2.2 $\pm$ 1.24	0.0008
Fem BMD area	-0.12 $\pm$ 1.16	n.s.	0.9 $\pm$ 0.62	n.s.	-0.5 $\pm$ 1.1	n.s.
Fem BMD vol	-0.07 $\pm$ 1.61	n.s.	1.4 $\pm$ 1.01	n.s.	-0.6 $\pm$ 1.5	n.s.
TB BMD	-1.6 $\pm$ 1.33	0.0034	-1.8 $\pm$ 0.98	n.s.	-1.5 $\pm$ 1.47	0.016
AD-SoS	-0.73 $\pm$ 1.22	0.031	-0.4 $\pm$ 0.95	n.s.	-0.85 $\pm$ 1.38	n.s.
BTT	-0.98 $\pm$ 1.04	0.004	-0.7 $\pm$ 1.02	n.s.	-1.1 $\pm$ 1.09	0.012

Figura 10. SIA completa: BMD lombare bambine vs adolescenti.



Nel gruppo adulto il BMD è risultato significativamente ridotto a livello lombare, femorale e total body, mentre è risultata normale alla valutazione con QUS (Tabella 6).

La valutazione con DXA ha messo in evidenza un BMD significativamente ridotto a tutti i livelli esaminati nelle pazienti gonadectomizzate rispetto a quelle non-gonadectomizzate (BMD Lombare T-score: gonadectomizzate  $-1.93 \pm 0.8$ , non-gonadectomizzate  $0.2 \pm 1.12$ ,  $p < 0.001$ ; BMD Femorale T-score: gonadectomizzate  $-1.18 \pm 0.83$ , non-gonadectomizzate  $0.97 \pm 0.4$ ,  $p < 0.001$ ; BMD Total body T-score: gonadectomizzate  $-0.7 \pm 0.9$ , non-gonadectomizzate  $1.35 \pm 2.3$ ,  $p = 0.011$ ), come riportato in figura 11.

Nelle pazienti gonadectomizzate non sono state rilevate significative differenze nel BMD tra il gruppo che ha subito l'intervento di gonadectomia in età pre-puberale rispetto a quelle in età post-puberale e neppure tra il gruppo di pazienti con una buona compliance alla terapia ormonale sostitutiva e quelle con scarsa/assente compliance, nonostante in quest'ultimo gruppo il BMD a livello femorale e total body sia maggiormente ridotto, ma senza raggiungere la significatività statistica (Figura 12).

Tabella 6. SIA completa: BMD nel gruppo adulto e significatività verso 0.

	media $\pm$ DS	p vs 0
L2-L4 BMD, T-score	$-1.58 \pm 1.16$	$<0.0001$
Femore BMD, T-score	$-0.82 \pm 1.36$	0.006
Total Body BMD, T-score	$-0.58 \pm 1.17$	0.031
AD-SoS, T-score	$-0.13 \pm 1.2$	n.s.

Figura 11. SIA completa: BMD nelle donne gonadectomizzate vs quelle non-gonadectomizzate.

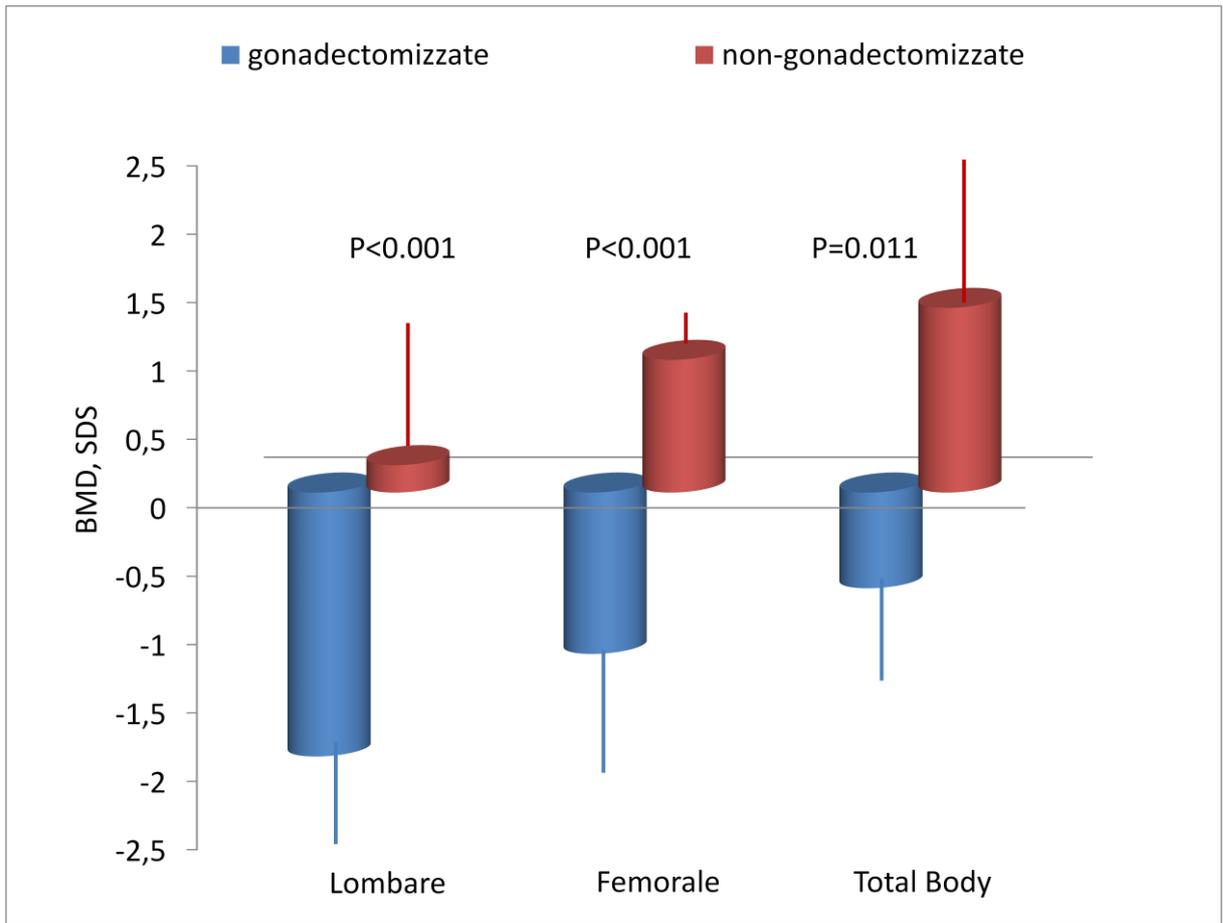
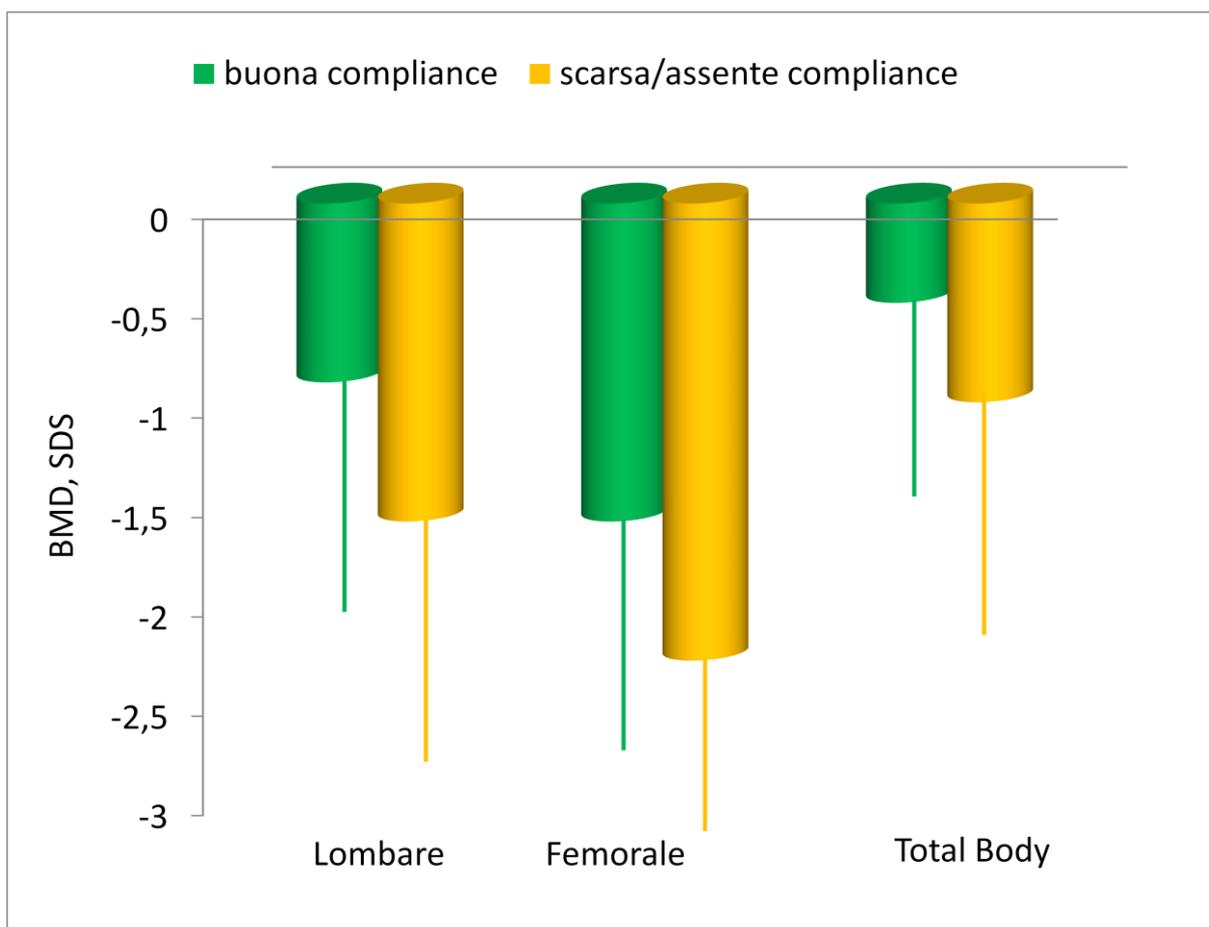


Figura 12. SIA completa: BMD nelle donne con buona compliance vs quelle con scarsa/assente compliance.



L'analisi di contingenza eseguita per i sottogruppi donne gonadectomizzate/donne non-gonadectomizzate ha dimostrato valori normali di BMD:

- nel 100% delle donne non gonadectomizzate rispetto al 42.86% delle donne gonadectomizzate a livello lombare (Pearson = 0.036);
- nel 75% delle donne non gonadectomizzate rispetto al 9.52% delle donne gonadectomizzate a livello femorale (Pearson = 0.002);
- nel 100% delle donne non gonadectomizzate rispetto al 75% delle donne gonadectomizzate per il total body (Pearson = n.s.);

La stessa analisi eseguita per i sottogruppi donne gonadectomizzate in pre o post-pubertà non ha mostrato differenze statisticamente significative.

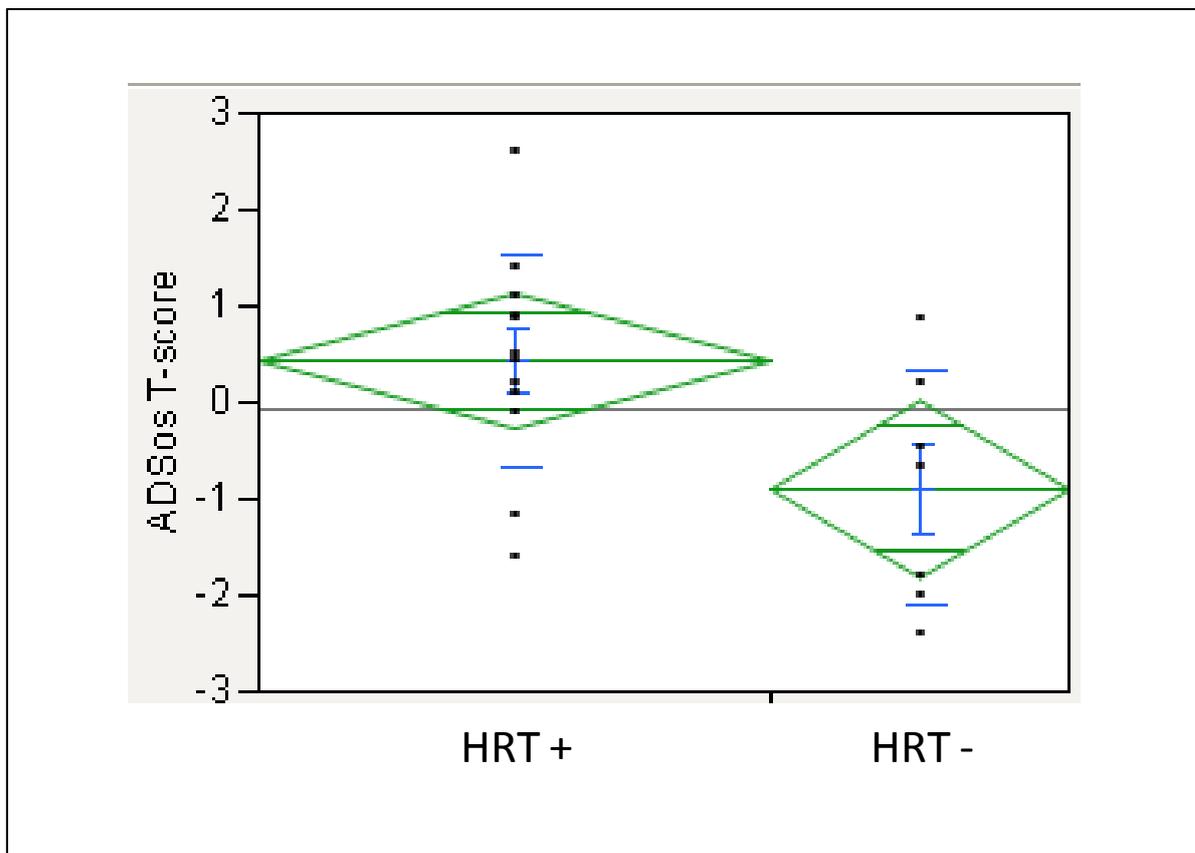
Eseguita per i sottogruppi buona compliance/scarsa compliance alla HRT, l'analisi statistica ha dimostrato valori normali di BMD:

- nel 50% delle donne con buona compliance alla HRT rispetto al 33.3% delle donne con scarsa/assente compliance a livello lombare (Pearson = n.s.);
- nel 16.7% delle donne con buona compliance alla HRT rispetto allo 0% delle donne con scarsa/assente compliance a livello femorale (Pearson = n.s.);
- nel 100% delle donne con buona compliance alla HRT rispetto al 37.5% delle donne con scarsa/assente compliance per il total body (Pearson = 0.0016);

Nelle donne gonadectomizzate hanno mostrato un rischio di osteopenia/osteoporosi a livello femorale è risultato 28.5 volte maggiore rispetto alle donne non gonadectomizzate.

Per quanto riguarda la QUS non sono stati ottenuti rilevati statisticamente significativi, ad eccezione dell' ADSoS T-score più elevato nelle donne gonadectomizzate con buona compliance alla HRT rispetto al gruppo con scarsa/assente compliance ( $p = 0.026$ ), (Figura 13).

Figura 13. SIA completa: ADSoS nelle donne con buona compliance vs quelle con scarsa/assente compliance.



Per quanto riguarda lo stato minerale osseo rispetto ai livelli di gonadotropine non sono state rilevate correlazioni statisticamente significative per i valori di LH, mentre i valori di FSH, che sono risultati significativamente maggiori ( $p = 0.023$ ) nelle donne gonadectomizzate e tra queste in quelle con scarsa/assente compliance alla terapia, hanno mostrato una correlazione inversa con il BMD ma solo a livello femorale (Pearson = -0.55).

***SIA completa: la composizione corporea.***

Nel gruppo pediatrico sono stati riscontrati valori nella norma di massa magra e massa grassa per età e sesso femminile (Tabella 7), senza differenze significative rispetto allo stato gonadico.

Le bambine sono risultate tutte normopeso; mentre tra le adolescenti erano presenti 3 soggetti in sovrappeso (37.5%).

Tabella 7. SIA completa: composizione corporea nel gruppo pediatrico (n. 13).

	Gruppo pediatrico	Bambini (n. 5)	Adolescenti (n. 8)
Massa magra, Zscore	-1.7 ± 1.12	-1.4	-1.8 ± 1.2
Massa grassa, Zscore	0.18 ± 1.62	-2.1	0.5 ± 1.4

Nel gruppo adulto, i valori medi di massa magra e massa grassa sono risultati nella norma per età e sesso femminile (Tabella 8).

Non sono state riscontrate differenze significative rispetto allo stato gonadico, all'età della gonadectomia, né alla compliance alla HRT.

Nella popolazione adulta sono presenti 4 soggetti sovrappeso (16%) e 4 soggetti obesi (16%), di cui 2 gravemente obesi (BMI = 42.4).

Tabella 8. SIA completa: composizione corporea nel gruppo adulto (n. 25).

	Gruppo adulto	p
Massa magra, kg	39.588 ± 4.976	-
Massa magra, Zscore	-0.93 ± 0.9	n.s. vs 0
Massa grassa, %	34.18 ± 9.6	-
Massa grassa, Zscore	-0.27 ± 1.14	n.s. vs 0

***SIA completa: l'assetto metabolico.***

Nel gruppo pediatrico la colesterolemia totale ed i valori di trigliceridi sono risultati nella norma per età e sesso (49), eccetto una paziente adolescente normopeso, che presentava valori di colesterolemia e trigliceridemia maggiori del 95°percentile per età e sesso.

I valori di insulina basale ed il calcolo dell'HOMA-IR sono stati rilevati nelle adolescenti, riscontrando valori superiori al range di normalità in 3/5 ragazze, suggerendo una tendenza all'insulinoresistenza. (Figura 14).

Nel gruppo adulto i risultati del profilo lipidico e del dosaggio dell'insulina sono riportati in tabella 9 e figura 15.

È stato possibile riscontrare ipercolesterolemia in 13/21 pazienti (62%), ipertrigliceridemia in 4/21 pazienti (19%) ed elevati valori di HOMA-IR in 5/13 pazienti (38.5%), indipendentemente dal BMI.

Figura 14. SIA completa: valori di insulinemia ed HOMA-IR nelle adolescenti.

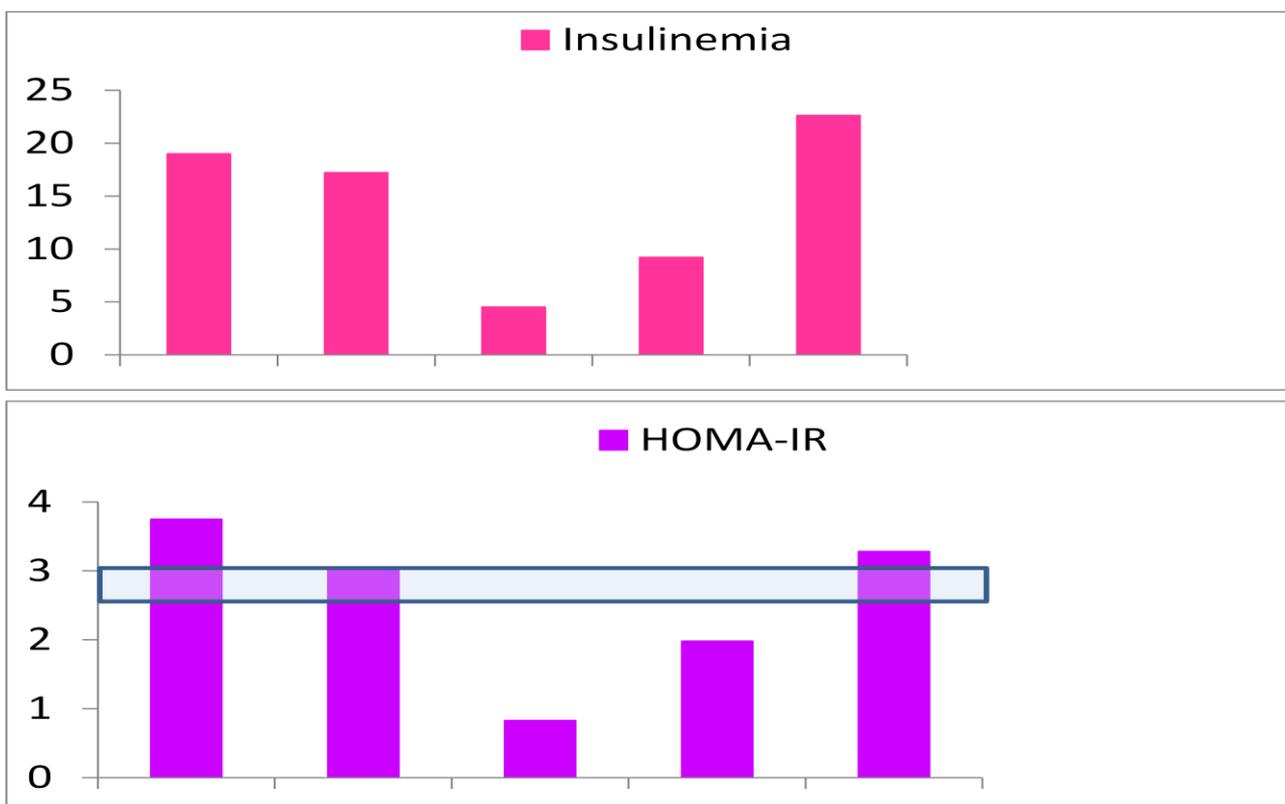
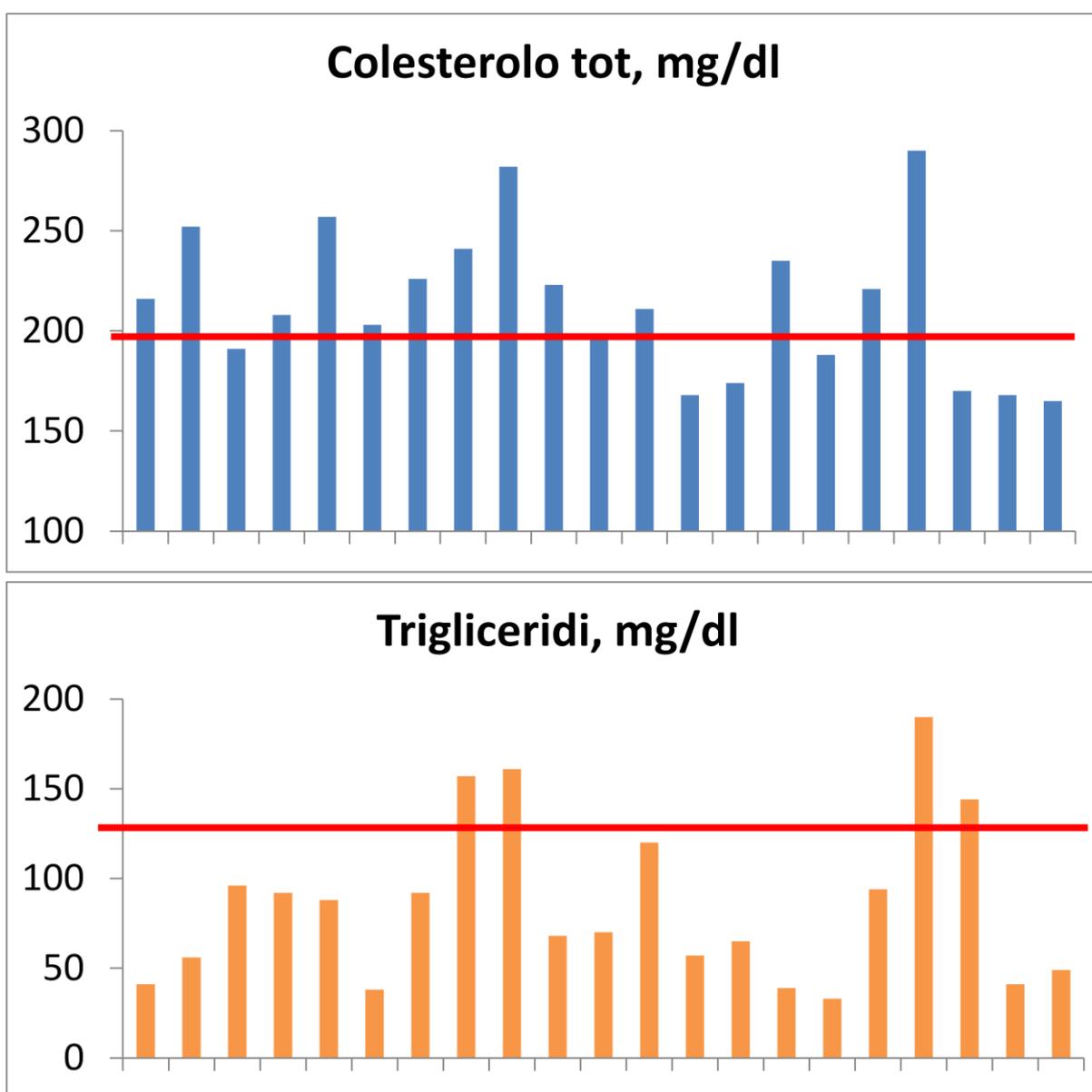
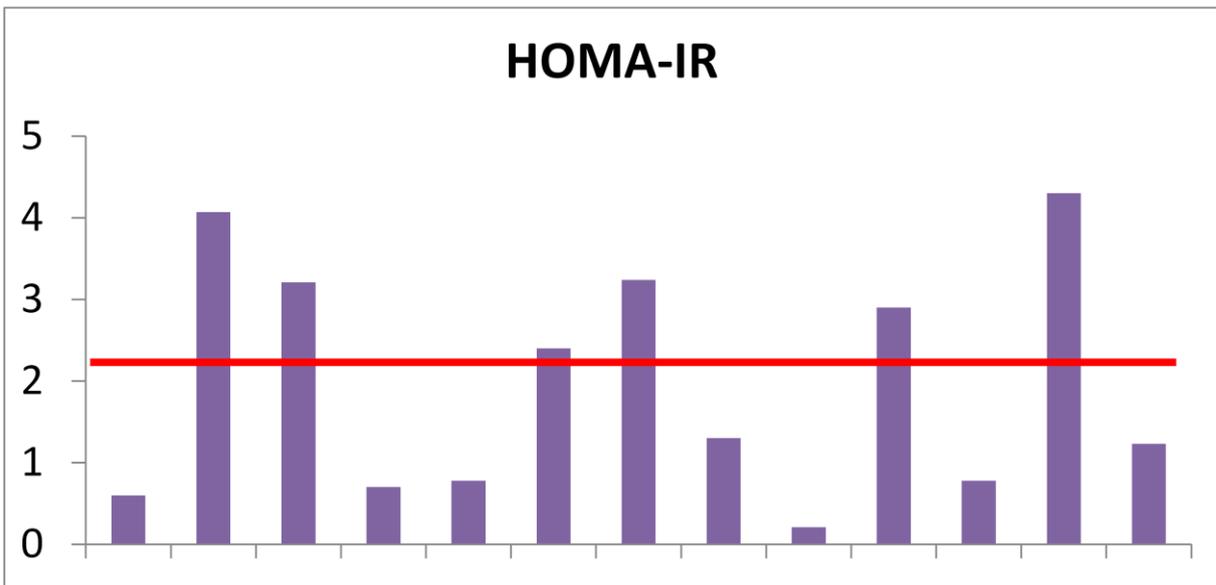
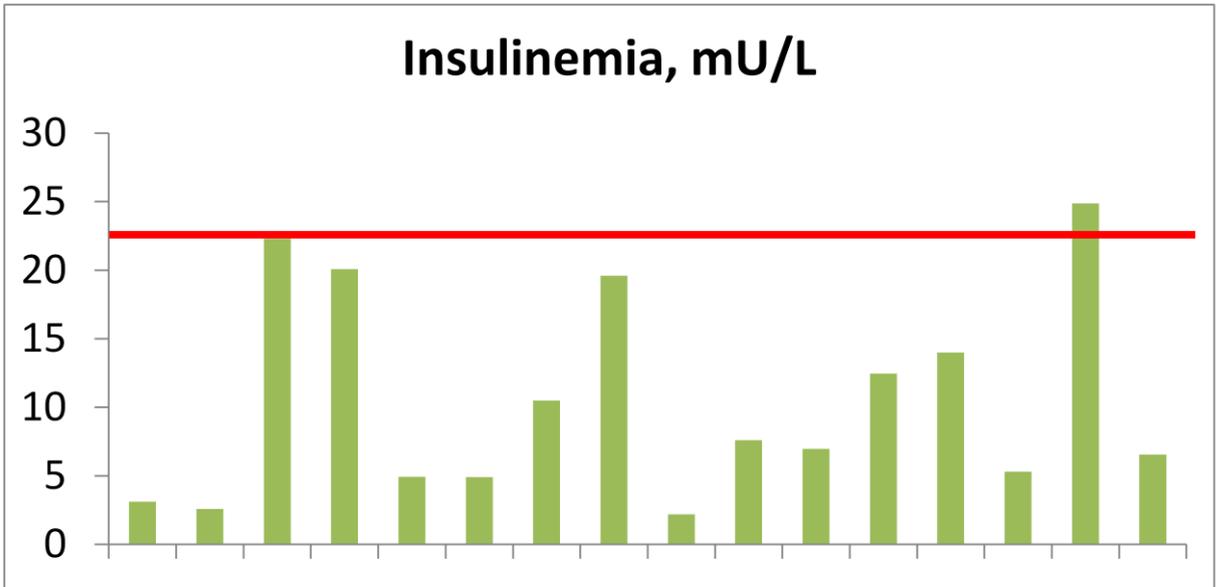


Tabella 9. SIA completa: assetto metabolico nelle donne adulte.

	media $\pm$ DS	range	v.n.
Colesterolo tot, mg/dl	213,57 $\pm$ 36.7	165 - 290	< 200
Trigliceridi, mg/dl	58.29 $\pm$ 45.68	33 - 190	< 130
Insulinemia mU/L	10.5 $\pm$ 7.5	2.2 - 24.9	< 24.5
HOMA-IR	1.98 $\pm$ 1.43	0.7 - 4.3	< 2.5

Figura 15. SIA completo: assetto metabolico nelle donne adulte.





### ***Gli aspetti psicologici.***

Il campione oggetto di questa valutazione è risultato composto da 31 donne adulte (età media  $34.8 \pm 8.6$  anni; range 20 - 51 anni) con 46,XY DSD che hanno completato l'apposito questionario. L'intero gruppo è stato suddiviso in due sottogruppi (gruppo 1 e gruppo 2), usando arbitrariamente come cutoff l'età di 30 anni (Tabella 10).

Il 100% delle donne nel gruppo 1 presentava una diagnosi certa; tale percentuale era del 72.2% nel gruppo 2. La maggior parte dell'intero campione (70%) è risultato composto da donne con SIA completa (Tabella 10).

In entrambi i gruppi è stato riscontrato un più alto livello educativo ed occupazionale rispetto alla popolazione italiana di riferimento (Tabella 11).

In entrambi i gruppi era inoltre presente una percentuale di laureate maggiore rispetto alla media delle donne italiane (Tabella 10).

Per quanto riguarda lo stato sociale, la maggior parte delle donne del gruppo 1 (n.12/13, 92.3%) ha riportato di vivere con almeno un genitore (la percentuale delle coetanee italiane è 66.2%;  $p = 0.0000052$ ); nessuna è sposata. Nel gruppo 2, 6/18 donne (35.4%) ha dichiarato di abitare in famiglia rispetto al 20.6% della popolazione di riferimento; 7 donne (43.8%) sono risultate sposate o con relazioni stabili; 3 donne (18%) sono risultate separate e 6 (36.6%) non si sono mai sposate.

L'orientamento sessuale è risultato eterosessuale in 26/31 donne (83.9%), di cui 21 sono rappresentate da persone con SIA complete; omosessuale in 2/31 donne (6.5%), di cui una donna con diagnosi di deficit di  $5\alpha$ -reduttasi tipo 2 ed una con mutazione eterozigote di SF1; bisessuale in 1 donna con SIA completa (3.2%) (Figura 16).

L'età media di diagnosi è risultata simile nei due gruppi ( $13.0 \pm 7.9$  anni nel gruppo 1;  $14.0 \pm 10.2$  nel gruppo 2); con un ritardo tra la diagnosi e la sua comunicazione rispettivamente di 2.0 e 7.8 anni nei due gruppi. Le persone sono venute a conoscenza della propria condizione di 46,XY DSD in modi differenti

(dai genitori, dai medici oppure autonomamente), con differenze significative tra i 2 gruppi (Figura 17).

Nel gruppo 1, il 53.3% delle donne si riteneva soddisfatto delle modalità con cui aveva ricevuto la comunicazione della diagnosi, mentre nel gruppo 2 solo il 25% risultava soddisfatto. Rispettivamente il 38% ed il 75% dei due gruppi si sono dichiarati nettamente insoddisfatti rispetto alla comunicazione della diagnosi. Alcune donne del gruppo 1 (8.2%) non avevano specifiche opinioni su questa tematica.

La maggior parte del campione era stata sottoposta a gonadectomia (n. 26/31, 84%), senza differenze significative tra i due sottogruppi. Il gruppo 1 è stato sottoposto a gonadectomia ad un'età inferiore rispetto al gruppo 2 ( $13.2 \pm 6.9$  anni vs  $21.3 \pm 9$  anni). Nessuna differenza tra i due gruppi è emersa riguardo al coinvolgimento nella decisione chirurgica; 5 donne (16.1%) non hanno ricevuto o hanno rifiutato l'intervento chirurgico di gonadectomia e/o di correzione dei genitali.

Nel gruppo 1, due donne sono state sottoposte a ricostruzione vaginale ed in una la ricostruzione vaginale è stata associata a clitoridoplastica. Queste persone hanno riportato maggiori difficoltà nei rapporti sessuali rispetto al resto del campione. Nel gruppo 2 una donna ha utilizzato un dilatatore dall'età di 24 anni per migliorare la funzionalità vaginale.

Il 25.8% delle donne ha riferito di non ritenere necessario l'intervento chirurgico di gonadectomia e di ricostruzione vaginale; il 35.5% delle donne non avrebbe eseguito l'intervento se avesse potuto decidere.

Inoltre, circa il 48.4% di tutto il campione riteneva che la presenza intra-addominale di testicoli in una donna con 46,XY DSD non sia psicologicamente disturbante.

Alla diagnosi hanno ricevuto un supporto psicologico il 50% delle persone del gruppo 1 ed il 25% delle persone del gruppo 2 e rispettivamente il 40% ed il

33% lo ha ritenuto utile. Il 25% del gruppo 1 ha ricercato successivamente al momento della diagnosi un aiuto psicologico rispetto al 66.7% del gruppo 2. In tabella 13 sono sintetizzate le maggiori preoccupazioni emerse nei due gruppi riguardo alla propria condizione di 46,XY DSD.

Tabella 10. Principali diagnosi nei due gruppi di adulte con 46.XY DSD in cui è stata effettuata la valutazione dello status psicologico e sociale.

Diagnosi	Gruppo 1 (18 - 29 anni)	Gruppo 2 (30 - 51 anni)
SIA completa	11	11
SIA parziale	-	2
Deficit di 5 a reduttasi	1	1
Disgenesia gonadica	1	-
Ipoplasia cellule di Leydig	-	1
Mut. eterozigote gene NR5A1	-	1
Non diagnosi certa	-	1
Non ha risposto	-	1

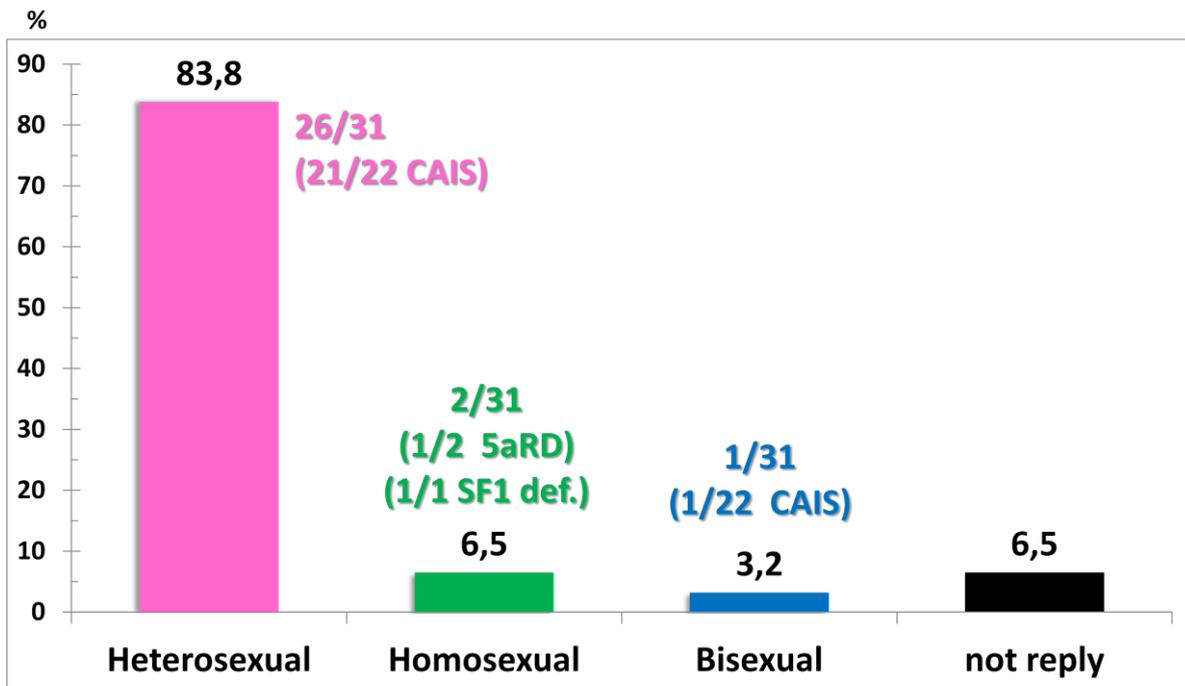
Tabella 11. Titolo di studio dei partecipanti rispetto alla popolazione di riferimento (Italia, Istat 2011).

Titolo di studio	Gruppo 1	Donne italiane (18-29 aa)	Gruppo 2	Donne italiane (30-50 aa)
	%	%	%	%
Licenza elementare	0	2	0	5
Licenza media inf	15	20	11	32
Diploma di maturità	54	56	28	36
Laurea	31 <sup>*</sup> p = 0.018	16	50 <sup>°</sup> p = 0.002	18

\* vs donne italiane 18-29 anni.

° vs donne italiane 30-50 anni.

Figura 15. Orientamento sessuale e rispettive diagnosi



(D'Alberton et al, submitted)

Figura 16. Principali preoccupazioni rispetto alla propria condizione di DSD.

Are you concerned about:	18-29 years			30- 51 years		
	Never or seldom	Sometimes	Often or always	Never or seldom	Sometimes	Often or always
Impossibility of having biological offspring	30.8%	38.5%	30.8%	31.3%	37.5%	31.3%
Risk of osteoporosis	38.5%	23.1%	38.5%	6.3%	31.3%	62.5%
Lack of body hair	61.5%	15.4%	23.1%	25.1%	43.8%	31.3%
Difficulty in sexual intercourse	38.5%	23.1%	38.5%	31.3%	43.8%	25.0%
Lack of menses	76.9%	15.4%	7.7%	43.8%	37.5%	18.8%
Talking about DSDs with other people	30.8%	15.4%	53.9%	31.3%	18.8%	51.1%
Hormone replacement therapy	61.6%	23.1%	15.4%	25.1%	37.5%	37.5%

(D'Alberton et al, submitted)

## **Discussione**

In questa tesi sono riportati i risultati ottenuti in un quello che può essere considerato un ampio gruppo di pazienti, considerando la rarità dei 46,XY DSD. Nei 46,XY DSD, come in tutte le condizioni genetiche, stabilire una corretta diagnosi è molto importante, in quanto rappresenta l'aspetto fondamentale per la miglior gestione possibile della patologia che deve tener conto della storia naturale di ogni singola forma, per quanto conosciuta (1, 40).

Nonostante i considerevoli progressi nella biologia molecolare, la letteratura riporta che ancora oggi circa il 30-50% delle persone con 46,XY DSD rimane senza una esatta diagnosi eziologica (1, 9).

In questa tesi, la diagnosi di "sindrome di Morris" basata solo su cariotipo e fenotipo è risultata errata in circa il 25% delle pazienti, per cui quasi un quarto delle pazienti sono state trattate come donne con SIA completa pur non essendolo e questo può aver influenzato l'outcome a lungo termine (vedi dopo orientamento sessuale). Dall'approfondimento diagnostico con tecniche di biologia molecolare emerge inoltre che in una non trascurabile percentuale, cioè il 7.4% delle pazienti ovvero 1/3 delle persone in cui non è stata riscontrata una mutazione nel gene AR, non si è raggiunta ancora una diagnosi di certezza.

In accordo con i dati di questa tesi, alcuni autori hanno riportato una rassegna della diagnosi nel 20% di persone che avevano ricevuto una diagnosi di SIA completa (50), ma in questo lavoro non è stata eseguita un'analisi endocrina e molecolare approfondita come nel presente gruppo di pazienti. Nel registro europeo del Consorzio EuroDSD ([www.eurodsd.net](http://www.eurodsd.net)) è risultato senza diagnosi molecolare l'1% dei casi nel gruppo dei disordini dell'azione degli ormoni androgeni (9).

L'esecuzione della gonadectomia prima di un accurato studio endocrino e la mancata disponibilità di tecniche "gold standard" come la tandem mass per lo studio del profilo steroideo in molti laboratori contribuisce probabilmente a

questa situazione (51). A proposito di quest'ultima tecnica si deve sottolineare che la sua estrema accuratezza, anche in presenza di concentrazioni estremamente basse di steroidi, ha permesso di individuare con esattezza le indagini di biologia molecolare in 6/14 delle pazienti in cui è stata effettuata. A tale scopo sono indispensabili valori di riferimento per i vari gruppi di età come quelli messi a punto dal Dipartimento di Pediatria dell'Università di Kiel (52).

Come emerge chiaramente dal registro europeo EuroDSD e da questa tesi, sebbene la diagnosi di SIA completa sia la più frequente nell'ambito dei 46,XY DSD (77% registro europeo e 77.8% questa tesi), non tutte le persone con cariotipo maschile e fenotipo femminile risultano affette da "sindrome di Morris". Spesso questa errata diagnosi deriva da una non attenta valutazione clinica, per cui non vengono presi in considerazione anche modesti segni di androgenizzazione, che – per definizione – sono invece completamente assenti nella SIA completa (10, 11). In questo gruppo, una diagnosi di "sindrome di Morris" era stata posta anche in due pazienti con disgenesia testicolare, poi risultate portatrici per una di una mutazione in eterozigosi di SF1, e in una con aplasia delle cellule di Leydig, nella quale è poi risultata presente una eterozigosi composta nel gene per il recettore dell' LH. A questo proposito si deve ricordare che nella SIA completa si ha lo sviluppo di una gonade maschile del tutto normale (6). Un'attenta valutazione clinica, anamnestica, endocrinologica e dell'istologia gonadica -se disponibili- seguite da una diagnosi molecolare selettiva dovrebbero quindi guidare l'iter diagnostico, l'assegnazione del sesso in età pediatrica e l'eventuale intervento di gonadectomia, anche ai fini di promuovere il migliore stato possibile di salute psico-sociale in età adulta (1).

Questa conclusione concorda con quanto affermato in un recente aggiornamento del database della McGill University (<http://androgendb.mcgill.ca/>), in cui è stato appunto riscontrato che il numero delle persone con fenotipo SIA senza mutazione del gene AR siano maggiori di quanto precedentemente riportato in

letteratura e che evidentemente queste persone non hanno una SIA completa, ma solo un fenotipo simile causato da un differente genotipo (53). Per spiegare queste situazioni, è stato anche ipotizzato il possibile coinvolgimento di fattori post-ligando e proteine co-regolatrici, ma - come riportato da Achermann e Hughes - tali mutazioni non vengono trovate nella maggior parte dei casi riproponendo la possibilità di errori durante l'iter diagnostico (53, 54).

In questa tesi, accanto a mutazioni note nel gene AR (v. <http://androgendb.mcgill.ca/>) sono state trovate alcune nuove mutazioni del gene AR precedentemente non riportate in letteratura. E' questo un dato riscontrato anche in altri studi (53). Ad esempio, un recente lavoro riporta il 60% di nuove mutazioni nel gene AR, sottolineando come i risultati molecolari siano tra loro diversi nelle varie popolazioni studiate (14), precludendo l'analisi di singoli esoni o di regioni "hot spot" per la diagnosi di certezza di questa forma di 46,XY DSD. Nella presente serie di pazienti, il 45% delle mutazioni nel gene AR erano presenti anche in sorelle affette e nel 100% delle madri fino ad ora studiate la mutazione era presente in eterozigosi nella madre, confermando la familiarità X-linked (53, 14) e indicando la necessità di eseguire un cariotipo a tutte le sorelle di una paziente, data l'elevata ricorrenza della SIA completa nell'ambito di una stessa famiglia.

La diagnosi di SIA completa avviene classicamente per due principali motivi: l'ernia inguinale in età prepubere e l'amenorrea primaria nell'adolescenza, come rilevato anche in questa tesi dove questi motivi hanno rappresentato complessivamente oltre l'80% dei motivi di consultazione medica. In letteratura, Audi e collaboratori hanno riscontrato un'equa distribuzione tra ernia inguinale (47.8%) e amenorrea primaria (45.7%), riportando poi un 4.3% di diagnosi fatte per anamnesi familiare positiva (14). Hughes e collaboratori hanno riportato il 57% di ernie inguinali ed un 3% di diagnosi prenatali (55). In questa tesi, una diagnosi prenatale era presente nel 5.2% per mismatch fenotipo (femminile) e cariotipo (maschile) alla villo/amniocentesi. Questo aspetto sta diventando

sempre più frequente negli ultimi anni per l'incremento delle indagini prenatali, (1, 14), anche in conseguenza dell'innalzamento dell'età materna alla prima gravidanza, almeno nel nostro paese (56).

Nella popolazione pediatrica l'incidenza dell'ernia inguinale è 1-4% con una netta prevalenza nel sesso maschile (10:1) (57), per cui si ritiene che sia necessaria l'esecuzione di un cariotipo in tutte le bambine con ernia inguinale (55).

Nella SIA completa, le caratteristiche auxologiche sono quelle femminili (15, 16), così come è stato riscontrato anche in questa tesi. In letteratura è riportato che la statura finale si colloca in posizione intermedia tra quella dei maschi e quella delle femmine senza differenze statisticamente significative tra le donne in cui l'induzione della pubertà viene effettuata farmacologicamente per una gonadectomia in epoca pre-puberale e quelle con sviluppo puberale spontaneo (15). In questa tesi, è stata invece riscontrata una statura finale che si colloca all'interno dei valori normali di riferimento per il sesso femminile, ma significativamente maggiore rispetto al target genetico calcolato sia per il sesso femminile (fenotipo) che per il sesso maschile (cariotipo). Inoltre, la statura finale delle donne che hanno subito la gonadectomia in epoca prepuberale è risultata significativamente maggiore rispetto a quella delle donne gonadectomizzate dopo la pubertà. Le differenze di statura tra questi due gruppi di donne, già riportate in letteratura (15) potrebbe derivare da una mancata adeguatezza - per quanto riguarda tempi e dosaggi - della terapia ormonale sostitutiva nel "mimare" il fisiologico procedere degli stadi puberali femminili (15), suggerendo la necessità di ottimizzare le modalità di induzione dello sviluppo puberale nelle bambine con rimozione delle gonadi in età precoce (28). Le persone con DSD possono presentare alterazioni nel normale processo di sviluppo e crescita ossea e nel raggiungimento del picco di massa ossea, per deficit di produzione e/o di azione degli steroidi sessuali (15). Inoltre, in alcune condizioni, la necessità di rimuovere le gonadi rappresenta un ulteriore fattore in

grado di alterare lo sviluppo osseo e comporta la necessità di una terapia sostitutiva per assicurare oltre all'adeguato sviluppo e mantenimento dei caratteri sessuali secondari, anche un ottimale BMD (1, 27, 58).

Come documentato in questo gruppo di pazienti la salute ossea rappresenta in effetti un'importante preoccupazione direttamente nelle persone con 46,XY DSD (27, 58), tuttavia solo pochi dati sono disponibili in letteratura riguardo a questo argomento, soprattutto relativi alla densità ossea nelle persone con SIA completa (27) (Tabella 2), probabilmente da correlare anche alla rarità di queste condizioni che preclude analisi su casistiche ampie ed omogenee.

In tutti gli studi riportati in letteratura, sono infatti presenti alcune limitazioni. I dati sul BMD riguardano singoli individui o piccoli campioni oppure sono ottenuti con strumenti densitometrici diversi. Inoltre, le popolazioni studiate risultano eterogenee per stato gonadico e HRT; in ultimo, la diagnosi risulta basata nella maggior parte dei casi solo su dati clinici e sul cariotipo, senza analisi molecolare del gene AR (Tabella 2) (32), con il rischio di includere pazienti con altri tipi di 46,XY DSD che usualmente non presentano alterazioni del BMD se correttamente trattati (34).

In questa tesi, il gruppo studiato (n. 38) risulta sufficientemente numeroso, tutte le persone hanno avuto la diagnosi molecolare di mutazione del gene AR, i valori di BMD sono stati ottenuti con lo stesso apparato densitometrico e le persone sono state divise in sottogruppi rispetto ad età, stato gonadico e compliance alla HRT.

La maggior parte degli studi mostra nelle donne con SIA completa ridotti livelli di BMD sia per i valori di riferimento femminili che maschili (32). Anche in questa tesi i valori di BMD risultano ridotti sia nel gruppo pediatrico che nel gruppo delle adulte rispetto a valori di riferimento femminili, scelti in accordo con il fenotipo ed avendo dimostrato una statura ed una composizione corporea del tutto sovrapponibile ad una popolazione femminile di riferimento. Nei vari lavori in letteratura il BMD a livello lombare risulta maggiormente

compromesso rispetto al BMD a livello femorale, suggerendo un importante ruolo degli androgeni sull'osso trabecolare (32, 34). I risultati di questa tesi sono in accordo con questo dato, infatti sia nel gruppo pediatrico che nelle donne adulte il BMD a livello lombare è risultato maggiormente compromesso rispetto a quello femorale.

Per quanto riguarda il tasso di fratture in un solo lavoro è riportata l'incidenza delle fratture nella SIA completa (0/10) rispetto ad una popolazione di controllo (2/15) (59), ma mancano in letteratura dati su ampi campioni (32). Nella popolazione oggetto di questa tesi non sono state rilevate fratture.

Nel gruppo pediatrico, è stata rilevata una significativa compromissione del BMD nelle adolescenti rispetto alle bambine (Figura 10), suggerendo lo slatentizzarsi di un parziale deficit ormonale al momento della pubertà. Infatti, in entrambi i sessi la massa ossea cresce progressivamente durante l'infanzia con un rapido incremento alla pubertà, sotto l'azione degli steroidi sessuali e dell'asse GH-IGF1 (31, 32). Nelle ragazze con SIA completa e proprie gonadi sono riportati maggiori livelli di estrogeni, dati dall'aromatizzazione del testosterone, che comunque non raggiungono i valori delle adolescenti 46,XX (19). Ciò potrebbe determinare un deficit estrogenico relativo per una persona fenotipicamente femmina e in assenza di un effetto diretto degli androgeni sul tessuto osseo, di cui il deficit di BMD potrebbe essere il rilievo clinico più evidente. In effetti, alcuni autori hanno suggerito la possibilità di una terapia ormonale con estrogeni anche nelle donne con SIA completa, che conservano le proprie gonadi ai fini di prevenire l'osteopenia/osteoporosi (58).

Nelle persone con SIA completa il BMD è strettamente correlato alla gonadectomia non seguita da una corretta HRT; come accennato il difetto di funzione del gene AR a livello osseo può comunque contribuire per sé ad alterare i valori di BMD (34). In letteratura, il BMD in donne con le proprie gonadi è stato valutato solo in pochi casi mostrando una tendenza a ridotti valori di BMD soprattutto a livello lombare senza raggiungere la significatività

statistica (32). Ciò confermerebbe che i livelli di estrogeni endogeni, per quanto elevati per un soggetto con cariotipo 46,XY, non raggiungono valori adeguati per permettere un ottimale accrescimento della massa ossea in presenza di insensibilità agli androgeni (34, 57). I dati di questa tesi dimostrano tuttavia che le donne con SIA completa e proprie gonadi hanno valori di BMD significativamente maggiori a tutti i livelli (lombare, femorale e total body) rispetto alle pazienti gonadectomizzate, suggerendo che il mantenimento della produzione endocrina testicolare rappresenti un fattore protettivo per la salute ossea in queste pazienti.

L'efficacia della HRT nel normalizzare i valori di BMD nelle donne con SIA completa gonadectomizzate rimane una questione non risolta. La maggior parte delle pazienti riportate in letteratura presenta un miglioramento lieve o assente (32). Recentemente Taes e collaboratori hanno dimostrato un rilevante incremento del BMD lombare dopo 5 anni di HRT ad alte dosi in una singola paziente, anche se alla fine del follow-up erano comunque presenti valori pari a -2.0 DS (60).

In questa tesi i valori di BMD a livello femorale e total body sono risultati migliori, anche se non in maniera significativa, nelle donne con buona compliance alla HRT rispetto a quelle con scarsa/assente compliance. Invece, l'analisi di contingenza sulla valutazione DXA ha dimostrato in modo statisticamente significativo che il 100% delle donne con buona compliance alla HRT presenta valori normali di BMD total body, rispetto al 37.5% delle donne con scarsa/assente compliance. I dati ottenuti dalla QUS mostrano una densità ossea significativamente migliore nelle donne con buona compliance alla HRT rispetto a quelle con scarsa/assente compliance. Quindi un buon trattamento ormonale è in grado di assicurare una migliore salute ossea e deve rappresentare uno stimolo all'ottimizzazione della terapia.

Nel loro insieme i dati della letteratura e i dati di questa tesi suggeriscono la validità dell'ipotesi che per prevenire l'osteopenia/osteoporosi nelle donne con

SIA completa sia necessario un trattamento suppletivo con estrogeni anche nelle donne con le proprie gonadi (58) e dosi sovralfisiologiche di estrogeni nelle donne gonadectomizzate (32). In queste ultime, nonostante il campione statisticamente esiguo, il rischio di osteopenia/osteoporosi che è risultato 28.5 volte maggiore a livello femorale nelle donne gonadectomizzate rispetto alle non gonadectomizzate.

A proposito dei migliori dati di BMD nelle donne con gonadi intatte, si deve considerare il possibile ruolo di INSL3, l'ormone proteico prodotto nelle cellule di Leydig, che sembra coinvolto nel mantenimento della massa ossea, almeno nei soggetti adulti (61). È ovvia la presenza di un deficit completo di tale ormone nelle donne con SIA completa sottoposte a gonadectomia che può rappresentare un fattore causale aggiuntivo per i ridotti valori di BMD per la scarsa risposta alla HRT (32). Solo futuri trial terapeutici con INSL3, quando tale ormone sarà disponibile in farmacopea, potranno confermare questa ipotesi. Complessivamente questi risultati devono essere di ausilio per dirimere il problema sulla scelta e i tempi della gonadectomia in una donna con 46,XY DSD ed in particolare con SIA completa, anche in rapporto al problema del rischio neoplastico. Una recente revisione della letteratura mostra la presenza di una limitata evidenza sulla quale potersi basare per valutare pro e contro della gonadectomia in una paziente adulta asintomatica con SIA completa (25).

Nei pochi studi su pazienti adulte la percentuale di tumore testicolare è 16%, contro l'0.8-2% trovato negli studi pediatrici (1, 23). L'osservazione che il rischio di tumore maligno aumenta con l'età è una deduzione, che non è stata ancora dimostrata (25). Nella popolazione di questa tesi una sola paziente adulta (n. 1/38, 2.6%) ha presentato un tumore testicolare per cui ha eseguito la gonadectomia all'età di 31 anni.

Una delle difficoltà nella decisione di non asportare le gonadi deriva dal fatto che non esistono test di screening efficaci per identificare precocemente una eventuale trasformazione maligna nelle gonadi (25). Frequentemente le gonadi

sono intra-addominali e non palpabili; a questo livello né l'ecografia né la RMN sono in grado di identificare con sicurezza sia il testicolo che una sua trasformazione neoplastica; inoltre i markers sierologici tumorali risultano del tutto aspecifici e non adeguati per una diagnosi precoce, per cui manifestazioni di un eventuale tumore sono usualmente tardive (25).

Al momento vari autori concordano sul posticipare, se possibile, la gonadectomia almeno dopo il completamento dello sviluppo puberale per beneficiare di una funzione endocrina endogena spontanea durante tale processo (62, 63). La possibilità di eseguire una laparoscopia esplorativa con la localizzazione e fissaggio delle gonadi in una posizione nota permette di eseguire un follow-up ecografico più adeguato (62).

Durante l'intervento, se effettuato dopo la pubertà, si dovrebbe poi eseguire una biopsia testicolare per individuare l'eventuale presenza di carcinoma in situ che richiede strategie terapeutiche specifiche (gonadectomia o irradiazione del testicolo) (64). Naturalmente questo iter può determinare la necessità di più interventi chirurgici e un pieno coinvolgimento della paziente nel processo terapeutico/decisionale.

Il dimorfismo sessuale nella composizione corporea, questo è evidente a partire dalla vita fetale (65). Alla nascita i maschi hanno infatti una massa grassa simile a quella delle femmine, ma presentano una maggiore lunghezza e una maggiore massa magra. Queste differenze rimangono invariate durante l'infanzia, ma si accentuano nettamente durante la pubertà, ad indicare il ruolo fondamentale esercitato dagli steroidi sessuali nella composizione corporea differente tra maschi e femmine (65).

La composizione corporea nella SIA completa non è mai stata presa in considerazione negli studi della letteratura. Solo un recente lavoro su topi knockout per il recettore degli androgeni ha mostrato uno sviluppo anomalo della massa grassa con precoce obesità viscerale, un alterato profilo lipidico ed una ridotta sensibilità insulinica (66).

Nelle pazienti di questa tesi la massa magra e la massa grassa sono risultate nella norma per la popolazione di riferimento. Sono risultate sovrappeso 3 adolescenti, cioè il 37.5% del gruppo di coetanee e il 23% del gruppo pediatrico, questo valore è nettamente superiore alla percentuale di sovrappeso riportata nelle adolescenti di pari età ([www.epicentro.iss.it/problemi/obesità/epid.asp](http://www.epicentro.iss.it/problemi/obesità/epid.asp)); 8 donne adulte sono risultate sovrappeso o obese (32%), tra cui 2 gravemente obese (8%); tale risultato è in linea con quanto rilevato nella popolazione femminile generale di pari età ([www.epicentro.iss.it/problemi/obesità/epid.asp](http://www.epicentro.iss.it/problemi/obesità/epid.asp)). Nelle adolescenti è stata riscontrata insulino-resistenza. Nel gruppo adulto è stato possibile riscontrare ipercolesterolemia in 13/21 pazienti (62%), ipertrigliceridemia in 4/21 pazienti (19%) ed elevati valori di HOMA-IR in 5/13 pazienti (38.5%), indipendentemente dal BMI.

I dati in questo campione sembrerebbero quindi in parte confermare l'ipotesi che il mancato funzionamento del recettore degli androgeni possa rappresentare un fattore di rischio per lo sviluppo di obesità almeno in certe fasce di età e di alterazioni metaboliche (66). Questi risultati suggeriscono inoltre che devono essere inclusi nel follow-up delle donne con SIA completa il profilo lipidico e la valutazione dell'insulino-sensibilità, ma sono necessari ulteriori studi per approfondire questo aspetto.

Per quanto riguarda gli aspetti psicologici e sociali in questa tesi è stato valutato un gruppo relativamente ampio di donne con 46,XY DSD.

Le donne intervistate presentano un livello culturale ed occupazionale maggiore rispetto alla popolazione femminile italiana (46, 47), ma una minore percentuale di matrimonio ed una maggiore percentuale di pazienti vivono ancora nelle famiglie di origine. Tali rilievi indicano che una condizione di DSD non interferisce sull'educazione e l'attività lavorativa ma, come altre condizioni croniche, influenza la vita affettiva e l'autonomia personale e relazionale.

L'orientamento sessuale prevalente in questo gruppo di donne è risultato eterosessuale a conferma della correttezza dell'assegnazione del sesso;

l'omosessualità è risultata presente solo in una minoranza di questi pazienti e non sono stati rilevati casi di disforia di genere, come del resto riportato anche in altri studi (67).

La maggior parte delle donne intervistate avevano subito la gonadectomia e la metà di queste non era stata coinvolta in questa decisione. Nella maggioranza hanno dichiarato che non si sarebbero sottoposte alla gonadectomia qualora fosse stato chiesto il loro consenso. Ciò dimostra che vi è la necessità di migliorare sia i processi comunicativi con le pazienti sia le loro informazioni sui rischi clinici connessi con il mantenimento delle gonadi in età adulta. Le risposte al questionario di questa tesi, dimostrano inoltre che la presenza di testicoli in addome in una donna con 46,XY DSD non rappresentano un fattore psicologicamente disturbante, che quindi non può rappresentare una motivazione per la gonadectomia.

Come già discusso, la gonadectomia espone le donne con 46,XY DSD al rischio di osteopenia/osteoporosi. In effetti, questa problematica rappresenta anche per loro una delle principali preoccupazioni.

La ricostruzione vaginale è stata eseguita in un esiguo numero di questo gruppo di donne con scarsi risultati sulla funzionalità. L'utilizzo dei dilatatori, che rappresentano il "gold standard" per l'ampliamento della vagina e devono essere il primo approccio terapeutico (68), rimane ancora molto scarso, suggerendo la necessità di migliorarne la conoscenza e la diffusione, soprattutto nel nostro paese.

In base alla loro esperienza le pazienti suggeriscono una comunicazione della diagnosi effettuata con gradualità, calma, sincerità e chiarezza dall'inizio, per permettere una piena consapevolezza sulle varie opzioni terapeutiche e una scelta consapevole in età adulta.

Questi dati confermano come ancora molto ci sia da lavorare per coinvolgere le persone nella gestione del proprio DSD, nonostante si stia osservando un

progressivo miglioramento nella comunicazione della diagnosi ad un'età più giovane (69).

Alcuni aspetti limitano i risultati dello studio del fenotipo psicologico: la raccolta dei dati in diverse forme di 46,XY DSD, con un esiguo numero per ogni sottogruppo che non ha permesso di indagare meglio i vari aspetti in rapporto alle varie problematiche nelle varie forme. Infine, il fatto che lo studio stesso sia completamente basato su un questionario anonimo a compilazione volontaria che ha permesso alla persona assoluta libertà nella compilazione e nel dire o non dire ciò che voleva e l'indagine è stata limitata alle iscritte ad un gruppo di supporto, che probabilmente hanno maggiori motivazioni ad affrontare le loro problematiche.

Infine i dati di questa tesi indicano che a coloro che sono direttamente coinvolti nella gestione di persone con DSD è richiesta una comunicazione progressivamente sempre più aperta, che rappresenta un importante aspetto della "care" di queste condizioni (40, 58, 67, 70).

## **Conclusioni**

Questa tesi dimostra l'importanza della certezza della diagnosi come punto di partenza per la gestione complessa e multidisciplinare di tutti gli aspetti dei 46,XY DSD. Poiché non tutte le persone con cariotipo maschile e fenotipo femminile risultano affette da “sindrome di Morris”. Un'accurata valutazione clinica, anamnestica e endocrinologica seguite da una diagnosi molecolare selettiva dovrebbero guidare l'iter diagnostico, l'assegnazione del sesso in età pediatrica e l'eventuale intervento di gonadectomia, anche ai fini di promuovere il migliore stato possibile di salute psico-sociale in età adulta.

Per quanto riguarda la SIA completa, questa tesi dimostra che:

- i motivi più frequenti di presentazione sono l'ernia inguinale e l'amenorrea primaria;
- i parametri auxologici sono nella norma per età e sesso femminile;
- la statura adulta supera il target genetico sia per il sesso femminile (fenotipo) che per quello maschile (cariotipo);
- a partire dall'età adolescenziale sono presenti livelli ridotti di BMD, soprattutto a livello lombare;
- la gonadectomia rappresenta un fattore di rischio per lo sviluppo di osteoporosi/osteopenia;
- una buona compliance alla HRT sembra migliorare la salute ossea;
- le donne che conservano le proprie gonadi hanno un BMD significativamente migliore;
- la composizione corporea a tutte le età è risultata nella norma per età e sesso femminile;
- alterazioni del profilo lipidico e della sensibilità insulinica possono rappresentare caratteristiche cliniche aggiuntive del fenotipo della SIA completa.

Da ultimo questa tesi dimostra l'importanza della gestione olistica e degli aspetti psico-sociali nei 46,XY DSD. Focalizza l'attenzione sulla comunicazione aperta e adeguata ad ogni età, sul ruolo centrale della persona con 46,XY DSD e del diretto coinvolgimento nella gestione della sua condizione. Nonostante si stia osservando un progressivo miglioramento nella comunicazione della diagnosi, a coloro che sono direttamente coinvolti nella gestione di persone con DSD è richiesta una comunicazione progressivamente sempre più aperta, che rappresenta un importante aspetto della "care" di queste condizioni.

*"... alcune malattie sono facili da approcciare, mentre altre sono più delicate."*

Garry L. Warne.

Hanno collaborato alla realizzazione di questo lavoro:

54 persone con 46, XY DSD, donne, bambini, i loro mariti, genitori e familiari;

AISIA, l'Associazione Italiana Sindrome da insensibilità completa agli androgeni, [www.aisia.org](http://www.aisia.org);

Dott. Silvano Bertelloni, Clinica Pediatrica 1, Dipartimento materno-infantile, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Pisa;

Dott. Franco D'Alberon, Dipartimento di Pediatria, Azienda Ospedaliero Universitaria S. Orsola-Malpighi, Bologna;

Dott. Giampiero Igli Baroncelli, Clinica Pediatrica 1, Dipartimento materno-infantile, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Pisa;

Dott.ssa Fulvia Baldinotti, UO Citogenetica e Biologia Molecolare, Dipartimento materno-infantile, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Pisa;

Dott. Francesco Vierucci, Clinica Pediatrica 1, Dipartimento materno-infantile, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Pisa;

## **Appendice**

### ***AISIA. L'esperienza con l'Associazione Italiana Sindrome da Insensibilità agli Androgeni.***

Il valore del sostegno dei coetanei e dei genitori è diffusamente riconosciuto per molte condizioni/patologie croniche. I DSD, una condizione che accompagna le persone per tutta la vita, non dovrebbero quindi fare eccezione.

La condivisione elimina l'isolamento e lo stigma, fornendo un contesto in cui le questioni anche intime di preoccupazione possono essere discusse in modo sicuro con qualcuno che profondamente le comprende. I bambini che hanno rapporti con coetanei e adulti con DSD possono beneficiare precocemente di un senso di normalità, con benefico supporto ben prima dell'adolescenza. Inoltre i gruppi di supporto sono fondamentali per le famiglie e di aiuto per il personale medico per collaborare nell'ottimizzazione della "care".

In Italia esiste, ufficialmente dal 2006, il gruppo di supporto per l'insensibilità agli androgeni e le altre condizioni simili della differenziazione sessuale maschile: AISIA (Associazione Italiana Sindrome da Insensibilità agli Androgeni, sito web: [www.aisia.org](http://www.aisia.org)). Si tratta di un'associazione ONLUS composta esclusivamente da volontari: persone con 46,XY DSD, genitori, medici e psicologi che offrono la loro collaborazione.

L'associazione nasce da un'idea di un piccolo gruppo di persone con i seguenti obiettivi:

- fornire supporto alle persone con SIA;
- garantire il rispetto delle persone e tutelarne l'immagine e l'inserimento nella società;
- favorire l'incontro e l'aiuto reciproco sia per bambini e donne affette da SIA, sia per i loro familiari;

- aumentare le informazioni disponibili sulla SIA e contribuire alla loro diffusione;
- incoraggiare i medici, i genitori, la società ad una maggiore apertura verso i problemi legati ai DSD;
- migliorare l'informazione e il trattamento medico e chirurgico di queste condizioni;
- favorire un approccio globale (medico, psicologico e sociale) ai problemi dei DSD da parte del personale sanitario;
- stabilire e mantenere contatti con altre associazioni che si occupano di SIA e DSD in Italia e all'estero;
- collaborare con Associazioni che, in Italia o all'estero, hanno fra gli obiettivi il supporto alle persone con disordini della differenziazione sessuale (DSD) e alle loro famiglie.

Le attività dell'associazione si svolgono tramite il sito internet, i contatti telefonici e gli incontri periodici.

I contatti con l'associazione ed il numero di soci è cresciuto molto negli anni (2011: soci 43; contatti circa 180), a dimostrazione del molto lavoro svolto e della sua utilità.

Nell'ultimo anno AISIA ha realizzato il *Progetto IRIS* finanziato dalla Regione Lazio. Si tratta di un progetto con finalità divulgative grazie al quale sono stati realizzati due volumetti dal titolo:

- “Linee Guida per il trattamento dei DSD in età infantile” (Traduzione in italiano delle Linee Guida dell'ISNA, 2006),
- “Insensibilità completa agli androgeni e condizioni simili. Informazioni e consigli rivolti a pazienti e genitori”. Testi di G.L. Warne, E. Dati, S. Ghione.

Il progetto si concluderà il 29 settembre 2012 con la realizzazione di una giornata dal titolo “I tempi dei DSD”, che rappresenterà l'occasione oltre che per presentare il lavoro svolto, per creare uno spazio di incontro tra

l'associazione e le persone invitate (pazienti, genitori, familiari, medici e psicologi).

Per quanto mi riguarda, ho conosciuto AISIA nell'aprile del 2007 a Rimini e da allora la collaborazione è stata costante fino ad oggi; ho perciò potuto assistere da vicino alla crescita numerica e qualitativa dell'associazione.

Devo ringraziare AISIA e tutti i bambini, le ragazze, le donne ed i loro genitori conosciuti in questi anni per tutto quello che mi hanno insegnato e per la meravigliosa opportunità di crescita umana e professionale.

## **Bibliografia**

- (1) Hughes IA et al. *Consensus statement on management of intersex disorders*. Archives of Disease in Childhood 2006; 91:554-563.
- (2) Rey RA and Grinspon RP. *Normal male sexual differentiation and aetiology of disorders of sex development*. Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism 2011; 25:221-238.
- (3) Hughes IA. *Disorder of sex development: a new definition and classification*. Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism 2008; 22:119-134.
- (4) Sekido R and Lovell-Badge R. *Sex determination and SRY: down to a wink and a nudge?* Trends in Genetic 2009; 25:19-29.
- (5) Rey RA et al. *AMH/MIS: what we know already about the gene, the protein and its regulation*. Molecular and Cellular Endocrinology 2003; 211:21-31.
- (6) Hammema SE and Hughes IA. *Regulation of Wolffian duct development*. Hormone Research 2007; 67:142-151.
- (7) Biason-Lauber A. *Control of sex development*. Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism 2010; 24:163-186.
- (8) Mendonca BB et al. *46,XY DSD due to impaired androgen production*. Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism 2010; 24:243-262.
- (9) Ahmed SF et al. *The European disorder of sex development registry: a virtual research environment*. Sex Dev 2010; 4:195-198.
- (10) Hughes IA and Deeb A. *Androgen resistance*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2006; 20:577-598.
- (11) Galani A et al. *Androgen insensitivity syndrome: clinical features and molecular defects*. Hormones 2008; 7:217-229.
- (12) Morris JM. *The syndrome of testicular feminization in male pseudohermaphrodites*. Am J Obstet Gynecol. 1953; 65: 1192-211.

- (13) Oakes MB et al. *Complete androgen insensitivity syndrome--a review*. J Pediatr Adolesc Gynecol 2008; 21:305-310.
- (14) Audi L et al. *Novel (60%) and recurrent (40%) androgen receptor gene mutations in a series of 59 patients with a 46,XY disorder of sex development*. J Clin Endocrinol Metab 2010; 95:1876-1888.
- (15) Zachmann M et al. *Pubertal growth in patients with androgen insensitivity: indirect evidence for the importance of estrogens in pubertal growth of girls*. J Pediatr 1986; 108:694-697.
- (16) Papadimitriou DT et al. *Puberty in subjects with complete androgen insensitivity syndrome*. Horm Res 2006; 65:126-131.
- (17) Bouvattier C et al. *Postnatal changes of T, LH, and FSH in 46,XY infants with mutations in the AR gene*. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87:29-32.
- (18) Bertelloni S et al. *Human chorionic gonadotropin (hcg) test in assessing androgen testicular secretion in boys: update*. Expert Review of Endocrinology & Metabolism 2010; 5:615-623.
- (19) Melo KF et al. *Clinical, hormonal, behavioral, and genetic characteristics of androgen insensitivity syndrome in a Brazilian cohort: five novel mutations in the androgen receptor gene*. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88:3241-3250.
- (20) Bertelloni S et al. *Biochemical selection of prepubertal patients with androgen insensitivity syndrome by sex hormone-binding globulin response to the human chorionic gonadotropin test*. Pediatr Res 1997; 41:266-271.
- (21) Krause A et al. *Applicability of the SHBG androgen sensitivity test in the differential diagnosis of 46,XY gonadal dysgenesis, true hermaphroditism, and androgen insensitivity syndrome*. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2004; 112:236-240.
- (22) Galani A et al. *Androgen insensitivity syndrome: clinical features and molecular defects*. Hormones 2008; 7:217-229.
- (23) Cools M et al. *Germ cell tumors in the intersex gonad: old paths, new directions, moving frontiers*. Endocr Re. 2006; 27:468-484.

- (24) Pleskacova J et al. *Tumor risk in disorder of sex development*. Sex Dev 2010; 4:259-269.
- (25) Deans R et al. *Timing of gonadectomy in adult women with complete androgen insensitivity syndrome (CAIS): patient preferences and clinical evidence*. Clin Endocrinol (Oxf). 2012; 76:894-898.
- (26) Warne GL et al. *Hormone therapies for individual with intersex conditions: protocol for use*. Treat Endocrinol 2005; 4:19-29.
- (27) Bertelloni S et al. *Disorder of sex development: hormonal management in adolescence*. Gynecol Endocrinol 2008; 24:339-346.
- (28) Bertelloni S et al. *Hormonal management of complete androgen insensitivity syndrome from adolescence onward*. Horm Res Paediatr 2011; 76:428-433.
- (29) Albright F et al. *Metabolic bone diseases*. In Albright MT and Reifenstein EC Parathyroid and Metabolic Bone Disease 1948; 145-204.
- (30) Venken K et al. *Sex hormones, their receptors and bone health*. Osteoporos Int 2008; 19:1517-1525.
- (31) Baroncelli GI and Bertelloni S. *The effects of sex steroids on bone growth*. In Orwoll E et al. Osteoporosis in Men, Elsevier 2009; 105-118.
- (32) Bertelloni S et al. *Bone Health in Disorder of Sex Differentiation*. Sex Dev 2010; 4:270-284.
- (33) Vanderschueren D et al. *Androgens and Bone*. Endocr Rev 2004; 25:389-425.
- (34) Sobel V et al. *Bone mineral density in the complete androgen insensitivity and 5 $\alpha$ -reductase-2 deficiency syndromes*. J Clin Endocrinol and Metab 2006; 91:3017-3023.
- (35) Cohen-Kettenis PT. *Psychosocial and psychosexual aspects of disorders of sex development*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2010; 24:325-334.
- (36) de Vries ALC et al. *Disorder of sex development and gender identity outcome in adolescence and adulthood: understanding gender identity*

- development and its clinical implications*. *Pediatric Endocrinol Reviews* 2007; 4:343-351.
- (37) Ismail I and Creighton S. *Surgery for intersex*. *Reviews in Gynecological Practice* 2005; 5:57-64;
- (38) Schönbucher V et al. *Sexual Quality of Life of Individuals with 46,XY Disorders of Sex Development*. *J Sex Med*. 2010.
- (39) Hines M et al. *Psychological outcomes and gender-related development in complete androgen insensitivity syndrome*. *Archives of Sexual Behavior* 2003; 32:93-101.
- (40) Brain CE et al. *Holistic management of DSD*. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010; 24:335-354.
- (41) Cacciari E et al. *Italian cross-sectional growth charts for height, weight and BMI (2 to 20 yr)*. *J Endocrinol Invest*. 2006; 29:581-93.
- (42) Boot A et al. *Bone Mineral Density in Children and Adolescents:Relation to Puberty, Calcium Intake, and Physical Activity*. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1997; 82:57-62.
- (43) Kroger H, Kotaniemi A, Kroger L, Alhava E. *Development of bone mass and bone density of the spine and femoral neck. A prospective study of 65 children and adolescents*. *Bone Miner* 1993;23:171–182.
- (44) Baroncelli GI et al. *Cross-sectional reference data for phalangeal quantitative ultrasound from early childhood to young-adulthood according to gender, age, skeletal growth, and pubertal development*. *Bone*. 2006; 39:159-73.
- (45) van der Sluis IM et al. *Reference data for bone density and body composition measured with dual energy x ray absorptiometry in white children and young adults*. *Arch Dis Child* 2002; 87:341–347.
- (46) Istat. <http://www.3istat.it/>. Ultima consultazione settembre 2011.
- (47) Istat. <http://www.3istat.it/it/> Dossier sulla condizione delle giovani adulte. Ultima consultazione settembre 2011.
- (48) <http://androgendb.mcgill.ca>.

- (49) Daniels SR and Greer FR. Committee on Nutrition. *Lipid screening and cardiovascular health in childhood*. Pediatrics. 2008 Jul;122(1):198-208. Review.
- (50) Minto CL et al. *XY female: revisiting the diagnosis*. BJORG 2005; 112:1407-1410.
- (51) Rauh M. *Steroid measurement with LC-MS/MS in pediatric endocrinology*. Molecular and Cellular Endocrinology 2009; 301:272-281.
- (52) Kulle AE, Riepe FG, Melchior D, Hiort O, Holterhus PM. *A novel ultrahigh pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of androstenedione, testosterone, and dihydrotestosterone in pediatric blood samples: age- and sex-specific reference data*. J Clin Endocrinol Metab. 2010 May;95(5):2399-409.
- (53) Gottlieb B et al. *The androgen receptor gene mutations database: 2012 update*. Hum Mutat. 2012; 33:887-894.
- (54) Achermann JC and Hughes IA. *Disorder of sexual development*. In Kronenberg HM et al. Williams Textbook of Endocrinology. 11<sup>th</sup> edizione 2008; 800-836.
- (55) Deeb A and Hughes IA. *Inguinal hernia in female infants: a cue to check the sex chromosomes*. BJU International 2005; 96:401-403.
- (56) Ministero della Salute. *Certificato di assistenza al parto (CeDAP). Analisi dell'evento nascite 2008*. [www.salute.gov.it](http://www.salute.gov.it).
- (57) Maisonet L. *Inguinal hernia*. Pediatric Rev 2003; 24:34-35.
- (58) Warne GL. *Long term outcome of disorder of sex development*. Sex Dev 2008; 2:268-277.
- (59) Bertelloni S et al. *Altered bone mineral density in patient with complete androgen insensitivity syndrome*. Horm Res 1998; 50:309-314.
- (60) Taes Y et al. *Estrogen-specific action on bone geometry and volumetric bone density: longitudinal observations in an adult with complete androgen insensitivity*. Bone 2009; 45:392-397.

- (61) Ferlin A et al. *Mutations in the insulin-like factor 3 receptor are associated with osteoporosis*. J Bone Miner Res 2008; 23:683-693.
- (62) Wunsch L et al. *Patients with disorders of sex development (DSD) at risk of gonadal tumour development: management based on laparoscopic biopsy and molecular diagnosis*. BJU international 2012; Epub ahead of print.
- (63) Hannema SE et al. *Testicular development in the complete androgen insensitivity syndrome*. J Pathol 2006; 208:518-527.
- (64) Hoei-Hansen CE, Rajpert-De Meyts E, Daugaard G, Skakkebaek NE. *Carcinoma in situ testis, the progenitor of testicular germ cell tumours: a clinical review*. Ann Oncol. 2005;16:863-868.
- (65) Wells JC. *Sexual dimorphism of body composition*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2007; 21:415-430.
- (66) Yanase T et al. *Androgens and metabolic syndrome: lessons from androgen receptor knock out (ARKO) mice*. J Steroid Biochem Mol Biol 2008; 109:254-257.
- (67) Wisniewski AB and Mazur T. *46,XY DSD with Female or Ambiguous External Genitalia at Birth due to Androgen Insensitivity Syndrome, 5alpha-Reductase-2 Deficiency, or 17beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Deficiency: A Review of Quality of Life Outcomes*. Int J Pediatr Endocrinol. 2009; 567430.
- (68) Deans R, Berra M, Creighton SM. *Management of vaginal hypoplasia in disorders of sexual development: surgical and non-surgical options*. Sex Dev. 2010; 4:292-299.
- (69) Lia LM et al. *Service users' experiences of obtaining and giving information about disorders of sex development*. BJOG 2010; 117:193-199.
- (70) Lux A et al. *Clinical evaluation study of the German network of disorders of sex development (DSD)/intersexuality: study design, description of the study population, and data quality*. BMC Public Health. 2009; 21:9:110.