



Dipartimento Pediatrico Universitario Ospedaliero



Bambino Gesù
OSPEDALE PEDIATRICO

Università Tor Vergata

Marco Cappa

I DISTURBI DELLA DIFFERENZIAZIONE SESSUALE: LA GENETICA

NOVITA' IN ENDOCRINOLOGIA PEDIATRICA
Dalla clinica alla genetica

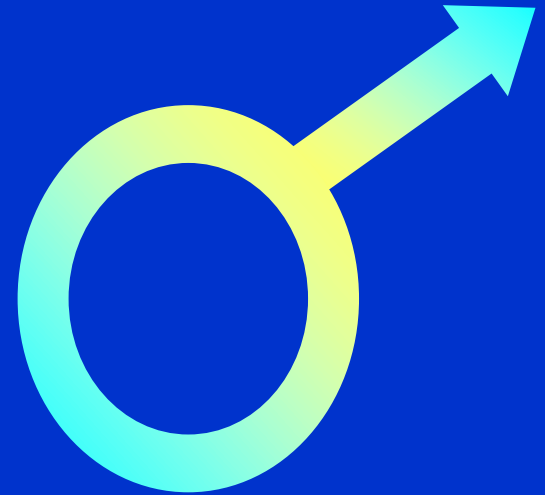
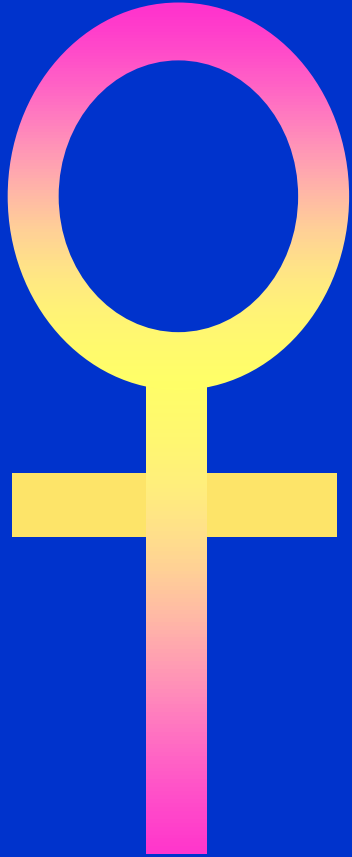
Cagliari, 14 maggio 2016

Aula Thun

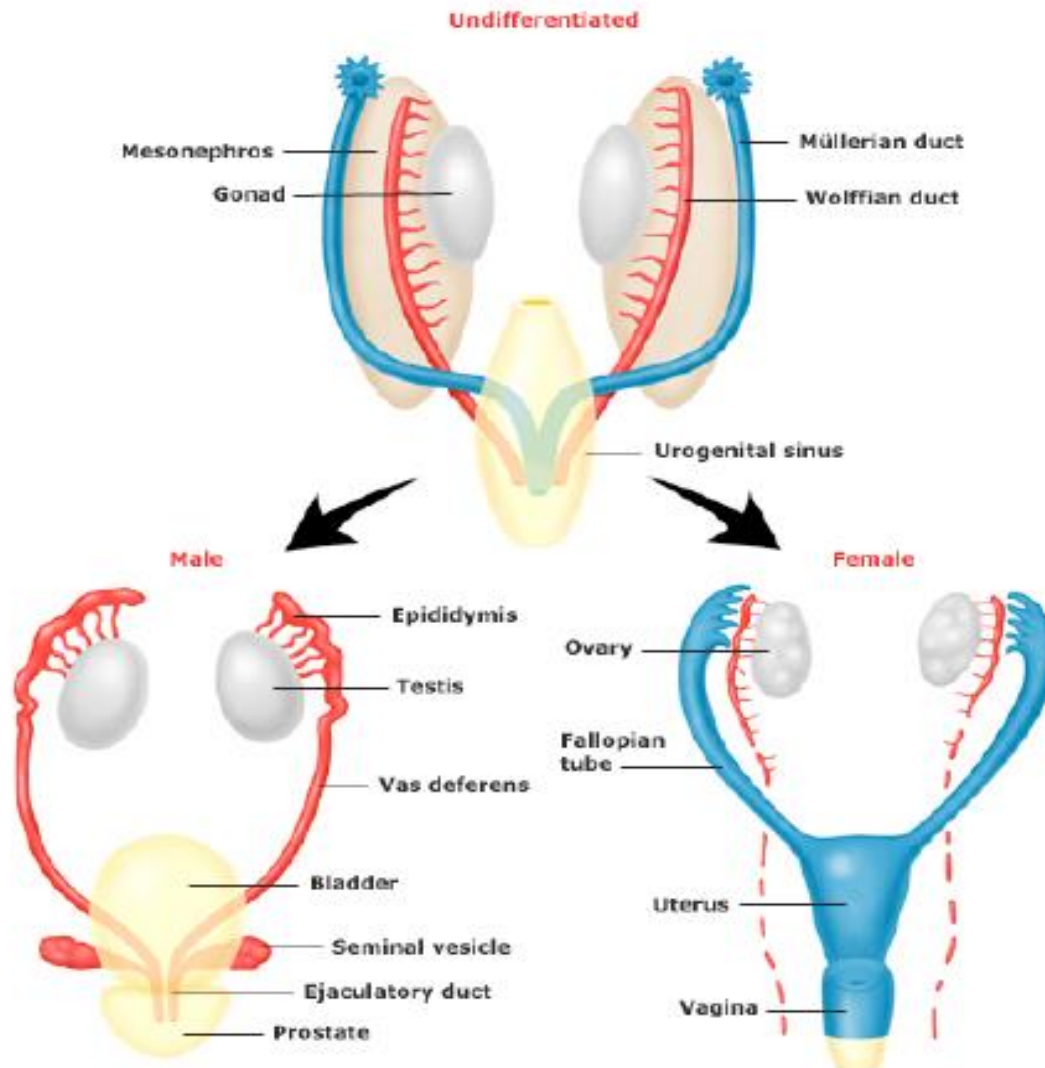
Ospedale Pediatrico Microcitemico "A. Cao"



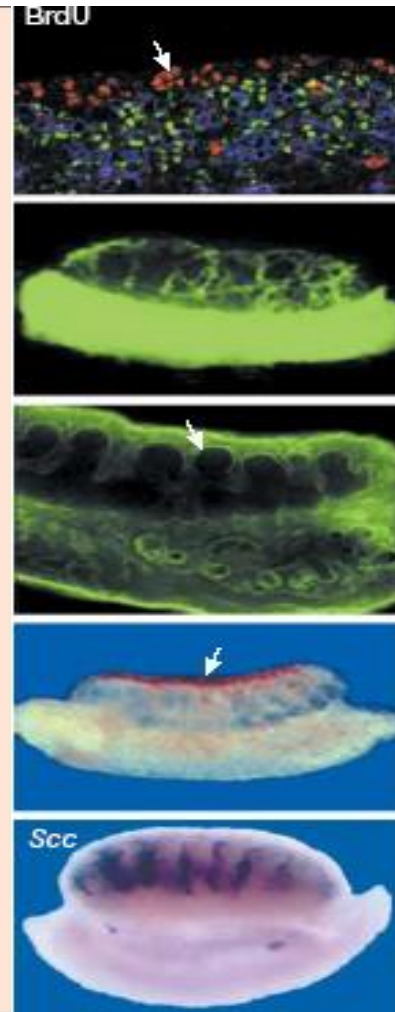
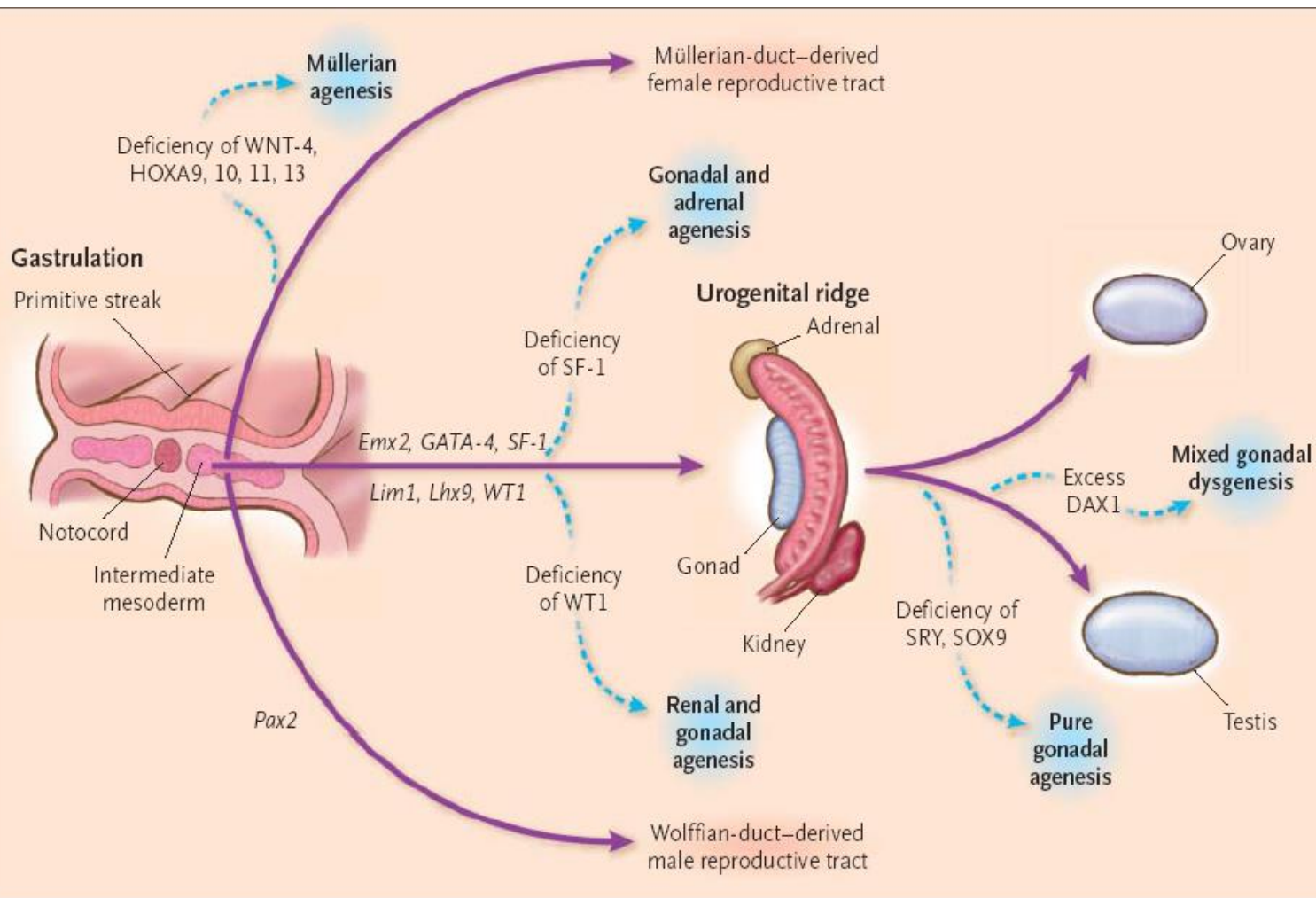




Sex Development

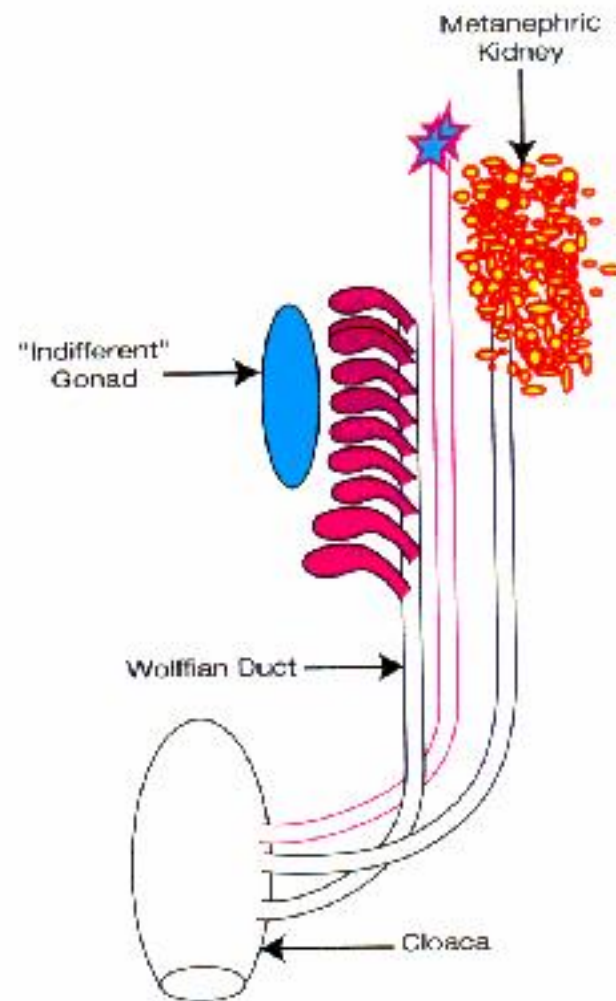


Development of gonads



Sviluppo della gonade bipotente

- 2 fasi:
 - emergenza della gonade bipotente (“genital ridge”), identica in M e F
 - sviluppo di testicolo e ovaio, innescato dalla espressione e funzione di *SRY*
- gonadi bipotenti: strutture pari nel mesoderma intermedio: 3 segmenti:
 - pronefro
 - mesonefro (\Rightarrow gonadi)
 - metanefro (\Rightarrow reni)



(32 days p.c.)

mesoderma →

gonade bipotenziale

SRY

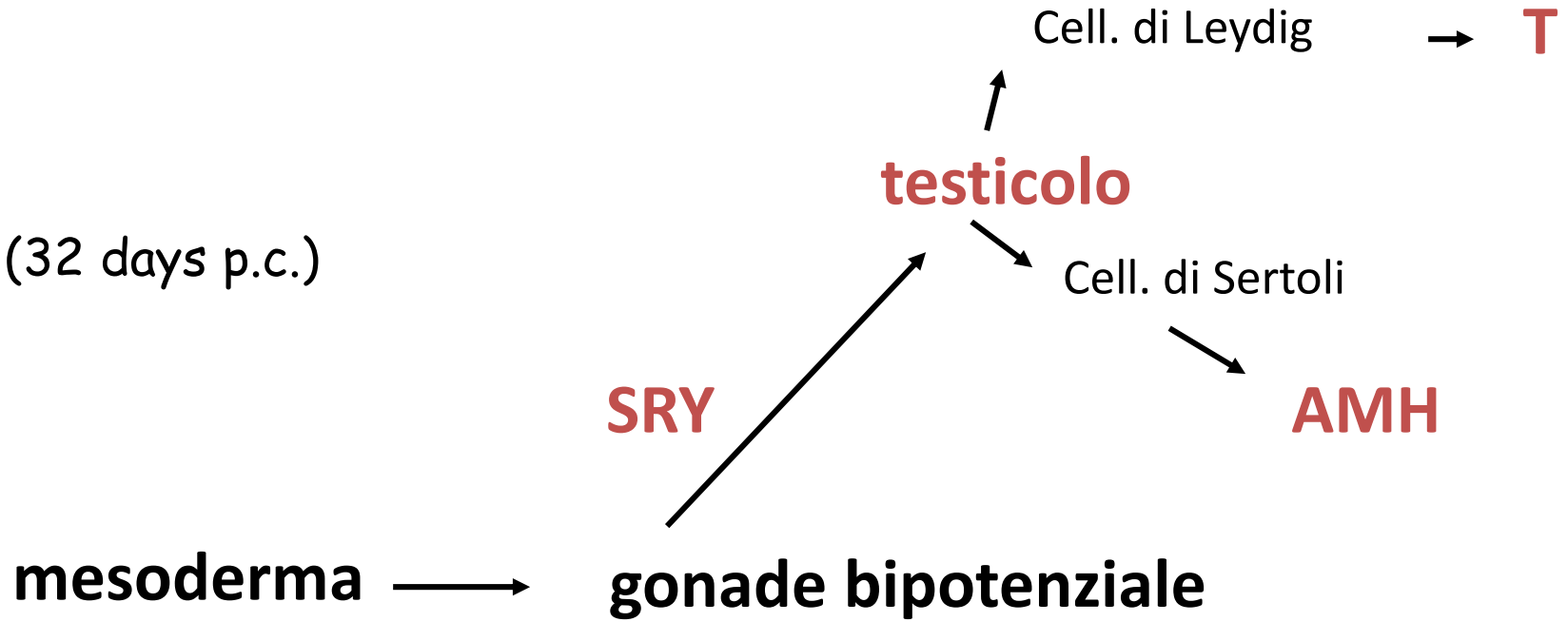
testicolo

Cell. di Leydig

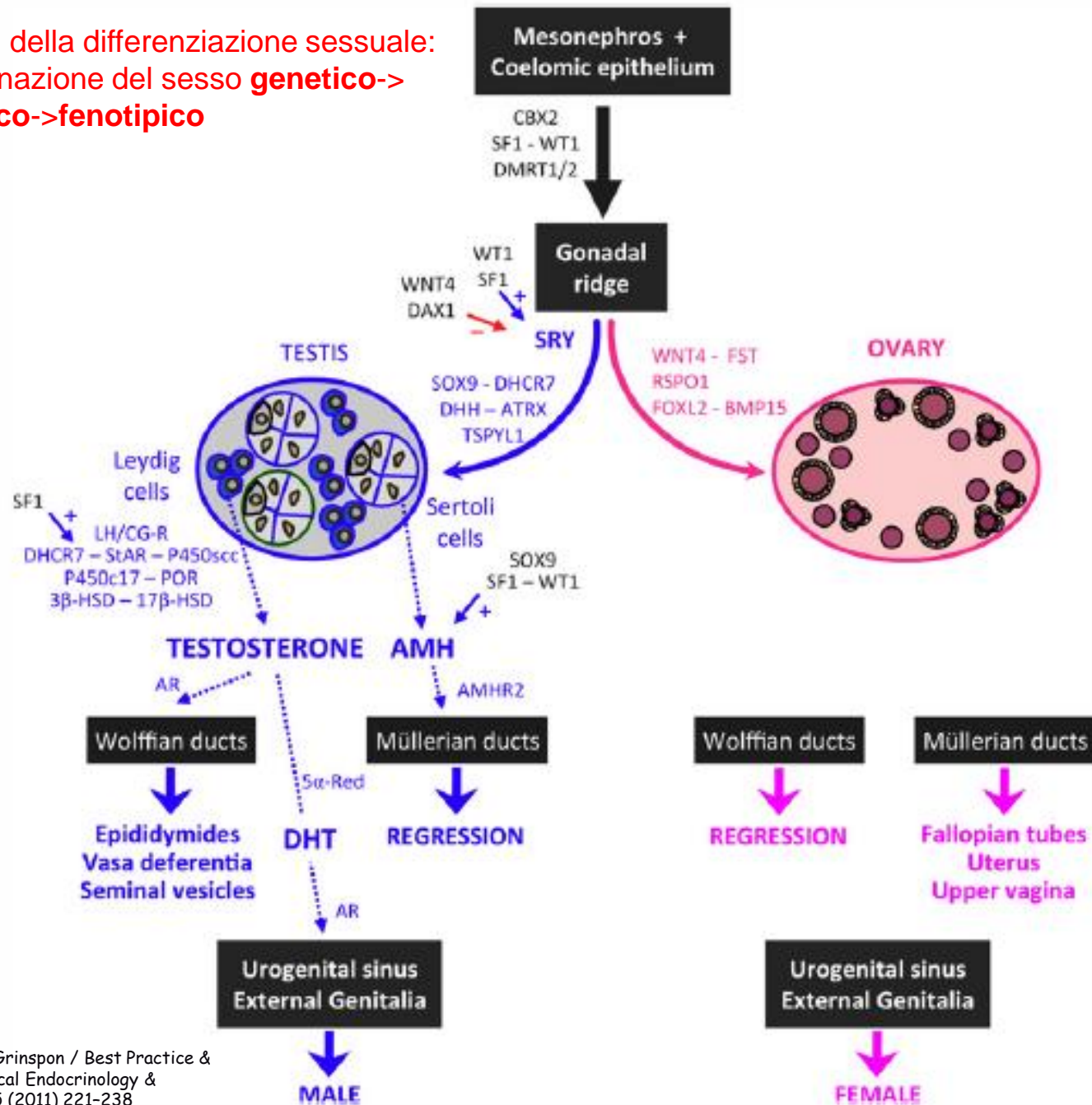
→ T

Cell. di Sertoli

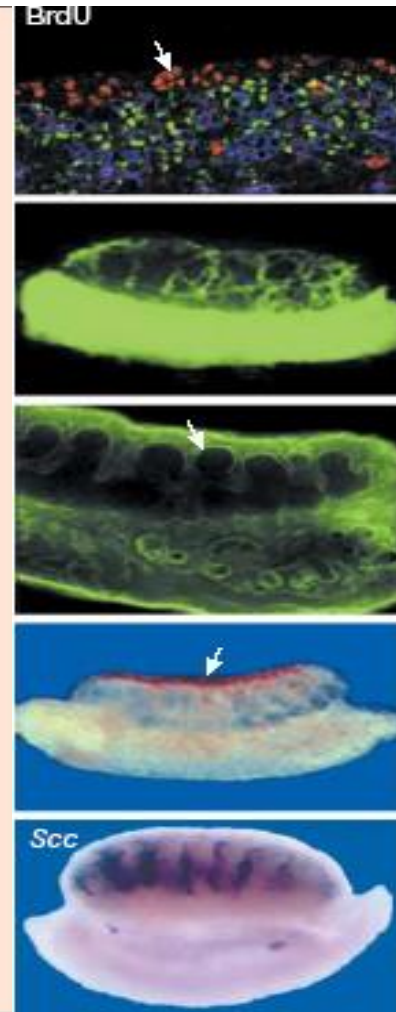
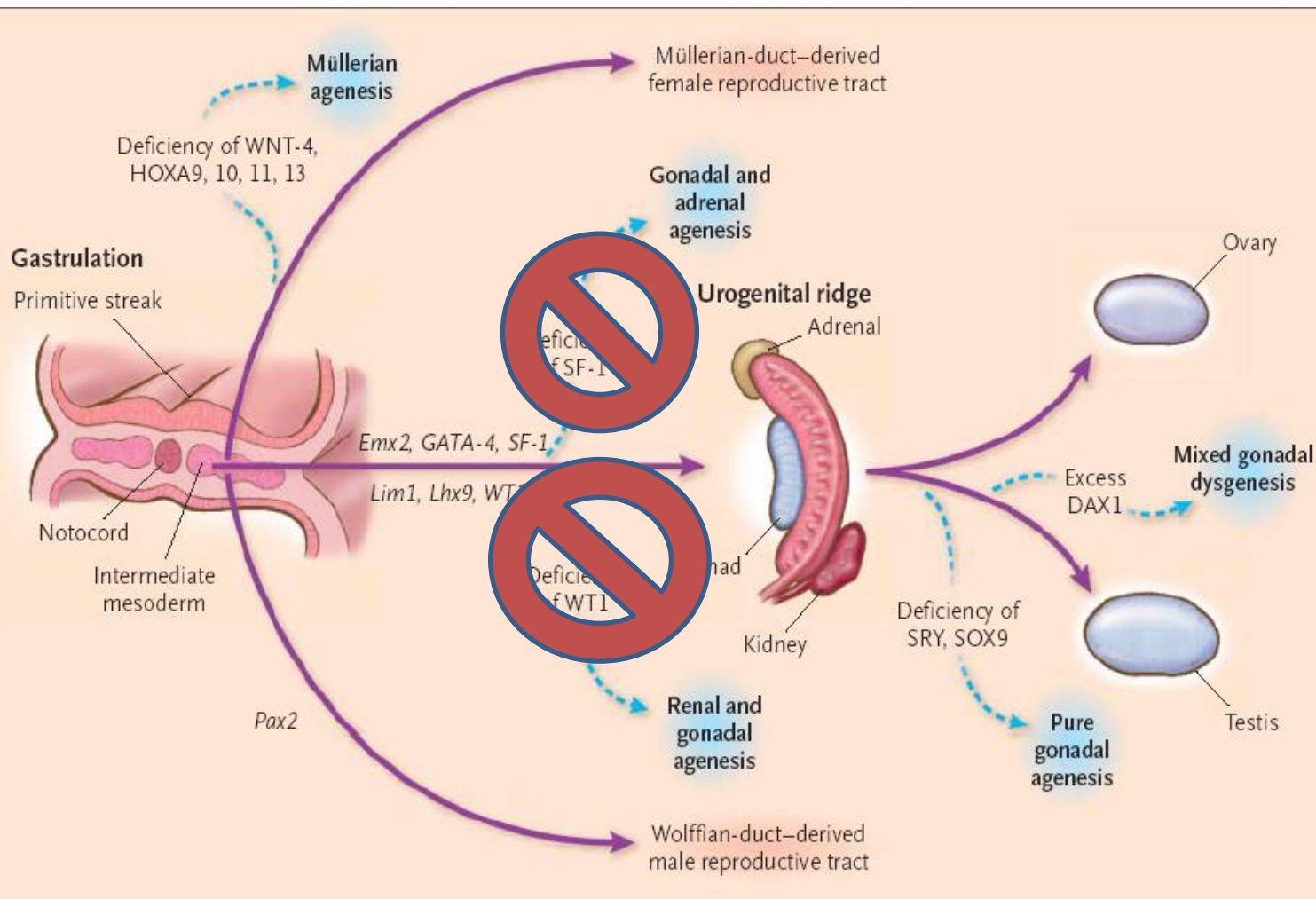
AMH



I 3 stadi della differenziazione sessuale:
determinazione del sesso **genetico**->
gonadico->**fenotipico**



Development of gonads

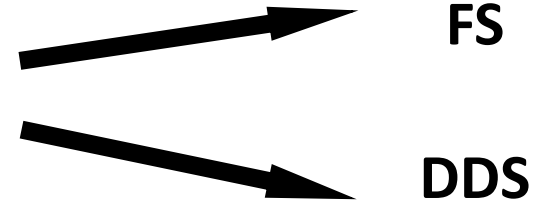


S. di Frasier**S. Di Denys-Drash****WAGR**

SVILUPPO GONADICO	<ul style="list-style-type: none">- inversione sessuale completa-gonadi a benderella	pseudoermafroditismo con ambiguità genitali di vario grado	ipospadia e criptorchidismo
NEFROPATIA	<ul style="list-style-type: none">- sclerosi glomerulare segmentaria focale- IR giovanile (10-20 aa)	<ul style="list-style-type: none">- sclerosi mesangiale diffusa- IR precoce (entro 2 aa)	IR giovanile (10-20 aa)
RISCHIO TUMORALE	Alto rischio di gonadoblastoma dalle gonadi a benderella	alto rischio di WT (entro 5 aa)	alto rischio di WT (entro 5 aa)
ALTRE ANOMALIE CONGENITE			<ul style="list-style-type: none">- aniridia- ritardo mentale

Nell'uomo:

- **mutazioni** germinali in eterozigosi



- **delezioni** germinali in eterozigosi



- **del/mut** somatiche o germinali sporadiche,
in eterozigosi o con LOH



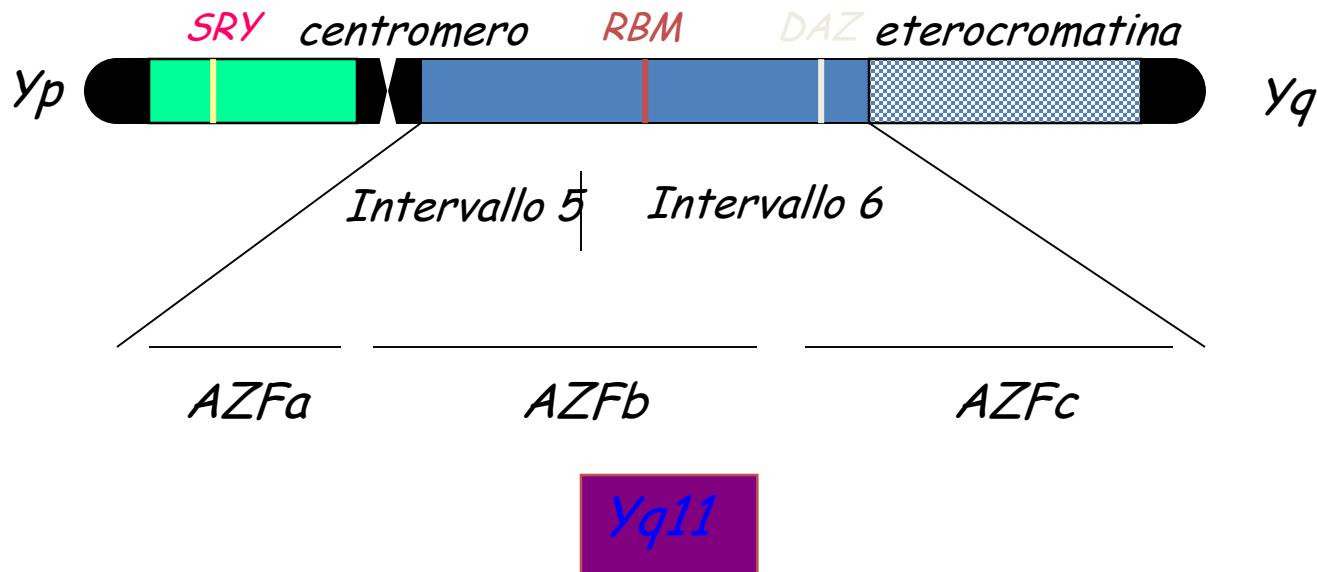
SRY : SEX-DETERMINING REGION OF THE Y

FENOTIPI PATOLOGICI NELL'UOMO

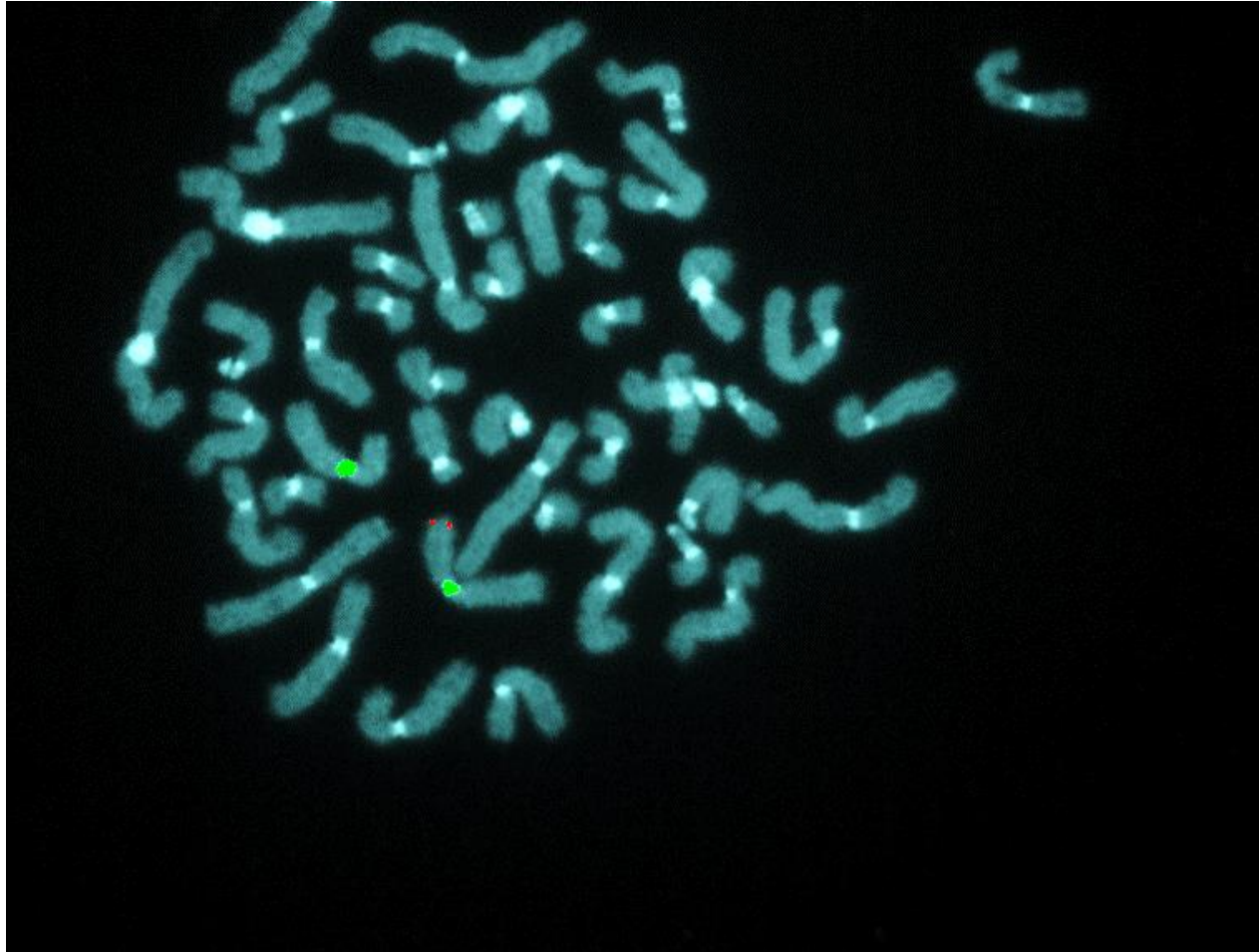
46 XY femmine:

- **mutazioni** in SRY identificate nel **15-20%** di pazienti con reversione sessuale completa o parziale
- i pazienti con **inversione sessuale completa** hanno gonadi streak bilaterali composte da residui embrionali
- i pazienti con **disgenesia gonadica parziale** hanno fenotipo ambiguo, con gonadi streak da un lato e testicolo spesso malformato dall'altro. Raramente le gonadi sono bilaterali, con porzione streak ad un polo e testicolo disgenetico dall'altro

Cromosoma Y

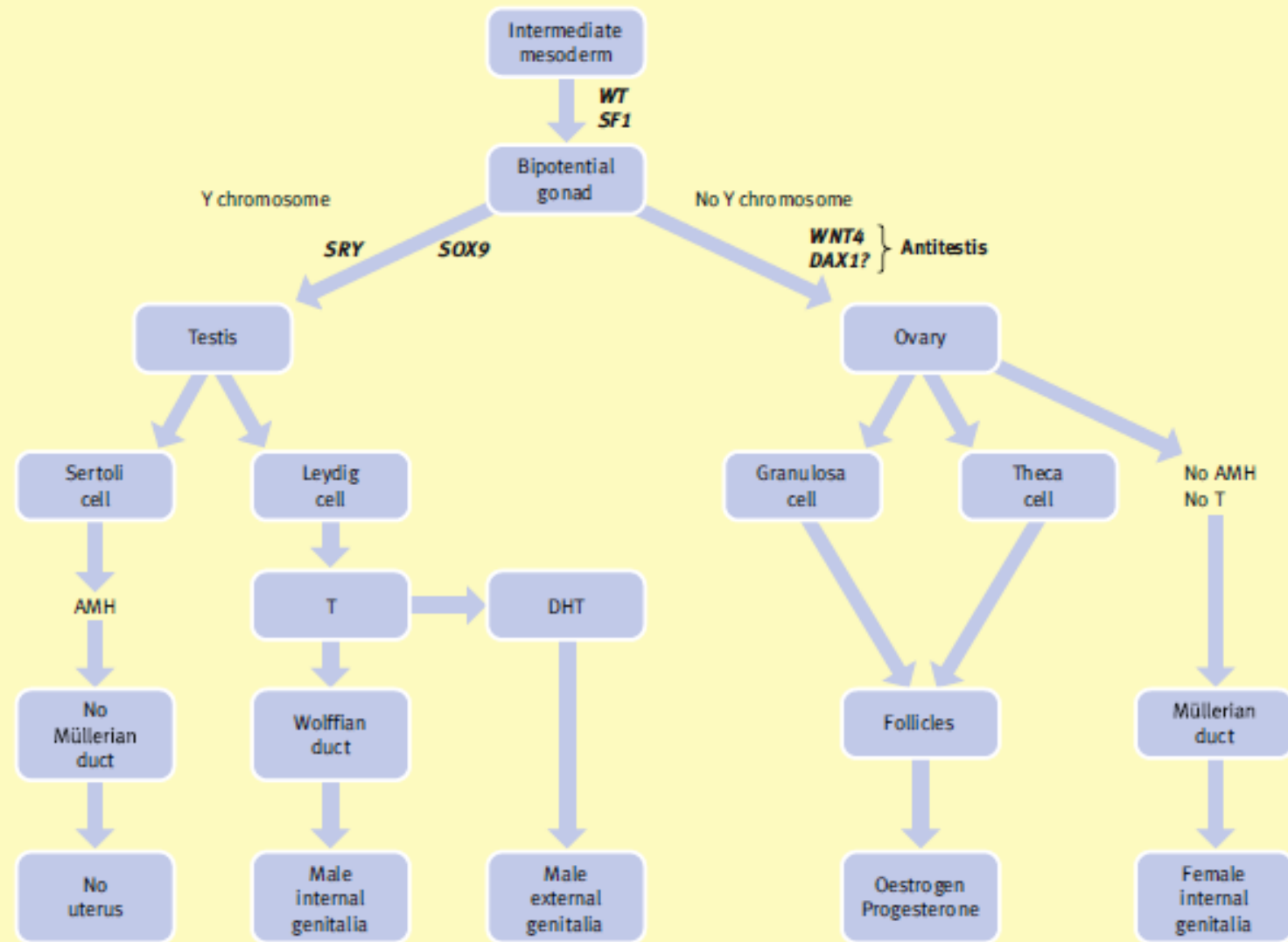


Laboratorio di citogenetica e genetica molecolare



Fish α X/sry

Embryology of sex development



AMH, anti-Müllerian hormone; T, testosterone; DHT, dihydrotestosterone

Woodward M. Paediatric Surgery 2010

GENI COINVOLTI NELLA DETERMINAZIONE SESSUALE

Cresta genitale

Wt1, WT1
Sf1, SF1
Lim1
Emx2
Lhx9

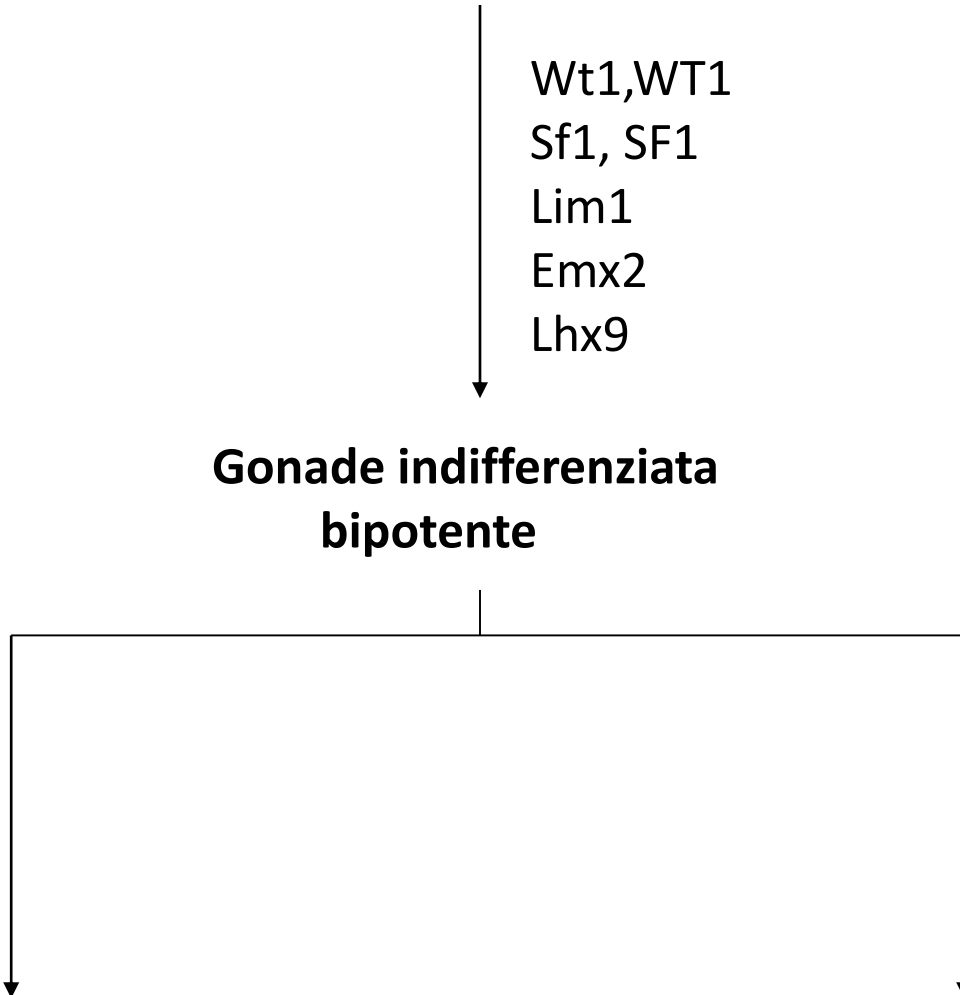
**Gonade indifferenziata
bipotente**

M33
SRY
SOX9
WT1
SF1
DMRT1,2
Fgf9

DAX1
Wnt4

testicolo

ovaio



HCG/LH



testicolo

StAR
P450scc
P450c17
17 β HSD

c. di Leydig



testosterone

5 α R



DHT



recettore degli androgeni



virilizzazione

c. di Sertoli



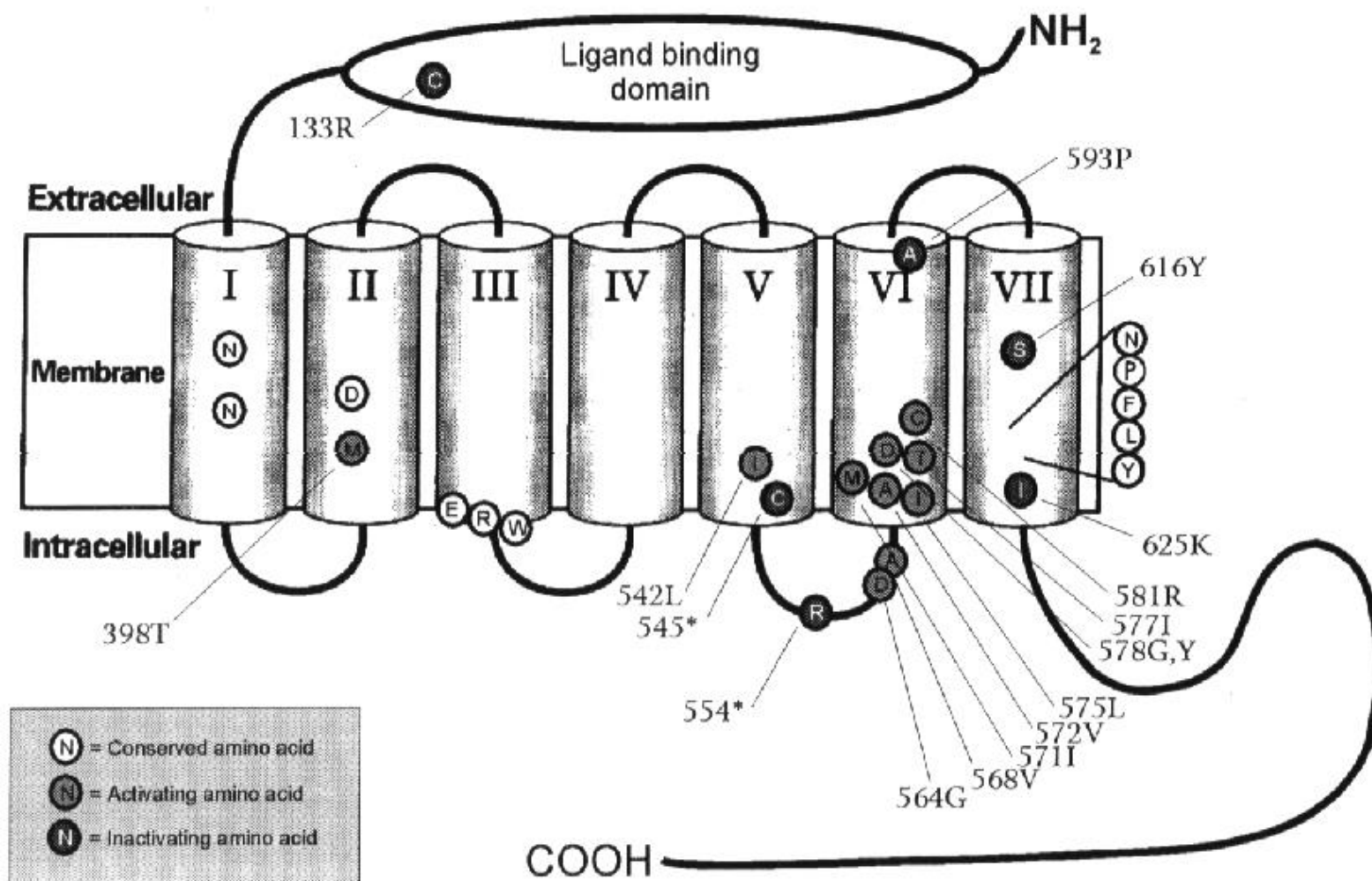
AMH



regressione
dei dotti di
Müller

Mutazioni attivanti e inattivanti del LHR.

(Mutazioni attivanti: cerchietti grigio-chiaro; inattivanti: cerchietti grigio-scuro)



(da Themmen et al 1999)

Mutazioni di LHR

- Inattivanti → resistenza a LH → agenesia delle cellule di Leydig e insufficiente produzione di A
 - vari fenotipi nel maschio, da inversione sessuale completa ad ambiguità genitali di vario grado a micropene isolato
 - mutazioni + frequentemente nel dominio transmembrana
- attivanti → iperplasia delle c. di Leydig
 - testotossicosi familiare: pseudopubertà precoce

HCG/LH



c. di Leydig



testosterone

StAR
P450scc
P450c17
17 β HSD

HCG/LH



StAR
P450scc
P450c17
17 β HSD

c. di Leydig



testosterone

5 α R



DHT



recettore degli androgeni



virilizzazione

HCG/LH



testicolo

StAR
P450scc
P450c17
17 β HSD

c. di Leydig



testosterone

5 α R



DHT



recettore degli androgeni



virilizzazione

c. di Sertoli



AMH



regressione
dei dotti di
Müller

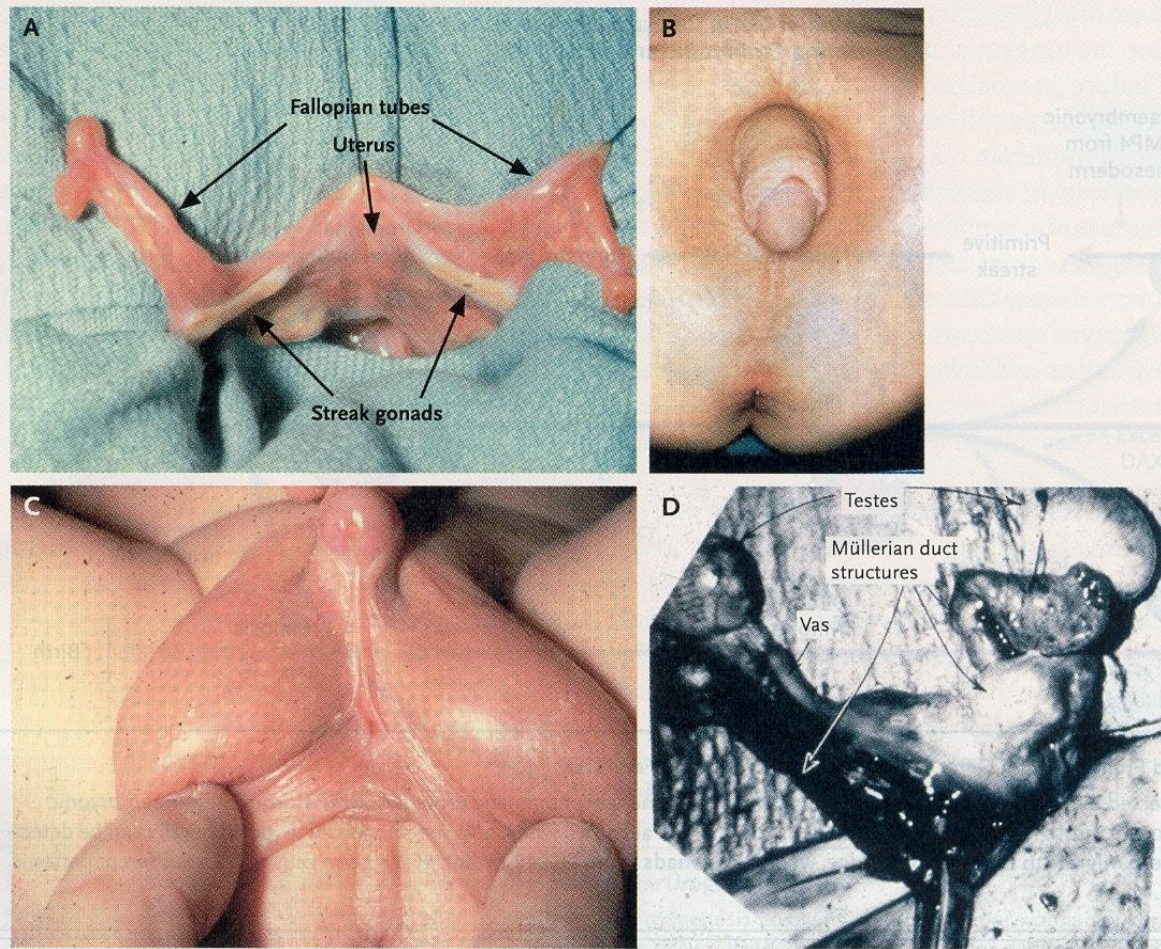
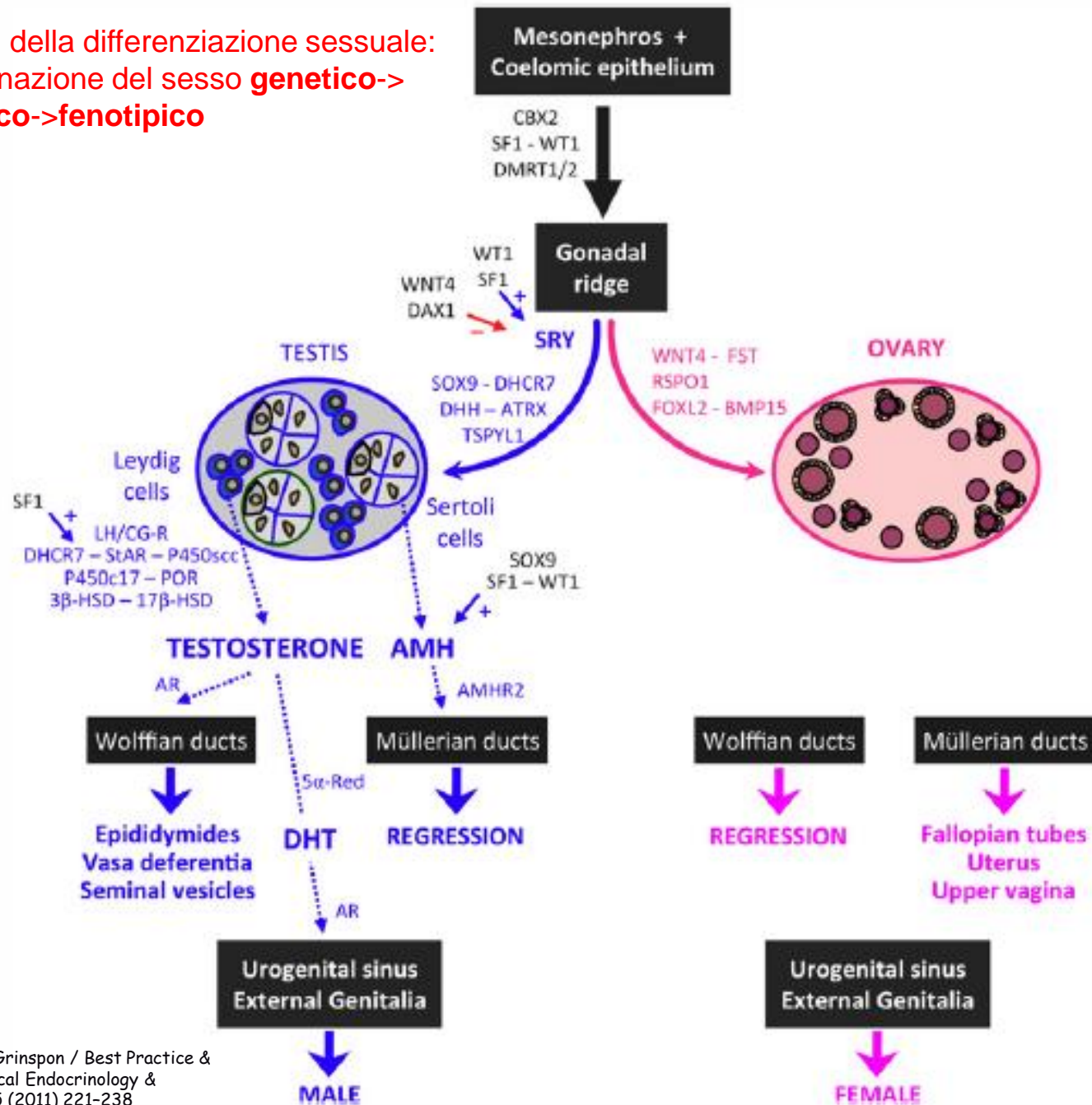


Figure 1. Clinical Examples of Intersex Abnormalities.

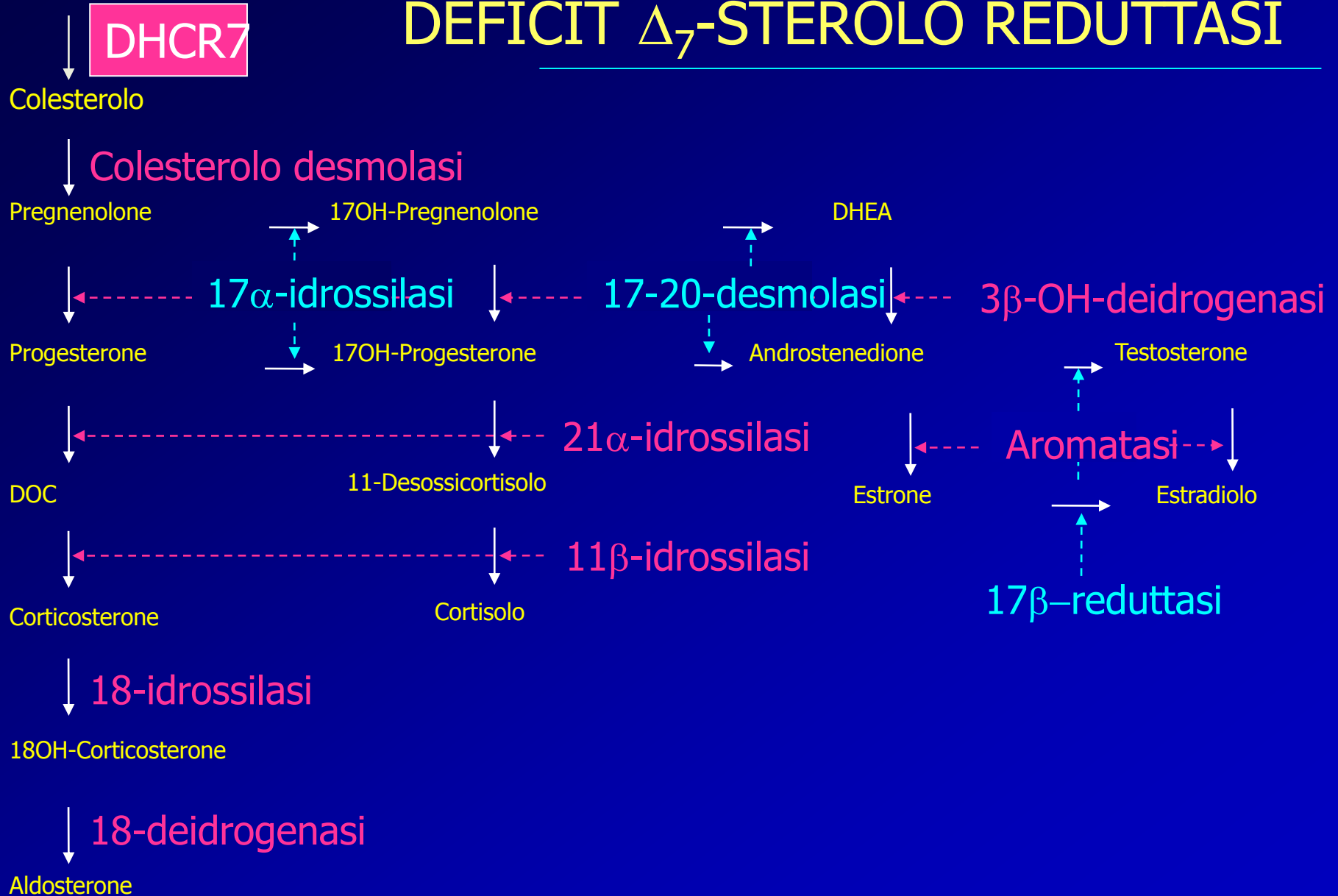
Panel A shows the internal structures of a 46,XY patient with pure gonadal dysgenesis. There are bilateral streak gonads with retained müllerian structures, fallopian tubes, and a midline uterus. Panel B shows severe clitoral hypertrophy caused by masculinization of the external genitalia of a 46,XX patient with female pseudohermaphroditism caused by congenital adrenal hyperplasia. Panel C shows incomplete masculinization of the external genitalia of a 46,XY patient with male pseudohermaphroditism. There is a microphallus with perineoscrotal hypospadias and bifid and prepenile scrota. Panel D shows internal genitalia of a 46,XY patient with persistent müllerian duct syndrome. There are müllerian structures (i.e., fallopian tubes and uterus) as well as wolffian structures (i.e., the vas deferens and epididymis). Panel B is reprinted from Donahoe and Crawford¹ with the permission of the publisher.

I 3 stadi della differenziazione sessuale:
determinazione del sesso **genetico**->
gonadico->**fenotipico**



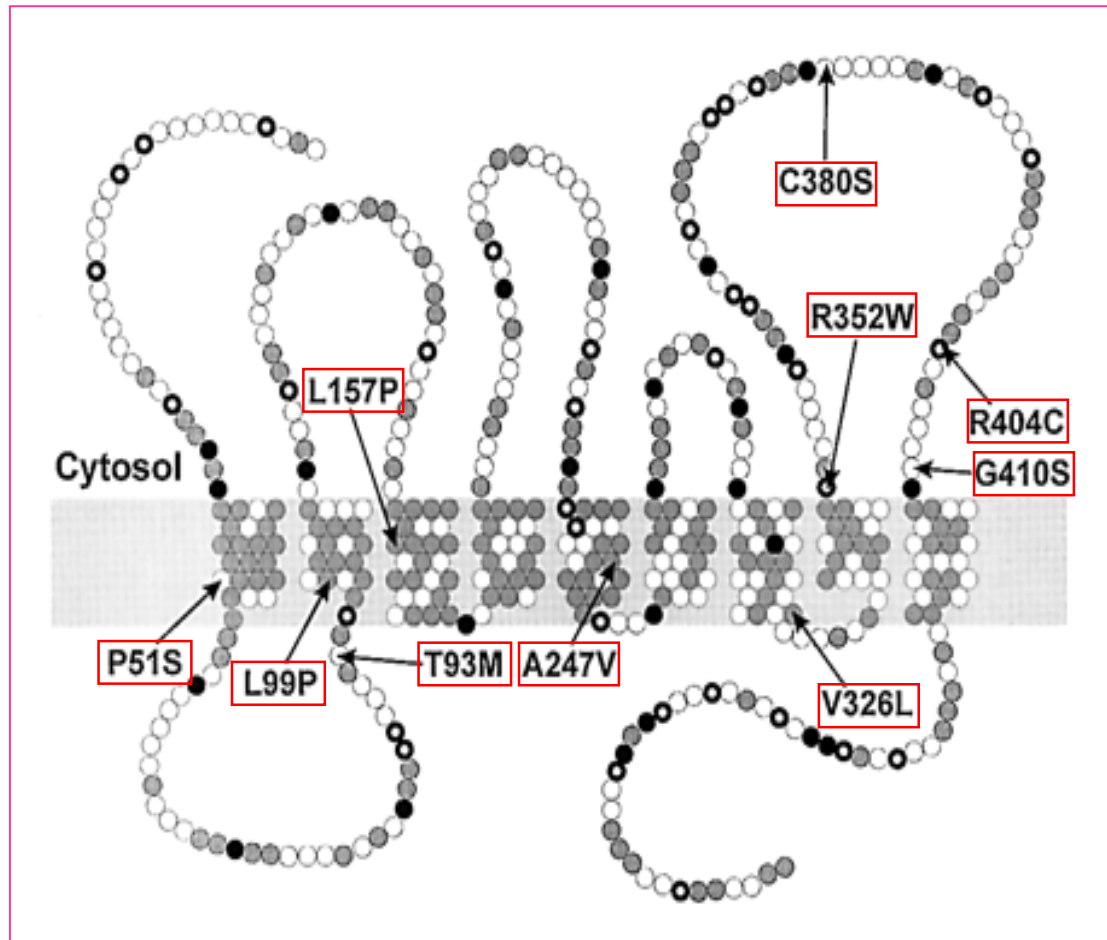
7-DEIDROCOLESTEROLO

DEFICIT Δ_7 -STEROLO REDUTTASI



SINDROME DI SMITH-LEMLI-OPITZ

Alcune mutazioni identificate (regione cromosomiale 11q13)



DEFICIT DI 21α -IDROSSILASI

Colesterolo

↓ Colesterolo desmolasi

Pregnenolone → 17OH-Pregnenolone → DHEA

↓ 17 α -idrossilasi ↓ 17-20-desmolasi ↓ 3 β -OH-deidrogenasi

Progesterone → 17OH-Progesterone → Androstenedione → Testosterone

↓ CYP21 ↓

DOC 11-Desossicortisolo

↓ 11 β -idrossilasi

Corticosterone

Cortisolo

↓ 18-idrossilasi

18OH-Corticosterone

↓ 18-deidrogenasi

Aldosterone

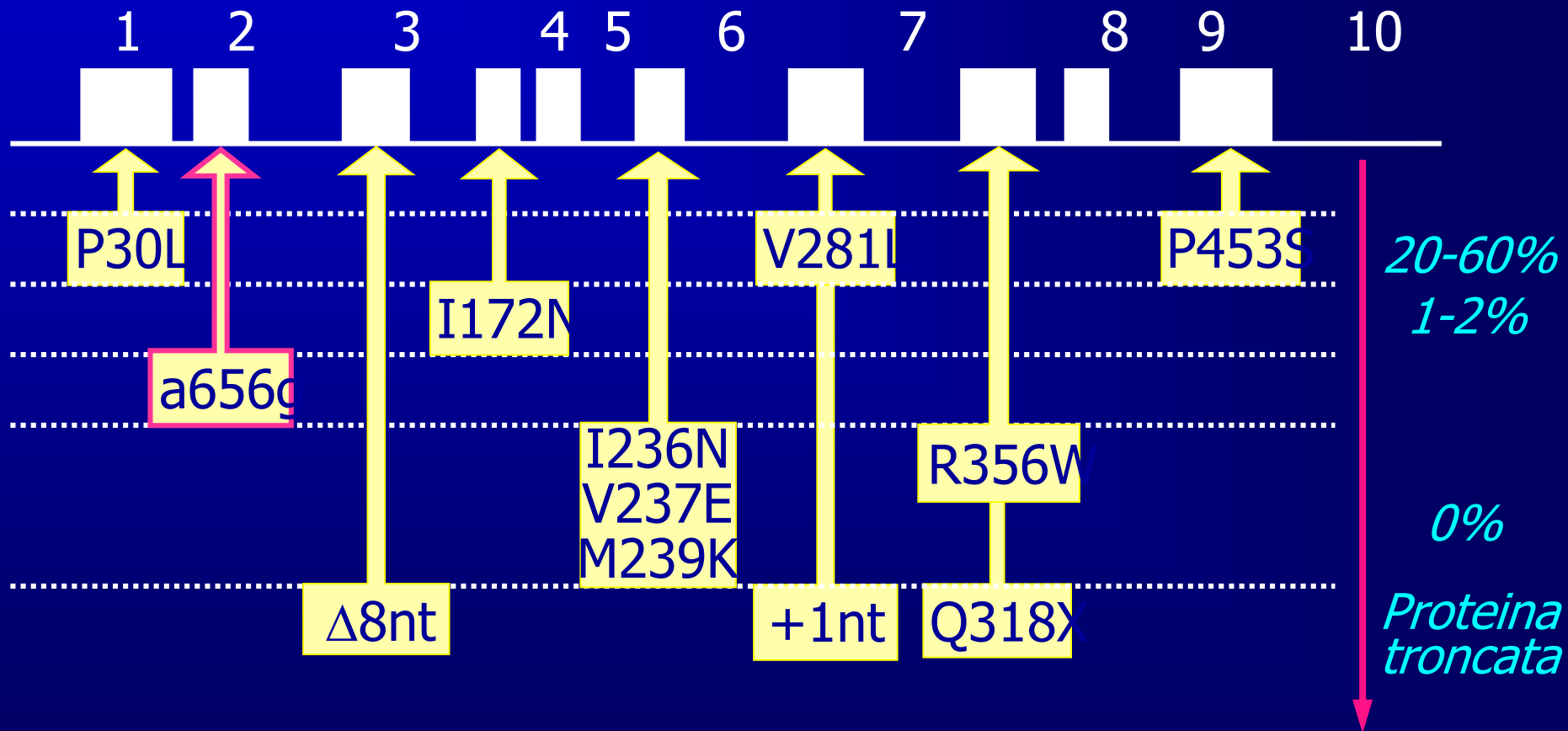
↓ Aromatasi ↓

Estrone → Estradiolo

17 β -reduttasi

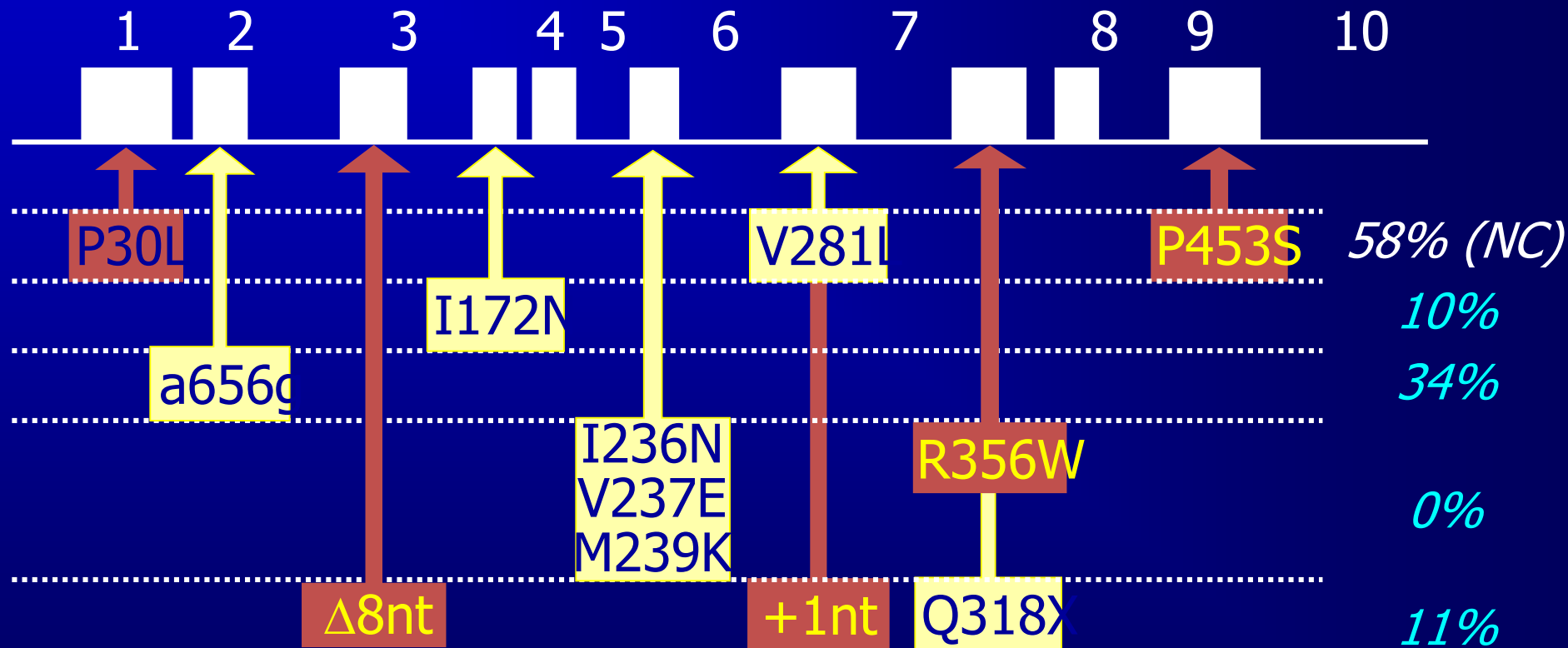
DEFICIT DI 21 α -IDROSSILASI

Mutazioni più frequenti nella popolazione americana



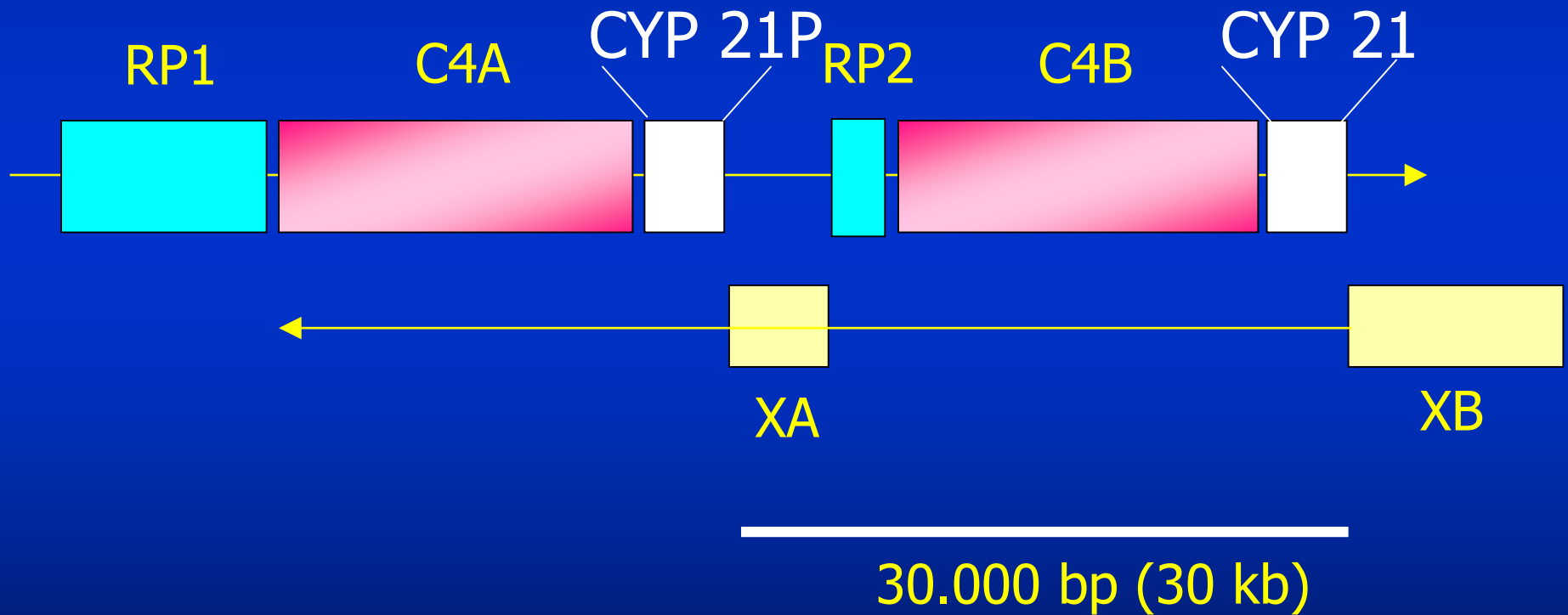
DEFICIT DI 21 α -IDROSSILASI

Mutazioni più frequenti nella popolazione italiana



DEFICIT DI 21 α -IDROSSILASI

REGIONE CROMOSOMIALE 6p21.3



Mutazioni più frequenti CYP21

Esone/ Introne	Tipo di mutazione	Mutazione	Fenotipo	Gravità deficit enzimatico	Riferimenti
1. Mutazioni della forma Non-classica (NC = non classica)					
Esone 1	Mutazione missense	P30L	NC	Mild (30-60%)	Tusie-Luna, 1991
Esone 7	Mutazione missense	V281L	NC	Mild (20-50%)	Speiser, 1998
Esone 8	Mutazione missense	R339H	NC	Mild (20-50%)	Helmberg, 1992
Esone 10	Mutazione missense	P453S	NC	Mild (20-50%)	Helmberg, 1992; Owerbach, 1992
2. Mutazioni della forma Classica (SV = virilizzazione Semplice; SW = perdita salina)					
Delezione	Delezione 30-Kb	-	SW	Severe (0%)	White, 1984
Introne 2	Splicing aberrante	656 A/C-G	SW, SV	Severe (ND)	Higashi, 1988
Esone 3	Introne 2	G110 Δ 8 nt	SW	Severe (0%)	White, 1994
Esone 4	Delezione otto basi	I172N	SV	Severe (1%)	Amor, 1988; Tusie-Luna, 1990
Esone 6	Mutazione missense	I1236N, V237E, M239K	SW	Severe (0%)	Amor 1988; Tusie-Luna, 1990
Esone 8	Mutazioni Cluster	Q318X	SW	Severe (0%)	Globerman, 1988
Esone 8	Mutazioni nonsense	R356W	SW, SV	Severe (0%)	Chiou, 1990
Esone 10	Mutazioni missense	R483P	SW	Severe (1-2%)	Wedell, 1993

21 β -idrossilasi: genotipo/fenotipo

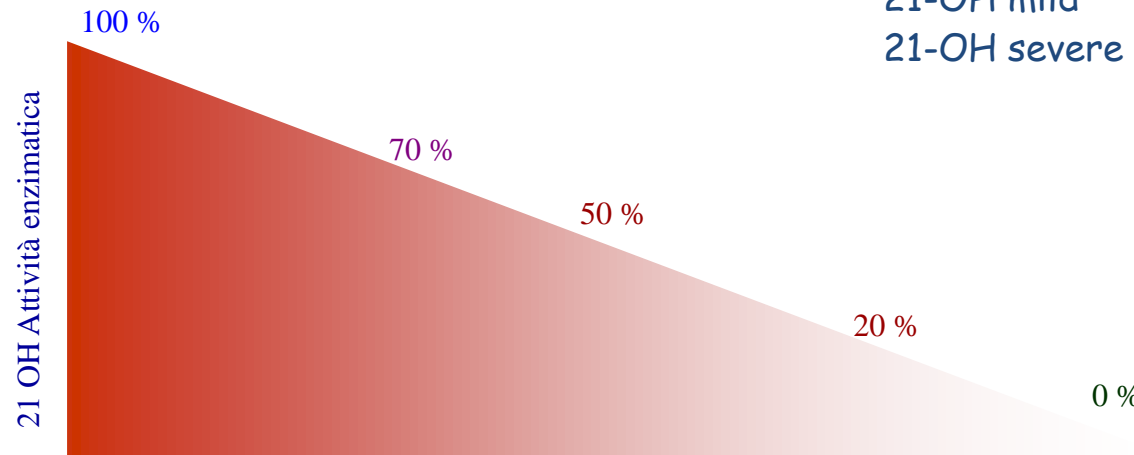
GENOTIPO

3 differenti forme alleliche:

21-OH normal

21-OH mild

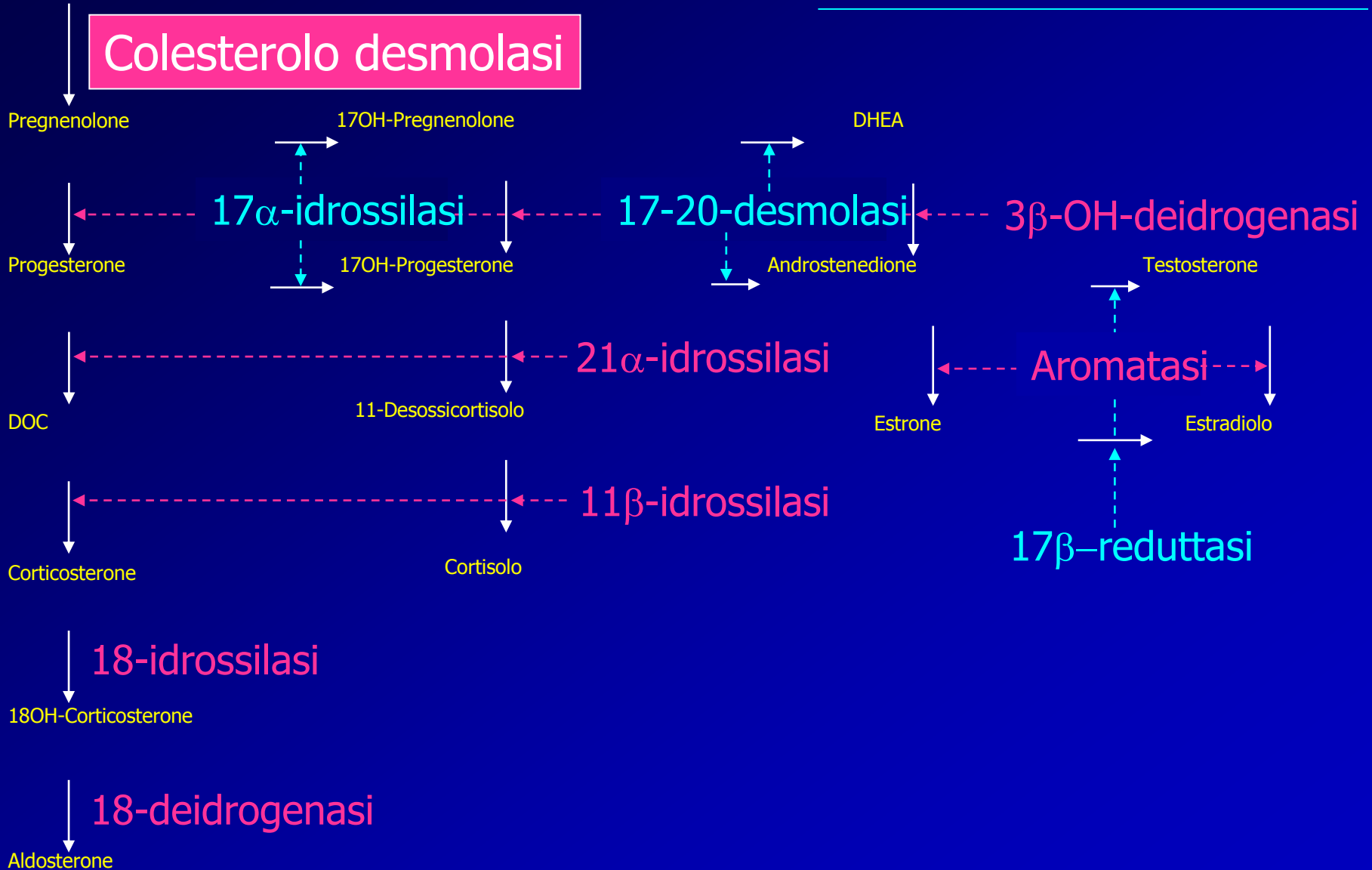
21-OH severe



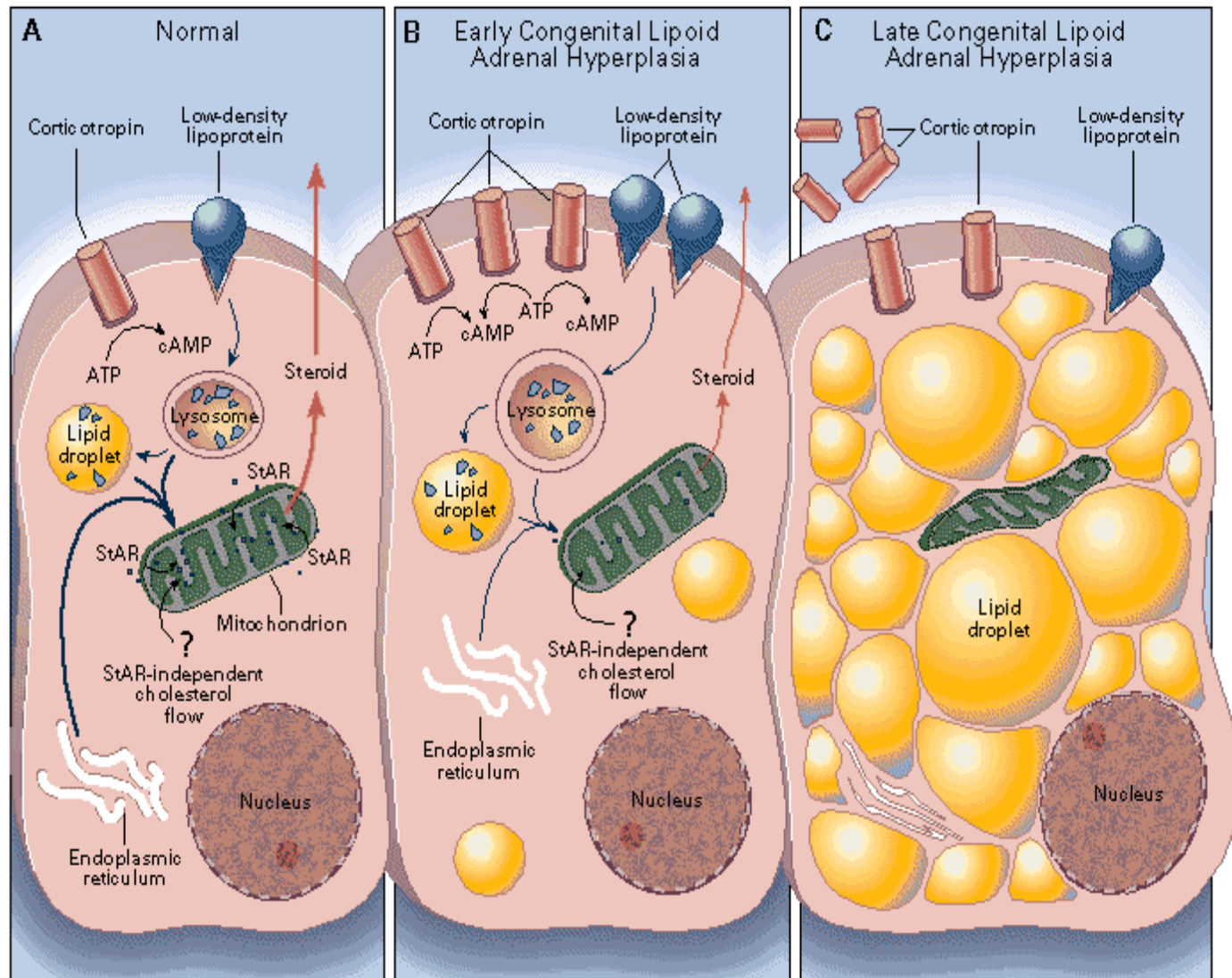
GENOTIPO	21OH normal 21OH normal	21OH normal 21OH mild	21OH normal 21OH severe	21OH mild 21OH mild	21OH mild 21OH severe	21OH severe 21OH severe
FENOTIPO	NORMALE	ETEROZIGOSI	FORMA NON CLASSICA	FORMA CLASSICA		
MALATTIA	NO	NO	SI	SI		

CAH LIPOIDEA

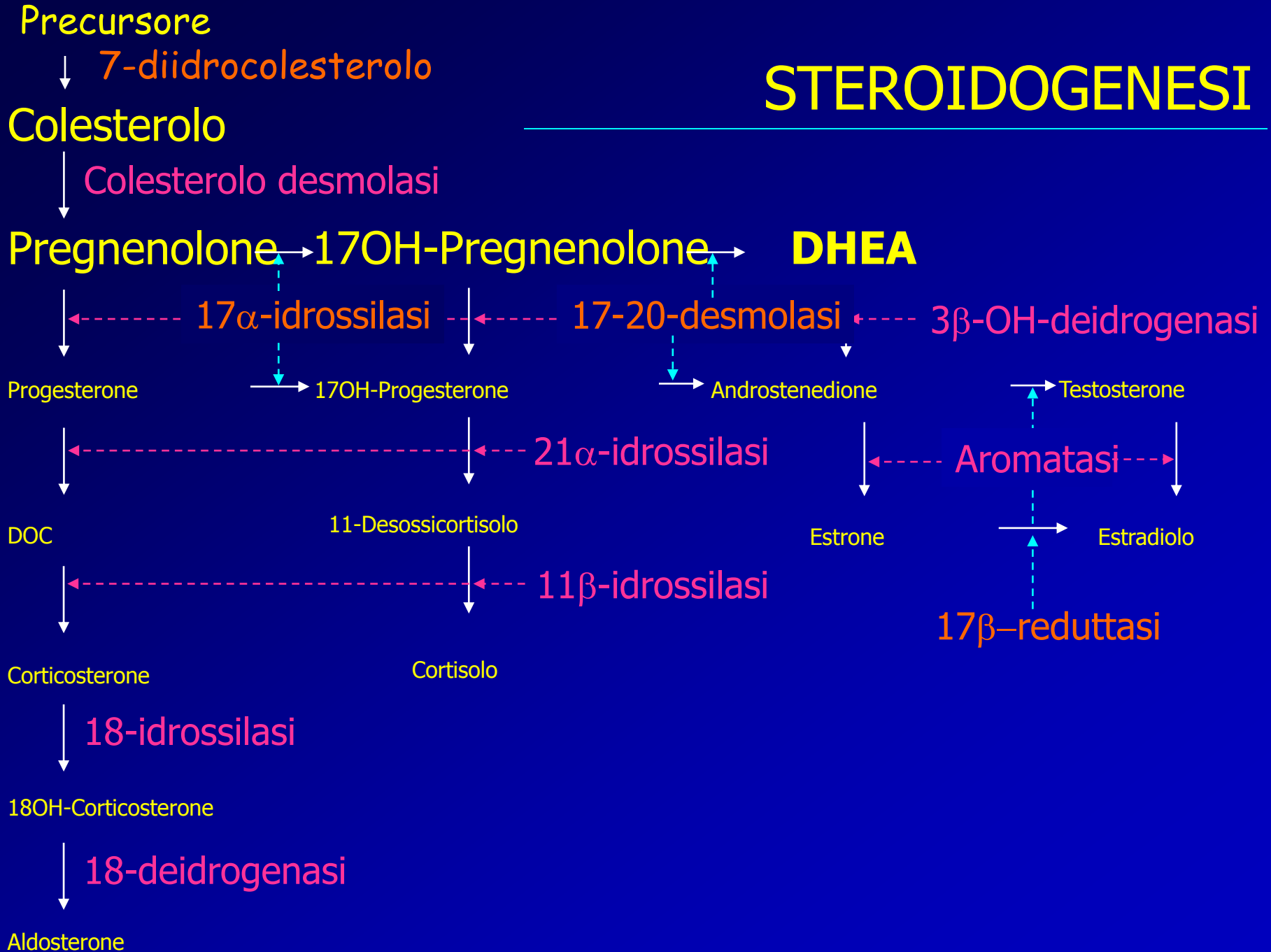
Colesterolo



RUOLO DELLA PROTEINA StAR

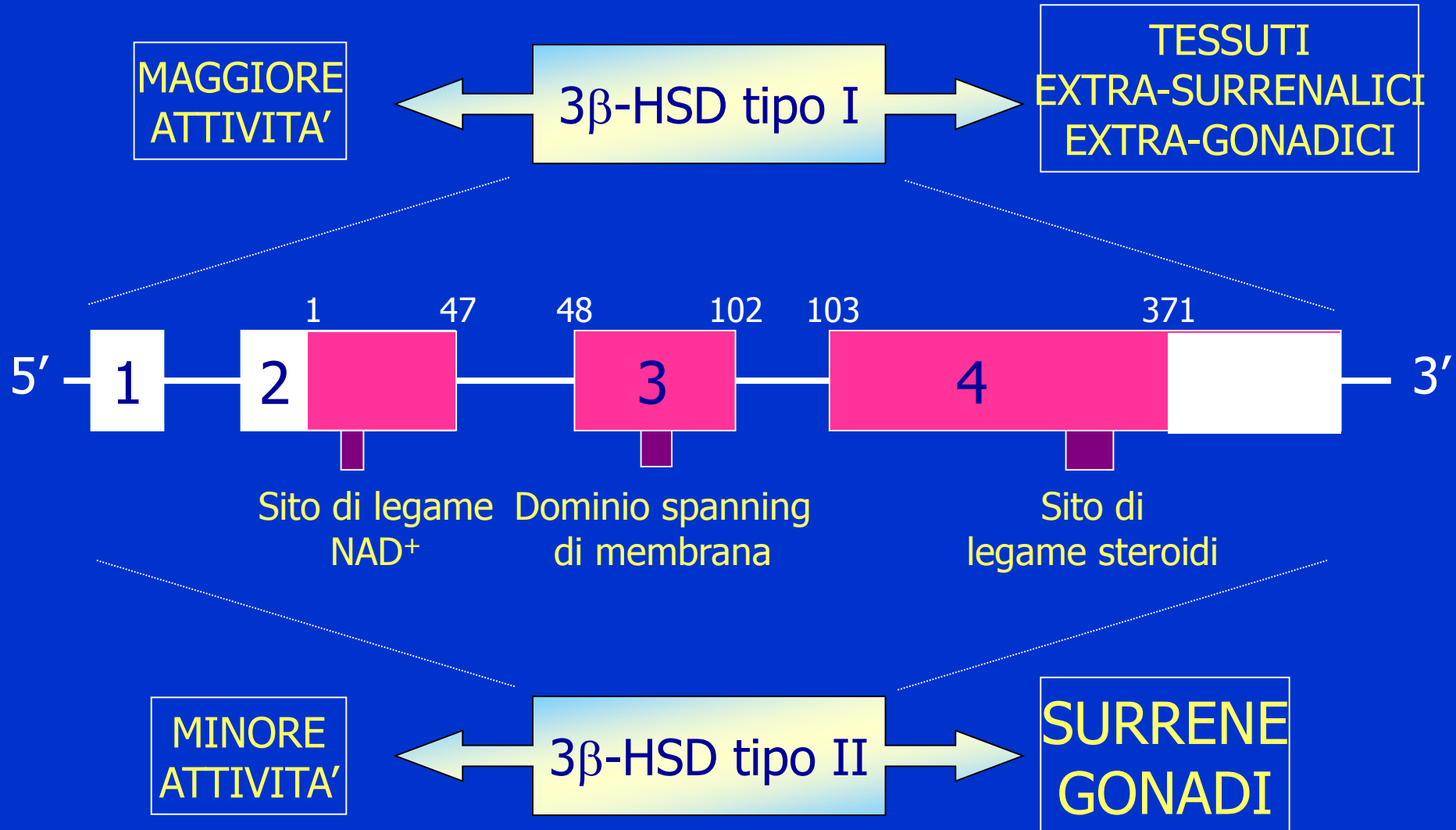


STEROIDOGENESI



DEFICIT DI 3β -OH-DEIDROGENASI

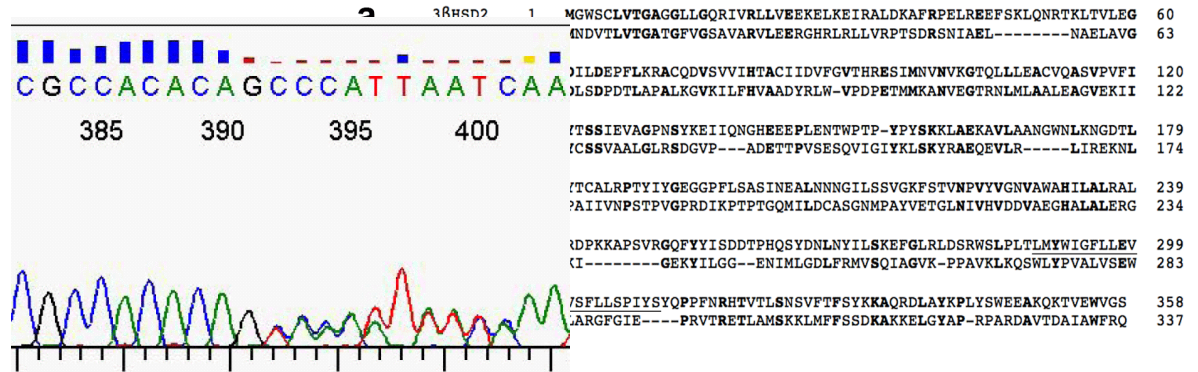
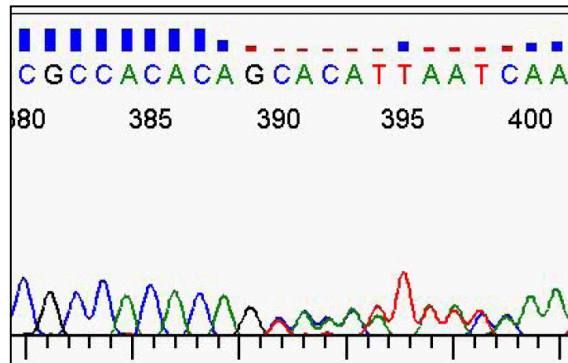
REGIONE CROMOSOMIALE 1p11-13



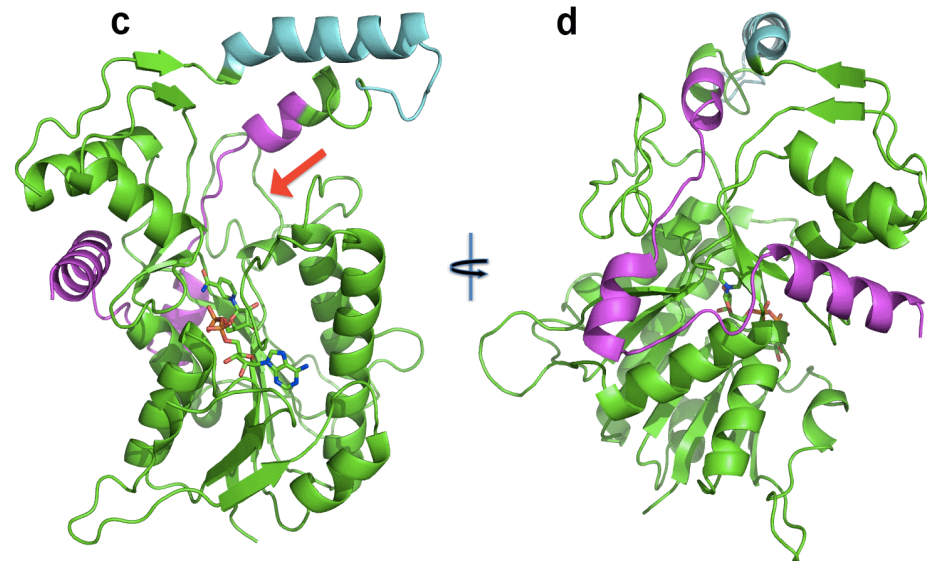
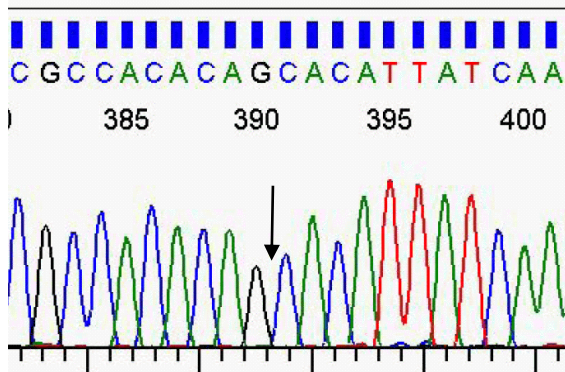
A new homozygous frameshift mutation in HSD3B2 gene in an apparently nonconsanguineous Italian family.

Carla Bizzarri², Arianna Massimi¹, Luca Federici³, Antonio Cualbu⁴, Sergio Bernardini¹, Sandro Loche⁵, Marco Cappa², Ottavia Porzio¹

Hormone Research in Paediatric (2016)



3βHSD2 319 VTLNSVFTFSYKKAQRDLAYKPLYSWEEAKQKTVEWVGLVDRHKETLKSQTQ 372
 3βHSD2-mut 319 AHYQIVCPSLTRLRLSEIWRISHSTAGRKPSRKPSGLVPLWTGTRRP 366



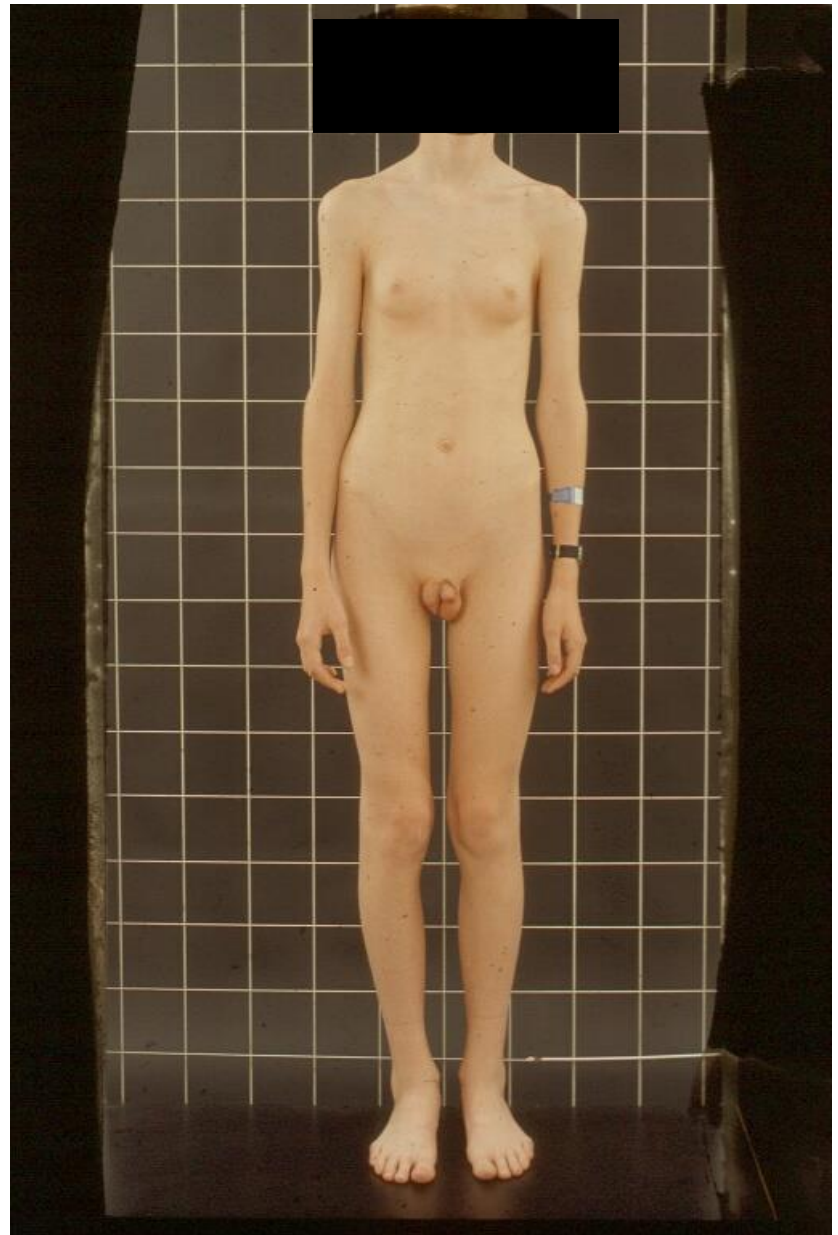
Clinical aspects of androgen insensitivity

Genotype	46, XY
Inheritance	X-linked recessive, mutations of AR gene
External genitalia	female → ambiguous → infertile man
Wolffian ducts	absent → rudimentary → normal
Mullerian ducts	absent
Gonads	testis (cryptorchidism is sometimes present)

Partial AIS

- Difficulties to make a diagnosis in very mild forms where external genitalia are almost normal.
- In two studies on azoospermic or oligospermic patients, 9 out of 22 and 6 out of 9 respectively have been found to be affected by partial AIS

46, XY
Diagnosis:
Partial AIS

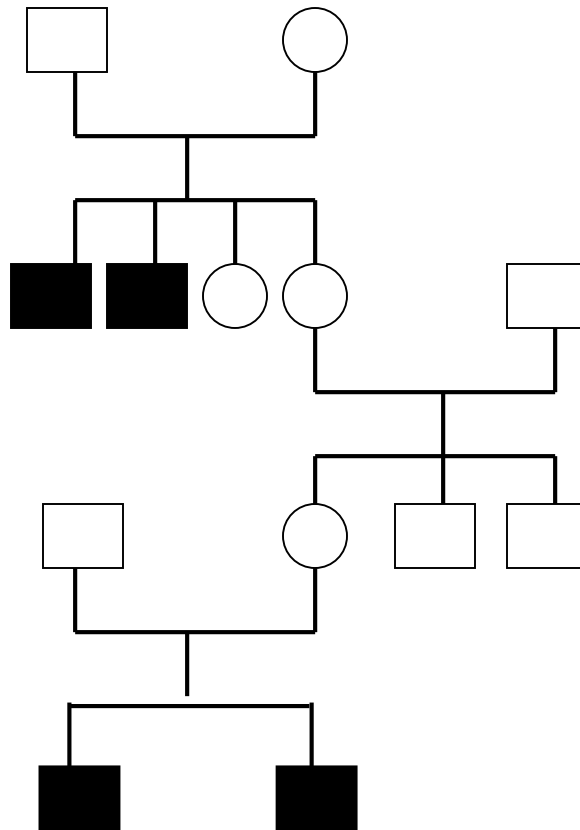


Aspetti clinici della parziale resistenza agli androgeni

Cariotipo	46, XY
Ereditarietà	X-linked recessivo, mutazioni del gene AR
Genitali esterni	genitali ambigui —————> uomo infertile
Dotti Wolffiani	rudimentali —> ipoplasici —> normali
Derivati mulleriani	assenti
Gonadi	testicoli (spesso criptorchidi)







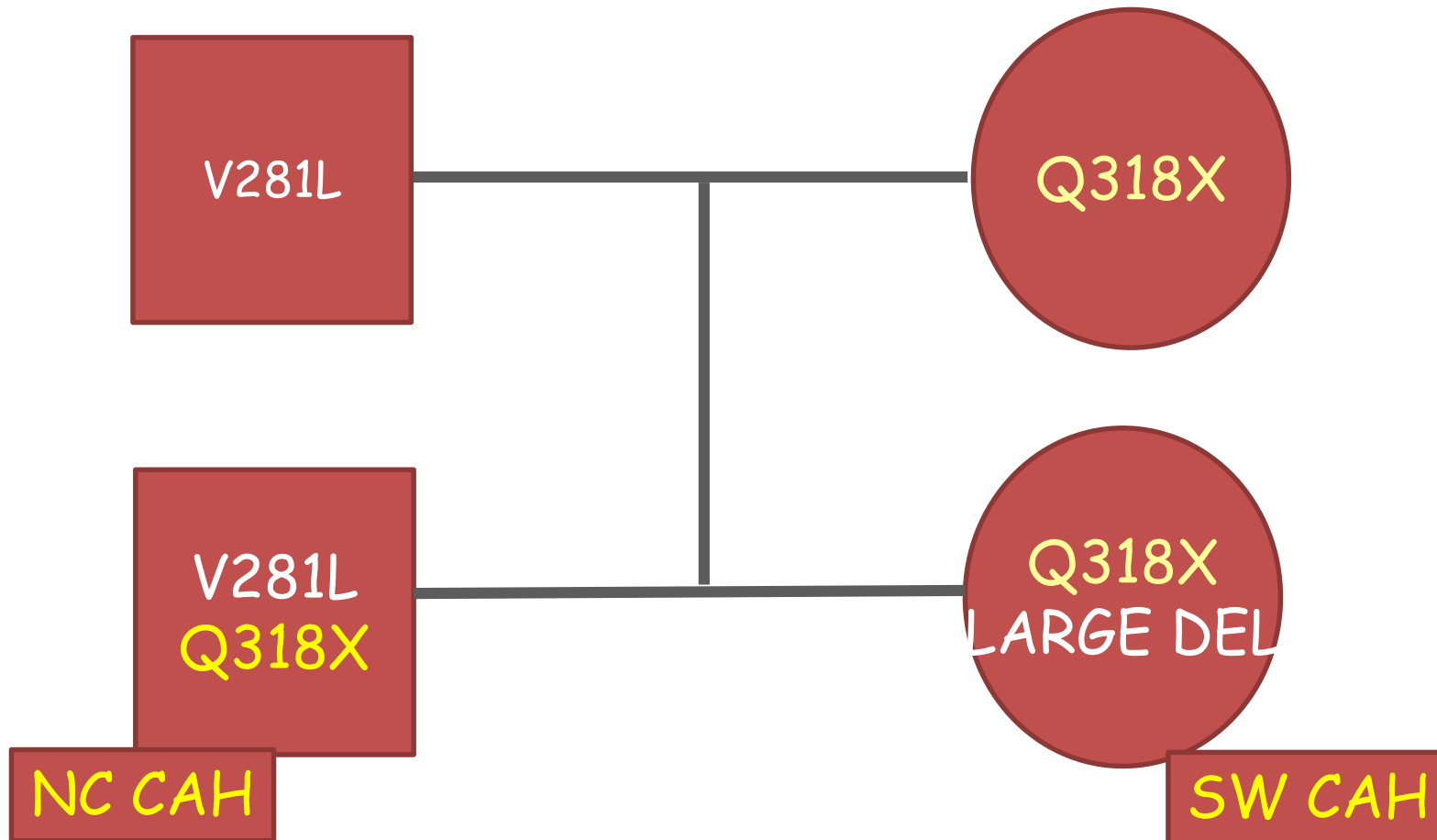
Partial AI Syndrome: PAIS

BRIEF REPORT

JCEM 91: 4510, 2006

Divergent Phenotype of Two Siblings Human Leukocyte Antigen Identical, Affected by Nonclassical and Classical Congenital Adrenal Hyperplasia Caused by 21-Hydroxylase Deficiency

O. Porzio, V. Cunsolo, M. Malaponti, E. De Nisco, A. Acquafredda, L. Cavallo, M. Andreani, E. Giardina, M. Testi, M. Cappa, and G. Federici

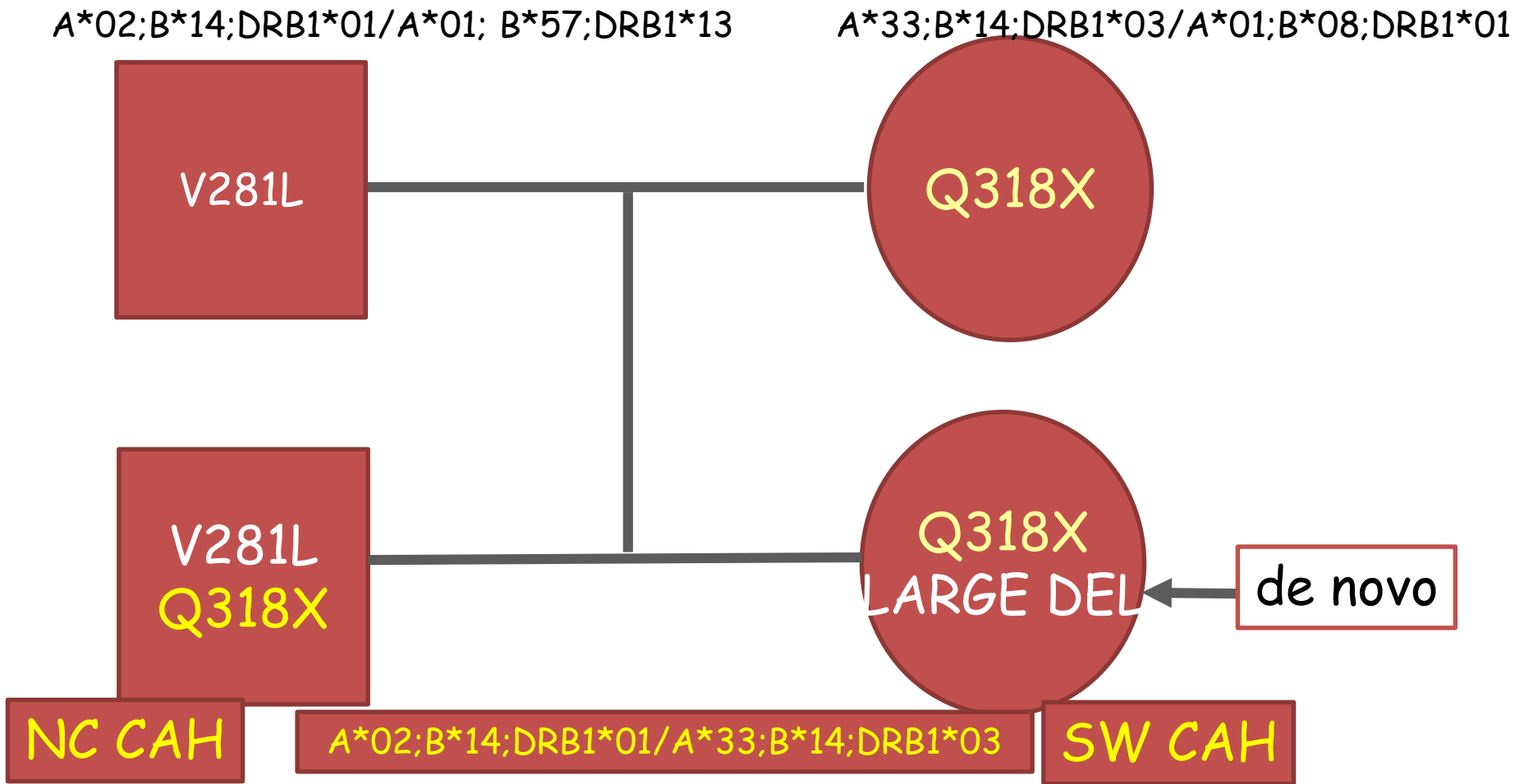


BRIEF REPORT

JCEM 91: 4510, 2006

Divergent Phenotype of Two Siblings Human Leukocyte Antigen Identical, Affected by Nonclassical and Classical Congenital Adrenal Hyperplasia Caused by 21-Hydroxylase Deficiency

O. Porzio, V. Cunsolo, M. Malaponti, E. De Nisco, A. Acquafredda, L. Cavallo, M. Andreani, E. Giardina, M. Testi, M. Cappa, and G. Federici



SEXUAL DIFFERENTIATION FEMALE

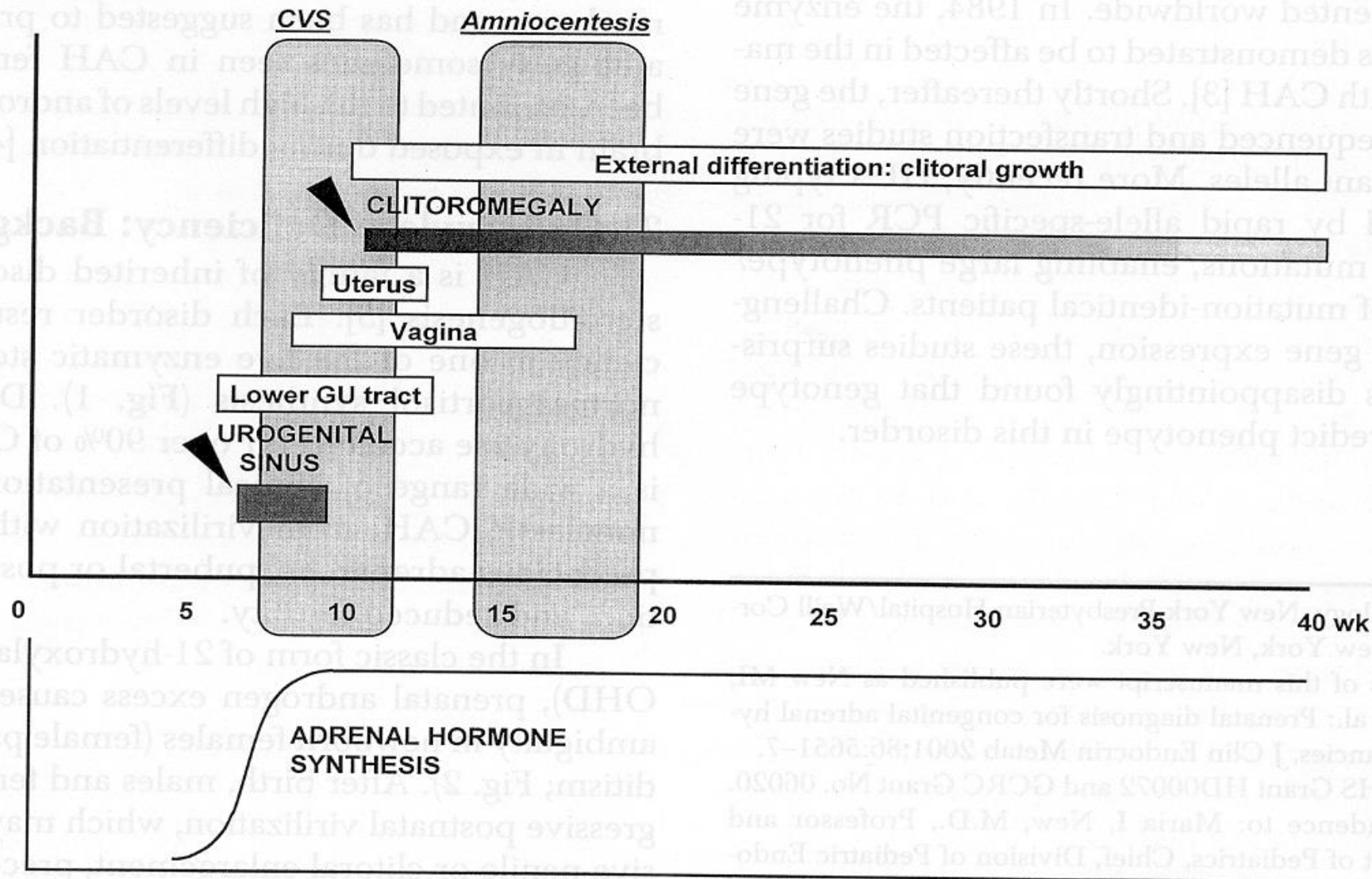
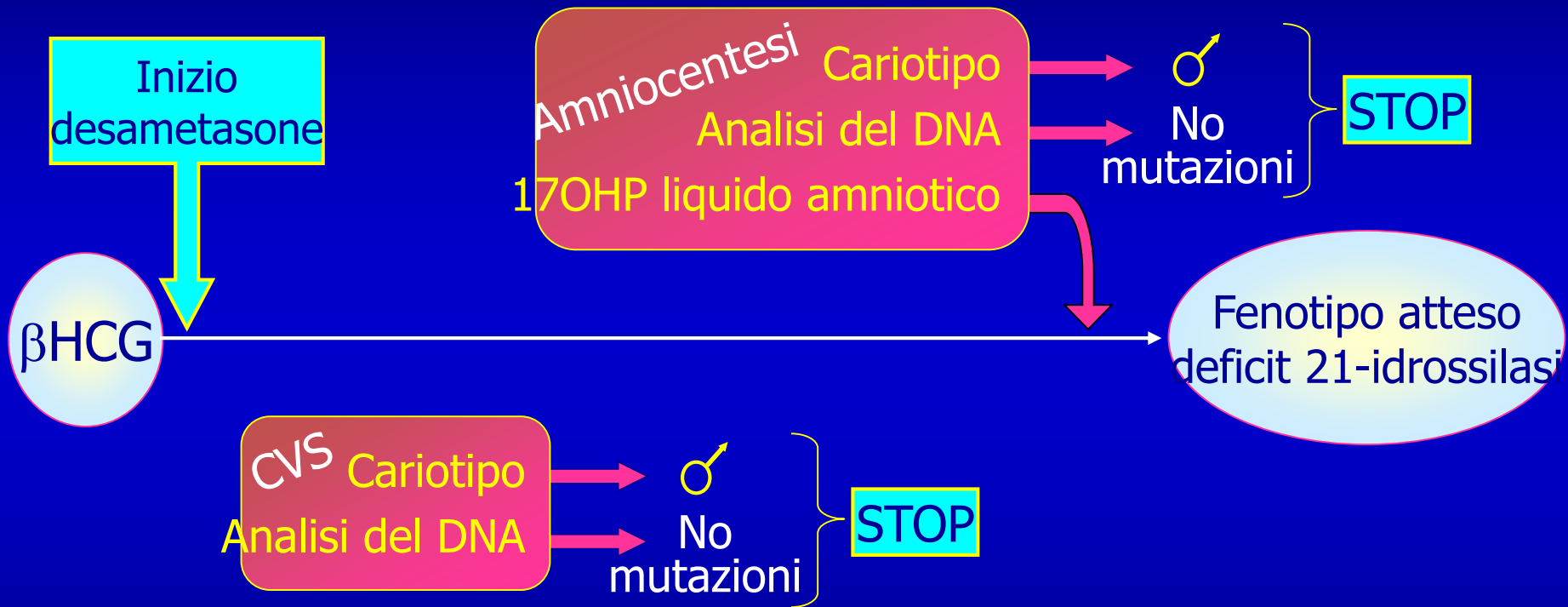


FIGURE 2. Timetable of female sexual differentiation.

SINDROME SURRENO-GENITALE

Diagnosi prenatale



Età gestazionale (settimane)

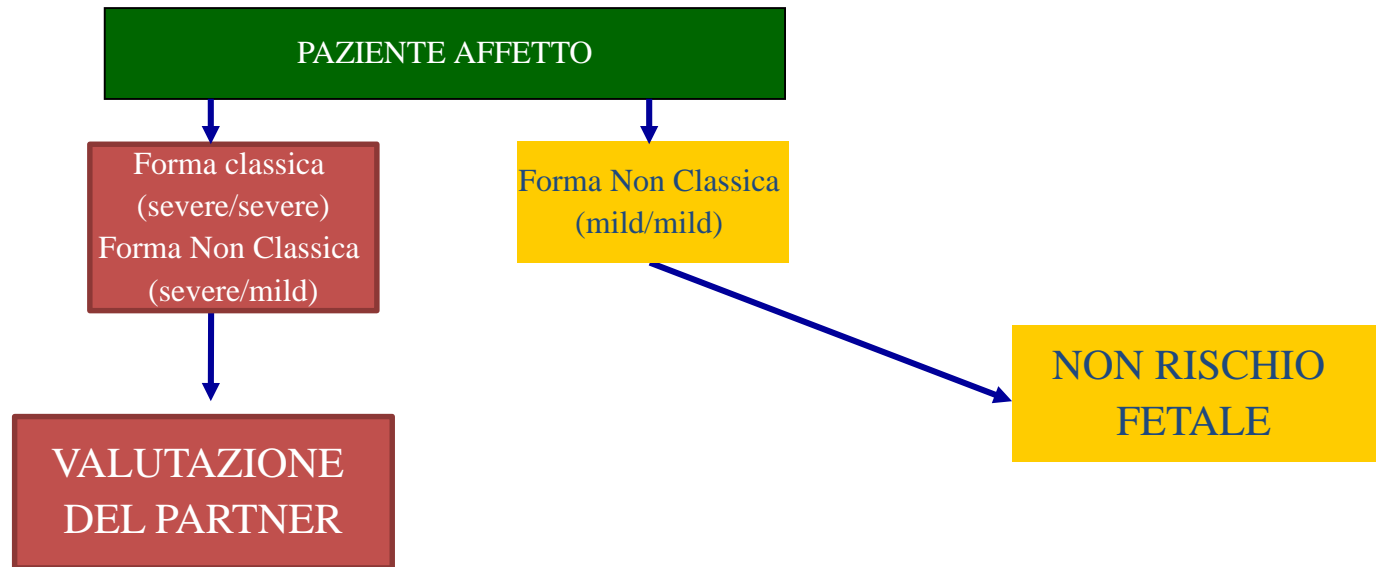
3-4

7-10

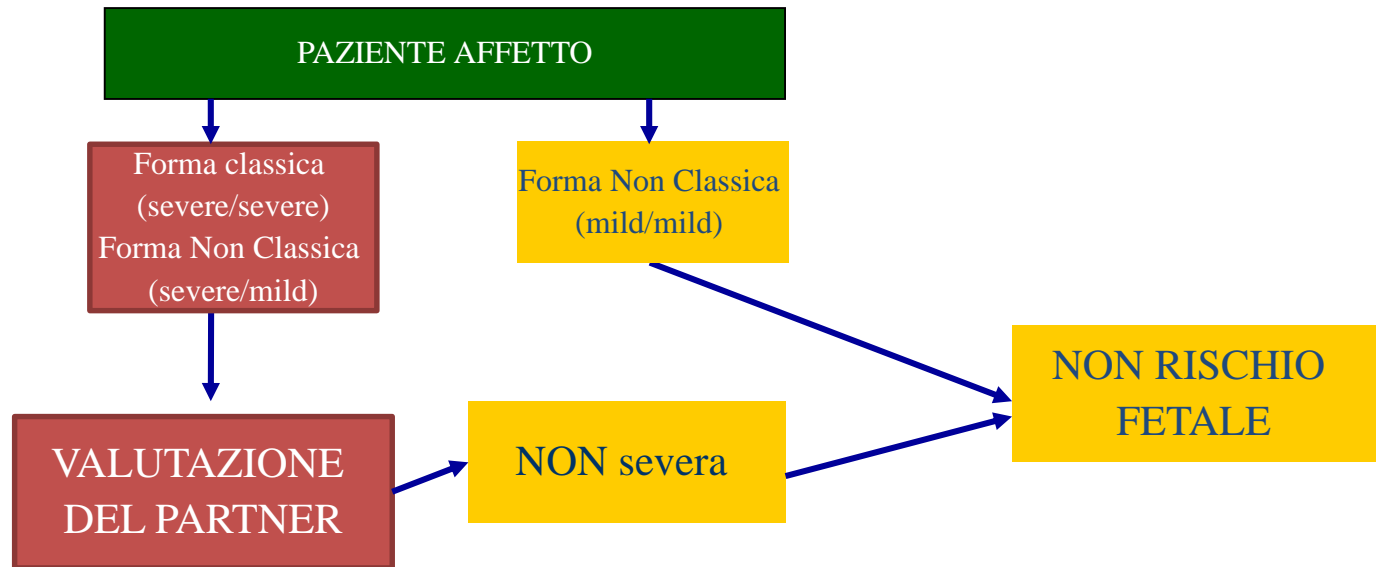
14-16

Termine

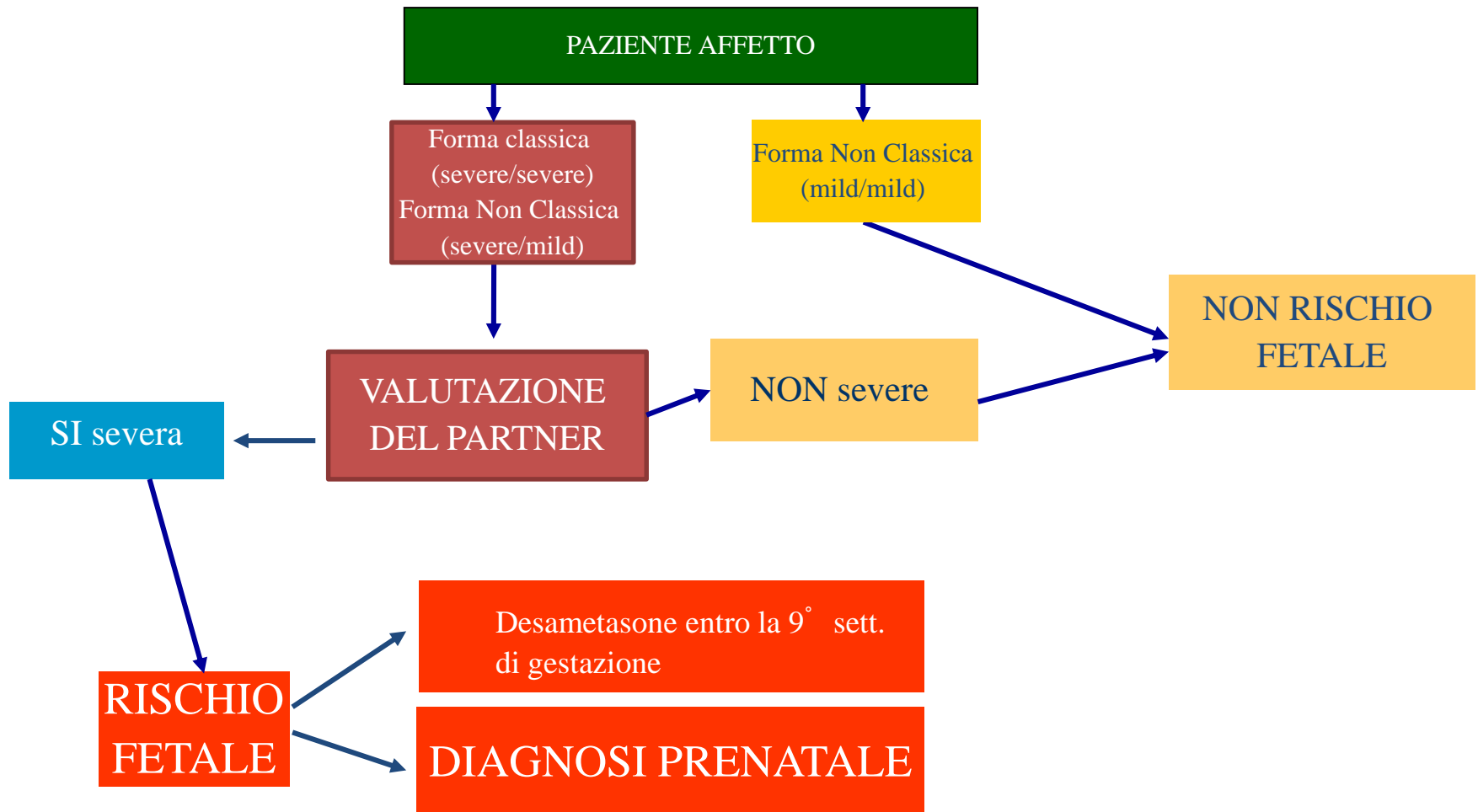
Gravidanza programmata



Gravidanza programmata



Gravidanza programmata



Ahmed Khattab¹, Tony Yuen¹, Li Sun¹, Mabel Yau¹, Ariella Barhan¹, Mone Zaidi¹, Y. M. Dennis Lo², and Maria I. New¹

In Advanced Therapies in Pediatric Endocrinology and Diabetology,
Cappa M, Cianfarani S, Ghizzoni L, Loche S, Maghnie M Endocr Dev Basel Karger 2016

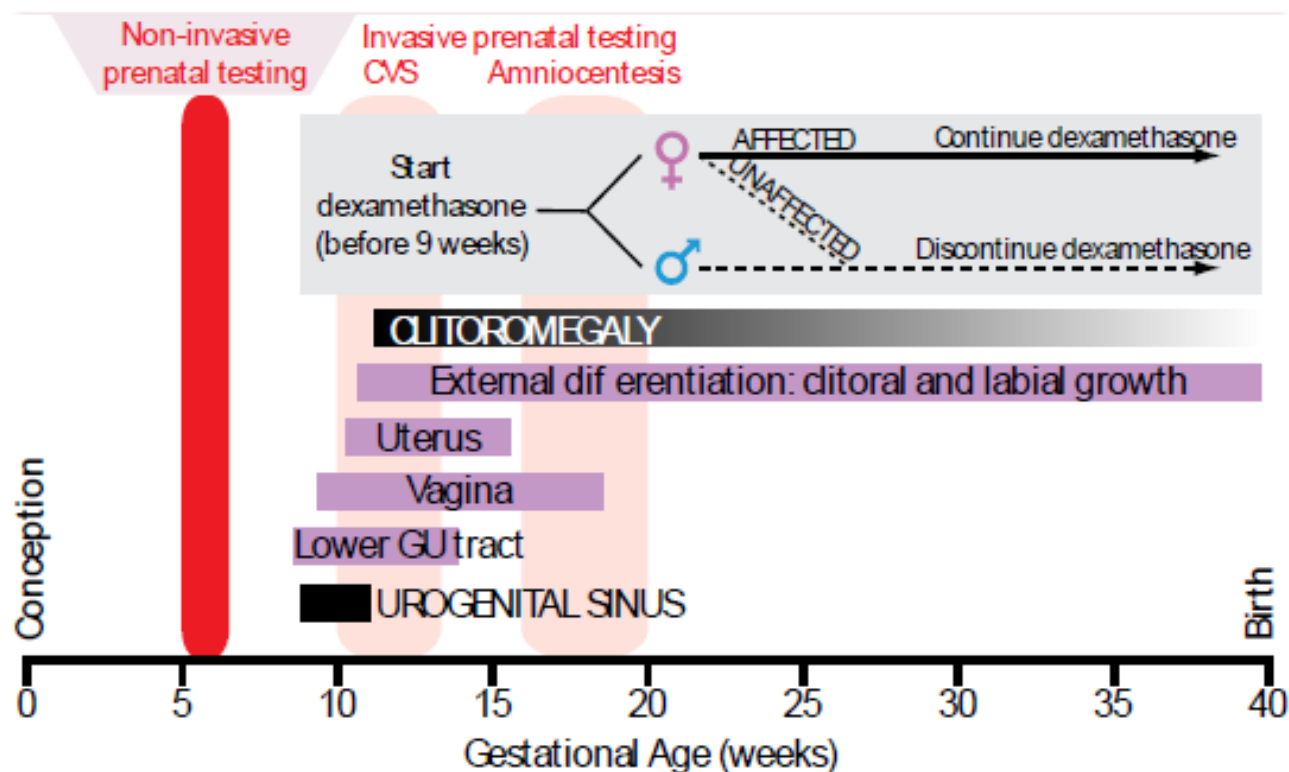


Figure 1:

Early prenatal diagnosis allows dexamethasone treatment to be directed to affected female fetuses only

Prader Stage of Affected Female Infants in Monitored Pregnancies

○ → Dex Treated

● → Female proband (No Dex)

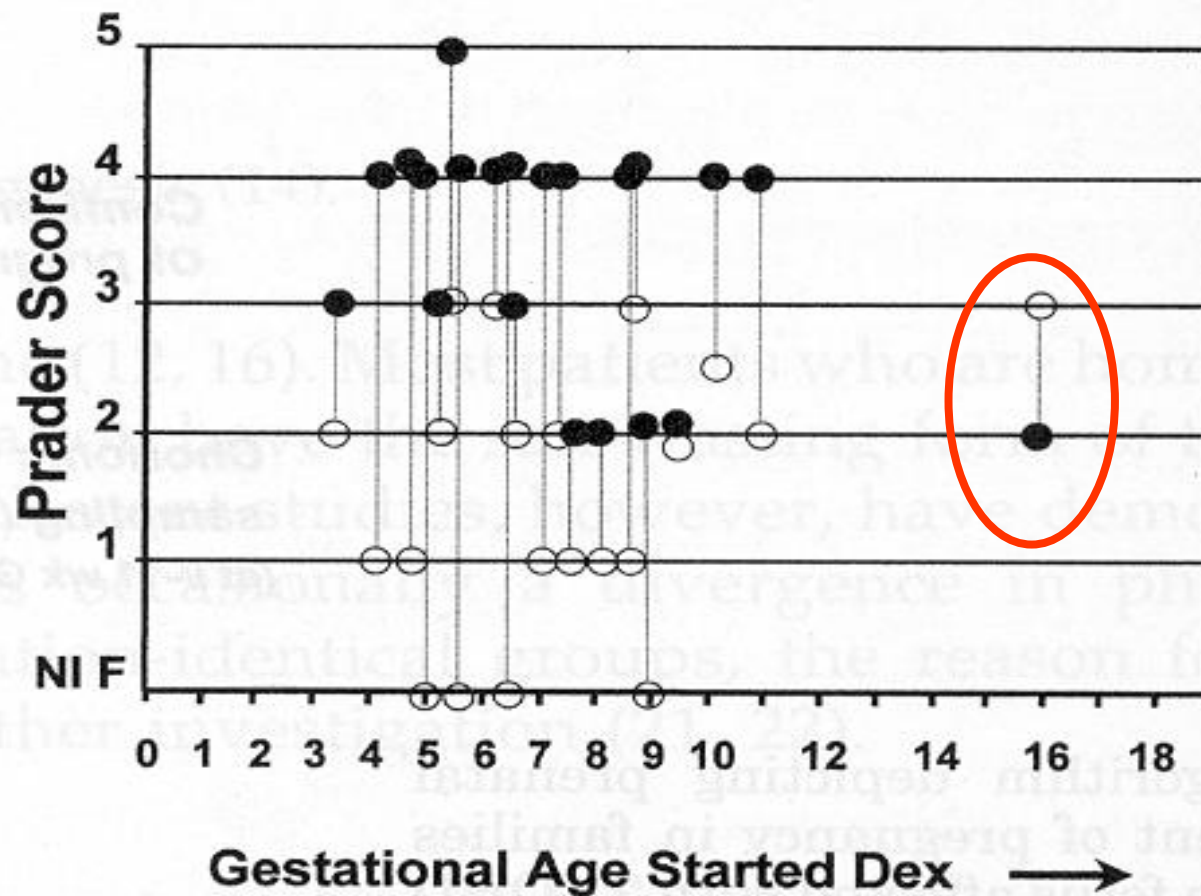


FIG. 6. Diagram depicting Prader stages of affected female infants in monitored, dexamethasone prenatally treated pregnancies in relation to gestational age when dexamethasone was started. Affected untreated siblings are shown attached by a *dotted line*.

DISGENESIE GONADICHE

AKR1C2	46,XY disorder of sex development due to testicular 17,20-desmolase deficiency
AMH	Sindrome da persistenza dei dotti mülleriani
AMHR2	Sindrome da persistenza dei dotti mülleriani
AR	Sindrome da insensibilità agli androgeni
ARX	Lissencefalia legata all'X con genitali anomali
ATRX	Alfa talassemia - ritardo mentale, legato all'X
BMP4	Agenesia renale unilaterale
CBX2	Disgenesia gonadica completa 46,XY
CYP11A1	Disturbo dello sviluppo sessuale 46,XY - insufficienza surrenalica da deficit di CYP11A1
CYP11B1	Iperplasia surrenalica congenita da deficit di 11-beta-idrossilasi
CYP17A1	Disturbi 46,XY dello sviluppo sessuale dovuti a deficit isolato di 17,20-liasi
CYP19A1	Deficit congenito di estrogeni
CYP21A2	Iperplasia surrenalica congenita classica da deficit di 21-idrossilasi, forma virilizzante semplice - sindrome adrenogenitale
DHCR7	Sindrome di Smith-Lemli-Opitz
DHH	Disgenesia gonadica 46,XY - neuropatia sensitivo-motoria
DMRT1	Disgenesia gonadica completa 46,XY
FOXL2	Insufficienza ovarica primitiva
GATA4	Disgenesia gonadica parziale 46,XY
HOXA13	Sindrome mano-piede-genitali
HSD17B3	Disturbi dello sviluppo sessuale 46,XY da deficit di 17-beta-idrossisteroide deidrogenasi, tipo 3
HSD3B2	Iperplasia surrenalica congenita da deficit di 3-beta-idrossisteroide deidrogenasi; Sindrome dell'ovaio policistico
INSL3	Criptorchidismo
RFXP2 (LGR8)	Criptorchidismo

LHCGR	Insufficienza ovarica primitiva; Ipoplasia delle cellule di Leydig da resistenza a LH; Pubertà precoce familiare limitata ai maschi
MAMLD1	Ipospadi, forma familiare
MAP3K1	Disgenesia gonadica 46,XY
NR0B1	Disgenesia gonadica 46,XY; Ipoplasia surrenalica congenita, tipo citomegalico
NR5A1	Disgenesia gonadica 46,XX; Insufficienza ovarica primitiva; Sterilità maschile con azoospermia od oligospermia da mutazione di un singolo gene
POR	Sindrome di Antley-Bixler con anomalia genitale e difetto della steroidogenesi
RSPO1	Cheratoderma palmoplantare - inversione sessuale XX - predisposizione al carcinoma a cellule squamose
SOX3	Sindrome del maschio XX
SOX9	Sindrome del maschio XX; Disgenesia gonadica 46,XY
SRD5A2	Disturbo dello sviluppo sessuale 46,XY da deficit di 5-alfa-reduttasi 2
SRY	Sindrome del maschio XX; Disgenesia gonadica 46,XY
STAR	Iperplasia surrenalica lipoide congenita da deficit di STAR
TSPYL1	Morte improvvisa del neonato - disgenesia dei testicoli
WT1	Disgenesia gonadica parziale 46,XY; Sindrome WAGR;
WWOX	Disgenesia gonadica parziale 46,XY
EMX2	Schizencefalia
PBX1	Leucemia linfoblastica acuta da precursori delle cellule B - gonade bipotenziale
RBFOX2 (FOX2)	REPRESSOR OF TAMOXIFEN TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY; RTA
FGF9	Sindrome da sinostosi multiple
PTGDS	LIPOCALIN-TYPE PROSTAGLANDIN D SYNTHASE; LPGDS
SOX8	SRY-related HMG-box
WNT4	Sindrome SERKAL (SEx Reversion, Kidneys, Adrenal and Lung dysgenesis)
CTNNB1	Cellule della granulosa
FST	Sindrome dell'ovaio policistico



GRAZIE

