

Sindrome adreno-genitale congenita da deficit di 21-idrossilasi

ANTONIO BALSAMO, ALESSANDRO CICOGNANI

Dipartimento di Scienze Ginecologiche, Ostetriche e Pediatriche, Mediche e Chirurgiche, Policlinico S. Orsola - Malpighi, Università di Bologna

Il deficit di 21-idrossilasi è quasi l'unica causa di sindrome surreno-genitale. La larghissima gamma dell'espressione fenotipica, fatta prevalentemente da casi "non classici", rende insidioso questo errore genetico (uno dei meno rari nella popolazione generale, con il suo 1 per mille) e costringe a tenerlo presente nella pratica quotidiana.

PATOGENESI

La caratteristica fondamentale della sindrome adreno-genitale (SAG) da deficit di 21-idrossilasi, malattia congenita trasmessa in maniera autosomica recessiva, consiste nella ridotta produzione di cortisolo (F) nella corteccia surrenalica.

Il feed-back negativo, attivato dai bassi livelli di cortisolo circolante, conduce a un aumento di CRF ipotalamico e di ACTH ipofisario. L'inefficace stimolazione del corticosurrene da parte di quest'ultimo determina un'iperplasia surrenale con accumulo degli steroidi precursori del blocco enzimatico e dei loro prodotti metabolici. Nel deficit di 21-idrossilasi, in particolare, che comprende oltre il 90% dei casi di SAG, la mancata C-21 idrossilazione del 17-idrossiprogesterone (17-OH-P) e del progesterone (P) conduce a una difettosa produzione di cortisolo e di aldosterone (*Figura 1*). I precursori ormonali in eccesso vengono convertiti in androgeni (androstendione, testosterone), che determinano virilizzazione con genitali ambigui nella femmina.

EPIDEMIOLOGIA E GENETICA

La malattia viene comunemente distinta nelle due forme di deficit grave

CONGENITAL ADRENAL HYPERPLASIA DUE TO 21-HYDROXYLASE DEFICIENCY

(*Medico e Bambino 2005;24:293-301*)

Key words

Congenital adrenal hyperplasia, 21-hydroxylase deficiency, Genotype/phenotype correlation, Neonatal screening, Prenatal diagnosis and treatment

Summary

Congenital adrenal hyperplasia (CAH) refers to a group of inherited disorders of adrenal steroidogenesis. More than 90% of CAH is due to 21-hydroxylase deficiency (21-OH-D), found in 1:10.000 to 1:15.000 live births as classical form and detected in about 2:100 of certain populations as non classical form. Females with classical 21-OH-D present at birth genital virilization. Potentially life-threatening adrenal crisis may characterize two-third to three-quarters of patients of both sexes with the classical salt wasting (SW) form. Non classical patients may present as precocious pubarche in children or polycystic ovarian syndrome in young women. 21-OH-D is caused by CYP21 gene mutations which in more than 90% of the cases result from inter-genic recombination between the active CYP21 gene and the inactive CYP21P pseudogene. The degree to which each mutation impairs enzymatic activity is strictly correlated with the clinical severity of the disease. Glucocorticoid and mineralcorticoid replacement therapies are the basics of treatment, although alternative strategies of treatment are being developed. Neonatal screening may identify affected children before SW crises develop, reducing mortality of this disease. Prenatal diagnosis and treatment should be performed in families at risk for classical form, underlining them that long term results in dexamethasone treated subjects have however lacking. Long term outcome shows an adult height generally between 1 and 2 standard deviations under the familial target height and a fertility rate only moderately reduced in female more than in male treated patients.

classico a esordio clinico precoce (neonatale o primi anni di vita) e nella forma attenuata non classica con segni clinici più tardivi (dopo i 5 anni). Nella *Figura 2* sono riassunti i principali segni distintivi delle varie forme cliniche.

La forma classica ha un'incidenza variabile tra 1:10.000 e 1:15.000 nati vivi¹ e può manifestarsi in circa il 75% dei casi

con evidenti disturbi dell'equilibrio idroelettrolitico dovuti al deficit di aldosterone (forme con "perdita di sali"), mentre in circa il 25% dei casi mostra solo i segni dell'iperandrogenismo (forme con "semplice virilizzazione"), senza apparente perdita salina. La forma non classica può ricorrere fino al 2% in alcune popolazioni; dati basati sulla fre-

Aggiornamento monografico

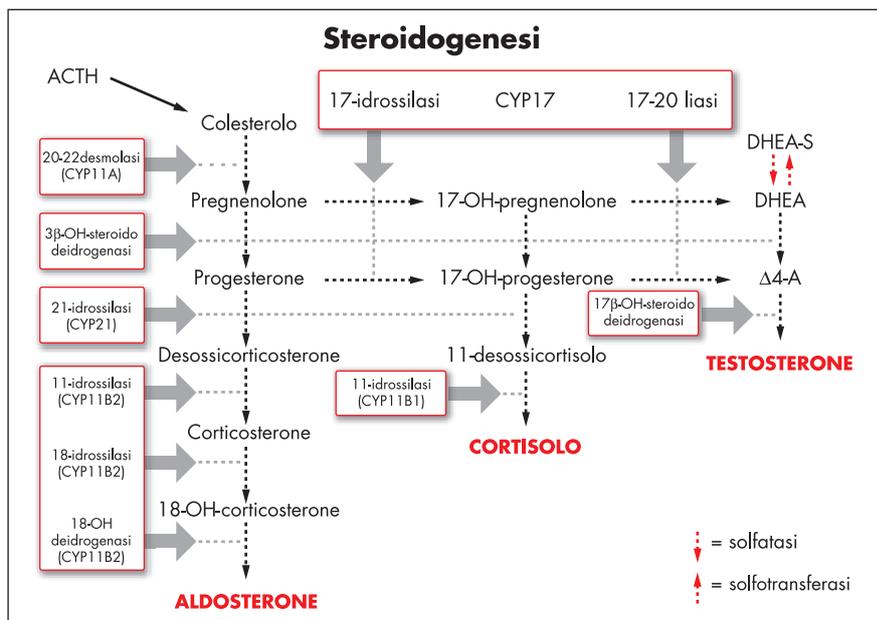


Figura 1. Steroidogenesi surrenalica con le vie per la sintesi di progesterone e mineralcorticoidi (aldosterone), glucocorticoidi (cortisolo) e androgeni (testosterone). Gli enzimi codificati da un singolo gene sono rappresentati nei riquadri con freccia grigia. Le attività mediate da specifici citocromi P-450 (CYP) sono denominate in parentesi con il nome sistematico dell'enzima.

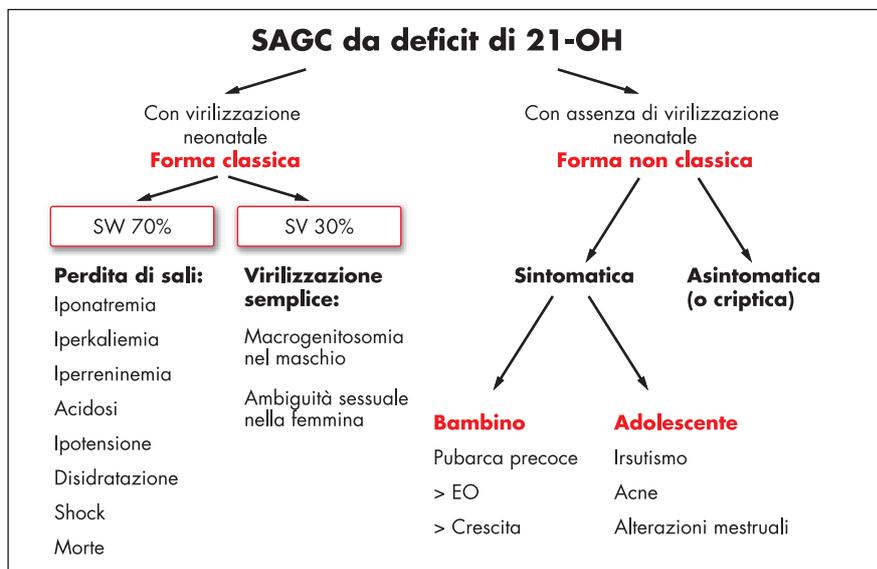


Figura 2. Caratteristiche cliniche delle varie forme di deficit di 21-idrossilasi.

quenza dei portatori stimano in 1:1000 l'incidenza di queste forme nella popolazione caucasica².

Gli studi di genetica molecolare hanno evidenziato la presenza di due geni codificanti per la 21-idrossilasi (CYP21 e CYP21P) che si alternano con due geni per la 4^a componente del complemento (C4A e C4B) sul braccio corto del cromosoma 6, tra i loci HLA-B e HLA-DR. Il

gene CYP21 codifica per la 21-idrossilasi mentre il gene CYP21P è in realtà uno pseudogene suo omologo al 98%, ma con diverse mutazioni che lo rendono inattivo. Circa il 70% delle alterazioni genetiche determinanti il deficit di 21-idrossilasi è causato da ricombinazioni tra il gene CYP21 e lo pseudogene CYP21P, risultanti in microconversioni (che appaiono come mutazioni pun-

tiformi); nei restanti casi possono essere presenti larghe conversioni del gene, delezioni e nuove, sporadiche mutazioni puntiformi (Figura 3).

La maggior parte dei pazienti sono "eterozigoti composti" con differenti tipi di mutazione su ciascun allele. La gravità della sintomatologia clinica è determinata dall'attività 21-idrossilasi residua dell'allele meno compromesso. Le forme con perdita di sali risultano dall'associazione in entrambi gli alleli di delezioni, larghe conversioni geniche o mutazioni puntiformi con attività enzimatica residua < 1%; le altre forme cliniche della malattia, costituenti praticamente uno spettro continuo di sintomi, a partire dalla virilizzazione in utero fino alla quasi completa assenza di sintomatologia clinica (forme criptiche), sono determinate da mutazioni con attività enzimatica residua progressivamente crescente (≥ 1% - < 70%)^{3,4} (Figura 4 A e 4 B).

MANIFESTAZIONI CLINICHE

Caratteristiche dei genitali

I maschi alla nascita spesso non mostrano segni evidenti di iperandrogenismo e, a parte una possibile iperpigmentazione accompagnata raramente da macrogenitosomia, i genitali sono di aspetto normale sia esternamente (pene, scroto, testicoli) che internamente (dotti di Wolff).

Le femmine con la **forma classica** virilizzante, invece, hanno pressoché costantemente genitali virilizzati a causa degli elevati livelli di androgeni presenti fin dalle prime settimane di gestazione (periodo critico 7^a-14^a settimana). I gradi di virilizzazione sono stati classificati da Prader⁷ in 5 stadi che vanno dalla semplice ipertrofia del clitoride fino al V stadio, abbastanza raro (Figura 5). In questo caso ci si trova di fronte a un paziente che presenta genitali esterni maschili e apparente criptorchidismo bilaterale. Più approfonditi esami dimostrano l'assenza dei testicoli e un cariotipo femminile normale. Mentre le femmine con gradi IV-V di virilizzazione sono a rischio per l'attribuzione di sesso maschile, le pazienti con gradi I e II possono non essere ricono-

Sindrome adreno-genitale congenita da deficit di 21-idrossilasi

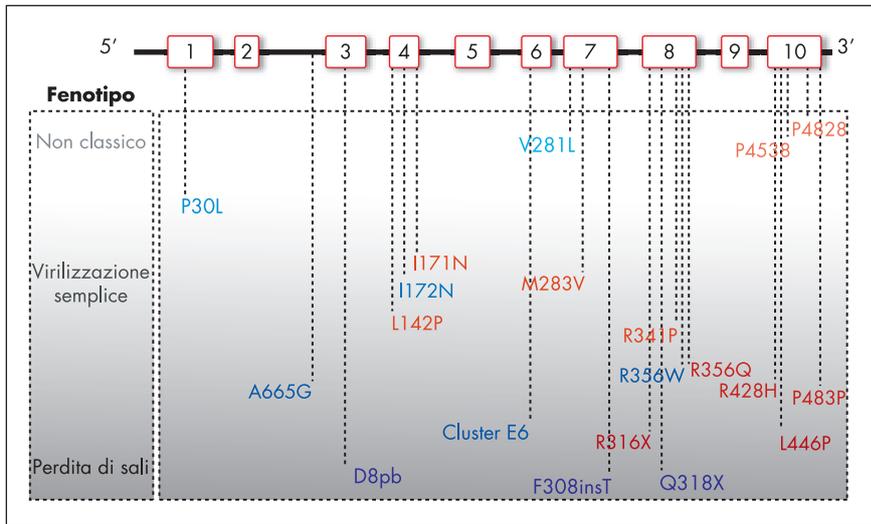


Figura 3. Sono rappresentati schematicamente i 10 esoni e i relativi introni che compongono CYP21 con le posizioni delle mutazioni normalmente presenti in CYP21P (tonalità blu) e quelle delle mutazioni rare individuate nella casistica di Bologna (tonalità rossa). Ciascuna delle mutazioni di CYP21P può essere trasferita a CYP21 con un processo denominato "conversione genica". La percentuale di attività enzimatica residua riscontrata in esperimenti funzionali in vitro è indicata dalla posizione di ciascuna mutazione nella scala verticale; le mutazioni più invalidanti sono quelle al fondo della figura.

sciute alla nascita a causa dello scarso grado di ambiguità genitale. Le pazienti con perdita di sali tendono ad avere una virilizzazione più accentuata rispetto alle forme meno gravi. Nonostante la virilizzazione esterna, queste pazienti rivelano all'ecografia pelvica genitali interni femminili (tube, utero e ovaie). La cisto-vaginografia è utile per evidenziare la conformazione del seno uro-genitale.

Le femmine con la **forma non classica** della malattia di regola alla nascita non presentano virilizzazione dei genitali; eccezionalmente può essere presente una lieve ipertrofia del clitoride.

Presentazione e manifestazioni cliniche successive

Le **forme con perdita di sali** mostrano generalmente i primi segni di squilibrio idroelettrolitico poco dopo la nascita (nel 50% dei casi tra il 6° e il 14° giorno di vita). L'incapacità del tubulo renale a riassorbire Na e a eliminare K, a causa del deficit di aldosterone, conduce a una perdita di Na e H₂O con le urine e a una iperkaliemia; il deficit di cortisolo contribuisce a indebolire la funzione cardiaca, a ridurre la risposta vascolare alle catecolamine e la perfusione renale, ad aumentare la secrezio-

ne di ormone anti-diuretico e occasionalmente a determinare ipoglicemia. Inoltre, la parziale dipendenza dai glicocorticoidi dello sviluppo della midollare del surrene⁸ potrebbe determinare nelle forme con perdita di sali anche un deficit di catecolamine, con ulteriore aggravamento dello stato di shock. Pertanto, i segni che possono precedere una crisi surrenalica sono l'incapacità di recuperare il peso alla nascita, scarso appetito, rigurgito continuo dei pasti, letargia, pianto flebile. Le alterazioni più gravi della crisi surrenalica conclamata sono costituite da iponatremia e iperkaliemia, disidratazione che conduce a ipotensione arteriosa, vomito, ridotta perfusione renale, iperazotemia, diarrea. Si può arrivare al collasso cardiocircolatorio e alla morte.

Le **forme senza perdita di sali** spesso nel maschio non evidenziano segni di notevole iperandrogenismo fino all'età di 3-4 anni e oltre. In assenza di screening neonatale l'esordio è caratterizzato da crescita del pene e dello scroto, accelerazione della crescita, comparsa precoce di peluria pubica e ascellare. La diagnosi ritardata di queste forme è costantemente associata a marcato avanzamento dell'età ossea, spesso, in seguito alla terapia sostituti-

va con i glicocorticoidi, compare una pubertà precoce vera che compromette la statura adulta. Occasionalmente, cellule surrenaliche ectopiche localizzate nel testicolo diventano iperplastiche in analogia con il tessuto surrenalico vero e proprio, e determinano l'ingrossamento dei testicoli⁹. Nella femmina, come già detto, l'iperandrogenismo si manifesta generalmente in epoca neonatale con la presenza di genitali ambigui e dopo la nascita, in assenza di terapia, l'androgenizzazione avanza con la comparsa precoce di pubarca e ircarca, presenza di acne e approfondimento della voce. La crescita corporea e la maturazione ossea determinano problemi analoghi nel maschio. Benché i genitali interni siano femminili, lo sviluppo mammario e i cicli mestruali non progrediscono finché non venga soppressa l'eccessiva produzione di androgeni mediante una terapia appropriata.

Le **forme non classiche** comprendono sia pazienti a sintomatologia attenuata rispetto alle forme classiche che soggetti asintomatici. Le femmine nella prima o seconda infanzia possono manifestare sintomi di iperandrogenismo con pubarca e axillarca precoci, accelerazione della velocità di crescita e della maturazione ossea, lieve ipertrofia del clitoride; nelle donne adulte i sintomi d'esordio possono somigliare a quelli della malattia da ovaio policistico con irsutismo (60%), irregolarità mestruali (54%) e acne (33%)¹⁰. I maschi, in epoca prepuberale, possono presentare pubarca precoce, spurt puberale, crescita del pene.

Negli studi di famiglie con deficit classico di 21-idrossilasi alcuni componenti possono mostrare le caratteristiche ormonali della forma non classica (cioè livelli elevati, basali e/o dopo stimolo con ACTH, di 17-OH-progesterone) senza i segni clinici della stessa. Questi pazienti sono considerati affetti da deficit "criptico" di 21-idrossilasi¹¹. Nella **Figura 6** viene riportato il nomogramma costruito con i valori di riferimento del nostro Centro in analogia con il lavoro di New et al.¹² che può essere utile per distinguere i pazienti con deficit classico di 21-idrossilasi da quelli con forme non classiche, eterozigoti e soggetti normali. Nella casistica della

Aggiornamento monografico

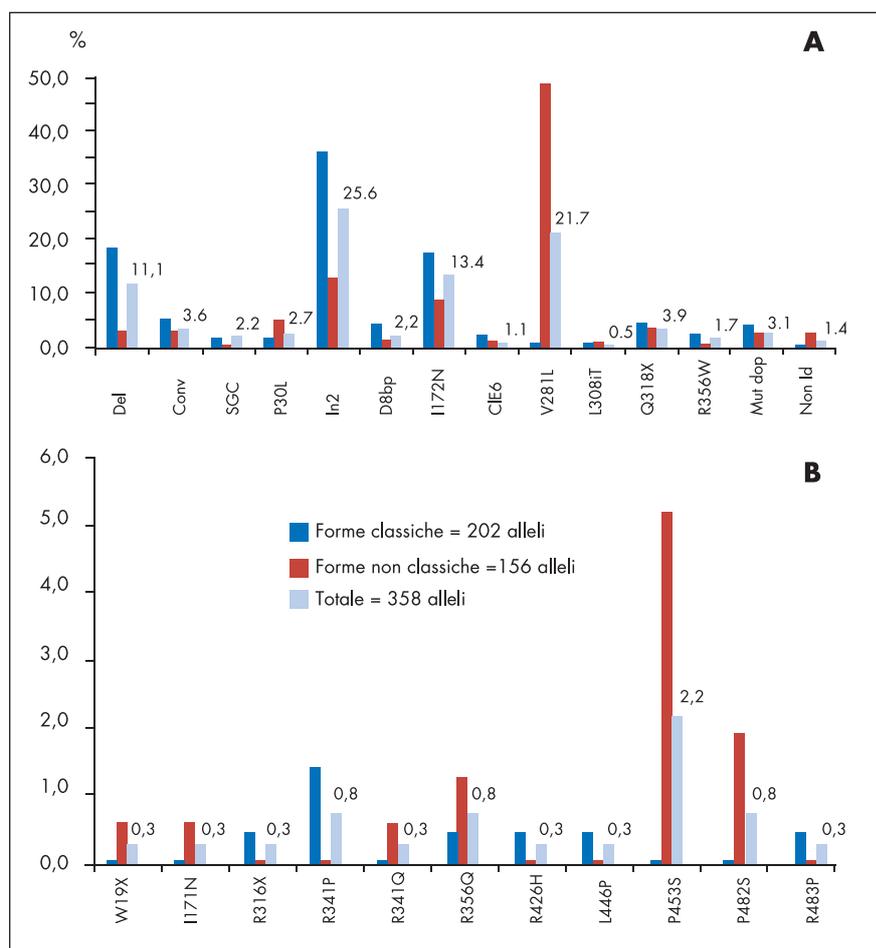


Figura 4. A) Frequenza delle delezioni (Del), larghe (conv) e piccole (SGC) conversioni geniche, microconversioni puntiformi da CYP21P, doppie mutazioni sullo stesso allele (mut dop) (totale 91,4%) e mutazioni non identificate (Non id, 1,4%); B) Frequenza delle mutazioni "rare" (3,9%) e "nuove" (2,8%) (totale 6,7%); entrambe le figure derivano dall'esame di 196 pazienti della Clinica Pediatrica di Bologna, corrispondenti a 358 alleli geneticamente non correlati.

regione Emilia-Romagna, su 101 cromosomi appartenenti a pazienti con forma non classica, il 46,5% era portatore di una mutazione nel codone 281. Nella quasi totalità dei casi, tale mutazione è associata all'HLA B14 e in circa l'80% dei casi all'aplotipo HLA B14, DR1⁶.

DIAGNOSI

La diagnosi si basa sulla presenza di livelli plasmatici elevati di 17-OH-progesterone. Nella *Tabella 1* sono riportati i livelli basali del 17-OH-P dei neonati individuati con lo screening neonatale della regione Emilia-Romagna dosati su dischetto (metodo Delfia) e su siero (metodo RIA senza estrazione)

alla conferma diagnostica, suddivisi per forma clinica. Nei neonati con **perdita di sali** generalmente i valori basali superano i 10.000 ng/dl (300 nM/l), con valori normali del neonato non stressato generalmente inferiori a 300 ng/dl (12 nM/l). Le alterazioni ormonali sono inoltre caratterizzate da livelli inappropriatamente bassi di aldosterone plasmatici e urinari rispetto alla iposodiemia e alla iperkaliemia, e da livelli elevati di renina, progesterone, androstendione e testosterone. Una diagnostica differenziale più accurata dei diversi difetti enzimatici può essere ottenuta valutando il rapporto precursore/prodotto prima e dopo un test di stimolo con ACTH (0,25 mg endovena, prelievo a 0-60 min, *Figura 6*).

Nei pazienti con **semplice virilizzazione** i valori tendono a collocarsi in un range quasi sovrapponibile a quello delle forme con perdita di sali, anche se tendenzialmente più bassi.

Nei pazienti con la **forma non classica** i valori ormonali sono solo moderatamente elevati. Singoli dosaggi basali di 17-OH-P possono risultare normali, e la diagnosi di forma non classica di deficit di 21-idrossilasi può essere ottenuta in modo più attendibile dopo un test di stimolo con ACTH (*Figura 6*).

Tra i mezzi strumentali utili alla definizione diagnostica, può essere d'aiuto un'ecografia surrenalica che talvolta evidenzia un'immagine ingrandita delle ghiandole (ampiezza > 4 mm con superficie lobulata) o un'ecogenicità anomala¹³. Nelle femmine virilizzate l'ultrasonografia pelvica può dimostrare la presenza di utero e talvolta delle ovaie; una uretro-genitografia con mezzo di contrasto serve a definire l'anatomia dei genitali interni e la conformazione dell'eventuale seno urogenitale.

Un cariotipo eseguito con tecnica fluorimetrica di ibridizzazione in situ per i cromosomi X e Y può definire rapidamente il sesso genetico del neonato.

Screening neonatale

Dalla fine degli anni '70 sono stati introdotti programmi di screening neonatale che utilizzano il dosaggio del 17-OH-progesterone su campioni di sangue capillare raccolto su carta da filtro. In Italia, prima l'Emilia-Romagna, poi Lazio, Piemonte/Valle d'Aosta e Veneto hanno attuato tali programmi con oltre 1.000.000 di neonati esaminati^{14,15}.

Questa pratica minimizza il ritardo della diagnosi, la cui precocità è di particolare importanza per i maschi con perdita di sali (che può dare sintomi interpretabili come stenosi pilorica ipertrofica, ostruzione intestinale, cardiopatia, altre cause di alterata crescita)³.

Circa il 10% dei neonati con deficit severo¹⁶ e la grande maggioranza delle forme non classiche¹⁷ possono presentare bassi valori iniziali di 17-OH-P. Questi casi falsi negativi avvengono più frequentemente quando lo screening è eseguito troppo precocemente (prima delle 48 ore di vita), allorché non sono ben definiti i valori normativi per que-

Sindrome adreno-genitale congenita da deficit di 21-idrossilasi

ste età. Per converso, la maggior parte dei neonati "stressati" per malattia o prematuri presentano valori elevati di 17-OH-P senza avere difetti congeniti della steroidogenesi. Per ovviare al primo problema alcuni Programmi di screening (Texas, Svizzera) praticano routinariamente un secondo prelievo su cartoncino al 14° giorno di vita; per ovviare al secondo e diminuire il tasso di casi falsi positivi da prematurità/basso peso neonatale, numerosi Centri hanno elaborato livelli di riferimento del 17-OH-P basati sul peso e sull'età gestazionale (Figura 7), mentre altri raccomandano la misurazione contemporanea del cortisolo¹⁸. L'introduzione della spettrometria in Tandem Mass può migliorare sia la sensibilità che la specificità di questo tipo di screening¹⁹.

Le tecniche di genetica molecolare sono di ausilio per dirimere la diagnosi nei casi dubbi²⁰.

Diagnosi prenatale

Le procedure diagnostiche possono essere eseguite nel 1° trimestre di gravidanza attraverso l'analisi del gene CYP21 su cellule ottenute da prelievo di villi coriali²¹, o nel 2° trimestre su amniociti. L'analisi è più attendibile quando può essere integrata da un'analisi di microsatelliti informativi.

Al di là della consulenza genetica, l'obiettivo principale della diagnosi prenatale è mirato alla terapia prenatale delle femmine affette. Il protocollo diagnostico-terapeutico (Figura 8), da attuare nelle gravidanze a rischio, consiste nella somministrazione materna di desametasone, un glicocorticoide che attraversa la placenta, fin dalla 5ª settimana di gravidanza alle dosi di 20 mcg/kg in due o tre dosi giornaliere. La soppressione della steroidogenesi fetale porta a una concomitante riduzione della secrezione di androgeni e miglioramento della virilizzazione dei genitali delle femmine affette. In 10ª-11ª settimana si procederà alla biopsia dei villi coriali per determinare il sesso e l'analisi genetica del feto; la terapia verrà proseguita solo se il feto risulterà di sesso femminile e affetto dalla malattia.

L'analisi del DNA di cellule fetali isolate dal sangue materno per la deter-

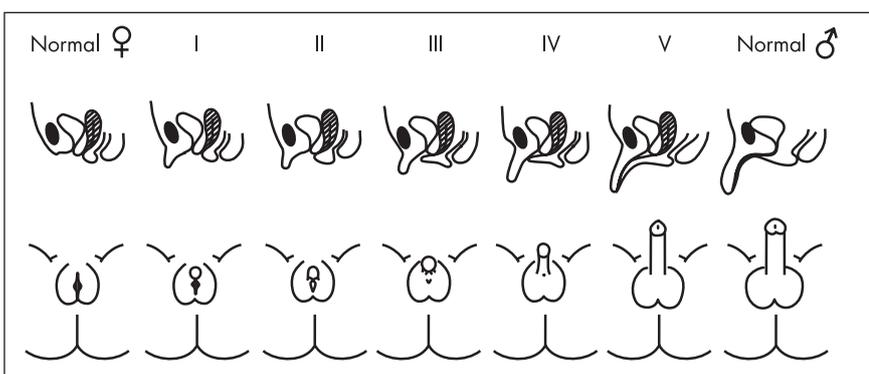


Figura 5. Gradi di virilizzazione secondo Prader (scala 0-6): Configurazione dei genitali normali femminili (sinistra=0) e maschili (destra=6) con i vari stadi di virilizzazione osservati nello pseudoermafroditismo femminile causato dall'iperplasia surrenale congenita. Grado I (semplice ipertrofia del clitoride), gradi II-IV (vari gradi di fusione labio-scrotale con formazione di seno urogenitale), grado V (uretra peniena) (da: *Helvetica Paediatrica Acta* 1994;9:231-43, modificata).

17-OH-P NEI PAZIENTI DIVISI SECONDO FORMA CLINICA ALLA DIAGNOSI (E-R)

	Perdita di sali	Virilizzazione semplice	Forma non classica
Disco (ng/ml)	130,0 ± 52,3 (35 - 250)	54,0 ± 28,5 (37 - 87)	32,2 ± 21,6 (15 - 68)
Siero (ng/ml)	326,8 ± 440,6 (36,0 - 2000,0)	68,3 ± 73,6 (13,5 - 177,0)	9,9 ± 3,3 (5,6 - 14,0)

Tabella I

minazione del sesso e l'analisi del gene CYP21 fetale sono una metodica che tende a svilupparsi sempre più e che potrebbe ridurre significativamente i tempi di identificazione dei feti affetti di sesso femminile.

I risultati di 61 femmine affette, di cui 25 trattate in utero da prima della 9ª settimana di età gestazionale, riportano genitali normali in circa il 44% dei casi, lieve virilizzazione con ipertrofia clitoridea o minima fusione posteriore delle grandi labbra nel 44% dei casi, e insuccesso terapeutico con marcata virilizzazione dei genitali nel restante 12% dei casi²¹. La spiegazione per questi insuccessi è stata attribuita a un inizio della terapia successivo alla 10ª settimana di età gestazionale, dosaggio insufficiente, variazioni nel metabolismo materno e placentare per gli steroidi somministrati.

Una Conferenza Internazionale ha consigliato di riservare ancora questo trattamento solo a Centri specializzati utilizzando protocolli approvati internazionalmente^{22,23}.

TERAPIA

Glicocorticoidi

La somministrazione di glicocorticoidi, oltre a essere sostitutiva per le funzioni proprie del cortisolo, previene anche la progressiva virilizzazione nelle forme con iperandrogenismo. Per ottenere questo risultato, tuttavia, sono necessari dosaggi di mantenimento che eccedono la secrezione fisiologica di cortisolo che per i neonati è stata calcolata in 7-9 mg/m²/die²⁴ e per bambini e adolescenti in 6-8 mg/m²/die²⁵. Dei vari tipi di cortisonici e schemi di dosaggio proposti, quello più consigliabile nel periodo di accrescimento consiste nella somministrazione di idrocortisone per os alle dosi di 10-25 mg/m²/die diviso in tre somministrazioni. La dose andrà individualizzata sulla base della crescita e dei valori ormonali. I migliori indicatori sono il rispetto di un canale di crescita compatibile con l'altezza bersaglio familiare, un'età ossea monitorata annualmente che progredisca in maniera più o meno parallela all'età cronologica e con-

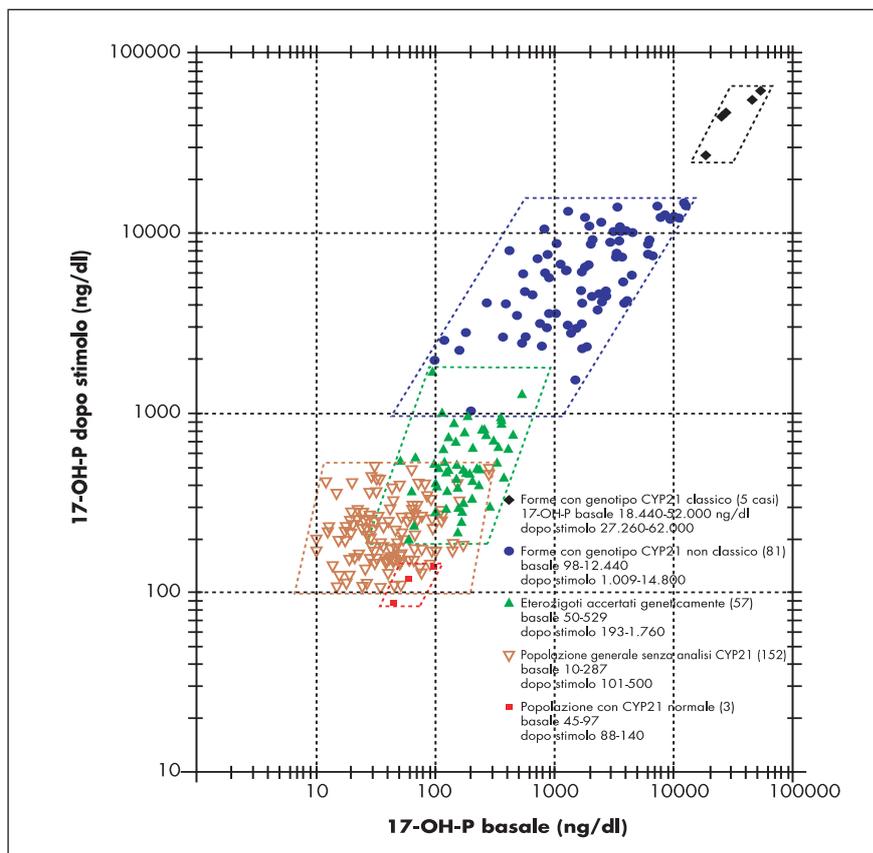


Figura 6. Nomogramma costruito con i valori di riferimento del 17-OH-progesterone (dosaggio RIA senza estrazione) di base e dopo stimolo (60 min.) con ACTH (Synacthen 0,25 mg e.v.), ottenuti nella casistica della Clinica Pediatrica di Bologna in accordo con il lavoro di New et al.¹².

trolli semestrali o quadrimestrali dei livelli plasmatici di 17-OH-progesterone, Δ 4-androstendione e testosterone (nel maschio utile solo in epoca prepuberale), da eseguire al mattino prima della somministrazione terapeutica e da mantenere a un livello compreso tra 100 e 1000 ng/dl il primo e normale per età e sesso gli altri due.

Nel periodo tardo adolescenziale e nell'adulto un migliore controllo ormonale può essere ottenuto con l'uso di prednisone (attivo dopo metabolizzazione epatica), prednisolone (attivo direttamente), o desametasone alle dosi rispettivamente di 5-10 mg/die divise in due somministrazioni i primi due, e di 0,25-0,50 mg/die in una o due somministrazioni il terzo. Particolare attenzione va prestata in questi casi al comparire di segni cushingoidi (rapido incremento ponderale, ipertensione, strie rubre, osteopenia). La terapia andrà continuata indefinitamente nelle forme classiche,

prevedendo dosi doppie o triple (fino a 100 mg/m²/die divise in 4 somministrazioni) nei periodi di stress dovuti a malattie intercorrenti o eventi chirurgici. Le forme non classiche possono non aver bisogno del trattamento sostitutivo, a meno che non siano evidenti segni di iperandrogenismo; in questi casi le dosi di glicocorticoidi necessarie a un buon controllo oscillano da 8 a 15 mg/m²/die.

Talvolta nelle adolescenti possono presentarsi, nonostante una terapia corticosteroidica appropriata, irsutismo, irregolarità mestruali e acne. In questi casi può essere indicato associare al trattamento di base analoghi dell'LH-RH o ciproterone acetato o contraccettivi orali^{26,27}.

Nelle forme senza perdita di sali, soprattutto maschi diagnosticati tardivamente (6-7 anni), l'uso di analoghi dell'LH-RH può essere efficace nel ritardare l'insorgenza di una possibile pubertà

precoce²⁸. La caduta dei livelli di androgeni post-terapeutici, infatti, produce un rilascio compensatorio di gonadotropine ipofisarie laddove le strutture ipotalamiche siano già maturate.

I maschi trattati in maniera insufficiente possono sviluppare tumori testicolari da "residuo surrenale" originati verosimilmente da tessuto ACTH sensibile. RM, ultrasonografia ed eco-doppler Flussometria testicolare aiutano a definire queste formazioni che generalmente regrediscono dopo aggiustamento terapeutico²⁹.

Mineralcorticoidi

I pazienti che presentano "perdita di sali" con elevata PRA necessitano anche di uno steroide ad attività mineralcorticoidica (fluoroidrocortisone per os in due somministrazioni: generalmente da 0,05 a 0,3 mg/die nel periodo neonatale e da 0,05 a 0,1 mg/die nelle età successive), oltre alla eventuale supplementazione di NaCl in epoca neonatale (1-3 g/die pari a 17-51 mmol/die). Anche nei pazienti senza squilibri elettrolitici evidenti, ma con livelli soprafiologici di PRA, è indicata la somministrazione di fluoroidrocortisone; tra questi possono essere compresi anche soggetti con forma "non classica", caratterizzati dalla mutazione Pro30Leu. Il monitoraggio della PRA e degli elettroliti aiutano a valutare l'adeguatezza della terapia sostitutiva mineralcorticoidica.

Nuovi approcci terapeutici

La difficoltà in alcuni pazienti con SAG a mantenere un buon controllo clinico e metabolico (aumento di peso, elevazione inattesa dei livelli di 17-OH-P e degli androgeni surrenalici, avanzamento della maturazione ossea, nonostante consistenti dosi sostitutive di idrocortisone) indica che talvolta i metodi attuali di terapia corticosteroidica non sono sufficienti a sopprimere adeguatamente l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. La relativa maggior agevolezza ed efficacia nel trattamento dei pazienti con morbo di Addison rispetto a quelli con SAG hanno suggerito l'adrenalectomia di questi ultimi come mezzo terapeutico atto ad azzerare la capricciosa funzione surrenalica deficitaria e a so-

Sindrome adreno-genitale congenita da deficit di 21-idrossilasi

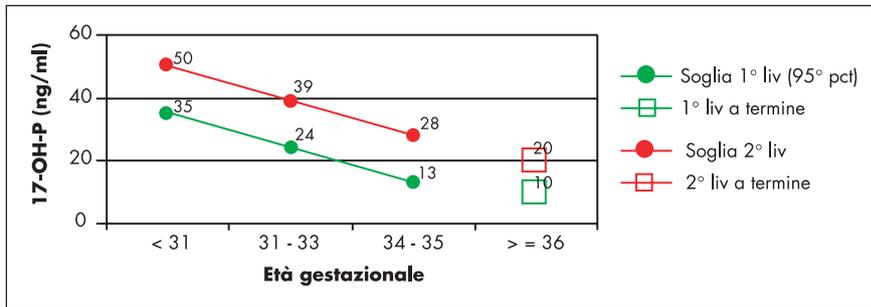


Figura 7. Soglie di richiamo del 17-OH-progesterone su cartoncino (metodo Delfia) suddivise in 4 fasce di età gestazionale (Screening neonatale dell'Emilia-Romagna). In pratica esistono due livelli di cut-off per le procedure di richiamo. Tutti i valori di 17-OH-P inferiori a 10 ng/ml sono considerati normali. Quando viene riscontrato un valore di 17-OH-P superiore a 20 ng/ml nei neonati a termine o superiore ai valori di 2° livello nei neonati pre-termine, il neonato viene richiamato per effettuare un esame endocrinologico completo. Nei casi con valori di 17-OH-P borderline (compresi cioè tra il cut-off di 1° e 2° livello), viene richiesto un secondo campione di sangue su cartoncino come misura di primo intervento. Se il risultato di questo 2° campione è ancora elevato, in quel caso il paziente è richiamato per un esame endocrinologico completo.

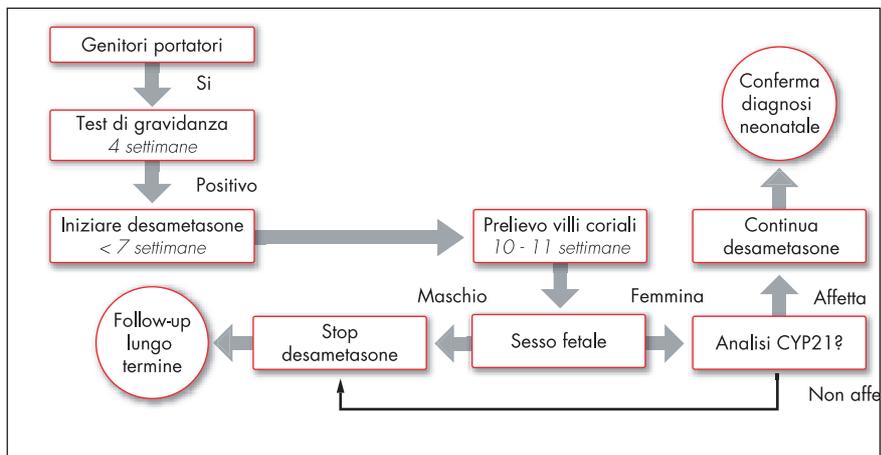


Figura 8. Algoritmo delle decisioni riguardanti la diagnosi e il trattamento prenatale del deficit di 21-idrossilasi.

stituirli completamente con terapia glicocorticoidica e mineralocorticoidica per os³⁰. Un'ulteriore alternativa alla terapia classica prevede l'uso combinato di antiandrogeni (blocco diretto), inibitori dell'aromatasi (blocco della trasformazione di androgeni in estrogeni) e riduzione della dose di glicocorticoidi³¹. L'ormone della crescita (GH) in associazione con gli analoghi del Gn-RH ha portato promettenti risultati a breve termine³², ma sono necessarie conferme definitive prima di considerarla una valida terapia complementare. Sono in atto, infine, vari tentativi di terapia genica per una radicale soluzione della malattia³³. I risultati di queste sperimentazioni tuttavia necessitano di lunghi periodi di follow-up e di un maggior numero di pazienti

per poter dare indicazioni attendibili sull'efficacia e l'innocuità di questi approcci terapeutici.

Terapia chirurgica

I progressi compiuti negli ultimi due decenni nelle tecniche chirurgiche di correzione dei genitali hanno portato ad anticiparne entro i primi 6-12 mesi di vita la correzione completa (clitoridoplastica e vaginoplastica), eseguibile con un intervento singolo³⁴. Non vi sono ancora, tuttavia, dati sufficientemente numerosi che analizzino i risultati a lungo termine di queste nuove tecniche operatorie. L'analisi retrospettiva dei risultati cosmetici e funzionali delle tecniche precedenti è stata spesso insoddisfacente³⁵ e quasi sempre si è resa necessaria una

revisione della vaginoplastica in adolescenza. È importante, perciò, che vengano chiariti con i genitori i rischi e i benefici delle attuali procedure chirurgiche. Risultano tuttavia, a nostro avviso, meno pertinenti a questa particolare patologia le riserve fatte da alcune associazioni genitori/pazienti coinvolte nei disturbi della differenziazione sessuale sulla corrente pratica di precoce assegnazione del sesso; esse infatti spingerebbero a rimandare la scelta dell'assegnazione del sesso a un'età successiva, quando lo stesso paziente può essere coinvolto nella decisione di quali correzioni dovrebbero essere attuate.

RISULTATI A LUNGO TERMINE

Crescita staturale

Sebbene la crescita del bambino con SAG sia accelerata, la statura adulta delle forme classiche cade in media tra 1 e 2 deviazioni standard al di sotto del bersaglio familiare^{36,37}. In parte il problema deriva dal difficile bilanciamento tra dosi sostitutive troppo elevate, che rallentano in maniera patologica la crescita, e dosi troppo scarse, che al contrario accelerano sotto la spinta iperandrogenica, anticipando la saldatura delle cartilagini di accrescimento. La sensibilità agli effetti benefici o avversi degli steroidi esogeni, d'altra parte, può essere influenzata anche da variazioni individuali nel metabolismo e nell'attività recettoriale ai farmaci, che sono in parte responsabili dell'azione in vivo di questi ultimi³⁸. Il tentativo di utilizzare la dose minima di glicocorticoidi esogeni per mantenere entro livelli accettabili gli ormoni cortico-surrenali, soprattutto in età adolescenziale (quando vi sono scarsi riferimenti sulle dosi più appropriate), ha portato alla sperimentazione dei nuovi protocolli di terapia combinata già riportati³¹ e per i quali si dovrà attendere un'analisi finale. Nell'esperienza della Clinica Pediatrica di Bologna, il gruppo di pazienti più compromesso dal punto di vista staturale è quello dei maschi con forma virilizante semplice di più lontana diagnosi; essi infatti avevano avuto come fattori sfavorevoli sia il tardivo inizio della terapia sostitutiva che il mancato utilizzo di fluoridrocortisone, utile

Aggiornamento monografico

in questi casi anche in assenza di segni manifesti di squilibrio idroelettrolitico³⁷. La statura adulta dei pazienti con forma non classica generalmente non si discosta significativamente dall'altezza familiare³⁹.

Funzione riproduttiva

Nelle femmine con SAG i primi problemi possono manifestarsi già durante l'adolescenza, quando l'età media del menarca può essere ritardata rispetto alla norma³⁷. Le ragazze con forma classica mal controllate possono presentare irsutismo, oligomenorrea/amenorrea, menorragia e acne, tutti sintomi spesso presenti nella sindrome da ovaio policistico. L'iperandrogenismo che ne è alla base può inoltre sviluppare una ridotta sensibilità all'insulina che a sua volta condiziona l'insorgenza di un iperandrogenismo ovarico funzionale, indipendente dalla presenza o meno di obesità. Altre interferenze sull'asse ipotalamo-ipofisario possono derivare sia indirettamente da un iperestrogenismo da eccessiva aromatizzazione periferica degli androgeni, che direttamente attraverso gli elevati livelli di progesterone di provenienza surrenalica.

Lo sviluppo della ghiandola mammaria può essere ipotrofico nelle donne con SAG. Studi su animali hanno indicato che elevati livelli di testosterone in utero sopprimono la crescita del tessuto mammario, condizionandone uno scarso sviluppo durante l'adolescenza.

Nonostante tutti i potenziali disturbi della funzione riproduttiva delle donne con SAG, un recente studio del Nord-America ha riportato che, tra le forme classiche, circa l'80% con virilizzazione semplice e il 60% con perdita di sali risultavano fertili⁴⁰. Le informazioni riguardanti la funzione riproduttiva delle forme non classiche può risentire di "bias" dovuti al fatto che la popolazione cui si fa riferimento è in genere quella sintomatica, cioè pazienti trattate per la presenza di iperandrogenismo o infertilità. Quando si valutano invece i soggetti con forma non classica individuati attraverso screening di popolazione o studi familiari, questi spesso non mostrano differenze significative rispetto alla norma. Uno studio france-

se⁴¹ ha riportato che circa il 50% delle donne affette da forma non classica è diventata gravida prima della diagnosi e non ha avuto bisogno di nessuna terapia per il concepimento; dell'altro 50%, quelle che desideravano una gravidanza riuscirono a concepire durante il trattamento con idrocortisone; solo in 1 caso su 20 fu necessaria l'aggiunta di clomifene citrato per ottenere il concepimento.

Le neonate non affette, nate da madri con SAG classica, non sono a rischio di virilizzazione dei genitali. Gli elevati livelli di testosterone materno presente in questi casi, infatti, sono convertiti in estrogeni dalla aromatasi placentare, antagonizzati dagli elevati livelli di progesterone e trattenuti nel sangue materno dall'abbondante SHBG circolante.

Nei maschi con forma classica la funzione gonadica appare meno compromessa che nelle femmine affette. La presenza di "adrenal rests" nel tessuto testicolare dei maschi con perdita di sali è più frequente che nelle altre forme ed è associata a un rischio più elevato di infertilità⁴².

Sviluppo psicosessuale

Non sono stati segnalati per i maschi affetti comportamenti sessuali atipici. In alcune femmine invece, soprattutto forme con perdita di sali, è stata osservata una preferenza a giochi di tipo maschile, maggiore aggressività, scarsa propensione materna e all'allevamento dei figli⁴³. L'imprinting androgenico fetale può in alcuni casi condizionare l'identificazione sessuale di queste pazienti, anche se generalmente esprimono identità e ruolo femminile normali, e orientamento eterosessuale⁴⁴. I problemi di identificazione sessuale e i risvolti psicologici negativi di alcuni pazienti con problemi di intersessualità⁴⁵, tuttavia, suggeriscono di seguire l'evoluzione di questa sfera con particolare scrupolo attraverso il supporto di psicologi e/o neuropsichiatri dell'infanzia.

Indirizzo per corrispondenza:

Antonio Balsamo
e-mail: antonio.balsamo@unibo.it

MESSAGGI CHIAVE

- ❑ L'effetto primario del deficit di 21-idrossilasi consiste nella ridotta produzione di cortisolo, con un feed-back positivo sulla increzione ipotalamica di ACTH e un'iperplasia surrenalica con accumulo dei precursori del blocco enzimatico e dei loro prodotti metabolici. Nei casi in cui il blocco è più stretto anche la produzione di aldosterone (a valle del blocco) è significativamente compromessa.
- ❑ L'effetto fenotipico più evidente e comune di questo accumulo è rappresentato dagli steroidi a monte del blocco, iperstimolati dall'ACTH e dal loro effetto virilizzante.
- ❑ Si conoscono due gruppi di errori, a carico di due geni distinti, con effetto inibitorio sulla sintesi del blocco di 21-idrossilasi; i pazienti malati sono eterozigoti composti, con differenti tipi di mutazione su ciascun allele, e differenti quadri clinici.
- ❑ La forma classica colpisce 1/10.000 bambini provocando segni di virilizzazione (evidenti quasi solo nella femmina) di vario grado, fino alla ambiguità, e (nel 75% dei casi) segni di disturbi dell'equilibrio idroelettrolitico. Le forme "non classiche" hanno un'incidenza valutata intorno a 1/1000 e comprendono soggetti con manifestazioni cliniche minori, con pubarca precoce, accelerazione della statura (e bassa statura finale), oppure con quadri tardivi somiglianti a quelli della sindrome dell'ovaio policistico con irsutismo, e infine soggetti asintomatici.
- ❑ La diagnosi viene fatta mediante il dosaggio del 17-OH-progesterone. Può essere fatta mediante screening neonatale (17-OH-progesterone su carta). Nelle forme non classiche il dosaggio viene fatto dopo stimolo con ACTH.
- ❑ La terapia si basa sulla somministrazione sostitutiva orale di idrocortisone (10-25 mg/m²/die), che limita la produzione di ACTH e i suoi effetti virilizzanti, e, se c'è perdita di sali, con fluoridrocortisone. L'intervento chirurgico può essere necessario per correggere le anomalie dei genitali.
- ❑ Tutto questo corrisponde a un'ipersemplicificazione del problema terapeutico, che può richiedere difficili aggiustamenti, e che può avvalersi di nuovi approcci. La funzione riproduttiva non è compromessa nella maggior parte dei casi, e gli effetti della sindrome sul comportamento sono marginali.

Sindrome adreno-genitale congenita da deficit di 21-idrossilasi

Bibliografia

- Pang S, Clark A, et al. CAH due to 21-hydroxylase deficiency: newborn screening and its relationship to the diagnosis and treatment of the disorder. *Screening* 1993;2:105-39.
- Speiser PW, Dupont J, Rubinstein P, Piazza A, Kastelan A & New MI. High frequency of nonclassic steroid 21-hydroxylase deficiency. *American Journal of Human Genetics* 1985; 37:650-67.
- White PC, Speiser PW. Congenital Adrenal Hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev* 2000;21:245-91.
- Barbaro M, Lajic S, Baldazzi L, Balsamo A, Pirazzoli P, Cicognani A, Wedell A, Cacciari E. Functional Analysis of two Recurrent Amino Acid Substitutions in the CYP21 Gene from Italian Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(5): 2402-7.
- Balsamo A, Baldazzi L, Cicognani A, Barbaro M, Ragni L, Zappulla F, Maccaferri M, Cacciari E. CYP21 analysis and phenotype/genotype relationship in 155 Patients with steroid 21-hydroxylase deficiency from Italy. *Ped Res* 2001; 49(6):115A,P1-686.
- Balsamo A, Cacciari E, Baldazzi L, Tartaglia L, Cassio A, Mantovani V, Piazzzi S, Cicognani A, Pirazzoli P, Mainetti B, Zappulla F. CYP21 analysis and phenotype/genotype relationship in the screened population of the Italian Emilia-Romagna region. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000; 53:117-25.
- Prader A. Der Genitalbefund beim Pseudohermaphroditismus feminus des kongenitalen adrenogenitalen Syndroms. Morphologie, Häufigkeit, Entwicklung und Vererbung der verschiedenen Genitalformen. *Helvetica Paediatrica Acta* 1954;9:231-43.
- Merke DP, Chrousos GP, Eisenhofer G, et al. Adrenomedullary dysplasia and hypofunction in patients with classic 21-hydroxylase deficiency. *N Engl J Med* 2000;343:1362-8.
- Karnak I, Senocak ME, Gogus S, et al. Testicular enlargement in patients with 11-hydroxylase deficiency. *J Pediatr Surg* 1997; 32:756-60.
- Moran C, Azziz R, Carmina E, et al. 21 hydroxylase-deficient non classical adrenal hyperplasia is a progressive disorder: a multicenter study. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1468-74.
- Levine LS, Dupont B, Lorenzen F, et al. Cryptic 21-hydroxylase deficiency in families of patients with classical congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;51: 1316-24.
- New MI, Lorenzen F, Lerner AJ, et al. Genotyping steroid 21-hydroxylase deficiency: hormonal reference data. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;57:320-7.
- Al-Alwan I, Navarro O, Daneman D, et al. Clinical utility of adrenal ultrasonography in the diagnosis of congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr* 1999;135:71-5.
- Balsamo A, Baserga M, Burroni M, et al. Screening e accertamento diagnostico della sindrome adreno-genitale congenita da deficit di 21-idrossilasi. *Rivista Italiana di Pediatria (IJP)* 1998;24(5):861-9.
- Cacciari E, Balsamo A, Cassio A, Piazzzi S, Bernardi F, Salardi S, Cicognani A, Pirazzoli P, Zappulla F, Capelli M, Paolini M. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *Arch Dis Child* 1983;58(10):803-6.
- Therrel BLjr, Berembaum SA, Manter-Kapanke V, et al. Results of screening 1.9 million Texas newborns for 21-hydroxylase-deficient congenital adrenal hyperplasia. *Pediatrics* 1998;101:583-90.
- Balsamo A, Cacciari E, Piazzzi S, Cassio A, Bozza D, Pirazzoli P, Zappulla F. Congenital adrenal hyperplasia: neonatal mass screening compared to clinical diagnosis only in the Emilia-Romagna Region of Italy (1980-1995). *Pediatrics* 1996;98:362-7.
- Mikami A, Fukushi M, Oda H, Fujita K, Fujieda K. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in Sapporo City: sixteen years experience. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1999;30(Suppl 2):100-2.
- Minutti CZ, Lacey JM, Magera MJ, Hahn SH, McCann M, Schulze A, Cheillan D, Borche C, Chace DH, Lymph JF, Zimmerman D, Rinaldo P, Matern D. Steroid profiling by tandem mass spectrometry improves the positive predictive value of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(8):3687-93.
- Nordenstrom A, Wedell A, Hagenfeldt L, Marcus C, Larsson A. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: 17-hydroxyprogesterone levels and CYP21 genotypes in pre-term infants. *Pediatrics* 2001;108(4):E68.
- New MI, Carlson A, Obeid J, Marshall I, Cabrera MS, Goseco A, Lin-Su K, Putnam AS, Wei JQ, Wilson RC. Prenatal diagnosis for congenital adrenal hyperplasia in 532 pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(12):5651-7.
- Pang S, Clark AT, Freeman LC, et al. Maternal side effects of prenatal dexamethasone therapy for fetal congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:249-56.
- Clayton PE, Miller WL, Oberfield SE, Ritzen EM, Sippel WG, Speiser PW. Consensus statement on 21-hydroxylase deficiency from the European Society for Pediatric Endocrinology and the Lawson-Wilkins Pediatric Endocrine Society. *Horm Res* 2002;58:188-95.
- Metzger DL, Wright NM, Veldhuis JD, Rogol AD, Kerrigan JR. Characterization of pulsatile secretion and clearance of plasma cortisol in premature and term neonates using deconvolution analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77:458-63.
- Kerrigan JR, Veldhuis JD, Leyo SA, Iranmanesh A, Rogol AD. Estimation of daily cortisol production and clearance rates in normal pubertal males by deconvolution analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:1505-10.
- Carmina E, Lobo RA. Ovarian suppression reduces clinical and endocrine expression of late onset congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Fertil Steril* 1994; 62:738-43.
- Spitzer P, Billaud L, Thalabard J, et al. Cyproterone acetate versus Hydrocortisone treatment in late onset congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:642-9.
- Soliman AT, AlLamki M, AlSalmi I, et al. Congenital adrenal hyperplasia complicated by central precocious puberty: linear growth during infancy and treatment with gonadotropin-releasing hormone analog. *Metabolism* 1997; 46(5):513-7.
- Clark RV, Albertson BD, Munabi A, et al. Steroidogenic enzyme activities, morphology, and receptor studies of a testicular adrenal rest in a patient with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:1408-13.
- Van Wyk JJ, Gunther DF, Ritzen EM, et al. The use of adrenalectomy as a treatment for congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3180-8.
- Merke DP, Keil MF, Jones JV, Fields J, Hill S, Cutler GB Jr. Flutamide, testolactone and reduced hydrocortisone dose maintain normal growth velocity and bone maturation despite elevated androgen levels in children with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(3):1114-20.
- Quintos JB, Vogiatzi MG, Harbison MD, et al. Growth hormone therapy alone or in combination with gonadotropin-releasing hormone analog therapy to improve the height deficit in children with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1511-7.
- Tajima T, Okada T, Ma XM, Ramsey W, Bornstein S, Aguilera G. Restoration of adrenal steroidogenesis by adenovirus-mediated transfer of human cytochrome P450 21-hydroxylase into the adrenal gland of 21-hydroxylase-deficient mice. *Gene Ther* 1999;6(11):1898-903.
- Schnitzer JJ, Donahoe PK. Surgical treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001;30:137-54.
- Creighton SM, Minto CL, Steele SJ. Objective cosmetic and anatomical outcomes at adolescence of feminising surgery for ambiguous genitalia done in childhood. *Lancet* 2001;358(9276):124-5.
- Eugster EA, Di Meglio L, Wright JC, Freidemberg GR, Sesbadri R, Pescovitz OH. Height outcome in congenital adrenal hyperplasia caused by 21-hydroxylase deficiency: a meta-analysis. *J Pediatr* 2001;138:26-32.
- Balsamo A, Cicognani A, Baldazzi L, Barbaro M, Baronio F, Gennari M, Bal M, Cassio A, Kontaxaki K, Cacciari E. CYP21 genotype, adult height and pubertal development in 55 patients treated for 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(12):5680-8.
- Iluizenga NA, Koper JW, De Lange P, et al. A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene may be associated with an increased sensitivity to glucocorticoids in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:144-51.
- Cameron FJ, Tebbutt N, Montalto J, et al. Endocrinology and auxology of sibships with non classical congenital adrenal hyperplasia. *Arch Dis Child* 1996;74:406-11.
- Lo JC, Schwitzgebel VM, Tyrrel JB, et al. Normal female infants born of mother with classic congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:930-6.
- Feldman S, Billaud L, Thalabard JC, et al. Fertility in women with late onset adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:635-9.
- Cabrera MS, Vogiatzi MG, New MI. Long term outcome in adult males with classic congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(7):3070-8.
- Berembaum SA, Duck SC, Bryk K. Behavioural effects of prenatal versus postnatal androgen excess in children with 21-hydroxylase deficient congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:727-33.
- Dittmann RW, Kappes ME, Kappes MH. Sexual behaviour in adolescent and adult females with congenital adrenal hyperplasia. *Psychoneuroendocrinology* 1992;17:153-170.
- Reiner WG. Sex assignment in the neonate with intersex or inadequate genitalia. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1997;151:1044-6.