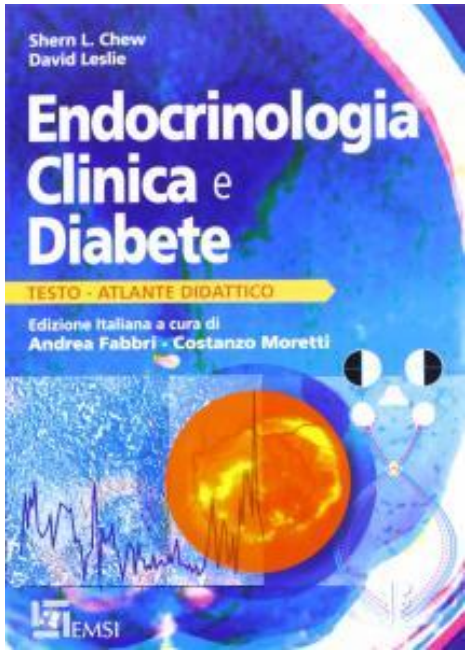
ENDOCRINOLOGIA

Lezione 8

SISTEMA RIPRODUTTIVO FEMMINILE

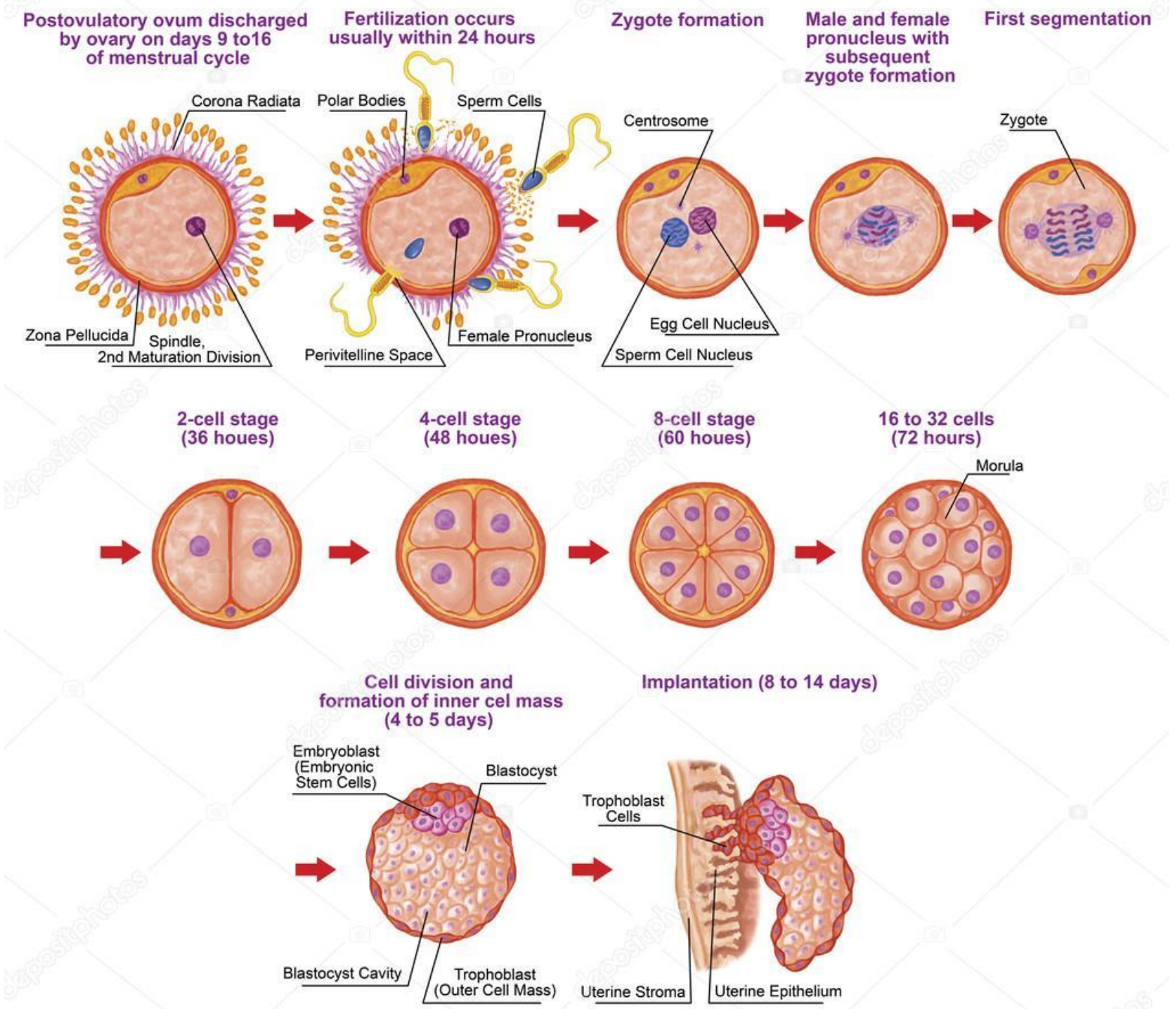
CORSO DI LAUREA IN SCIENZE OSTETRICHE
Secondo Anno – Secondo Semestre
Medicina Interna – Scienze Chirurgiche – Medicina Prenatale
Assistenza al parto ed al puerperio

Prof. Costanzo Moretti
Dipartimento di Medicina dei Sistemi

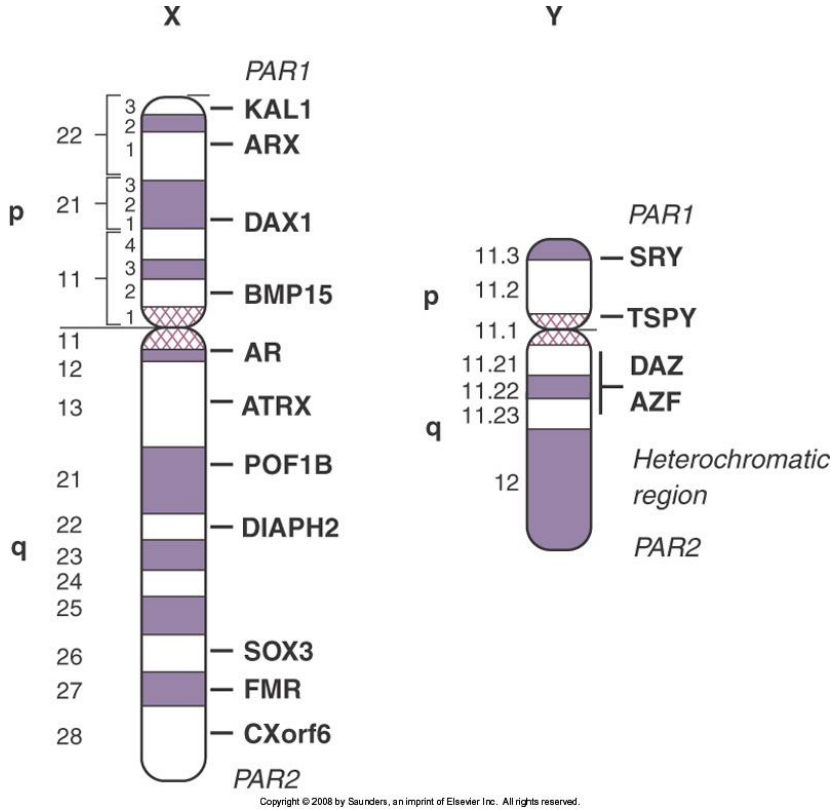


www.endocrinologiamoretti.it

Didattica


Postovulatory ovum discharged by ovary on days 9 to16 of menstrual cycle
Fertilization occurs usually within 24 hours
Zygote formation
Male and female pronucleus with subsequent zygote formation
First segmentation
Corona Radiata
Polar Bodies
Sperm Cells
Centrosome
Zygote
Zona Pellucida
Spindle, 2nd Maturation Division
Perivitelline Space
Female Pronucleus
Egg Cell Nucleus
Sperm Cell Nucleus
2-cell stage (36 houes)
4-cell stage (48 houes)
8-cell stage (60 houes)
16 to 32 cells (72 hours)
Morula
Cell division and formation of inner cel mass (4 to 5 days)
Implantation (8 to 14 days)
Embryoblast (Embryonic Stem Cells)
Blastocyst
Trophoblast Cells
Blastocyst Cavity
Trophoblast (Outer Cell Mass)
Uterine Stroma
Uterine Epithelium

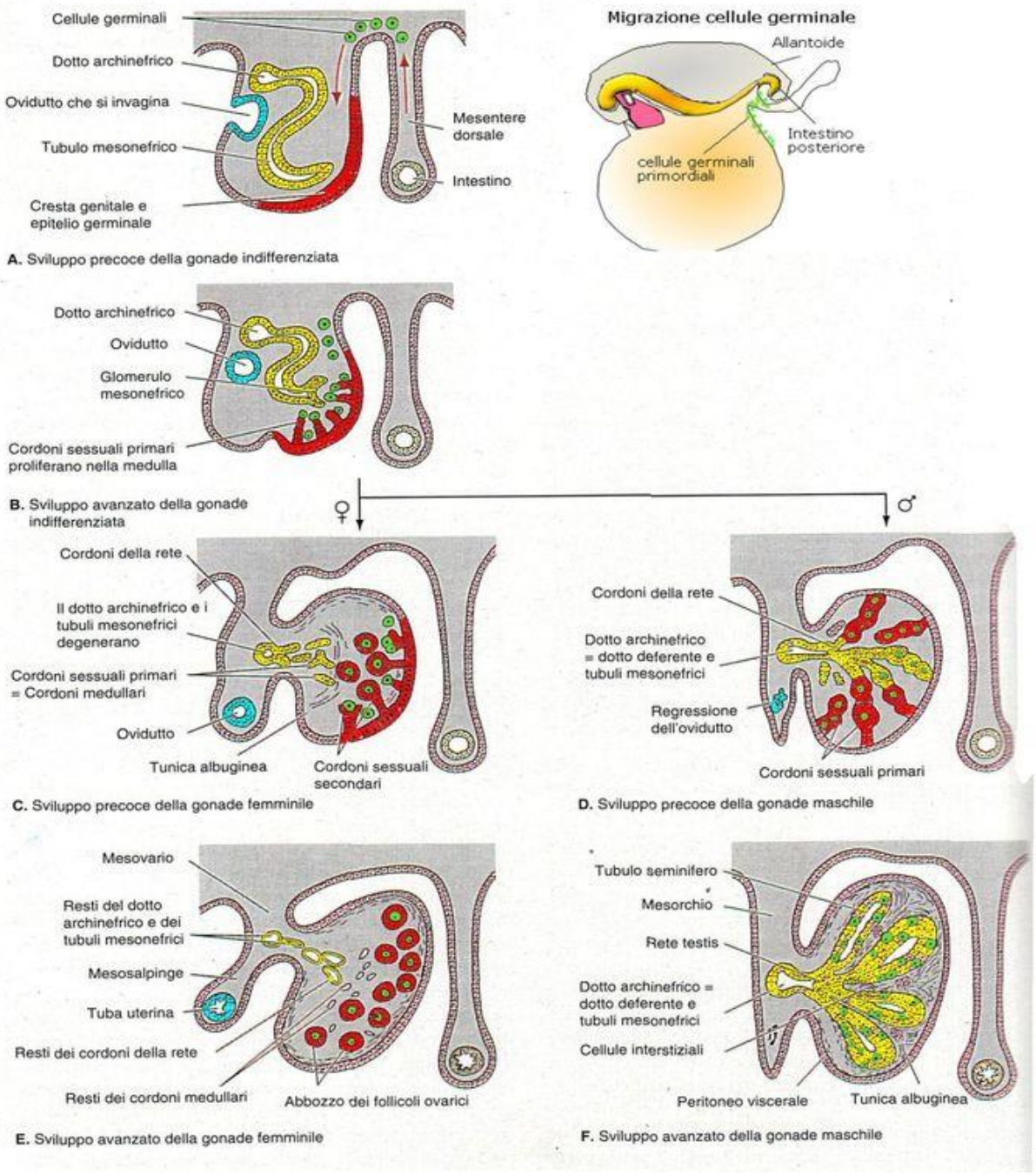
Regioni chiave e geni coinvolti nello sviluppo sessuale e nella riproduzione



p, Short arm; *q,* long arm; *PAR,* pseudoautosomal region; *KAL1,* Kallman syndrome, 1; *ARX,* aristaless-related homeobox, X-linked; *DAX1,* dosage-sensitive sex reversal congenital adrenal hypoplasia critical region on the X chromosome, 1; *BMP15,* bone morphogenetic protein, 15; *AR,* androgen receptor; *ATRX,* α-thalassemia, X-linked mental retardation; *POF1B,* actin-binding protein, 34 kd; *DIAP2,* human homologue of the *Drosophila* diaphanous gene; *SOX3,* SRY-related HMG-box, 3; *FMR,* fragile X, mental retardation; *SRY,* sex-determining region Y; *TSPY,* testes-specific protein Y; *DAZ,* deleted in azoospermia; *AZF,* azoospermia factor.

Sviluppo iniziale del fenotipo sessuale

Alla fertilizzazione	• Lo spermatozoo con un cromosoma X o Y determina il sesso fondendosi con un uovo (cromosoma X)
Alla IV sett di sviluppo	• La proliferazione di cellule nell'anello genitale crea la gonade bipotenziale
Alla VII sett di gestazione	• La gonade 46,XY diviene testicolo • La gonade 46,XY diviene ovaio

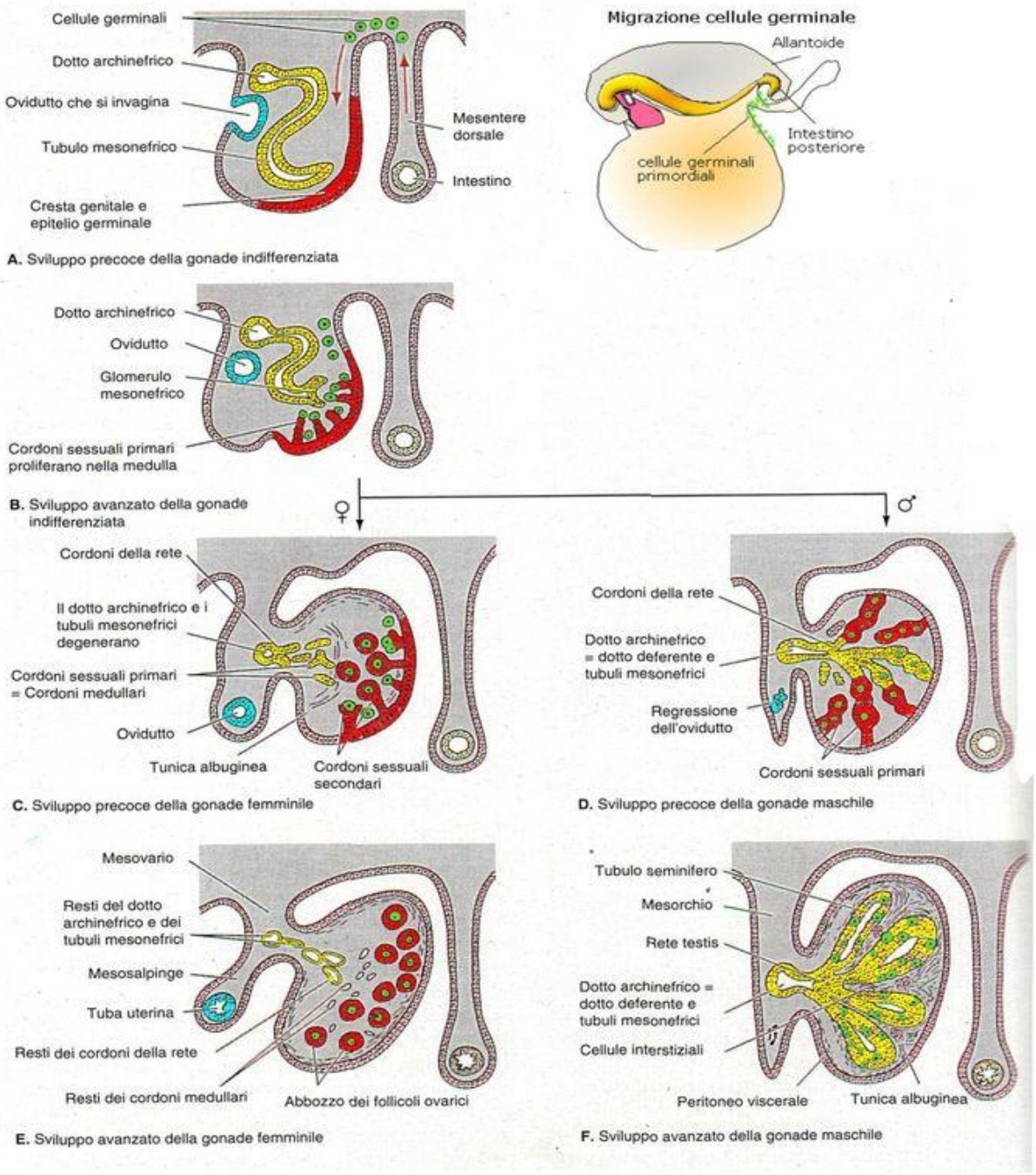


La **determinazione** della identità sessuale è definita dai cromosomi sessuali.

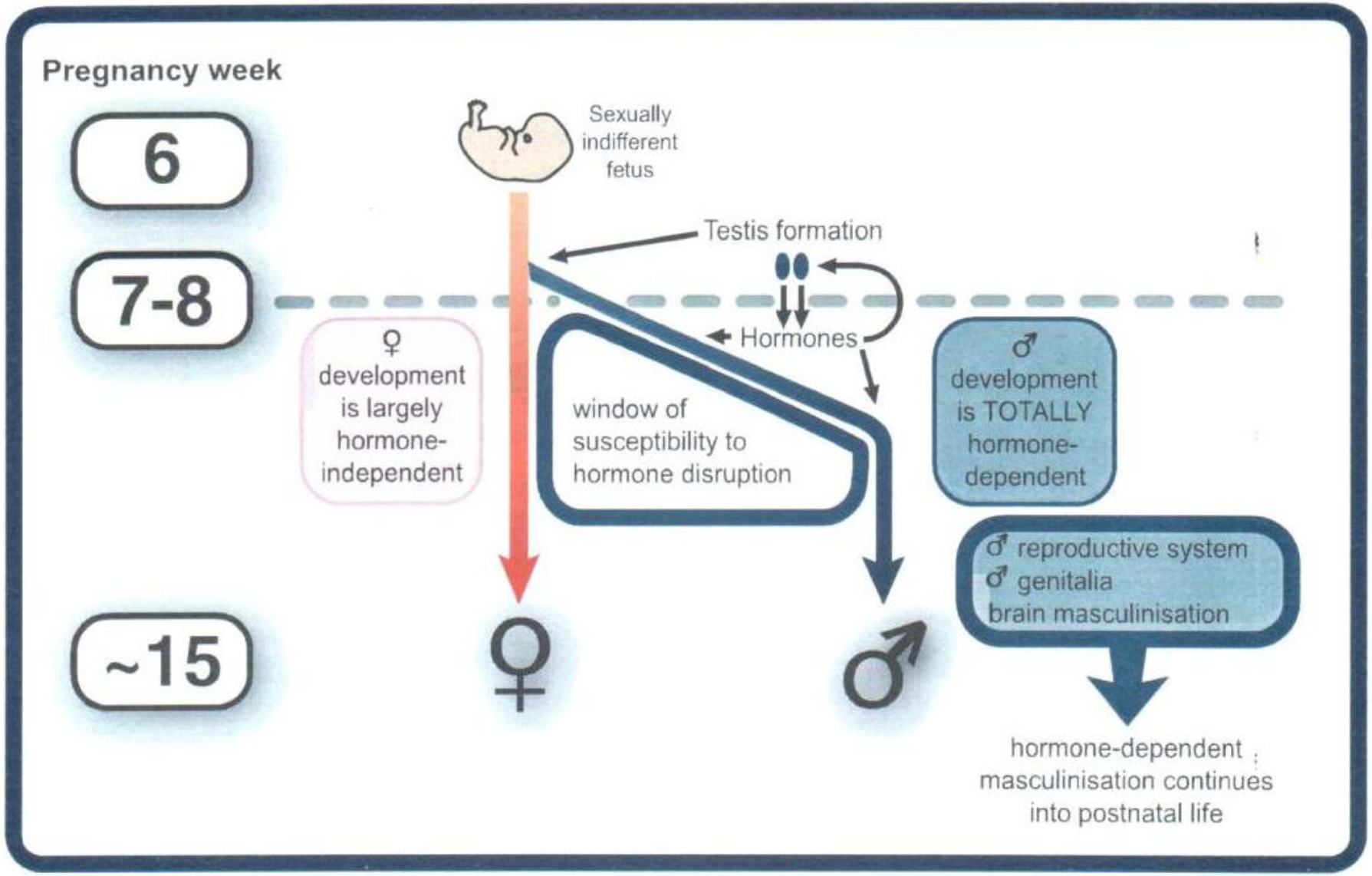
La formazione delle cellule germinali primordiali (PCGs) alla base del sacco vitellino ed il loro viaggio tortuoso lungo l'intestino primitivo verso l'anello genitale, e la proliferazione e migrazione delle cellule somatiche e germinali nelle gonadi bipotenziali sono indipendenti dal tipo di sesso cromosomico che è presente nel feto.

Nella gonade bipotenziale SRY-positiva, SRY si lega a molteplici elementi enancher delle gonadi del promoter SOX9 per up-regolare la sua espressione insieme a DAX1 e SF1. FGF9 stabilizza l'espressione di SOX9.

Durante la differenziazione testicolare SRY, SOX9 o entrambi agiscono per down-regolare la *pathway* ovarica sopprimendo RSPO1 durante una finestra chiave dello sviluppo precoce.



La presenza del tessuto testicolare fetale è alla base della **differenziazione** sessuale. Il testicolo fetale che produce sia testosterone (T) che ormone antimulleriano (AMH) comporta la trasformazione del dotto di Wolff nei futuri dotti deferenti, epididimi e vescicole seminali ed alla regressione dei dotti di Muller. Nella femmina l'ovaio fetale non secerne questi ormoni, e dunque il dotto di Wolf regredisce, mentre il dotto di Muller dà origine alle tube di Fallopio (ovidotti), utero e porzione superiore della vagina. Gli androgeni hanno dunque un ruolo chiave nello sviluppo del tratto genitale maschilema non sono l'unica via di segnale coinvolta.


Pregnancy week
6
7-8
~15
Sexually indifferent fetus
Testis formation
Hormones
♀ development is largely hormone-independent
window of susceptibility to hormone disruption
♂ development is TOTALLY hormone-dependent
♂ reproductive system
♂ genitalia
brain masculinisation
hormone-dependent masculinisation continues into postnatal life

Punti chiave nel considerare le basi genetiche dello sviluppo gonadico e genitale

- Nello sviluppo gonadico un singolo organo, conosciuto come gonade primordiale, è bipotenziale e può svilupparsi sia verso testicolo che ovaio nell'ambito delle **determinazione sessuale**.
- La **differenziazione sessuale** è il processo attraverso il quale i genitali interni ed esterni sono programmati a svilupparsi verso la linea maschile o femminile attraverso l'azione di ormoni e *pathways* di segnale genetico legate a recettori specifici.
- L'azione di specifici fattori trascrizionali mantiene lo stato differenziativo.
- Un ruolo importante è rivolto alla attivazione di vie di segnale MAP kinasico ed al *programming* epigenetico nel creare l'appropriato microambiente e promuovere la corretta espressione di SRY e dello sviluppo testicolare.
- Determinazione e differenziazione sessuale sono due fasi e processi distinti, consecutivi, che seguono lo stabilirsi del sesso cromosomico al tempo della fertilizzazione dei gameti. Questi processi richiedono la coordinata espressione spaziotemporale di numerosi geni sesso-specifici.

Determinazione sessuale

Sviluppo del sesso gonadico
(testicoli od ovaie)

Differenziazione sessuale

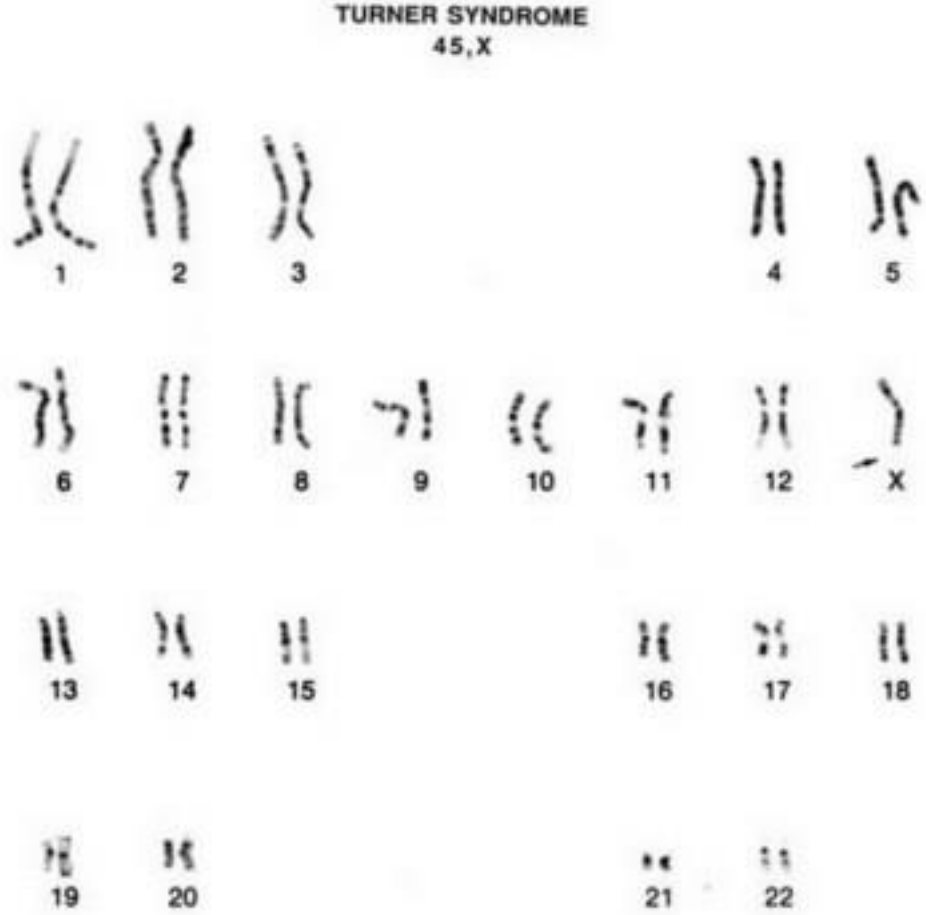
Processo che interviene subito dopo che
si è stabilito il dimorfismo sessuale di genitali
interni ed esterni

Nomenclatura dei disordini della differenziazione sessuale

Vecchia	Nuova
Intersesso	Disordine della differenziazione sessuale (DSD)
Pseudoermafrotidismo maschile, bassa virilizzazione o mascolinizzazione di maschio XY	46,XY DSD
Pseudoermafrotidismo femminile, ipervirilizzazione o ipermascolinizzazione di una femmina XX	46,XX DSD
Ermafrotidismo vero	DSD ovotesticolare (Disgenesia gonadale incompleta)
Sex-reverse (maschio XX) XY sex-reversal	DSD 46,XX testicolare Disgenesia gonadale completa 46,XY

DSD cromosomi sessuali	DSD 46,XY	DSD 46,XX
45,X (Sindrome di Turner e varianti)	Disordini dello sviluppo gonadico (testicolare)	Disordini dello sviluppo gonadico (ovarico)
	Disgenesia gonadale completa (Swyer syndrome)	(DSD ovotesticolare, DSD testicolare : trasl. SRY, duplicazione SOX9)
47,XXY (Sindrome di Klinefelter e varianti)	Disgenesia gonadale parziale	Disgenesia gonadale
45,X/46,XY (DSD ovotesticolare, disgenesia gonadale mista)	Disordini di sintesi o azione biologica degli androgeni (Deficit 17OHSD, 5αRD2, StAR, CAIS, PAIS, MAIS)	Eccesso di Androgeni (Deficit 21 idrossilasi, defcit di aromatasi fetoplacentare)
46,XX/46,XY (chimerismo DSD ovotesticolare)	Difetti LHR	Luteoma materno
	Difetti AMH/AMHR	

SINDROME di TURNER



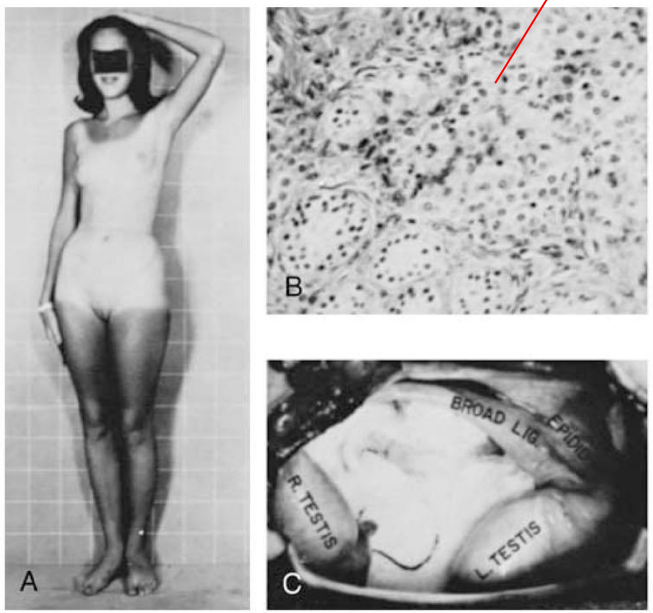
ASPETTI CLINICI DELLA S. di TURNER

- anomalie cardiovascolari
- ipertensione arteriosa
- plica cutanea nucale
- unghie iperconvesse
- pieghe epicantali
- linfedema periferico
- difetti auditivi
- nei pigmentati
- anomalie urinarie

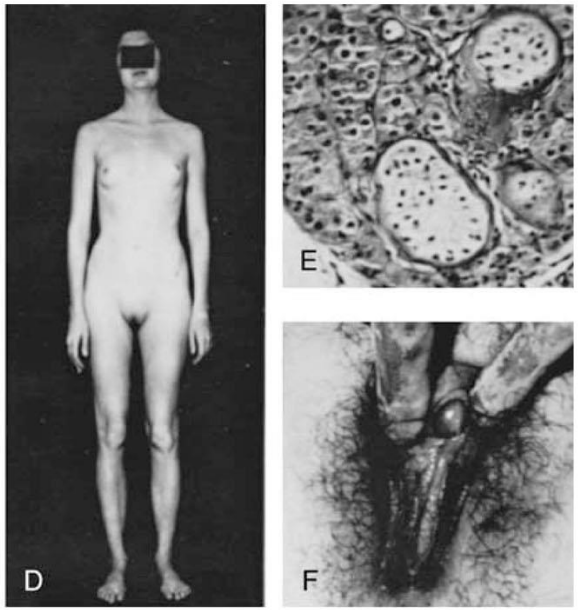
- sterilità
- amenorrea primaria
- petto incavato
- torace a scudo
- palato arcuato
- metacarpi corti
- bassa statura
- collo corto
- bassa inserzione dei capelli
- micrognatia

Sindrome da resistenza agli androgeni

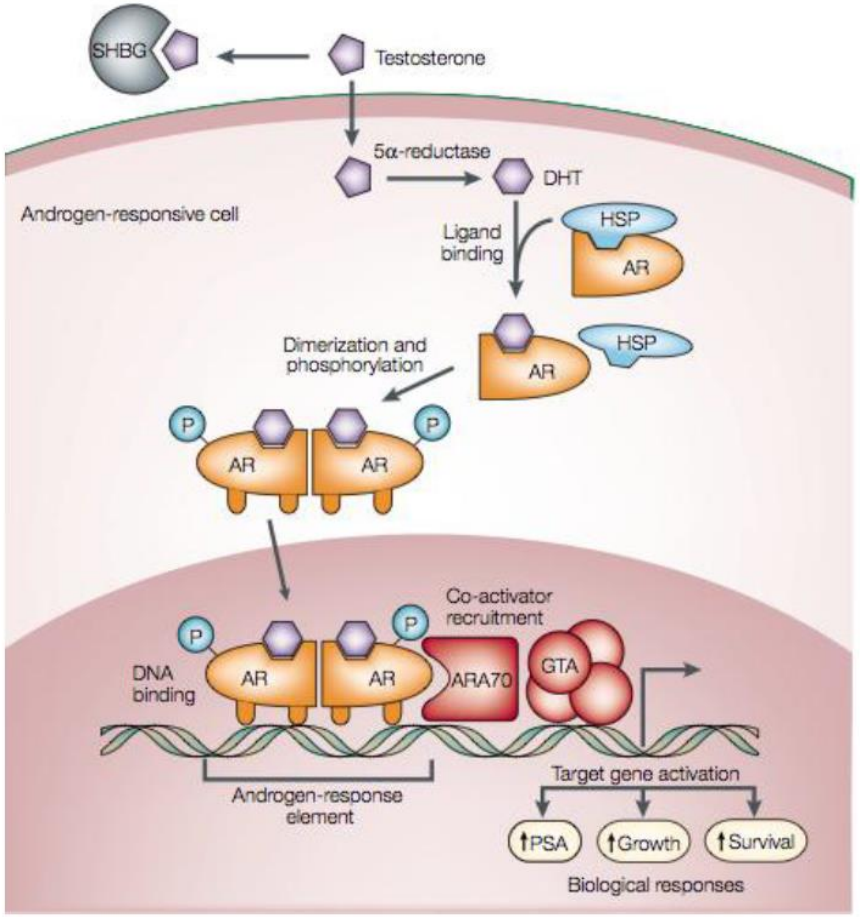
Iperplasia delle cellule di Leydig e tubuli seminiferi che mancano di elementi germinali



COMPLETE FORM OF SYNDROME

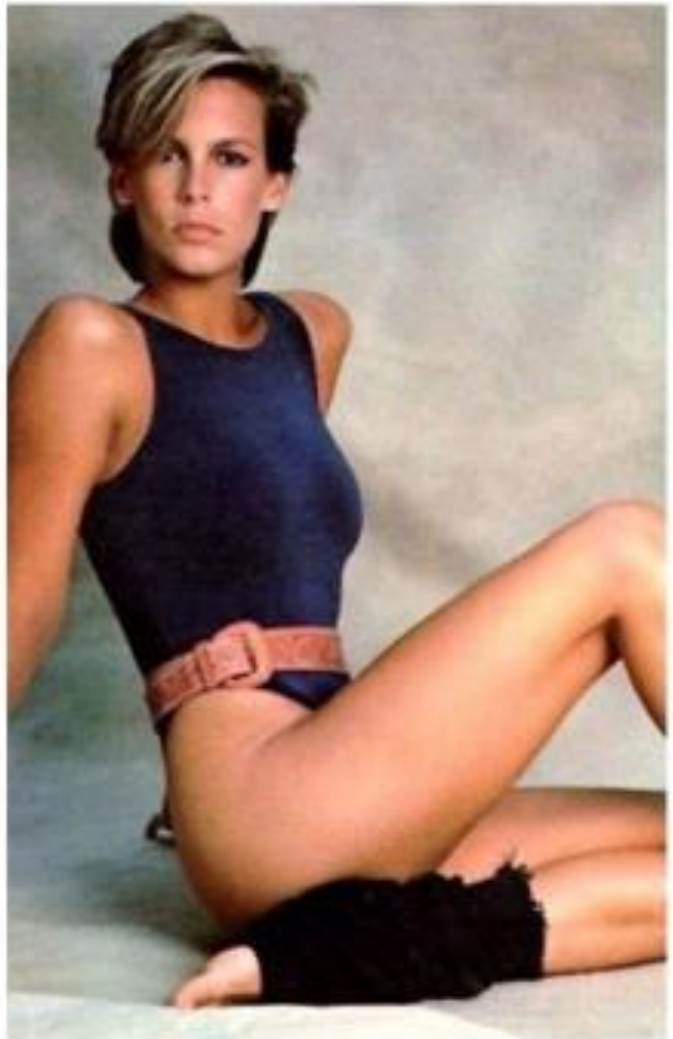


VARIANT FORM OF SYNDROME



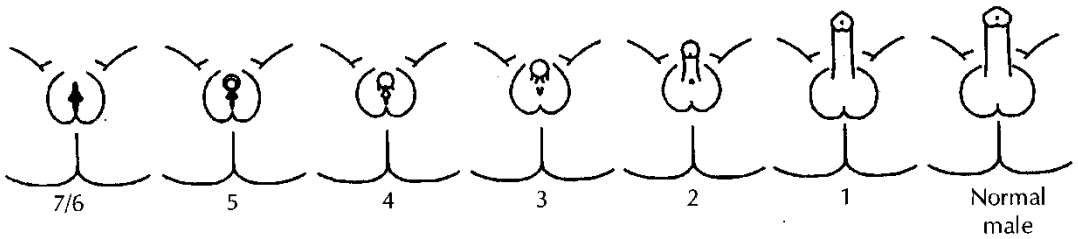
Copyright ©2003 Elsevier Science (USA). All rights reserved.

Androgen insensitivity syndrome



- XY chromosomes
- SRY gene produces testes
- Testes release testosterone, but the hormone has little or no effect
- Can be complete or incomplete

Sindrome da resistenza agli androgeni (AIS)



Classificazione di Quigley

Sindrome Parziale (PAIS)

- **Grado 1** : fenotipo completamente maschile con azoospermia e segni ormonali di insensibilità agli androgeni od anche uomo fertile con ginecomastia
- **Grado 2** : fenotipo maschile con segni di leggera sottovirilizzazione caratterizzati da ipospadia o scroto bifido o micropene e ginecomastia.
- **Grado 3** : fenotipo con virilizzazione e segni di sottovirilizzazione. Il paziente presenta micropene, ipospadia, scroto bifido. Può essere presente criptorchidismo
- **Grado 4** : fenotipo ambiguo. I neonati presentano labbra scrotalizzate e fallo di una grandezza intermedia tra pene e clitoride.
- **Grado 5** : fenotipo ambiguo-femminile. Clitoridomegalia e/o fusione labiale posteriore.
- **Grado 6** : fenotipo femminile. Minimi segni di azione androgenica. Genitali completamente femminili. Alla pubertà normale sviluppo della peluria pubica e/o della peluria ascellare.

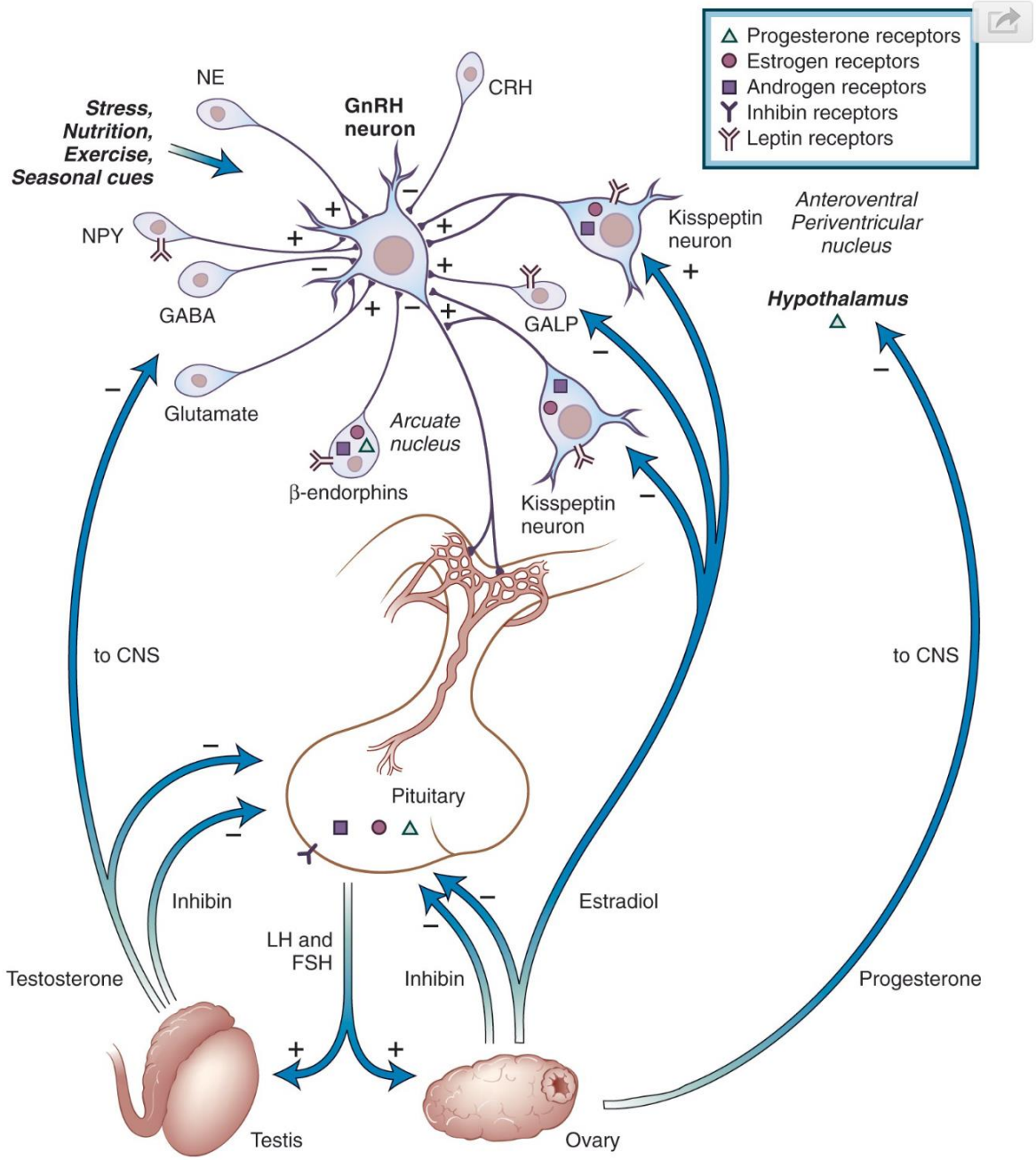
Sindrome Completa (CAIS)

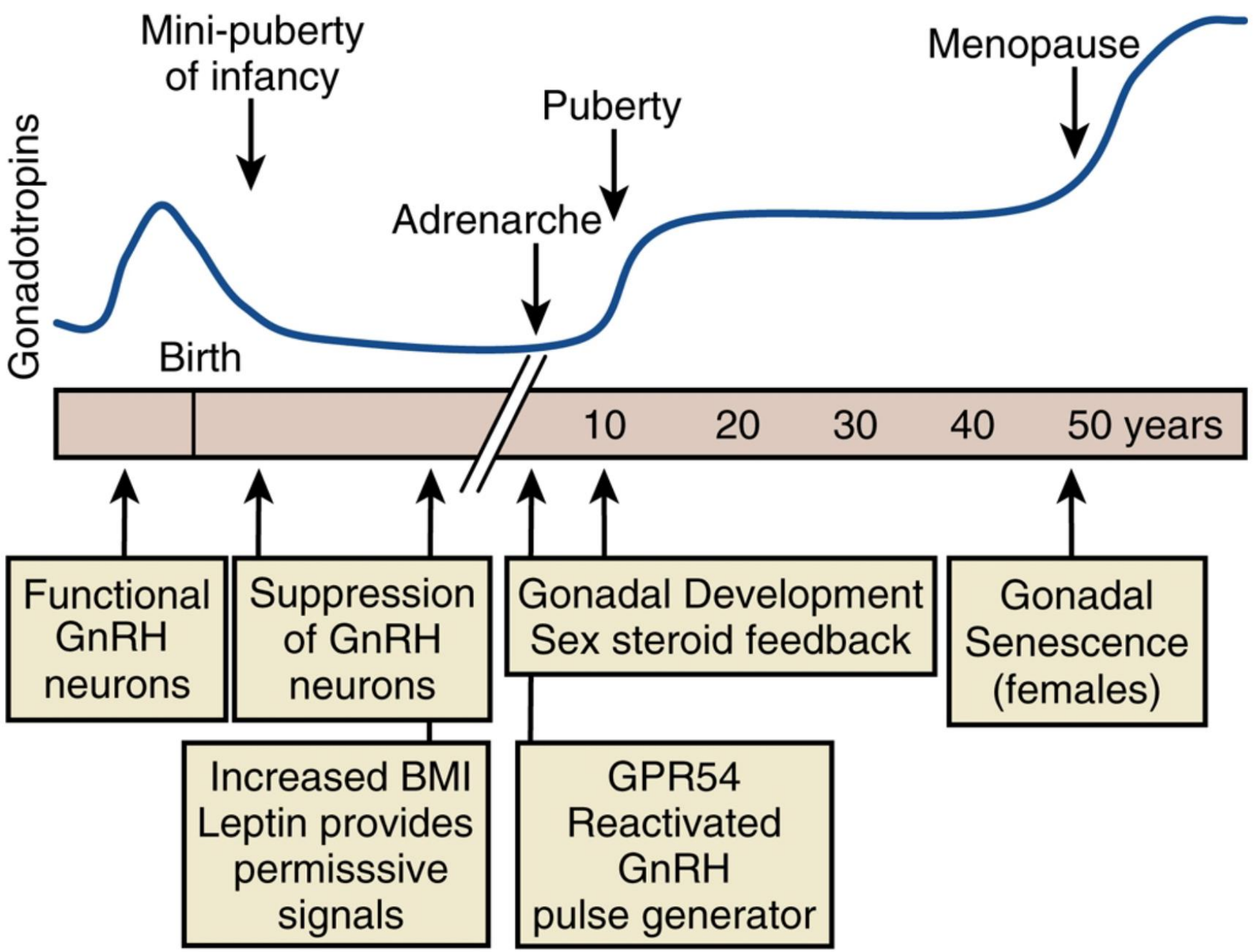
- **Grado 7** : fenotipo completamente femminile con assenza di peluria pubica e/o ascellare o rada peluria pubica di tipo vellico.

Punti chiave nel considerare la diagnosi dei disordini della differenziazione sessuale

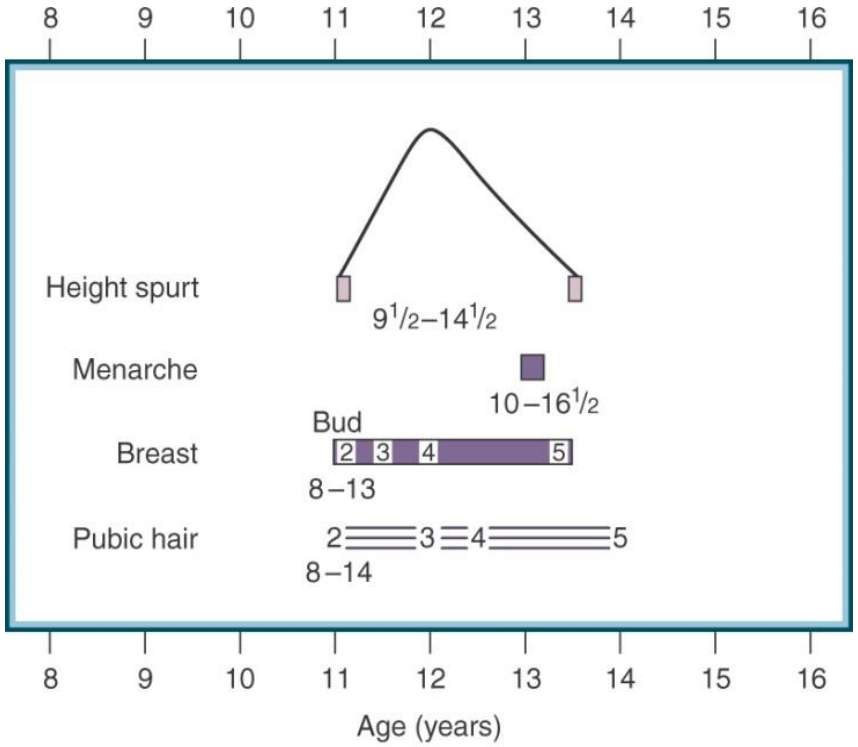
- I dotti di Wolff, il seno urogenitale ed i genitali esterni virilizzano in proporzione alla attività androgena fetale (livelli di androgeni ed espressione del recettore androgenico a livello degli organi target) durante le prime 12 settimane di vita fetale. La regressione dei dotti mulleriani è correlata alla attività dell'ormone antimülleriano (AMH) prodotto dalle gonadi ed alla espressione dei suoi specifici recettori (AMHR) nei dotti mülleriani durante le prime 10 settimane di vita fetale
- Difetti nella differenziazione gonadale portano a disordini disgenetici dello sviluppo sessuale (DSD) consistenti nella assenza di virilizzazione e persistenza di derivati Mülleriani in pazienti con cromosoma Y. Tener conto in questo senso della maggiore suscettibilità allo sviluppo di tumori.
- Un eccessivo livello di androgeni fetali porta alla virilizzazione di feti XX.
- Difetti nella produzione o azione degli androgeni porta alla formazione di DSD ormono-dipendenti consistenti in insufficiente virilizzazione in feti XY
- Difetti nella produzione o azione dell'AMH porta alla sindrome da persistenza dei dotti Mülleriani in neonato virilizzato normalmente
- L'assegnazione di genere nei neonati dovrebbe essere ritardata sino alla completa valutazione di un gruppo multidisciplinare di esperti. L'assegnazione di genere deve essere, in caso di DSD, attuata in piena aperta comunicazione con i genitori la cui partecipazione alla decisione deve essere incoraggiata.

I pulses di GnRH a livello ipotalamico regolano la maturazione sessuale, il *timing* della pubertà, la follicologenesi, l'ovulazione e la luteogenesi e dunque le fasi della vita riproduttiva della donna

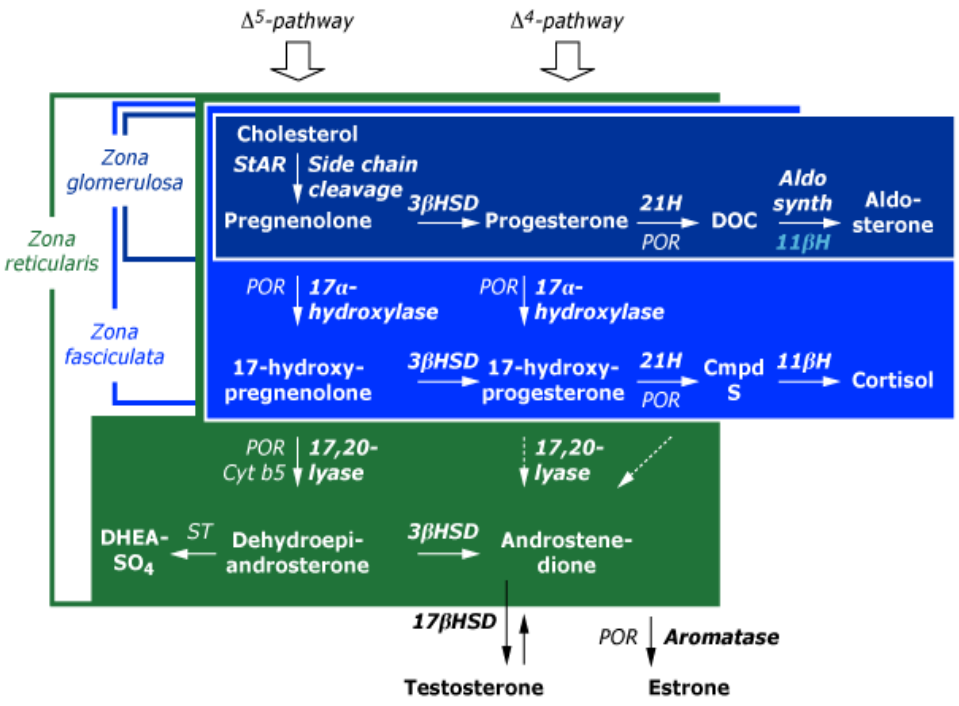

Progesterone receptors
Estrogen receptors
Androgen receptors
Inhibin receptors
Leptin receptors
Stress, Nutrition, Exercise, Seasonal cues
NE
GnRH neuron
CRH
NPY
GABA
Glutamate
Arcuate nucleus
β-endorphins
GALP
Kisspeptin neuron
Kisspeptin neuron
Anteroventral Periventricular nucleus
Hypothalamus
to CNS
to CNS
Pituitary
Inhibin
LH and FSH
Inhibin
Estradiol
Testosterone
Progesterone
Testis
Ovary

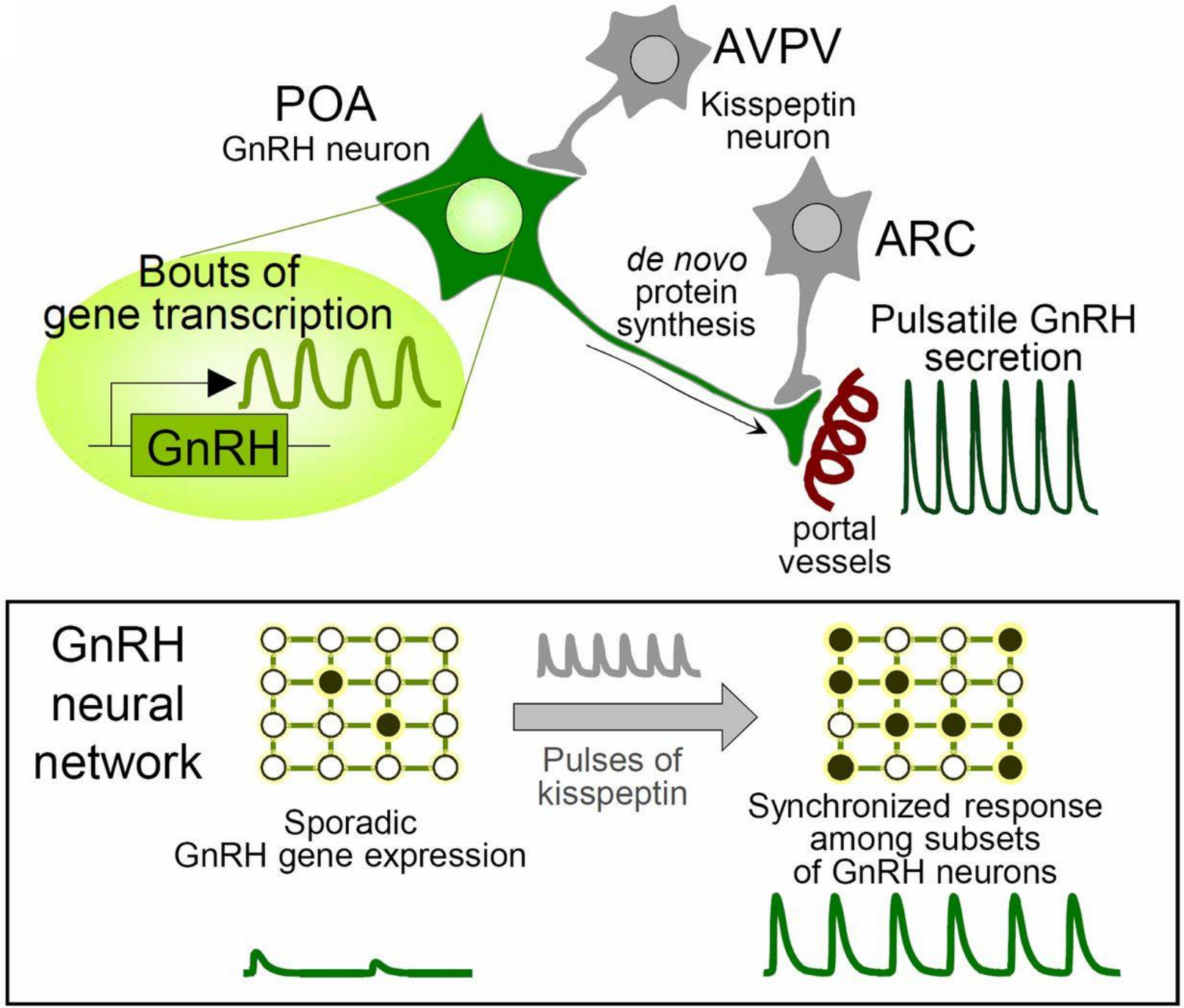

Mini-puberty
of infancy
Puberty
Menopause
Gonadotropins
Adrenarche
Birth
10
20
30
40
50 years
Functional
GnRH
neurons
Suppression
of GnRH
neurons
Gonadal Development
Sex steroid feedback
Gonadal
Senescence
(females)
Increased BMI
Leptin provides
permisssive
signals
GPR54
Reactivated
GnRH
pulse generator

Attivazione della fase puberale : segni clinici ; sviluppo e funzione della reticolare surrenalica



(From Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. Arch Dis Child 1969;44:291-303.)

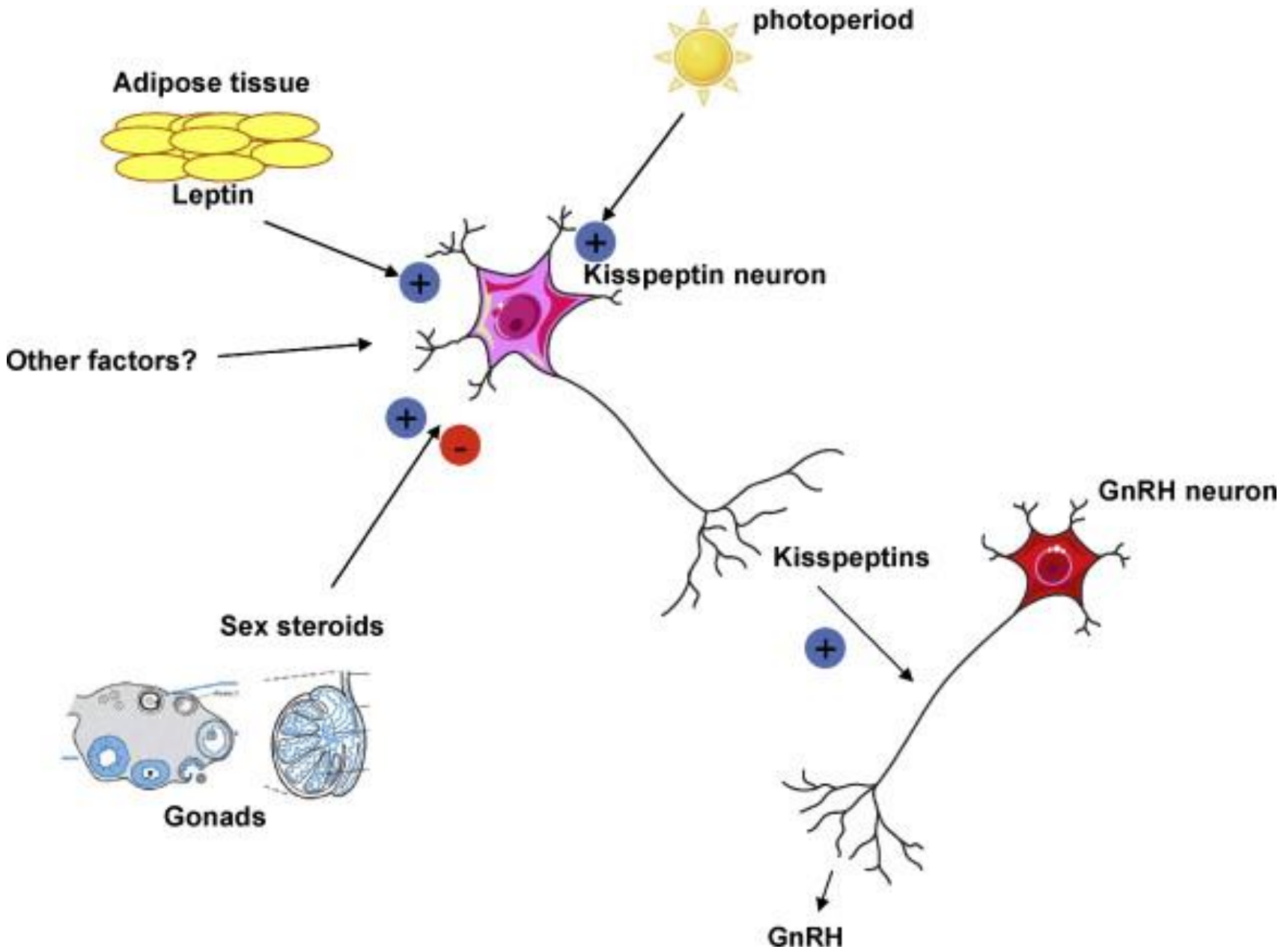



AVPV
Kisspeptin neuron
POA
GnRH neuron
ARC
Bouts of gene transcription
GnRH
de novo protein synthesis
Pulsatile GnRH secretion
portal vessels
GnRH neural network
Sporadic GnRH gene expression
Pulses of kisspeptin
Synchronized response among subsets of GnRH neurons

L’ *onset* della pubertà viene descritto come una sorta di riattivazione dell’asse riproduttivo che comprende meccanismi di stimolo e di revisione della sua inibizione.

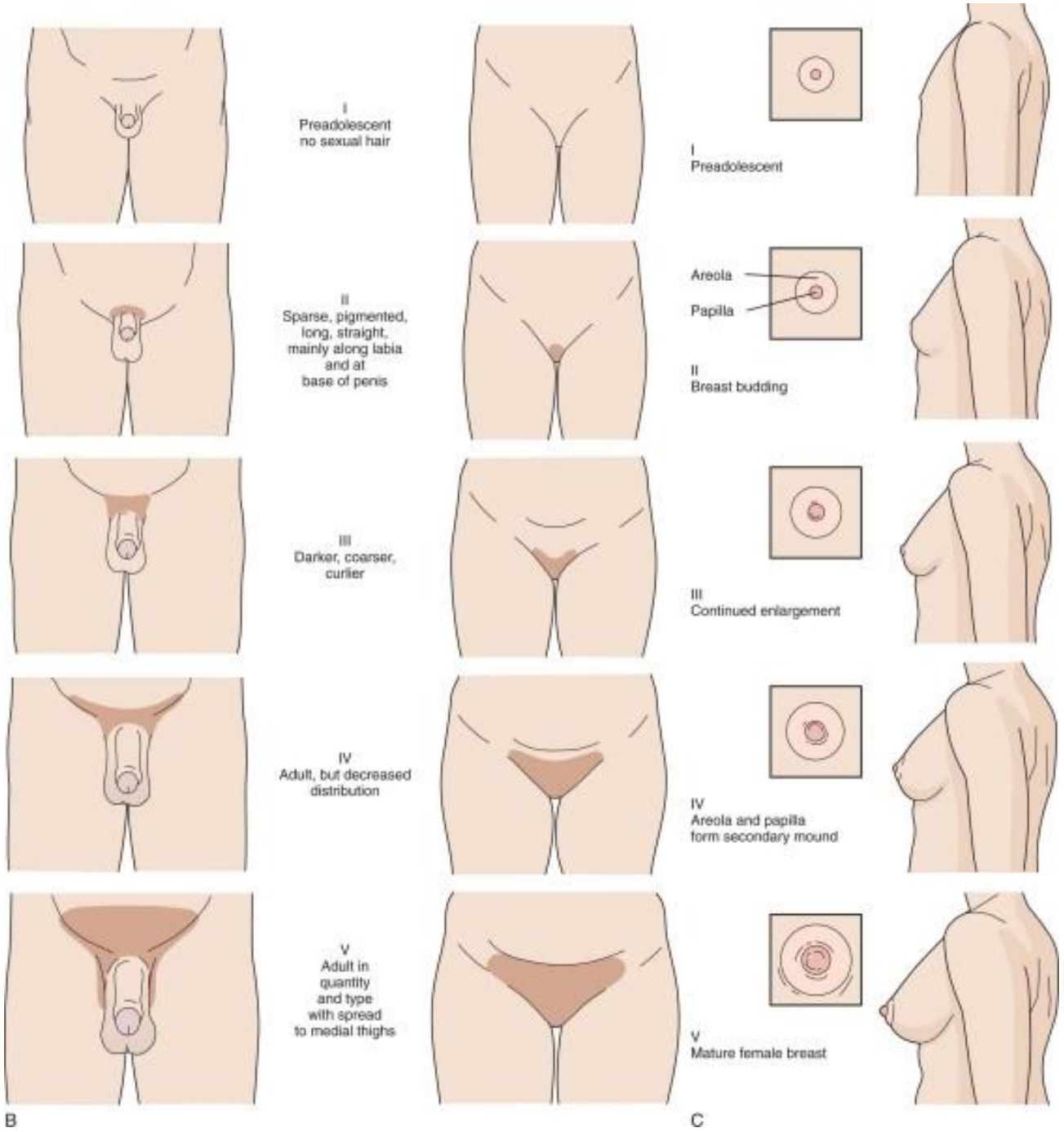
Principali geni che regolano meccanismi di controllo della pubertà:

1. ***KAL1*, *FGFR1*, *KISS1R*, *NELF*, *PROK2*, *PROKRR2 pathways* che controllano lo sviluppo o la funzione di neuroni che producono GnRH**
2. ***SF1*, *DAX1*, *HESX1*, *LHX3*, *SOX2*, *PROP1* fattori trascrizionali che regolano il normale sviluppo del nucleo ventromediale dell’ipotalamo e della ipofisi**
3. ***GNRH1* e *GNRHR* geni che direttamente influenzano la produzione di GnRH e la sua azione**
4. **LHβ o FSHβ, SF1, DAX1 geni che controllano la produzione di gonadotropine da parte delle cellule**


photoperiod
Adipose tissue
Leptin
Kisspeptin neuron
Other factors?
Sex steroids
Gonads
GnRH neuron
Kisspeptins
GnRH

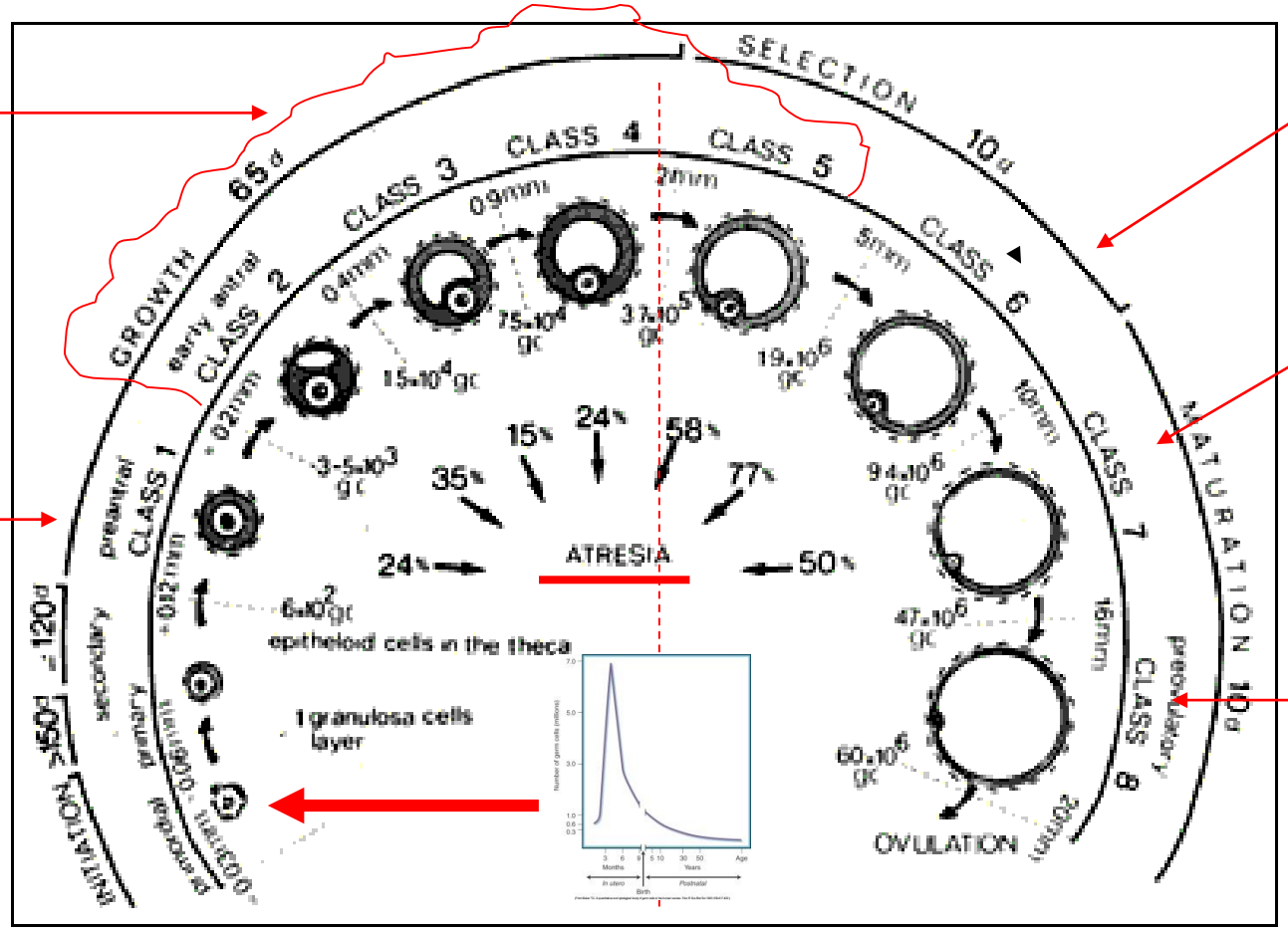
Premature Adrenarche

- Premature adrenarche is the appearance of sexual hair (e.g., pubic, axillary) without other signs of sexual development. In the literature, the age ranges for diagnosis differ, but general practice dictates that the diagnosis be considered if signs develop in girls < 8 years old and boys < 9 years old.
- The appearance of pubic hair does not necessarily mean that true puberty has started.
- **Pathophysiology**: GnRH secretion is activated early, either because of tumor (central or peripheral), but more commonly due to unexplained causes. This HPA axis dysfunction leads to DHEA and DHEA-S secretion from the adrenal glands that occurs earlier as well. The levels are normal for pubertal stage but elevated for chronologic age. The zona reticularis of the adrenals is responsible for androgen secretion.
- **Labs**:
  - Adrenal steroid hormones, sex hormones, and ACTH and GnRH stimulation tests are normal.
  - The serum concentration of DHEA-S is the best marker for the presence of adrenarche.
  - A **DHEAS plasma level over 40 mcg/dl** indicates that adrenarche has begun.
- **Differential**:
  - Benign premature adrenarche
  - Tumors (e.g., androgen-secreting tumors in the gonads or adrenals)
  - Congenital disorders (e.g., CAH, McCune-Albright syndrome)
  - Central precocious puberty
  - Exogenous androgen exposure


I
Preadolescent
no sexual hair
II
Sparse, pigmented,
long, straight,
mainly along labia
and at
base of penis
III
Darker, coarser,
curlier
IV
Adult, but decreased
distribution
V
Adult in
quantity
and type
with spread
to medial thighs
B
I
Preadolescent
Areola
Papilla
II
Breast budding
III
Continued enlargement
IV
Areola and papilla
form secondary mound
V
Mature female breast
C

Stadio di **piccolo follicolo pre-antrale ed *early antral***

Stadi del follicolo **primordiale**, **primario** e **secondario**



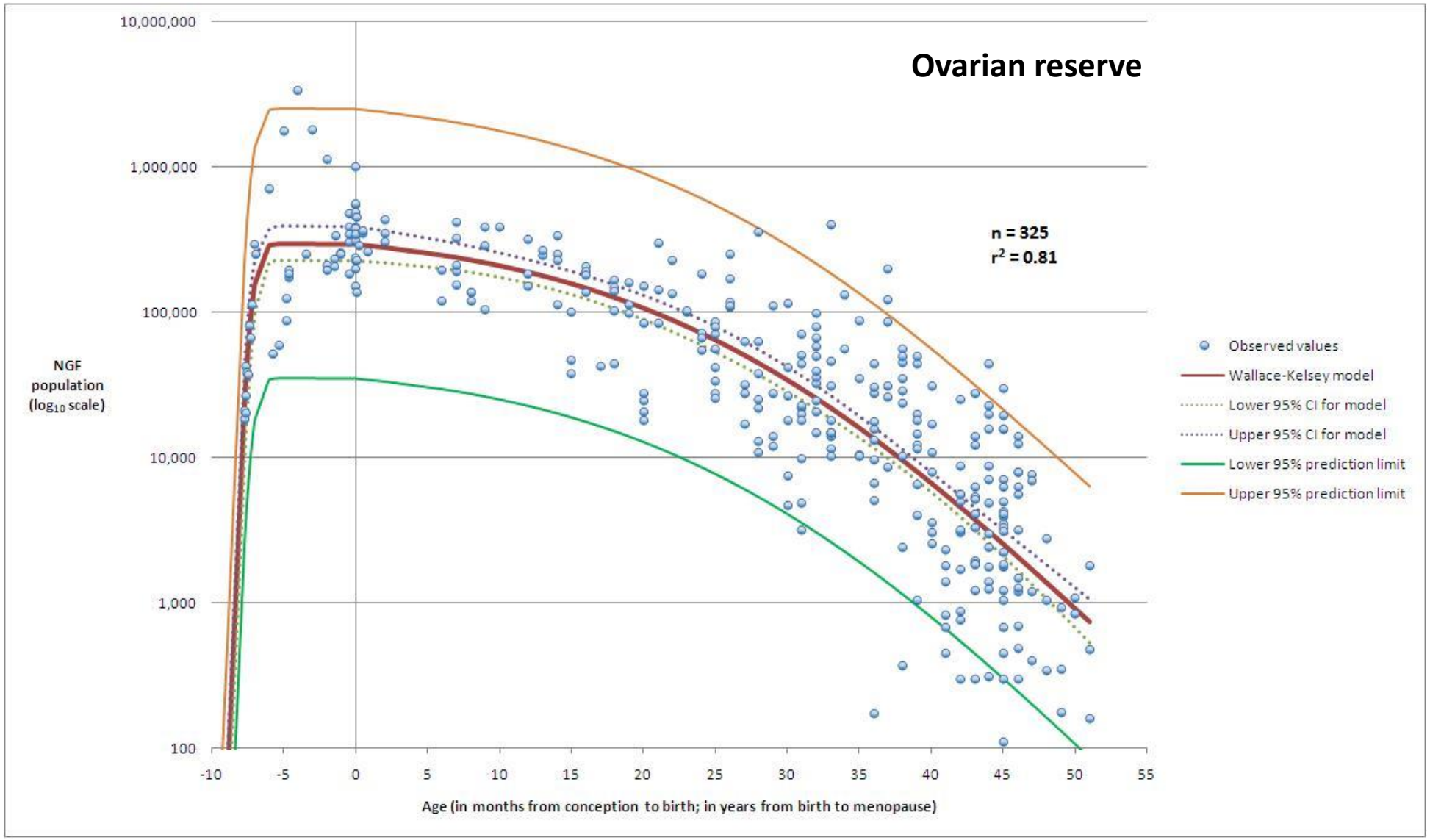
Stadio di **medio follicolo antrale**

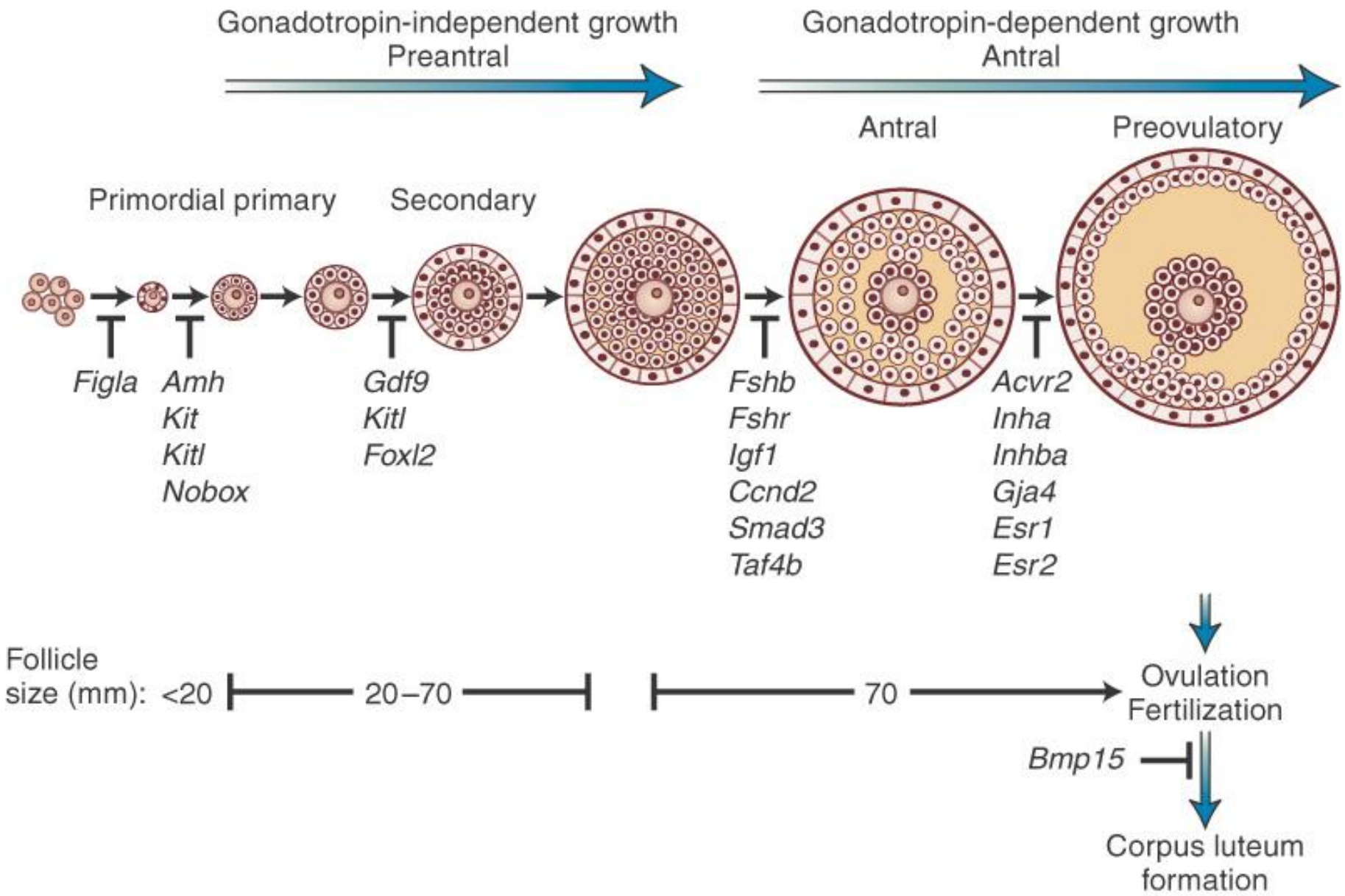
Stadio di **grosso follicolo antrale**

Follicolo di Graaf **Pre ovulatorio**

FOLLICOLOGENESI : classi maturative dei follicoli. La **classe 1** identifica il periodo pre-antrale o gonadotropino indipendente (circa 290 giorni). Dalla **classe 3** alla **classe 8** vengono compresi i follicoli antrali. La formazione della cavità antrale prende circa 60 giorni. Il follicolo dominante viene selezionato da una coorte di follicoli in **classe 5** ed una volta selezionato impiega circa 15-20 giorni per raggiungere l'ovulazione.

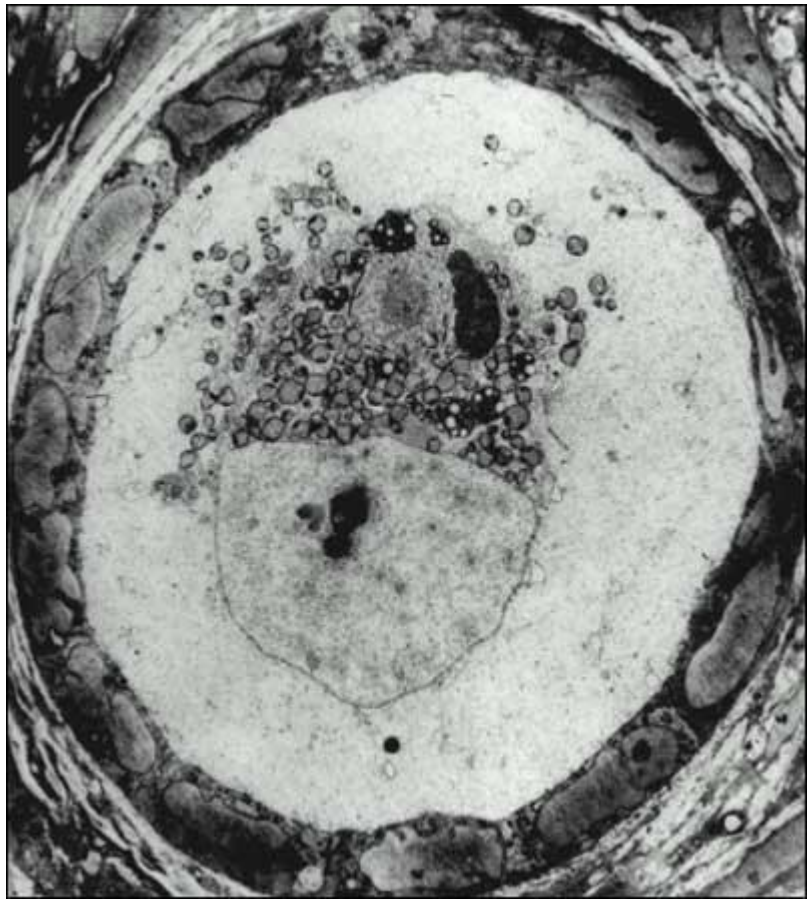
La **riserva ovarica** definisce il ***pool* follicolare** residuo nelle ovaie della donna in un determinato momento della sua vita. La riserva ovarica descrive due aspetti strettamente correlati tra loro: la quantità e la qualità degli ovociti.





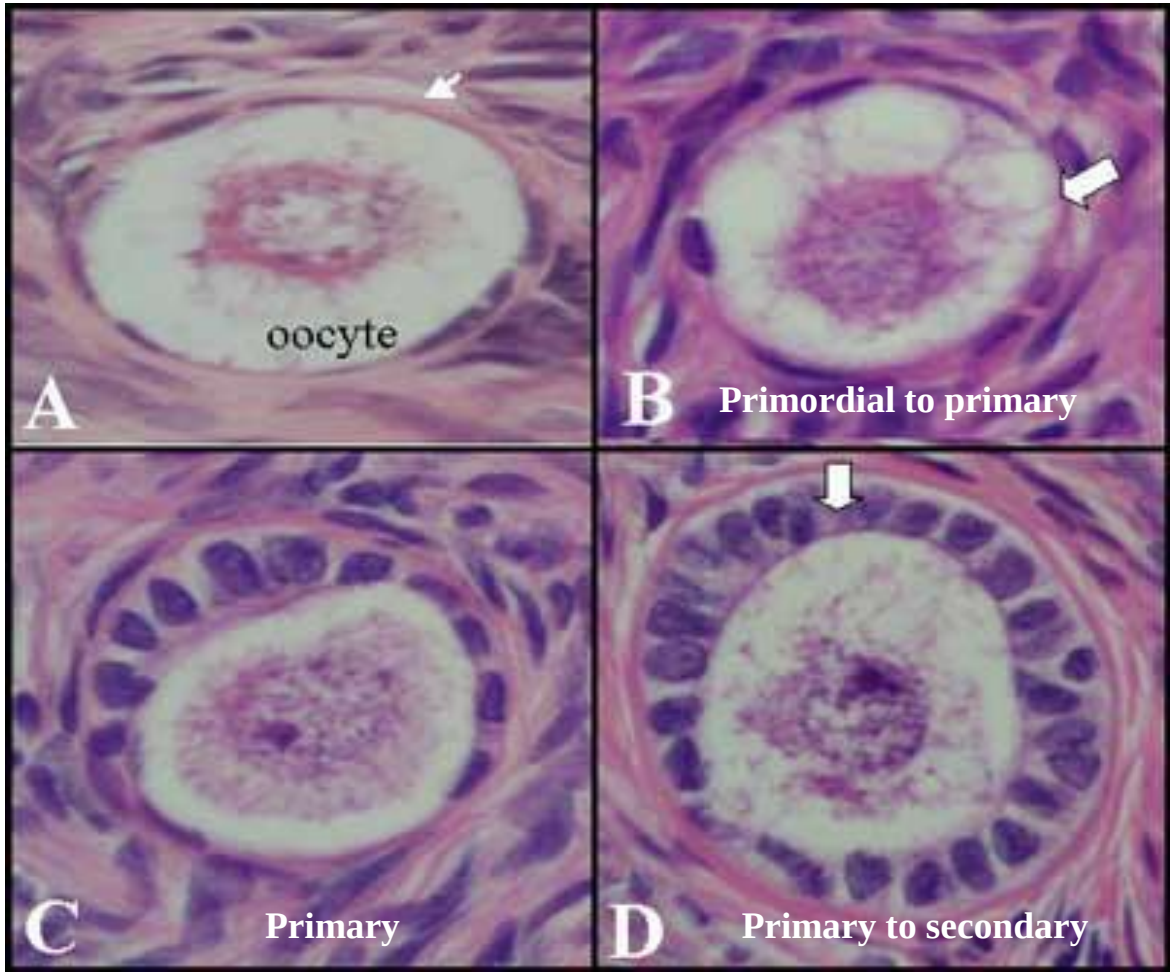
(Modified from Simpson JL, Rajkovic A. Ovarian differentiation and gonadal failure. Am J Med Genet 1999;89:186-200 and Choi Y, Rajkovic A. Genetics of mammalian folliculogenesis. Cell Mol Life Sci 2006;63(5):579-590.)

Il follicolo primordiale

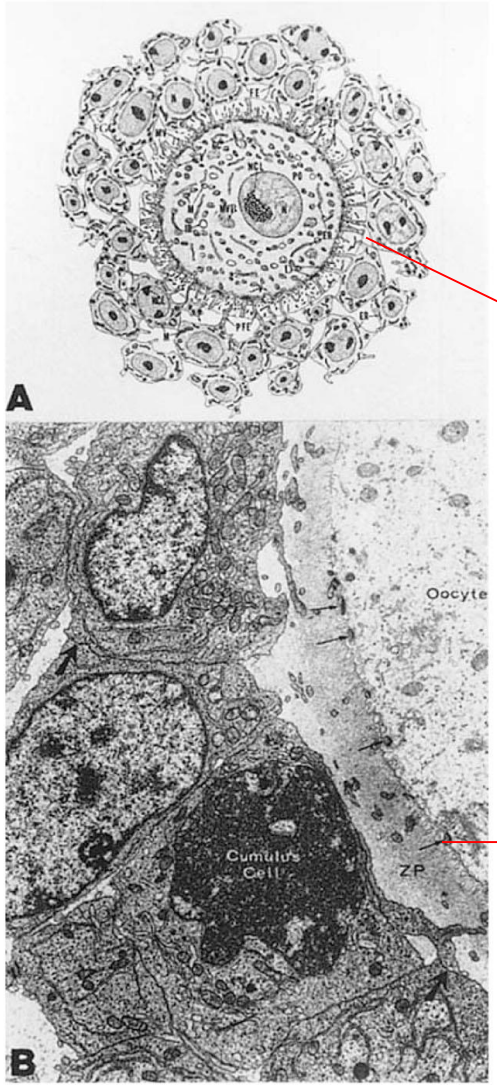


Il follicolo primoridale umano ha un diametro di circa 30 µm e contiene il piccolo oocita (25 µm) in arresto meiotico, una singola lamina di cellule della granulosa appiattite e la membrana basale.

Il follicolo preantrale



Correlazioni strutturali tra cellula della granulosa ed oocita



Copyright ©2003 Elsevier Science (USA). All rights reserved.

Microvilli dell'oocita si interdigitano con le estensioni citoplasmatiche delle cellule della granulosa penetrando la zona pellucida

Gap-junction oocita-cellula della granulosa

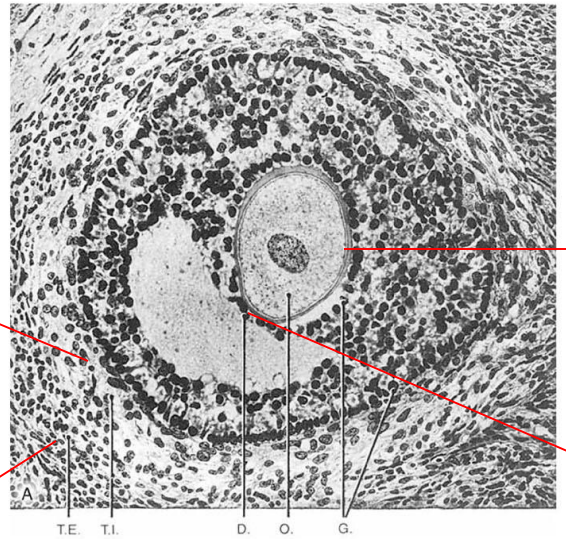
Istologia del follicolo di Graaf

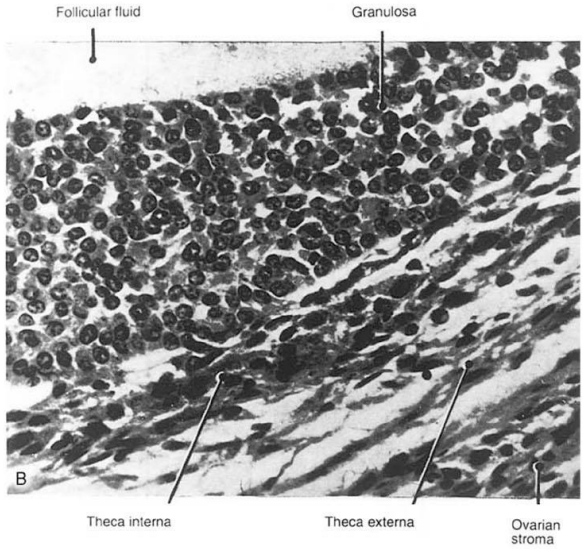
Teca interna

Oocita

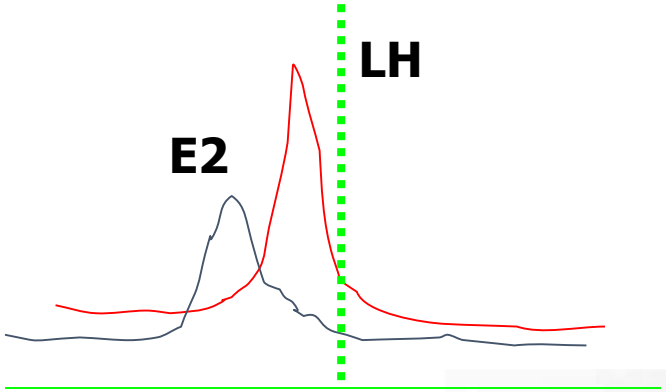
Teca esterna

Cumulo ooforo

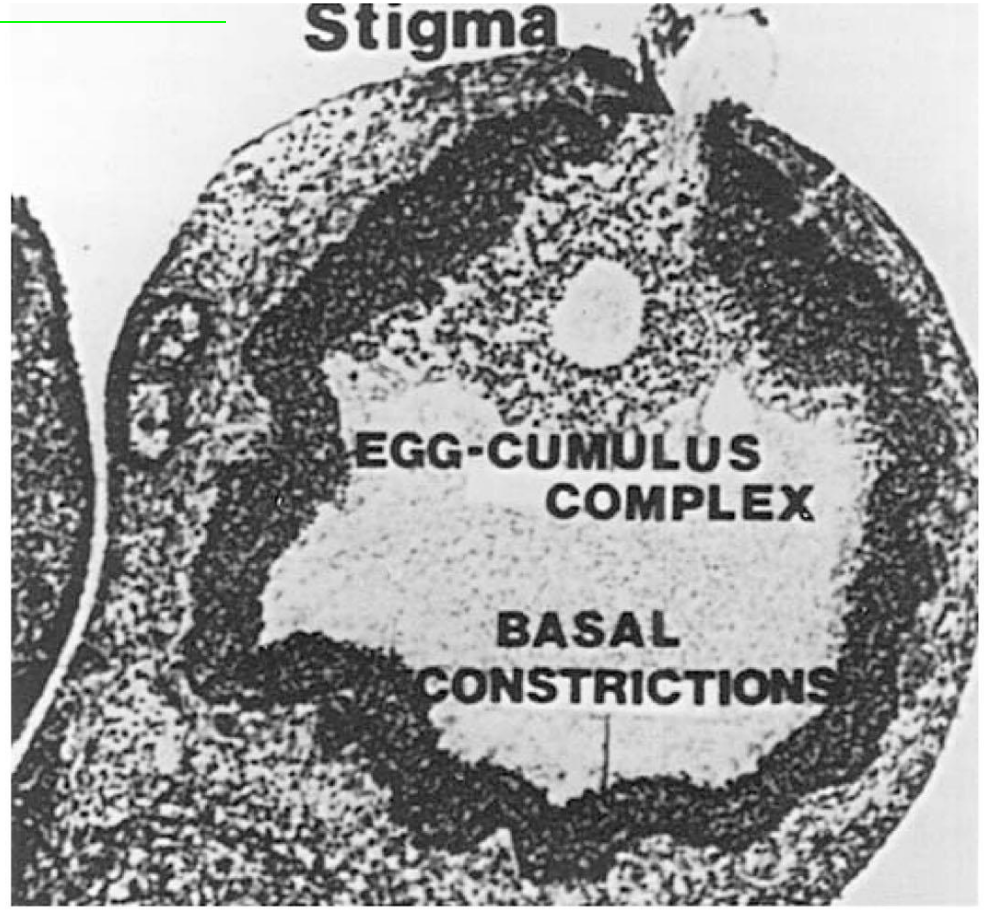




Copyright ©2003 Elsevier Science (USA). All rights reserved.



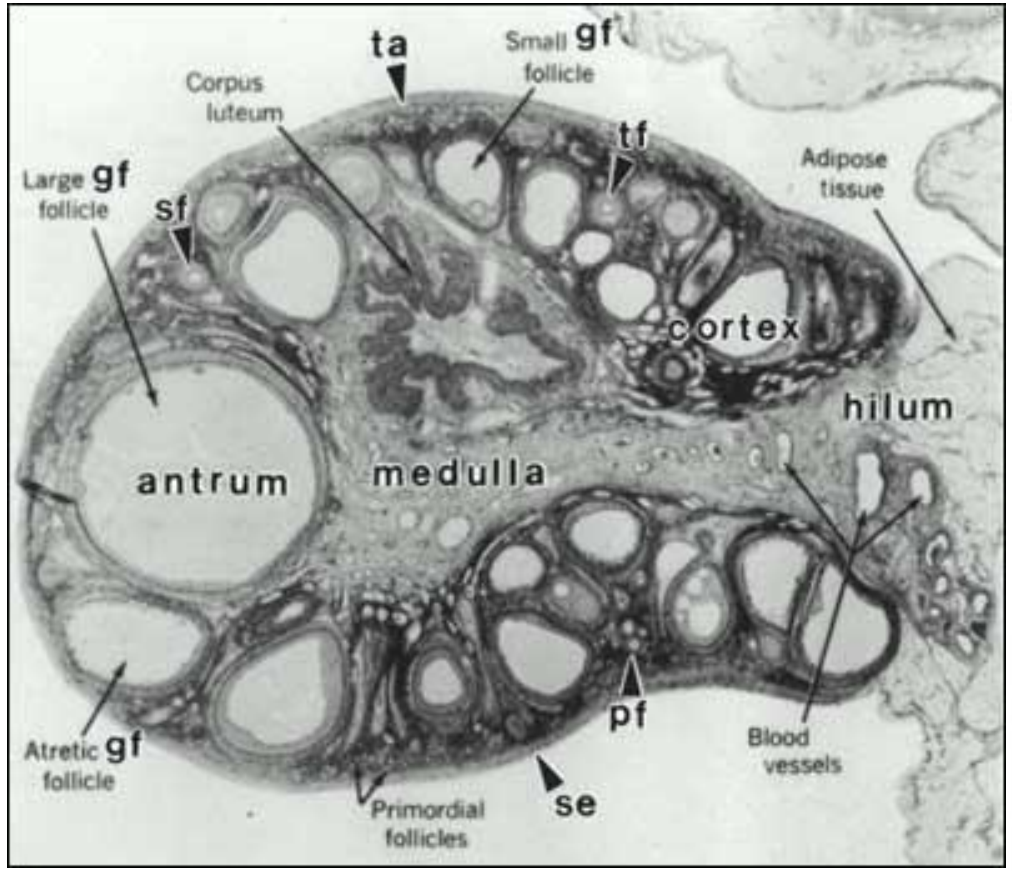
Ovulazione

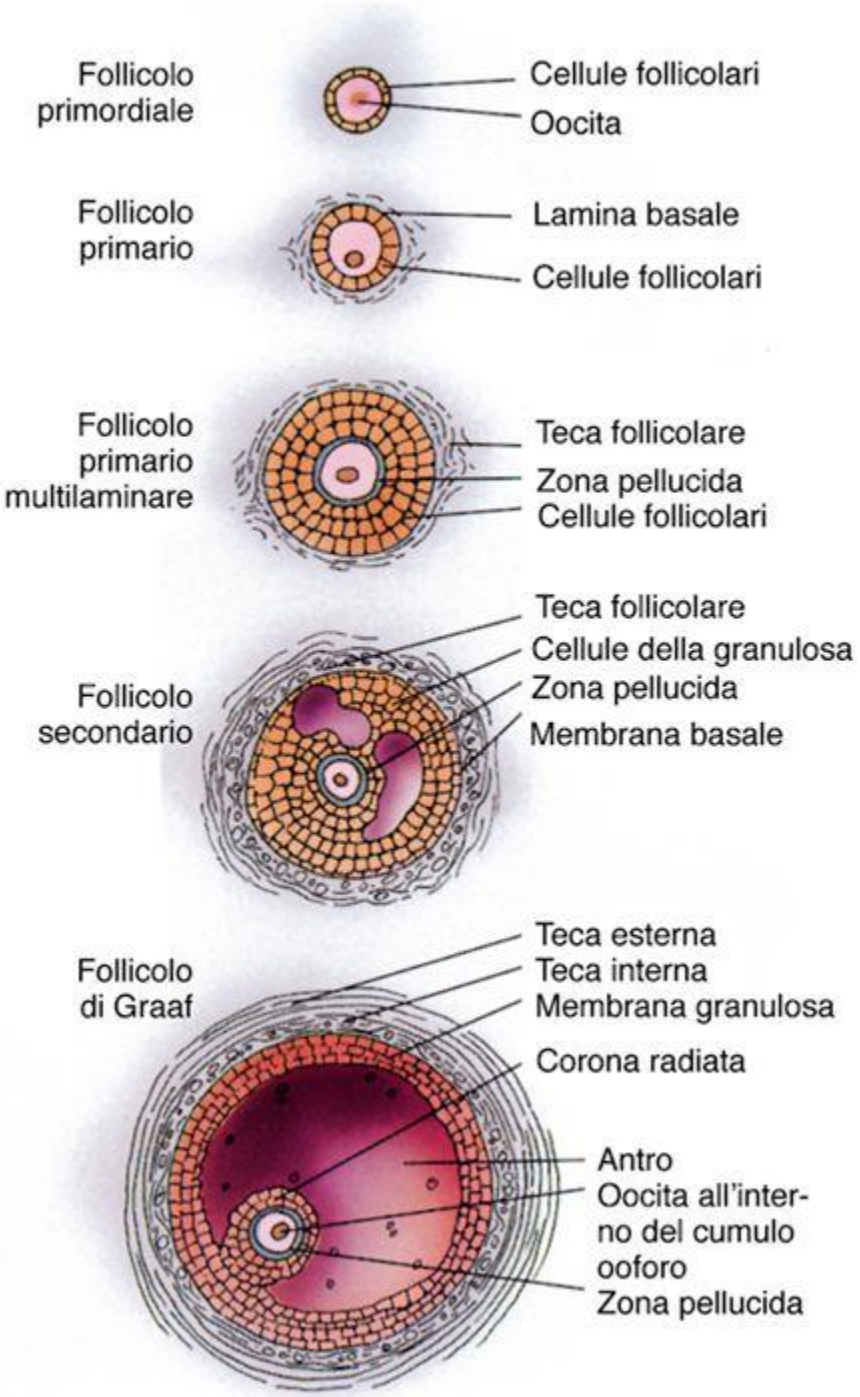


Copyright ©2003 Elsevier Science (USA). All rights reserved.

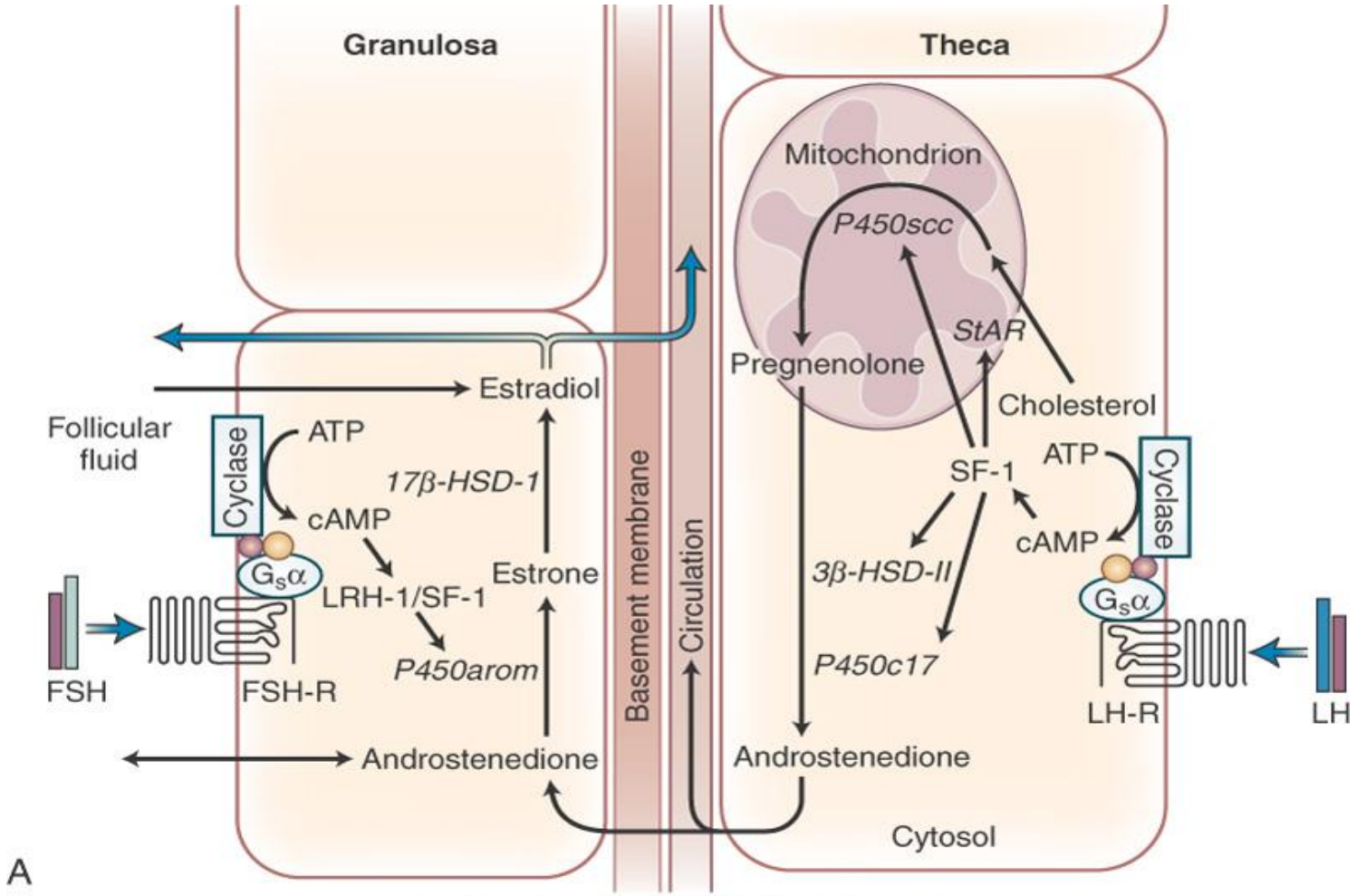
Ovaio nella vita riproduttiva

se : epitelio di superficie, **ta** : tunica albuginea,
pf : follicoli primordiali, **sf** : follicoli secondari,
gf : follicolo di graaf, **cl** : corpo luteo



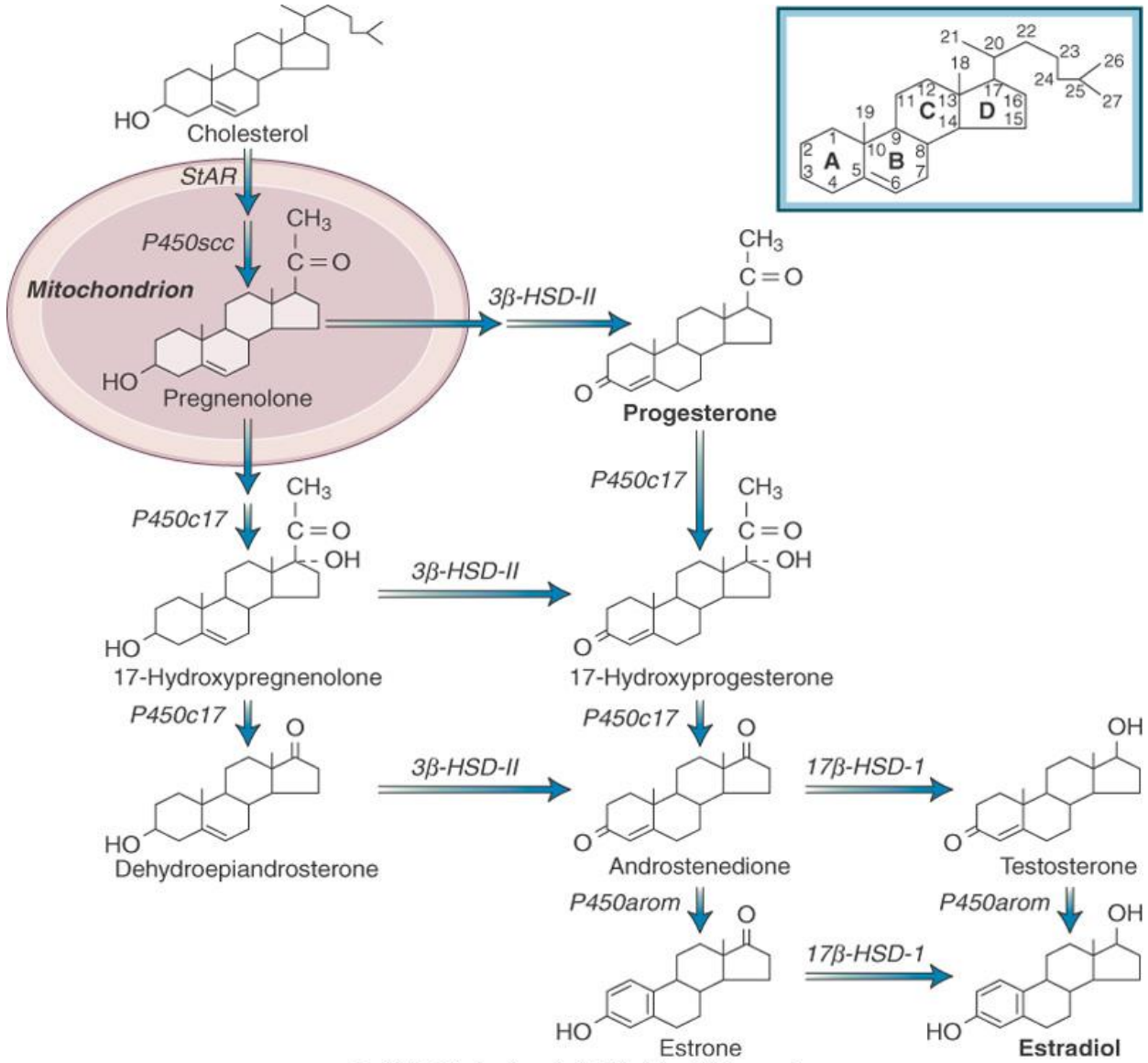


Sintesi degli steroidi teoria delle due cellule-due gonadotropine



Copyright © 2008 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc. All rights reserved.

Pathways steroidogenetiche nell'ovaio



Copyright © 2008 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc. All rights reserved.

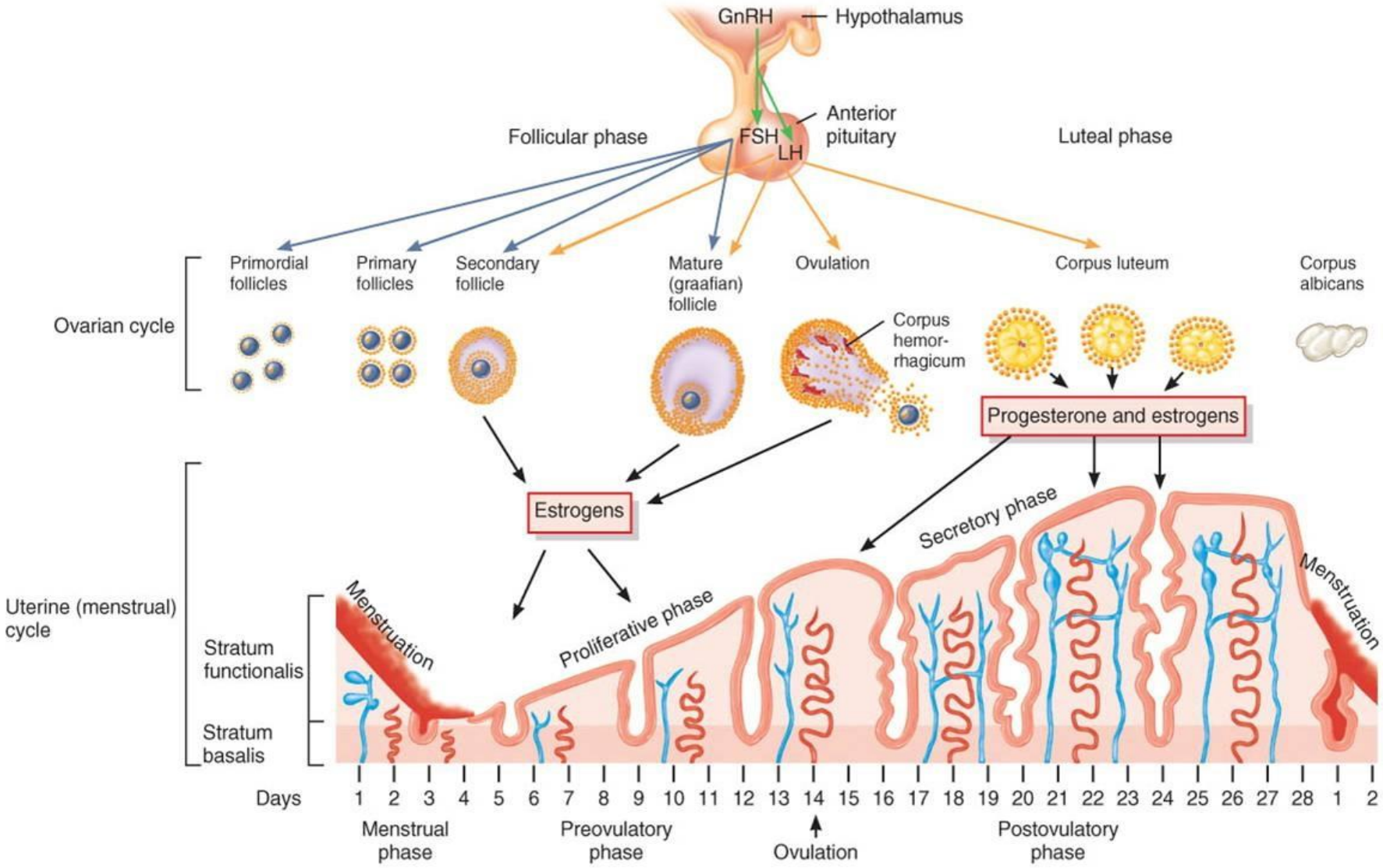
Production Rate of Sex Steroids in Women at Different Stages of the Menstrual Cycle

	DAILY PRODUCTION RATE		
SEX STEROIDS*	**Early Follicular**	**Preovulatory**	**Midluteal**
Progesterone (mg)	1	4	25
17-Hydroxyprogesterone (mg)	0.5	4	4
Dehydroepiandrosterone (mg)	7	7	7
Androstenedione (mg)	2.6	4.7	3.4
Testosterone (μg)	144	171	126
Estrone (μg)	50	350	250
Estradiol (μg)	36	380	250

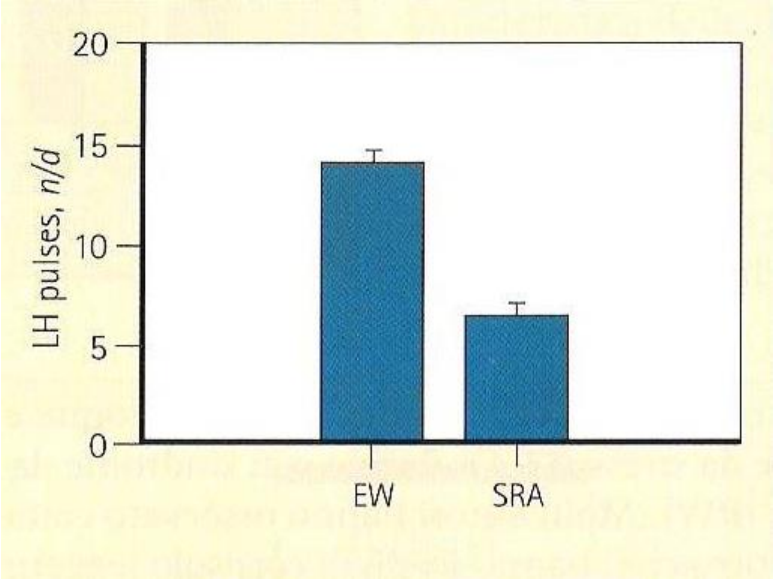
From Baird DT. Fraser IS. Blood production and ovarian secretion rates of esuadiol-17β and estrone in women throughout the menstrual cycle. J Clin Endocri-nol Metab 38: l009-1017. 1974. @ The Endocrine Society.

*Values are expressed in milligrams or micrograms per 24 hours.

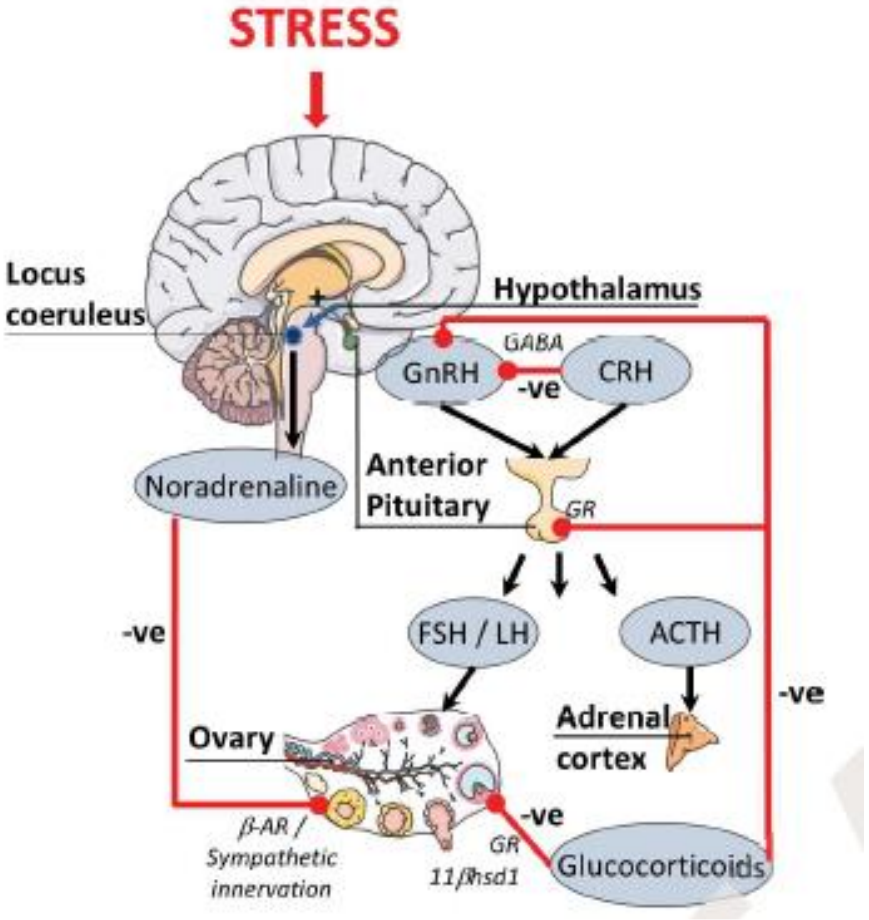
Asse riproduttivo ed endometrio

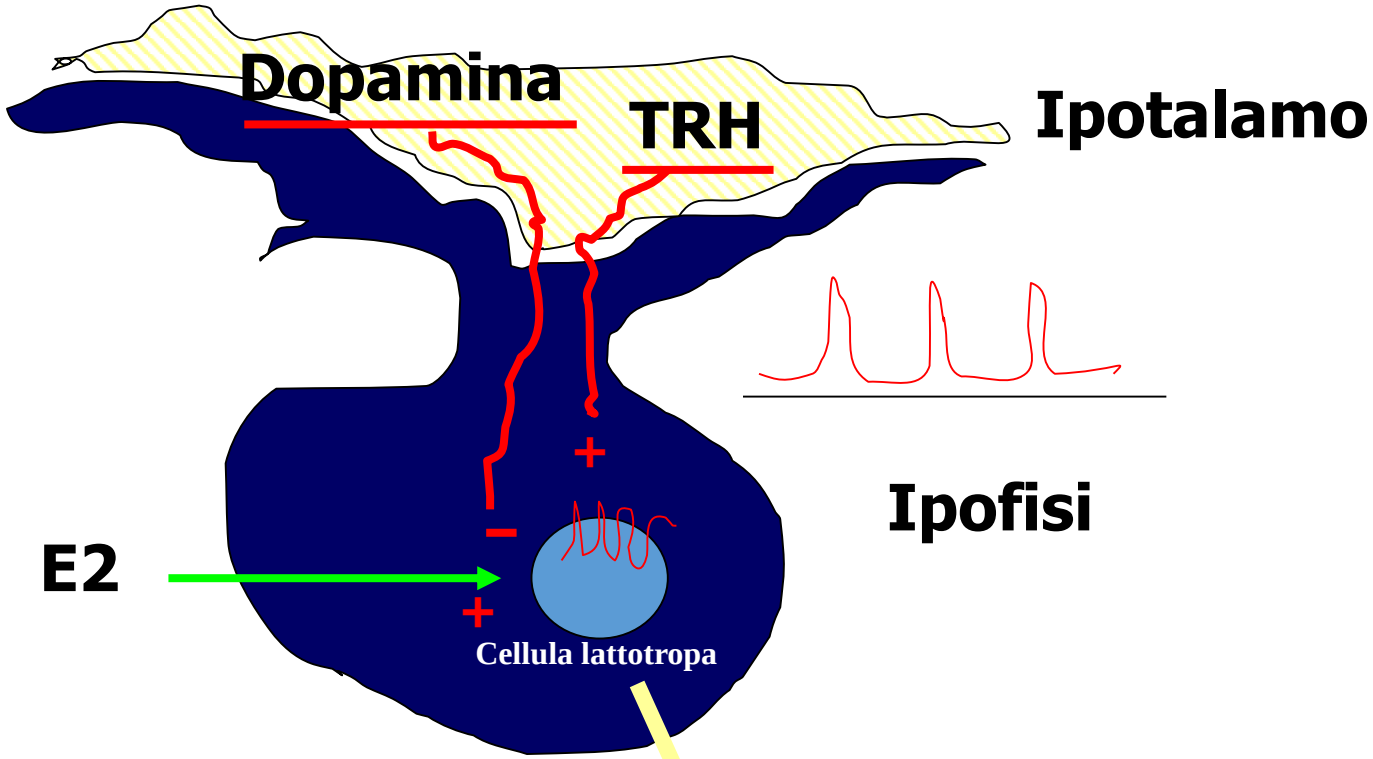


Stress ed asse endocrino riproduttivo femminile

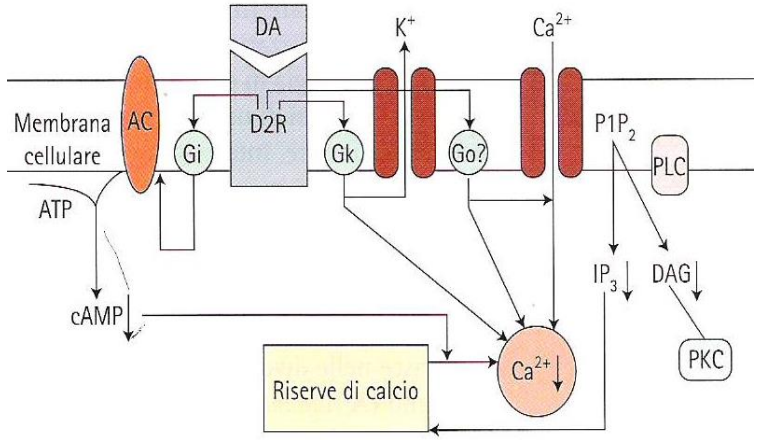


Frequenza della pulsatilità dell'ormone luteinizzante (LH) in donne con anovulazione correlata allo stress

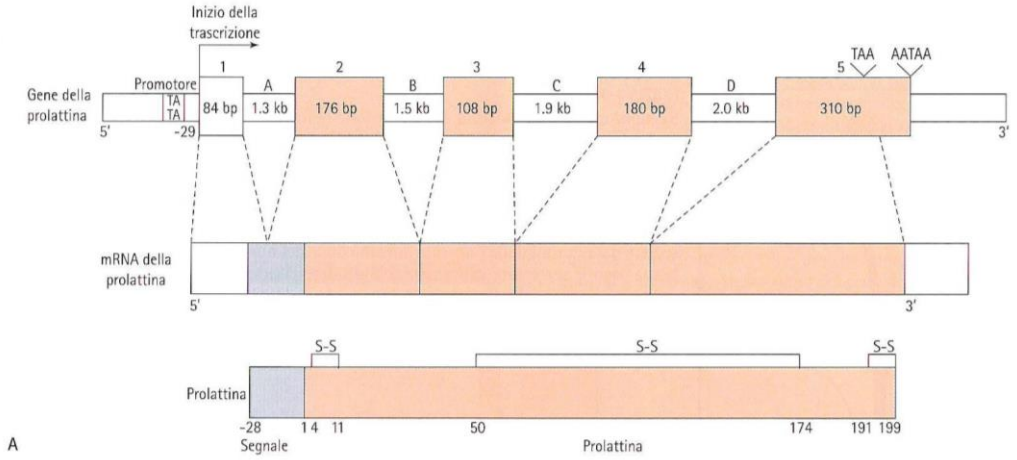




D2-R



PROLATTINA



PRINCIPALI CAUSE DI IPEPROLATTINEMIA

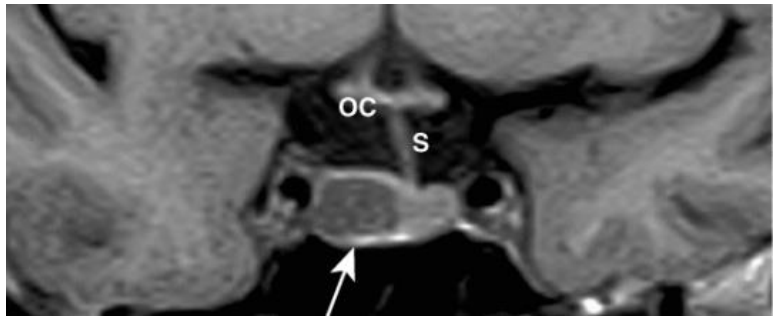
Cause fisiologiche

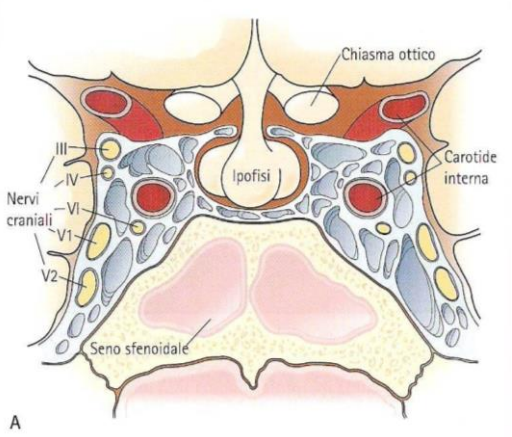
- *Sonno*
- *Pasti*
- *Esercizio fisico*
- *Stress*
- *Gravidanza*
- *Puerperio*
- *Suzione del capezzolo*
- *Attività sessuale*

Cause patologiche

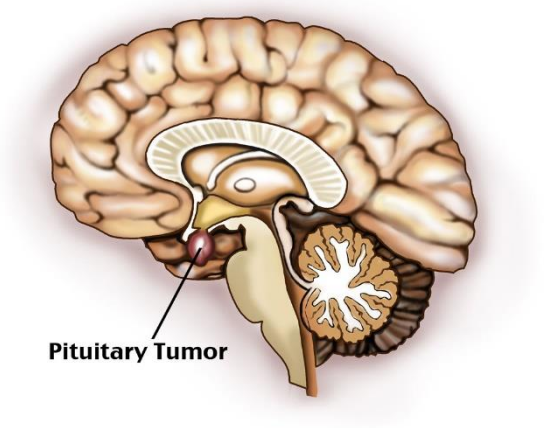
- Adenomi ipofisari
- Alterazioni ipotalamiche funzionali ed organiche
- Ipotiroidismo
- Sindrome della sella vuota
- Insufficienza renale
- Cirrosi epatica

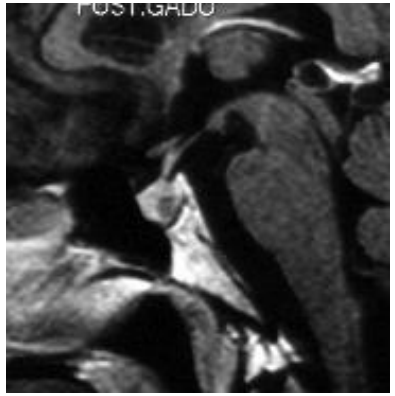
PRINCIPALI CAUSEE DI IPEPROLATTINEMIA
L'adenoma prolattino-secernente : gold standard per la diagnosi la RM con gadolinio





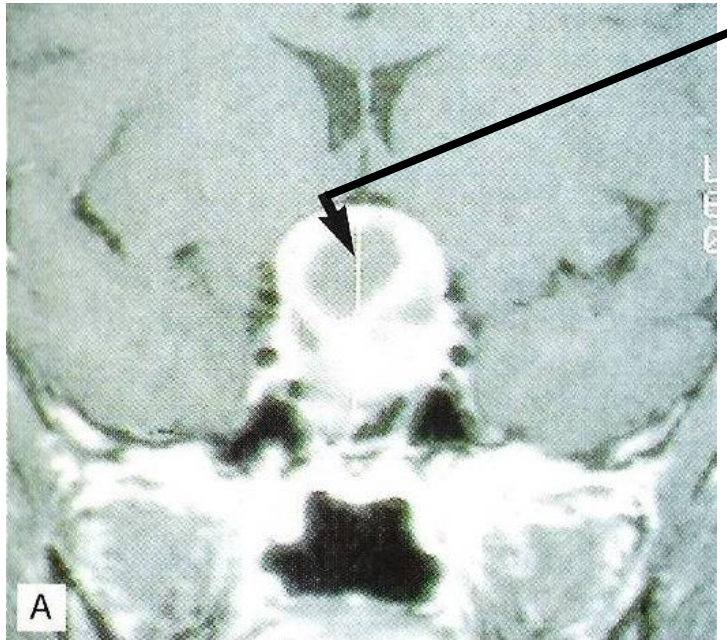
Proiezione trasversale



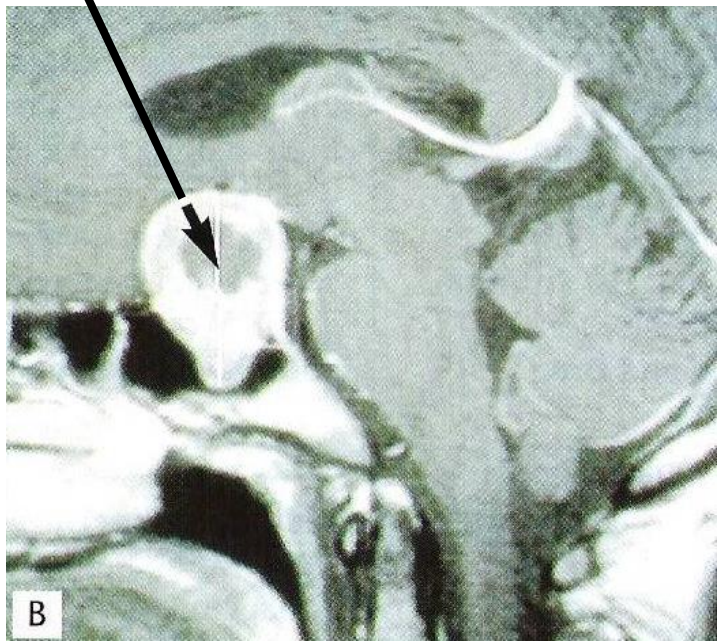


Proiezione sagittale

Macroadenoma in donna con sintomi di amenorrea-galattorrea



Proiezione trasversale



Proiezione sagittale

Amenorrea

1

Amenorrea primaria

Assenza di menarca dopo i 16 anni in donne che non hanno ancora mai mestruato

2

Amenorrea secondaria

Assenza di mestruazioni per più di 3 mesi in donne che hanno già mestruato

Cause di amenorrea

Cause anatomiche

Gravidanza
Disgenesia o agenesia dei dotti Mulleriani
Imene imperforato
Stenosi cervicale
Vari disordini della differenziazione sessuale (Sindrome di Asherman)

***Premature Ovarian Failure* (POF)**

Alterazioni citogenetiche del cromosoma X
Mutazioni di geni specifici (Xfragile, *INHA*, *FOXL2*, *ELF2B*, *BMP15*, *PMM2*, *AIRE*)
Difetti enzimatici (17 alfa idrossilasi o 17,20 liasi, 20,22 desmolasi, deficit di aromatasi)
Galattosemia
Difetti della secrezione ed azione delle gonadotropine (mutazioni di FSH-R/LH-R, alterazioni della proteina G, difetti della alfa o beta subunità)
Deficit del sistema immune (patologie autoimmuni, aplasia timica congenita)
Insulti fisici (chemoterapici - agenti alchilanti, radiazioni ionizzanti, virus)

Anovulazione cronica

Ipotalamica (difetto di GnRH [Kallmann] psicogena, associata all'exercise, associata a disordini alimentari, neoplasie)
Ipofisaria (difetto isolato di gonadotropine, ipopituitarismo, neoplasie ipofisarie)
Inappropriato feed-back steroideo (eccesso funzionale di androgeni [PCOS], ipoplasia surrenalica, neoplasie che producono androgeni o estrogeni, neoplasie che producono hCG, patologie di fegato e reni, obesità)
Altri disordini endocrini (disfunzioni della tiroide e del surrene)

Cause di amenorrea

Cause anatomiche

Gravidanza
Disgenesia o agenesia dei dotti Mulleriani
Imene imperforato
Stenosi cervicale
Vari disordini della differenziazione sessuale (Sindrome di Asherman)

***Premature Ovarian Failure* (POF)**

Alterazioni citogenetiche del cromosoma X
Mutazioni di geni specifici (Xfragile, INHA, FOXL2, ELF2B, BMP15, PMM2, AIRE)
Difetti enzimatici (17 alfa idrossilasi o 17,20 liasi, 20,22 desmolasi, deficit di aromatasi)
Galattosemia
Difetti della secrezione ed azione delle gonadotropine (mutazioni di FSH-R/LH-R, alterazioni della proteina G, difetti della alfa o beta subunità)
Deficit del sistema immune (patologie autoimmuni, aplasia timica congenita)
Insulti fisici (chemoterapici - agenti alchilanti, radiazioni ionizzanti, virus)

Anovulazione cronica

Ipotalamica (difetto di GnRH [Kallmann] psicogena, associata all'exercise, associata a disordini alimentari, neoplasie)
Ipofisaria (difetto isolato di gonadotropine, ipopituitarismo, neoplasie ipofisarie)
Inappropriato feed-back steroideo (eccesso funzionale di androgeni [PCOS], ipoplasia surrenalica, neoplasie che producono androgeni o estrogeni, neoplasie che producono hCG, patologie di fegato e reni, obesità)
Altri disordini endocrini (disfunzioni della tiroide e del surrene)

Cause di amenorrea

Cause anatomiche

Gravidanza
Disgenesia o agenesia dei dotti Mulleriani
Imene imperforato
Stenosi cervicale
Vari disordini della differenziazione sessuale (Sindrome di Asherman)

***Premature Ovarian Failure* (POF)**

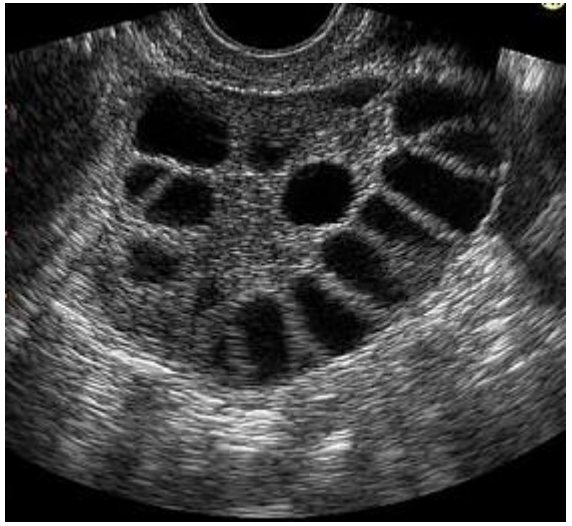
Alterazioni citogenetiche del cromosoma X
Mutazioni di geni specifici (Xfragile, INHA, FOXL2, ELF2B, BMP15, PMM2, AIRE)
Difetti enzimatici (17 alfa idrossilasi o 17,20 liasi, 20,22 desmolasi, deficit di aromatasi)
Galattosemia
Difetti della secrezione ed azione delle gonadotropine (mutazioni di FSH-R/LH-R, alterazioni della proteina G, difetti della alfa o beta subunità)
Deficit del sistema immune (patologie autoimmuni, aplasia timica congenita)
Insulti fisici (chemoterapici - agenti alchilanti, radiazioni ionizzanti, virus)

Anovulazione cronica

Ipotalamica (difetto di GnRH [Kallmann] psicogena, associata all'exercise, associata a disordini alimentari, neoplasie)
Ipofisaria (difetto isolato di gonadotropine, ipopituitarismo, neoplasie ipofisarie)
Inappropriato feed-back steroideo (eccesso funzionale di androgeni [PCOS], ipoplasia surrenalica, neoplasie che producono androgeni o estrogeni, neoplasie che producono hCG, patologie di fegato e reni, obesità)
Altri disordini endocrini (disfunzioni della tiroide e del surrene)

Sindrome dell’ovaio policistico (PCOS)

La PCOS è una condizione che interessa il 5-20% delle donne in età riproduttiva. Essa è caratterizzata da iperandrogenismo, disfunzione ovulatoria e morfologia policistica delle ovaie (PCOM). La maggior parte delle donne affette presenta una disfunzione metabolica caratterizzata da insulino-resistenza ed iperinsulinemia compensatoria che fa crescere il rischio di diabete mellito tipo 2, diabete gestazionale ed altri disordini legati alla gravidanza, tromboembolismo venoso, eventi avversi cardiovascolari e cerebrovascolari e carcinoma dell’endometrio



….one of the most poorly understood medical disorders among patients, physicians and even scientists…

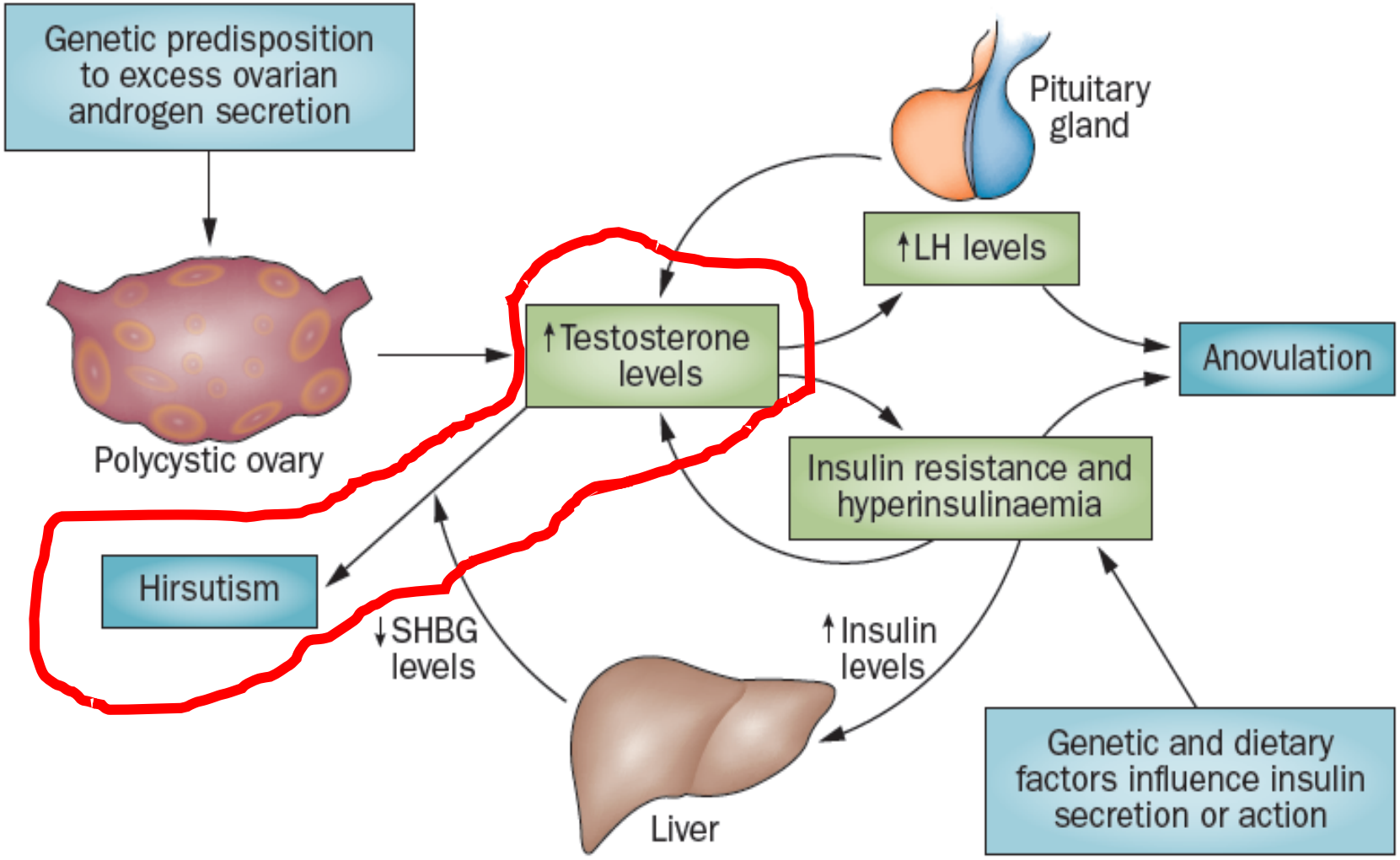
Padmanabhan V JCEM 2009 (94):1883-1885

E28.2 Polycystic Ovarian Syndrome

International Classification of Diseases
10th revision ICD10

World Health Organization, Geneva 1992

Predisposizione genetica alla PCOS ed alla sindrome da eccesso di androgeni



Criteri diagnostici e fenotipi della PCOS

1990 US NIH criteria
2006 AE-PCOS criteria
2003 Rotterdam criteria

	Phenotype A	Phenotype B	Phenotype C	Phenotype D
Hyperandrogenism and hirsutism	**Present**	**Present**	**Present**	Absent
Ovulatory dysfunction	**Present**	**Present**	Absent	**Present**
Polycystic ovarian morphology	**Present**	Absent	**Present**	**Present**

La PCOS è attualmente classificata in quattro distinti fenotipi (A-D) in accordo con la presenza o assenza di tre caratteristiche : iperandrogenismo (sia biochimico che clinico), disfunzione ovulatoria e morfologia PCO delle ovaie. Il fenotipo A (forma classica) richiede la presenza di tutte e tre le caratteristiche.

AE-PCOS Androgen Excess-PCOS Society/NIH criteria
Azziz R *Nature Reviews* Vol 2, 2016

PCOS iperandrogenismo clinico

Storia clinica ed esame obiettivo

- Insorgenza improvvisa
- Progressione rapida
- Virilizzazione

- Onset peripuberale
- Lenta Progressione
- Assenza di virilizzazione

- Eco ovarica
- CT o RM surrene

Studio di immagini negativo

- Cateterismo venoso surrenalico/ovarico
- Laparoscopia

Tumore o Iperplasia

- Segni di SEA
- FAI
- Monitor ovulazione
- Escludere patologie

- Irsutismo
- Elevato FAI
- Oligoanovulazione
- Escludere NCCAH

PCOS

- Irsutismo
- Elevato FAI
- Cicli ovulatori
- Normale m ovarica

Iperandrogenismo

- Irsutismo
- Normale FAI
- Cicli ovulatori
- Normale m ovarica

Irsutismo

- 17αOHP>2 e >10 dopo 1-24 ACTH
- Elevati livelli di 11 desossicortisolo

NCCAH

PCOS ed iperandrogenismo clinico

PUNTI DI FORZA	LIMITAZIONI
Incluso come componente essenziale per la diagnosi in tutte le maggiori classificazioni	E' difficile da quantizzare e può variare a seconda della etnia
E' il principale motivo di disagio per le pazienti	Non è valutabile la sensibilità del tessuto
I modelli animali per lo studio di eccesso di androgeni rassomigliano ma non mimano pienamente la patologia umana	

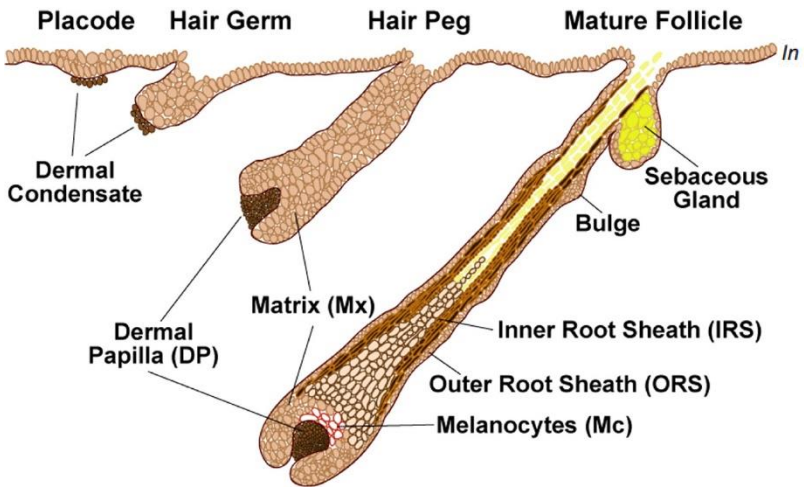
***FINAL REPORT PCOS* NIH DEC, 2012**

La questione paracrina

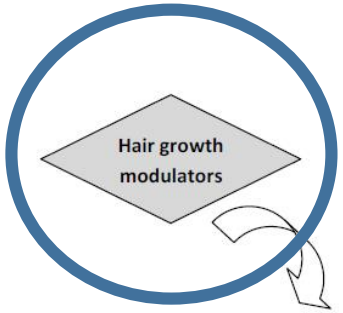
Rilievi in FF	Risultati
Note Cliniche (Indice F&G ≥25)	Età 18 **Menarca 14 aa** flussi succ 30-35/4. Progressiva comparsa di irsutismo ~14/16 aa. **BMI** 20.5 **Eco ovarica**: annessi di dimensione modicamente aumentate contenenti alcuni follicoli di dimensioni subcentimetriche
F&G	≥25
FSH	7.52 mUI/mL
LH	4.62 mUI/mL
17αOHP	0.9 ng/mL
T tot	0.24 µg/L
SHBG	58 nmol/L
DHT	222 pg/mL
3αDioloG	3.7 ng/mL
Δ_4AD	3.38 ng/mL
DHEAS	650 µg/dL
PRL	13.5 ng/mL
TSH	1.2 µUI/mL

Review of Hair Follicle Dermal Papilla cells as *in vitro* screening model for hair growth

- Fattori di proliferazione cellulare
- Fattori apoptotici
- Citochine e fattori di crescita
- Recettori
- Markers del messaggioi intracellulare



- Attività 5α Reduttasica
- Componenti strutturali
- Riserva staminale
- Meccanismo di senescenza



In vitro model — Dermal papilla cells

Ex vivo model — Hair follicle cultures

In vivo model — Anagen induction in mice

Cellular proliferation
MTT, MTS, SRB, BrdU uptake, 3H-thymidine incorporation, WST-1, CCK-8, NRU, Cell cycle (G2/M, G1 to S), Ki67

Apoptosis
Annexin, Caspase-3, Caspase-8, Caspase-9, Caspase-12, Bcl-2/Bax, Cell cycle (SubG1), ROS, PARP, DAPI

Cytokines, Growth factors
VEGF, KGF, IGF-1, IGF-2, HGF, FGF-2, FGF-7, FGF-10, ICAM-1, PDGF, M-CSF, M-CSFR, GMCSF, IGFBP-1, IGFBP-3, Nexin-1
IL-1-α, IL-6, IL-8, IL-11, TGF-β1, TGF-β2, DKK-1, Matrix Metalloproteinase Stromelysin

Receptors
AR, IGF-1R, VEGFR, PDGFRα, ER, GHR, CRFR, IGF-1R, EPOR

Mechanistic markers
Akt, ALP, AMPK, Axin-2, BMP-2, BMP-4, BMP-6, cAMP, CCN1, CCN2, CCND1,CDK2, CDK4, c-Fos, c-myc, Corin, COX-2, Cyclin D1, Cyclin E, ERK, FasL, FasR, FOS-like1, G3PDH, Gli-1, GSK3β, Hes1, Hes5, HSP27, Jagged1, JNK, JUNB, LEF-1, MAP-2, MAPK, MEK, Msx2, mTOR, NF-κB p65, NO, NOS, NOG, Notch1, p27(kip1), p-38, p-53, pCREB, P-FAK, PI3K, PKA, PKB, PKC, pRB, Ptc-1, S100ß, SCAP, SHH, Smad2, Smad3, SOCS1, SOCS3, SOX2, SRD5A1, SRD5A2, SREBP, STAT, Survivin, TRAF-1, UBQ, uPA, Versican (V0 and V1), Wnt/β catenin, Wnt3a, Wnt5a, Wnt10a, Wnt10b

5-α reductase activity

Cell migration
Scratch assay

Structural components
Collagen-I, F-actin, α-SMA, Supervillin (F-actin-binding protein), Vimentin, Vinculin, Sphinganine, Sphingosine, Ceramides

Cell motility-Filamentous mitochondria, ATP

Stemness
Clonogenicity, Oct-4, Nanog, Sox2, ZEB1, Snail, CD133, Integrin β1, ALDHA1

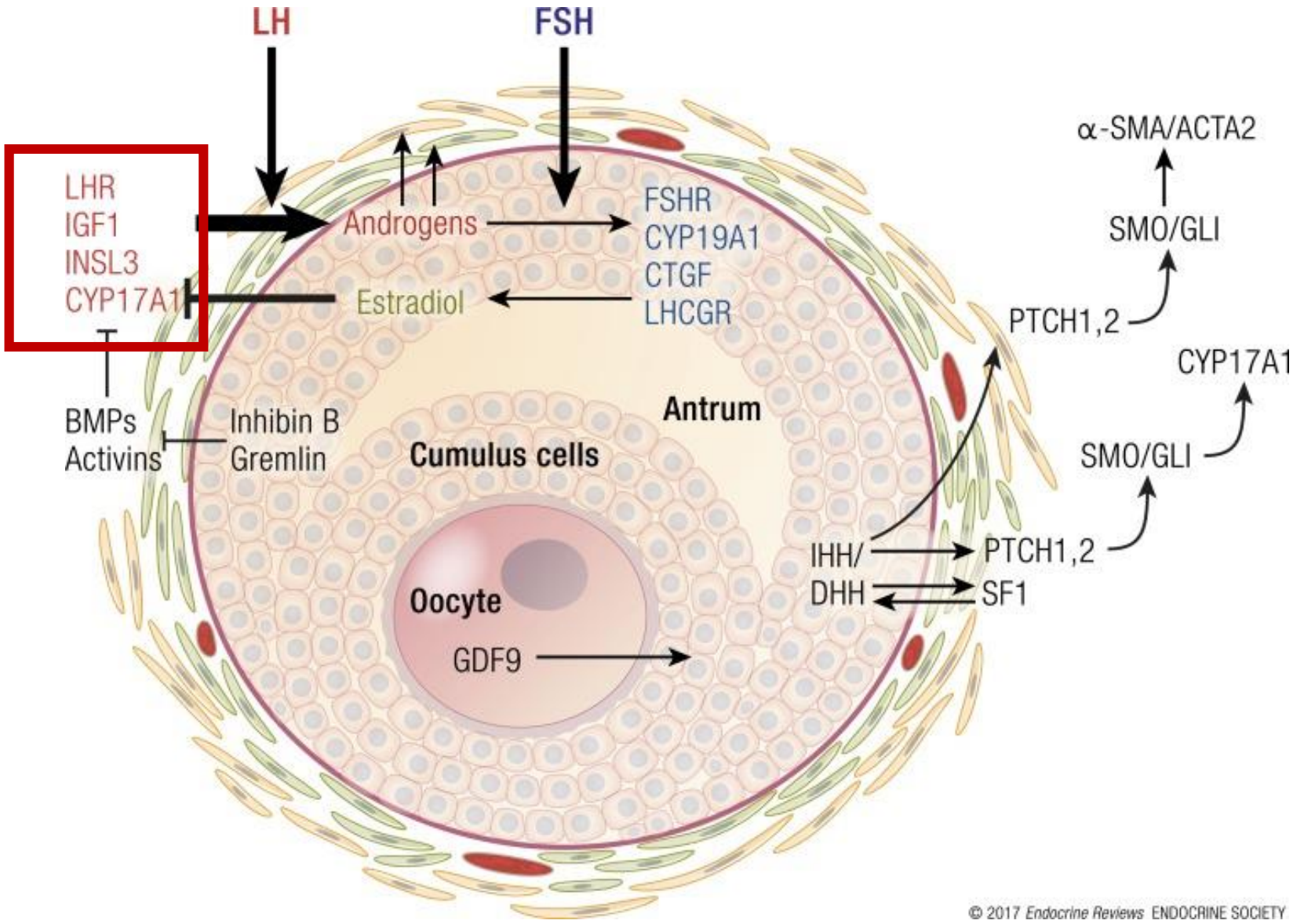
Senescence
β-galactosidase activity

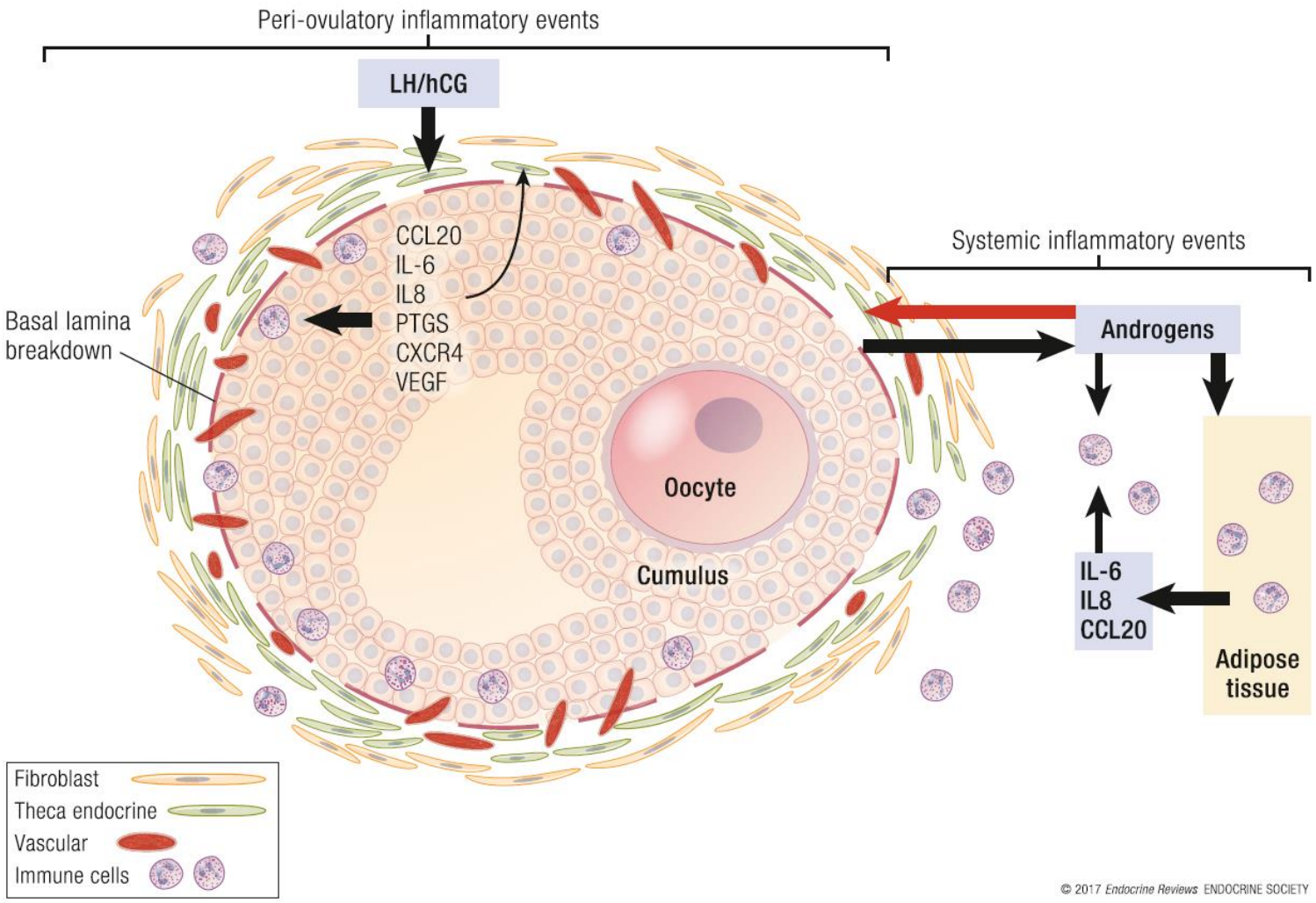
Madaan A et al. Int J Cosmet Sci 2018

Una elevata produzione di androgeni da parte delle cellule della teca ovarica è considerato l'evento chiave nel determinare il fenotipo PCOS

Nelson VL et al. ***The biochemical basis for increased testosterone production in theca cells propagated from patients with polycystic ovary syndrome*** J Clin Endocrinol Metab 2001, 86(12):5925-5933

Young JM et al. **Theca the forgotten cell of the ovarian follicle**. *Reproduction* 2010

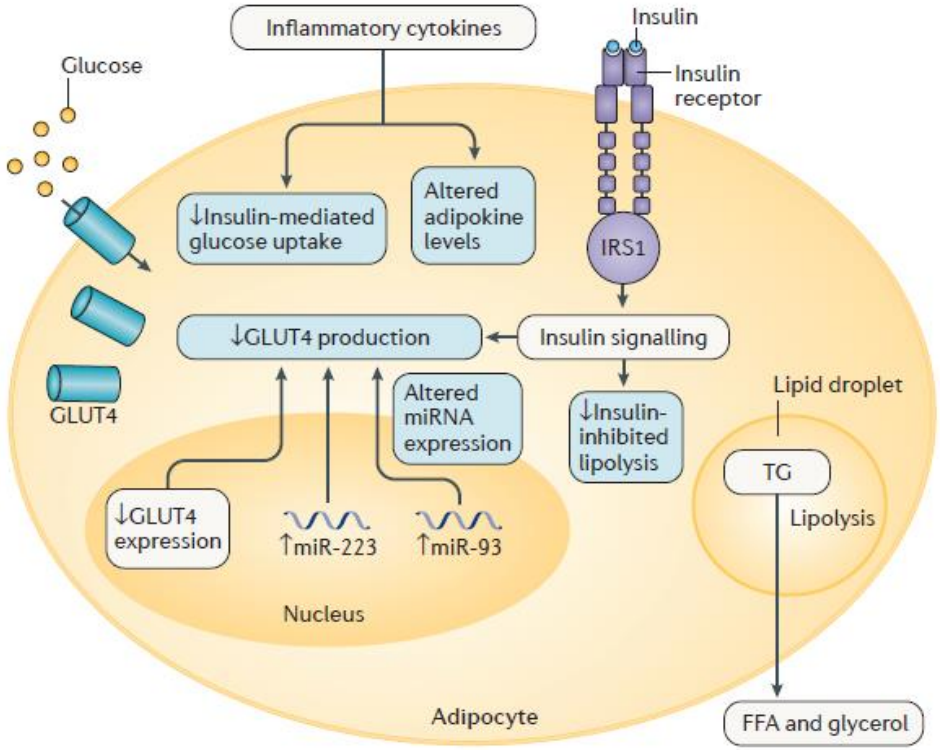




© 2017 *Endocrine Reviews* ENDOCRINE SOCIETY

Meccanismi molecolari della resistenza insulinica nel tessuto adiposo delle donne affette da PCOS

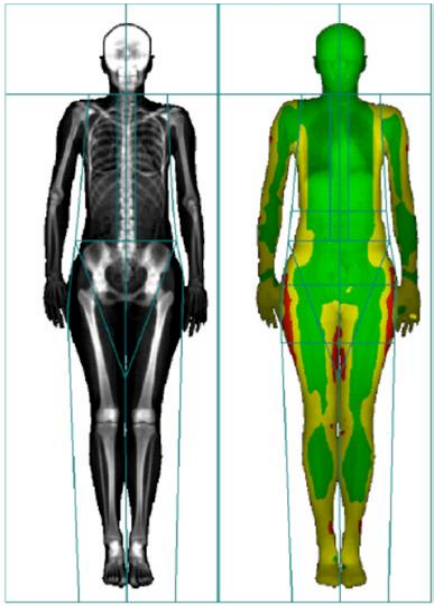
Sebbene il tessuto adiposo costituisca solo il 10% del'intero *uptake* del glucosio insulino-indotto, questo tessuto riveste un ruolo cruciale nel determinare la omeostasi glicidica. Il tessuto adiposo controlla gli acidi grassi liberi plasmatici (FFA) ed è in grado di produrre adipochine che contribuiscono a modulare l'azione insulinica e controllano la sensibilità insulinica sistemica. La disfunzione dell'adipocita nella PCOS comporta diminuiti livelli di trasporto di glucosio insulino-mediato, diminuita disponibilità di GLUT-4, diminuita inibizione della lipolisi, alterata espressione di microRNA

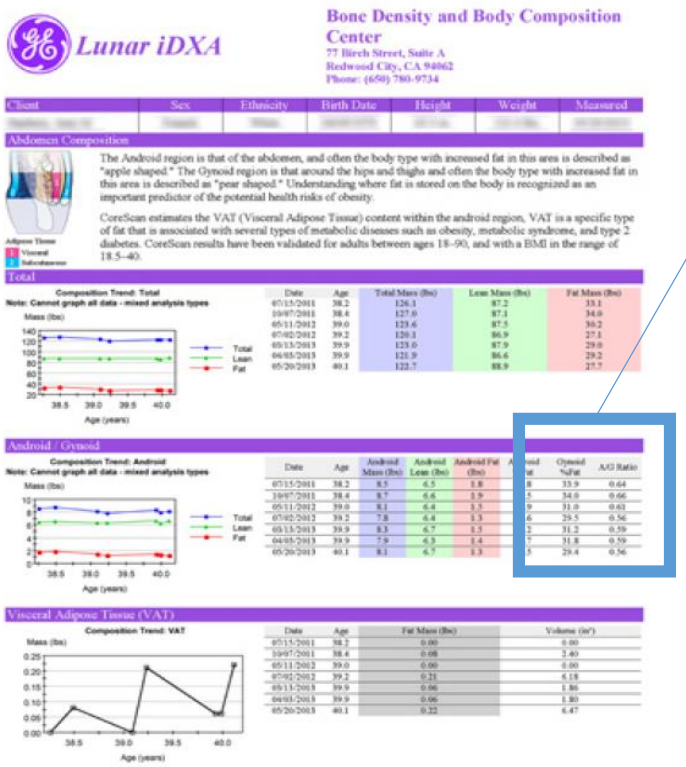


Misura del grasso viscerale

Volume 250.3±194.5 cm³
Massa 235.9±183.1 gr
***Cutoff* massa 350 gr**

Endocrine 2014 (47)





Lunar iDXA

Bone Density and Body Composition Center
77 Birch Street, Suite A
Redwood City, CA 94062
Phone: (650) 780-9734

Client	Sex	Ethnicity	Birth Date	Height	Weight	Measured
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

Abdomen Composition

The Android region is that of the abdomen, and often the body type with increased fat in this area is described as "apple shaped." The Gynoid region is that around the hips and thighs and often the body type with increased fat in this area is described as "pear shaped." Understanding where fat is stored on the body is recognized as an important predictor of the potential health risks of obesity.

CoreScan estimates the VAT (Visceral Adipose Tissue) content within the android region. VAT is a specific type of fat that is associated with several types of metabolic diseases such as obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes. CoreScan results have been validated for adults between ages 18–90, and with a BMI in the range of 18.5–40.

Adipose Tissue
1 Visceral
2 Subcutaneous

Total

Composition Trend: Total
Note: Cannot graph all data - mixed analysis types

Date	Age	Total Mass (lbs)	Lean Mass (lbs)	Fat Mass (lbs)
07/15/2011	38.2	126.1	87.2	33.1
10/07/2011	38.4	127.0	87.1	34.0
05/11/2012	39.0	123.6	87.5	30.2
07/02/2012	39.2	120.3	86.9	27.5
05/13/2013	39.9	123.0	87.9	29.0
04/03/2013	39.9	121.9	86.6	29.2
05/20/2013	40.1	122.7	88.9	27.7

Android / Gynoid

Composition Trend: Android
Note: Cannot graph all data - mixed analysis types

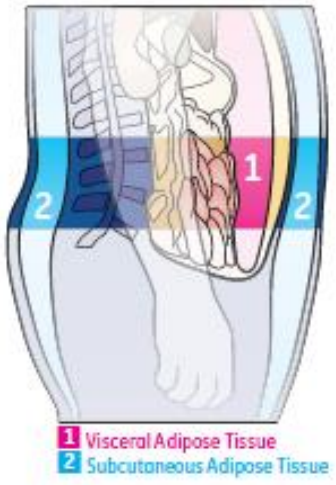
Date	Age	Android Mass (lbs)	Android Lean (lbs)	Android Fat (lbs)	Gynoid %Fat	A/G Ratio
07/15/2011	38.2	8.5	6.5	1.8	33.9	0.64
10/07/2011	38.4	8.7	6.6	1.9	34.0	0.66
05/11/2012	39.0	8.1	6.4	1.3	31.0	0.61
07/02/2012	39.2	7.8	6.4	1.3	29.5	0.56
05/13/2013	39.9	8.3	6.7	1.3	31.2	0.59
04/03/2013	39.9	7.9	6.3	1.4	31.8	0.59
05/20/2013	40.1	8.1	6.7	1.3	29.4	0.56

Visceral Adipose Tissue (VAT)

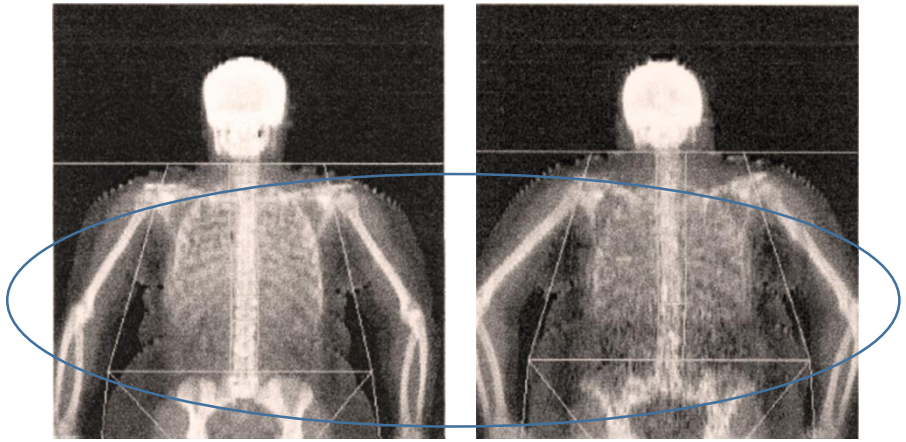
Composition Trend: VAT

Date	Age	Fat Mass (lbs)	Volume (in³)
07/15/2011	38.2	0.00	0.00
10/07/2011	38.4	0.08	2.40
05/11/2012	39.0	0.00	0.00
07/02/2012	39.2	0.21	6.18
05/13/2013	39.9	0.06	1.86
04/03/2013	39.9	0.06	1.80
05/20/2013	40.1	0.22	6.47

A/G Fat



Nella PCOS importante la valutazione del rapporto grasso/magro e adiposità del tronco



DXA Results Summary:

Region	BMC (g)	Fat (g)	Lean (g)	Lean+BMC (g)	Total Mass (g)	% Fat
L Arm	165.06	3571.2	2683.9	2849.0	6420.2	55.6
R Arm	173.25	3611.0	2512.9	2686.1	6297.1	57.3
Trunk	786.02	32865.6	33355.7	34141.7	67007.3	49.0
L Leg	452.51	5823.4	9028.9	9481.4	15304.8	38.0
R Leg	466.95	6065.8	9146.2	9613.1	15678.9	38.7
Subtotal	2043.79	51937.0	56727.5	58771.3	110708.3	46.9
Head	560.31	1010.5	3509.0	4069.3	5079.9	19.9
Total	**2604.10**	**52947.5**	**60236.5**	**62840.6**	**115788.1**	**45.7**

Sezione di Endocrinologia della Riproduzione ed Andrologia
Università di Roma TVG Ospedale Fatebenefratelli Isola Tiberina

PCOS iperandrogenismo clinico

Clinical Consensus Recommendation Clinical Practice Point

- Deve essere completata accurata anamnesi ed esame obiettivo per valutare segni e sintomi di iperandrogenismo clinico (acne, alopecia, irsutismo) e nelle adolescenti severo acne ed irsutismo (CCR)
- Bisogna essere consapevoli del potenziale impatto psicosociale negativo dell'iperandrogenismo clinico. Deve essere considerata importante la comunicazione di eccesso di crescita pilifera e/o alopecia non-desiderata (CCR)
- Importante la attuazione dello score di F&G nel valutare l'irsutismo tenendo conto di fattori quali la cosmesi che possono limitare la valutazione clinica (CCR)
- La scala di Ludwig è da preferire per la caratterizzazione di grado e distribuzione della alopecia (CCR)
- Non sono disponibili scale validate disponibili per la valutazione dell'acne (CPP)
- Anche se la prevalenza di irsutismo è la stessa nelle varie etnie, il *cut-off* dell'indice di F&G per definirne la severità è diverso (CPP)
- La diffusione della peluria vellica può essere variabile. Può essere possibile una sovrastima dell'irsutismo se la peluria vellica viene confusa con quella terminale. Deve essere considerata unicamente la peluria terminale per la diagnosi di irsutismo patologico, valutando una lunghezza >5mm senza cosmesi per almeno 6 settimane, considerando forma, consistenza e pigmantazione (CPP)

Teede HJ et al. *ESHRE pages* 2018

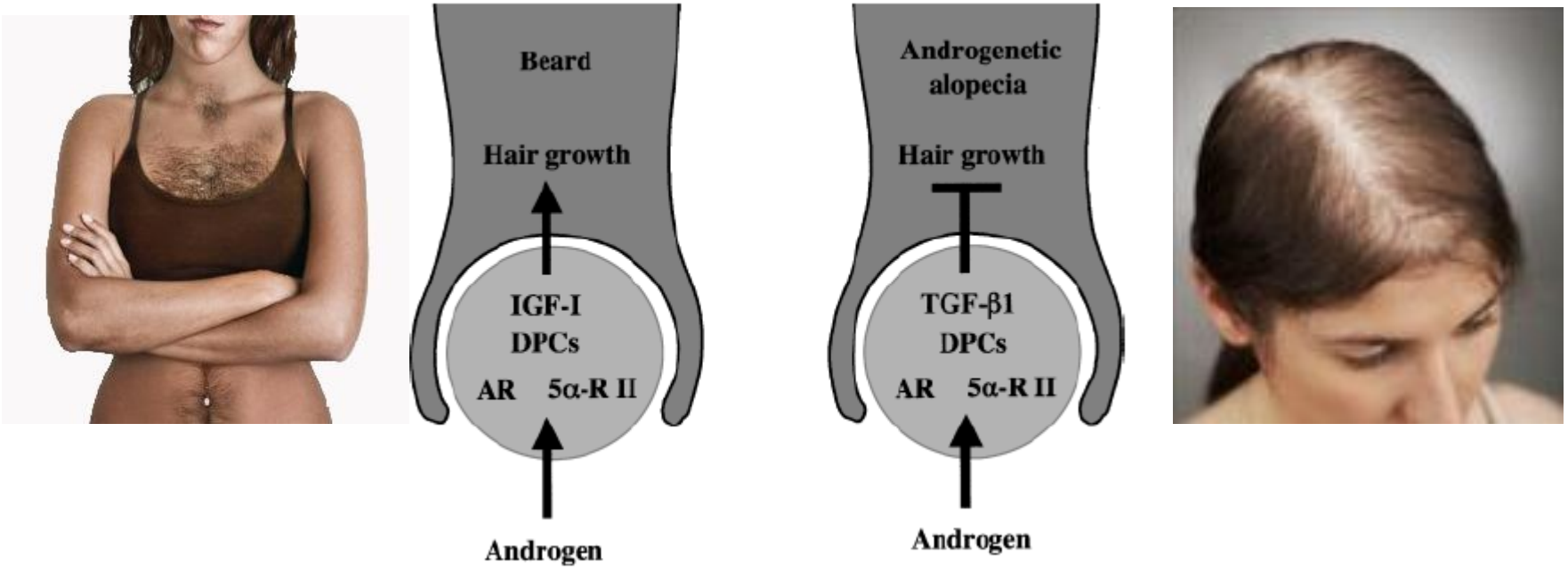
Acne

Alopecia – valutazione clinica

Scala di Ludwig

Scala di Sinclair

I follicoli piliferi umani che sono distribuiti in vari e specifici siti del corpo hanno una suscettibilità individuale alla crescita androgeno dipendente

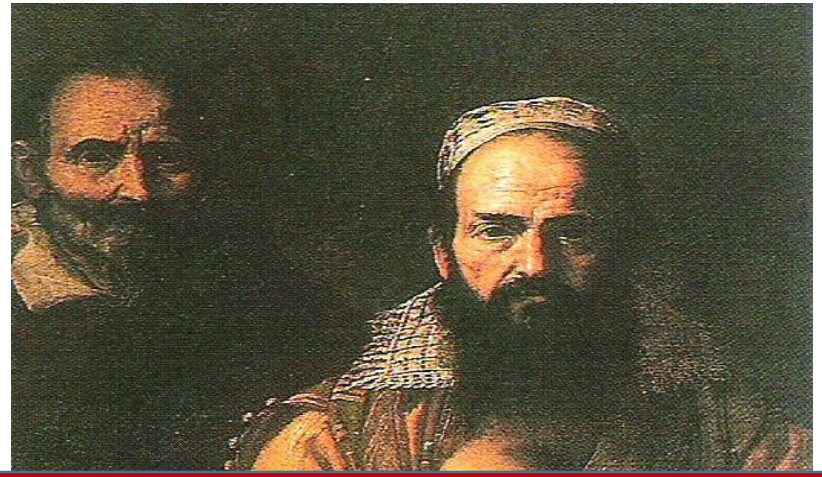


ezione di Endocrinologia della Riproduzione ed Andrologia
versità di Roma TVG Ospedale Fatebenefratelli Isola Tiberina

S.Itami and S. Inui J Investg Dermatol Symp Proc 2005 (10):209-211

Acanthosis nigricans

Irsutismo



Irsutismo, termine che si riferisce alla presenza di eccessiva peluria terminale nella donna in aree androgeno-dipendenti, con conseguenze negative sullo stato di benessere psicofisico

Identificazione e quantificazione dell'irsutismo

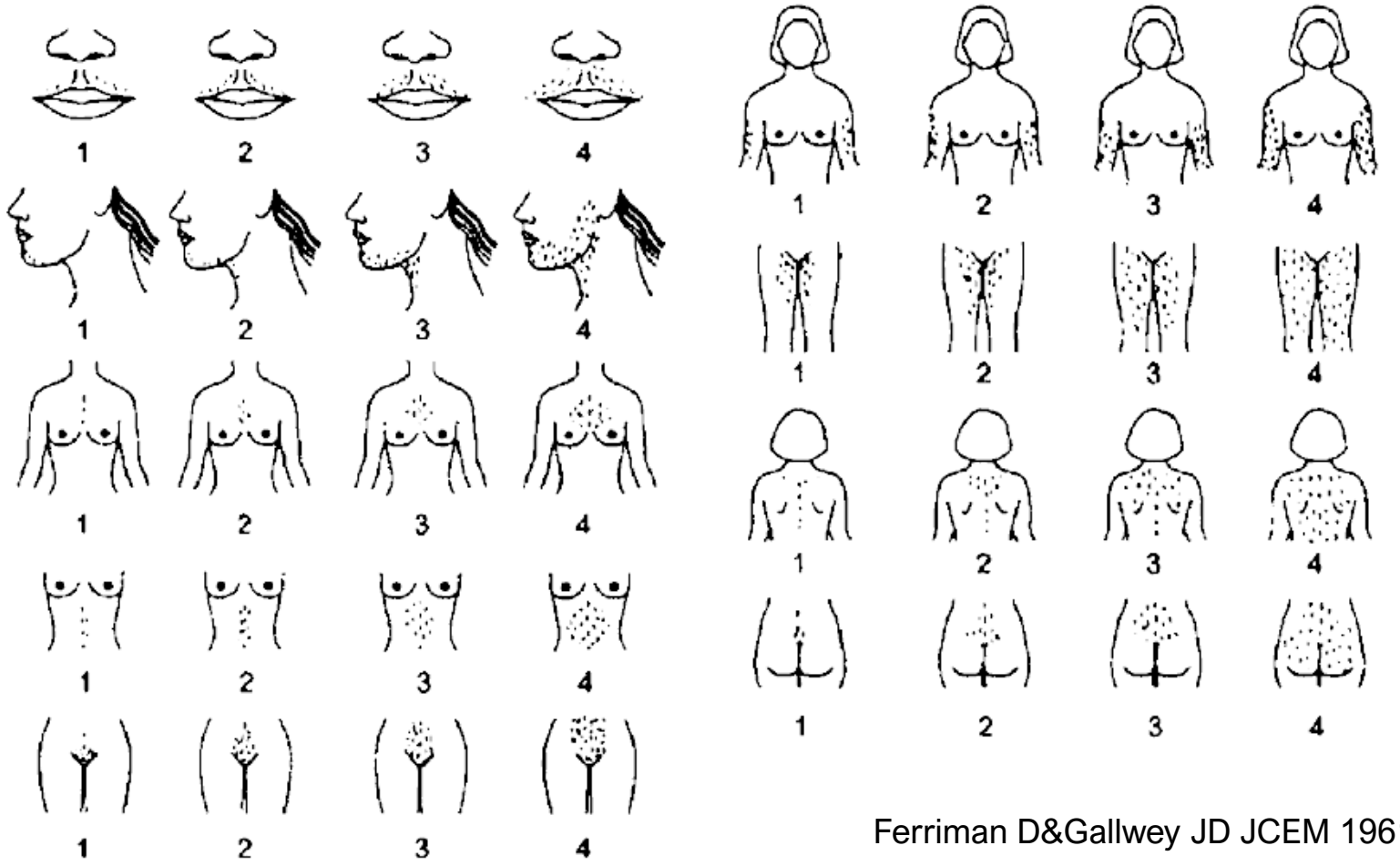
Anamnesi mestruale
Time course dei sintomi
Composizione Corporea
Anamnesi Farmacologica
Storia Familiare (PCOS fam)

Metodi oggettivi

Metodi soggettivi

Sezione di Endocrinologia della Riproduzione ed Andrologia
Università di Roma TVG Ospedale Fatebenefratelli Isola Tiberina

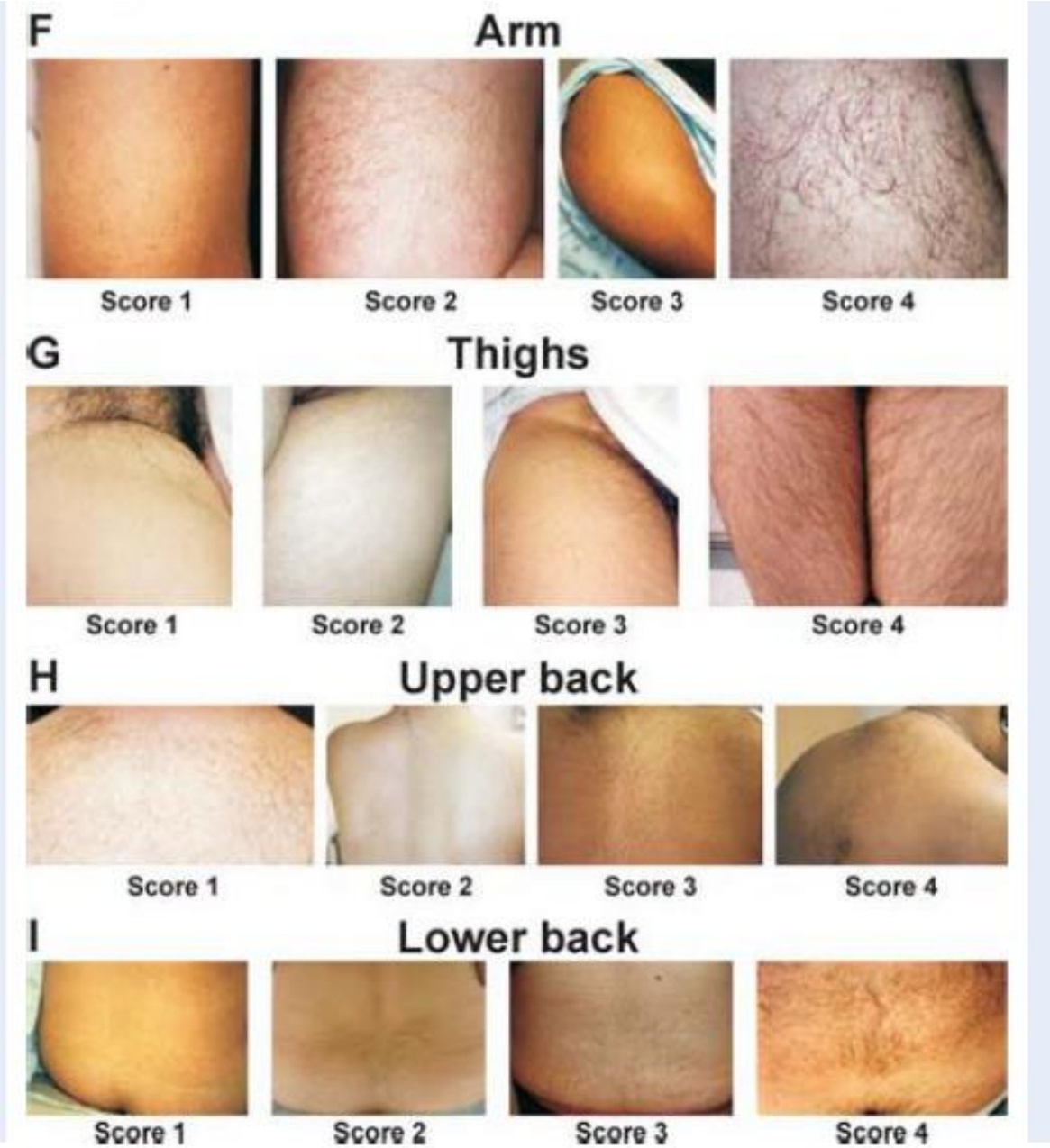
Metodo soggettivo (operatore-dipendente) : Ferriman&Gallwey score



Ferriman D&Gallwey JD JCEM 1961 (21):1440-1447

Escobar-Morreale HF Human Reproduction Update 2012, 18(2):146-170

Escobar-Morreale HF Human Reproduction Update 2012, 18(2):146-170



Escobar-Morreale HF Human Reproduction Update 2012, 18(2):146-170

Metodo oggettivo (operatore indipendente)

indice videodermoscopico

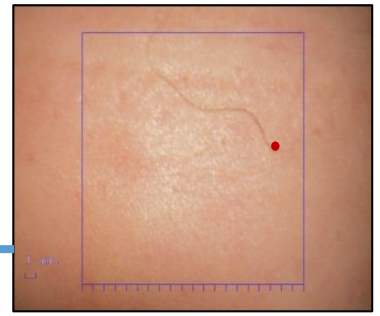
IV 1 (1-3 ups/4cm2)

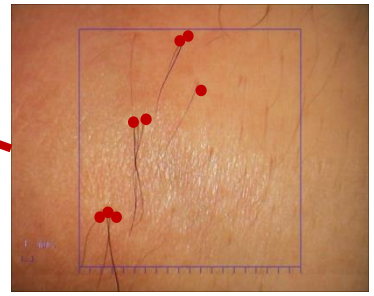
IV2 (4-8 ups/4cm2)

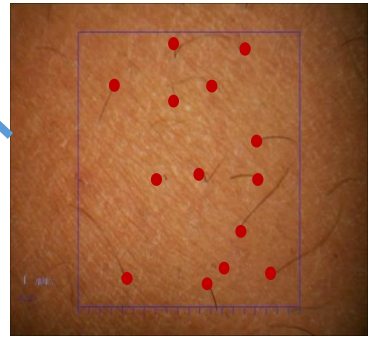
IV3 (9-15 ups/4cm2)

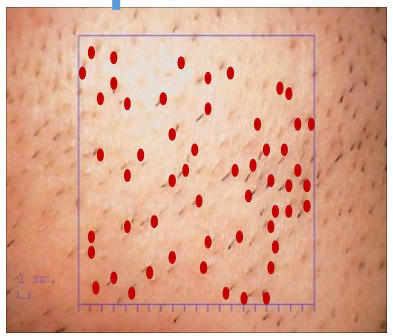
IV4 (16-37 ups/4cm2)

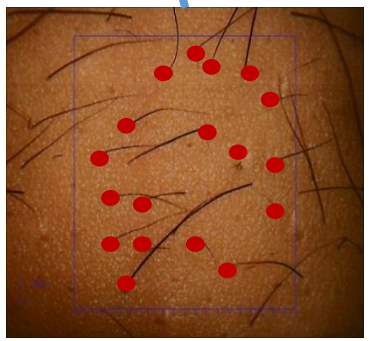
IV5 (>38 ups/4cm2)











Sezione di Endocrinologia della Riproduzione ed Andrologia
Università di Roma TVG Ospedale Fatebenefratelli Isola Tiberina

Indagini di Laboratorio

F&G>16 - IV_3>9ups/4cm^2

Se non associato a insorgenza rapida e progressiva, disordini mestruali, obesità e clitoridomegalia

- Androgeni plasmatici (AD, DHEA, DHEAS, Testosterone).

Livelli plasmatici di testosterone al mattino al di sotto di **150 ng/dL (5.2 nmol/lt)** escludono la presenza di tumori ovarici/surrenalici)

- 17 αOH Progesterone ed ACTH.

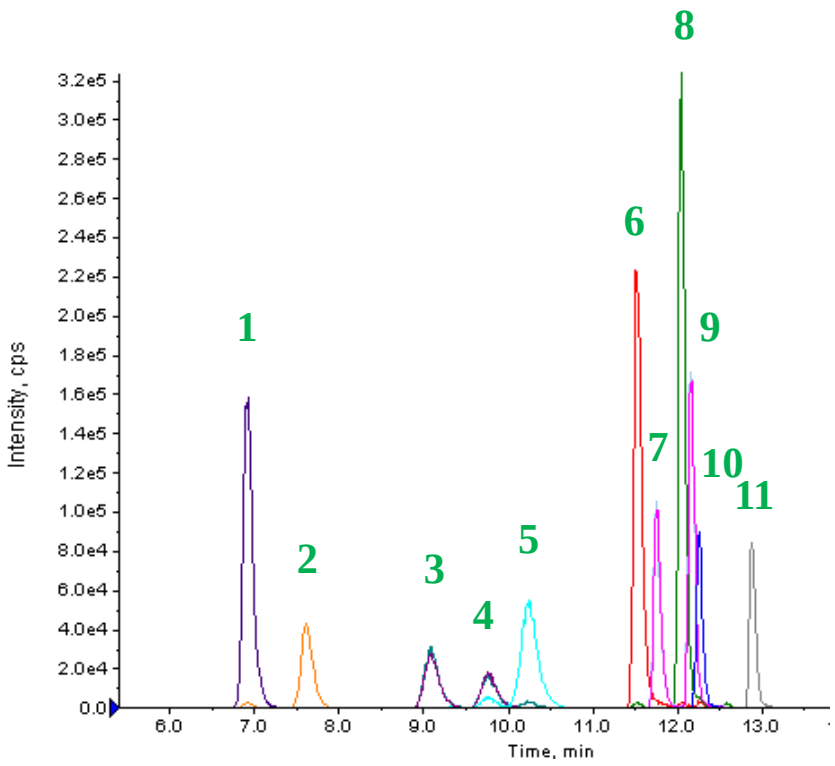
Livelli plasmatici di 17 αOH Progesterone al mattino al di sotto di **200ng/dL (6 nmol/L)** in fase follicolare precoce escludono la possibilità di defict non-classico della 21idrossilasi

- Cortisolo, ACTH e Cortisolo urinario.

Esclusione della sindrome di Cushing

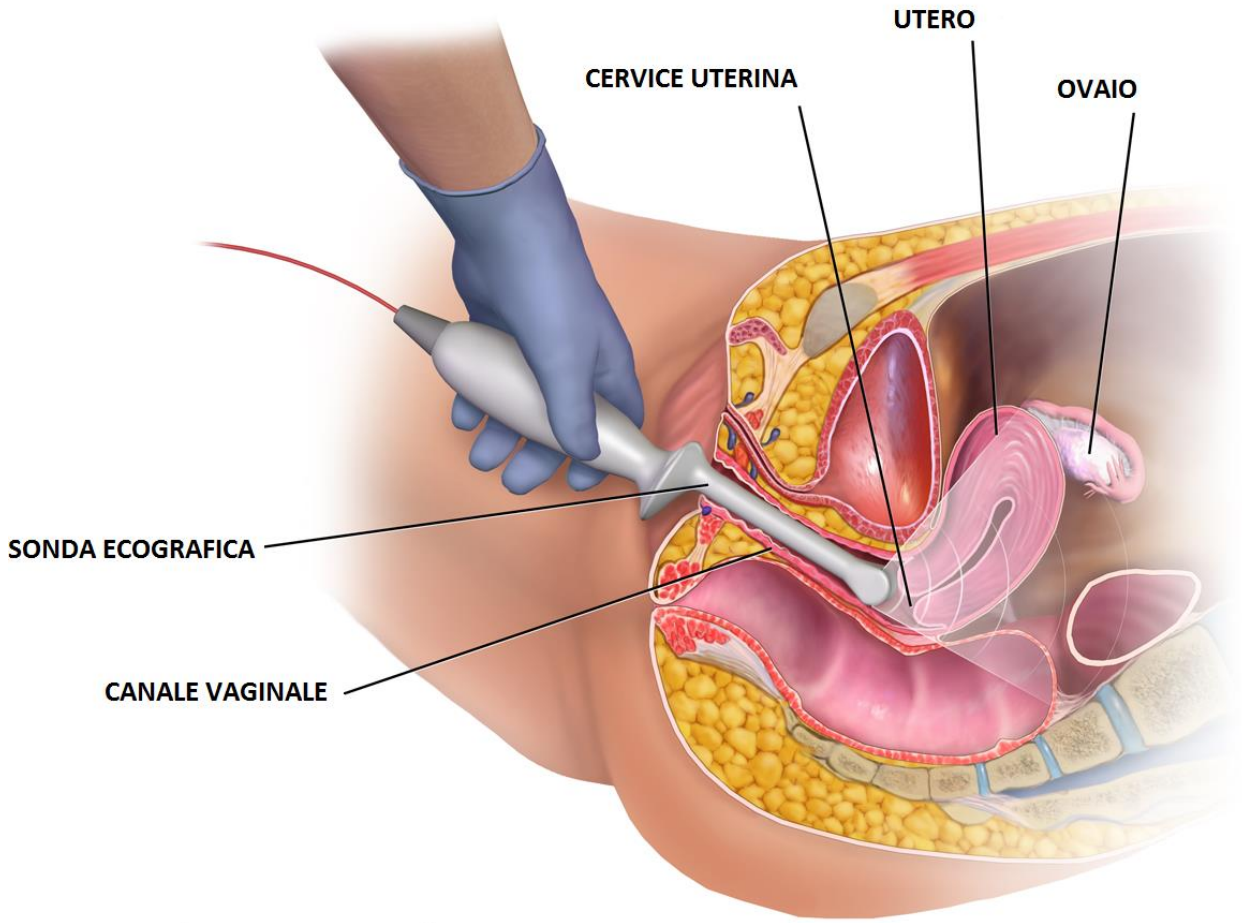
- Test di soppressione con Desametazone (1mg/8orex5gg) in caso di T ≥150 ng/dL e DHEAS ≥700 mcg/dL

Profilo steroideo in cromatografia liquida



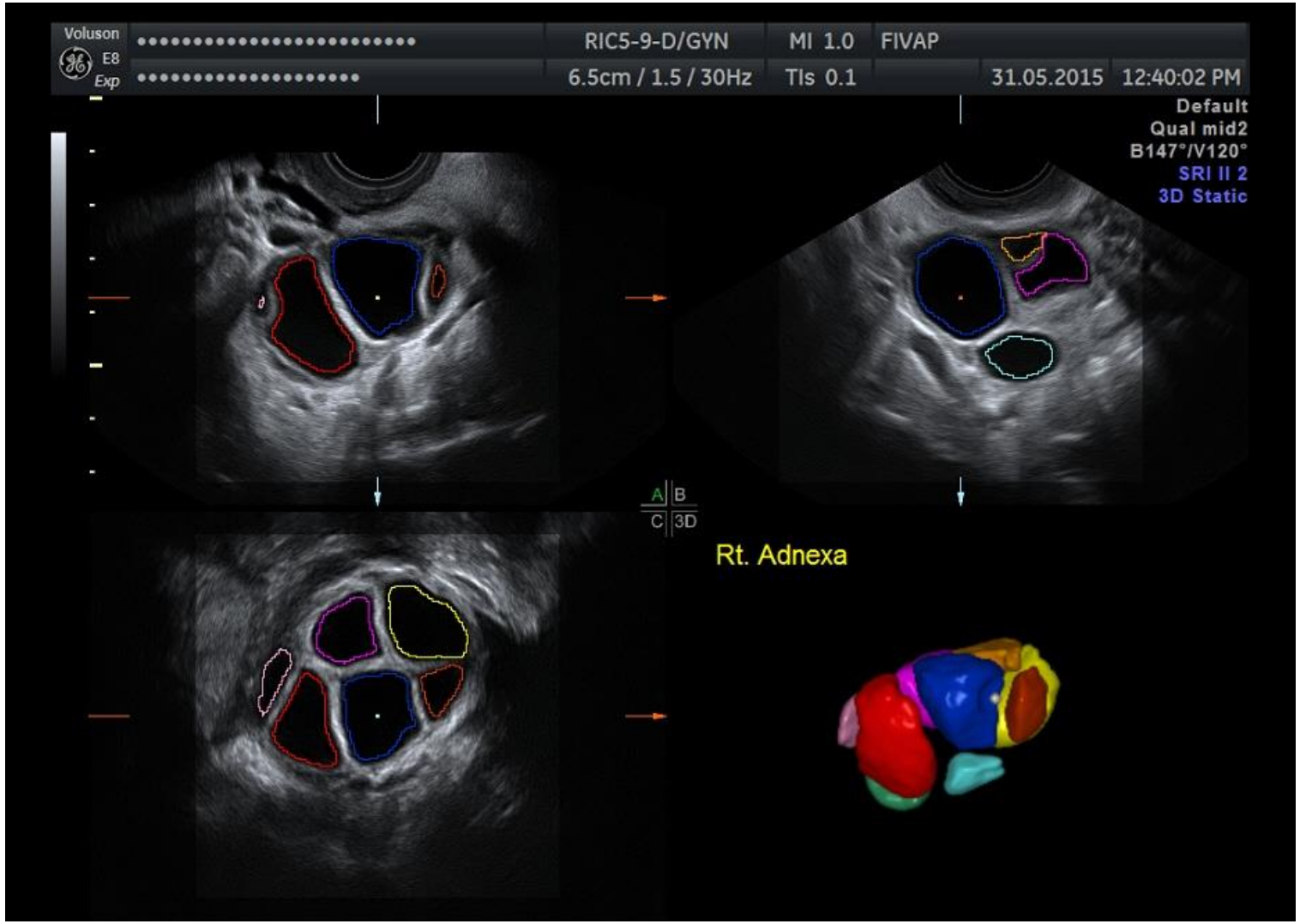
1. Cortisone (E)
2. Cortisol (F)
3. 21-Deoxycortisol (21DOF)
4. Corticosterone (COR)
5. 11-Deoxycortisol (11DOF)
6. Androstenedione (A)
7. 11-Deoxycorticosterone (DOC)
8. Testosterone (T)
9. 17OH-Progesterone (17OHProg)
10. Dehydroepiandrosterone (DHEA)
11. Progesterone (Prog)

Morfologia PCO delle ovaie

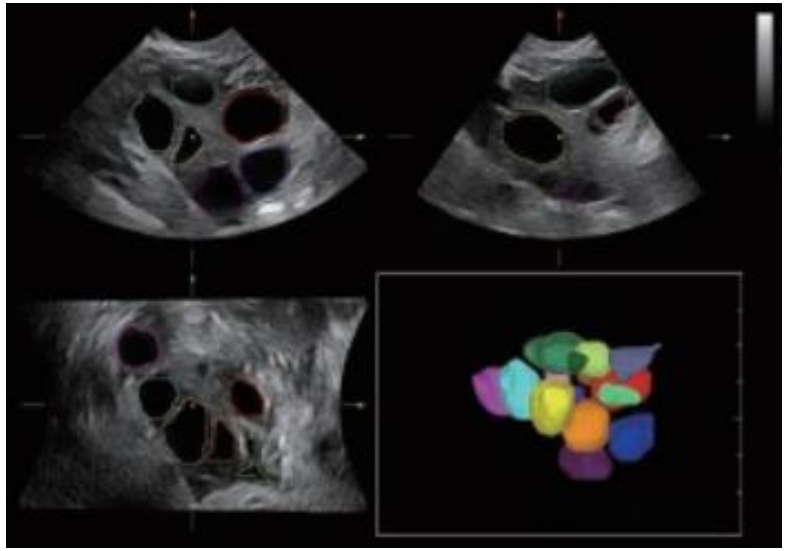


Ecografia Transvaginale

Valutazione 3D e *software* dedicato alla conta follicolare

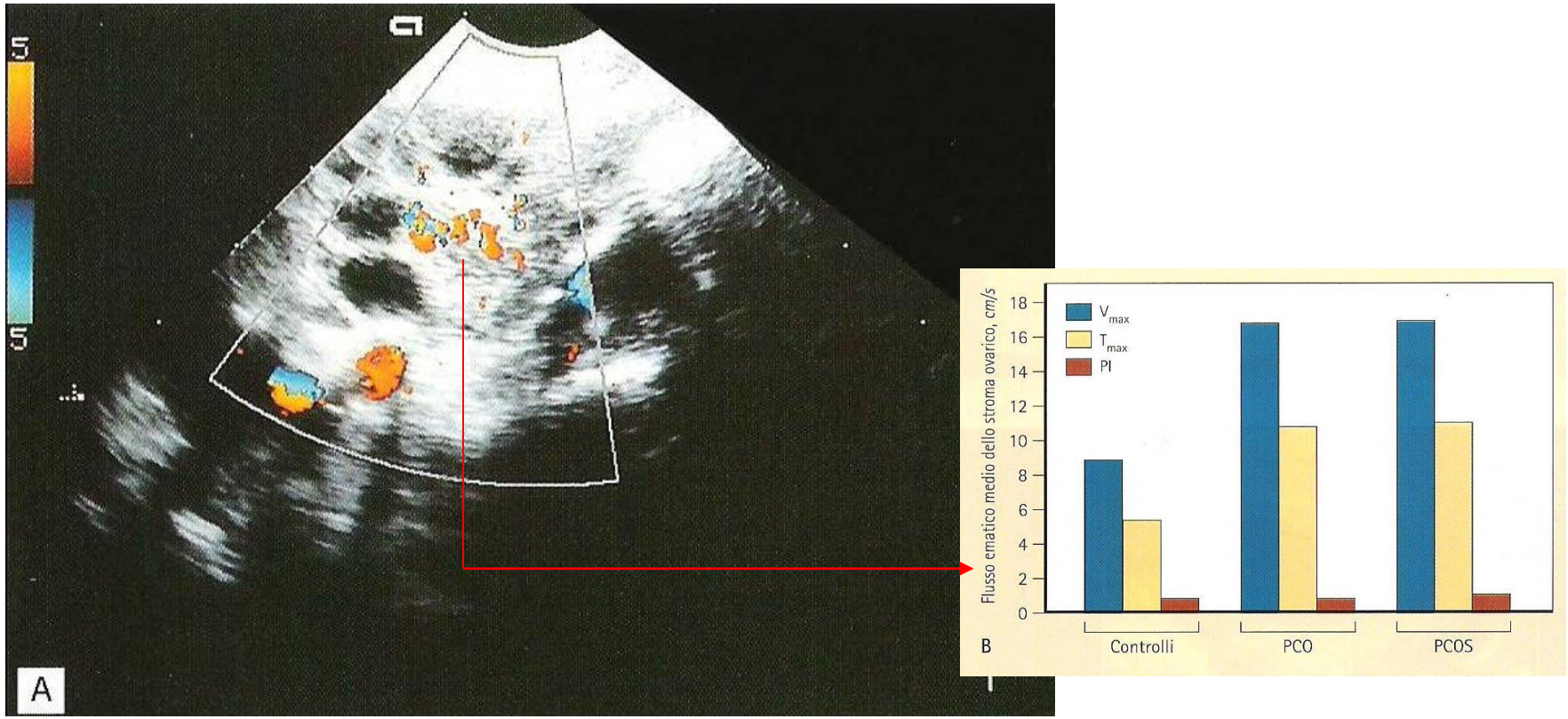


Valutazione 3D e *software* dedicato alla conta follicolare



Numero di follicoli *early-antral* (<10 mm) non superiore a 20 per ovaio

Caratteristiche ecografiche



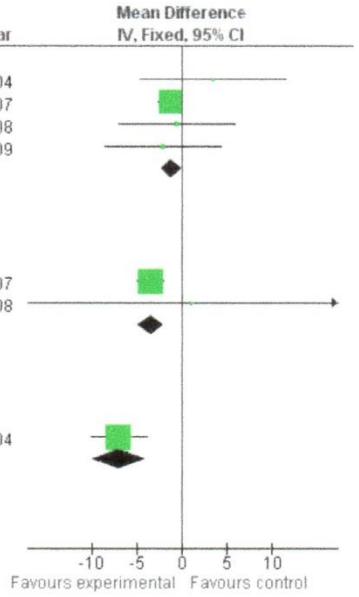
In ecografia lo stroma presenta una considerevole quantità di colore indice di flusso ematico attivo che può essere misurato come velocità massima o velocità massima nel tempo (Tmax) senza gossolane variazioni nella resistenza.

LA CORREZIONE DELLO STILE DI VITA MIGLIORA:

1. PESO CORPOREO
2. GRASSO VISCERALE
3. ANDROGENEMIA
4. INSULINORESISTENZA

Forest plot of comparison: 1 Lifestyle intervention versus minimal treatment: Combined data, outcome: 1.6 Secondary anthropometric outcomes (adiposity).

Study or Subgroup	Favours experimental Mean	SD	Total	Minimal treatment Mean	SD	Total	Weight	Mean Difference IV, Fixed, 95% CI	Year
1.3.1 Body mass index (BMI) (kg/m2)									
Hoeger 2004	39.9	9	6	36.5	4.9	7	2.2%	3.40 [-4.66, 11.46]	2004
Vigorito 2007	28	2.9	45	29.3	3.2	45	90.9%	-1.30 [-2.56, -0.04]	2007
Hoeger 2008	34.9	7	8	35.5	6.8	10	3.5%	-0.60 [-7.03, 5.83]	2008
Stener-Victorin 2009	26.4	4.8	5	28.5	6.2	6	3.4%	-2.10 [-8.60, 4.40]	2009
Subtotal (95% CI)			64			68	**100.0%**	**-1.20 [-2.40, 0.00]**	
Heterogeneity: Chi² = 1.38, df = 3 (P = 0.71); I² = 0%									
Test for overall effect: Z = 1.95 (P = 0.05)									
1.3.2 Weight (endpoint) (kg)									
Vigorito 2007	68	3.2	45	71.5	3.9	45	99.3%	-3.50 [-4.97, -2.03]	2007
Hoeger 2008	95.2	19.2	8	94.2	19.8	10	0.7%	1.00 [-17.10, 19.10]	2008
Subtotal (95% CI)			53			55	**100.0%**	**-3.47 [-4.94, -2.00]**	
Heterogeneity: Chi² = 0.24, df = 1 (P = 0.63); I² = 0%									
Test for overall effect: Z = 4.63 (P < 0.00001)									
1.3.3 Weight (% change)									
Hoeger 2004	-6.8	3.8	6	0.2	0.8	7	100.0%	-7.00 [-10.10, -3.90]	2004
Subtotal (95% CI)			6			7	**100.0%**	**-7.00 [-10.10, -3.90]**	
Heterogeneity: Not applicable									
Test for overall effect: Z = 4.43 (P < 0.00001)									



Test for subgroup differences: Chi² = 14.28, df = 2 (P = 0.0008), I² = 86.0%

Moran LJ et al *The Cochrane Collaboration* 2011 Wiley&Sons, Ltd