

Capitolo 1

LA PUBERTA' PRECOCE VERA

1.1 DEFINIZIONE

La pubertà viene definita "precoce" quando i primi segni di sviluppo sessuale compaiono in età inferiore di 3DS rispetto alla media della popolazione di riferimento, in pratica ad 8 anni nella femmina e a 9 anni nel maschio (1, 2).

Alcuni Autori, negli ultimi anni hanno abbassato il limite della pubertà precoce a 7 anni, e in alcuni casi, a 6 anni, nella femmina, in considerazione del *secular trend* dell'abbassamento dell'età del menarca, ed a 8 anni nel maschio in base ad osservazioni sulla popolazione americana e ispanica (3, 4, 5).

Mentre si definisce anticipata la pubertà che inizia tra 8-9 nella femmina e 9-10 anni nel maschio. Nonostante queste discordanze, appare chiaro che é "precoce" uno sviluppo puberale che compare in epoca "preadrenarcale".

La pubertà precoce si definisce "vera", quando consegue ad un attivazione precoce dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi, o comunque della secrezione di gonadotropine, i cui livelli raggiungono valori puberi; in particolare si ha una precoce secrezione ipotalamica di GnRH, con l'ampiezza e la pulsatilità proprie della pubertà fisiologica e conseguente maturazione delle gonadi (Fig.1 e 2).

Soprattutto nei soggetti più giovani è stata osservata una dissociazione tra il gonadarca e adrenarca in corso di pubertà precoce, con avvento successivo più o meno precoce dell'adrenarca.

L'età di insorgenza della pubertà precoce vera nelle femmine varia tra i 2 e i 6 anni nel 37% dei casi, ed è inferiore a 2 anni nel 18% dei casi, mentre nei maschi la distribuzione è più uniforme (6).

La pubertà precoce vera è una condizione tendenzialmente rara che colpisce le femmine più spesso dei maschi, con un rapporto tra le rispettive incidenze pari a 5:1. La maggiore incidenza nel sesso femminile potrebbe essere dovuta ad una maggiore sensibilità dell'ipofisi femminile al GnRH. Tale maggiore sensibilità è stata evidenziata in alcune esperienze di induzione puberale con GnRH in pazienti affetti da ritardo accrescitivo benigno (7). Si potrebbe spiegare così anche lo sviluppo puberale fisiologico anticipato nelle femmine, nonché la minor frequenza di pubertà ritardata osservata in questo sesso.



Fig.1 - *Rappresentazione schematica dei meccanismi di controllo sul sistema ipotalamo-ipofisi-gonadi nel maschio*

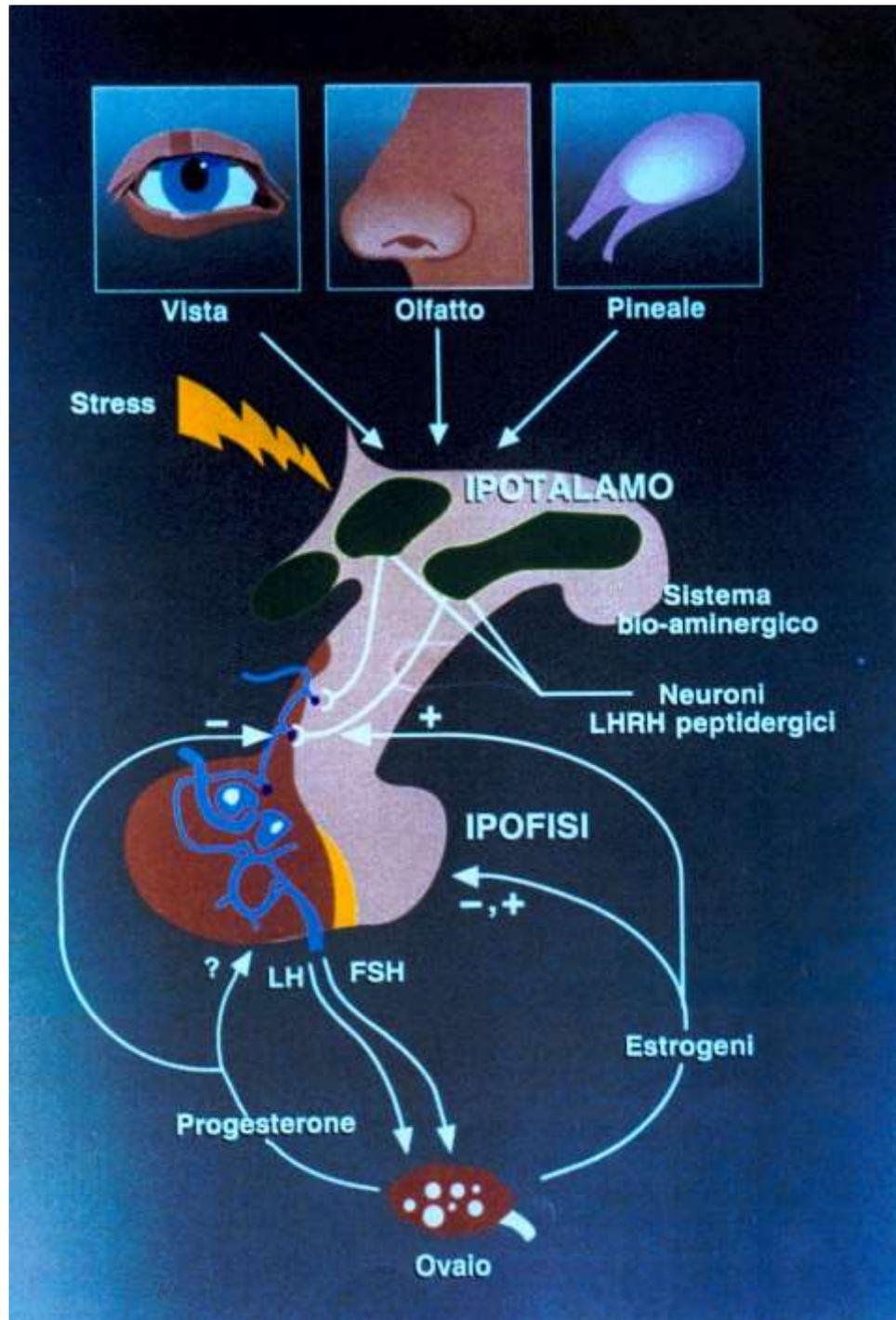


Fig.2 - Rappresentazione schematica dei meccanismi di controllo sul sistema ipotalamo-ipofisi-gonadi nella femmina

1.2 INCIDENZA ED EZIOLOGIA

La pubertà precoce è una malattia rara con un'incidenza stimata da 1:5000 a 1:10000 (8, 9).

L'inizio della pubertà è influenzato da diversi fattori in particolare da una predisposizione genetica (l'età del menarca della madre), dal basso peso alla nascita o dal sovrappeso o obesità in età infantile ed adolescenziale (10).

Recentemente il complesso Kisspeptina – GPR 54 è stato identificato come un sistema cardine per la pubertà che si esplica mediante l'attivazione dei neuroni GnRH secernenti (11). E' stata identificata una mutazione autosomica dominante a carico del gene GPR54 la sostituzione di una prolina al posto di un arginina nel codone 386 (Arg386Pro).

Gli studi in vitro hanno dimostrato che questa mutazione comporta una prolungata attivazione del recettore mutato in risposta alla stimolazione del suo ligando Kisspeptina, rispetto al recettore nativo, determinando così una significativa diminuzione della velocità di desensibilizzazione del recettore mutato. Inoltre, grazie a studi di cinetica, è stato dimostrato che il recettore mutato permaneva più a lungo di quello nativo a livello di membrana suggerendo una minor velocità di internalizzazione e degradazione dello stesso. Infatti, la desensibilizzazione del recettore può essere dovuta a fosforilazione della sua estremità carbossi-terminale con conseguente distacco dalla proteina G e ciò ne stimolerebbe l'internalizzazione.

La mutazione descritta comporterebbe dunque un'aumentata e prolungata risposta delle cellule secernenti GnRH con conseguente incremento nell'ampiezza dei picchi di GnRH dopo stimolo con Kisspeptina. In ultima analisi la ridotta

desensibilizzazione recettoriale determinerebbe un potenziamento nell'effetto stimolatorio del ligando Kisspeptina sulla secrezione di GnRH e tale evento è ritenuto responsabile dell'accelerata maturazione dell'asse ipofisi-gonadi

In conclusione Teles e Coll. descrivono una mutazione autosomica dominante a carico del gene GPR54 che determina un prolungamento nell'attivazione del recettore mutato in risposta allo stimolo con il suo ligando Kisspeptina e che verosimilmente è associata allo sviluppo di pubertà precoce (12).

In questi ultimi anni si è notato che bambini adottati dai paesi disagiati hanno una tendenza a sviluppare una pubertà precoce (13). In questi bambini il rischio è di 10-20 volte più alto (14) una possibile causa potrebbe essere l'esposizione agli "endocrine-disruption" nel loro paese di origine (15).

La pubertà precoce vera può essere idiopatica, oppure secondaria.

La forma idiopatica, così definita per la sua comparsa in assenza di lesioni organiche, prevale sulle altre forme, ed è più frequente tra le femmine che tra i maschi: il rapporto tra l'incidenza della pubertà precoce vera idiopatica e quella secondaria a patologie cerebrali è pari a 7:1 nelle femmine e 1,5:1 nei maschi (16,17).

Tuttavia, con il miglioramento delle tecniche diagnostiche, questa elevata incidenza di forme "idiopatiche" è destinata a diminuire. Alcuni Autori hanno osservato, grazie ad accurate e ripetute indagini neuroradiologiche mediante TAC e RMN cerebrale, come molti casi ritenuti di natura idiopatica fossero in realtà casi di amartoma ipotalamico (18).

La pubertà precoce vera idiopatica può essere sporadica o familiare.

Vengono segnalati inoltre rari casi di attivazione transitoria dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi, cui consegue un quadro clinico e laboratoristico del tutto sovrapponibile a quello della pubertà precoce idiopatica (19).

Gli amartomi ipotalamici sono responsabili della pubertà precoce nel 2-28 % dei pazienti (20,21,22,23). Questi sono malformazioni congenite non neoplastiche ma simil tumorali costituiti da una massa di tessuto nervoso ectopico: sostanza grigia, neuroni, cellule gliali e fasci di fibre localizzati alla base del cervello sul pavimento del terzo ventricolo, vicino al tuber cinereum o ai corpi mammillari. E' stato ipotizzato che l'amartoma funzioni come "pulse generator" di LHRH, ectopico e pertanto indipendente dal meccanismo inibitorio del sistema nervoso centrale che normalmente controlla il "normale pulse generator". Le indicazioni che ci inducono a pensare ad un amartoma sono: (a) l'inizio della pubertà precoce ad una età giovanissima, usualmente < 4 anni (20,24), (b) i livelli ormonali sono compatibili con un'attivazione centrale del generatore pulsatile del fattore di rilascio delle gonadotropine, (c) alla risonanza magnetica nucleare si caratterizza per la tipica posizione e per un aspetto iso-intenso, non presenta enhancement dopo somministrazione di mezzo di contrasto (gadolinio) e (d) l'assenza di segni di pseudopubertà. Sono state descritte alcune masse peduncolate ed altre sessili con diametro variabile da 4 a 25 mm senza cambiamento di dimensioni nel tempo (osservazione massima fino a 10 anni). In circa la metà dei casi l'amartoma determina con o senza la pubertà precoce convulsioni tonico-cloniche sporadicamente e più tipicamente epilessia gelastica che si caratterizza per comparsa improvvisa e immotivata di riso e pianto.

Inoltre c'è una predisposizione a sviluppare pubertà precoce nei bambini con neurofibromatosi di tipo I (25,26), in bambini con idrocefalo, con meningiocele, con encefalopatia neonatale e in bambini che hanno subito basse dosi di irradiazioni a livello craniale. Recentemente si è riscontrata un'associazione tra la sindrome di Williams-Beuren e la comparsa di pubertà precoce (27,28). Le forme tumorali più frequentemente associate con la pubertà precoce sono i gliomi delle vie ottiche e tumori della regione ipotalamica (astrocitomi, pinealomi, teratomi, craniofaringiomi). Più rare sono le sequele di meningiti, encefaliti, traumatismi cranici gravi. L'origine neurogenica può essere sospettata quando l'età è giovanissima, l'evoluzione è rapida, le metrorragie compaiono prima dei tre anni.

Le forme idiopatiche sono più frequenti nel sesso femminile, soprattutto se esiste una familiarità positiva, mentre le forme organiche sono più frequenti nei maschi, specie se la comparsa dei segni puberali è molto precoce. La PPV si può verificare anche nei casi di ipotiroidismo grave da trascinarsi delle gonadotropine, ovvero può essere secondaria all'esposizione cronica di steroidi come nella sindrome adrenogenitale e nella sindrome di McCune-Albright che di per sé è gonadotropino-indipendente.

La PPV centrale o GnRH-dipendente va distinta dalla pubertà precoce GnRH-indipendente o pseudopubertà precoce, in cui lo sviluppo dei caratteri sessuali secondari o di una parte di essi avviene senza previa attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi, bensì per una anomalia primitiva delle ghiandole secernenti steroidi, gonadi e corticosurrene, o anche per secrezione ectopica di gonadotropine, dovuta a tumori, in genere altamente maligni, quali: epatoblastoma, epatocarcinoma, corionepitelioma maligno, disembrionoma toracico,

etc. (29). La pseudopubertà precoce può essere isosessuale o eterosessuale. E' isosessuale quando una precoce iperproduzione di androgeni o di estrogeni si verifica rispettivamente nel maschio e nella femmina. E' eterosessuale nel caso contrario. La pseudopubertà precoce isosessuale nel maschio si verifica nel caso di tumori testicolari a cellule di Leydig e in caso di iperplasia o tumori virilizzanti del surrene; nella femmina, in presenza di tumori femminilizzanti del surrene o dell'ovaio (tecoma). Si configura una pseudopubertà precoce eterosessuale allorché nel maschio ci si trova di fronte ad un tumore femminilizzante del surrene e, nella femmina, ad un tumore virilizzante dell'ovaio o iperplasia o tumore virilizzante del surrene (Tab. 1).

TAB. 1 INQUANDRAMENTO DELLA PUBERTA' PRECOCE**PUBERTA' PRECOCE VERA**

Idiopatica (talora familiare)

Neurogenica (cisti aracnoidea, meningoencefaliti, idrocefalo, epilessia, etc)

Amartoma ipotalamico

Tumori cerebrali (gliomi, astrocitomi, medulloblastomi)

Ipotiroidismo

Secondaria ad esposizione cronica di steroidi (Sindrome di McCune-Albright, sindrome adrenogenitale)

PUBERTA' PRECOCE INCOMPLETA (PSEUDOPUBERTA' PRECOCE)*Maschi*

Da tumori gonadotropino-secernenti a sede extraipofisaria

Da tumori testicolari o surrenalici androgeni-secernenti

Da maturazione precoce delle cellule di Leyding (testotossicosi)

Sindrome adrenogenitale

Femmine

Da cisti ovariche secernenti estrogeni

Da tumori ovarici o surrenalici estrogeno secernenti

Da assunzione di estrogeni (alimenti, farmaci, etc.)

Da tumori gonadotropino-secernenti a sede extraipofisaria

Sindrome di McCune-Albright

1.3 CARATTERISTICHE CLINICHE E DIAGNOSI

Nella pubertà precoce vera, la sequenza con la quale compaiono i segni dello sviluppo sessuale é analoga a quella osservata nella pubertà normale ed é questa caratteristica che distingue, prima di ogni altro dato, la PPV dalla pseudopubertà precoce. Pertanto nelle femmine il primo segno a manifestarsi é l'aumento di volume delle mammelle (telarca) e nei maschi é l'aumento di volume dei testicoli, seguiti a distanza di tempo variabile dalla comparsa di peluria pubica e ascellare in entrambi i sessi .Successivamente, in genere tra il terzo e il quarto stadio, si presenteranno le mestruazioni nelle femmine e le eiaculazioni nei maschi.

Insieme alla maturazione sessuale si verifica anche un'accelerazione dell'accrescimento staturale e della maturazione ossea. Di conseguenza l'età ossea (EO) risulterà sempre avanzata rispetto all'età cronologica (EC) e all'età staturale (ES) del bambino ($EO > ES > EC$) con precoce chiusura delle cartilagini epifisarie di coniugazione. Questi bambini non riescono a raggiungere una statura finale nell'ambito della loro statura bersaglio (30,31,32), anche perché ad essi viene a mancare un periodo, variabile a seconda dell'età di insorgenza della malattia, di crescita normale prepuberale. Inoltre è stata riscontrata, da parte di alcuni Autori, un'aumentata secrezione dell'ormone della crescita (GH) nelle 24 ore nelle bambine con PPV, rispetto alle loro coetanee prepuberi (33).

Tra GH e ormoni sessuali vi sono stretti rapporti di dipendenza, tra i quali il potenziamento della secrezione di GH da parte degli steroidi sessuali (34,35).

Il GH, allo stesso modo delle gonadotropine, viene secreto in maniera pulsatile, ma, a differenza di queste, la sua secrezione è principalmente notturna, soprattutto durante le prime ore del sonno, con pochi ampi picchi di lunga durata

(36). Durante la pubertà si ha un'aumentata secrezione di GH dovuta, più che ad un aumento della frequenza degli episodi secretivi, ad un aumento della loro ampiezza (37,38), probabilmente a causa dell'aumentata sensibilità dell'ipofisi al GHRH e della ridotta secrezione di somatostatina (rispettivamente ad azione stimolante ed inibente la liberazione del GH), modulato dagli ormoni sessuali (34,36,37). L'aumentata secrezione di GH è probabilmente responsabile degli aumentati livelli plasmatici di SmC (Somatomedina C), meglio conosciuta come IGF- 1 (Insulin-like growth factor-1), anche se non si può escludere un effetto diretto degli steroidi sessuali sull'IGF-1 (39,40). Infatti, l'aumento della concentrazione dell'IGF-1 sembra essere correlato allo stadio puberale più che all'età cronologica (41,42,43).

Quando ci si trova di fronte ad una bambina o ad un bambino che presentano segni di sviluppo puberale precoce, l'approccio diagnostico (Tab. 2), dopo una approfondita anamnesi, prevede la valutazione del telarca e del pubarca secondo gli stadi di Tanner (44), la valutazione del volume testicolare misurato mediante l'orchidometro di Prader (45) e confrontato con gli standard normali per l'età, il confronto della statura e del peso con gli standard normali per l'età cronologica, ma soprattutto per l'età ossea (determinata con la radiografia del polso e della mano).

E' anche importante eseguire la radiografia del cranio per lo studio della sella turcica ed in alcuni casi, specie nei primi anni di vita, una radiografia del torace per escludere una sindrome paraneoplastica; è utile, inoltre, una valutazione basale della funzionalità gonadica (estrogeni nelle femmine o testosterone nei maschi) e surrenalica (deidroepiandrosterone o DHEA, DHEA-solfato o DHEA-S,

17 α -OH progesterone o 17 α -OHP), oltre che tiroidea, e una determinazione dei livelli plasmatici dell'IGF-1 e delle gonadotropine, queste ultime anche dopo stimolo con l'LHRH (100 mcg per via endovenosa). L'E.E.G, l'esame del visus, quello del fondo dell'occhio sono importanti per escludere eventuali cause neurogeniche.

Nei casi sospetti è importante completare l'iter diagnostico mediante RMN dell'encefalo, con particolare attenzione alla valutazione delle strutture diencefalo-ipofisarie.

Di grande aiuto diagnostico nelle femmine è l'ecografia pelvica che ci permette di valutare sia le modificazioni del volume ($> 1,5 \text{ cm}^3$) e della morfologia delle ovaie, sia lo sviluppo dell'utero con il caratteristico cambiamento del rapporto corpo/collo a favore del primo e l'incremento del diametro longitudinale dell'utero stesso (DL $>3,5 \text{ cm}$) che rappresenta un indice specifico dell'attività estrogenica (46).

TAB. 2 PUBERTA' PRECOCE: APPROCCIO DIAGNOSTICO**1- Anamnesi familiare e personale "mirata"****2- Valutazione clinica**

- a) generale
- b) puberale:
telarca, pubarca, dimensioni testicoli e pene
- c) auxologica:
peso, statura, velocità di crescita,
previsione statura definitiva in base all'età ossea
- d) neurologica:
fundus oculi ed EEG
- e) diagnostica per immagini:
rx cranio per sella, rx torace, rx mano e polso per età ossea
Ecografia pelvica
RMN cerebrale
- f) endocrinologia:
FSH ed LH basali e dopo LHRH (0'-15'-30'-60'-90')
Testosterone o 17-beta E₂, FT3, FT4, PRL, Delta 4-
Androstenedione, 17 α OHProgesterone, DEAS, cortisolemia.

I volumi ovarici medi vengono calcolati usando la seguente formula:

$$V=L \times AP \times T \times K$$

in cui V rappresenta il volume, L il diametro longitudinale, AP il diametro antero-posteriore, T il diametro trasverso e K il coefficiente ($K= 0,5233$); tale formula è stata ricavata assimilando la forma dell'ovaio a quella di un ellissoide allungato (sferoide) (47).

Nei maschi l'ecografia testicolare ha applicazioni molto limitate, essendo possibile una buona semeiotica manuale delle gonadi. Ci si orienta verso la diagnosi di pubertà precoce vera quando, ad una storia di un recente incremento dell'accrescimento staturale e della comparsa dei caratteri sessuali secondari, si aggiunge una risposta di tipo puberale delle gonadotropine al test di stimolo (rapporto LH/FSH > 1), e per le femmine le modificazioni dell'utero e delle ovaie dimostrabili ecograficamente. Il grado di avanzamento della maturazione ossea è meno specifico, in quanto presente anche in altre forme di precocità sessuale. Nei bambini con PPV è stata anche osservata una alterazione dell'armonia corporea dovuta ad una crescita maggiore del tronco rispetto agli arti, specie nei maschi, a causa della saldatura precoce delle epifisi delle ossa lunghe (48) (Tab 3).

TAB. 3 DIAGNOSI CLINICA E DI LABORATORIO

- Comparsa dei segni puberali prima degli 8 anni nella femmina e 9 nei maschi
- Telarca 2° stadio nella femmina
- Volume testicolare > 4 ml nei maschi
- Accelerazione della velocità di crescita
- Età ossea avanzata di oltre 1 anno rispetto all'età cronologica
- Incremento puberale delle gonadotropine, specie LH, dopo stimolo con LHRH, meno significativi dosaggio basale sia di FSH, LH, E₂, T
- Diametro longitudinale uterino > 3.5 cm
- Volume ovarico > 1.5 cm³

1.4 ASPETTI PSICOLOGICI E INTELLIGENZA

Bisogna considerare le implicazioni psicologiche che una condizione di pubertà precoce pone; é facile comprendere il disagio e le turbe affettive e della socializzazione dovute al precoce sviluppo somatico e sessuale di questi bambini, non presente nei loro coetanei. Naturalmente l'entità di queste turbe dipende dal contesto sociale e familiare in cui il bambino o la bambina viene a trovarsi. L'intelligenza è normale, anzi è stato osservato che il quoziente intellettivo (QI) è maggiore rispetto a quello dei bambini normali di pari età, specialmente per il linguaggio verbale e per il comportamento, e ciò ha fatto ipotizzare che gli ormoni sessuali in età precoce (tra i 3 e i 6 anni) potrebbero influenzare lo sviluppo delle facoltà cognitive superiori ed accentuare la lateralizzazione a sinistra, specialmente nelle femmine (49, 50, 51).

1.5 PUBERTÀ' PRECOCE NEI BAMBINI ADOTTATI

Le bambine adottate provenienti da paesi in via di sviluppo sembrano mostrare, più spesso delle coetanee, segni di precoce sviluppo sessuale dovuto ad una pubertà precoce centrale (52-56).

In Belgio è stato evidenziato che il 20-25% delle bambine con PPV sono adottate da paesi in via di sviluppo (57,58).

I tempi di comparsa della pubertà variano da un paese all'altro: nei continenti Asiatici e Africani il menarca compare più tardivamente rispetto al mondo occidentale. (Nella tabella n. 11 sono riportate le età di menarca nei vari continenti Extra europei e le loro condizioni economiche). Esiste una proporzionalità inversa tra la migliore situazione economica, un'adeguata alimentazione, la facilità delle cure e l'età di comparsa del menarca (59).

Le prime osservazioni sull'argomento sono state fatte in Svezia circa 15 anni fa su bambine adottate dall'India (53). In questo studio epidemiologico si osservava che le bambine indiane adottate in Svezia avevano un'età media del menarca inferiore sia a quella delle bambine svedesi sia a quella delle bambine indiane di classe sociale elevata (cioè senza problemi di alimentazione e senza disagio sociale) cresciute in patria. La minore età del menarca (11 anni rispetto ai 13 anni delle svedesi e 11.8-12 dell' indiane benestanti) era dovuta a una tendenza generale di tutte queste ragazze a sviluppare in anticipo rispetto alla media svedese con un'elevata percentuale di bambine con menarca prima dei 10 anni e quindi con PP. Esperienze italiane (54) mostrano che il problema coinvolge anche bambine provenienti

**TAB 11 CLASSIFICAZIONE DELL'ETA' MEDIA DI MENARCA
DI DIFFERENTI PAESI**

Classificazione del Reddito	Paese	Età di Menarca (Anni)
Basso reddito	India (Area urbanizzata)	13,4
Basso reddito	India (rurale)	14,0
Basso reddito	India (SES elevatissimo)	13,2
Basso reddito	India (SES bassissimo)	14,6
Basso reddito	Sri Lanka (Donne Tamil)	13,8
Basso reddito	Thailandia (Area urbanizzata)	12,4
Basso reddito	Bangladesh	13,0
Basso reddito	Nepal (Alta quota)	16,2
Basso reddito	Senegal	16,1
Basso reddito	Ghana	14,0
Basso reddito	Cina	13,7
Basso reddito	Nigeria (Area urbanizzata)	13,5
Basso reddito	Nigeria (Eterogenea)	14,0
Medio reddito (La minor parte)	Bolivia (Tutti i SES)	12,7
Medio reddito (La maggior parte)	Argentina (Area urbanizzata)	12,5
Alto reddito	Hong Kong	12,4
Alto reddito	Olanda (1980)	13,3
Alto reddito	Olanda (1997)	13,1

SES= SocioEconomic Status

(Da "Early puberty in adopted children" Mul D. et al. [13])

da altri continenti. Rare sono le segnalazioni di maschi con lo stesso problema. La pubertà precoce può comparire sia in bambine adottate precocemente (entro 2-3 anni) sia in quelle adottate successivamente fra i 4-7 anni, ma le modalità di comparsa e le caratteristiche cliniche e auxologiche sono differenti. In particolare, vi è una progressione della pubertà più veloce nelle seconde che possono presentare il menarca anche dopo pochi mesi dall'adozione. La maggior parte delle bambine arriva in Italia con evidenti segni di malnutrizione cronica, con deficit ponderale medio del 10% e un ritardo staturale, rispetto agli standard occidentali di 1 DS. Ambedue i gruppi di bambine mostrano una "ripresa accrescitiva" (catch-up growth) importante e marcata che in pochi mesi le porta a valori di peso e statura normali per l'età e per i nostri standard.

Numerose sono le ipotesi sulle cause di questa precocità puberale, innanzitutto le ipotesi razziale. Negli ultimi anni in base a recenti acquisizioni scientifiche (60) si ipotizza che in seguito a cambiamenti ambientali, in particolare da una situazione a condizioni socioeconomiche basse ad una più alta come nel mondo occidentale, si verifica un cambiamento nell'equilibrio tra neurotrasmettitori stimolatori ed inibitori o sui processi di sviluppo del controllo neuronale. In molti bambini adottati questa modificazione di condizione si verifica nel periodo neonatale, infatti si è osservato che proprio in questa fase il sistema secretore del GnRH è già attivo mentre predomineranno i fattori inibitori successivamente.

Un ruolo importante è svolto senza dubbio dalla dieta, direttamente o indirettamente tramite le variazioni metaboliche corporee che essa implica. Queste bambine solitamente passano da una dieta povera, spesso vegetariana, carente di proteine e calorie, a una più ricca, bilanciata e ipercalorica con

conseguente stimolo alla produzione di sostanze endogene e modificazioni corporee importanti per l'avvio dello sviluppo puberale (59) ed inoltre la presenza di fitoestrogeni nel cibo. Il conseguente aumento ponderale sottolinea il possibile ruolo del tessuto adiposo. Gli adipociti sono in grado di aromatizzare gli androgeni surrenalici in estrogeni, determinando una precoce sensibilizzazione (priming) dei centri ipotalamici. Le migliori condizioni alimentari aumentano, inoltre, la produzione endogena di IGF-1 che favorisce la maturazione puberale stimolando la crescita ovarica, la maturazione follicolare e la produzione di estrogeni e inoltre, la secrezione di GnRH a livello ipotalamico. La rialimentazione stimola anche la produzione di Leptina da parte degli adipociti, importante regolatore di processi puberali e inibitore del peptide Y che regola il senso dell'appetito. Inoltre si può considerare il fatto che molti bambini adottati sono nati da madri che vivono in condizioni sociali non agiate e quindi con il rischio di circostanze sfavorevoli in utero e così i bambini adottati possono essere comparati con quelli con ritardo di crescita intrauterina, il quale è noto che influenza gli assi endocrini e in particolare l'asse ipotalamo-ipofisi e altera il sistema di controllo di rilascio dell' LH. (61,62). Questo implica che il sistema di controllo del "generatore pulsatile" dell' LH è influenzata da fattori prenatali.

In Belgio si è osservato che il 28% dei bambini con pubertà precoce sono bambini immigrati provenienti da diverse etnie e nazioni, trasferiti nel nuovo paese con la propria famiglia o tramite le adozioni internazionali. In tutti questi bambini il rischio di sviluppare una pubertà precoce è molto più alto rispetto a coetanei nati in Belgio (63)

Pertanto si è ipotizzato che il trasferimento porta ad un cambiamento nell'esposizione dei fattori chimici "endocrine disruption" rispetto al loro paese di origine .

Le "Endocrine disruption" sono sostanze chimiche presenti nell'ambiente introdotte dall'uomo che possono influenzare il sistema endocrino (64). Questi possono giocare un ruolo nei disordini della differenziazione sessuale e nell'alterazione degli organi e della funzione riproduttiva. E' stato trovato nel sangue dei bambini con pubertà precoce la presenza di 1,1dicloro-2,2 bis (4 clorofenolo)etilene(p,p-DDE) un persistente derivato del pesticida DDT non trovato invece nei bambini belga. Il DDT è vietato nei paesi occidentali e negli Stati Uniti mentre è largamente usato nei paesi in via di sviluppo. Questo agisce come agonista degli estrogeni o come antagonista degli androgeni. Il meccanismo patogenetico con cui agisce è illustrato nella Fig. 5, il DDT è simile agli estrogeni e promuove (65-66) la maturazione dell'ipotalamo, ma esercita un effetto inibitorio sull'ipofisi prevenendo lo sviluppo puberale. La migrazione riduce l'esposizione a questi "endocrine disruption " che induce una disinibizione dell'ipofisi e ad una precoce maturazione ipotalamica con sviluppo della pubertà precoce. In sperimentazioni sui ratti (67) si è visto che l'effetto stimolatorio a livello ipotalamico è molto più efficace nei ratti immaturi rispetto agli adulti, provocando una maturazione ipotalamica e una pubertà precoce. Gli effetti del DDT sono simili agli effetti degli estrogeni sui ratti immaturi (68). Questo ha fatto ipotizzare che gli endocrine disruption agiscono nell'uomo già in epoca prenatale.

In Olanda e in Svezia, si sono studiati gli effetti del trattamento a breve termine (2-3 anni) della pubertà precoce nei bambini adottati. Le ragazze sono state

trattate o con soli analoghi GnRH o in combinazione con GH biosintetico (69,70).

Da questi studi preliminari si evidenzia che l'aggiunta del GH al trattamento con GnRH porta dei vantaggi dal punto di vista auxologico.

Comunque non si possono trarre conclusioni definitive, perché ancora non si hanno le stature adulte, e quindi non ci si può esprimere sul rapporto costo beneficio.

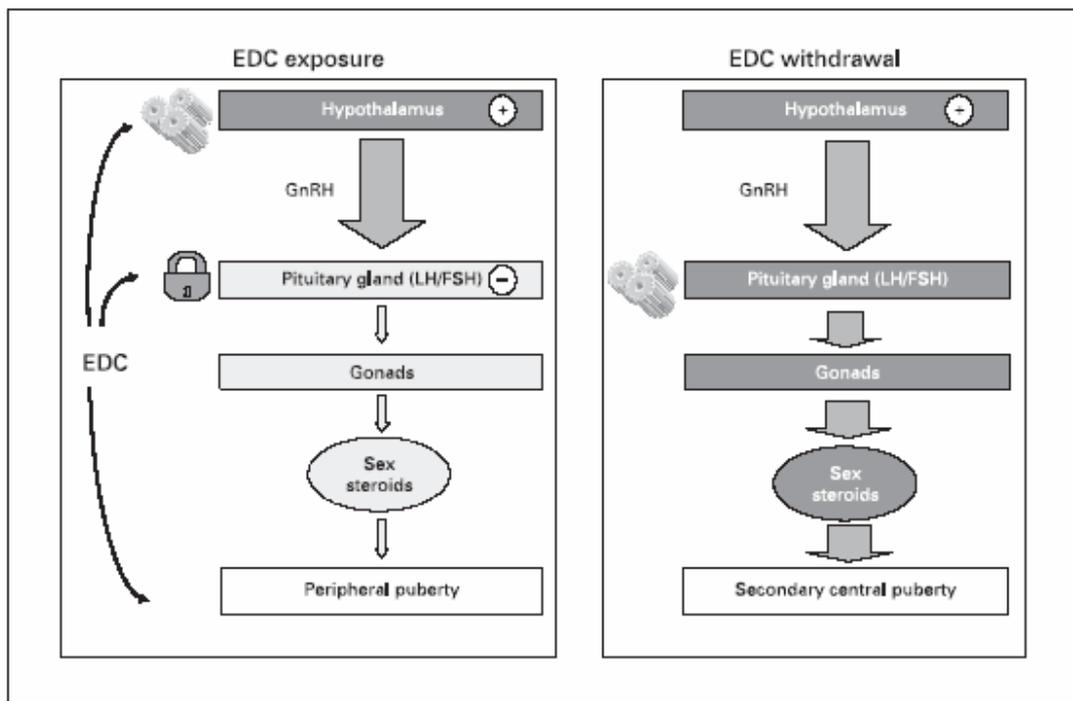


Fig.5 Meccanismo d'azione dell'endocrine disrupting (68)

1.6 LA TERAPIA

Nella pubertà precoce vera la terapia è essenzialmente medica (Tab.4), in quanto la rimozione chirurgica delle cause organiche, quando queste sono affrontabili chirurgicamente, non realizza sempre una regressione completa dei caratteri sessuali secondari. I principali obiettivi del trattamento della pubertà precoce vera sono:

1) indurre la regressione o quanto meno l'arresto dello sviluppo dei caratteri sessuali secondari, e la scomparsa delle mestruazioni quando presenti; 2) diminuire la velocità di crescita ai normali livelli prepuberali, e rallentare la maturazione ossea allo scopo di ritardare la precoce chiusura delle cartilagini di coniugazione responsabile della bassa statura in età adulta; 3) prevenire eventuali problemi psicologici derivanti dallo sviluppo puberale precoce in bambine/i con uno sviluppo emozionale e cognitivo che è invece appropriato per l'età cronologica (Tab.5).

Fino ad alcuni anni fa la terapia della PPV si è basata sull'impiego di alcuni derivati sintetici del progesterone, quali medrossiprogesterone acetato (71) e il ciproterone acetato (72); quest'ultimo è stato largamente utilizzato in Europa, dove è a tutt'oggi aperto il dibattito sui suoi risultati a lungo termine, se paragonati con quelli ottenuti con farmaci di più recente introduzione quali gli analoghi del GnRH (16,32,73,74), ai quali peraltro esso viene da alcuni Autori associato (75).

TAB. 4 TERAPIA DELLA PUBERTA' PRECOCE VERA

TERAPIA CHIRURGICA (quando è possibile):

- mira a rimuovere la causa organica, ma spesso non riesce a bloccare il processo puberale.

TERAPIA MEDICA ha lo scopo di:

- far regredire lo sviluppo sessuale anacronistico e quindi disturbante per molti aspetti
- far decelerare la maturazione scheletrica e la velocità di accrescimento staturale (in genere non parallele a sfavore dell'incremento staturale) per migliorare la statura definitiva.

TAB. 5 IMPLICAZIONI RELATIVE

- Accelerazione dell'accrescimento staturale e ancor più della maturazione ossea con perdita sulla statura definitiva al target genetico.
- Sviluppo fisico e sessuale non consoni all'età mentale dei soggetti affetti
- Conseguenti disturbi del comportamento

I progestinici hanno mostrato una certa efficacia nel bloccare lo sviluppo puberale, ed in particolare si è visto che il ciproterone acetato ha una azione essenzialmente periferica, di blocco a livello recettoriale dell'azione degli steroidi, di inibizione del rilascio delle gonadotropine e della sintesi degli steroidi gonadici. Tuttavia essi hanno mostrato uno scarso effetto sulla velocità di crescita e di maturazione scheletrica (49). Inoltre queste sostanze provocano effetti collaterali non trascurabili, tra cui la soppressione dell'asse ipofisi-surrene (76,77). Attualmente, il trattamento di scelta della PPV consiste nella somministrazione di analoghi del GnRH (GnRHa) (Tab. 6).

TAB.6 FARMACI IMPIEGATI FINO AD OGGI PER LA TERAPIA DELLA PUBERTA' PRECOCE VERA

- Clormadinone acetato (Teller et al, 1969)
- Medrossiprogesterone acetato (Kupper e Epstein, 1962)
- Ciproterone acetato (Helge et al, 1969)
- Danazolo (Lee et al, 1975)
- Analoghi del GnRH (Crowley et al, 1980)

Il GnRH è un decapeptide secreto dal nucleo arcuato dell'ipotalamo in maniera pulsatile sin dalla pre-pubertà, ed i cui picchi assumono maggiore ampiezza durante la pubertà; grazie agli studi di Schally, che nel 1971 isolò dall'ipotalamo di maiale e studiò questo ormone (scoperta che gli è valsa il Premio Nobel per la

Medicina nel 1978), e agli studi di Belchetz nel 1978, è stato dimostrato che questa sostanza può, a seconda delle modalità di somministrazione, tanto indurre la pubertà in un soggetto prepubere, quanto rendere ipogonadico un soggetto adulto.

I primi casi di trattamento della pubertà precoce con gli analoghi del GnRH sono riportati nel 1981 (78). Gli analoghi del GnRH sono sostanze ad azione agonista, ottenute per sintesi, che si differenziano dall'LHRH naturale per la sostituzione degli aminoacidi localizzati nei punti chiave 6-10. Si ottengono così degli analoghi più potenti e ad azione più protratta.

La maggior potenza è conferita dalla sostituzione della glicina in posizione 6 con qualunque aminoacido destrogiro (D-triptofano, D-alanina, D-alanina modificata, D-leucina, D-serina modificata), mentre la protezione dalla degradazione enzimatica viene conferita dalla sostituzione della glicina in posizione 10 con un gruppo etilamidico.

La loro somministrazione continua causa una saturazione recettoriale e quindi una desensibilizzazione rapida delle cellule gonadotrope ipofisarie, che si verifica dopo una fase di iperstimolazione transitoria, meccanismo noto come "down regulation" (78,79); questa desensibilizzazione ottenuta attraverso una riduzione dei recettori per l'LHRH è mantenuta dagli analoghi, e l'ipofisi costituisce il sito primario del blocco.

Anche se negli animali è stata dimostrata un'azione diretta degli analoghi sulla steroidogenesi gonadica, essa non è stata documentata nell'uomo, ed il calo di androgeni ed estrogeni si ritiene secondario alla mancanza di una stimolazione pulsatile delle gonadi (80).

Il sito di azione degli analoghi del GnRH è principalmente ipofisario. Quindi solo nella pubertà precoce di origine centrale, sia essa idiopatica od organica, è giustificabile il trattamento con gli analoghi del GnRH. Viceversa nella pubertà precoce periferica, o pseudopubertà precoce, senza iperattività gonadotropinica, questo trattamento non è indicato.

Gli analoghi del GnRH sono polipeptidi, pertanto se vengono somministrati per via orale essi sono inattivati dagli enzimi digestivi.

Alcuni vengono somministrati per via sottocutanea o per via nasale (81), ottenendo concentrazioni ematiche elevate ma transitorie, quindi sono necessarie una o più somministrazioni giornaliere per mantenere costanti i tassi ematici del farmaco.

Sono stati messi a punto preparati galenici ad emivita prolungata che assicurano una liberazione costante dell'analogo per 28 giorni, come la Triptorelina (Decapeptyl) (82,83) o il Leuprolide Acetato (Lupron o Enantone) (85,86), che sono forme a lento rilascio, somministrabili per via intramuscolare, nelle quali il peptide è legato ad un polimero biocompatibile ed interamente biodegradabile (Poly-DL- lactidecoglycolide).

I protocolli di terapia riportati in letteratura, e supportati da casistiche sufficientemente ampie, riportano il D-Trp⁶-LHRH (Triptorelina), il D-Leu⁶-Des-Gli-NH₂¹⁰-Proetilamide-LHRH (Leuprolide Acetato), il D-Ser(TBU)⁶-LHRH-1-9 EA¹⁰ (Buserelina), il [6-(3-(2 naftil)-D-Alanina)] LHRH (Nafarelin Acetato), il D-(trp)⁶- Pro⁹-Net-LHRH (Desorelina) e il D-His⁶-(ImbzI)Pro⁹-Net-LHRH (Istreline).

La triptorelina è un analogo sintetizzato in fase solida; in essa la glicina in posizione 6 è sostituita dal D-Triptofano. La preparazione a rilascio prolungato

consiste in microcapsule preparate con un procedimento di separazione di fase: il prodotto risultante è una polvere di particelle sferiche costituite da LHRH analogo distribuito in una matrice di polimero biodegradabile e biocompatibile. I livelli di agonista nel sangue vengono così mantenuti costanti per più di quattro settimane dopo l'iniezione intramuscolare. Il dosaggio è di 60-120 mcg/Kg di peso corporeo. Il farmaco viene somministrato al primo e al ventunesimo giorno del primo mese di terapia, e successivamente ogni ventuno giorni (82,83). Attualmente esiste una formulazione triptorelina 11,25 mg trimestrale, ma non è ancora approvato l'utilizzo nei bambini, per minimizzare l'effetto della scarsa compliance (84).

Il leuprolide acetato può essere somministrato sia in forma a lento rilascio per via intramuscolare, sia per via sottocutanea; la preparazione depot viene somministrata alla dose di 140-300 mcg/Kg una volta al mese, mentre il dosaggio per via sottocutanea è di 20-50 mcg/Kg/die (85,86).

La buserelina si può somministrare per via sottocutanea alla dose di induzione di 20-40 mcg/Kg/die, per poi passare, allorchè le gonadotropine risultano adeguatamente sopresse, alla via intranasale alla dose di 10 mcg/Kg/die nei maschi e 40 mcg/Kg/die nelle femmine, oppure nella quantità di 1200-1800 mcg/die divisi in tre somministrazioni (ogni puff = 100 mcg, quindi due puff per narice tre volte al giorno) (87).

Se non si ottiene la soppressione della risposta, significa che il paziente non assorbe il farmaco per via endonasale (ad esempio a causa di una rinite allergica) oppure che esiste una scarsa *compliance* del soggetto alla terapia.

Il nafarelin acetato viene somministrato con le stesse modalità della buserelina, per via endonasale alla dose di 800-1600 mcg/die, dopo una prima fase parenterale di 4 mcg/Kg/die (88).

La deslorelina viene somministrata per via sottocutanea una volta al giorno ad un dosaggio di 4-8 mcg/Kg (89).

L'istrelina viene utilizzata alla dose di 8-10 mcg/Kg/die per via sottocutanea. Negli ultimi anni sono stati effettuati studi su impianti sottocute per il rilascio lento e continuo di istrelina alla dose di 65 µg/die per la durata di un anno, che hanno dato ottimi risultati sulla soppressione dell'asse ipofisi-gonadi e sulla compliance.(90-91) (Tab.7). In tutti i casi riportati in letteratura, qualunque sia il composto impiegato (soprattutto per le forme ad azione prolungata), gli analoghi del GnRH si sono rivelati efficaci nell'arrestare la progressione puberale, facendo osservare una regressione dei segni clinici di pubertà entro un periodo di sei mesi (2,22).

Queste sostanze, dopo una prima breve fase di stimolazione (con riscontri clinici variabili, che spesso molti Autori non considerano rilevanti), determinano nelle bambine la regressione del telarca, la scomparsa delle mestruazioni entro un mese, e la riduzione delle dimensioni ecografiche dell'utero e delle ovaie, e nei maschi una riduzione del volume testicolare e della frequenza delle erezioni e delle eiaculazioni, oltre ad un ridimensionamento del comportamento aggressivo (92,93).

Inoltre, dopo alcune settimane di adeguato trattamento, la risposta dell'LH alla stimolazione con LHRH torna a valori prepuberi, e i livelli di steroidi sessuali vengono soppressi dopo solo 4-12 settimane.

In entrambi i sessi l'adrenarca, inteso come comparsa di peluria pubica ed ascellare, non viene influenzato dal trattamento (94), e in particolare la secrezione degli androgeni surrenalici non sembra essere influenzata dagli analoghi; ciò potrebbe, a lungo termine, ridimensionare l'effetto sulla maturazione ossea.

È proprio sulla base di queste osservazioni che alcuni Autori (75) hanno associato agli analoghi del GnRH il ciproterone acetato (CA), sia nella prima fase della terapia, per evitare gli effetti della iniziale stimolazione, sia successivamente nei casi in cui l'adrenarca compare e progredisce.

Altri Autori, invece, non concordano su questa associazione sia perché minimizzano la rilevanza dell'effetto stimolatorio iniziale, sia perché ritengono che tale associazione possa alterare qualsiasi calcolo sull'accrescimento staturale e sulla maturazione ossea (81). Gli analoghi del GnRH, oltre ad arrestare lo sviluppo puberale, rallentano la maturazione ossea e la velocità di crescita, già a sei mesi dall'inizio della terapia, con miglioramento della statura finale prevista (95-99).

Preparato	Potenza	Dosi riportate	Vie somministrazione
LHRH nativo	1		
Deslorelin	150	4-8 µg/kg/die	Sottocute Intramuscolo
Nafarelin	150	4 µg/kg/die 800-1600 µg/die	Sottocute Intranasale
Histrelin	150	8-4 µg/kg/die 65 µg/die	sottocute impianto sottocutaneo
Tryptorelin	35	20-40 µg/kg/die 60-120 µg/kg/mese (forma depot) 11,25 mg ogni 3 mesi	Sottocute Intramuscolo
Buserelin	20	20-40 µg/kg/die 1200-1800 µg/kg/die	Sottocute Intranasale
Leuprolide	15	20-50 µg/kg/die 140-300 µg/kg/mese (forma depot)	Sottocute Intramuscolo

TAB. 7 AGONISTI LHRH: caratteristiche farmacologiche e modalità di terapia.

(Da Williams Textbook of Endocrinology, 2008)

La riduzione della velocità di crescita che si osserva durante la terapia con gli analoghi del GnRH nei bambini con PPV è attribuita in parte alla carenza dell'azione degli steroidi sessuali sul piatto di crescita (100) e in parte ad una ridotta secrezione di GH, secondaria alla carenza degli steroidi sessuali (33,39,101,102,103).

Complessi, e non completamente compresi, sono i meccanismi con i quali gli steroidi sessuali regolano la crescita lineare; probabilmente essi agiscono attraverso due vie: una tramite il GH, modulandone la secrezione, e una diretta sul piatto di crescita, stimolando la secrezione locale di IGF-I e incrementando la sensibilità dei recettori del GH (100).

Alcuni Autori sostengono che il decremento della secrezione spontanea di GH sia dovuto ad una diminuzione dell'ampiezza dei picchi secretori ma non della loro frequenza, che rimane invariata (104,105). Secondo altri Autori non si verifica una vera riduzione della secrezione dell'ormone della crescita, ma un aumento dell'indice di massa corporea (BMI), che viene calcolato con la formula $\text{peso}/\text{altezza}^2$ ed espresso in Kg/m^2 (106). Il BMI è usato come indice di obesità e sembra essere correlato negativamente con la secrezione del GH (104,107). Inoltre, mentre Sklar et al. hanno dimostrato un decremento dei livelli di IGF-I durante la terapia con tali farmaci (100), altri Autori non hanno osservato alcun cambiamento dopo soppressione gonadica (104,105,108).

Quindi la terapia con gli analoghi del GnRH nei bambini con pubertà precoce vera può avere vari effetti sull'asse GH-IGF-I e probabilmente vari meccanismi sono implicati nel decremento patologico della velocità di crescita che si verifica in alcuni soggetti dopo un periodo di terapia con GnRHa.

In alcuni pazienti, comunque, il rallentamento della velocità di crescita può essere così marcato da compromettere il miglioramento nell'altezza finale prevista, portando la previsione della statura definitiva a valori inferiori a quelli pre-terapia (99,109,110).

Proprio per cercare di bilanciare il rallentamento della velocità di crescita e, quindi, migliorare la prognosi staturale, è stata proposta l'associazione degli analoghi del GnRH con GH biosintetico (hGH) (99,97,110-117).

Anche se gli studi sull'effetto a lungo termine di questa terapia combinata non sono numerosi, nella maggior parte di essi vengono riportati buoni risultati sulla velocità di crescita e un miglioramento della statura finale prevista.

Il controllo dell'efficacia della terapia va condotto a tre diversi livelli (tab. 8):

1. segni clinici e morfologici: valutazione semestrale dell'altezza, dell'età ossea, previsione staturale in base all'età ossea, dei caratteri sessuali (telarca, pubarca), dei diametri ovarici e uterini, del volume testicolare, del comportamento del bambino nell'ambito familiare e scolastico;
2. segni biologici: misurazione semestrale della concentrazione plasmatica dell'E2 e del T e della risposta delle gonadotropine al test LHRH;
3. effetti secondari possibili: dolore e arrossamento nel punto di inoculazione del farmaco, cefalea, vampate di calore, turbe digestive, eruzioni, sanguinamenti vaginali.

La misurazione della risposta dell'ormone della crescita (GH) ai test di stimolo o la valutazione della sua secrezione notturna spontanea ed i dosaggi di SmC sono utili per valutare l'effetto degli agonisti del GnRH sulla funzione somatotropa in quei pazienti in cui durante la terapia con GnRH si osserva un marcato rallentamento della velocità di crescita.

Molti Autori concordano sull'accettabilità della terapia tanto da parte del bambino quanto dei suoi genitori. Infatti, le interruzioni sono rare. Ciò è vero a maggior ragione se si usano le forme a lento rilascio somministrabili con un'unica iniezione intramuscolare mensile, cosa che permette al bambino e alla sua famiglia di "dimenticare" la malattia nell'intervallo fra un'iniezione e l'altra. Alcuni Autori non hanno notato alcun effetto collaterale (83). Altri riportano vampate di calore, emicranie, dolori addominali, dolore o eritema nel punto di inoculazione e infine sanguinamenti vaginali dieci giorni dopo la prima o la seconda iniezione (2,82,85,96).

Questi effetti secondari raramente hanno costretto ad interrompere il trattamento. Non è stata osservata l'induzione di anticorpi contro il peptide somministrato, né sotto la forma solubile né sotto quella a liberazione prolungata (2).

Un problema ancora da approfondire è quello del comportamento della mineralizzazione ossea in questo periodo molto delicato per l'acquisizione del picco di massa ossea. In alcuni studi è stata dimostrata, infatti, una diminuzione della densità ossea durante il trattamento con analoghi del GnRH in bambini con pubertà precoce vera (118,119,120).

**TAB.8 MONITORAGGIO TERAPIA CON GLI ANALOGHI DEL
GnRH****Da eseguire ogni 6 mesi – 1 anno****Valutazione clinica**

- a. generale
- b. puberale:
 - telarca, pubarca, dimensioni testicoli e pene
- c. auxologica:
 - peso, statura, velocità di crescita
 - previsione statura definitiva in base all'età ossea
- d. diagnostica per immagini:
 - Rx mano e polso sinistro per età ossea
 - Ecografia pelvica
- e. endocrinologica:
 - FSH ed LH basali e dopo LHRH (0'-15'-30'-60'-90')
 - Testosterone o 17-beta estradiolo, FT3, FT4, TSH
 - PRL, 17 α OH-Progesterone, DEAS, cortisolemia,
 - Delta-4-Androstenedione

Alcuni autori hanno valutato la densità minerale ossea e i marker del metabolismo osseo in ragazze che hanno raggiunto l'altezza finale, prima, durante e dopo terapia con GnRHa (121, 122, 123, 124).

La densità minerale ossea (BMD) è stata determinata generalmente a livello lombare (L2-L4) mediante DEXA (Lunar Expert XL e Hologic) e i valori sono stati confrontati con quelli misurati in soggetti con normale pubertà. Durante la terapia con GnRHa la BMD si riduceva significativamente. A statura adulta i valori della BMD e la valutazione volumetrica della densità ossea a livello lombare rientravano nei valori normali per sesso ed età e non erano significativamente differenti da quelli del gruppo di controllo. Sono stati dosati anche alcuni marker del metabolismo osseo quali CA, P, e 1,25-diidrossivitamina D, ALP, propeptide del procollagene tipo I C-terminale (PICP), telopeptide carbossi terminale del collagene di tipo I (ICTP) e idrossiprolina urinaria che riflettevano lo stesso andamento.

In conclusione il picco di massa ossea non sembra essere influenzato dalla terapia con gli analoghi del GnRH.

Il momento in cui sospendere il trattamento costituisce una decisione difficile da prendere, poiché entrano in conflitto da una parte l'obiettivo di bloccare la secrezione di gonadotropine il più a lungo possibile, dall'altra il desiderio del piccolo paziente di vedere sviluppare i suoi caratteri sessuali. Inoltre questa decisione deve soddisfare più criteri: 1) l'età cronologica: essa indica il momento in cui il paziente ha raggiunto un'età appropriata per la ripresa della pubertà; 2) l'età ossea: essa rispecchia il potenziale di crescita residuo alla sospensione della terapia; 3) la statura raggiunta se accettabile sia dal soggetto che dalla

famiglia e compatibile con le aspettative del medico; 4) qualità della vita condizionata essenzialmente dall'eziologia.

E' evidente quindi come non si possa mai generalizzare, ma come anzi ogni caso sia a sé stante, dovendo in esso essere considerati l'andamento clinico e psicologico, l'età di insorgenza dei sintomi e quella alla quale è stata avviata la terapia, tutti fattori assolutamente non trascurabili. Comunque, uno dei criteri più importanti per stabilire la sospensione della terapia con gli analoghi del GnRH è costituito dall'età ossea.

Attualmente, in letteratura, si consiglia di interrompere il trattamento ad un'età ossea di dodici-tredici anni nelle femmine e di quattordici-quindici anni nei maschi (16).

L'inibizione indotta dagli analoghi è totalmente reversibile, qualunque sia la durata del trattamento (2,85,97).

Le funzioni secretorie gonadotrope e gonadiche si ristabiliscono in meno di tre mesi (96,99). I caratteri sessuali si sviluppano di nuovo e la maggior parte delle bambine presenta il menarca entro l'anno che segue l'arresto del trattamento; i cicli mestruali si presentano regolarmente (125,126).

Ancora esiguo è il numero delle pubblicazioni riguardanti il recupero della funzionalità gonadica in bambine sottoposte per lungo tempo a terapia con GnRH α . Diversi studi (122,125,127,128) hanno osservato la comparsa del ciclo mestruale in particolare Jay et al. (125) hanno esaminato i cicli mestruali di 46 pazienti trattate per un lungo periodo con gli analoghi. I risultati mostrano che le pazienti hanno presentato cicli mestruali regolari, con una percentuale di cicli ovulatori paragonabile a quella di un gruppo di controllo di ragazze della stessa età. Inoltre 5 delle ragazze arruolate in tale studio avevano avuto una gravidanza

poco dopo la sospensione della terapia con analoghi. Tale risultato sottolinea la necessità di valutare l'impatto psico-sociale della maturazione sessuale precoce e del suo trattamento. Ad ogni modo, sarebbe necessario un più lungo periodo di osservazione per poter sostenere la completa reversibilità degli effetti prodotti dal farmaco anche nei confronti della fertilità.

Capitolo 2

PARTE SPERIMENTALE

2.1 SCOPO DELLA RICERCA

Gli analoghi del GnRH (GnRHa) sono stati utilizzati nel trattamento della Pubertà Precoce Centrale (PCC) dal 1980 (128) .

Esiguo è il numero degli studi che riportano osservazione a lungo termine dopo la sospensione di tale terapia sia per quanto riguarda la funzione gonadica che il raggiungimento della statura adulta nei maschi.(136-144) (Tab.1)

Abbiamo osservato un gruppo di 18 ragazzi affetti da pubertà precoce centrale (PPC) idiopatica trattati con analoghi del GnRH durante e vari anni dopo la sospensione del trattamento, allo scopo di valutare l'impatto della terapia sulla statura adulta, sull'indice di massa corporea (BMI), sulla densità minerale ossea (BMD) e sulla funzione riproduttiva.

2.2 PAZIENTI E METODI

Riportiamo i dati di 18 ragazzi selezionati tutti per eziologia di PPC idiopatica che sono stati trattati con GnRHa (triptorelina depot 110-120 µg/kg ogni 21 giorni i.m.) per un periodo di 4.5 ± 0.1 anni (2-7 anni) e osservati per 9.7 ± 4.14 anni dopo la sospensione del trattamento.

La diagnosi di PPV è stata effettuata secondo i criteri classici : 1) comparsa dei caratteri sessuali secondari prima dei 9 anni con decorso progressivo volume testicolare (>4 ml) (2) risposta di tipo puberale al test di stimolo con LHRH (100 µg e.v), 3) incremento della velocità di crescita e avanzamento della

maturazione ossea di almeno un' anno rispetto all'età cronologica. L'assenza di lesioni a livello della regione ipotalamo ipofisaria evidenziate con la RMN ha permesso di classificare come "idiopatica" la Pubertà Precoce di questi ragazzi. Nel corso degli anni, abbiamo ripetuto la RMN per confermare l'assenza di variazioni.

Alla prima osservazione abbiamo valutato l'anamnesi personale, l'inizio e la velocità di progressione dello sviluppo puberale e i conseguenti problemi psicologici.

Alla prima osservazione l'età cronologica (EC) era di 8.8 ± 0.66 anni, l'età ossea (EO) era di 11.78 ± 1.3 anni (range 2-11). Sebbene l'EC alla prima valutazione era generalmente superiore all'età di comparsa dei primi segni puberali, e poiché questa era riferita dai parenti con una documentazione non sufficientemente attendibile, abbiamo deciso di non valutare l'EC di inizio dei caratteri sessuali per la valutazione statistica ma l'età cronologica alla prima osservazione.

La valutazione iniziale includeva la misurazione della statura, dello stadio puberale, EO, i livelli plasmatici di testosterone, la risposta dell'LH e FSH dopo test di stimolo con GnRH. Tutti i pazienti sono stati trattati con triptorelina depot (D-TRP6-LHRH) alla dose di 100-120 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ogni 21-25 giorni per via i.m.

L'EC ad inizio terapia era 9.8 ± 0.85 aa e l'EO era 12.25 ± 0.86 aa.

Tutti i pazienti trattati sono stati regolarmente seguiti sia durante la terapia sia dopo la sua sospensione. Con cadenza semestrale, abbiamo valutato statura, peso, età ossea, velocità di crescita, statura finale prevista e caratteristiche sessuali secondarie. Abbiamo controllato la soppressione gonadotropa ipofisaria con il test di stimolo LHRH.

La dose del GnRHa è stata aggiustata in base al cambiamento del peso durante il trattamento in modo da tenere completamente soppresso l'asse ipotalamo-ipofisi gonadi.

I ragazzi hanno sospeso il trattamento ad un EC di 14.3 ± 1.1 ed EO di 13.9 ± 0.8 anni. Durante il periodo di osservazione successivo alla sospensione della terapia tutti i ragazzi hanno raggiunto la statura adulta.

E' stata considerata statura adulta quando nell'anno precedente la velocità di crescita era inferiore ad un cm e l'età ossea era superiore ai 17 anni.

L'indice di Massa corporea (BMI) di ogni soggetto è stato calcolato prima, durante e dopo il trattamento (anche dopo più di 5 anni).

BMD è stato valutato alla sospensione della terapia e annualmente successivamente.

Per quanto riguarda la funzione riproduttiva, durante il trattamento, sono stati valutati semestralmente i livelli di FSH LH, e il testicolare. Dopo l'interruzione del trattamento, abbiamo documentato l'incremento del volume testicolare la comparsa dell'eiaculazione e alla maggiore età eseguito lo spermogramma ed ecografia testicolare.

METODI

Ad ogni valutazione la statura (media di 3 misurazioni eseguite dallo stesso esaminatore) è stata misurata mediante lo stadiometro di Harpenden. Gli stadi puberali sono stati valutati mediante gli standard di Marshall e Tanner (129). L'età ossea è stata valutata secondo l'atlante di Greulich e Pyle (130) dagli stessi due esaminatori.

La statura adulta prevista è stata calcolata mediante le tavole di Bayley e Pinneau (131) due volte per ogni paziente, come segue: le tabelle per

accelerated boy , quando l'età ossea è avanzata di più di un anno rispetto all'età cronologica (PAH-BP) e la tabella per average quando l'età ossea è entro un anno rispetto all'età cronologica (PAH-BPav), come suggerito da Kauli e al. (132).

La statura bersaglio (SB) è stata calcolata come la media delle stature dei genitori aggiustate per il sesso (piu' 6.5) (133).

L'indice di massa corporea (*Body Mass Index*, BMI) è stato calcolato secondo la formula: peso/statura², dove il peso e la statura sono espressi rispettivamente in Kg ed in metri. Ed è stato espresso SDS per età cronologica, in accordo con Cacciari e altri (134).

La densitometria ossea (BMD) è stata eseguita con l'apparecchio HOLOGIC QDR 4500 W che si basa sul principio di assorbimento fotonico a raggi X (DEXA) in particolare impiega la tecnica fan beam e il picco massimo di energia utilizzato è 140 kilovolt.

Le vertebre esaminate sono L2-L4. Punto in cui è possibile esaminare integralmente l'osso sia nella sua parte corticale che trabecolare. L'esame è effettuato su un paziente in decubito supino, le gambe sollevate e flesse a 45°, al fine di diminuire la lordosi lombare fisiologica.

L'immobilizzazione è necessaria durante tutta la durata dell'esame.

Gli oggetti metallici devono essere tolti al fine di non interferire. L'unità di misura della densitometria ossea è la BMD (bone mineral density, espressa in g/ cm²) che è data dal rapporto tra il contenuto minerale osseo BMC (bone mineral content, in grammi) e la superficie ossea analizzata (area in cm²).

I dati ottenuti con la DEXA sono stati utilizzati per calcolare BMD corretto per il volume osseo BMDv espresso in g/cm³, considerando il corpo vertebrale come

un cilindro ellisoide e dividendo il contenuto minerale ottenuto dalla scansione laterale (in gr) con il volume del corpo vertebrale (in cm cubi) calcolato ($\pi \times \text{larghezza}/2 \times \text{profondità}/2 \times \text{altezza}$) per ridurre il confondente effetto delle dimensioni dell'osso (135).

Alla maggiore età è stato effettuato lo spermogramma. Lo spermogramma è l'analisi del liquido seminale finalizzata a valutare la qualità degli spermatozoi, attraverso la verifica della forma, del numero e della motilità. Tale esame rappresenta lo strumento principale per la valutazione della fertilità maschile. L'affidabilità dell'esame dipende da una sua corretta esecuzione, che comporta: 1) astinenza completa prima dell'esame fra i 3 e i 5 giorni (un periodo più breve diminuisce la concentrazione degli spermatozoi, un periodo più lungo ne diminuisce la motilità) 2) sospensione di terapie farmacologiche (ormoni, farmaci anti-infiammatori, antibiotici, steroidi) 3) raccolta del campione mediante masturbazione manuale, in buone condizioni di igiene e in contenitori a bocca larga; 4) raccolta del campione preferibilmente presso il laboratorio ove viene effettuata l'analisi; se ciò non è possibile il campione può essere raccolto a casa in un contenitore sterile per urine e portato al laboratorio entro un'ora in posizione verticale procurando di tenerlo al caldo, preferibilmente in una tasca vicino al corpo. I valori normali di riferimento sono stabiliti secondo i criteri dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO 1992).

STATISTICA

Tutti i risultati sono stati espressi come media \pm deviazione standard (DS).

Per l'analisi dei dati, sono stati utilizzati i test *t* di Student per dati appaiati e non appaiati.

Per valutare l'associazione tra alcune variabili, è stato calcolato il coefficiente di correlazione lineare di Pearson. $P < 0,05$ è stato considerato significativo.

2.3 RISULTATI

I ragazzi hanno sospeso la terapia ad un'età ossea (media \pm DS) di 13.9 ± 0.8 e ad un'età cronologica di 14.2 ± 1.1 anni. e hanno raggiunto una statura adulta significativamente più alta ($p < 0.001$) della statura prevista preterapia calcolata con il metodo di Bayley and Pinneau come average (171.08 ± 8.98 vs 161.3 ± 5.6 cm) ma non significativa come accelerated (171 ± 0.8 vs 165.6 ± 7.3 cm). La statura bersaglio è stata superata ma non in maniera statisticamente significativa 168.5 ± 7.9 cm ($p = ns$). (Fig.1) (Tab .2)

Il guadagno in cm calcolato tra la statura adulta e la statura prevista preterapia valutata come accelerated era 2.2 ± 6.4 e 7.15 ± 6.3 cm se calcolata come average.

I picchi di FSH e LH erano soppressi durante la terapia con GnRHa, significativamente più bassi dei valori preterapia (picco LH 2.2 ± 3.6 vs 22.5 ± 17.2 UI/L, picco FSH 1.6 ± 1.0 vs 9.32 ± 9.03 UI/L, $p < 0.005$).

Le funzioni secretorie, gonadotrope e gonadiche si sono ristabilite in circa 3 mesi.

Dopo un anno dalla sospensione della terapia i livelli plasmatici delle gonadotropine tendevano a normalizzarsi, raggiungendo livelli puberali (LH 30.3 ± 16.0 e di FSH 11.5 ± 11.9 UI/L ($p < 0.005$)). I valori di testosterone erano di

12.7 nmol/L ad inizio terapia significativamente più bassi durante terapia 0.66 nmol/L con normalizzazione alla sospensione 28.5 nmol/L.

Il volume testicolare si è ridotto durante la terapia ma non in maniera statisticamente significativa con normalizzazione dopo la sospensione .

L'analisi del liquido seminale effettuato da 5 ragazzi su 18 finalizzata a valutare la qualità degli spermatozoi, attraverso la verifica della forma, del numero e della motilità ha mostrato valori normali in 4 uno non è riuscito a raccogliere un campione adeguato , gli altri si sono rifiutati di eseguire l'esame. (Tab 3).L'ecografia testicolare eseguita in 8 pazienti non ha evidenziato anomalie specifiche. (Tab.4)

Durante il trattamento con GnRHa non sono stati osservati effetti collaterali .Per quanto riguarda l'indice di massa corporea, valutata sia per età ossea sia per età cronologica, non è stato osservato un incremento significativo sia durante la terapia sia dopo la sospensione.

BMD è stato valutato in 7 pazienti su 18. Alla fine della terapia il BMD LS era 0.68 ± 0.01 g/cm² e la media del BMD volume era 0.125 ± 0.03 g/cm³, entrambi i valori erano significativamente più bassi ($P < 0,001$) rispetto ai controlli (0.819 ± 0.13 g/cm² e 0.129 ± 0.014 g/cm³, rispettivamente).

Con la completa ripresa dell'attività gonadica, il BMD LS è incrementato a $0,979 \pm 0.15$ g/cm², non significativamente differente dai controlli (1.041 ± 0.132 g/cm²); similmente il BMDvol è incrementato a 0.142 ± 0.018 g/cm³ non significativamente differente dal gruppo controllo (0.148 ± 0.02 g/cm³).

2.4 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I nostri 18 pazienti, nel complesso, hanno raggiunto o superato il target genetico, la statura adulta è incrementata in maniera statisticamente significativa rispetto alla statura prevista pre- terapia .

Un punto dibattuto è ancora il BMI durante e dopo trattamento, alcuni autori riportano un' incremento significativo durante tutta l'osservazione, altri autori invece una riduzione durante il primo periodo. Abbiamo osservato che nel complesso il BMI aumenta, sebbene rimane nello stesso percentile o SDS durante tutto il trattamento. Inoltre, i soggetti che erano sovrappeso o obesi alla fine del trattamento erano nella stessa posizione all'inizio del trattamento. In conclusione, la terapia con GnRHa non sembra incrementare in modo significativo il BMI.

Per quanto riguarda il contenuto minerale osseo, la soppressione gonadica dovuta alla terapia con analogo del GnRH puo' essere causa della riduzione del BMD durante il trattamento. Abbiamo osservato altresì alcuni anni dopo la sospensione della terapia e a statura adulta raggiunta che il contenuto minerale osseo si ristabilisce e il picco di massa osseo viene raggiunto.

Non abbiamo osservato effetti collaterali rilevanti (rash, anafilassi) (162).

La riattivazione dell'asse ipotalamo- ipofisi - gonadi è stata pronta e simile in tutti i pazienti, abbiamo osservato che l'inibizione indotta da tali farmaci è reversibile qualunque sia la durata del trattamento sia per quanto riguarda i livelli di testosterone e gonadotropine e conseguentemente il raggiungimento del completo sviluppo sessuale . Lo spermioγραμμα eseguito in 4 pazienti e' risultato nella norma, ma l'esiguo numero di pazienti non ci permette di trarre conclusioni definitive , ulteriori studi saranno necessari con dati reali sulla paternita'.

La velocità di progressione puberale, i problemi psicologici relativi alla sensibilità personale e l'età di inizio della pubertà ben al di sotto dei 8 anni di età, in cui la perdita di crescita lineare per anni è inevitabile, sono i fattori principali per indurre a trattare bambini affetti da PPC idiopatica con gli analoghi del GnRHa.

La nostra esperienza suggerisce di non stabilire regole fisse (EO, EC, rallentamento della velocità di crescita) per sospendere la terapia. Preferibile considerare ciascun caso individualmente con riguardo al raggiungimento di statura ritenuta soddisfacente, alla "compliance", alla qualità di vita, e l'esigenza di sperimentare lo sviluppo sessuale ad un'età comparabile con quello dei coetanei.

In conclusione il trattamento con gli analoghi del GnRHa nella pubertà precoce centrale idiopatica in soggetti di sesso maschile sembra non nocivo e reversibile sul sistema riproduttivo, sulla densità minerale ossea e sul body mass index.

TAB. 1 Statura adulta (media \pm DS) nei maschi con pubertà precoce centrale trattati con analogo del GnRH riportate in letteratura dal 1991 al 2012

Studi (anni)	N	Statura bersaglio (cm)	Statura prevista preterapia (cm)	Statura adulta (cm)	Trattamento
Oerter (1991)	5	180	161.3	168	Deslorelina
Paul (1995)	6		172.8	166.3	Naf/Des/Leu
Oostdijk (1996)	5	178	177.4 \pm 12.6	171.5 \pm 8.5	Triptorelina
Galluzzi (1998)	11	174.9 \pm 4.2	168.3 \pm 2.1	175.5 \pm 6.0	Triptorelina
Carel (1999)	8	171.8 \pm 3.7	174.2 \pm 6.6	172.8 \pm 6.4	Triptorelina
Bertelloni (2000)	9	174.0 \pm 5.2	161.8 \pm 8.1	172.2 \pm 6.9	Bus \rightarrow Triptorelina
Mul (2000)	9	179	171.5	170.8 \pm 7.2	Triptorelina
Rizzo (2000)	12	174.2 \pm 2.9	169.9 \pm 4.2	176.1 \pm 6.0	Bus \rightarrow Triptorelina
Klein (2001)	18	178.3 \pm 5.2	156.1 \pm 14.2	171.1 \pm 8.7	Deslorelina
Lazar (2002)	11	170.6 \pm 4.4	174	172.2 \pm 7.0	Triptorelina
Mul (2002)	26		172.6 \pm 10.1	172.9 \pm 6.6	Triptorelina
Tanaka (2005)	13	167.6 \pm 4.2	167.5 \pm 15.7	163.2 \pm 13.0	Triptorelina
Pigneur (2008)	3			170.6 \pm 5.5	Leuprolide
Brito (2008)	9	171.4 \pm 7.7	175.4 \pm 6.9	170.3 \pm 9.2	Triptorelina

TAB. 2 Caratteristiche auxologiche di 18 ragazzi con pubertà precoce centrale idiopatica trattati con analoghi del GnRH

	Inizio terapia GnRHa	Fine terapia GnRHa	Statura adulta
Età cronologica (anni)	9.8 ± 0.8	14.2±1.1	17.95 ± 4.32
Età ossea (anni)	12.2 ± 0.8	13.9±0.8	18.1 ± 4.3
SDS per età ossea	-1.1 ± 0.7	0.07± 1.1**	-0.7 ± 1.5*
Statura prevista accelerated B&P (cm)	165.6 ± 6.5	177.1 ± 9.8**	
Statura prevista average B&P (cm)	161.3± 5.6	174.3 ± 11**	
Statura adulta (cm)			171.0 ± 8.9
Statura bersaglio (cm)			168.0 ± 7.9
Volume testicolare (ml)	7.52 ±2.2	7.1 ± 3.2	20.6 ± 5.9

*Valori sono espressi come media ± DS **p<0.001 e *p<0.05 vs inizio terapia GnRHa*

TAB.3 Spermioγραμμα di ragazzi trattati con analogo del GnRH

Pazienti	Volume eiaculato(ml)	Concentrazione spermatozoi (ml)	Motilità spermatozoi(%)	Spermatozoi atipici (%)
1				
2				
3				
4	5	80	55	70
5				
6				
7	3	110	55	68
8				
9	3	46	45	75
10				
11				
12	2	28	35	72
13				
14				
15				
16				
17				
18				
Media	3,25	66	47,5	71,25
Deviazione standard	1,258305739	36,40512784	9,574271078	2,986078811
Valore normale	> 2	>20X10⁶	>50%	<70%

(Valori minimi di riferimento :WHO 1992-2000)

TAB.4 Ecografia testicolare di ragazzi trattati con analogo del GnRH

Paziente	Volume testicolare dx	Volume testicolare sx	Volume complessivo	Disomogeneità	Varicocele	altro
1						
2						
3						
4	14,46	14	28,46	N	II-III SN	
5						
6						
7	21,34	22,17	43,51	S	NO	Sfumata disomogeneità'
8						
9	16,2	17,38	33,58	N	NO	Cisti epididimarie bilateralmente
10	9,92	10,08	20	N	III-IV SN	Modica falda destra
11						
12	9,33	9,33	18,67	N	II-III SN	
13	20,7	18,93	39,63	N	NO	Cisti cefalica sinistra
14						
15						
16	10,81	9,28	20,09	S	II SN	Micro calcificazioni bilateralmente
17						
18						
Media	14,68	14,45285714	29,13428571			
Deviazione Standard	4,986846031	5,171981291	10,09765461			

Fig.1 Statura prevista , statura adulta , statura bersaglio in 18 ragazzi con pubertà precoce centrale idiopatica trattati con analogo del GnRH.

