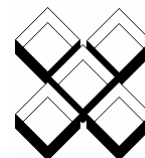




**Dipartimento di Scienze Mediche
Università di Milano**



**Laboratorio Sperimentale di Ricerche Endocrinologiche
IRCCS Istituto Auxologico Italiano**
Direttore: Prof. Luca Persani
Via Zucchi 18 – 20095 Cusano Mil. (Milano)
Tel.: 02619112432 Fax: 02619113033

Studio collaborativo SIE - SIEDP

**IPOGONADISMO IPOGONADOTROPO IDIOPATICO (IpIp)
E SINDROME DI KALLMANN (SK):
studi clinici, genetici e molecolari**

Un gruppo di studio. Perché?

Gli ipogonadismi ipogonadotropi (IpIp) comprendono una famiglia di malattie rare caratterizzate da insufficienza gonadica e infertilità secondarie a un difetto ipotalamo-ipofisario. L'alterazione ipofiso-gonadica può associarsi ad altri disordini congeniti (difetti olfattivi, neurologici e renali) nella Sindrome di Kallmann (SK). La diagnosi tardiva e la non corretta gestione terapeutica di queste condizioni possono generare serie conseguenze negative fisiche e psicosociali.

Queste malattie sono caratterizzate da una notevole eterogeneità della patogenesi e della risposta alle terapie attualmente disponibili.

La patogenesi è complessa e poco conosciuta ma ha alla sua base una forte componente genetica.

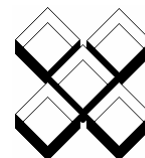
Come per tutte le patologie rare è necessario di unire gli sforzi di più Unità a livello nazionale per sfruttare competenze differenti e complementari e allo stesso tempo per raccogliere casistiche numericamente consistenti. E' auspicabile inoltre costituire un Servizio che come ultimo fine possa migliorare la gestione dei malati e dei soggetti a rischio. Le Unità costituenti questo Gruppo di Studio (vedi tabella 1) propongono le seguenti attività:

- *Raccolta casistica con studio del fenotipo (vedi scheda allegata)*
- *Raccolta dei campioni e dei dati clinici dei familiari (raccolta di pedigree)*
- *Servizio di Screening genetico*
- *Servizio di consulenza genetica nei casi a rischio*
- *Servizio di consulenza per la gestione clinica dei pazienti e delle loro terapie*
- *Studi molecolari delle mutazioni identificate*
- *Studi mirati a individuare nuovi geni candidati*
- *Immortalizzazione di linee cellulari dei pazienti*
- *Studi mirati a individuare la componente autoimmune della malattia*
- *Studi riguardanti l'outcome di diversi schemi terapeutici (ad esempio, terapia sostitutiva con gonadotropine o efficacia del priming steroideo in rapporto ai dati clinici/biochimici/genetici di base, ecc.)*
- *Studi riguardanti la clinica dell'ipogonadismo ipogonadotropo maschile a presentazione neonatale*
- *Costituzione di un Registro della Malattia e di linee guida*

Tabella 1. Unità coinvolte



**Dipartimento di Scienze Mediche
Università di Milano**



**Laboratorio Sperimentale di Ricerche Endocrinologiche
IRCCS Istituto Auxologico Italiano**

Direttore: Prof. Luca Persani
Via Zucchi 18 – 20095 Cusano Mil. (Milano)
Tel.: 02619112432 Fax: 02619113033

- Prof L Persani (coordinatore; luca.persani@unimi.it), Dipartimento di Scienze Mediche, Facoltà di Medicina, Università di Milano
- Prof R Maggi, Istituto di Endocrinologia, Facoltà di Farmacia, Università di Milano
- Prof A Sinisi e Prof A Jolascon, Endocrinologia, Seconda Università di Napoli e CEINGE-Università Federico II, Napoli
- Prof M Maggi e Dr.ssa C Krausz, Dip di Fisiopatologia Clinica, Università di Firenze
- Prof. M. Maghnie e Dr.ssa L. Perroni, IRCCS G. Gaslini Clinica Pediatrica e Laboratorio Genetica E.O Ospedali Galliera, Università di Genova.
- Prof.ssa M. Simoni, Università di Modena e Reggio Emilia

Centro di raccolta dei campioni:

- Lab. Persani, Milano (analisi genetiche)
- Lab. Genetica Ospedale Galliera, Genova (immortalizzazione)

Tabella 2. Analisi attivate:

- Lab Persani, Milano: **FGFR1, PROK2, PROKR2, Ebf2, GPR54, KISS1, LHbeta, FSHbeta**
- Lab Krausz, Firenze: **GnRHR, FGF-8**
- Lab Sinisi-Jolascon, Napoli: **PROK2, PROKR2, anticorpi anti-cellula gonadotropa**
- Lab Maghnie – Perroni, Genova: **KAL-1, FGFR1, immortalizzazione**
- Lab Simoni, Modena: **TAC3, TAC3R**
- Lab Maggi, Milano: **ricerca nuovi geni candidati**

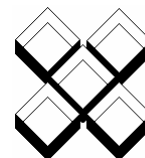
Prof. L Persani
Prof. R Maggi

Prof. A Sinisi
Prof. M Maggi

Dr.ssa C Krausz
Prof. M. Maghnie



**Dipartimento di Scienze Mediche
Università di Milano**



**Laboratorio Sperimentale di Ricerche Endocrinologiche
IRCCS Istituto Auxologico Italiano**

Direttore: Prof. Luca Persani
Via Zucchi 18 – 20095 Cusano Mil. (Milano)
Tel.: 02619112432 Fax: 02619113033

Scheda per segnalazione/selezione dei pazienti

Criteri di inclusione:

- pubertà assente o ritardata all'età di 14 anni o ipogonadismo acquisito post-puberale di natura idiopatica
- bassi livelli di ormoni sessuali (testosterone o estradiolo) associate a livelli di SHBG appropriati, con livelli di LH/FSH bassi o inappropriatamente normali in almeno due determinazioni indipendenti

Criteri di esclusione:

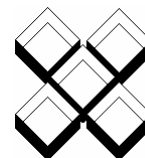
- Alterazioni alla RMN indicative di lesioni espansive, infiltrative o ischemiche a carico di ipotalamo-ipofisi
- Difetti combinati della funzione ipofisaria (GH/IGF1, PRL, ACTH/cortisolo e TSH/FT4 da valutare in tutti i casi)
- Anamnesi positiva per trauma cranico o irradiazione cranica
- Malattie psichiatriche importanti, come ad es. anoressia nervosa
- Attività fisica intensa (ad. es. agonismo)
- BMI <18 kg/m²
- Abuso di droghe

Caratteristiche fenotipiche da segnalare:

- Esame obiettivo con valutazione dello stadio puberale, dei genitali esterni, altezza, peso ed altre eventuali anomalie associate [es. proporzioni eunocoidi, valutate mediante misurazione SPAN/Altezza, difetti dello scheletro, difetti della linea media, con particolare attenzione alla presenza di labio-palatoschisi, palato ogivale, anomalie sensoriali (olfatto, udito, visione ai colori), alterazioni cutanee (ittiosi), altri difetti/ malformazioni]]
- Anamnesi familiare con particolare attenzione agli aspetti legati alla pubertà e alla riproduzione (altri ritardi puberali?, altri casi di eventuale infertilità non meglio precisati? Altri casi di ipogonadismo certificato?), nonché alle capacità olfattorie
- Cariotipo (FISH per locus KAL-1)
- Valutazione ecografica dell'apparato urogenitale (volume e struttura delle gonadi e sviluppo del tratto urogenitale)
- Valutazione delle strutture olfattorie mediante prove olfattive (es. Standard Sniff Test, UPSIT o qualsiasi altro test)
- RMN per studio delle strutture olfattorie (bulbi, tratti e solchi olfattivi) e della regione ipotalamo-ipofisaria
- test dinamico con GnRH per valutazione di LH, FSH (tempi: 0, +30, +60 dopo 3-5 boli ev consecutivi (100 µg cad) ogni 60 minuti
- Eventuale pulsatilità delle gonadotropine (prelievi per LH/FSH ogni 10 minuti per 6h)



**Dipartimento di Scienze Mediche
Università di Milano**



**Laboratorio Sperimentale di Ricerche Endocrinologiche
IRCCS Istituto Auxologico Italiano**

Direttore: Prof. Luca Persani
Via Zucchi 18 – 20095 Cusano Mil. (Milano)
Tel.: 02619112432 Fax: 02619113033

Istruzioni per la spedizione dei campioni (analisi genetiche):

- ❖ Consenso informato all'indagine genetica (spedito in allegato alla presente informativa), debitamente firmato in tutte le sue parti;
- ❖ Impegnativa medica, **rilasciata dallo specialista e firmata sul retro dal/la paziente**, con la seguente dicitura (da riportare per intero esattamente come è scritta): 1) nel caso di ipogonadismo ipogonadotropo con anosmia: "estrazione di DNA da sangue intero e analisi di DNA mediante sequenziamento (da ripetersi 7 volte) per sindrome di Kallmann" con riportato il codice R99 per esenzione dal pagamento (la KS rientra nell'elenco delle malattie rare esentabili, anche in fase diagnostica e pertanto può essere utilizzato il codice di esenzione per malattia rara: RC020); 2) nel caso di ipogonadismo ipogonadotropo senza anosmia: "estrazione di DNA da sangue intero e analisi di DNA mediante sequenziamento (da ripetersi 7 volte) per ipogonadismo ipogonadotropo".
- ❖ Fotocopia della tessera sanitaria e della carta d'identità del paziente.
- ❖ SOLO PER I PAZIENTI CHE NON POTRANNO GODERE DELL'ESENZIONE: versamento a mezzo di bollettino postale del ticket, pari a 36 Euro, a favore di Istituto Auxologico Italiano c.c. postale: 40511206 (causale da indicare: Esami biologia molecolare del Lab. Prof. Persani)
- ❖ In alternativa all'impegnativa SSN, la analisi di pazienti ricoverati può essere svolta anche su richiesta della Direzione Sanitaria dell'Ospedale richiedente.
- ❖ 2 provette di sangue intero in EDTA (circa 8 ml) da spedire a temp. ambiente se inviato nello stesso giorno del prelievo o da spedire in ghiaccio secco se congelato (meglio se a -80°C); in alternativa può essere inviato direttamente il DNA genomico (10-12 mcg) e l'unità che invia deve conservare un campione ematico indipendente per eventuali esami di conferma;
- ❖ 1 provetta di siero (2-3 mL) da spedire con le stesse modalità del sangue intero.

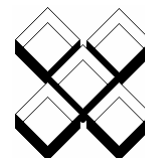
I campioni per le analisi genetiche, unitamente al consenso informato firmato e alla relazione clinica con le informazioni richieste andranno spedite a:

Att.ne Dr. Bonomi/Prof Persani
Lab Endocrinologia Sperimentale
Centro di Ricerche e Tecnologie Biomediche
Istituto Auxologico Italiano IRCCS
Via Zucchi 18
20095 Cusano Milanino (MI)

Avvisare via mail o telefono:
Tel: 02-619112432



**Dipartimento di Scienze Mediche
Università di Milano**



**Laboratorio Sperimentale di Ricerche Endocrinologiche
IRCCS Istituto Auxologico Italiano**

Direttore: Prof. Luca Persani
Via Zucchi 18 – 20095 Cusano Mil. (Milano)
Tel.: 02619112432 Fax: 02619113033

Email: dmbonomi@tin.it

Il Laboratorio milanese funzionerà come centro di raccolta e smisterà i campioni per le analisi genetiche che sono svolte altrove (Genova, Napoli e Firenze).

Istruzioni per la spedizione dei campioni di siero per la determinazione degli anticorpi anti-ipofisi e/o anti-ipotalamo

I campioni di siero per la ricerca degli autoanticorpi vanno inviati a:
Prof. A. De Bellis o Prof. A. Bellastella
Endocrinologia Seconda Università Pad 16, IV piano
Via Pansini 5
80131 Napoli

Istruzioni per la spedizione dei campioni per l'immortalizzazione di linee cellulari:

- ❖ Consenso informato per la conservazione di materiale biologico, firmato in tutte le sue parti;
- ❖ 5-10 ml di sangue periferico in sodio eparina o litio eparina (2 – 3 provette) da spedire esclusivamente a temperatura ambiente entro 24 ore dal prelievo direttamente presso il Lab Genetica Galliera di Genova (indirizzo riportato sotto)
- ❖ Avvertire sempre dell'invio telefonicamente oppure via e-mail la Dr.ssa Roberta Paravidino (recapiti sottoindicati).

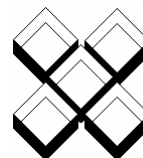
I campioni per l'immortalizzazione, unitamente allo specifico consenso informato firmato e alla relazione clinica con le informazioni richieste andranno spedite a:

Att.ne Dott.ssa Roberta Paravidino / Dott.ssa Lucia Perroni
Laboratorio di Genetica
E.O. Ospedali Galliera
Via A. Volta 6
16128 Genova
E mail: roberta.paravidino@galliera.it
Telefono: 010.5634382
Fax 010.57481212

E' sempre meglio programmare la spedizione a inizio settimana in modo da essere sicuri che i campioni non restino in giacenza durante il fine settimana con rischio di scongelamento o morte delle cellule. Utile darci comunicazione, ai recapiti che seguono, dell'avvenuta spedizione con nome del corriere e numero della stessa per seguirne la traccia on-line.



**Dipartimento di Scienze Mediche
Università di Milano**



**Laboratorio Sperimentale di Ricerche Endocrinologiche
IRCCS Istituto Auxologico Italiano**

Direttore: Prof. Luca Persani
Via Zucchi 18 – 20095 Cusano Mil. (Milano)
Tel.: 02619112432 Fax: 02619113033

Per eventuali chiarimenti o particolari richieste ci potete anche contattare ai seguenti numeri:

Marco Bonomi: 02-619113032 (dmbonomi@tin.it)

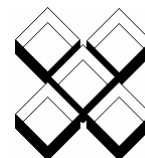
Luca Persani: 02-619112400 (luca.persani@unimi.it)

Roberta Paravidino: 010-5634382 (roberta.paravidino@galliera.it)

Il Centro di Napoli costituisce un ulteriore centro di appoggio, utile per raccogliere informazioni cliniche e campioni di pazienti provenienti dal Sud Italia.
Rivolgersi a Prof. Antonio Sinisi: 081- 5666627 (antonio.sinisi@unina2.it).



**Dipartimento di Scienze Mediche
Università di Milano**



Laboratorio Sperimentale di Ricerche Endocrinologiche
IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Direttore: Prof. Luca Persani
Via Zucchi 18 – 20095 Cusano Mil. (Milano)
Tel.: 02619112432 Fax: 02619113033

**SCHEDA DEL PAZIENTE CANDIDATO AD ANALISI GENETICA PER IPOGONADISMO
IPOGONADOTROPO**

I dati personali saranno raccolti e trattati, nel rispetto delle norme di legge, per finalità connesse allo svolgimento delle attività del gruppo di Studio.

Nome:

Cognome:.....

Data di nascita:.....

Indirizzo:.....

Recapito telefonico:

Specialista inviante:.....

Affiliazione:.....

Recapito telefonico:.....

E-mail:.....

Sospetto
diagnostico:.....

Anosmia: NO SI

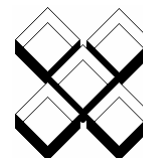
Sviluppo Puberale NO SI Età inizio sviluppo:

Anamnesi patologica remota: (segnalare se presenza di criptorchidismo ed eventuali eventi importanti, nonché pregressi ricoveri)

Anamnesi Familiare: (segnalare se altri casi familiari di ipogonadismo, ritardo puberale, difetti di fertilità, difetti olfattori ed eventuali altri dati importanti. Eventualmente schematizzare un semplice albero genealogico)



**Dipartimento di Scienze Mediche
Università di Milano**



**Laboratorio Sperimentale di Ricerche Endocrinologiche
IRCCS Istituto Auxologico Italiano**
Direttore: Prof. Luca Persani
Via Zucchi 18 – 20095 Cusano Mil. (Milano)
Tel.: 02619112432 Fax: 02619113033

Esame obiettivo:

Peso:.....Altezza:..... BMI:.....
SPAN:.....Pube/vertice:.....Pube/suolo:.....
Stadio Puberale:.....Volume Testicolare stimato:.....
Descrizione app. genitale:.....
.....
.....
Alterazioni della linea mediana (es labio- palatoschisi o palato ogivale)
.....
.....
Presenza di Sincinesie Bimanuali?.....
Presenza di Nistagmo?.....
Altro.....
.....
.....

Livelli ormonali basali in assenza di terapia : specificare se alla diagnosi o durante sospensione di terapia e da quanto tempo

LH..... (v.n.....)
FSH..... (v.n.....)
Estradiolo..... (v.n.....)
Testosterone..... (v.n.....)
SHBG.....(v.n.....)
Albuminemia.....(v.n.....)
Altri: (ematochimica generale ed eventuali altri esami indicativi delle
funzione ipotalamo-ipofisaria)

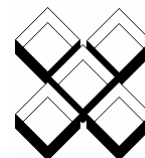
Livelli ormonali basali durante terapia:

tipo e durata della terapia:

LH..... (v.n.....)
FSH..... (v.n.....)
Estradiolo..... (v.n.....)
Testosterone..... (v.n.....)
SHBG.....(v.n.....)
Albuminemia.....(v.n.....)
Altri: (ematochimica generale ed eventuali altri esami indicativi delle
funzione ipotalamo-ipofisaria)



**Dipartimento di Scienze Mediche
Università di Milano**



**Laboratorio Sperimentale di Ricerche Endocrinologiche
IRCCS Istituto Auxologico Italiano**

Direttore: Prof. Luca Persani
Via Zucchi 18 – 20095 Cusano Mil. (Milano)
Tel.: 02619112432 Fax: 02619113033

Cariotipo:

Livelli ormonali durante Test dinamici:

A. GnRH test (indicare: modalità di esecuzione del test e unità di misura con relativi range di normalità):

In sospensione di terapia
Eseguito dopo infusione di progressi boli?.....

Ormone/Tempo	Bas	30'	60'	v.n.
LH				
FSH				

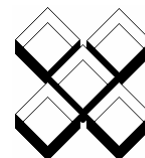
Dopo la terapia

Tipo e durata della terapia

Ormone/Tempo	Bas	30'	60'	v.n.
LH				
FSH				



**Dipartimento di Scienze Mediche
Università di Milano**



Laboratorio Sperimentale di Ricerche Endocrinologiche
IRCCS Istituto Auxologico Italiano
Direttore: Prof. Luca Persani
Via Zucchi 18 – 20095 Cusano Mil. (Milano)
Tel.: 02619112432 Fax: 02619113033

B. Altri test:

Esami Strumentali:

A. Ecografia apparato urogenitale

B. Ecografia Addome (con menzione di eventuali malformazioni renali)

C. RMN regione ipotalamo-ipofisaria

D. RMN strutture olfattorie

Strutture olfattorie / Stato di sviluppo	APLASIA	IPOPLASIA	NORMALE
BULBI			
TRATTI			
SOLCHI			

E. Test Olfattivi:

Tipo di test.....

Risultato: ANOSMIA

IPOSMIA

NORMOSMIA