



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Corso di laurea in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Medicina

Direttore: prof. Roberto Vettor

UOC Servizio per la Patologia della Riproduzione Umana

Direttore: prof. Alberto Ferlin

TESI DI LAUREA

Studio biochimico e genetico del metabolismo osseo nel percorso di affermazione di genere

Relatore: Prof. Andrea Garolla

Correlatrice: Dott.ssa Chiara Ceolin

Laureanda: Beatrice Vescovi

Anno Accademico 2021/2022

Sommario

1. Introduzione	8
1.1 Inquadramento della disforia di genere	8
1.1.1 Definizioni utili	8
1.1.2 Percorso di affermazione di genere	9
1.2 Epidemiologia	14
1.3 Eziologia	14
1.4 Metabolismo osseo	17
1.4.1 Struttura e rimodellamento del tessuto osseo	17
1.4.2 Ormoni sessuali e metabolismo osseo	19
1.4.3 Differenze di genere nel metabolismo osseo	20
1.5 Osteoporosi	21
1.5.1 Epidemiologia	21
1.5.2 Clinica	22
1.5.3 Eziologia e classificazione	22
1.5.2 Diagnosi	23
1.6 Genetica dell'osso	26
1.7 Composizione corporea	29
1.7.1 Generalità e tecniche di analisi	29
1.7.2 Differenze di genere nella composizione corporea	30
1.7.3 Composizione corporea nei soggetti transgender	31
1.8 Transgender e metabolismo osseo	31
2. Materiali e metodi	33
2.1 Popolazione studiata	33
2.2 Dati raccolti	34
2.2.1 Anamnesi del paziente	34
2.2.2 Antropometria	35
2.2.3 Densitometria ossea	35
2.4.4 Composizione corporea	35
2.2.5 Dati ematochimici	35
2.4.6 Dati genetici	36
2.4.7 Questionari	37
2.3 Analisi genetica	37
2.4 Analisi statistica	37
3. Risultati	38
4. Discussione	52

4.1 Dati epidemiologici	52
4.2 Dati densitometrici, composizione corporea e stress emotivo	52
4.3 Dati biochimici.....	54
4.4 Dati genetici	54
4.5 Limiti dello studio	57
5. Conclusioni	57
Bibliografia.....	58

RIASSUNTO

BACKGROUND DELLO STUDIO: la terapia ormonale nelle persone transgender influisce sulla composizione corporea, sulla massa e sulle dimensioni ossee. Tuttavia, sembra che già prima dell'inizio della terapia di affermazione di genere i soggetti con disforia presentino dei valori densitometrici peggiori rispetto ai controlli cis: il ruolo dello stile di vita e della predisposizione genetica in questo contesto rimane ad oggi ancora molto dibattuto.

SCOPO DELLO STUDIO: Questo studio retrospettivo si propone di analizzare dal punto di vista biochimico e genetico lo stato scheletrico dei soggetti transgender prima dell'inizio della terapia ormonale.

MATERIALI E METODI: Sono stati inclusi 32 soggetti transgender e 32 controlli cis-gender, di età compresa tra i 16 e i 50 anni, di cui si sono analizzate le densitometrie ossee, la composizione corporea e gli esami ematochimici allo stato basale. In 25 soggetti transgender e in 18 cis-gender sono stati analizzati anche i geni ALPL, CASR, COL1A1, COL1A2, BMP1, SERPINF1, IFITM5, LRP3, WNT1, TNFSF11, PLS3, PDLIM4, CALCR e VDR coinvolti nel metabolismo osseo. In 25 soggetti transgender è stato analizzato anche il gene AR.

RISULTATI: I soggetti transgender presentano in tutti i siti un andamento densitometrico significativamente peggiore rispetto ai controlli con valori di z-score di -0.77 ± 1.25 vs -0.22 ± 1.17 a livello lombare, 0.66 ± 1.03 vs 0.10 ± 1.02 a livello del collo femorale e di -0.48 ± 0.95 vs 0.19 ± 0.88 a livello del femore totale, con BMD significativamente ridotta a livello del collo femorale e del femore totale (0.81 ± 0.11 vs 0.88 ± 0.12 , $p = 0.018$ e 0.91 ± 0.11 vs 0.99 ± 0.13 , $p = 0.003$ rispettivamente). Nei soggetti transgender si registra inoltre una riduzione della massa magra (48.66 ± 8.97 vs 52.41 ± 9.36 kg, $p = 0.03$) e degli score più alti ai questionari PHQ 9 e PSS, rispettivamente di (10.00 ± 7.14 vs 4.13 ± 3.30 , $p = 0.001$) e (18.52 ± 6.26 vs 15.82 ± 7.42).

Non sono emerse differenze statisticamente significative dal punto di vista biochimico e genetico rispetto ai controlli. In due soggetti transgender è stata rilevata la mutazione L548F del recettore androgenico.

CONCLUSIONI: I soggetti transgender prima di cominciare la terapia ormonale presentano dei valori di Z-score e BMD peggiori rispetto ai coetanei cis-gender. È possibile che una deflessione del tono dell'umore si rifletta in abitudini di vita malsane per la crescita dell'osso in epoca adolescenziale. Più marginale sembra essere il ruolo di fattori genetici. Ulteriori studi sono necessari per approfondire i meccanismi, soprattutto genetici, alla base della ridotta mineralizzazione ossea nei soggetti transgender.

ABSTRACT

BACKGROUND: Hormone therapy in transgender people affects body composition, bone's mass and size. Even before the start of gender affirmation therapy, subjects with dysphoria have worse densitometric values than cis controls: the role of lifestyle and genetic predisposition in this context is still debated.

AIM OF THE STUDY: This retrospective study aims to analyze, from a biochemical and genetic point of view, the skeletal status of transgender subjects before the start of hormone replacement therapy.

MATERIALS AND METHODS: The sample includes 32 transgender subjects and 32 cis-gender controls between 16 and 50 years old. Their bone densitometries, body composition and blood chemistry tests at baseline were analyzed. In 25 transgender subjects and in 18 cis-gender has been analyzed ALPL, CASR, COL1A1, COL1A2, BMP1, SERPINF1, IFITM5, LRP3, WNT1, TNFSF11, PLS3, PDLIM4, CALCR and VDR genes, which are involved in bone metabolism. In 25 transgender subjects the AR gene has also been analyzed.

RESULTS: Transgender subjects have a significantly worse densitometric trend at all sites than controls, with z-score values of $(-0.77 \pm 1.25$ vs $-0.22 \pm 1.17)$ at lumbar level, $(0.66 \pm 1.03$ vs $0.10 \pm 1.02)$ at the femoral neck and $(-0.48 \pm 0.95$ vs $0.19 \pm 0.88)$ at the level of the total femur and significantly reduced BMD at the level of the

femoral neck and total femur (0.81 ± 0.11 vs 0.88 ± 0.12 , $p= 0.018$ and 0.91 ± 0.11 vs 0.99 ± 0.13 , $p=0.003$). In transgender subjects there is also a reduction in lean mass (48.66 ± 8.97 vs. 52.41 ± 9.36) kg and the higher scores in PHQ 9 and PSS questionnaires, respectively (10.00 ± 7.14 vs 4.13 ± 3.30 , $p=0.001$) and (18.52 ± 6.26 vs 15.82 ± 7.42). There were no statistically significant biochemical and genetic differences compared to controls. In two transgender subjects the L548F mutation of the androgen receptor was detected.

CONCLUSIONS: Transgender subjects before starting hormone therapy have worse Z-score and BMD values than their cis-gender peers. It's possible that a deflection of the mood affected the lifestyle of these patients, with consequences for bone growth during adolescence. More marginal seems to be the role of genetic factors. Further studies are needed to investigate the mechanisms, especially the genetic ones, underlying reduced bone mineralization in transgender subjects.

1. Introduzione

I soggetti transgender sperimentano una condizione di incongruenza tra genere esperito, definito dagli indicatori biologici, e quello percepito (1). Per superare tale incongruenza è possibile intraprendere un percorso di affermazione di genere basato sulla somministrazione di ormoni sessuali, ed eventualmente di interventi chirurgici di riassegnazione, al fine di acquisire i caratteri sessuali secondari e le sembianze del genere percepito.

La terapia ormonale influisce sul metabolismo osseo, sulla composizione corporea e sulla massa di questi soggetti, i quali tuttavia già allo stato basale sembrano presentare dei valori densitometrici peggiori rispetto ai controlli cis - gender: il ruolo dello stile di vita e della predisposizione genetica in questo contesto rimane ad oggi ancora molto dibattuto.

Questo studio retrospettivo si propone dunque di analizzare dal punto di vista biochimico e genetico lo stato scheletrico dei soggetti transgender prima dell'inizio della terapia ormonale sostitutiva.

1.1 Inquadramento della disforia di genere

1.1.1 Definizioni utili

Per comprendere questo fenomeno è fondamentale distinguere le quattro componenti che definiscono l'identità sessuale di ciascuno individuo (2):

- "SESSO BIOLOGICO" determinato da indicatori biologici quali il corredo dei cromosomi sessuali, l'assetto ormonale e le gonadi. Sulla base di questi elementi e della capacità riproduttiva si distinguono soggetti che alla nascita sono stati assegnati al sesso maschile (AMAB), femminile (AFAB) e gli intersessuali.
- "ORIENTAMENTO SESSUALE" ossia la direzione dell'attrazione affettiva e sessuale nei confronti degli altri individui.
- "GENERE" cioè l'insieme delle norme sociali, culturali e comportamentali che normalmente distinguono, in una visione binaria, il maschile dal femminile. Essendo il genere un costrutto sociale, le norme che lo

definiscono possono variare da una società ad un'altra e possono variare nel tempo (3).

- "IDENTITÀ DI GENERE" è la percezione di appartenenza dell'individuo ad un determinato genere, indipendentemente da quello che è il suo sesso biologico, il suo orientamento sessuale o il ruolo sociale assegnatogli. Quando l'identità di genere coincide con il genere sociale e il sesso biologico si parla di soggetti "cis-gender", viceversa quando questa sovrapposizione viene a mancare si parla di individui "gender-non conforming". Quest'ultima definizione va ad abbracciare sia l'ampio spettro degli individui che percepisce la propria identità di genere come non-binaria, sia coloro che vivono invece una condizione di incongruenza (4).

Più nello specifico, il termine transgender si riferisce ad uno spettro di individui che, in maniera transitoria o permanente, percepisce un'identità di genere diversa rispetto al sesso assegnato alla nascita. A causa di ciò una quota di tali soggetti sperimenta una sofferenza clinica significativa e/o una compromissione dell'equilibrio psicologico dal punto di vista affettivo e cognitivo: questa condizione viene inquadrata dal DSM-V in una precisa categoria diagnostica, quella della disforia di genere (DIG).

1.1.2 Percorso di affermazione di genere

Il soggetto con DIG può intraprendere un percorso di affermazione di genere al fine di allineare le proprie caratteristiche fenotipiche con quelle del genere percepito. Oggigiorno la presa in carico del paziente con disforia avviene in un'ottica multidisciplinare, in quanto questo approccio si è rivelato il più efficace nell'aumentare la qualità di vita di questi pazienti (5). In Italia tale percorso, regolamentato dalla legge 164/1982 e dalle linee guida SIGIS – SIAMS – SIE, si articola in più passaggi che globalmente possono essere riassunti in quattro tappe fondamentali: la valutazione psicologica/psichiatrica, la terapia ormonale di affermazione di genere (GAHT), il cambio anagrafico e la chirurgia di riassegnazione sessuale (6). In **figura 1** è illustrata una flow-chart riassuntiva con le tappe del percorso di affermazione di genere.

a) Percorso psicologico

La prima figura che affianca il soggetto transgender nel suo percorso di affermazione è un professionista della salute mentale, uno psicologo o uno psichiatra, esperto in materia di disforia di genere. Solo queste figure professionali possono formulare, secondo i criteri stabiliti dal DSM V, la diagnosi di DIG, che è un requisito indispensabile per iniziare il Real Life Experience (RLE) o Test di vita reale (RLT), ossia un periodo di tempo, che comincia contestualmente con il trattamento endocrinologico, in cui il soggetto transgender vive a tempo pieno nel ruolo del genere esperito.

L'assistenza psicologica/psichiatrica è imprescindibile: è noto infatti che i soggetti transgender sono particolarmente vulnerabili al distress psicologico e alle psicopatologie, in particolare disturbi dell'umore e disturbi ansiosi che si manifestano rispettivamente con una frequenza del 42% e del 27% (7). La genesi di tali disturbi può essere spiegata sia dal disagio psicologico intrinseco alla condizione disforica, sia dalle conseguenze derivanti dalla transfobia e dalla scarsa accettazione sociale. Tutti questi fattori di rischio per la salute mentale aumentano nella popolazione transgender il tasso di depressione e il rischio suicidario (8). Sulla base di questi dati si comprende anche la raccomandazione del pool di esperti delle società SIGIS-SIAMS-SIE inerente alla gestione clinica dei pazienti con disforia: l'azione di supporto del professionista della salute mentale è fortemente raccomandata non solo durante la fase diagnostica, ma lungo tutto l'arco del percorso di affermazione di genere, in collaborazione con gli altri membri del team multidisciplinare (9).

b) Trattamento endocrinologico

Il trattamento ormonale di affermazione di genere (GAHT) ha lo scopo di sopprimere i livelli degli ormoni sessuali endogeni, andandoli a sostituire con gli ormoni sessuali del genere desiderato dal paziente, in modo da adeguare le sue caratteristiche fenotipiche con l'identità di genere percepita tramite un processo di femminilizzazione o mascolinizzazione, parziale o completo (9).

Per i soggetti pre-puberi è sconsigliato qualsiasi intervento medico, mentre per i pazienti tra i 14 e i 16 anni c'è la possibilità di somministrare antagonisti del Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH): l'obiettivo di tale trattamento è quello

di bloccare lo sviluppo puberale, in modo tale da alleviare le sofferenze del paziente legate alle modificazioni corporee tipiche di questa fase, impedire lo sviluppo dei caratteri sessuali secondari e conseguentemente anche ridurre al minimo l'entità degli interventi chirurgici di riassegnazione (10). La terapia ormonale sostitutiva (TOS), basata sull'uso di androgeni o di estrogeni, può essere somministrata a partire dai 16 anni, previo consenso dei genitori del paziente.

La gestione endocrinologica del paziente con disforia prevede la discussione con lo stesso degli obiettivi attesi dal percorso di affermazione, illustrando anche i rischi intrinseci della GAHT e proponendo la possibilità di conservazione della fertilità (11). A questo segue una valutazione basale: esame obiettivo generale, raccolta anamnestica completa, esami biochimici, strumentali e del cariotipo atti a soppesare lo stato di salute del paziente, escludere la presenza di intersessualità e di eventuali fattori di rischio o controindicazioni alla terapia.

Nello specifico si valutano: emocromo, assetto ormonale (gonadotropine, testosterone, progesterone ed estrogeni), lipidico (colesterolo totale, HDL, LDL, e trigliceridi) e glicemico, funzionalità renale ed epatica, ionemia, markers infettivologici, cariotipo, densitometria ossea (DEXA), eventuale presenza di difetti trombofilici congeniti. Nel caso di pazienti transgender AMAB che intraprendono un trattamento estrogenico femminilizzante viene controllato anche il valore di PSA in pazienti con più di 45 anni ed eseguita un'ecografia mammaria bilaterale e scrotale. Nei pazienti transgender AFAB, che intraprendono un trattamento androgenico, vengono invece richiesti pap-test ed ecografia dell'addome completo per valutare la morfologia ovarica e sovra-pubica.

Le indagini endocrino-metaboliche vengono ripetute ogni 3 mesi durante il primo anno di trattamento ormonale sostitutivo, per poi successivamente venire dilazionate ogni 6 o 12 mesi (9).

I farmaci utilizzati per la GAHT sono in genere: testosterone (undecanoato o enantato, somministrato per via intramuscolare o come gel applicato per via transdermica) per il trattamento mascolinizzante, estrogeni ed eventualmente progestinici ed anti-androgeni (ad esempio spironolattone e il ciproterone acetato) per la terapia femminilizzante.

Controindicazioni assolute per la TOS con estrogeni sono rappresentate da pregressi eventi trombotici venosi legati a condizioni preesistenti di ipercoagulabilità, anamnesi positiva per neoplasia estrogeno-sensibile e presenza di epatopatia cronica allo stadio terminale. Per la terapia androgenizzante le controindicazioni assolute sono: coronaropatie instabili, gravidanza, policitemia non controllata con ematocrito superiore o uguale al 55%.

c) Cambio anagrafico

Grazie alla legge 164/1982 “Norme in materia di rettificazione di attribuzione di sesso”, modificata dal d.lgs. 150/2011, è possibile per i soggetti transgender con DIG avviare il procedimento giudiziario per la rettifica del genere, in modo da modificare ufficialmente i propri dati anagrafici riguardanti il sesso e il nome.

I requisiti per avviare tale processo sono l’aver completato la RLE ed avere una relazione conclusiva permissiva redatta sia dallo psicologo/psichiatra sia dall’endocrinologo che ha seguito il percorso di affermazione di genere. La domanda deve essere avanzata al Tribunale Civile di competenza.

d) Chirurgia

La chirurgia di affermazione di genere (GAS) consiste in interventi demolitivi e ricostruttivi che portano alla modificazione delle caratteristiche sessuali primarie e/o secondarie con l’obiettivo di allineare le caratteristiche fenotipiche con l’identità di genere percepita.

Il ricorso alla GAS è molto variabile e soggettivo tra i soggetti con DIG: per alcuni la sola terapia medica è sufficiente per allieviare il distress psicologico legato alla disforia. Non è da sottovalutare che l’importante invasività di queste procedure chirurgiche e il loro costo, così come il ridotto numero di centri specializzati in materia, per una parte dei pazienti possono rappresentare dei fattori limitanti all’accesso a tali cure (12).

Per i transgender AMAB gli interventi disponibili consistono in: mastoplastica additiva, interventi di chirurgia genitale quali orchietomia, penectomia, vaginoplastica, clitoridoplastica, vulvoplastica e interventi di chirurgia estetica quali

liposuzione, femminilizzazione facciale, chirurgia delle corde vocali, riduzione della cartilagine tiroidea, ricostruzione dei glutei e dei capelli.

Per i transgender AFAB gli interventi disponibili consistono in: mastectomia, ricostruzione della cassa toracica, interventi ginecologici quali istero-annessiectomia, vaginectomia, metoidioplastica, falloplastica, scrotoplastica, impianto di protesi testicolari e/o peniene e interventi aggiuntivi di chirurgia vocale, liposuzione, lipofiling, impianti pettorali e altre procedure estetiche.

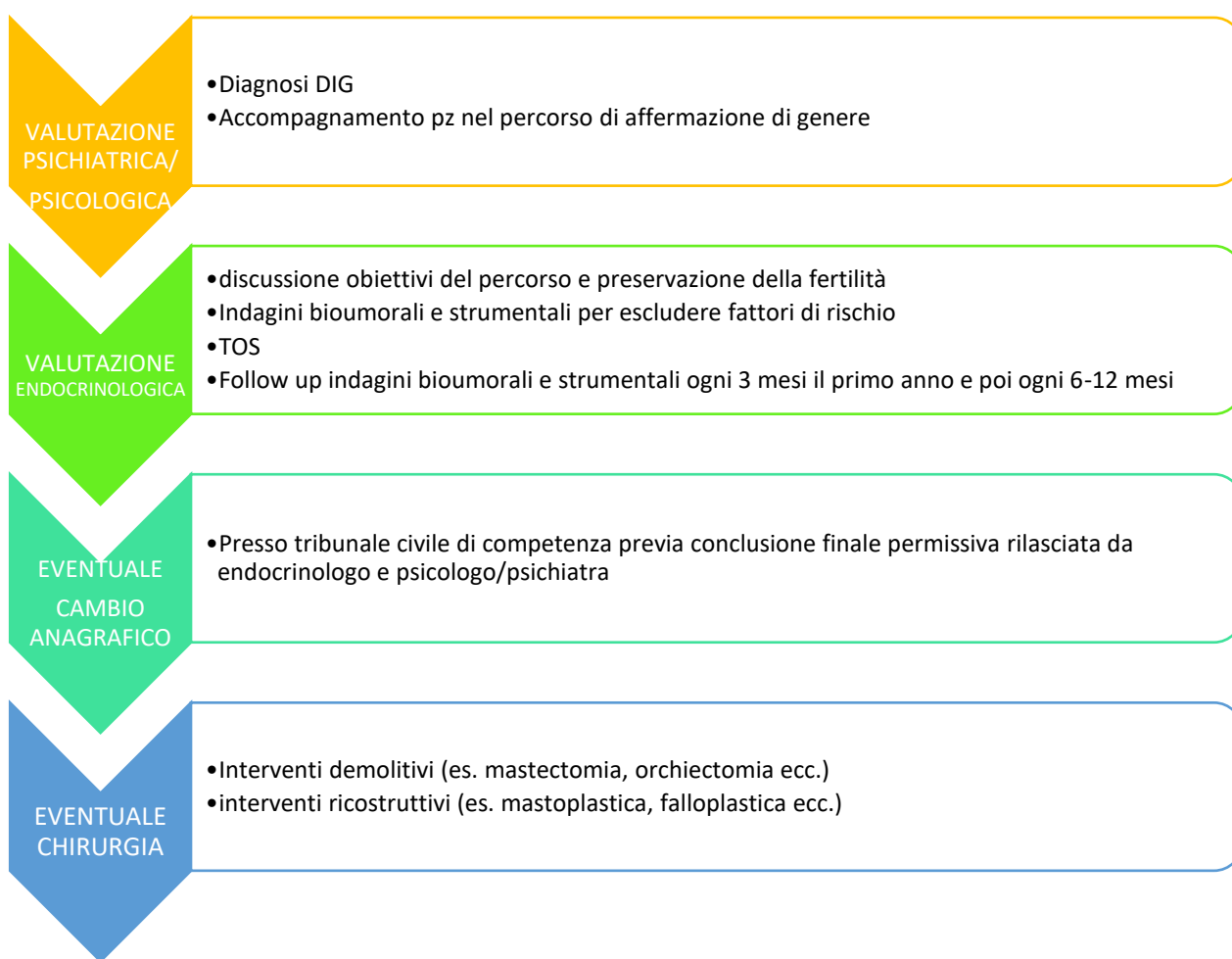


Figura 1: *Flow-chart riassuntiva del percorso di affermazione di genere*

1.2 Epidemiologia

Sebbene i dati sull'epidemiologia della disforia di genere in Italia siano scarsi, è noto che a livello globale si è registrato un aumento della sua prevalenza negli ultimi vent'anni. Le cause di tale aumento non sono del tutto chiare: sebbene non si possa escludere un reale incremento dell'incidenza della DIG, elementi quali la maggior accettazione sociale, la maggior consapevolezza delle opzioni terapeutiche e l'aumentata quota di centri medici e psicologici dedicati al tema possono aver facilitato il coming out di una quota maggiore di persone transgender (13).

La prevalenza della disforia di genere oscilla tra lo 0.005-0.014 % per le persone transgender AMAB e tra lo 0.002-0.003% per le persone AFAB, con un sex ratio M:F di 3:1 (13). Altri studi, più recenti e condotti in aree geografiche diverse, riportavano rapporti variabili dall'1.5:1 fino a 6:1 (14) (15).

Il rapporto AMAB:AFAB tende a variare anche in base alla fascia d'età: negli adolescenti è di 1.7:1, mentre nei soggetti pre-puberi con meno di 12 anni varia da 3:1 a 2:1.

La letteratura è concorde nel riconoscere uno storico aumento della prevalenza di soggetti transgender AMAB rispetto a quelli di sesso femminile, pur essendosi verificata negli ultimi tempi una inversione del trend, con un rapido aumento dei pazienti AFAB che iniziano il percorso di affermazione di genere. L'altro aspetto da tenere a mente è la variazione della prevalenza della disforia a seconda della fascia d'età coinvolta: si nota infatti che solo il 20-30% dei bambini con sviluppo atipico dell'identità di genere persiste in tale condizione fino all'età adulta. La finestra temporale che sembra essere cruciale per lo sviluppo delle traiettorie di genere è quella che va dai 10 ai 13 anni (16), motivo per il quale di solito si sconsiglia di cominciare il trattamento di affermazione di genere nei soggetti prepuberi.

1.3 Eziologia

È noto che vi siano delle differenze di genere nello sviluppo cerebrale, comportamentale e in quello dell'identità (17). Gli elementi che intervengono nei meccanismi che portano al dimorfismo sessuale sono molteplici ed iniziano ad agire sin dall'epoca embrionale, con pattern differenti a seconda dell'area cerebrale interessata.

Sulla base di queste premesse è stata presa in considerazione l'ipotesi che vi possano essere delle anomalie nello sviluppo cerebrale dei soggetti transgender con disforia di genere.

Già nel 1995 Jiang-Ning Zhou et al., comparando la morfologia di aree cerebrali sessualmente dimorfiche tra soggetti cis-gender e transgender, riportavano che le donne transgender (soggetti AMAB) avevano il nucleo del letto della stria terminale (BNST) – implicato nella determinazione del comportamento sessuale – di dimensioni comparabili a quello delle donne cis-gender (AFAB). Questa differenza inoltre si è dimostrata non essere imputabile all'azione degli ormoni assunti durante il trattamento gender-affirming, bensì già stabilita durante la fase di sviluppo cerebrale.

Burke et al (18) hanno analizzato la risposta all'androstenedione in transgender pre-puberi e adolescenti con DIG. È noto che l'odore dell'androstenedione, un ormone secreto maggiormente negli uomini, attiva pattern ipotalamici diversi tra i due sessi nei soggetti cis-gender: nelle donne cis la risposta ipotalamica è maggiore rispetto a quella degli uomini. Gli adolescenti con DIG, sia AMAB che AFAB, invece reagiscono a questo ormone in modo atipico rispetto al sesso di nascita, con risposte che si allineano con quelle del genere esperito.

Un importante ruolo nel neuro-sviluppo è svolto dagli ormoni sessuali: la presenza o l'assenza di esposizione al testosterone determina, nei primi due mesi di gestazione, la differenziazione dei genitali maschili o femminili, mentre il processo di differenziazione cerebrale, responsabile anche dell'identità di genere, del comportamento e dell'orientamento sessuale, comincia nella seconda metà della vita intrauterina (19).

Da esperimenti eseguiti su modelli animali è noto che l'esposizione delle madri ad alte dosi di testosterone influenza la progenie femminile, che presenta comportamenti perlopiù maschili (20). L'esposizione ad anomali livelli di androgeni potrebbe impattare anche nel caso della DIG.

È stata perciò analizzata l'incidenza della disforia di genere in popolazioni affette da patologie, come l'iperplasia surrenale congenita, l'insensibilità agli androgeni (AIS) il deficit di 5 alfa reduttasi (5ARD) e il deficit di 17-beta-idrossisteroide deidrogenasi (17HSD), che alterano dal punto di vista sia quantitativo che funzionale l'azione degli

androgeni (21). Alla base dell'iperplasia surrenale congenita nel 90% dei casi vi è una mutazione autosomica recessiva di CYP21A2, che causa una riduzione dell'enzima 21-idrossilasi, responsabile della sintesi dei precursori di cortisolo e aldosterone. I precursori accumulati vengono perciò usati per la sintesi di androgeni, i cui livelli ematici dunque incrementano (22). Si è visto che fra i soggetti AFAB con iperplasia surrenalica congenita l'incidenza di disforia di genere è del 5.2%, dunque significativamente superiore rispetto allo 0.5% presente nella popolazione generale (23).

Con il termine di sindrome da insensibilità agli androgeni (AIS) si descrive invece un gruppo di malattie con trasmissione X-linked accumulate da un disturbo dello sviluppo sessuale caratterizzato dalla presenza di genitali esterni femminili, genitali ambigui o difetti della virilizzazione in soggetti con cariotipo 46 XY, che presentano un'insensibilità del recettore androgenico completa (CAIS), parziale (PAIS) o lieve (MAIS) (24). La prevalenza complessiva di disturbi dell'identità di genere nei soggetti con CAIS è del 15 %. I soggetti con insensibilità completa solitamente vengono identificati alla nascita come di genere femminile e circa l'1.7% di loro presenta DIG. Nei soggetti con insensibilità parziale i disturbi dell'identità sono presenti in circa il 12% dei soggetti cresciuti come individui femminili e nel 25% dei soggetti allevati come maschili, senza una differenza statisticamente significativa.

La prevalenza di incongruenza di genere nei soggetti con 17HSD e 5ARD, enzimi implicati rispettivamente nella conversione dell'androstenedione in testosterone e del testosterone in didrotestosterone, si è mostrata essere molto alta nei soggetti cresciuti come femmine: il 53% di loro infatti ha intrapreso un percorso di affermazione di genere (25). Questi dati ancora una volta supportano l'importanza cruciale dell'esposizione agli ormoni sessuali sullo sviluppo dell'identità di genere. Alcuni studi hanno rivolto l'attenzione anche ai geni codificanti per i recettori degli ormoni sessuali, per capire il loro ruolo nella genesi della disforia. Una metanalisi svolta da D'Andrea et al. ha studiato l'associazione fra la disforia di genere nelle donne transgender e la lunghezza della tripletta citosina-adenosina-guanina (CAG) del recettore androgenico (AR), allo scopo di valutare se esistevano differenze rispetto alla media degli uomini cis-gender. La lunghezza della tripletta CAG correla infatti in maniera inversamente proporzionale all'attività del recettore, la cui

anomala funzionalità potrebbe dunque contribuire all'alterazione dei livelli di androgeni a cui il paziente è esposto durante la vita intrauterina. È emerso che le donne transgender presentano effettivamente una lunghezza delle triplette CAG significativamente maggiore rispetto agli uomini gender-conforming. Questo dato, seppur interessante, va considerato con cautela, alla luce della possibile distribuzione diversa del numero di triplette al variare dell'etnia (26).

Sono stati studiati anche i polimorfismi dell'estrogen receptor alpha (ESR1) nel contesto della DIG sia per i soggetti AMAB, sia per gli AFAB. È stata rilevata un'associazione statisticamente significativa fra l'aplotipo L-C-A del polimorfismo XbaI-rs9340799 di ESR1 e soggetti AFAB con disforia di genere. Tale associazione invece viene a mancare se si considerano le persone transgender AMAB (27).

In conclusione, si può affermare che la disforia di genere sia una condizione con eziopatogenesi multifattoriale. Di certo, in questo contesto, a partire dalla seconda metà della gravidanza, intervengono fattori genetici, epigenetici ed alterazioni dei livelli di esposizioni agli ormoni sessuali. Al momento non esiste un marker biologico precoce per identificare in vivo quale sarà l'identità di genere di un individuo durante le fasi iniziali del suo neuro-sviluppo; in questo senso sono perciò necessari maggiori studi. Rispetto al passato, è stato fortemente ridimensionato il potenziale ruolo dei fattori sociali post-natali nella determinazione sia dell'identità di genere, sia dell'orientamento sessuale (28).

1.4 Metabolismo osseo

Le differenze di genere nel metabolismo osseo sono determinate principalmente dall'azione degli ormoni sessuali. Essi agiscono su due livelli: da un lato stimolano a livello ipofisario il rilascio del growth hormone (GH), dall'altro agiscono a livello periferico sulle cartilagini di coniugazione, stimolandone l'accrescimento durante l'infanzia e l'adolescenza, e sulle cellule responsabili dei processi di rimodellamento osseo nell'età adulta.

1.4.1 Struttura e rimodellamento del tessuto osseo

Nell'osso si riconoscono due strutture organizzative: quella del tessuto compatto e quella del tessuto spugnoso. L'osso spugnoso si distribuisce perlopiù all'interno delle ossa corte, delle ossa piatte e nell'epifisi delle ossa lunghe. Esso è costituito da trabecole che si dispongono nello spazio seguendo le linee di distribuzione del

carico meccanico, garantendo così allo scheletro la massima resistenza. L'osso compatto invece costituisce la diafisi delle ossa lunghe e riveste le superfici delle aree occupate dall'osso spugnoso.

Sia il tessuto compatto sia quello spugnoso sono costituiti da una componente cellulare e una componente extracellulare.

La componente cellulare dell'osso è data dagli osteoblasti e osteociti, di derivazione mesenchimale, e dagli osteoclasti, cellule multinucleate derivanti da un precursore della linea dei fagociti mononucleati.

Il tessuto osseo subisce un continuo fenomeno di rimodellamento che permette allo scheletro di adattarsi alle necessità metaboliche, strutturali e meccaniche dell'organismo, oltre che consentire la riparazione di eventuali microfratture. Tale processo è reso possibile dall'equilibrio che s'instaura tra la neoformazione ossea, mediata dagli osteoblasti, e il riassorbimento, mediato dagli osteoclasti. Il meccanismo che s'instaura tra l'attività di queste due popolazioni cellulari è chiamato coupling.

Il rimodellamento osseo avviene a livello della parte trabecolare, endostale e corticale dello scheletro, in corrispondenza di strutture anatomiche ben definite chiamate unità di rimodellamento osseo (BMU, Basic Multicellular Unit) (29).

Il ciclo di rimodellamento osseo avviene secondo un'ordinata sequenza di eventi riassumibili in cinque step:

- 1) **Fase di attivazione:** gli osteoclasti vengono richiamati sulla superficie minerale ossea da rimodellare;
- 2) **Fase di riassorbimento:** gli osteoclasti, nell'arco di 2-3 settimane, iniziano il riassorbimento del tessuto osseo producendo delle cavità dette "lagune di Howship";
- 3) **Fase di sostituzione:** gli osteoclasti diradano la loro attività e vengono progressivamente sostituiti dai precursori degli osteoblasti;
- 4) **Fase di formazione:** in un lasso di tempo che può variare dai 90 ai 120 giorni gli osteoblasti proliferano e secernono materiale osteoide che inizia a mineralizzarsi;
- 5) **Fase di quiescenza ossea:** il tessuto osseo, completamente rinnovato, va incontro alla fase di quiescenza (30).

Dal punto di vista biochimico, diverse pathways intervengono nella regolazione del rimodellamento osseo; tra queste, una delle più significative è sicuramente quella di RANK/ RANK ligando (RANK-L)/osteoprotegerina (OPG). Il legame RANK/RANK-L attiva gli osteoclasti, mentre OPG è un naturale regolatore negativo della osteoclastogenesi.

La via di WNT/ β -Catenina stimola la formazione e l'attività osteoblastica da un lato, mentre dall'altro sfavorisce l'attività osteoclastica, portando in definitiva ad un aumento della deposizione ossea.

Dopo aver sintetizzato e secreto la matrice organica, gli osteoblasti si trasformano in osteociti, cellule che si mantengono in comunicazione con il sistema vascolare attraverso una rete di canalicoli, fungono da meccanoettori del tessuto osseo e inoltre secernono FGF23, un ormone utile per il metabolismo del fosfato, e la sclerostina, una glicoproteina che ha un effetto inibitorio sulla via di WNT e dunque sulla formazione ossea (31).

1.4.2 Ormoni sessuali e metabolismo osseo

È noto come diversi fattori, tra cui citochine, vitamina D, PTH e calcitonina intervengano sulla regolazione del metabolismo osseo. In questo contesto anche gli ormoni sessuali possono impattare sui processi di crescita e rimodellamento dell'osso (31).

I recettori estrogenici alfa e beta ($ER\alpha$ e $ER\beta$) sono espressi dalle cellule del tessuto osseo e dalle cellule del midollo (monociti, macrofagi, precursori osteoclastici e mastociti). Le vie di trasduzione attivate dagli estrogeni portano all'inibizione della sclerostina e ad una maggior secrezione di OPG, portando in definitiva ad una riduzione della proliferazione e dell'attività osteoclastica e dunque del riassorbimento osseo. Gli estrogeni inoltre inibiscono l'apoptosi di osteoblasti e osteociti e aumentano quella degli osteoclasti, favorendo complessivamente il processo di apposizione ossea.

Il recettore androgenico è espresso dai condrociti epifisari, dagli osteoblasti e dai condrociti, mentre è dibattuta la sua presenza a livello osteoclastico, anche se è stata testimoniata un'azione diretta del testosterone nel promuoverne l'apoptosi. Il testosterone può agire sulle cellule ossee anche indirettamente mediante il

processo di aromatizzazione, che consiste in una conversione periferica degli androgeni in estrogeni mediata dall'enzima aromatasi.

1.4.3 Differenze di genere nel metabolismo osseo

Gli ormoni sessuali sono i principali determinanti del dimorfismo scheletrico. Per capire il loro impatto è opportuno considerare i meccanismi di crescita ossea.

L'allungamento longitudinale dell'osso è mediato dai condrociti epifisari, mentre la crescita trasversale avviene per apposizione periostale di tessuto da parte degli osteoblasti, in concomitanza col riassorbimento endostale osteoclastico che consente l'allargamento della cavità midollare (31).

Durante il periodo puberale prevale l'apposizione ossea periostale, con conseguente espansione dell'osso corticale. La maturazione scheletrica termina intorno ai 25-30 anni, momento in cui viene raggiunto il picco di massa ossea, ossia il massimo contenuto minerale osseo (BMC). In condizioni fisiologiche, l'equilibrio tra la deposizione e il riassorbimento osseo consente di mantenere costante la densità minerale ossea (BMD), cioè il rapporto tra il contenuto minerale osseo e l'area della superficie considerata. Con l'invecchiamento il processo di riassorbimento diventa preponderante rispetto a quello di neoformazione ossea, portando di conseguenza ad una diminuzione della BMD. Tale riduzione nelle donne diventa particolarmente importante durante la menopausa e attorno alla sesta decade di vita negli uomini. Questo è imputabile alla riduzione della circolazione degli ormoni sessuali e al conseguente ridotto trofismo che questi hanno sull'osso (32).

Negli uomini lo scatto di crescita puberale è posticipato di circa due anni rispetto alle femmine, e questo permette una maggior crescita dell'osso durante la fase prepuberale, influenzando le differenze di genere del tessuto osseo. La maggior durata della pubertà espone i maschi più a lungo ad alti livelli di ormoni sessuali, con conseguente tardiva chiusura delle cartilagini di coniugazione (31). Oltre agli ormoni sessuali, anche i fattori genetici ed ambientali contribuiscono ad alcune differenze di genere nella formazione delle ossa: l'area totale di sezione ossea (CSA totale) e il BMC totale sono maggiori nei maschi, giustificando così un picco di massa

ossea più elevato, una maggiore dimensione dell'osso e in definitiva uno scheletro più forte rispetto alle donne (33).

Alla Tomografia computerizzata quantitativa periferica (pQCT) si osserva un aumento di trabecole ossee, di spessore corticale e di vBMD trabecolare (ovvero la BMD volumetrica) nei maschi rispetto alle femmine, ad indicare una maggiore porosità corticale. Al contrario, la vBMD corticale è maggiore nelle donne: è possibile che questa corteccia più densa e meno porosa nelle femmine sia di fatto un meccanismo di compenso per un osso di dimensioni ridotte rispetto agli uomini (33).

La corteccia dell'osso maschile subisce una maggiore apposizione periostale, che determina un maggiore spessore corticale e una conseguente maggiore resistenza alla flessione rispetto alle donne. Questo fenomeno sembra in parte essere dovuto all'effetto del testosterone. Nelle donne invece vi è una ridotta espansione del periostio, ma una maggiore apposizione a livello endocorticale (32).

L'importanza del ruolo degli ormoni sessuali sul metabolismo osseo è ulteriormente rimarcata dalla dimostrazione che in donne con eccesso di androgeni si è rilevata una maggiore BMD trabecolare rispetto alla media. Inoltre, negli uomini orchiettomizzati, dunque con deficit di testosterone, la perdita di massa ossea è più veloce (34).

1.5 Osteoporosi

1.5.1 Epidemiologia

L'osteoporosi è l'osteopatia più diffusa a livello globale. Essa consiste in una malattia sistemica ad eziologia multifattoriale caratterizzata da una riduzione della densità minerale ossea (BMD), da cui si ha un deterioramento della microarchitettura scheletrica, e un aumento della fragilità dello scheletro e della sua suscettibilità alle fratture.

A livello europeo circa 22 milioni di donne e oltre 5 milioni di uomini soffrono di osteoporosi; ogni anno si registrano circa 3.5 milioni di nuove fratture da fragilità. La prevalenza della malattia è del 5.5% nella popolazione generale e sale al 22.1% nelle donne e al 6.6% degli uomini sopra i cinquant'anni (29). A livello nazionale, il

gruppo di studio ESOPPO ha condotto uno studio multicentrico che ha messo in luce che la prevalenza di malattia è del 18.5% nelle donne sopra i quarant'anni e di circa il 10% negli uomini ultrasessantenni. Inoltre, si è visto che all'aumentare dell'età dei soggetti cresce il tasso di prevalenza di malattia, raggiungendo il 41.9% e il 13.3% rispettivamente nelle donne e negli uomini fra i 70 e i 79 anni (35).

1.5.3 Eziologia e classificazione

L'osteoporosi viene distinta in primaria e secondaria.

L'osteoporosi primaria è la più frequente, coinvolge infatti il 95% delle donne e l'80% degli uomini affetti dalla patologia. In questa categoria rientrano le forme di osteoporosi post-menopausale (tipo 1), senile (tipo 2), idiopatica, giovanile, maschile e da osteogenesi imperfetta (29). La deprivazione estrogenica del periodo post-menopausale che si verifica nell'osteoporosi di tipo 1, si riflette su una diminuzione dell'OPG, con un aumento del RANK-L e dunque una maggior attività osteoclastica a discapito della sopravvivenza osteoblastica. Nell'osteoporosi senile diminuisce invece l'attività osteoblastica. In entrambi i casi si verifica un maggior riassorbimento osseo.

L'osteoporosi secondaria coinvolge invece il 5% delle donne e il 20% degli uomini con osteoporosi. Può essere la conseguenza di varie cause: endocrine (es. ipertiroidismo, iperparatiroidismo, ipogonadismo, Sindrome di Cushing), neoplastiche (es. mieloma multiplo), congenite (osteogenesi imperfetta, omocistinuria, Malattia di Gaucher), da malassorbimento o malnutrizione (es. ipovitaminosi D, celiachia, IBD), da farmaci (es. cortisone, eparina, anticonvulsivanti), miscellanea (es. cirrosi, insufficienza renale, artrite reumatoide) o da immobilità (29).

1.5.2 Clinica

La cascata patogenetica che porta all'osteoporosi può essere influenzata e accelerata nel suo decorso da diversi fattori di rischio per la malattia. Questi vengono distinti in fattori di rischio non modificabili (es. sesso, etnia, età, familiarità, menarca tardivo o menopausa precoce) e fattori modificabili (es. nulliparità, carenze nutrizionali, ipovitaminosi D, farmaci, fumo, ridotto peso corporeo, immobilizzazione prolungata, sedentarietà).

L'osteoporosi si manifesta principalmente a livello clinico con fratture, di cui le più frequenti sono quelle vertebrali e femorali. Quest'ultime si associano ad un'alta incidenza di trombosi venosa profonda (TVP) e di embolia polmonare, nonché ad una mortalità post-chirurgica che oscilla dal 5 al 20% nel primo anno. Inoltre, impattano sulla qualità di vita (29): Le fratture vertebrali, tipiche della osteoporosi primaria post-menopausale, diventano clinicamente evidenti solo nel 33% dei casi, in genere per comparsa di riduzione della statura, cifosi e dolore persistente. Sebbene solo raramente determinino l'ospedalizzazione, risultano associate ad un incremento della morbilità a lungo termine e ad un moderato aumento della mortalità.

Esistono degli algoritmi specifici (es. il FRAX) che permettono di stimare il rischio a 10 anni di fratture maggiori del paziente, indipendentemente dalla valutazione densitometrica (29).

1.5.2 Diagnosi

La diagnosi di osteoporosi viene eseguita mediante l'esecuzione della densitometria ossea (DEXA o assorbimetria a raggi X a doppia energia). Le fratture vertebrali vengono generalmente identificate mediante radiografia della colonna dorso-lombare.

a) Densitometria ossea (DEXA)

Questa tecnica sfrutta fasci a raggi X per misurare il contenuto minerale dell'osso (BMC) e la sua area di sezione (CSA), così da ricavarne la densità minerale ossea (BMD). In genere la DEXA è eseguita a livello del rachide lombare e del femore. La BMD può essere calcolata come valore assoluto espresso in g/cm^2 o g/cm^3 ; per la standardizzazione dei risultati in genere si esprime il valore di densità ossea come T-score o Z-score: con il termine T-score s'indica il numero di deviazioni standard (DS) rispetto al valore medio del picco di massa ossea raggiunta da soggetti giovani, sani, della stessa etnia e sesso del paziente, mentre lo Z-score esprime un confronto, misurato sempre con deviazioni standard, rispetto ad una popolazione di individui della medesima età, etnia e sesso. Il T-score viene utilizzato per lo studio dell'osso

in donne in periodo post-menopausale e in uomini oltre i 50 anni, mentre per i bambini, donne fertili e uomini con meno di 50 anni è consigliato l'utilizzo dello Z-score. Con un T-score compreso tra -1 e -2.5 si parla di osteopenia, mentre un T-score minore di -2.5 DS indica uno stato di osteoporosi conclamata. Uno Z-score minore di -2 DS indica invece una densità ossea bassa per l'età del paziente.

Da alcuni anni la DEXA può essere affiancata ad una tecnica ad ultrasuoni (QUS o Quantitative Ultrasound) che permette di ottenere anche informazioni qualitative sulla struttura ossea, quali l'elasticità, la qualità della matrice e la connettività trabecolare (29).

b) Radiografia dello scheletro

L'esame radiologico dello scheletro presenta dei limiti per la diagnosi di osteoporosi, in quanto evidenzia la perdita di massa ossea solo in fasi avanzate di demineralizzazione. A livello morfologico, la radiografia tradizionale permette di riconoscere alterazioni tipiche da deformazione e/o frattura: i corpi vertebrali in questi casi si presentano come lenti biconcave per cedimento della zona centrale, appiattiti per il cedimento globale del corpo vertebrale o schiacciati a cuneo per cedimento della parte anteriore. In presenza di multiple deformità a cuneo il rachide presenterà un atteggiamento cifotico a grande arco (29).

c) pQCT

Un'ulteriore tecnica che consente di studiare diversi parametri biomeccanici e l'architettura dell'osso è la pQCT, che consiste in una tomografia computerizzata periferica quantitativa svolta in maniera non invasiva, generalmente a livello di radio o tibia. Uno dei parametri valutati alla pQCT è la densità minerale ossea volumetrica (vBMD) sia della componente trabecolare, sia di quella corticale. Questo permette di superare un limite dato dalla bidimensionalità della DXA, ossia l'esigenza di dover adeguare il risultato strumentale alla corporatura del soggetto in analisi. Con la pQCT è possibile studiare anche la geometria dell'osso, valutando le circonferenze endostali e periostali, lo spessore corticale e la sezione trasversale (CSA) dell'area trabecolare, corticale e quella totale. Vi è inoltre la possibilità di valutare parametri biomeccanici quali il Cross-Sectional Moment of Inertia (CSMI), una misura del potenziale di flessione dell'osso, il momento polare per inerzia, cioè la forza ossea nella torsione e lo Strength Strain Index (SSI), cioè un indice utile per

misurare flessione e rigidità. Questi parametri devono essere correlati alla lunghezza dell'osso in esame, poiché in base a questa esso sarà sottoposto a forze più o meno elevate. La pQCT permette anche di ricavare l'area di sezione trasversale del tessuto muscolare e adiposo, informazioni utili allo studio della composizione corporea e all'unità funzionale osteo-muscolare. Questo la rende una tecnica radiologica applicabile a diversi campi d'indagine. Al momento però il suo uso è limitato all'ambiente di ricerca a causa della mancanza di una standardizzazione metodologica di riferimento, che ne rende complessa la diffusione e l'applicazione clinica (36).

d) Indagini bio-umorali e marker di rimodellamento

Per finalità diagnostiche gli esami strumentali posso essere integrati con la valutazione di parametri biochimici, come lo studio del metabolismo fosfo-calcio, e dei marker di rimodellamento osseo.

Vengono pertanto richiesti emocromo, funzionalità epatica e renale, vitamina D, paratormone (PTH), calcemia, fosforemia, calciuria e fosfaturia delle 24 ore. In seconda battuta si possono eseguire indagini bio-umorali più mirate in base al sospetto diagnostico, quali il dosaggio degli anticorpi anti-transglutaminasi, il cortisolo urinario e sierico, la triptasi sierica o la valutazione dell'assetto tiroideo.

I marker di rimodellamento osseo rilevano eventuali alterazioni del metabolismo osseo più rapidamente (6-9 mesi per i marcatori di formazione e 1-3 mesi per quelli di riassorbimento) rispetto alla densitometria, la quale infatti impiega almeno un anno per mettere in luce alterazioni significative.

I marcatori di formazione principali comprendono:

- La **fosfatasi alcalina ossea (ALP)** che è presente a livello plasmatico in modo direttamente proporzionale al numero di osteoblasti e al loro stadio di differenziamento, poiché viene secreta durante la fase di maturazione da cellula mesenchimale ad osteoblasto. Il limite della ALP sta nella sua scarsa specificità, poiché questo isoenzima viene prodotto in più tessuti (es. epatico, renale, intestinale e placentare). Inoltre vi è un certo grado di cross-reattività tra l'isoforma dell'ALP ossea e quella epatica, che la rende un parametro di difficile interpretazione nei soggetti con epatopatie (37).

- L'**osteocalcina (OC)** rappresenta la proteina non-collagenica più rappresentata a livello osseo. La maggior parte dell'OC è legata alla matrice extracellulare, solo una piccola quota è presente in circolo. La funzione di questo peptide è quella di legare il calcio secreto dagli osteoblasti maturi, la sua concentrazione dunque correla con il tasso di apposizione ossea (37).
- I **pro-peptidi di estensione del pro-collagene 1 N- e C- terminali (PINP e PICP)** correlano direttamente con la secrezione osteoblastica dell'omonimo collagene. Il marcatore più utilizzato è quello N-terminale per via della sua maggiore emivita rispetto al PICP. Il PINP ha un andamento simile a quello dell'OC, ma rispetto ad essa risulta meno sensibile per le anomalie del turnover osseo, nonostante sia più efficace nell'evidenziare la risposta alla terapia per l'osteoporosi (38).

I principali marcatori di riassorbimento comprendono invece:

- I **telo-peptidi C- e N- terminali (CTX e NTX)**, i quali vengono clivati durante il riassorbimento osseo e dunque correlano a livello plasmatico con questa attività. L'NTX viene dosato principalmente nelle urine, mentre il CTX viene misurato a livello sierico con lo scopo di stimare il rischio di perdita ossea, di fratture osteoporotiche e l'efficacia della terapia anti-riassorbitiva nei soggetti osteoporotici (37).
- L'**isoforma b della fosfatasi acida tartrato resistente (TRACP5b)** è un enzima lisosomiale secreto dagli osteoclasti che si occupa del clivaggio del collagene I. È utilizzata come marcatore diretto del numero di osteoclasti. Sebbene la sua concentrazione non sia influenzata dalla funzionalità renale, i suoi livelli in circolo aumentano dopo aver svolto esercizio fisico e i suoi campioni sono instabili a temperatura ambiente (37).
- Altri marcatori sono l'**idrossiprolina** e i **cross-links del piridolinio (Pyr e D-Pyr)**.

1.6 Genetica dell'osso

I principali fattori di rischio non modificabili per l'osteoporosi primaria sono rappresentati da età, sesso, etnia e genetica (39). Quest'ultima in particolare, grazie a studi condotti su gemelli omozigoti, si è visto essere responsabile del 50-85% dei casi di osteoporosi primaria (40). Oltre alle forme monogeniche di osteoporosi

causate da rare mutazioni allocate in geni ben noti, vi sono anche varianti genetiche, (es. polimorfismi, CNVs ecc.) all'interno o in prossimità di geni codificanti per proteine coinvolte nelle pathways molecolari responsabili del mantenimento del metabolismo osseo, che potrebbero portare ad una riduzione della BMD e dunque ad una fragilità ossea (41). I geni maggiormente implicati nel metabolismo osseo sono:

- **ALPL**: collocato a livello del cromosoma 1, codifica per isoforme non tessuto specifiche della proteina ALP. A livello osseo questa proteina idrolizza il pirofosfato, un inibitore della formazione dell'idrossiapatite, e rilascia fosfato inorganico che combinato con il calcio promuove la mineralizzazione dell'osso. Mutazioni di questo gene sono state associate all'ipofosfatasia, un raro disordine caratterizzato da ipercalcemia e anomalie scheletriche (42).
- **CASR**: questo gene codifica per un GPCR (G protein-coupled receptor) di membrana calcio-sensibile, che trasduce segnali intracellulari importanti per modificare la secrezione paratiroidea del PTH o l'omeostasi renale degli ioni. Questa proteina ha dunque un ruolo fondamentale nell'equilibrio fosfo-calcico. Mutazioni in questo gene possono causare ipercalcemia ipocalciurica familiare (FHH), iperparatiroidismo neonatale severo e forme di ipocalcemia geneticamente determinate con trasmissione autosomica dominante (43).
- **PDLIM4**: codifica per una proteina coinvolta nello sviluppo dell'osso. Mutazioni di questo gene sono associate ad una maggior suscettibilità all'osteoporosi (44).
- **CALCR**: codifica per un GPCR ad alta affinità per la calcitonina. La funzione di tale recettore dunque è quella di mantenere l'omeostasi calcica e inibire il riassorbimento osseo mediato dagli osteoclasti. Polimorfismi di questo gene sono stati associati a variazioni della BMD e ad insorgenza di osteoporosi (45).
- **COL1A1 e COL1A2**: questi geni codificano rispettivamente per le catene alpha1 e alpha2 della tripla elica del collagene I. Questo tipo di collagene fibrillare si trova nella maggior parte dei tessuti connettivi e risulta particolarmente abbondante nell'osseo, nella cornea, nei tendini e nel

derma. Mutazioni di questi geni sono associate a sindromi quali: l'osteogenesi imperfetta tipi I-IV, la Sindrome di Ehlers-Danlos, la malattia di Caffey e l'osteoporosi idiopatica (46).

- **BMP1**: codifica per la Bone Morphogenetic protein 1, una metalloproteasi che regola i processi di formazione della matrice extracellulare (47).
- **LRP5**: codifica per un recettore transmembrana che lega lipoproteine a bassa densità e le internalizza tramite endocitosi. Inoltre, agisce anche come co-recettore delle proteine della famiglia Frizzled per trasdurre segnali della via di WNT. A livello osseo la proteina LRP5 partecipa alla regolazione omeostatica del tessuto. Mutazioni in questo gene causano alterazioni patologiche della BMD (48).
- **VDR**: codifica per il recettore nucleare della vitamina D3, che funge da fattore di trascrizione per target coinvolti nella regolazione del metabolismo fosfo-calcico, ma agisce anche come recettore per gli acidi biliari secondari e l'acido litocolico. Mutazioni di questo gene sono state associate alla resistenza alla vitamina D (49).
- **WNT1**: appartiene alla famiglia genica WNT. Le proteine codificate agiscono in vie di trasduzione del segnale implicate in fenomeni di oncogenesi e in alcune vie di differenziazione cellulare durante l'embriogenesi (50).
- **TNFSF11**: codifica per RANK-L, una citochina importante per il riassorbimento osseo (51).
- **SERPINF1**: codifica per PEDF, un membro delle proteine della famiglia Serpin. Mutazioni a carico di questo gene sono state identificate in individui affetti da osteogenesi imperfetta di tipo IV (52).
- **PLS3**: codifica per la Plastina, una binding-protein che nell'uomo è presente in tre isoforme: "L" espressa solamente nelle cellule ematopoietiche, "T" espressa in molti tessuti solidi ad elevato potenziale replicativo e infine la terza isoforma è espressa ad alti livelli nel piccolo intestino (53).
- **IFITM5**: codifica per una proteina di membrana coinvolta nel processo di mineralizzazione ossea. Una mutazione in questo gene è stata associata ad osteogenesi imperfetta di tipo V (54).

- **AR:** questo gene, localizzato nel braccio lungo del cromosoma X, codifica per il recettore androgenico. In seguito al legame con l'ormone il recettore dimerizza con una proteina omologa e migra nel nucleo stimolando la trascrizione degli androgen responsive elements.

Il recettore è composto da tre domini funzionali maggiori: la porzione N-terminale, il DNA-binding domain e l'androgen-binding domain. A livello della porzione N-terminale sono presenti delle triplette ripetute poliglutaminiche (CAG) e poligliciniche (GGC): un'espansione della tripletta poliglutaminica superiore alla norma, ossia dalle 9 alle 34 ripetizioni, può associarsi ad una minor funzionalità recettoriale, fino a quadri patologici che comprendo l'atrofia muscolare spino-bulbare (SBMA o Malattia di Kennedy), la sindrome da incompleta sensibilità agli androgeni e la sindrome da completa insensibilità agli androgeni (CAIS). Una riduzione del numero normale di triplette invece può associarsi a difetti della spermatogenesi, ipertrofia prostatica benigna e carcinoma prostatico (55).

1.7 Composizione corporea

1.7.1 Generalità e tecniche di analisi

La valutazione della composizione corporea è essenziale per definire lo stato nutrizionale e la salute di un individuo. Tramite metodiche standardizzate si raccolgono informazioni sulle componenti corporee principali: massa grassa (FM), massa magra (FFM) e stato di idratazione. Per valutare la composizione corporea si possono utilizzare più modelli:

- **Bicompartimentale:** il peso corporeo (BW) è il risultato della somma della massa grassa e della massa magra, la quale comprende tutti i tessuti non adiposi (es. muscoli, ossa, tendini, legamenti, organi);
- **Tricompartimentale:** tiene in considerazione la massa grassa (FM) e scinde quella magra in due sotto-compartimenti, la massa cellulare (BCM) e la massa extracellulare (ECM);

- **Quadricompartimentale:** considera la FM e scinde la FFM in acqua corporea totale (Total Body Water TBW), componente proteica e componente minerale (56).

Anche le tecniche per analizzare la composizione corporea sono molteplici. Sebbene la più diffusa, rapida e poco costosa sia il calcolo dell'indice di massa corporea (BMI), la sua variabilità (in base a fattori come età, sesso, etnia) e l'impossibilità di calcolare la distribuzione del grasso corporeo la rendono poco affidabile. Per questo, ci si avvale di strumenti quali la DEXA total body o la bioimpedenziometria (BIA) (56).

La DEXA total body permette di approfondire l'analisi della composizione corporea, poiché consente di misurare la massa grassa, la massa muscolare e il contenuto totale osseo grazie alla diversa attenuazione che questi tessuti danno ai raggi X, in virtù delle loro proprietà chimico-fisiche (57). Un altro indice particolarmente importante è quello di massa grassa (Fat Mass Index, FMI), che consiste nella massa grassa normalizzata per il quadrato dell'altezza del soggetto. Essendo l'FMI indipendente dalla massa magra, consente di superare il limite dato dal BMI che esamina esclusivamente il peso generale dell'individuo rispetto alla sua altezza, senza discernere la FI e la FFI: in definitiva dunque l'indice di massa grassa (FMI) è più attendibile per stimare il grado di obesità e sovrappeso dei pazienti.

1.7.2 Differenze di genere nella composizione corporea

Gli ormoni sessuali vanno ad influenzare anche la massa muscolare e la distribuzione del grasso corporeo, in ragione di ciò anche la composizione corporea tra i due sessi sarà differente. Il testosterone stimola il trofismo muscolare e l'accumulo di massa grassa nella zona addominale, al contrario gli estrogeni favoriscono l'accumulo di massa grassa a livello di fianchi e glutei. Questo fa sì che a parità di BMI, gli uomini presentino una maggior massa magra rispetto alle donne. Anche il rapporto tra la massa grassa androide e ginoide negli uomini risulta essere maggiore. Queste differenze tendono ad appiarsi dopo la quinta decade di vita, quando la massa grassa aumenta a discapito di quella magra in entrambi i sessi (58). Esiste poi una correlazione tra la composizione corporea e la BMD. Quest'ultima si associa positivamente in entrambi i sessi sia alla massa magra sia a quella grassa,

grazie allo stimolo meccanico che queste componenti esercitano sull'osso. Inoltre, per quanto riguarda la massa grassa è possibile che anche la secrezione di leptina, adiponectina e insulina eserciti uno stimolo positivo sul rimodellamento osseo (59). Va sottolineato che la massa grassa contribuisce maggiormente al mantenimento della densità minerale ossea nelle donne in età pre-menopausale e negli uomini di qualsiasi età, mentre in fase post-menopausale il fattore protettivo principale per le donne diventa la massa grassa (58). Il rapporto tra la massa grassa androide e ginoide è inversamente proporzionale alla BMD nelle donne, mentre negli uomini tale correlazione è più lieve e si mantiene solamente a livello della BMD lombare (58)

1.7.3 Composizione corporea nei soggetti transgender

In letteratura gli studi relativi alla composizione corporea dei soggetti transgender prima di iniziare il trattamento ormonale sostitutivo evidenziano nelle donne transgender (AMAB) una riduzione della forza e della massa muscolare rispetto ai controlli cis-gender (34) (60).

Durante il corso della GAHT la composizione corporea di questi pazienti va sempre più avvicinandosi verso quella del genere esperito: Yun et al riportavano che (61) già dopo 6 mesi di trattamento estrogenico nelle donne trans si registrava un aumento della massa grassa. Nel caso del trattamento androgenico invece si ha un aumento della massa muscolare e una diminuzione della massa grassa (62). Durante il TOS si ha inoltre un aumento del rapporto androide/ginoide negli uomini trans e una sua diminuzione nelle donne trans (61).

1.8 Transgender e metabolismo osseo

In letteratura pochi autori si sono concentrati sull'analisi dello stato osseo dei soggetti transgender prima dell'inizio della GAHT.

Da uno studio del 2013 di Van Caenegem et al è emerso che, prima dell'inizio della terapia ormonale, nei pazienti AFAB la areal Bone Mineral Density (aBMD) e la geometria dell'osso sono simili alla popolazione femminile cis di controllo. Al contrario, per ragioni ancora poco chiare, i pazienti AMAB presentano delle differenze nella struttura osteo-muscolare rispetto ai controlli maschili cis-gender:

nel gruppo transgender si sono evidenziati infatti delle minori Bone Mineral Content (BMC) e aBMD ed un più alto tasso di osteoporosi rispetto ai controlli comparati per età. All'esame pQCT è risultato che le donne trans presentano a livello corticale un minor spessore osseo ed una minore aBMD rispetto ai controlli. Anche la massa muscolare e la forza risultano minori rispetto alla popolazione maschile di riferimento (60).

Le ragioni che possono spiegare queste discrepanze sono molteplici: innanzitutto nelle donne trans vi è un minor stimolo meccanico sull'osso legato alla riduzione della forza e della componente muscolare, elementi che dunque non incentivano il processo prima di crescita e poi di mantenimento del tessuto osseo. In seconda istanza, nelle donne trans è stata rilevata una minor concentrazione plasmatica di vitamina D rispetto ai controlli. Da non sottovalutare inoltre il peso di alcune abitudini di vita sul metabolismo osseo: nelle donne trans si è infatti riscontrato un maggior isolamento sociale ed una minor attività fisica, entrambi elementi che possono essere considerati fattori di rischio per osteopatie. L'insieme di questi fattori può quindi compromettere, durante la fase di sviluppo adolescenziale, il raggiungimento del picco di massa ossea (60). In questo complesso meccanismo un ulteriore impatto può essere quello giocato dallo stress psicologico, insito alla DIG stessa; ad oggi, non sono disponibili studi che abbiano studiato il peso e l'eventuale associazione tra stress psicologico e le alterazioni del metabolismo osseo riscontrate nei soggetti transgender.

I risultati disponibili in letteratura sugli effetti a breve e lungo termine della terapia ormonale sostitutiva sull'osso non sono stati concordi: alcuni autori affermano che il trattamento gender-affirming, sia androgenico che estrogenico, non vada ad impattare sulla BMD (63); altri sostengono che la terapia ormonale sia in grado di indurre un peggioramento della BMD che accelera l'instaurarsi dell'osteoporosi, mentre altri ancora sostengono che il TOS migliori lo stato osseo.

Dallo studio prospettico di Wiepjes et al (34), condotto su soggetti transgender nei primi dieci anni di TOS, è emerso che prima dell'inizio della terapia ormonale il 21.9% delle donne trans e il 4.3% degli uomini trans reclutati avevano una BMD inferiore alla media per età (Z score < -2.0). Non sono stati registrati nel corso della TOS incrementi significativi della BMD a livello della colonna lombare, tuttavia si è

verificato un incremento dello Z-score, rispetto al sesso di nascita, nelle donne trans e negli uomini trans rispettivamente dello 0.22% e dello 0.34% a dieci anni. Gli autori concludevano che la GAHT non impatta negativamente sulla BMD.

Una metanalisi (63) eseguita su 13 studi effettuati tra il 1980 e il 2015, ha evidenziato un significativo aumento della BMD della colonna lombare in seguito all'assunzione di TOS estrogenico nelle donne trans. Il medesimo risultato invece non si è registrato negli uomini trans.

Un recente studio (61) ha messo in luce un miglioramento della BMD nelle donne trans, giustificando questo incremento come il risultato di più fattori congiunti: in primis l'effetto anti-riassorbitivo degli estrogeni, la correzione di eventuali deficit di vitamina D, il benefit psicologico legato al trattamento della DIG, l'interruzione di abitudini voluttuarie come il fumo e l'aumento dell'attività fisica (64).

Altri studi, condotti su uomini trans, hanno riportato che, dopo un anno di trattamento androgenico con testosterone, si registra un lieve aumento della vBMD trabecolare a livello radiale e della aBMD a livello femorale. Questo può essere spiegato non tanto con l'effetto diretto dell'ormone sull'osso, quanto più che altro con effetti indiretti: il testosterone infatti porta ad un aumento della massa muscolare, una diminuzione della massa grassa e dunque porta un maggior carico e stimolo a livello osseo, stimolandone il rimodellamento (65).

L'ampia variabilità di questi risultati potrebbe essere causata da problemi di campionamento: nella selezione dei partecipanti c'è infatti una grande variabilità tra i diversi studi, relativa all'età di inizio e alla durata della terapia, la dose assunta, l'aderenza del paziente alla terapia, gli stili di vita e lo stato osseo basale dei soggetti.

2. Materiali e metodi

2.1 Popolazione studiata

Questo studio osservazionale retrospettivo è stato condotto su 64 pazienti di età compresa tra i 16 e i 50 anni.

I pazienti transgender sono stati reclutati tra maggio 2018 e dicembre 2021 presso l'U.O.C. di Andrologia e Medicina della Riproduzione di Padova; durante il percorso

diagnostico, propedeutico all'inizio della GATH, sono stati valutati anche da un team di specialisti dell'unità di Geriatria per una valutazione approfondita del metabolismo osseo. I controlli sono stati selezionati da volontari reclutati tra gli studenti di medicina dell'Università degli studi di Padova e appaiati per età, sesso ed etnia.

I criteri di inclusione nello studio sono stati i seguenti:

- Assenza di GATH in corso o pregressa;
- Assenza di interventi chirurgici di riassegnazione sessuale;
- Età compresa tra i 16 e 50 anni;
- BMI < 35 kg/m².

Dei soggetti inizialmente reclutati, solo 25 soggetti transgender e 18 controlli cisgender hanno acconsentito all'indagine genetica sullo stato dell'osso. Il pannello utilizzato è stato disegnato per analizzare 14 geni (ALPL, CASR, COL1A1, COL1A2, BMP1, SERPINF1, IFITM5, LRP3, WNT1, TNFSF11, PLS3, PDLIM4, CALCR E VDR) i cui polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) possono portare ad un aumento della suscettibilità all'osteoporosi. Per l'effetto indiretto che il testosterone può avere sull'osso, è stato analizzato anche il gene codificante per l'AR.

Lo studio è strettamente conforme alla dichiarazione etica ISHLT. Il protocollo dello studio è stato approvato dal Comitato Etico per la Sperimentazione Clinica della Provincia di Padova ed è conforme alle linee guida della Dichiarazione di Helsinki. Ogni partecipante ha compilato un consenso informato scritto per partecipare allo studio.

2.2 Dati raccolti

Per ciascun partecipante allo studio sono stati raccolti i seguenti dati:

2.2.1 Anamnesi del paziente

Dalle cartelle mediche sono state ricavate informazioni relative alla storia clinica e farmacologica dei pazienti. In particolare: abitudini alimentari e tabagica, consumo di alcolici, attività fisica, presenza di patologie reumatologiche, gastroenterologiche, renali, endocrinologiche, neoplasie, pregresse fratture, familiarità per osteoporosi

e uso abituale di farmaci che possano influenzare il metabolismo osseo (es. corticosteroidi, tiroxina, diuretici, vitamina D ecc.).

2.2.2 Antropometria

Ai partecipanti, che indossavano abiti leggeri e senza le scarpe, sono stati misurati il peso corporeo e l'altezza. Il BMI è stato calcolato facendo il rapporto tra il peso corporeo del paziente e il quadrato dell'altezza (kg/m^2).

2.2.3 Densitometria ossea

La DEXA è stata eseguita con la tecnologia fan-beam (Hologic QDR 4500 W, Inc.), che ha permesso di valutare il contenuto minerale osseo (BMC) e la densità minerale ossea (BMD). Le scansioni sono state eseguite a livello della colonna lombare e del femore prossimale sinistro (in toto e collo). In ciascuna scansione sono stati registrati il BMD, il T-score e lo Z-score, ma data l'età dei soggetti per l'analisi si sono poi utilizzati i valori di Z-score, in accordo con le raccomandazioni dell'Organizzazione mondiale della sanità (WHO). I partecipanti sono stati dunque classificati come pazienti aventi un BMD inferiore ai limiti di norma quando lo Z-score, femorale o della colonna lombare, era minore di -2.

2.4.4 Composizione corporea

La DEXA total body eseguita con la tecnologia fan-beam (Hologic QDR 4500 W, Inc.) è stata utilizzata per misurare la massa magra (FFM), la massa grassa (FM) e la massa muscolare scheletrica appendicolare (Skeletal Appendicular Muscle Mass, ASMM). L'indice di massa muscolare scheletrica appendicolare (ASMMI) è stato ottenuto facendo il rapporto tra l'ASMM e il quadrato dell'altezza del paziente valutato in metri quadri.

2.2.5 Dati ematochimici

Sono stati raccolti i dati relativi ai seguenti esami bioumorali: ormone luteinizzante (LH), ormone follicolo-stimolante (FSH), ormone tiroide-stimolante (TSH), estradiolo, testosterone, progesterone, prolattina (PRL), paratormone (PTH), calcio e fosfato sierici e 25-idrossi-vitamina D. Le analisi sono state effettuate secondo procedure standard presso i laboratori dell'ospedale dell'Università di Padova, i quali sono in possesso dell'accreditazione della Patologia Clinica.

2.4.6 Dati genetici

Il DNA genomico utilizzato per l'indagine genetica è stato estratto dai leucociti del sangue periferico usando il "QIAamp DNA Blood Mini Kit", secondo quanto indicato dal protocollo del produttore (Qiagen Inc., Hilden, Germany).

La qualità del campione è stata determinata usando un NanoDrop-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) ed un fluorimetro Qubit 2.0 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA).

I kit di analisi Qubit dsDNA BR (broad range, 2 to 1000 ng) e Qubit dsDNA HS (high sensitivity, 0.2 to 100 ng) sono stati usati con un fluorimetro Qubit, secondo le indicazioni del produttore.

È stato eseguito uno screening di tutto il DNA attraverso l'utilizzo di pannello NGS che includeva geni/loci che possono portare ad una maggiore suscettibilità all'osteoporosi, così come riportato nell'Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) database: ALPL, BMP1, COL1A1, COL1A2, CALCR, CASR, LRP5, PDLIM4, VDR, AR, SERPINF1, IFITM5, WNT1, TNFSF11 e PLS3. Inoltre, il pannello includeva siti di splicing, 50 regioni non tradotte (UTRs) e 30 UTR per ciascun gene elencato.

Le sonde sono state progettate per coprire tutte le regioni selezionate e sono state create tramite l'applicazione DesignStudio (Illumina Inc., San Diego, CA, USA), usando il GRCh37/19 come genoma di riferimento.

Le librerie per il sequenziamento dei campioni sono state preparate a partire da 100 ng di DNA dall'Ampliseq Library kit, secondo le indicazioni del produttore (Illumina, San Diego, CA, USA). Le librerie di amplificazione sono state valutate e quantificate dal sistema 4200 Agilent TapeStation che utilizza l'Agilent D1000 ScreenTape (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Concentrazioni equimolari (2nM) delle librerie sono state combinate, denaturate e diluite fino alla concentrazione finale di 8 pM, secondo quanto indicato dal produttore. Le librerie sono state dunque caricate su una cartuccia di reagente (Illumina, San Diego, CA, USA) processata a 500 cicli su un MiSeq sequencer (Illumina, San Diego, CA, USA).

Gli algoritmi BWA-MEM e GATK sono stati usati rispettivamente per allineare il genoma rispetto a quello di riferimento (GRCh37/hg19) e per identificare le varianti. Le varianti con una frequenza allelica minore dell'1% sono state confermate con la tecnica di sequenziamento Sanger.

2.4.7 Questionari

Nell'ambito di una valutazione multidisciplinare è stato chiesto ai pazienti di compilare i seguenti questionari:

- **PATIENT HEALTH QUESTIONNAIRE 9 (PHQ 9):** questo strumento indaga il benessere psicologico del paziente. Consiste in nove domande e a ciascuna si risponde con un punteggio che va da 0 a 3. In base alla somma totale degli scores i pazienti vengono stratificati in cinque categorie relative al grado di depressione del soggetto: con un punteggio che va da 5 a 9 si parla di depressione sottosoglia, tra 10 e 14 di depressione maggiore lieve, tra 15 e 19 di depressione maggiore moderata e sopra i 20 punti di depressione maggiore severa (66).
- **PERCEIVED STRESS SCALE (PSS):** tale questionario è progettato per valutare come gli individui pesano soggettivamente le situazioni di stress della loro vita. Le risposte sono raccolte usando una scala Likert che va da 0 (mai) a 5 (molto spesso). Se la somma finale dei punteggi è compresa da 0 a 13 indica dei livelli di stress bassi, tra 14 e 26 livelli di stress moderati e tra 27 e 40 livelli di stress alti.

2.3 Analisi genetica

I dati raccolti sono stati analizzati dal software VariantStudio v.3.0 (Illumina, San Diego, CA, USA) e l'Integrative Genomics Viewer (IGV) è stato usato come strumento di rilevazioni delle varianti. I database "dbSNP database" and "Ensembl browser", disponibili online, sono stati usati per trovare la localizzazione e la frequenza delle varianti. La classificazione delle varianti è stata eseguita sulla base delle linee guida stilate dall'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG).

2.4 Analisi statistica

Le caratteristiche del campione studiato sono state espresse come deviazione standard media per le variabili quantitative continue con normale distribuzione, e come mediana (25esimo – 75esimo percentile) per quelle con distribuzione non normale. La normalità della distribuzione delle variabili continue è stata verificata con il test di Shapiro-Wilk. Le variabili categoriche sono state espresse come

numerosità e percentuale. Le caratteristiche dei partecipanti allo studio, la prevalenza dei polimorfismi genetici ed i risultati dei test sono stati confrontati per sesso e classe di età dai test di Mann-Whitney e Kruskal-Wallis per le variabili quantitative e dal test del chi quadro per le variabili categoriche. Le correlazioni sono state eseguite utilizzando il coefficiente di correlazione di Pearson (r) o il coefficiente di correlazione di rango di Spearman (rs) quando le variabili non erano normalmente distribuite.

L'influenza della ripetizione triplette CAG e GGC del recettore androgenico sul metabolismo osseo e la composizione corporea è stata determinata assumendo i polimorfismi come variabili continue o dicotomiche per limiti allelici. I pazienti sono stati stratificati come individui con triplette CAG corte (CAG short, CAG_S) quando le ripetizioni della tripletta poliglutaminica erano minori o uguali a 21, e come individui con triplette CAG lunghe (CAG long, CAG_L) quando le ripetizioni erano maggiori di 21. La medesima suddivisione è stata usata per le triplette GGC, utilizzando come cut-off 17 ripetizioni. L'individuazione di queste soglie per la stratificazione dei due gruppi si basa sul valore della mediana delle triplette CAG e GGC dei nostri pazienti (rispettivamente 21 e 17), in linea con quanto già svolto da altri autori sul medesimo tema (67) (68) (69).

Le analisi sono state eseguite con i pacchetti statistici IBM SPSS version 25 (IBM Corp., Armonk, NY) e SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC).

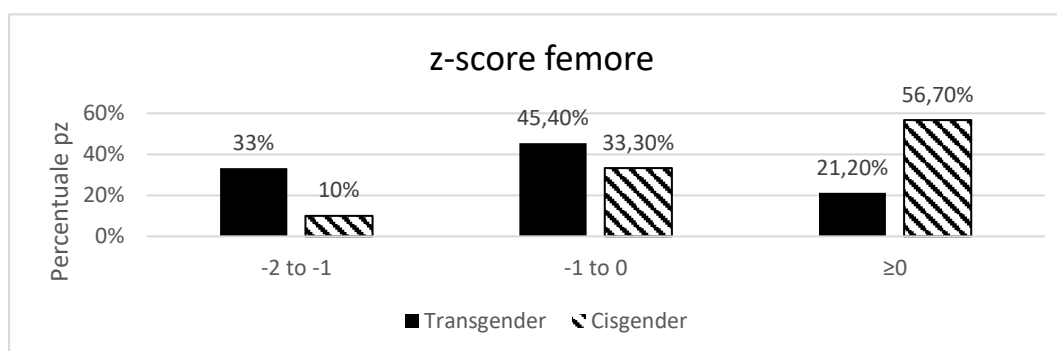
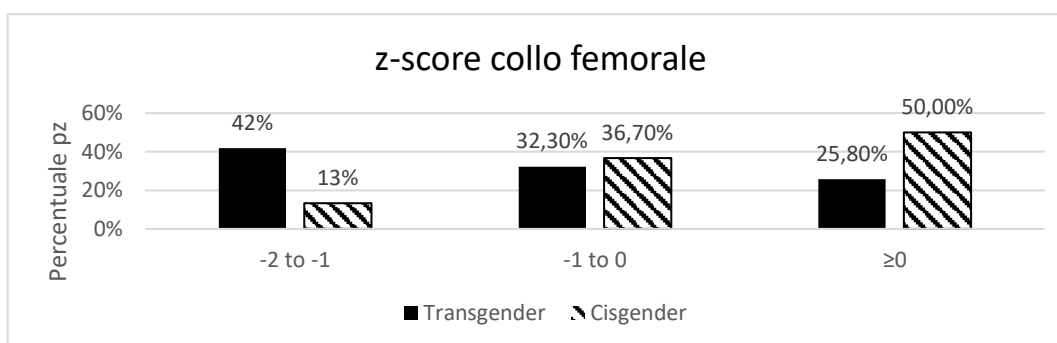
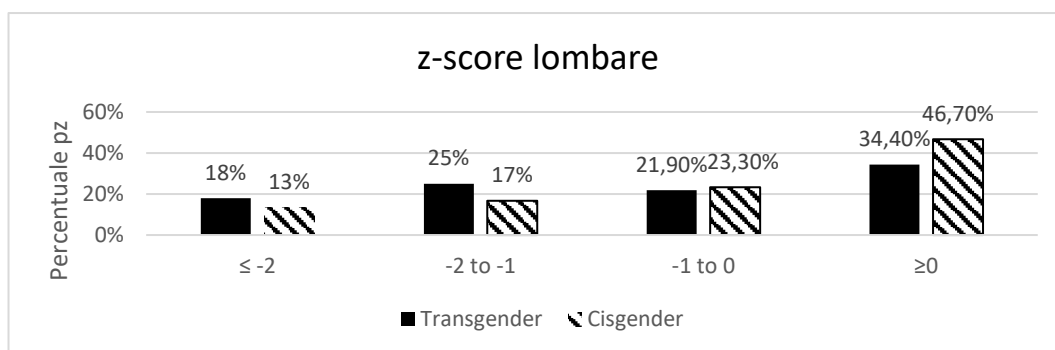
3. Risultati

Abbiamo analizzato un campione composto da 64 soggetti: 32 pazienti transgender che non avevano ancora intrapreso la terapia ormonale e 32 controlli cis gender. L'età dei partecipanti era compresa tra i 16 e i 50 anni, con una media di (25.26 ± 6.31) anni per i transgender e di (24.77±4.81) anni per i controlli. Tra i soggetti transgender reclutati 17 (53.1% del totale) erano uomini transgender (AFAB) e 15 (46.9%) erano donne transgender (AMAB).

In prima istanza (**Figura 2**), è stata analizzata la distribuzione del valore dello z-score nei due gruppi, considerando tre siti diversi: la colonna lombare, il collo femorale e il femore totale. I soggetti transgender presentavano valori densitometrici peggiori

rispetto ai controlli in tutti i siti, ma tale differenza era particolarmente accentuata a livello femorale.

Figura 2 Distribuzione dello z-score nei soggetti transgender studiati e nei controlli cisgender. Sono stati considerati tre siti: colonna lombare, collo femorale e femore totale.



Nella **Tabella 1** vengono illustrate le caratteristiche del campione allo stato basale. Non sono state registrate differenze per quanto riguarda l'età, l'altezza, il peso e il BMI tra i due gruppi.

I fumatori erano presenti solo tra i soggetti transgender: il 33.3 % era un fumatore attivo, con una media giornaliera di sigarette consumate di circa 2 sigarette/die.

Per quanto riguarda i valori densitometrici, si nota che nei soggetti transgender sia lo z-score sia la densità minerale ossea (BMD) hanno un andamento peggiore in tutti i siti rispetto ai controlli cis-gender. Nei transgender e nei cisgender i valori di z-score erano rispettivamente di: -0.77 ± 1.25 vs -0.22 ± 1.17 a livello lombare, 0.66 ± 1.03 vs 0.10 ± 1.02 a livello del collo femorale e infine di -0.48 ± 0.95 vs 0.19 ± 0.88 a livello del femore totale. Tali differenze risultano essere statisticamente significative a livello del collo femorale e del femore totale, con una p-value rispettivamente di 0.004 e di 0.006. Per quanto riguarda la BMD, abbiamo osservato differenze statisticamente significative a livello del collo femorale e del femore totale (0.81 ± 0.11 vs 0.88 ± 0.12 , $p=0.018$ e 0.91 ± 0.11 vs 0.99 ± 0.13 , $p=0.003$ rispettivamente).

Non sono state riscontrate differenze significative nella composizione corporea tra i due gruppi, con l'eccezione della massa magra totale che si riscontrava essere minore nei soggetti transgender rispetto ai controlli (p-value = 0.03).

Infine, per quanto riguarda l'autovalutazione dei livelli di umore e dello stress, misurati con i questionari Patient Health Questionnaire 9 (PHQ 9) e Perceived Stress Scale (PSS), gli scores finali sono risultati essere marcatamente più alti nella popolazione transgender. In particolare, per il PHQ-9 i risultati sono stati nei transgender e nei cisgender rispettivamente di 10.00 ± 7.14 vs 4.13 ± 3.30 e per quanto riguarda il PSS di 18.52 ± 6.26 vs 15.82 ± 7 . Nel caso del PHQ-9 la differenza registrata è statisticamente significativa ($p=0.001$). La **Figura 3** riporta, nel dettaglio, le differenze di punteggio relativa ai singoli domini del PHQ-9.

Per quanto concerne il profilo biochimico, non sono state registrate differenze significative tra il gruppo di pazienti transgender e i controlli cis-gender, né relativamente al profilo ormonale, né per i marker di rimodellamento osseo (dati non riportati), né per quanto riguarda il metabolismo fosfo-calcico (**Tabella 2**).

Tabella 1 Caratteristiche basali del campione di soggetti transgender e dei controlli cis-gender

	Transgender (n=32)	Cis-controls (n=32)	p-value
Età	25.26±6.31	24.77±4.81	0.34
Peso [kg]	67.91±14.38	67.11±10.82	0.78
Altezza [cm]	170.60±9.49	173.16±8.79	0.23
BMI	24.60±8.49	22.33±2.47	0.17
<i>Abitudine tabagica</i>			0.01
Fumatori attivi	11 (33.3%)	0	
Numero di sigarette/die	2.40±3.97	0	
Precedente tabagismo	0	0	
<i>Valori densitometrici</i>			
z-score collo femorale	-0.66±1.03	0.10±1.02	0.004
z-score femore totale	-0.48±0.95	0.19±0.88	0.006
z-score Colonna lombare	-0.77±1.25	-0.22±1.17	0.06
BMD collo femorale	0.81±0.11	0.88±0.12	0.018
BMD collo totale	0.91±0.11	0.99±0.13	0.003
BMD Colonna lombare	0.94±0.20	1.04±1.12	0.06
<i>Composizione corporea</i>			
% Grasso	24.61±8.59	20.94±6.37	0.12
Massa grassa totale (kg)	17.00±9.26	16.08±9.34	0.72
Massa magra totale (kg)	48.66±8.97	52.41±9.36	0.03
<i>Questionari</i>			
PHQ	10.00±7.14	4.13±3.30	0.001
PSS	18.52±6.26	15.82±7.42	0.23

Note: I numeri sono espressi come media ± DS, mediana (range interquartile) o percentuale (%).

Abbreviazioni: BMI = Indice di masas corporea; BMD = Densità minerale ossea; PHQ= Patient Health Questionnaire-9; PSS= Perceived Stress Scale.

Figura 3 Risposte, espresse con la media, della popolazione transgender e cis-gender per ogni domanda del PHQ9

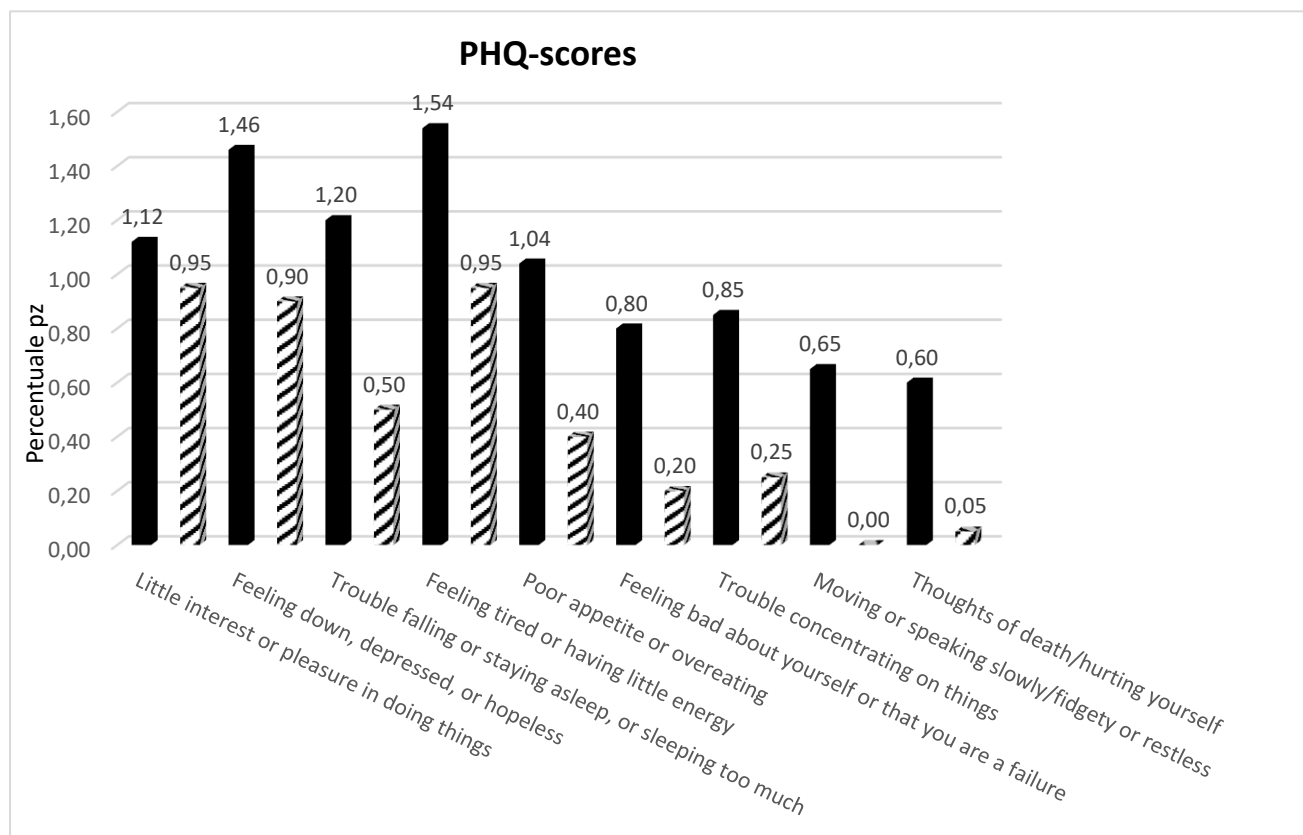


Tabella 2 Metabolismo fosfo-calcio del campione allo stato basale

	Transgender (n=32)	Controlli-cis (n=32)	p-value
Calcio [mg/dL]	9.65±0.43	9.67±0.33	0.93
Fosfato [mg/dL]	4.30±2.76	2.67±0.65	0.16
Paratormone [ng/L]	27.10±17.24	41.37±24.20	0.21
Vitamina D [nmol/L]	56.28±38.17	63.75±35.47	0.64

Note: I numeri sono espressi come media±DS, mediana (range interquartile) o percentuale (%).
 Abbreviazioni: PTH= ormone paratiroideo.

Nella **Tabella 3** sono illustrate le correlazioni di Pearson tra la BMD, lombare e femorale (al collo e totale), ed età, numero di sigarette fumate, peso, altezza, parametri biochimici e composizione corporea. La BMD lombare era correlata positivamente con la massa grassa totale ($r= 0.51$, $p=0.01$), la BMD a livello del collo femorale con la massa grassa totale ($r=0.44$, $p=0.05$) e la BMD a livello del femore totale con la massa grassa totale e il peso ($r=0.38$, $p\text{ value}=0.05$ e $r=0.48$, $p=0.01$, rispettivamente).

Tabella 3. *Correlazioni di Pearson tra BMD lombare, femorale totale e collo femorale nei soggetti transgender.*

	BMD lombare	BMD femore tot	BMD collo femorale
Età	-0.13	-0.07	-0.26
Numero di sigarette	-0.20	-0.72	-0.13
Peso (kg)	0.24	0.38*	0.34
Altezza (m)	-0.24	-0.29	0.06
Massa grassa totale (kg)	0.51**	0.48**	0.44*
Massa magra totale (kg)	-0.10	0.09	0.09
Testosterone sierico	-0.68	-0.45	-0.50
Estradiolo	0.48	0.24	0.14
Vitamina D	-0.36	-0.45	-0.27

* $p=0.05$; ** $p=0.01$

La **figura 4** riporta la distribuzione della frequenza dei polimorfismi del pannello dell'osteoporosi nella popolazione transgender e nei controlli cis-gender. I SNP sono equamente distribuiti con percentuali simili tra i due gruppi, con l'eccezione dei polimorfismi relativi ai geni ALPL (44.40% dei cis-gender vs 38.90% dei transgender), CALCR (22.20 % vs. 55.60%) e PDLIM4 (22.00% vs 0.00%) che sono riportati nella **tabella 4**. Tuttavia, analizzando la distribuzione della frequenza dei polimorfismi nella popolazione transgender e stratificandola per i valori densitometrici a livello della colonna lombare, del collo femorale e del femore totale, non sono state riscontrate delle associazioni statisticamente significative (**tabelle 5,6,7**),

Figura 4 Distribuzione dei polimorfismi del pannello osteoporosi nella popolazione transgender e nei controlli cis-gender

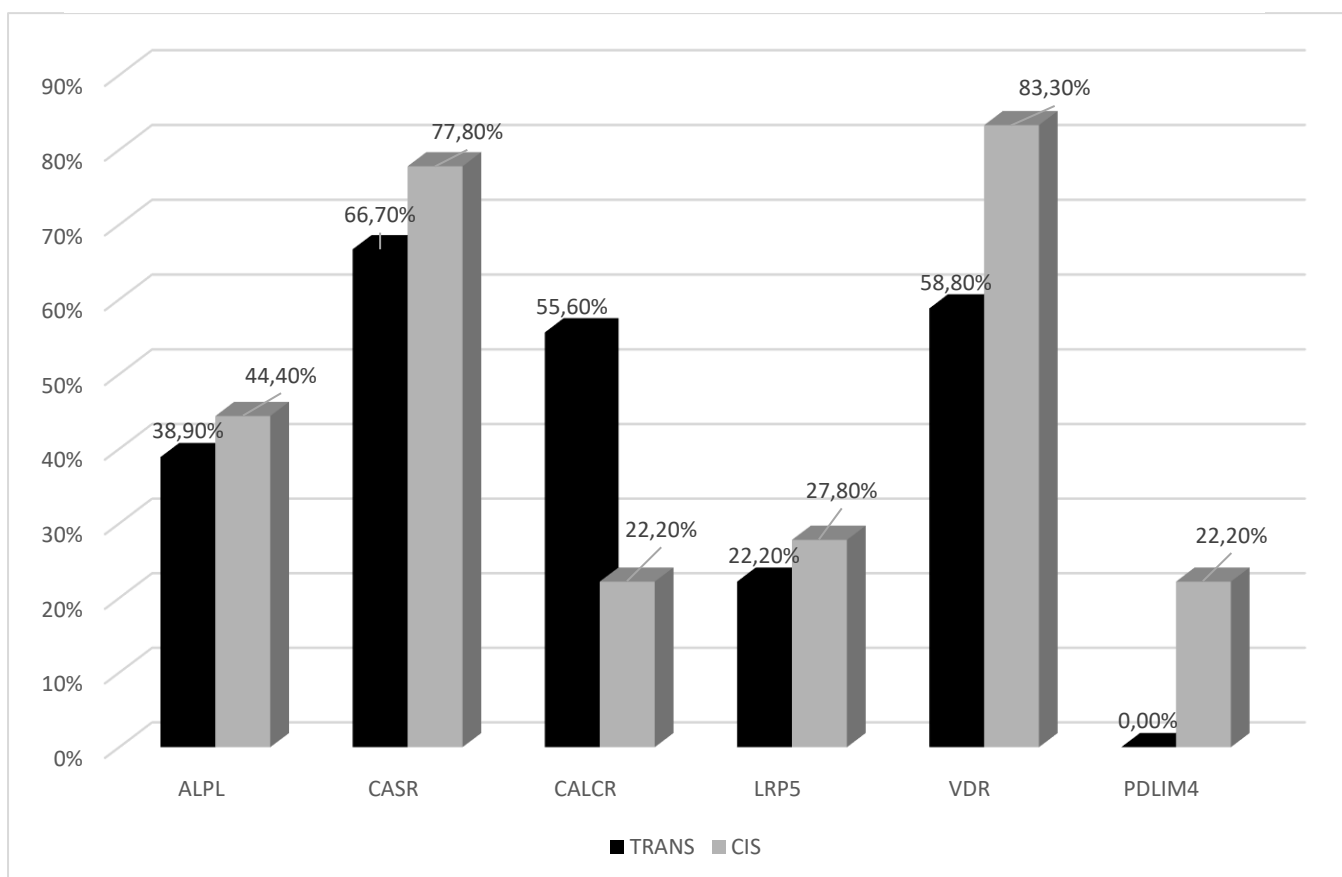


Tabella 4: Confronto della frequenza dei polimorfismi dei geni ALPL, CALCR e PDLIM4

GENE	CODICE SNP	CODONE	VARIANTE ALLELICA	VARIANTE AMMINOACIDICA	CIS-GENDER (n=18)		TRANSGENDER (n=25)	
					EZ	OZ	EZ	OZ
ALPL	rs149344982	152	G>A	R/H	5 (1)	0	4 (1)	0
ALPL	rs34605986	522	T>C	V/A	22 (4)	0	12 (3)	0
ALPL	rs3200254	263	T>C	Y/H	22 (4)	0	16 (4)	0
CALCR	rs2301680	17	T>C	S/P	44 (8)	17 (3)	0	24 (6)
CALCR	rs1801197	481	A>G	L/P	56 (10)	0	48 (12)	0
PDLIM4	rs4877	259	G>G/T	C/G	17 (3)	6 (1)	0	0

Note: i numeri sono espressi come percentuale; tra parentesi il numero di pazienti.
 Abbreviazioni: EZ= eterozigosi, OZ=omozigosi.

Geni	z-score colonna		p-value
	≥-1	<-1	
ALPL	5 (33.3%)	4 (40.0%)	1.00
BMP	2 (12.5%)	2 (22.2%)	0.60
CALCR	12 (75.0%)	8 (88.9%)	1.00
CASR	7 (70.0%)	6 (75.0%)	1.00
COL1A1	16 (100.0%)	7 (77.8%)	0.12
COL1A2	14 (87.5%)	7 (77.8%)	0.63
LRP5	3 (18.8%)	3 (33.3%)	0.63
SERPINF	11 (68.8%)	7 (77.8%)	1.00
TNFF1	0	1 (11.1%)	0.36
VDR	12. (75.0%)	7 (77.8%)	1.00

Tabella 5: Confronto della frequenza dei polimorfismi a seconda dei valori densitometrici nel campione transgender: z-score colonna lombare (n=25)

Geni	z-score femore collo		p-value
	≥-1	<-1	
ALPL	3 (23.1%)	4 (36.4%)	0.66
BMP	2 (15.4%)	2 (18.2%)	1.00
CALCR	10 (76.9%)	9 (81.8%)	1.00
CASR	6 (75.0%)	7 (77.8%)	1.00
COL1A1	13 (100%)	9 (81.8%)	0.20
COL1A2	12 (92.3%)	8 (72.7%)	0.30
LRP5	2 (15.4%)	4 (36.4%)	0.36
SERPINF	9 (69.2%)	8 (72.7%)	1.00
TNFFF1	0	1 (9.1%)	0.47
VDR	10 (76.9%)	9 (81.8%)	1.00

Tabella 6: Confronto della frequenza dei polimorfismi a seconda dei valori densitometrici nel campione transgender: z-score collo femorale (n=25).

Geni	z-score femore totale		p-value
	≥-1	<-1	
ALPL	5 (29.4%)	3 (37.5%)	1.00
BMP	2 (11.8%)	2 (25.0%)	0.57
CALCR	14 (82.4%)	6 (75.0%)	1.00
CASR	8 (66.7%)	5 (83.3%)	0.62
COL1A1	16 (94.1%)	7 (87.5%)	1.00
COL1A2	15 (88.2%)	6 (75.0%)	0.57
LRP5	3 (17.6%)	3 (37.5%)	0.34
SERPINF	11 (64.7%)	7 (87.5%)	0.36
TNFFF1	0	1 (12.5%)	0.32
VDR	12 (70.6%)	7 (87.5%)	0.62

Tabella 7: Confronto della frequenza dei polimorfismi a seconda dei valori densitometrici nel campione transgender: z-score femore totale (n=25)

Dal sequenziamento del recettore androgenico nei soggetti transgender è emerso che due pazienti su 25 (8%) presentano la mutazione missenso L548F. Nessuna mutazione è stata riscontrata nel gruppo di controllo. Gli individui portatori della mutazione erano: un soggetto AMAB con mutazione L548F in omozigosi, 19 triplette CAG e 18 GGC, ed una paziente AFAB eterozigote per la mutazione L548F, con 19 triplette CAG sul primo allele, 24 triplette CAG sul secondo allele, 17 ripetizioni di GGC sul primo allele e 18 ripetizioni GGC sul secondo.

Nei pazienti transgender è stata poi analizzata la distribuzione dei valori densitometrici e di composizione corporea in relazione al numero di ripetizioni delle triplette poliglutaminiche (CAG), **tabella 8**, e poligliciniche (GGC), **tabella 9**, nell'esone 1 del recettore androgenico.

Non sono emerse associazioni statisticamente significative tra i valori di z-score nei siti esplorati e la lunghezza delle triplette

I pazienti sono anche stati stratificati in base a quattro combinazioni di aplotipi: CAG_S + GGC_S, CAG_L + GGC_L, CAG_S + GGC_L e CAG_L + GGC_S. È stata presa in considerazione la correlazione tra gli aplotipi e i valori densitometrici di z-score e BMD, **figura 5**, ma non è stata riscontrata alcuna significatività statistica (dati non riportati).

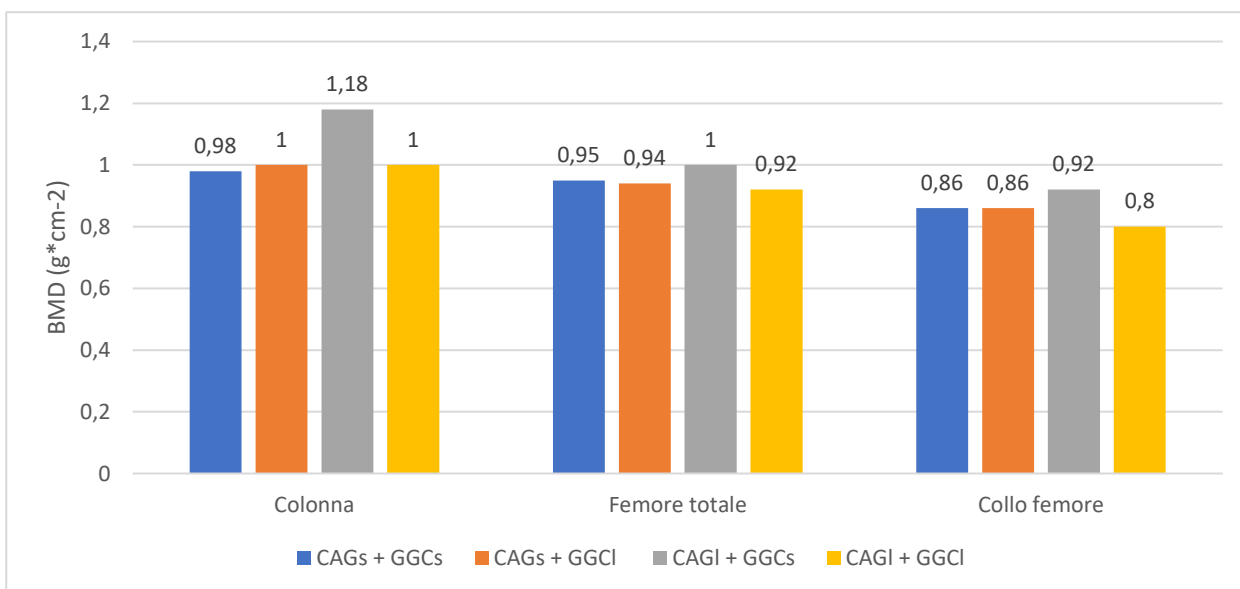


Figura 5: Correlazione tra gli aplotipi CAG+GGC e i valori di BMD

Tabella 8. Parametri densitometrici e di composizione corporea in soggetti transgender con polimorfismi CAG_S e CAG_L dell'AR.

	CAG_S (n=8)	CAG_L (n=16)	p-value
Età	21.67±2.50	26.10±5.47	0.08
Peso [kg]	68.57±13.57	66.79±18.95	0.85
Altezza [cm]	167.83±6.55	170.07±8.13	0.58
BMI	24.48±4.77	24.67±10.20	0.51
<i>Valori densitometrici</i>			
z-score collo femorale	-0.73±1.09	-0.20±1.36	0.37
z-score femore tot.	-0.64±0.97	0.00±1.29	0.37
z-score lombare	-0.92±1.39	0.04±1.53	0.15
BMD collo femorale	0.86±0.10	0.95±0.17	0.77
BMD femore tot.	0.95±0.10	0.95±0.17	0.98
BMD lombare	0.99±0.14	1.05±0.17	0.40
<i>Composizione corporea</i>			
% grasso	27.15±9.44	24.67±10.20	0.63
Massa grassa tot (kg)	19.47±9.93	17.62±12.45	0.76
Massa magra tot (kg)	46.91±5.08	47.54±10.18	0.91

Note: I numeri sono espresso come media±DS, mediana (range interquartile) o percentuale (%).

Abbreviazioni: BMI = Indice di massa corporea; BMD = Densità minerale ossea.

Tabella 9. Parametri densitometrici e di composizione corporea in soggetti transgender con polimorfismi GGC_s e GGC_i dell'AR .

	GGC_s (n=9)	GGC_i (n=14)	p-value
Età	23.20±4.49	25.20±5.53	0.50
Peso [kg]	59.58±10.55	71.54±18.97	0.22
Altezza [cm]	163.40±2.96	172.67±7.28	0.02
BMI	22.34±4.81	23.79±5.47	0.62
<i>Valori densitometrici</i>			
z-score collo femorale	-0.11±1.48	-0.49±1.24	0.53
z-score femore tot.	-0.01±1.23	-0.31±1.27	0.58
z-score lombare	0.23±1.80	-0.59±1.36	0.23
BMD collo femorale	0.89±0.15	0.81±0.13	0.27
BMD femore tot.	0.98±0.15	0.92±0.15	0.41
BMD lombare	1.09±0.21	1.00±0.13	0.23
<i>Composizione corporea</i>			
% grasso	25.64±5.91	25.08±11.73	0.92
Massa grassa tot (kg)	15.62±5.48	19.39±13.87	0.51
Massa magra tot (kg)	42.03±6.32	50.02±8.37	0.09

Note: I numeri sono espresso come media±DS, mediana (range interquartile) o percentuale (%).
Abbreviazioni: BMI = Indice di massa corporea; BMD = Densità minerale ossea.

4. Discussione

L'obiettivo di questo studio osservazionale retrospettivo era quello di analizzare lo stato scheletrico dei pazienti transgender prima dell'inizio della terapia ormonale, andando a valutare in particolare il profilo biochimico e il potenziale impatto della genetica sul metabolismo osseo.

4.1 Dati epidemiologici

Nel nostro studio il sex ratio tra AMAB e AFAB è pari a 0.88:1, un dato in linea con quanto evidenziato nei più recenti lavori disponibili in letteratura: storicamente la prevalenza della disforia di genere era maggiore negli individui AMAB (13) (14) (15), tuttavia negli ultimi anni si sta registrando un'inversione di tendenza a favore delle persone AFAB (13) (70), in particolare tra gli adolescenti (71). È possibile che questo cambiamento epidemiologico sia legato a mutamenti sociali, che possono aver aiutato una maggior quota di persone AFAB a fare coming out (13).

4.2 Dati densitometrici, composizione corporea e stress emotivo

Nonostante il numero ristretto di studi condotti sul metabolismo osseo e la composizione corporea dei soggetti transgender prima dell'inizio della terapia ormonale (34) (60) (65)(76-79), i risultati registrati nel nostro lavoro sottolineano quanto già noto in letteratura: i soggetti transgender allo stato basale presentano alla colonna lombare e al femore un andamento densitometrico peggiore rispetto ai controlli cis-gender, con differenze particolarmente marcate a livello femorale, e una complessiva riduzione della massa magra totale. Van Caenegem et al., studiando le donne trans, (72) (60) (73), riportava infatti una marcata riduzione della BMD e della massa muscolare rispetto ai controlli, a fronte di livelli comparabili per quanto riguarda gli ormoni sessuali. Negli uomini trans, sono stati invece riportati valori di BMD simili, se non superiori, a quelli dei controlli femminili (65) (74) (75).

I nostri risultati potrebbero essere in parte spiegati dal mancato raggiungimento del picco di massa ossea nei soggetti transgender rispetto ai cis di pari età; questo influenzerebbe la salute dell'osso negli anni successivi. La crescita ossea nel

periodo adolescenziale è influenzata da molteplici elementi, tra cui fattori genetici, stile di vita, abitudini nutrizionali e fattori meccanici (76) (78). In merito a quest'ultimi, non si deve considerare solamente esercizio fisico sotto carico (78) (79), ma anche il ruolo della massa magra. Meno predominante e più dibattuto è il ruolo della massa grassa: se da un lato l'eccesso di tessuto adiposo sembra influenzare negativamente lo sviluppo dell'osso, dall'altro lato si è visto che la secrezione di adipochine e citochine indotta dalla massa grassa può stimolare una maggiore conversione del precursore steroideo in estrogeni, i quali a loro volta stimolano una maggiore apposizione ossea, con effetti benefici soprattutto nelle donne (77) (80) (81) (82). Queste premesse potrebbero spiegare le associazioni positive riscontrate nel nostro campione tra la massa grassa totale e la BMD lombare ($r=0.51$, $p=0.01$), la BMD a livello del collo femorale ($r=0.44$, $p=0.05$) e la BMD a livello del femore totale ($r=0.38$, $p\text{ value}=0.05$).

Nei transgender abbiamo inoltre rilevato dei punteggi maggiori al test del PHQ-9 rispetto ai controlli cis. Nonostante sia nota la maggiore incidenza in questi soggetti di abuso di sostanze, rischio suicidario, disturbi ansiosi e dell'umore, rispetto alla popolazione generale (8) (9) (7), non è mai stato approfondito l'impatto delle psicopatologie sulla salute dell'osso delle persone transgender. È possibile infatti che il distress psicologico insito nella condizione di disforia stessa (1) possa avere un impatto sulle attività quotidiane e sulle abitudini di vita che influenzano il metabolismo osseo di questi soggetti, quali l'attività sportiva, la nutrizione ecc. In quest'ottica potrebbe trovare una spiegazione anche l'alto tasso di fumatori che abbiamo riscontrato nel gruppo transgender rispetto ai controlli. L'esposizione al tabacco è stata associata ad una riduzione della BMD e ad un aumentato rischio di fratture; il fumo sembra infatti essere un induttore della via di RANK L-RANK-OPG, una pathway cruciale nel rimodellamento osseo (79) (84) (85) (86). Inoltre, studi condotti su pazienti cis-gender hanno evidenziato un aumentata prevalenza di bassa BMD negli adulti con disturbi depressivi, anche se i meccanismi fisiopatologici coinvolti non sono ancora stati chiariti (87) (88) (89).

4.3 Dati biochimici

I nostri risultati non hanno evidenziato differenze significative a livello bioumorale tra i pazienti transgender e i controlli cis-gender, né per quanto riguarda il profilo ormonale, né per quanto riguarda il metabolismo fosfo-calcico. È possibile che la ridotta densità minerale ossea che si riscontra nei soggetti transgender prima della GAHT sia un fenomeno ormone-indipendente, influenzato da altri fattori quali la genetica, l'ambiente e lo stile di vita (72) (73).

Non è stato possibile analizzare i marker di rimodellamento osseo per la scarsa quantità di dati reperibili nelle cartelle cliniche sia dei pazienti transgender sia dei controlli.

4.4 Dati genetici

Nel tentativo di poter almeno in parte spiegare i risultati densitometrici osservati, abbiamo condotto una analisi genetica nei soggetti trans- e cisgender, analizzando geni i cui polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) possono portare ad un aumento della suscettibilità all'osteoporosi.

Dall'analisi della distribuzione dei singoli polimorfismi tra i due gruppi, così come dalla correlazione tra i SNP e i valori densitometrici a livello lombare e femorale non sono emerse associazioni statisticamente significative.

Nella medesima corte di soggetti transgender è stato valutato anche il recettore androgenico, per via dell'effetto indiretto che il testosterone può avere sul metabolismo osseo.

È stata analizzata la distribuzione dei valori densitometrici e di composizione corporea in relazione alla lunghezza delle triplette poliglutamminiche (CAG) e poligliciniche (GGC) dell'AR nei soggetti transgender. In letteratura sono presenti studi condotti su individui cis-gender di diverse età e che giungono a risultati discordanti. In un lavoro del 2015 Garcia et al. evidenziavano come nei soggetti pre-puberi triplette CAG lunghe (>21 ripetizioni) correlavano positivamente con una maggiore BMD a livello lombare, del collo femorale, del triangolo di Ward e alle estremità (90). Questa associazione sembra diminuire nell'arco dello sviluppo, fino a scomparire dopo i 18 anni (91). Tale risultato è confermato anche in uno studio che prendeva in considerazione sia l'effetto disgiunto delle triplette CAG e

GGN, sia quelle delle diverse combinazioni aplotipiche sull'osso e sulla massa magra di giovani uomini adulti (67).

Dai nostri risultati non sono emerse associazioni statisticamente significative in questo senso. Tuttavia, pur a fronte di questi risultati, data la limitata numerosità del campione esaminato non è possibile escludere totalmente l'ipotesi che polimorfismi di questo pannello genetico non abbiano un impatto sul metabolismo osseo dei soggetti transgender. Tuttavia, non essendoci altri lavori in letteratura sul tema, è necessario approfondire l'argomento con ulteriori studi.

Inoltre, questo è il primo studio riguardante il potenziale effetto delle triplette ripetute dell'AR eseguito su una popolazione transgender. Ulteriori lavori sono necessari per ampliare il dibattito.

Dal sequenziamento del recettore androgenico nei soggetti transgender è emerso che due pazienti su 25 (8% del totale) presentavano la mutazione missenso L548F, già nota e segnalata nel database disponibile online "The Androgen Receptor Gene Mutations Database World Wide Web Server" (<http://androgendb.mcgill.ca/>). La mutazione è causata da una sostituzione della base azotata G>T nella posizione nucleotidica 2759 dell'esone 2, che si traduce nella sostituzione amminoacidica della Leucina (L) con la Fenilalanina (P) in posizione 548. La mutazione missenso L548F è stata associata a quadri di sindrome da insensibilità agli androgeni lieve (MAIS) e parziale (PAIS) (92) (93) (94), ma in letteratura non è mai stata correlata specificatamente a patologie dell'osso.

I profili dei pazienti mutati all'interno del nostro campione sono i seguenti:

- Uno dei pazienti è un soggetto AMAB, omozigote per L548F e che presenta 19 triplette CAG e 18 triplette GGC. I suoi ormoni sessuali rientrano nei limiti di norma, mentre i valori densitometrici sono al di sotto della soglia di normalità per età e sesso (Z-score lombare - 2.3, Z-score collo femorale -1.7, Z-score femore totale -1.7).
- L'altro paziente mutato è un individuo AFAB, eterozigote per L548F, con 19 triplette CAG sul primo allele, 24 CAG sul secondo, 17 GGC sul primo allele e 18 GGC ripetute sul secondo. Il profilo ormonale è regolare e i valori

densitometrici sono nel range di norma (Z-score lombare +1.1, Z-score collo femorale +1.9, Z-score femore totale +2.5).

Diversi elementi possono spiegare il quadro clinico e le differenze fenotipiche tra questi due pazienti. Innanzitutto, va considerato che la posizione della mutazione L548F va ad interessare il DNA-binding domain del recettore androgenico, vale a dire la porzione della proteina che a livello nucleare lega i promotori degli androgen responsive elements: il recettore dunque risponde al suo ligando, cioè agli androgeni, ma è ridotta la sua attività trascrizionale dei geni target, perciò si spiega perché i profili ormonali di questi pazienti siano regolari, a fronte di uno stato osseo variabile.

Il fatto che i due pazienti mutati presentino un quadro densitometrico opposto può essere imputabile a più fattori: innanzitutto il soggetto AMAB mutato è in omozigosi, mentre il paziente AFAB è in eterozigosi, questa differenza può rendere ragione dell'attenuazione dell'effetto della mutazione nel secondo caso.

In seconda istanza è possibile che la mutazione nel soggetto AFAB sia localizzata nel gene presente sul cromosoma X inattivato per via della "Lyonizzazione". Con tale termine s'intende la disattivazione randomica di uno dei due cromosomi X che avviene in tutti gli esemplari femmina di mammifero. Per accertare la posizione dell'allele mutato, sarebbe necessario eseguire un'ulteriore indagine, ossia la mappatura dei cromosomi X della nostra paziente.

Un ulteriore elemento che differisce tra i due pazienti, e che potrebbe contribuire alla differenza ossea, è la diversa distribuzione delle triplette CAG. La paziente AFAB presenta infatti una tripletta CAG con 24 ripetizioni, un numero maggiore sia rispetto alla mediana dei soggetti caucasici (21 ripetizioni) sia alle triplette poliglutamminiche del paziente AFAB (19 ripetizioni). La maggior lunghezza della tripletta CAG potrebbe rappresentare un fattore protettivo, in accordo con quanto riportato nel paragrafo precedente.

Infine, è possibile che ci siano dei fattori quali la composizione corporea e lo stile di vita che aiutano ad amplificare le differenze del metabolismo osseo di questi due soggetti.

4.5 Limiti dello studio

Il nostro studio presenta alcuni limiti: per via della rarità della condizione analizzata, la numerosità del campione è ridotta, con conseguenti implicazioni per la potenza statistica. Inoltre, non è stato possibile reperire informazioni riguardo l'attività fisica di tutti i pazienti a causa della pandemia di Sars-CoV2 e l'autovalutazione del grado di depressione (PHQ-9) può non essere idonea nell'inquadrare la gravità dei sintomi nella settimana o nelle due settimane precedenti alla compilazione del questionario.

5. Conclusioni

Il nostro lavoro ha evidenziato che i soggetti transgender prima di cominciare la terapia ormonale presentano dei valori di Z-score, BMD e massa magra totale peggiori rispetto ai coetanei cis-gender. Tale differenza ha una genesi multifattoriale. Se da un lato non abbiamo registrato discrepanze a livello biochimico, è possibile che gli individui transgender durante lo sviluppo non riescano a raggiungere il picco di massa ossea: questo può essere legato sia a fattori modificabili quale uno stato depressivo non riconosciuto, che innesca una serie di comportamenti viziosi che ricadono sull'osso, sia a fattori non modificabili legati alla genetica di questi soggetti. Tuttavia, poichè al momento non sono emersi dei risultati solidi sulla relazione tra genetica e metabolismo osseo e i lavori disponibili in letteratura sono scarsi o assenti, ulteriori studi sono necessari per indagare più a fondo questi aspetti.

Bibliografia

1. **American psychiatric association.** *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. Fifth Edition. Arlington : American Psychiatric Publishing, 2013.
2. **Istituto superiore di sanità.** Infotrans.it glossario. *Infotrans.it*. [Online] 2014-2020. https://www.infotrans.it/it-schede-8-glossario_transgender?k=G.
3. **World Health Organization.** Gender and Health. *WHO.it*. [Online] 2019. https://www.who.int/health-topics/gender#tab=tab_1.
4. *The terminology of identities between, outside and beyond the gender binary - A systematic review.* **Thorne N, Yip AK, Bouman WP, Marshall E, Arcelus J.** Jul 18, 2019, *Int J Transgend*, pp. 138 - 154.
5. **American Psychological Association.** Guidelines for psychological practice with transgender and gender nonconforming people. [book auth.] American Psychological Association. 2015, pp. 832 - 834.
6. **Valentini, Ferdinando.** Disforie di genere - premesse sulla gestione. *SIAMS*. [Online] <https://www.siams.info/disforie-di-genere-premesse-sulla-gestione/>.
7. **de Freitas LD, Léda-Rêgo G, Bezerra-Filho S, Miranda-Scippa Â.** Psychiatric disorders in individuals diagnosed with gender dysphoria: A systematic review. . *Psychiatry Clin Neurosci*. Feb 2020, pp. 99 - 104.
8. **Clements-Nolle K, Marx R, Katz M.** Attempted suicide among transgender persons: The influence of gender-based discrimination and victimization. *J Homosex*. 2006, pp. 53 - 69.
9. **Fisher AD, Senofonte G, Cocchetti C, Guercio G, Lingiardi V, Meriggiola MC, Mosconi M, Motta G, Ristori J, Speranza AM, Pierdominici M, Maggi M, Corona G, Lombardo F.** SIGIS-SIAMS-SIE position statement of gender affirming hormonal treatment in transgender and non-binary people. *J Endocrinol Invest*. . Mar 2022, pp. 657 - 673.
10. **Salas-Humara C, Sequeira GM, Rossi W, Dhar CP.** Gender affirming medical care of transgender youth. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. Sep 2019.
11. **Capela D, Louro N, La Fuente de Carvalho J.** Preservação da fertilidade em indivíduos transgênero [Preservation of fertility in transgender people] . *Rev Int Androl*. Apr-Jun 2021, pp. 137 - 144.
12. **Pan S, Honig SC.** Gender-Affirming Surgery: Current Concepts . *Curr Urol Rep*. Jun 7, 2018.
13. *Epidemiology of gender dysphoria and transgender identity.* **KJ, Zucker.** Oct 2017, *Sex Health*, pp. 404-411.
14. *Prevalence of Gender Dysphoria in Southern Brazil: A Retrospective Study.* . **Silva DC, Salati LR, Fontanari AMV, Schwarz K, Schneider MA, Soll BBM, Costa AB, Guadagnin F, Hirakata VN, Lobato MIR.** Nov 2021, *Arch Sex Behav.*, pp. 3517-3526.
15. *The Epidemiology of Gender Dysphoria in Iran: The First Nationwide Study.* **Talaei, A., Hedjazi, A., Badieyan Moosavi, N. et al.** May 5, 2022, *Arch Sex Behav*, p. Epub ahead of print.
16. *Desisting and persisting gender dysphoria after childhood: a qualitative follow-up study.* **Steensma TD, Biemond R, de Boer F, Cohen-Kettenis PT.** 2011, *Clin Child Psychol Psychiatry*, pp. 499-516.

17. *Sex-related variation in human behavior and brain*. **Hines, Melissa**. s.l. : Elsevier, Aug 18, 2010, Trends in Cognitive Sciences.
18. *Hypothalamic response to the chemo-signal androstadienone in gender dysphoric children and adolescents*. **Burke SM, Cohen-Kettenis PT, Veltman DJ, Klink DT, Bakker J**. May 28, 2014, Front Endocrinol (Lausanne), pp. 5 - 60.
19. *Sexual differentiation of the brain and behavior*. **Swaab, Dick F**. Sep 2007, Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, pp. 431-444.
20. *Etiology of Gender Identity*. **Korpaisarn S, Safer JD**. Giugno 2019, Endocrinol Metab Clin North Am.
21. **Institut national de la santé et de la recherche médicale**.
https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=it&Expert=752.
<http://www.orpha.net>. [Online] INSERM US14. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=it&Expert=752.
22. *Congenital Adrenal Hyperplasia: clinical symptoms and diagnostic methods*. **Podgórski R, Aebischer D, Stompor M, Podgórska D, Mazur A**. 2018, Acta Biochim Pol, pp. 25-33.
23. *Gender dysphoria and gender change in chromosomal females with congenital adrenal hyperplasia*. **Dessens AB, Slijper FM, Drop SL**. 2005, Arch Sex Behav, pp. 389-97.
24. **Institut national de la santé et de la recherche médicale**. *Sindrome da insensibilità agli androgeni*. <http://www.orpha.net>. [Online] INSERM US14.
[https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=IT&data_id=918&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sindrome-da-insensibilita-agli-androgeni&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Malattia\(e\)/%20gruppo%20di%20Malattie=Sindrome-da-insensibilita-](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=IT&data_id=918&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sindrome-da-insensibilita-agli-androgeni&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Malattia(e)/%20gruppo%20di%20Malattie=Sindrome-da-insensibilita-)
25. **Babu R, Shah U**. Gender identity disorder (GID) in adolescents and adults with differences of sex development (DSD): A systematic review and meta-analysis. *J Pediatr Urol*. Feb 2021, pp. 39-47 .
26. *Polymorphic Cytosine-Adenine-Guanine Repeat Length of Androgen Receptor Gene and Gender Incongruence in Trans Women: A Systematic Review and Meta-Analysis of Case-Control Studies*. **D'Andrea S, Pallotti F, Senofonte G, Castellini C, Paoli D, Lombardo F, Lenzi A, Francavilla S, Francavilla F, Barbonetti A**. Mar 2020, J Sex Med, pp. 543 - 550.
27. *Genotypes and Haplotypes of the Estrogen Receptor α Gene (ESR1) Are Associated With Female-to-Male Gender Dysphoria*. **Cortés-Cortés J, Fernández R, Teijeiro N, Gómez-Gil E, Esteva I, Almaraz MC, Guillamón A, Pásaro E**. Mar 2017, J Sex Med, pp. 464-472.
28. **Swaab DF, Wolff SEC, Bao AM**. *Sexual differentiation of the human hypothalamus: Relationship to gender identity and sexual orientation*. 2021. pp. 427-443. Vol. Handb Clin Neurol.
29. **Claudio Rugarli, Prof. Federico Caligaris Cappio, Claudio Rugarli, Gianni Cappelli, Maria Domenica Cappellini, Paolo Cavallo Perin, Gino Roberto Corazza, Antonino Craxi, Filippo Crea, Leonardo Fabbri, Gianfranco Ferraccioli**. *RUGARLI, MEDICINA INTERNA SISTEMATICA*. s.l. : EDRA, 2015. pp. 847 - 860. Vol. 1.

30. **Siddiqui, Jawed A, and Nicola C Partridge.** Physiological Bone Remodeling: Systemic Regulation and Growth Factor Involvement. *Physiology (Bethesda, Md.)*. 2016, pp. 233-45.
31. **Almeida M, Laurent MR, Dubois V, Claessens F, O'Brien CA, Bouillon R, Vanderschueren D, Manolagas SC.** Estrogens and Androgens in Skeletal Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev*. Jan 2017, pp. 135 - 187.
32. **Callewaert F, Sinnesael M, Gielen E, Boonen S, Vanderschueren D.** Skeletal sexual dimorphism: relative contribution of sex steroids, GH-IGF1, and mechanical loading. *J Endocrinol*. Nov 127-134, 2010.
33. **Burt LA, Macdonald HM, Hanley DA, Boyd SK.** Bone microarchitecture and strength of the radius and tibia in a reference population of young adults: an HR-pQCT study. *Arch Osteoporos*. May 27, 2014.
34. **Wiepjes CM, de Jongh RT, de Blok CJ, Vlot MC, Lips P, Twisk JW, den Heijer M.** Bone Safety During the First Ten Years of Gender-Affirming Hormonal Treatment in Transwomen and Transmen. *J Bone Miner Res*. Mar 2019, pp. 447-454.
35. **ESOPO Study Group. Maggi S, Noale M, Giannini S, Adami S, Defeo D, Isaia G, Sinigaglia L, Filippini P, Crepaldi G.** Quantitative heel ultrasound in a population-based study in Italy and its relationship with fracture history: the ESOPO study. *Osteoporos Int*. Feb 2006, pp. 237-244.
36. **Lalayiannis AD, Fewtrell M, Biassoni L, Silva S, Goodman N, Shroff R, Crabtree NJ.** Studying bone mineral density in young people: The complexity of choosing a pQCT reference database. *Bone*. Feb 2021.
37. **Greenblatt MB, Tsai JN, Wein MN.** Bone Turnover Markers in the Diagnosis and Monitoring of Metabolic Bone Disease. *Clin Chem*. Feb 2017, pp. 464-474.
38. **Jain S, Camacho P.** Use of bone turnover markers in the management of osteoporosis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. Dec 2018, pp. 366-372.
39. **Pouresmaeili F, Kamalidehghan B, Kamarehei M, Goh YM.** A comprehensive overview on osteoporosis and its risk factors. *Ther Clin Risk Manag*. Nov 6, 2018, pp. 2029-2049.
40. **Stewart TL, Ralston SH.** Role of genetic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *J Endocrinol*. Aug 2000, Vol. 166, 2, pp. 235-245.
41. **Rivadeneira F, Mäkitie O.** Osteoporosis and Bone Mass Disorders: From Gene Pathways to Treatments. *Trends Endocrinol Metab*. May 2016, Vol. 27, 5, pp. 262-281.
42. **National Library of Medicine.** ALPL alkaline phosphatase, biomineralization associated. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/249>.
43. —. CASR calcium sensing receptor. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/846>.
44. —. PDLIM4 PDZ and LIM domain 4. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8572>.
45. —. CALCR calcitonin receptor. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/799>.
46. —. COL1A2 collagen type I alpha 2 chain. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1278>.

47. —. BMP1 Bone morphogenetic protein 1. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/649>.
48. —. LRP5 LDL receptor related protein 5. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4041>.
49. —. VDR Vitamin D Receptor. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7421>.
50. **national library of medicine**. WNT1 WNT family member 1. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7471>.
51. **National Library of Medicine**. TNFSF11 TNF superfamily member 11. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8600>.
52. **National Librayr of Medicine**. SERPINF1 Serpin Family Member 1. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5176>.
53. **National Library of Medicine**. PLS Plastin 3. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5358>.
54. —. IFITM5 interferon induced transmembrane protein 5. *NIH*. [Online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/387733>.
55. **Johns Hopkins University**. Androgen receptor AR. *Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)*. [Online] <https://omim.org/entry/313700#allelicVariants>.
56. **R., Kuriyan**. Body composition techniques. *Indian J Med Res*. Nov 2018, pp. 648-658.
57. **Shepherd JA, Ng BK, Sommer MJ, Heymsfield SB**. Body composition by DXA. *Bone*. Nov 2017, pp. 101-105.
58. **Xiao Z, Tan Z, Shang J, Cheng Y, Tang Y, Guo B, Gong J, Xu H**. Sex-specific and age-specific characteristics of body composition and its effect on bone mineral density in adults in southern China: a cross-sectional study. *BMJ Open*. Apr 29, 2020.
59. **Xiao Z, Xu H**. Gender-Specific Body Composition Relationships between Adipose Tissue Distribution and Peak Bone Mineral Density in Young Chinese Adults. *Biomed Res Int*. Apr 1, 2020.
60. **Van Caenegem E, Taes Y, Wierckx K, Vandewalle S, Toye K, Kaufman JM, Schreiner T, Haraldsen I, T'Sjoen G**. Low bone mass is prevalent in male-to-female transsexual persons before the start of cross-sex hormonal therapy and gonadectomy. *Bone*. May 2013, Vol. 54, 1.
61. **Yun Y, Kim D, Lee ES**. Effect of Cross-Sex Hormones on Body Composition, Bone Mineral Density, and Muscle Strength in Trans Women. *J Bone Metab*. Feb 28, 2021, Vol. 28, 1, pp. 59-66.
62. **Klaver M, de Blok CJM, Wiepjes CM, Nota NM, Dekker MJHJ, de Mutsert R, Schreiner T, Fisher AD, T'Sjoen G, den Heijer M**. Changes in regional body fat, lean body mass and body shape in trans persons using cross-sex hormonal therapy: results from a multicenter prospective study. *Eur J Endocrinol*. Feb 2018, pp. 163-171.
63. **Naykky Singh-Ospina, Spyridoula Maraka, Rene Rodriguez-Gutierrez, Caroline Davidge-Pitts, Todd B Nippoldt, Larry J Prokop, Mohammad Hassan Murad**. Effect of Sex Steroids on the Bone Health of Transgender Individuals: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Nov 11, 2017, Vol. 102, 11, pp. 3904-3913.

64. **Davidge-Pitts C, Clarke BL.** Transgender bone health. *Maturitas.* Sep 35 - 42, 2019.
65. **Van Caenegem E, Wierckx K, Taes Y, Schreiner T, Vandewalle S, Tuye K, Lapauw B, Kaufman JM, T'Sjoen G.** Body composition, bone turnover, and bone mass in trans men during testosterone treatment: 1-year follow-up data from a prospective case-controlled study (ENIGI). *Eur J Endocrinol.* Feb 2015, Vol. 172, 2, pp. 163-171.
66. **He C, Levis B, Riehm KE, Saadat N, Levis AW, Azar M, Rice DB, Krishnan A, Wu Y, Sun Y, Imran M, Boruff J, Cuijpers P, Gilbody S, Ioannidis JPA, Kloda LA, McMillan D, Patten SB, Shrier I, Ziegelstein RC, Akena DH, Arroll B, Ayalon L, Baradaran HR, Baron M.** The Accuracy of the Patient Health Questionnaire-9 Algorithm for Screening to Detect Major Depression: An Individual Participant Data Meta-Analysis. *Psychother Psychosom.* 2020, Vol. 89, 1, pp. 25-37.
67. **Guadalupe-Grau A, Rodríguez-González FG, Dorado C, Olmedillas H, Fuentes T, Pérez-Gómez J, Delgado-Guerra S, Vicente-Rodríguez G, Ara I, Guerra B, Arteaga-Ortiz R, Calbet JA, Díaz-Chico BN.** Androgen receptor gene polymorphisms lean mass and performance in young men. *Br J Sports Med.* Feb 2011, pp. 95-100.
68. **Rodríguez-García L, Ponce-Gonzalez JG, González-Henriquez JJ, Rodriguez-Gonzalez FG, Díaz-Chico BN, Calbet JA, Serrano-Sanchez JA, Dorado C, Guadalupe-Grau A.** ANDROGEN RECEPTOR CAG AND GGN REPEAT POLYMORPHISMS AND BONE MASS IN BOYS AND GIRLS. *Nutr Hosp.* Dec 2015, pp. 2633-2639.
69. **Guadalupe-Grau A, Rodríguez-González FG, Ponce-González JG, Dorado C, Olmedillas H, Fuentes T, Pérez-Gómez J, Sanchís-Moysi J, Díaz-Chico BN, Calbet JA.** Bone mass and the CAG and GGN androgen receptor polymorphisms in young men. *PLoS One.* Jul 12, 2010.
70. *Epidemiological considerations in transgender health: A systematic review with focus on higher quality data.* **Zhang, Q., Goodman, M., Adams, N., Corneil, T., Hashemi, L., Kreukels, B., Motmans, J., Snyder, R., & Coleman, E. (2020).** 2020, International J Transgend Health, pp. 125 - 137.
71. *Gender dysphoria in children and adolescents: an overview.* **Skordis N, Kyriakou A, Dror S, Mushailov A, Nicolaidis NC.** Sep 19, 2020, Hormones (Athens)., pp. 267-276.
72. **Van Caenegem E, Wierckx K, Taes Y, Schreiner T, Vandewalle S, Tuye K, Kaufman JM, T'Sjoen G.** reservation of volumetric bone density and geometry in trans women during cross-sex hormonal therapy: a prospective observational study. *Osteoporos Int.* . Jan 2015, pp. 35-47.
73. **Van Caenegem E, T'Sjoen G.** Bone in trans persons. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* Dec 2015, pp. 459-466.
74. **Haraldsen IR, Haug E, Falch J, Egeland T, Opjordsmoen S.** Cross-sex pattern of bone mineral density in early onset gender identity disorder. *Horm Behav.* Sep 2007, pp. 334-343.
75. **Van Caenegem E, Wierckx K, Taes Y, Dedecker D, Van de Peer F, Tuye K, Kaufman JM, T'Sjoen G.** Bone mass, bone geometry, and body composition in female-to-male transsexual persons after long-term cross-sex hormonal therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* Jul 2012, pp. 2503-2511.
76. **Chevalley T, Rizzoli R.** Acquisition of peak bone mass. *Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2022, Vol. 36, pp. 1-15.

77. **Bierhals IO, Dos Santos Vaz J, Bielemann RM, de Mola CL, Barros FC, Gonçalves H, Wehrmeister FC, Assunção MCF.** Associations between body mass index, body composition and bone density in young adults: findings from a southern Brazilian cohort. *BMC Musculoskelet Disord.* Juò 2019.
78. **Loud KJ, Gordon CM.** Adolescent bone health. *Arch Pediatr Adolesc Med.* Oct 2006, pp. 1026-1032.
79. **Zhu X, Zheng H.** Factors influencing peak bone mass gain. *Front Med.* . Feb 2021, pp. 53-69.
80. **Zhu K, Briffa K, Smith A, Mountain J, Briggs AM, Lye S, Pennell C, Straker L, Walsh JP.** Gender differences in the relationships between lean body mass, fat mass and peak bone mass in young adults. *Osteoporos Int.* May 2014, pp. 1563-1570.
81. **Xiao Z, Xu H.** Gender-Specific Body Composition Relationships between Adipose Tissue Distribution and Peak Bone Mineral Density in Young Chinese Adults. *Biomed Res Int.* Apr 1, 2020.
82. **Zhang L, Liu Q, Zeng X, Gao W, Niu Y, Ma X, Xie H, Zhou X, Yu W, Xu G.** Association of dyslipidaemia with osteoporosis in postmenopausal women. *J Int Med Res.* Mar 2021.
83. **Gibson DJ, Glazier JJ, Olson KR.** Evaluation of Anxiety and Depression in a Community Sample of Transgender Youth. . *JAMA Netw Open.* Apr 2021.
84. **Taes Y, Lapauw B, Vanbillemont G, Bogaert V, De Bacquer D, Goemaere S, Zmierczak H, Kaufman JM.** Early smoking is associated with peak bone mass and prevalent fractures in young, healthy men. *J Bone Miner Res.* Feb 2010.
85. **Al-Bashaireh AM, Haddad LG, Weaver M, Chengguo X, Kelly DL, Yoon S.** The Effect of Tobacco Smoking on Bone Mass: An Overview of Pathophysiologic Mechanisms. *J Osteoporos.* Dec 2, 2018.
86. **Lu Y, Di YP, Chang M, Huang X, Chen Q, Hong N, Kahkonen BA, Di ME, Yu C, Keller ET, Zhang J.** Cigarette smoke-associated inflammation impairs bone remodeling through NFkB activation. *J Transl Med.* Apr 2021.
87. **Cizza G, Primma S, Coyle M, Gourgiotis L, Csako G.** Depression and osteoporosis: a research synthesis with meta-analysis. *Horm Metab Res.* jun 2010, pp. 467-82.
88. **G., Cizza.** Major depressive disorder is a risk factor for low bone mass, central obesity, and other medical conditions. *Dialogues Clin Neurosci.* 2011, pp. 73-87.
89. **Yuan S, Chen J, Zeng L, Zhou C, Yu S, Fang L.** Association of bone mineral density and depression in different bone sites and ages: A meta-analysis. *Food Sci Nutr.* Jul 2021, pp. 4780-4792.
90. **Rodríguez-García L, Ponce-Gonzalez JG, González-Henriquez JJ, Rodríguez-Gonzalez FG, Díaz-Chico BN, Calbet JA, Serrano-Sanchez JA, Dorado C, Guadalupe-Grau A.** ANDROGEN RECEPTOR CAG AND GGN REPEAT POLYMORPHISMS AND BONE MASS IN BOYS AND GIRLS. *Nutr Hosp.* Dec 2015, pp. 2633-2639.
91. **Voorhoeve PG, van Mechelen W, Uitterlinden AG, Delemarre-van de Waal HA, Lamberts SW.** Androgen receptor gene CAG repeat polymorphism in longitudinal height and body composition in children and adolescents. *Clin Endocrinol (Oxf).* Jun 2011, pp. 732-735.
92. **Melo KF, Mendonca BB, Billerbeck AE, Costa EM, Inácio M, Silva FA, Leal AM, Latronico AC, Arnhold IJ.** Clinical, hormonal, behavioral, and genetic characteristics of

- androgen insensitivity syndrome in a Brazilian cohort: five novel mutations in the androgen receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab.* Jul 2003, Vol. 88, 7, pp. 3241-3250.
93. **Bouvattier C, Carel JC, Lecointre C, David A, Sultan C, Bertrand AM, Morel Y, Chaussain JL.** Postnatal changes of T, LH, and FSH in 46,XY infants with mutations in the AR gene. *J Clin Endocrinol Metab.* Jan 2002, Vol. 87, 1, pp. 29-32.
94. **Ferlin A, Vinanzi C, Garolla A, Selice R, Zuccarello D, Cazzadore C, Foresta C.** Male infertility and androgen receptor gene mutations: clinical features and identification of seven novel mutations. *Clin Endocrinol (Oxf).* Nov 2006, Vol. 65, 5, pp. 606-610.
95. **association, American psychiatric.** *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM V).* 2013.
97. *Systematic review and meta-analysis of prevalence studies in transsexualism.* **Arcelus J, Bouman WP, Van Den Noortgate W, Claes L, Witcomb G, Fernandez-Aranda F.** Sep 30, 2015, *European Psychiatric*, pp. 807 - 815.
98. *Genetic Link Between Gender Dysphoria and Sex Hormone Signaling.* **Foreman M, Hare L, York K, Balakrishnan K, Sánchez FJ, Harte F, Erasmus J, Vilain E, Harley VR.** Feb 2019, *J Clin Endocrinol Metab*, pp. 390 - 396.
99. *Transgender Associations and Possible Etiology: A Literature Review.* **Saleem F, Rizvi SW.** Dec 24, 2017, *Cureus*.
100. *Association study of gender identity disorder and sex hormone-related genes.* **Ujike H, Otani K, Nakatsuka M, Ishii K, Sasaki A, Oishi T, Sato T, Okahisa Y, Matsumoto Y, Namba Y, Kimata Y, Kuroda S.** Oct 2019, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, pp. 1241 - 1244.
101. **Fisher AD, Ristori J, Bandini E, Giordano S, Mosconi M, Jannini EA, Greggio NA, Godano A, Manieri C, Meriggiola C, Ricca V.** Italian GnRH analogs study ONIG group, Dettore D, Maggi M. Medical treatment in gender dysphoric adolescents endorsed by SIAMS-SIE-SIEDP-ONIG. . 2014 Jul;37(7):675-87. *J Endocrinol Invest.* Jul 2014, pp. 675 - 687.
102. **Naganathan V, Sambrook P.** Gender differences in volumetric bone density: a study of opposite-sex twins. *Osteoporos Int.* Jul 2003, pp. 564 -2564 - 2569.
103. **Khosla S, Monroe DG.** Regulation of Bone Metabolism by Sex Steroids. *Cold Spring Harb Perspect Med.* Jan 2, 2018, Vol. 8.
104. **Wiepjes CM, Vlot MC, Klaver M, Nota NM, de Blok CJ, de Jongh RT, Lips P, Heijboer AC, Fisher AD, Schreiner T, T'Sjoen G, den Heijer M.** Bone Mineral Density Increases in Trans Persons After 1 Year of Hormonal Treatment: A Multicenter Prospective Observational Study. *J Bone Miner Res.* Jun 2017, pp. 1252-1260.
105. **Lapauw B, Taes Y, Simoens S, Van Caenegem E, Weyers S, Goemaere S, Toye K, Kaufman JM, T'Sjoen GG.** Body composition, volumetric and areal bone parameters in male-to-female transsexual persons. *Bone.* Dec 2008, pp. 1016-1021.
106. **T'Sjoen G, Weyers S, Taes Y, Lapauw B, Toye K, Goemaere S, Kaufman JM.** Prevalence of low bone mass in relation to estrogen treatment and body composition in male-to-female transsexual persons. *J Clin Densitom.* Jul-Sep 2009, pp. 306-313.
107. **Giacomelli G, Meriggiola MC.** Bone health in transgender people: a narrative review. *Ther Adv Endocrinol Metab.* May 27, 2022.