

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI ENDOCRINOLOGIA

Direttore: Prof. Paolo Simioni

U.O.C. ANDROLOGIA E MEDICINA DELLA RIPRODUZIONE

Direttore: Prof. Alberto Ferlin

TESI DI LAUREA

**Impatto delle terapie ormonali sui
parametri emo-coagulativi nella
popolazione transgender**

Relatore: Prof. Andrea Garolla

Correlatrice: Prof.ssa Elena Campello

Laureando: Giacomo Faggian

Anno accademico: 2023/2024

Indice

| | |
|--|-----------|
| 1. RIASSUNTO | 5 |
| 1.1. Presupposti..... | 5 |
| 1.2. Scopo dello studio | 5 |
| 1.3. Materiali e metodi | 5 |
| 1.4. Risultati | 6 |
| 1.5. Conclusioni..... | 6 |
| 2. ABSTRACT..... | 7 |
| 2.1. Background | 7 |
| 2.2. Aim of the study | 7 |
| 2.3. Materials and methods | 7 |
| 2.4. Results | 8 |
| 2.5. Conclusions | 8 |
| 3. INTRODUZIONE..... | 9 |
| 3.1. Glossario | 9 |
| 3.2. Identità sessuale | 12 |
| 3.3. Dati epidemiologici riguardo la popolazione transgender | 13 |
| 3.4. Percorso di affermazione di genere..... | 16 |
| 3.4.1. Percorso psicologico/psichiatrico | 17 |
| 3.4.2. Percorso endocrinologico..... | 18 |
| 3.4.2.1. Terapia ormonale di affermazione di genere | 23 |
| 3.4.2.2. Obiettivi..... | 24 |
| 3.4.2.3. Fasi del percorso endocrinologico..... | 24 |
| 3.4.2.4. Terapia mascolinizante..... | 25 |
| 3.4.2.5. Terapia femminilizzante | 26 |
| 3.4.3. Percorso legale | 29 |
| 3.4.4. Percorso chirurgico | 30 |
| 4. ERITROCITOSI..... | 33 |
| 4.1. Definizione e classificazione | 33 |
| 4.2. Cause di eritrocitosi | 34 |
| 4.3. Eritrocitosi secondaria a testosterone..... | 35 |
| 4.4. Eritrocitosi nella terapia di affermazione di genere | 36 |
| 5. COAGULAZIONE | 39 |
| 5.1. Fisiologia dell'emostasi | 39 |
| 5.1.1. Fase vascolare | 39 |
| 5.1.2. Fase piastrinica | 40 |
| 5.1.3. Fase coagulativa..... | 41 |
| 5.1.4. Fase di retrazione del coagulo | 41 |
| 5.1.5. Fase fibrinolitica..... | 41 |
| 5.1.6. Via intrinseca | 42 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 5.1.7. | <i>Via estrinseca</i> | 43 |
| 5.1.8. | <i>Via comune</i> | 43 |
| 5.2. | <i>Patologie coagulative</i> | 45 |
| 5.2.1. | <i>Trombosi venosa profonda</i> | 47 |
| 5.2.2. | <i>Trombofilie ereditarie</i> | 47 |
| 5.2.2.1. | <i>Deficit di antitrombina</i> | 47 |
| 5.2.2.2. | <i>Deficit di proteina C e proteina S</i> | 47 |
| 5.2.2.3. | <i>Fattore V di Leiden</i> | 48 |
| 5.2.2.4. | <i>Mutazione G20210A della protrombina</i> | 48 |
| 5.2.3. | <i>Trombofilie acquisite</i> | 48 |
| 5.2.3.1. | <i>Sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi</i> | 48 |
| 5.2.3.2. | <i>Iperomocisteinemia</i> | 49 |
| 5.2.4. | <i>Trombosi arteriosa</i> | 49 |
| 5.3. | <i>Differenze di genere e rischio tromboembolico nella popolazione transgender</i> | 50 |
| 5.3.1. | <i>Effetti della terapia femminilizzante sulla coagulazione nei pazienti AMAB</i> | 51 |
| 5.3.2. | <i>Effetti della terapia mascolinizzante sulla coagulazione nei pazienti AFAB</i> | 52 |
| 5.3.3. | <i>Fattori di rischio aggiuntivi e monitoraggio personalizzato</i> | 52 |
| 5.3.4. | <i>Raccomandazioni per la gestione del rischio tromboembolico</i> | 52 |
| 6. | RISCHIO CARDIOVASCOLARE | 55 |
| 6.1. | <i>Differenze di genere</i> | 55 |
| 6.1.1. | <i>Ruolo degli ormoni sessuali: estradiolo e testosterone nel sistema cardiovascolare</i> | 55 |
| 6.1.2. | <i>Fattori di rischio e differenze di genere</i> | 57 |
| 6.2. | <i>Rischio cardiovascolare nella popolazione transgender</i> | 57 |
| 6.3. | <i>Cellule progenitrici endoteliali</i> | 58 |
| 6.3.1. | <i>Isolamento delle EPC</i> | 59 |
| 6.3.2. | <i>Marcatori</i> | 59 |
| 6.3.3. | <i>EPC e rischio cardiovascolare</i> | 60 |
| 7. | SCOPO DELLA TESI | 63 |
| 8. | MATERIALI E METODI | 65 |
| 8.1. | <i>Criteri di inclusione ed esclusione</i> | 65 |
| 8.2. | <i>Visite ambulatoriali</i> | 65 |
| 8.2.1. | <i>Prima visita</i> | 65 |
| 8.2.1.1. | <i>Valori derivati</i> | 68 |
| 8.2.1.1.1. | <i>BMI</i> | 68 |
| 8.2.1.1.2. | <i>Colesterolo LDL</i> | 68 |
| 8.2.1.1.3. | <i>Testosterone libero calcolato</i> | 68 |
| 8.2.2. | <i>Primo controllo: inizio della terapia</i> | 68 |
| 8.2.3. | <i>Controlli a 3, 6, 12 e 24 mesi</i> | 69 |
| 8.3. | <i>Studio coagulativo</i> | 69 |
| 8.3.1. | <i>ROTEM</i> | 69 |
| 8.3.2. | <i>Multiplate®</i> | 71 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 8.3.3. | <i>Eritropoiesi</i> | 72 |
| 8.4. | <i>Cellule progenitrici endoteliali</i> | 74 |
| 8.4.1. | <i>Citofluorimetria</i> | 74 |
| 8.4.2. | <i>Preparazione del campione</i> | 76 |
| 8.4.3. | <i>Marcatore</i> | 77 |
| 8.4.3.1. | <i>CD34</i> | 77 |
| 8.4.3.2. | <i>CD133/1</i> | 77 |
| 8.4.3.3. | <i>CD309</i> | 77 |
| 8.4.3.4. | <i>CD184</i> | 77 |
| 8.4.4. | <i>Individuazione delle EPC</i> | 78 |
| 8.5. | <i>Analisi dei dati</i> | 78 |
| 9. | RISULTATI | 81 |
| 9.1. | <i>Campione al basale (T0)</i> | 81 |
| 9.1.1. | <i>Caratteristiche cliniche del campione</i> | 81 |
| 9.1.2. | <i>Dati anamnestici</i> | 82 |
| 9.1.3. | <i>Esami biochimici</i> | 83 |
| 9.1.4. | <i>Esami coagulativi</i> | 85 |
| 9.1.5. | <i>Mutazioni trombofiliche</i> | 87 |
| 9.1.6. | <i>ROTEM</i> | 87 |
| 9.1.7. | <i>Multiplate®</i> | 88 |
| 9.1.8. | <i>Eritropoiesi</i> | 89 |
| 9.1.9. | <i>Eritrocitosi, Anemia, Mutazioni del gene HFE</i> | 90 |
| 9.1.10. | <i>Cellule progenitrici endoteliali</i> | 91 |
| 9.2. | <i>Terapia</i> | 91 |
| 9.3. | <i>Confronto tra T0, T3 e T6 nel gruppo AFAB</i> | 92 |
| 9.3.1. | <i>Caratteristiche cliniche</i> | 92 |
| 9.3.2. | <i>Esami endocrino-metabolici</i> | 92 |
| 9.3.3. | <i>ROTEM</i> | 95 |
| 9.3.4. | <i>Multiplate®</i> | 96 |
| 9.3.5. | <i>Eritropoiesi</i> | 96 |
| 9.3.6. | <i>Eritrocitosi e Anemia</i> | 97 |
| 9.3.7. | <i>Cellule progenitrici endoteliali</i> | 98 |
| 9.4. | <i>Confronto tra T0, T3 e T6 nel gruppo AMAB</i> | 99 |
| 9.4.1. | <i>Caratteristiche cliniche</i> | 99 |
| 9.4.2. | <i>Esami endocrino-metabolici</i> | 99 |
| 9.4.3. | <i>ROTEM</i> | 102 |
| 9.4.4. | <i>Multiplate®</i> | 103 |
| 9.4.5. | <i>Eritropoiesi</i> | 104 |
| 9.4.6. | <i>Eritrocitosi e Anemia</i> | 105 |
| 9.4.7. | <i>Cellule progenitrici endoteliali</i> | 105 |
| 9.5. | <i>Correlazione di Pearson nel gruppo AFAB</i> | 106 |

| | | |
|------------|--|------------|
| 9.5.1. | <i>Caratteristiche cliniche</i> | 106 |
| 9.5.2. | <i>Esami endocrino-metabolici</i> | 107 |
| 9.5.3. | <i>ROTEM</i> | 108 |
| 9.5.4. | <i>Multiplate®</i> | 109 |
| 9.5.5. | <i>Eritropoiesi</i> | 110 |
| 9.5.6. | <i>Eritrocitosi e Anemia</i> | 110 |
| 9.5.7. | <i>Cellule progenitrici endoteliali</i> | 111 |
| 9.6. | <i>Correlazione di Pearson nel gruppo AMAB</i> | 111 |
| 9.6.1. | <i>Caratteristiche cliniche</i> | 111 |
| 9.6.2. | <i>Esami endocrino-metabolici</i> | 112 |
| 9.6.3. | <i>ROTEM</i> | 113 |
| 9.6.4. | <i>Multiplate®</i> | 114 |
| 9.6.5. | <i>Eritropoiesi</i> | 114 |
| 9.6.6. | <i>Eritrocitosi</i> | 115 |
| 9.6.7. | <i>EPC</i> | 116 |
| 10. | DISCUSSIONE | 117 |
| 10.1. | <i>Campione al basale</i> | 117 |
| 10.1.1. | <i>Dati anamnestici</i> | 117 |
| 10.1.2. | <i>Esami endocrino-metabolici</i> | 117 |
| 10.1.3. | <i>Coagulazione</i> | 118 |
| 10.1.4. | <i>Eritrocitosi e Anemia</i> | 119 |
| 10.1.5. | <i>Cellule progenitrici endoteliali</i> | 119 |
| 10.2. | <i>Confronto a T3 e a T6</i> | 119 |
| 10.2.1. | <i>Dati anamnestici</i> | 119 |
| 10.2.2. | <i>Esami endocrino-metabolici</i> | 120 |
| 10.2.3. | <i>Coagulazione</i> | 121 |
| 10.2.4. | <i>Eritropoiesi</i> | 121 |
| 10.2.5. | <i>Eritrocitosi e Anemia</i> | 122 |
| 10.2.6. | <i>Cellule progenitrici endoteliali</i> | 123 |
| 11. | CONCLUSIONI | 125 |
| 12. | BIBLIOGRAFIA | 127 |

1. RIASSUNTO

1.1. Presupposti

La terapia ormonale di affermazione di genere segna un profondo cambiamento nella vita delle persone transgender, non solo per quanto riguarda la loro identità, ma anche sulla loro salute fisica e benessere complessivo.

La complessità degli ormoni e dei loro effetti sull'organismo umano è da tempo oggetto di studio e discussione. Recenti ricerche hanno evidenziato come gli ormoni non solo influenzino le caratteristiche sessuali ed il comportamento, ma esercitino anche effetti pleiotropici significativi su vari sistemi biologici. In aggiunta, molti studi hanno evidenziato come molte patologie, tra cui anche le malattie emo-coagulative, si manifestino in modo diverso nei due sessi, a prescindere dai fattori di rischio individuali.

Esplorare queste dimensioni consente di arricchire la letteratura scientifica e di colmare le lacune esistenti nella conoscenza dei meccanismi che regolano la salute nei contesti di diversità. Attraverso un'analisi delle intersezioni tra identità, salute e benessere, si avanza verso un approccio più inclusivo e informato che possa guidare le pratiche cliniche e promuovere una maggiore comprensione delle sfide uniche affrontate dalle persone transgender.

1.2. Scopo dello studio

Il presente studio si pone l'obiettivo di valutare come la terapia ormonale di affermazione di genere impatti sui parametri endocrino-metabolici ed emo-coagulativi, sull'eritrocitosi e sui livelli di cellule progenitrici endoteliali circolanti dei pazienti transgender che afferiscono al Centro di Riferimento Regionale per l'Incongruenza di Genere (CRRIG) dell'Azienda Ospedale-Università di Padova.

1.3. Materiali e metodi

Tutti i pazienti inclusi nello studio non avevano ricevuto nessun tipo di terapia ormonale di affermazione di genere (GAHT) in passato. Sono stati valutati i parametri endocrino-metabolici, ematopoietici e coagulativi al basale, avvalendosi anche delle metodologie ROTEM e Multiplate® per valutare la coagulabilità ematica e l'aggregazione piastrinica, rispettivamente. Sono state, inoltre, ricercate e calcolate le cellule progenitrici endoteliali

al basale. Tutti questi parametri sono stati poi confrontati longitudinalmente ai follow-up a 3 e 6 mesi dall'inizio della terapia ormonale di affermazione di genere.

1.4. Risultati

I risultati ottenuti da questo studio hanno mostrato come l'assetto generale dei pazienti al basale sia sovrapponibile a quello riscontrato nella popolazione cisgender. Dai vari controlli, successivamente all'inizio della GAHT, sono emersi molti dati interessanti soprattutto per quanto riguarda i livelli di emoglobina, ematocrito e i livelli ormonali. Gli esami della coagulazione hanno evidenziato come a 6 mesi di trattamento nei maschi transgender vi sia una minore ipercoagulabilità ematica e aggregazione piastrinica. Lo studio dell'eritrocitosi ha, inoltre, evidenziato come i maschi transgender sperimentino un progressivo aumento dei quadri di policitemia e di come, al contrario, le femmine transgender ne vedano una loro riduzione. Infine, lo studio delle cellule progenitrici endoteliali ha messo in luce un aumento delle stesse nella popolazione transgender femminile, in accordo con la letteratura.

1.5. Conclusioni

I dati ottenuti dal nostro campione al basale hanno mostrato una sovrapponibilità con i dati riportati dalla letteratura. Nei follow-up a 3 e 6 mesi di GAHT si sono notati significativi cambiamenti nell'assetto ematochimico, ormonale, eritropoietico e coagulativo.

2. ABSTRACT

2.1. Background

Gender-affirming hormone therapy marks a profound change in the lives of transgender individuals, not only concerning their identity but also their physical health and overall well-being.

The complexity of hormones and their effects on the human body has long been the subject of study and discussion. Recent research has highlighted how hormones not only influence sexual characteristics and behavior but also exert significant pleiotropic effects on various biological systems. Additionally, many studies have shown that numerous pathologies, including hemostatic disorders, manifest differently between the sexes, regardless of individual risk factors.

Exploring these dimensions enriches the scientific literature and helps fill existing gaps in our understanding of the mechanisms regulating health in diverse contexts. Through an analysis of the intersections between identity, health, and well-being, we move towards a more inclusive and informed approach that can guide clinical practices and promote a better understanding of the unique challenges faced by transgender individuals.

2.2. Aim of the study

The present study aims to evaluate how gender-affirming hormone therapy impacts on the endocrine-metabolic and hemostatic parameters, erythrocytosis, and circulating endothelial progenitor cell levels in transgender patients attending the Regional Reference Center for Gender Incongruence (CRRIG) at the University Hospital of Padua.

2.3. Materials and methods

All patients included in the study had not received any form of gender-affirming hormone therapy (GAHT) in the past. Endocrine-metabolic, hematopoietic, and coagulation parameters were assessed at baseline, utilizing ROTEM and Multiplate® methodologies to evaluate blood coagulation and platelet aggregation, respectively. Endothelial progenitor cells were also researched and calculated at baseline. All these parameters were then longitudinally compared at follow-ups at 3 and 6 months after the initiation of gender-affirming hormone therapy.

2.4. Results

The results obtained from this study demonstrated that the general profile of patients at baseline is comparable to that found in the cisgender population. From the various assessments conducted after the initiation of GAHT, many interesting findings emerged, particularly regarding hemoglobin, hematocrit, and hormone levels. Coagulation tests revealed that, after 6 months of treatment, transgender males exhibited lower blood hypercoagulability and platelet aggregation. Furthermore, the study of erythrocytosis showed that transgender males experienced a progressive increase in polycythemia, while transgender females experienced a reduction. Finally, the examination of endothelial progenitor cells highlighted an increase of their levels among transgender females, in line with the literature.

2.5. Conclusions

The data obtained from our sample at baseline showed a comparability with data found in the literature. Follow-ups at 3 and 6 months of GAHT revealed significant changes in the hemochemical, hormonal, erythropoietic, and coagulation profiles, many of which aligned with our expectations.

3. INTRODUZIONE

3.1. Glossario

Al fine di rendere più comprensibile e scorrevole quanto seguirà, risulta utile prendere visione di alcune definizioni importanti che sono alla base della medicina di genere. Le definizioni che seguono sono tratte dalla ottava edizione degli *Standards of Care* (SOC8) della *World Professional Association for Transgender Health* (WPATH) e dal portale informativo *Infotrans.it*, realizzato dall'Istituto Superiore di Sanità [1, 10].

| Termine | Definizione |
|-------------------------------------|--|
| Sesso biologico | È determinato dall'insieme delle caratteristiche biologiche, quali i cromosomi sessuali (XY, XX), le gonadi (testicoli, ovaie), i genitali e i livelli di ormoni sessuali. Questi elementi permettono di classificare il sesso come maschile, femminile o intersessuale, in caso di variazioni congenite (cromosomiche, gonadiche e/o anatomiche) dello sviluppo sessuale. |
| Sesso assegnato alla nascita | Da un punto di vista legale, il medico determina il sesso del neonato in base all'aspetto dei caratteri sessuali primari, ovvero sui genitali esterni. In situazioni in cui i genitali sono ambigui, nel contesto dei disordini della differenziazione sessuale (o intersessualità), il medico assegna il sesso maschile o femminile in base al fenotipo del paziente. |
| Genere | Termine che fa riferimento a tutte quelle caratteristiche che vengono socialmente attribuite al genere maschile o femminile. Queste comprendono le norme, i ruoli e le relazioni tra individui definiti come uomini o donne. In quanto costruito sociale, il genere varia da società a società ed evolve e cambia nel tempo [1]. |

| | |
|---|---|
| Ruolo ed espressione di genere | <p>Questi due concetti fanno riferimento a come la persona si mostra ed esprime il proprio genere in termini “mascolini” o “femminili” nel contesto sociale. Il ruolo di genere è un costrutto sociale che dipende dall’ambiente socioculturale in cui si vive e comprende l’insieme di comportamenti ed abitudini che vengono riconosciuti socialmente e culturalmente propri di uomini e donne. L’espressione di genere è, invece, il modo in cui la persona esprime o presenta pubblicamente il proprio genere, includendo sia il comportamento che l’aspetto esteriore (e.g. vestiti, capelli, trucco, linguaggio del corpo, etc.).</p> |
| Identità di genere | <p>Aspetto fondamentale dell’identità di un individuo che riflette il profondo senso di appartenenza ad un genere specifico, indipendentemente da sesso biologico o sesso assegnato alla nascita. Rappresenta una componente intrinseca dell’essere: si manifesta come una consapevolezza intima di chi si è, che può essere maschile, femminile, non binario o altro, non limitandosi alla mera sensazione o percezione esterna.</p> |
| Orientamento sessuale | <p>L’orientamento sessuale identifica da chi si è attratti fisicamente ed emotivamente, se da persone dello stesso genere, del genere opposto o da entrambi i generi.</p> |
| Cisgender | <p>Una persona cisgender è una persona la cui identità di genere corrisponde al genere che le è stato assegnato alla nascita.</p> |
| Transgender e incongruenza di genere | <p>L’incongruenza di genere è caratterizzata da una marcata incongruenza tra l’identità di genere percepita dall’individuo ed il sesso assegnato alla nascita [2].</p> |

In questo senso si identificano, dunque, le persone transgender, un termine ombrello usato per descrivere coloro le cui identità di genere e/o espressioni di genere non sono quelle tipiche attese per il sesso a cui sono stati assegnati alla nascita. Va sottolineato che il termine transgender non ha nulla a che vedere con l'orientamento sessuale e che, grammaticalmente parlando, essendo un aggettivo, non dovrebbe mai essere usato come sostantivo.

Disforia di genere

La disforia di genere è una condizione di forte sofferenza psicofisica secondaria ad una marcata incongruenza tra l'identità di genere percepita dall'individuo ed il sesso assegnato alla nascita, che dura da almeno 6 mesi e che si associa ad una o più delle seguenti condizioni [3]:

1. Forte desiderio di appartenenza al genere opposto
2. Forte desiderio di assumere comportamenti e ruoli tipicamente associati al genere opposto
3. Forte convinzione di avere le caratteristiche del sesso opposto
4. Forte desiderio di liberarsi dei propri genitali o dei tratti sessuali primari e secondari
5. Forte desiderio di avere genitali e/o tratti sessuali secondari del genere opposto

Assegnato maschio alla nascita (AMAB)

Termine che indica le persone assegnate maschi alla nascita (*Assigned Male At Birth, AMAB*) che include uomini cisgender, donne transgender e persone non binarie assegnate maschio alla nascita [1].

Assegnato femmina alla nascita (AFAB)

Termine che indica le persone assegnate femmine alla nascita (*Assigned Female At Birth, AFAB*) che include donne cisgender, uomini transgender e persone non binarie assegnate femmina alla nascita [1].

Genere non-binario Comprende tutte quelle persone che non identificandosi né nel genere maschile né in quello femminile, hanno identità di genere che [4]:

1. Sono costituite da più di un'identità di genere contemporaneamente o in momenti diversi (e.g. persone *bigender*);
2. Non si riconoscono in nessun genere o hanno un'identità di genere neutra (e.g. *agender*);
3. Racchiudono o mescolano elementi di più generi (e.g. *polygender*, *demiboy*, *demigirl*) e/o hanno un genere che cambia nel tempo (e.g. *gender-fluid*).

Percorso di affermazione di genere Percorso che porta una persona a vivere appieno nel genere in cui si identifica [1]. Questo percorso può includere il coming out della persona con la famiglia e gli amici, un percorso psicologico/psichiatrico che attesti un'incongruenza, la terapia ormonale, la rettifica dei dati anagrafici e le eventuali chirurgie che rientrano nei desideri della persona.

3.2. *Identità sessuale*

L'identità sessuale è un aspetto molto complesso e multifattoriale che caratterizza la nostra personalità. Comprende varie componenti e si manifesta in modo molto eterogeneo da individuo a individuo: include l'identità di genere, l'espressione di genere, l'orientamento sessuale ed il sesso biologico. Nel loro insieme, essi contribuiscono a formare l'autopercezione di ciascuno riguardo il proprio essere. La complessità di questo tema si rispecchia nel fatto che queste quattro componenti possono combinarsi in diversi modi, generando, quindi, una vasta gamma di esperienze personali.

Alla nascita di un bambino/a, lo si assegna maschio se presenta un pene e i testicoli, mentre la si assegna femmina se nasce con una vagina. Nella maggior parte dei casi,

L'identità di genere, che si instaura nel tempo, corrisponde al genere assegnato alla nascita. Tuttavia, circa lo 0,2-2,2% della popolazione generale percepisce un disallineamento tra la propria identità di genere ed il sesso biologico loro assegnato (vedi tabella 3.1) [10]. Incongruenza e disforia di genere sono concetti cruciali quando si parla di persone transgender, perché è proprio da questo disagio che, in alcuni, nasce la forte necessità di modificare il proprio corpo, allineandolo al genere esperito. Le persone designate maschio alla nascita (AMAB) e le persone designate femmina alla nascita (AFAB) vivono la disforia in modo diverso e profondamente personale [5].

È importante sottolineare che l'identità di genere non dovrebbe essere vista come un processo strettamente dicotomico, limitato esclusivamente al genere maschile o a quello femminile. Piuttosto, essa riflette profondamente chi siamo e può manifestarsi lungo uno spettro variegato che va oltre i confini tradizionali. A tal proposito, nel 2011 l'Institute of Medicine (IOM) ha introdotto il termine "varianza di genere" per riconoscere e includere un ampio spettro di identità ed espressioni di genere. Questo concetto riconosce che l'identità di genere può includere individui che si identificano come uomini o donne, ma anche coloro che non si riconoscono né come uomini né come donne, e quelli che si identificano sia come uomini che come donne [6, 7].

3.3. Dati epidemiologici riguardo la popolazione transgender

Ad oggi, risulta complesso fornire dati epidemiologici riguardo la popolazione transgender. Si stima che la prevalenza vari da 1:11.900 a 1:45.000 per le persone AMAB e da 1:30.400 a 1:200.000 per le persone AFAB [8]. Tali dati, tuttavia, sono spesso sottostimati, principalmente perché vengono raccolti da sottogruppi più facilmente identificabili, ovvero quelle persone che si rivolgono a centri specializzati per cominciare un percorso di affermazione di genere. Non vengono, infatti, considerate tutte quelle persone che, pur non cercando assistenza medica o non identificandosi come disforici, rientrano comunque nello spettro transgender [9]. Questa sottostima riflette la lieve ma significativa differenza tra i termini "transessualismo" e "transgenderismo". Il primo, è un termine ormai desueto che fa riferimento a quelle persone transgender che desiderano intraprendere un percorso di affermazione più o meno completo, comprensivo di terapia ormonale ed eventuali chirurgie, per allineare il proprio corpo con l'identità di genere esperita. Il secondo termine, invece, fa riferimento a un concetto più ampio, ovvero di

tutte quelle persone la cui identità di genere non coincide con il sesso assegnato loro alla nascita, comprendendo anche coloro che non desiderano intraprendere un percorso medico e chirurgico, ma che preferiscono esprimere la loro identità in altri modi, come, per esempio, attraverso il comportamento, l'abbigliamento o altre forme di espressione sociale.

Facendo una rassegna dei dati raccolti negli SOC8 della WPATH si è notato come il numero e la proporzione di persone transgender vari notevolmente in base al metodo di raccolta dei dati (e.g. cartelle cliniche, sondaggi online, sondaggi scolastici, etc.) ed al contesto in cui questi dati sono stati raccolti (e.g. pazienti che accedono ai sistemi sanitari, partecipanti a sondaggi nella popolazione generale, studenti, etc.) [10].

Tabella 3.1: Stima delle persone transgender nella popolazione generale. Adattato da [10]

| Studio | Contesto | Anno del dato | Percentuale di persone TGD | Metodo |
|-----------------------------------|--|----------------------|-----------------------------------|---|
| Conron et al., 2012 [61] | Behavioral Risk Factor Surveillance System (USA) | 2007-2009 | 0,5% | Auto-dichiarazione tramite sondaggio telefonico |
| Blosnich et al., 2013 [55] | Veterans Health Affairs (USA) | 2013 | 0,02-0,03% | Codici diagnostici |
| Crissman et al., 2017 [62] | Behavioral Risk Factor Surveillance System (USA) | 2014 | 0,5% | Auto-dichiarazione tramite sondaggio telefonico |
| Kauth et al., 2014 [56] | Veterans Health Affairs (USA) | 2014 | 0,02-0,03% | Codici diagnostici |

| | | | | |
|---------------------------------------|------------------------------------|------|---|--|
| Kuyper & Wijsen, 2014 [63] | Sondaggio online (Paesi Bassi) | 2014 | 0,8-1,1% (transgender); 3,2-4,6% (non si riconosce appieno nel sesso assegnato alla nascita) | Auto-dichiarazione tramite scala Likert |
| Van Caenegem et al., 2015 [64] | Sondaggio online (Fiandre, Belgio) | 2015 | 0,6-0,7% (transgender); 2,2-3,3% (non si riconosce appieno nel sesso assegnato alla nascita) | Auto-dichiarazione tramite scala Likert |
| Coffman et al., 2016 [65] | Sondaggio online (USA) | 2016 | 0,4% | Auto-dichiarazione tramite sondaggio online |
| Rider et al., 2018 [67] | Minnesota Student Survey (USA) | 2016 | 2,7% | Auto-dichiarazione tramite sondaggio scolastico |
| Dragon et al., 2017 [57] | Medicare (USA) | 2017 | 0,02-0,03% | Codici diagnostici |
| Quinn et al., 2017 [60] | Kaiser Permanente (USA) | 2017 | 0,04-0,08% | Codici diagnostici e note cliniche in testo libero |
| Ewald et al., 2019 [58] | Medicare (USA) | 2019 | 0,02-0,03% | Codici diagnostici |

| | | | | | |
|--|--------------------------------------|------|---|--|---|
| Reisner et al., 2019 [70] | Sondaggio scolastico (Svezia) | 2019 | 2,6% | | Auto-dichiarazione tramite sondaggio scolastico |
| Solberg et al., 2019 [69] | Sondaggio scolastico (Norvegia) | 2019 | 2,2% | | Auto-dichiarazione tramite sondaggio scolastico |
| Jasuja et al., 2020 [59] | Medicare & Assicurazioni Private | 2020 | 0,03% | | Codici diagnostici e informazioni su procedure e terapia ormonale |
| McNeill et al., 2020 [68] | Millenium Cohort Study (Regno Unito) | 2020 | 2,5% | | Auto-dichiarazione tramite sondaggio scolastico |
| National Center for Transgender Equality, 2022 [66] | Sondaggio nazionale (USA) | 2022 | 32% (donne transgender); 39% (uomini transgender); 29% (non binari/gender non-conforming) | | Auto-dichiarazione tramite sondaggio nazionale |

3.4. Percorso di affermazione di genere

Attualmente, in Italia il percorso di affermazione di genere prevede diverse tappe, le quali portano la “persona ad appartenere al genere in linea con l’identità di genere percepita” [1]. Tale percorso può includere: un percorso psicologico/psichiatrico, un percorso endocrinologico, un percorso legale e un percorso chirurgico.

3.4.1. Percorso psicologico/psichiatrico

La prima fase prevede un percorso psicologico/psichiatrico della durata di almeno 6 mesi al termine del quale un professionista della salute mentale esperto in *transgender care* (psicologo, psichiatra, neuropsichiatra infantile), redigerà una diagnosi di disforia/incongruenza di genere secondo i criteri diagnostici DSM-5-TR e/o ICD-11. In Italia, la diagnosi è essenziale per la fase successiva, ovvero quella medica finalizzata all'inizio della terapia ormonale di affermazione di genere.

Durante le varie sedute, la persona esplora la propria identità, viene seguita e supportata in questa prima fase di quello che sarà un lungo percorso che continuerà per tutta la vita. Il professionista esperto di *transgender care* ha anche il compito di seguire la persona durante le fasi più delicate della sua vita, quali il coming out, il rapporto con la famiglia, con gli amici e, in generale, con la società (e.g. ambiente di lavoro, scuola, etc.).

La persona che sta iniziando il proprio percorso di affermazione dovrebbe anche essere informata dal professionista riguardo al percorso medico di affermazione di genere, come terapia ormonale e chirurgie, oltre che all'iter legale di cambio del nome. Lo specialista della salute mentale deve inoltre assicurarsi che la persona abbia le capacità di conferire il proprio consenso informato al trattamento medico. A tal proposito, la persona riceve in questa fase informazioni sui trattamenti medici di affermazione di genere, in modo da delineare un percorso su misura e costruire aspettative realistiche sul percorso stesso. Inoltre, va sottolineato come il percorso psicologico, stando alle disposizioni della WPATH, non dovrebbe essere inteso come fine a se stesso o come un semplice strumento per ricevere una diagnosi per accedere alla terapia. È sempre buona norma per il professionista psicologo/psichiatra cercare di mantenere i contatti con il proprio paziente e seguirlo durante l'intero percorso di affermazione ed eventualmente, quando necessario, per tutta la vita [10].

Alcuni studi hanno dimostrato come vi sia un'aumentata prevalenza di depressione, ansia e pensieri suicidari tra le persone transgender rispetto alla popolazione generale [11, 12, 13, 14]. A questo proposito, la valutazione psicologica e/o psichiatrica mira non solo a diagnosticare l'incongruenza di genere della persona, ma anche ad identificare altre co-occorrenze relative alla salute mentale dell'individuo (e.g. uso di sostanze psicotrope,

autolesionismo [15, 16], aumentato rischio suicidario [15], depressione, ansia, disturbi dello spettro autistico [17], etc.) che, come precedentemente affermato, si associano più frequentemente ai soggetti con incongruenza di genere rispetto alla popolazione generale. [6, 10, 18].

Per quanto concerne bambini e adolescenti, il professionista che fa diagnosi dovrebbe avere anche una formazione in psicologia del neurosviluppo infantile e adolescenziale, motivo per cui ci si affida solitamente ai neuropsichiatri infantili e agli psicologi dell'età dello sviluppo [19]. Lo specialista guida l'adolescente nell'esplorazione della propria identità di genere; valuta la presenza di eventuali co-occorrenze psicopatologiche; supporta la famiglia nel percorso e nei rapporti interpersonali; valuta la maturità dell'adolescente nel prendere delle decisioni mediche. In seguito all'avvio delle terapie mediche, il professionista della salute mentale resta a disposizione della persona per supportarla durante le fasi più delicate del percorso stesso.

3.4.2. *Percorso endocrinologico*

Il percorso endocrinologico è la prima tappa del percorso medico di affermazione di genere. Il paziente, dopo aver ricevuto la diagnosi di disforia/incongruenza di genere, ha diritto ad accedere alla terapia ormonale di affermazione di genere (GAHT, *Gender Affirming Hormonal Therapy*). Questa consiste nella somministrazione di testosterone o estrogeni e antiandrogeni al fine di indurre, rispettivamente, una virilizzazione e defemminilizzazione nelle persone AFAB e una femminilizzazione e demascolinizzazione nelle persone AMAB. Tale terapia, in Italia, è attualmente prescritta in modalità off-label su piano terapeutico regionale a carico del SSN, secondo la delibera AIFA del 23 settembre 2020. Viene, infatti, prescritta la terapia ormonale usata nei soggetti cisgender ipogonadici.

Secondo la ottava versione degli Standard of care della WPATH [20] l'età minima per poter accedere alla terapia femminilizzante o mascolinizzante è, indicativamente, 16 anni. Si è stabilito che a questa età il soggetto sia sufficientemente capace di prendere decisioni per il proprio corpo e di saper soppesare gli effetti attesi ed indesiderati associati alla terapia ormonale, i cui effetti sono parzialmente reversibili. Ciascun caso viene valutato da un team multidisciplinare, comprendente uno psicologo e un neuropsichiatra infantile,

che determina la maturità e la consapevolezza dell'adolescente. Tuttavia, va considerato che l'incongruenza di genere si può manifestare molto prima dei 16 anni e dover attendere fino a questa età, vedendo contemporaneamente il proprio corpo sviluppare i caratteri sessuali secondari del genere a cui la persona non si sente di appartenere, è spesso motivo di grande discomfort. A conferma di ciò, si sono effettuati diversi studi longitudinali che, seguendo nel tempo i soggetti transgender dalla prima adolescenza fino all'età adulta, hanno confermato come l'inizio precoce della terapia e le successive chirurgie di affermazione abbiano avuto outcome oggettivi e soggettivi positivi. [21].

Mentre negli adulti la terapia farmacologica consiste nella somministrazione di ormoni mascolinizzanti o femminilizzanti, negli adolescenti la situazione è più delicata. Nel caso in cui lo sviluppo puberale porti a una intensa disforia di genere nell'adolescente, si può valutare l'uso dei GnRH analoghi (e.g. Triptorelina). Questi farmaci hanno lo scopo di bloccare, in modo reversibile, lo sviluppo puberale e l'espressione dei caratteri sessuali secondari non desiderati.

La somministrazione dei bloccanti ormonali negli adolescenti è una scelta che va accuratamente definita da un team multidisciplinare. Inoltre, secondo la determina AIFA del 25 febbraio 2019, i criteri per intraprendere l'utilizzo di tali farmaci prevedono la presenza di tali condizioni:

1. Raggiungimento di uno stadio puberale 2-3 di Tanner, verificato da livelli ormonali adeguati all'età puberale in questione (vedi tabella 3.2);
2. Conferma della diagnosi di disforia di genere secondo i criteri DSM-5 da parte di un team multidisciplinare di specialisti in psicologia dello sviluppo, neuropsichiatria infantile, endocrinologia pediatrica, psicologia dello sviluppo e bioetica;
3. Insorgenza o esacerbazione dei sintomi in concomitanza con l'esordio della pubertà;
4. Stabilizzazione di eventuali psicopatologie concomitanti o condizioni mediche che potrebbero impedire la diagnosi o il processo terapeutico della disforia di genere;
5. Mancata efficacia delle misure psicologiche, psicoterapeutiche o interventi neuropsichiatrici;

6. Consenso informato ottenuto dall'adolescente e dai genitori/tutori.

[23, 24]

I GnRH agonisti agiscono stimolando inizialmente i recettori ipotalamici, portando a un aumento transitorio dei livelli di FSH e LH (e di conseguenza degli ormoni gonadici endogeni) che può esitare nel fenomeno del *flare up*, ovvero un'iniziale progressione dello sviluppo puberale, durante il primo mese di trattamento. Nel tempo, si ha una abolizione della fisiologica pulsatilità del GnRH con conseguente soppressione della produzione degli ormoni ipofisari e gonadici. [22].

Il razionale per l'utilizzo di tale terapia consiste nel supportare la diagnosi di incongruenza di genere: dopo aver fatto esperienza del proprio corpo e della propria identità, il discomfort e la disforia che derivano dallo sviluppo di tratti corporei non desiderati viene alleviata dalla sospensione di tale processo mediante questi farmaci [10]. Inoltre, l'utilizzo della triptorelina permette alla persona di raggiungere un'età tale da acquisire una maturità sufficiente per decidere consapevolmente se iniziare una terapia ormonale, i cui effetti sul corpo sono potenzialmente irreversibili. Allo stesso modo, le linee guida impongono che i soppressori della pubertà non vengano somministrati prima dello sviluppo puberale dell'individuo, più nello specifico non prima di aver raggiunto uno stadio di Tanner 2 (vedi tabella 3.2 e figura 3.1), ovvero la comparsa del bottone mammario per le persone AFAB e lo sviluppo testicolare maggiore di 4 cc per le persone AMAB. Da un lato, infatti, è importante che essi facciano esperienza dei propri cambiamenti per comprendere quale sia effettivamente la loro vera identità, dall'altro va considerata anche la probabilità che essi possano realizzare che la loro identità sia congrua, o per lo meno parzialmente congrua, al loro sesso biologico. Senza trascurare, infine, che non c'è motivo di cominciare una terapia bloccante la pubertà se questa non è ancora cominciata [25, 26].

Tabella 3.2: Stadi di Tanner. Adattato da [27]

| Scala dei peli pubici (sia maschi che femmine) | |
|---|--|
| Stadio 1 | Nessun pelo |
| Stadio 2 | Pelo soffice |
| Stadio 3 | Pochi peli terminali |
| Stadio 4 | Peli terminali che riempiono l'intero triangolo sovrastante la regione pubica |
| Stadio 5 | Peli terminali che si estendono oltre la piega inguinale sulla coscia |
| Scala dello sviluppo del seno femminile | |
| Stadio 1 | Nessun tessuto mammario palpabile |
| Stadio 2 | Gemma mammaria palpabile sotto l'areola (primo segno puberale nelle femmine) |
| Stadio 3 | Tessuto mammario palpabile fuori dall'areola; nessun sviluppo dell'areola |
| Stadio 4 | Areola elevata sopra il contorno del seno, formando un aspetto a "doppia coppa" |
| Stadio 5 | Il monticello areolare si ritrae nel contorno del seno singolo con iperpigmentazione dell'areola, sviluppo delle papille e protrusione del capezzolo |
| Scala dei genitali esterni maschili | |
| Stadio 1 | Volume testicolare < 4 ml o asse lungo < 2,5 cm |
| Stadio 2 | 4 ml-8 ml (o 2,5-3,3 cm di lunghezza), primo segno puberale nei maschi |
| Stadio 3 | 9 ml-12 ml (o 3,4-4,0 cm di lunghezza) |
| Stadio 4 | 15-20 ml (o 4,1-4,5 cm di lunghezza) |
| Stadio 5 | > 20 ml (o > 4,5 cm di lunghezza) |

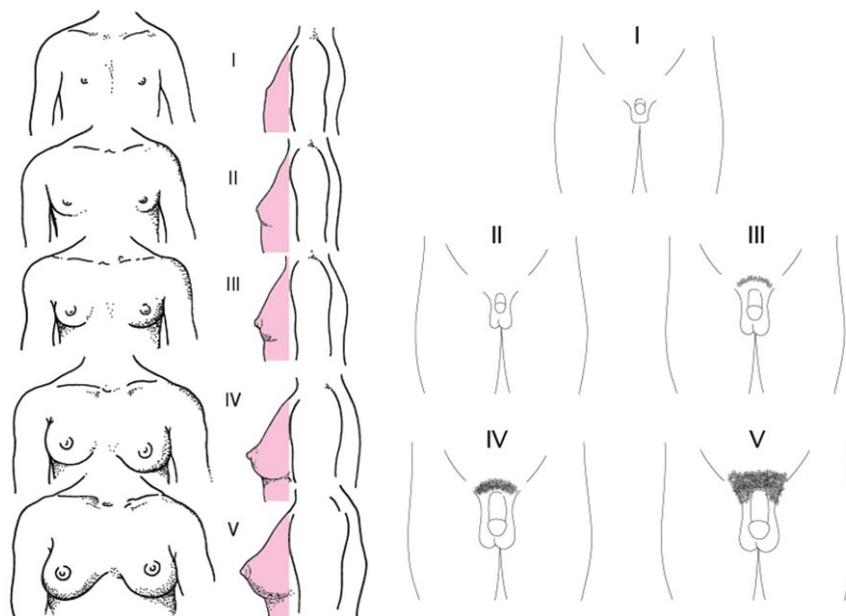


Figura 3.1: Stadi di Tanner. [71]

Il grande vantaggio dei bloccanti ormonali è la reversibilità dei loro effetti: una volta interrotti, le gonadi riprendono a funzionare e a secernere ormoni, riprendendo, così, lo sviluppo puberale precedentemente interrotto. Inoltre, i GnRH analoghi permettono di estendere la fase di valutazione psicologica ed avvalorare una diagnosi di disforia/incongruenza di genere, permettendo all'adolescente di maturare una maggiore consapevolezza di sé, libero dal disagio associato allo sviluppo di caratteri sessuali non desiderati. Alcuni studi hanno, infatti, dimostrato come l'utilizzo dei bloccanti puberali sia associato a una riduzione dei quadri di discomfort, depressione, ansia, autolesionismo e suicidio rispetto a coloro che non hanno effettuato il trattamento con GnRH analoghi. Un ulteriore vantaggio sta anche nel fatto che, bloccando lo sviluppo dei caratteri sessuali indesiderati, una volta che verrà cominciata la terapia ormonale vera e propria, questa indurrà lo sviluppo dei caratteri sessuali del genere esperito, permettendo potenzialmente all'individuo di evitare interventi chirurgici particolarmente invasivi. [23, 28].

Tra gli svantaggi ed i possibili effetti avversi legati alla somministrazione di triptorelina si annoverano:

1. Gli ormoni endogeni hanno un ruolo cruciale sullo sviluppo cerebrale dell'adolescente mediante il loro impatto sulla maturazione cognitiva [29, 30]. Ad

- oggi, non è noto se l'utilizzo di GnRH analoghi impatti significativamente sui processi cognitivi di ordine superiore [31];
2. Non vi è ancora certezza circa gli effetti a lungo termine, soprattutto riguardo la fertilità e la mineralizzazione ossea [32];
 3. Sono in fase di valutazione gli effetti a breve termine quali incremento ponderale e del BMI oltre che possibili effetti sulla salute cardiometabolica [33].

Ciononostante, la terapia con GnRH analoghi (preferiti rispetto ai GnRH antagonisti per i migliori outcome a lungo termine ed il maggior numero di studi presenti in letteratura) è efficace, relativamente sicura e soprattutto, reversibile e permette di alleviare la disforia di genere degli adolescenti nell'attesa di accedere alla terapia ormonale [28].

3.4.2.1. Terapia ormonale di affermazione di genere

La GAHT consiste nella somministrazione di ormoni esogeni ad effetto mascolinizzante o femminilizzante. Prima di accedere al trattamento ormonale, il paziente deve essere in possesso della diagnosi di incongruenza di genere e deve sottoscrivere il consenso informato per l'utilizzo di farmaci off-label. Si ribadisce, infatti, che queste terapie non nascono per l'incongruenza di genere, ma per sopperire la mancata produzione di ormoni endogeni in persone ipogonadiche cisgender.

Il medico curante deve assicurarsi che non sussistano controindicazioni psico-fisiche all'inizio della GAHT. A tal proposito, vengono prescritti esami ematochimici generali, ormonali e accertamenti di imaging volti ad escludere la presenza di condizioni che potrebbero pregiudicare la sicurezza del percorso.

La GAHT impatta non solo sull'aspetto, fisico e psicologico, del paziente ma anche in molti processi fisiologici. Pertanto, in corso di terapia, si raccomanda uno stretto follow-up a cadenza almeno trimestrale nel primo anno di terapia e poi a cadenza annuale o semestrale nel periodo successivo. Ciò, permette anche di modificare nel tempo la terapia ormonale, qualora i livelli ormonali del paziente non corrispondano a quelli tipici riscontrati del genere con cui il paziente si identifica, e di monitorare la comparsa di eventuali effetti indesiderati della terapia. Infatti, il percorso endocrinologico (ed in generale il percorso di affermazione) è altamente personalizzabile e deve essere conforme ai desideri e alle aspettative del singolo paziente [10, 19].

3.4.2.2. *Obiettivi*

L'intero percorso endocrinologico si prefigge degli obiettivi precisi:

- Demascolinizzazione e defemminilizzazione: soppressione della secrezione degli ormoni endogeni che porti ad un blocco e, possibilmente, regressione dei caratteri sessuali secondari determinati dal sesso biologico
- Mascolinizzazione e femminilizzazione: sviluppo dei caratteri sessuali secondari del genere desiderato

3.4.2.3. *Fasi del percorso endocrinologico*

Prima di cominciare la somministrazione di ormoni, è necessaria una prima visita endocrinologica dove si raccolgono le generalità del paziente, si effettuano un'accurata anamnesi ed esame obiettivo e vengono prescritti gli esami che permettano di escludere condizioni fisiche e psicologiche che controindichino la GAHT (o comunque condizioni che dovranno essere trattate o tenute in considerazione prima di iniziarla). In questa visita vengono anche discussi con il paziente gli obiettivi che egli si è preposto dalla terapia stessa. Questo è, in particolar modo, importante soprattutto per le persone non binarie, le quali possono richiedere una parziale demascolinizzazione/femminilizzazione o defemminilizzazione/mascolinizzazione [34].

Dopo la prima visita il paziente viene a controllo con gli esiti degli esami prescritti. Se questi sono nella norma, si può procedere informando il paziente degli effetti attesi ed indesiderati della GAHT, lo si informa del fatto che è una terapia off-label e gli si fa firmare il rispettivo consenso informato. Al termine di questa visita viene prescritta la terapia ormonale.

Secondo la SOC8 della WPATH [20] e le linee guida internazionali della Endocrine Society [19] e nazionali della SIGIS [35], durante il primo anno di terapia ogni paziente viene seguito con visite periodiche ogni tre mesi, dove si monitorerà principalmente la salute psicofisica del paziente e l'adeguatezza della terapia (ovvero se questa fornisce livelli adeguati di ormoni, se gli effetti attesi, per quanto precoci a questo punto della terapia, siano soddisfacenti ed eventualmente se si sono riscontrati effetti avversi che facciano optare per un cambio della formulazione o della posologia del farmaco). In

questo modo, in base ai livelli di ormoni riscontrati agli esami del sangue è possibile modulare la terapia ormonale e trovare il farmaco e la posologia che più si addicono per il singolo paziente. Successivamente, una volta trovata la terapia adatta per il paziente in questione, le visite potranno essere effettuate ogni 6 o 12 mesi.

3.4.2.4. *Terapia mascolinizante*

La terapia mascolinizante consiste nella somministrazione di testosterone. In Italia, sono disponibili formulazioni iniettive intra-muscolo a cadenza mensile o trimestrale oppure mediante l'applicazione giornaliera di gel transdermico. Nel primo caso si utilizza una formulazione di esteri del testosterone *long-acting* che genera un picco iniziale che gradualmente diminuisce fino alla successiva iniezione. Nel secondo caso, viene usato testosterone transdermico ad emivita più breve (attorno alle 24 ore) che fornisce livelli sierici di ormone più costanti e fisiologici, oltre che maggiormente personalizzabili (vedi tabella 3.3).

Diversamente dalla terapia femminilizzante che necessita della co-somministrazione di antiandrogeni (argomento trattato di seguito), normalmente, il testosterone ha una sufficiente capacità di soppressione delle gonadotropine endogene (LH e FSH) che porta a una riduzione dei livelli endogeni di estrogeni. Attualmente, ci sono pochi studi riguardo all'utilizzo di antiestrogeni, come gli inibitori dell'aromatasi (enzima presente soprattutto a livello del tessuto adiposo adibito alla conversione del testosterone in estrogeni), allo scopo di sopprimere i livelli di estrogeni circolanti nei maschi transgender [36].

Tra gli effetti attesi si riscontra abbassamento della voce (normalmente entro 3-12 mesi), crescita di peli corporei (3-6 mesi) e facciali (6-12 mesi), redistribuzione del grasso corporeo in senso più androgino a livello addominale (3-6 mesi), aumento della massa muscolare (6-12 mesi), cessazione del ciclo mestruale (2-12 mesi) e ipertrofia clitoridea (1-12 mesi). In merito alla cessazione del ciclo, se questo non dovesse interrompersi entro i primi mesi di trattamento, è possibile associare un farmaco progestinico o un GnRH analogo al fine di raggiungere l'amenorrea.

Agli effetti attesi appena elencati si associano, tuttavia, anche possibili effetti collaterali, quali aumento della produzione di sebo dalla cute e possibilità di insorgenza di acne androgenica, aumento dell'ematocrito che può causare eritrocitosi e possibilmente un

aumento del rischio trombotico [37], alopecia androgenica, un aumento ponderale e dislipidemie (aumento del colesterolo totale e HDL) possibilmente associate ad un aumentato rischio cardiovascolare [10, 38]. È possibile osservare un aumento degli enzimi epatici [39]. Infine, l'aumento della massa muscolare si associa, poi, con un aumento dei livelli di creatininemia, ma non è chiaro se ciò impatti negativamente sulla velocità di filtrazione glomerulare [38, 40, 41, 42]. Gli effetti del testosterone sulla pressione arteriosa sono misurabili, ma estremamente contenuti (si può assistere ad un aumento pressorio di 3-5 mmHg) [37]. Infine, sotto il punto di vista oncologico, il rischio di carcinoma endometriale e mammario rimane presente, seppur lievemente ridotto rispetto alla popolazione femminile cisgender, e questo è probabilmente legato all'aromatizzazione periferica del testosterone in estrogeni [43, 44, 45]. Detto ciò, è fondamentale mantenere lo screening per il carcinoma endometriale e mammario come nella popolazione femminile cisgender.

Va sottolineato che per quanto la terapia con testosterone interrompa il ciclo mestruale, questo non significa che ciò azzeri totalmente la fertilità. Il testosterone non va, infatti, considerato come un metodo contraccettivo che, eventualmente, potrebbe necessitare di essere integrato. Anche l'aspetto psicologico e psichiatrico legato alla terapia androgenica è dibattuto: oltre all'aumento della libido precedentemente citato, si sono riscontrati casi di aumento dell'aggressività. Per quanto alcuni studi abbiano notato una modesta correlazione positiva statisticamente significativa tra la terapia ormonale a base di testosterone e un aumento dell'aggressività, va considerata la moltitudine di fattori che, oltre al testosterone di per sé, possono influenzare la sfera emotiva del soggetto (e.g. ambiente sociale e culturale, esperienze di abusi, traumi o violenza, fattori psicologici concomitanti, etc.) [46].

3.4.2.5. *Terapia femminilizzante*

La terapia femminilizzante consiste nella somministrazione di estrogeni e antiandrogeni. Secondo le linee guida internazionali, si utilizza estradiolo naturale, in quanto ha un minor impatto sul rischio coagulativo, cardiovascolare e metabolico [20]. Le formulazioni contenenti etinilestradiolo o estrogeni coniugati equini, ampiamente usati in passato, sono ora controindicate. Anche in questo caso esistono diverse formulazioni (transdermiche, orali, iniettive). A differenza del testosterone, che ha un buon grado di soppressione delle

gonadotropine, per gli estrogeni è necessario associare un antiandrogeno per ottenere una demascolinizzazione, come il ciproterone acetato o lo spironolattone. Più raramente, vengono utilizzati anche GnRH analoghi. Questi verranno poi sospesi in caso di orchietomia (vedi tabella 3.3).

Anche per la terapia femminilizzante gli effetti impiegano alcuni mesi a manifestarsi. Tra gli effetti attesi si riscontra lo sviluppo mammario (normalmente entro i primi 3-6 mesi), una riduzione della crescita dei peli corporei (6-12 mesi) che, tuttavia, deve essere associata ad epilazione laser per la rimozione completa del pelo, una redistribuzione del grasso corporeo in senso più ginoide, in particolare a livello dei fianchi e delle cosce (3-6 mesi), una riduzione della massa muscolare (3-6 mesi), una riduzione delle erezioni e della produzione di spermatozoi (3-6 mesi) con anche una progressiva atrofizzazione dei testicoli.

Tra i possibili effetti collaterali si sottolineano l'aumentato rischio tromboembolico (maggiormente associato alla terapia estrogenica orale piuttosto che a quella transdermica) [47, 48], l'alterazione del profilo lipidico (con aumento dei livelli di trigliceridi e riduzione dei livelli di LDL) e diminuzione della libido (legata a una eccessiva soppressione del testosterone da parte dell'antiandrogeno). Un ulteriore riscontro in alcune pazienti è stato la riduzione della pressione sistolica, probabilmente associata all'effetto diuretico dello spironolattone ed alla soppressione dei livelli di testosterone, piuttosto che agli estrogeni di per sé [38, 49]. Al contrario, riguardo l'utilizzo del ciproterone acetato come antiandrogeno, si è notato un aumentato rischio di meningioma intracranico [72]. Per quando la terapia femminilizzante possa influire sul rischio tromboembolico, sull'assetto lipidico e sul quadro pressorio, il rischio cardiovascolare rimane, tutt'ora ancora dibattuto. Si assiste anche ad un aumento dell'insulino-resistenza che si potrebbe associare a diabete mellito di tipo 2, cosa che, tuttavia, non è ancora stata dimostrata. Uno dei riscontri più frequenti, infine, tra la popolazione AMAB è il rialzo dei livelli di prolattina dovuto proprio alla terapia con estrogeni [50, 51].

Dati gli effetti della GAHT a livello gonadico, prima di cominciare la terapia è mandatorio spiegare accuratamente che questi trattamenti possono influire temporaneamente o permanentemente sulla fertilità. Si deve informare i pazienti sulla possibilità di

crioconservazione di ovociti o spermatozoi quando le gonadi sono ancora funzionanti, qualora essi fossero interessati a preservare la fertilità. Va, infine, ricordato ai pazienti AFAB, in particolare, che sebbene il testosterone determini da un lato una progressiva atrofizzazione dell'utero e dall'altro un blocco delle mestruazioni, ciò non garantisce una contraccezione efficace. In caso di rapporti sessuali penetrativi non protetti, infatti, la probabilità di gravidanza è ridotta, ma non eliminata.

Tabella 3.3: Farmaci e posologia per GAHT mascolinizzante, femminilizzante e demascolinizzante. Adattato da [36] e [52]

| GAHT | | Via di somministrazione | Posologia |
|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------|------------------------|
| Terapia mascolinizzante | | | |
| Testosterone | Esteri del testosterone | I.M. | 250 mg / 3 settimane |
| | Testosterone enantato | I.M. | 250 mg / 2-4 settimane |
| | Testosterone undecanoato | I.M. | 1000 mg / 12 settimane |
| | Testosterone gel | Gel transdermico | 50 mg/die |
| Terapia femminilizzante | | | |
| Estrogeni | Estradiolo micronizzato | Orale | 2-4 mg / die |
| | Estradiolo valerato | Orale | 2-4 mg / die |
| | 17 β -estradiolo | Cerotto transdermico | 100-200 μ g / die |
| | Estrogeno emiidrato spray/gel | Spray/Gel transdermico | 1.5-3 mg / die |

| | | | |
|--|-----------------------|-------------------|-----------------------|
| | Estradiolo cipionato | I.M. | 3 mg / 4 settimane |
| | Estradiolo valerato | I.M. | 5-20 mg / 2 settimane |
| | Estradiolo undecilato | I.M. | 100 mg / 4 settimane |
| Terapia demascolinizzante | | | |
| Analoghi del GnRH | Goserelina | SC | 3.8 mg / 4 settimane |
| | Leuprolide | I.M. | 3.75 mg / 4 settimane |
| | Buserelina | SC o Intra-nasale | 200-1200 µg / die |
| | Triptorelina | I.M. | 3.75 mg / 4 settimane |
| | Histrelin | SC depot | 50 µg / die |
| Progesterone | Ciproterone acetato | Orale | 25-100 mg / die |
| Bloccanti del recettore degli androgeni | Spiroglattone | Orale | 100-400 mg / die |

3.4.3. *Percorso legale*

La rettifica dei dati anagrafici consiste nella modifica del nome e del sesso assegnato alla nascita secondo le esigenze della persona che ne fa richiesta. In Italia, attualmente, le persone con incongruenza di genere possono accedere a tale richiesta solo dopo aver

ricevuto una diagnosi psicologica e/o psichiatrica attestata. In genere, il giudice richiede una relazione psicologica e una endocrinologica relative al percorso di affermazione di genere. Dal 2015 per la rettifica dei dati anagrafici non sono più obbligatori gli interventi chirurgici genitali. È stato riconosciuto, infatti, che non tutte le persone con incongruenza di genere siano intenzionate ad effettuare le chirurgie. Con la sentenza n. 221 della Corte Costituzionale del 5 novembre 2015 in merito alla legge 164 del 14 aprile 1982, è possibile fare richiesta della rettifica dei dati anagrafici anche senza sottoporsi ad interventi chirurgici [53]. L'intervento chirurgico non è più un prerequisito per accedere alla sentenza di cambio anagrafico, ma piuttosto uno strumento che può contribuire all'affermazione dell'identità di genere della persona.

Il procedimento prevede che, una volta presentata l'istanza al giudice, questo valuti la richiesta basandosi sulla documentazione fornita da psicologi e medici endocrinologi, nonché sulle dichiarazioni dell'interessato. L'obiettivo è accertare l'effettiva intenzione della persona di vivere stabilmente nel genere esperito. Se il giudice ritiene soddisfatti i requisiti, accoglie la richiesta, autorizzando così la rettifica dei dati anagrafici e la possibilità di accedere agli interventi chirurgici di affermazione di genere.

3.4.4. *Percorso chirurgico*

La chirurgia affermativa ha lo scopo, come appena citato, di supportare l'affermazione dell'identità di genere della persona, permettendole di raggiungere le caratteristiche fenotipiche desiderate.

Esistono diverse opzioni chirurgiche che possono essere suddivise in tre categorie principali: chirurgia del torace, chirurgia genitale e chirurgia ancillare, ovvero chirurgie accessorie eseguite per migliorare l'aspetto fisico e modificare le caratteristiche sessuali secondarie.

Chirurgia del torace:

- Per le persone AMAB: mastoplastica additiva, che consiste nell'inserimento di protesi allo scopo di aumentare il volume mammario
- Per le persone AFAB: mastectomia bilaterale con mascolinizzazione del torace

Chirurgia genitale:

- Per le persone AMAB: orchietomia con eventuale vaginoplastica, ovvero la rimozione dei testicoli con eventuale creazione di una neo-vagina
- Per le persone AFAB: isteroannessetomia con eventuale falloplastica o metoidioplastica, ovvero la rimozione di utero e annessi con eventuale creazione di un neo-fallo

Chirurgie ancillari:

- Femminilizzazione o mascolinizzazione del volto, allo scopo di rendere i tratti facciali più femminili o maschili, rispettivamente
- Contouring corporeo (liposuzione), ovvero il rimodellamento del corpo per ottenere una silhouette più femminile o maschile
- Trapianto di capelli, per correggere la calvizie o per modificare l'attaccatura dei capelli
- Laringoplastica, per appiattire la prominenza della cartilagine tiroidea
- Chirurgia foniatrica, prevede il tensionamento delle corde vocali al fine di modificare il tono della voce e renderla più femminile (procedura spesso associata a sedute logopedistiche per allenare la voce ed il tono)

Va comunque ricordato che è consigliabile attendere almeno 6-12 mesi dopo l'inizio della GAHT, se questa rientra tra le aspettative della persona, prima di sottoporsi a questi interventi. Questo perché gli ormoni sessuali modificano il corpo, favorendo i successivi interventi (e.g. clitoridomegalia per la falloplastica). Inoltre, in alcuni pazienti, i soli ormoni possono essere in grado di rimodellare il corpo in modo soddisfacente alle esigenze della persona, senza la necessità di interventi chirurgici e relative complicanze annesse [54].

Va ribadito, infine, che ogni persona è libera di personalizzare il proprio percorso di affermazione di genere. Per esempio, una persona può richiedere la sola terapia ormonale, senza necessariamente intraprendere tutto l'iter legale di cambio anagrafico o l'iter chirurgico di affermazione di genere, oppure si può decidere di modificare la GAHT al fine di ottenere una parziale mascolinizzazione o femminilizzazione corporea. In quest'ultimo caso si effettuano micro-dosaggi di ormoni allo scopo di fornire alcuni tratti

del genere desiderato, mantenendo comunque attive le gonadi e la loro produzione endogena di ormoni.

4. ERITROCITOSI

4.1. Definizione e classificazione

Con il termine eritrocitosi (o policitemia) si intende una condizione patologica caratterizzata da un aumento anomalo del numero di globuli rossi nel sangue. Generalmente, si definisce quando i livelli di ematocrito superano il 49% nei maschi e il 48% nelle femmine, oppure quando i livelli di emoglobina superano i 16.5 g/dL nei maschi e 16 g/dL nelle femmine [86]. In realtà, per quanto i due termini vengano comunemente utilizzati come sinonimi, esiste una leggera differenza tra eritrocitosi e policitemia. Mentre nel primo caso si fa riferimento ad un aumento della massa degli eritrociti, nella policitemia si assiste ad una qualsiasi forma di aumento degli stessi.

Ad oggi, si riconoscono diverse forme di policitemia che possono essere fin da subito distinte in una forma relativa (determinata da una riduzione del volume plasmatico che causa emoconcentrazione) e in diverse forme assolute. Queste ultime, a loro volta, si distinguono in primarie e secondarie, delle quali si distinguono policitemie adattive, paraneoplastiche e surrettizie (vedi tabella 4.1) [73, 74].

Tabella 4.1: Classificazione della policitemia. Adattato da [73, 74]

| Policitemia relativa | | Emoconcentrazione | |
|-----------------------------|------------|---|---|
| Policitemia assoluta | Primaria | Proliferazione anomala di cellule staminali mieloidi; Mutazioni attivanti il recettore dell'EPO | |
| | Secondaria | Adattiva | Malattie polmonari; Vita in alta quota; Malattie cardiache cianotiche; OSAS |
| | | Paraneoplastica | Tumori secernenti EPO |
| | | Surrettizia | Atleti di resistenza; Fumo; Androgeni |

4.2. Cause di eritrocitosi

La causa di policitemia relativa è da ricercarsi in un quadro di riduzione del volume plasmatico che determina emoconcentrazione.

La policitemia primaria è causata da una proliferazione anomala delle cellule staminali della linea mieloide, in presenza di livelli normali o, addirittura, bassi di eritropoietina (EPO). Una seconda causa, sebbene più rara, consiste in mutazioni ereditarie attivanti il recettore dell'eritropoietina: anche in questo caso i livelli di EPO saranno nella norma o bassi, ma la mutazione del recettore lo rende costantemente attivato o ipersensibile anche a minimi livelli di EPO circolanti.

Nelle forme di policitemia secondaria, il fattore comune predominante è l'EPO. Questa è una glicoproteina prodotta principalmente a livello renale che, in condizioni di ipossia, viene rilasciata nel circolo sanguigno. Il recettore dell'EPO è situato a livello delle cellule progenitrici della linea eritroide nel midollo osseo. Quando l'EPO si lega al suo recettore, vengono attivate vie di segnale che promuovono la sopravvivenza, la proliferazione e la differenziazione di queste cellule staminali che daranno origine a globuli rossi maturi.

Delle cause secondarie di policitemia si riconoscono tre forme:

1. Policitemia adattiva: forma che caratterizza gli individui soggetti a condizioni che provocano ipossia cronica (e.g. pneumopatie, vita ad alta quota, cardiopatie cianotiche, etc.). L'ipossia stimola la produzione di eritropoietina e di conseguenza il numero di globuli rossi, propedeutici al miglioramento del trasporto di ossigeno, stabilmente carente in queste persone.
2. Policitemia paraneoplastica: determinata dalla presenza di tumori EPO-secernenti (e.g. carcinoma a cellule renali, carcinoma epatocellulare, emangioblastoma cerebellare, etc.) che conseguentemente determinano una iperproduzione di globuli rossi.
3. Policitemia surrettizia: in questo specifico caso, c'è un aumento iatrogeno del numero di globuli rossi. Questa forma di policitemia è frequentemente riscontrata negli atleti di resistenza che ricorrono al doping per aumentare la loro capacità aerobica e le loro prestazioni in generale. Esistono tre modi principali per aumentare artificialmente il numero di globuli rossi. Un primo modo consiste nel

doping con EPO sintetica che agisce allo stesso modo dell'EPO endogena legandosi ai recettori posti sulle cellule progenitrici eritroidi. Un secondo modo è l'autoemotrasfusione che consiste nel prelievo e conservazione del sangue dell'atleta qualche settimana o mese prima della gara, per poi venire nuovamente reinfuso subito prima della competizione. Durante il lasso di tempo che intercorre tra il prelievo e la gara, l'atleta avrà completamente ristabilito i propri livelli di ematocrito e globuli rossi; in questo modo, l'autotrasfusione immediatamente precedente al momento della competizione fornirà un surplus di globuli rossi che miglioreranno la performance dell'atleta. Infine, un ultimo modo per aumentare l'ematocrito è l'utilizzo di steroidi anabolizzanti (inclusi gli analoghi del testosterone) [73, 74].

4.3. *Eritrocitosi secondaria a testosterone*

Come appena detto, il testosterone causa policitemia secondaria, ovvero un aumento iatrogeno del numero di eritrociti. Il meccanismo alla base di questa forma di eritrocitosi non è del tutto noto, ma si pensa che il testosterone agisca direttamente e indirettamente sulla produzione di globuli rossi. Alcuni studi hanno evidenziato un aumento transitorio dell'EPO, fino al raggiungimento di livelli di ematocrito più elevati. Successivamente, i livelli di EPO ritornano nella norma. Questo andamento suggerisce che gli androgeni siano in grado di stabilire un nuovo "set point" verso valori più elevati di massa eritrocitaria [87, 93, 95-98]. Secondariamente, altri studi hanno evidenziato una associazione tra testosterone e riduzione dei livelli di epidina, con conseguente aumento della disponibilità marziale [94]. Il testosterone, inoltre, venendo convertito in estradiolo per aromatizzazione e in diidrotestosterone potrebbe avere un effetto diretto nel midollo osseo stimolando la proliferazione e la maturazione delle cellule progenitrici eritroidi [102, 103], secondo meccanismi tutt'ora non noti [103, 104]. È noto, invece, che la terapia ormonale sostitutiva a base di testosterone (*Testosterone Replacement Therapy*, TRT) sia un fattore di rischio per la sindrome delle apnee ostruttive del sonno (OSAS), condizione che espone la persona a periodi di ipossia (potente stimolatore dell'EPO), suggerendo un effetto indiretto del testosterone sulla produzione di globuli rossi [99-101]. Infine, ha anche un'azione anti-apoptotica sempre sulle stesse cellule progenitrici nel midollo, stimolandone, così, la sopravvivenza.

La TRT nasce come trattamento per i maschi cisgender ipogonadici per sopperire alla carenza di androgeni, con l'obiettivo di migliorare la qualità di vita e mantenere un adeguato equilibrio fisiologico. L'eritrocitosi è un effetto collaterale frequente in corso di TRT. Si stima che il 10-30% di questi pazienti sviluppano policitemia [87]. Inoltre, si è visto che le formulazioni iniettabili tendono a causare eritrocitosi più frequentemente rispetto a quelle transdermiche [88].

In conclusione, l'eritrocitosi si associa ad un maggior rischio di trombosi venosa e arteriosa, oltre che ad un maggior rischio cardiovascolare. Ne deriva che nell'eritrocitosi secondaria a testosterone sussista tale rischio; tuttavia, i dati in letteratura non sono ancora sufficienti per confermarlo [88, 90, 91].

4.4. Eritrocitosi nella terapia di affermazione di genere

La terapia con testosterone viene utilizzata anche nel percorso di affermazione di genere allo scopo di indurre una mascolinizzazione e defemminizzazione della persona [89]. Le formulazioni di testosterone sono analoghe a quelle usate nell'ipogonadismo maschile.

L'aumento dei livelli di ematocrito ed emoglobina è un riscontro molto comune nei soggetti in trattamento con testosterone esogeno [76]. Come precedentemente affermato, non si è ancora certi sul meccanismo fisiopatologico alla base dell'eritrocitosi mediata dalla terapia con androgeni. Non esistono, ad oggi, evidenze sufficienti che suggeriscano che la terapia con testosterone aumenti l'incidenza di TVP [77, 78, 79]. Alcuni studi sulla popolazione AFAB in corso di GAHT hanno evidenziato la comparsa di TVP in presenza di valori di ematocrito di 48-50% [80], sebbene altri lavori abbiano evidenziato risultati contrastanti [105, 106].

Le evidenze attuali indicano che l'eritrocitosi indotta da testosterone è più evidente nei pazienti sottoposti a trattamento mascolinizzante con via di somministrazione intramuscolo, piuttosto che per via transdermica [81]. Inoltre, va anche sottolineato che il testosterone ha un effetto dose-dipendente sull'innalzamento dell'ematocrito e che tendenzialmente questo incremento si manifesta in maniera significativa entro il primo anno di GAHT per poi stabilizzarsi. Infine, va ricordato che esistono molti fattori concomitanti che influiscono sulla policitemia, tra cui il fumo e l'obesità; quindi, è fondamentale seguire ogni paziente tenendo in considerazione questi possibili fattori

aggiuntivi che potrebbero avere un effetto additivo sull'incremento dell'ematocrito e sul possibile rischio trombotico [36, 82, 83, 89].

Secondo le linee guida della Endocrine Society, valori di Hct>50% costituiscono una controindicazione relativa all'inizio della TRT, mentre valori di Hct>54% costituiscono una controindicazione assoluta [84, 85]. Altre società scientifiche suggeriscono, invece, di modificare (e.g. preferire le somministrazioni per via transdermica piuttosto che quelle iniettive) o interrompere la TRT quando i valori di Hct oscillano tra 52% e 55% [92]. Queste osservazioni fanno riferimento, tuttavia, alla terapia ormonale sostitutiva negli uomini cisgender, mentre non sono al momento presenti livelli soglia di Hct chiari anche per la GAHT nelle persone transgender. Le raccomandazioni fornite dalla WPATH e dalla Endocrine Society per queste persone consistono in uno stretto monitoraggio mediante esami del sangue a cadenza trimestrale nel primo anno di GAHT e, successivamente, a cadenza semestrale o annuale [10, 19]. Sono necessari ulteriori studi per determinare i valori soglia per il rischio tromboembolico e cardiovascolare nella popolazione transgender.

5. COAGULAZIONE

5.1. *Fisiologia dell'emostasi*

Emostasi e coagulazione sono processi fisiologici cruciali nel corretto mantenimento dell'equilibrio emodinamico. Giocano un ruolo fondamentale nella prevenzione emorragica, oltre che nel mantenimento dell'integrità vascolare. L'emostasi è un meccanismo molto complesso mediato dall'interazione di cellule del sangue, proteine plasmatiche e componenti del sistema vascolare, i quali portano alla formazione di un coagulo stabile che impedisce lo stravasamento di sangue dai vasi danneggiati.

I componenti principali che determinano emostasi e coagulazione sono le piastrine, i fattori della coagulazione e l'endotelio vascolare. Le piastrine (o trombociti) sono frammenti cellulari che derivano dai megacariociti prodotti a livello del midollo osseo. La loro funzione è quella di aderire alla parete del vaso danneggiato e aggregarsi, poi, l'una all'altra fino a formare un tappo piastrinico iniziale. Successivamente, grazie all'attivazione dei fattori della coagulazione che circolano normalmente nel sangue in forma inattiva, si dà inizio alla cascata coagulativa che porta alla produzione di fibrina, la quale, polimerizzando, genera un reticolo insolubile che stabilizza il tappo piastrinico iniziale. L'endotelio vascolare, infine, va a regolare il delicato equilibrio tra fattori pro-coagulanti e anticoagulanti: un endotelio normale produce fattori anticoagulanti allo scopo di prevenire la formazione di trombi intra-vascolari che potrebbero potenzialmente occludere i vasi; un endotelio danneggiato, invece, espone i fattori pro-coagulanti posti negli strati più profondi, attivando tutto il processo coagulativo, in modo da poter riparare il vaso. Tutto questo complesso meccanismo si compone di cinque step: fase vascolare, fase piastrinica, fase coagulativa, fase di retrazione del coagulo e fase fibrinolitica [107, 109-111].

5.1.1. *Fase vascolare*

Per impedire ingenti perdite ematiche, il vaso danneggiato, immediatamente dopo una lesione, va incontro a vasocostrizione. A mediare questa contrazione vascolare sono implicati tre principali meccanismi:

- Le cellule endoteliali danneggiate liberano endotelina 1 (ET-1), la quale migra verso lo strato muscolare che presenta specifici recettori, i recettori

dell'endotelina di tipo A (ET-A). Il legame tra l'endotelina e il suo recettore determina la contrazione della muscolatura liscia del vaso, mediante un meccanismo calcio-mediato;

- Se il danno vascolare coinvolge anche lo strato muscolare liscio, viene attivato un meccanismo vasocostrittivo riflesso che prende il nome di “meccanismo miogeno”;
- Il quadro infiammatorio consequenziale al danno porta a un aumento locale della concentrazione di mediatori dell'infiammazione, quali istamina, prostaglandine e leucotrieni, che, stimolando i nocicettori posti a livello vascolare, determinano vasocostrizione.

Contemporaneamente, le cellule endoteliali danneggiate rilasciano mediatori che vanno ad attivare le due fasi successive: quella piastrinica e quella coagulativa [107, 109-111].

5.1.2. Fase piastrinica

In questa fase si assiste all'attivazione, all'adesione sul sito della lesione e all'aggregazione delle piastrine, fino alla formazione del tappo piastrinico iniziale. Nella sede del danno vengono persi i meccanismi anticoagulanti endoteliali (spiegati nel dettaglio più avanti) e, allo stesso tempo, si assiste al rilascio del fattore di von Willebrand (vWF). Questa molecola viene fisiologicamente prodotta dall'endotelio e ha un effetto attivante sulle piastrine. In un vaso sano, tale effetto viene contrastato dall'azione antiaggregante svolta dall'endotelio; tuttavia, in caso di danno vascolare, questi meccanismi vengono meno ed il vWF può esplicare la sua funzione sulle piastrine. Il vWF si trova ancorato sulle fibre di collagene sottostanti l'endotelio ed è responsabile dell'adesione delle piastrine a livello della lesione: queste, infatti, presentano sulla superficie la glicoproteina-1b (GP-1b) che lega il vWF ancorando la piastrina sul sito di lesione. Queste piastrine vengono attivate: ciò consiste sia nell'espansione degli pseudopodi in modo da aumentare la superficie sulla quale potranno ancorarsi altre piastrine, sia nel rilascio delle sostanze contenute nei loro granuli. Le piastrine possiedono tre tipi di granuli. I granuli α contengono sostanze quali PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*) con effetto stimolante sulla proliferazione e rigenerazione cellulare, vWF che amplifica il meccanismo di attivazione e adesione piastrinici e fattori di coagulazione, come il fibrinogeno che funge da legante tra due piastrine: sulla loro superficie, infatti,

sono presenti le glicoproteine-2b/3a che legano il fibrinogeno, il quale farà, dunque, da ponte tra una piastrina e l'altra. I granuli δ (o densi) contengono ADP e ATP che giocano un ruolo importante nell'aggregazione piastrinica, oltre che calcio e serotonina, che, invece, stimolano ulteriormente la vasocostrizione (sia allo scopo di bloccare l'emorragia, sia per rallentare il flusso ematico e facilitare l'aggregazione). Infine, i granuli λ contengono principalmente lisosomi allo scopo di degradare proteine e matrice cellulare, promuovendo la rimozione di cellule danneggiate e debris. Tutto questo porta, infine, alla genesi di un tappo piastrinico, il quale, tuttavia, risulta ancora fragile. Sarà poi con le successive fasi e con la deposizione di polimeri di fibrina, che il tappo acquisirà stabilità [107, 109-111].

5.1.3. *Fase coagulativa*

Questa fase è caratterizzata dall'attivazione dei fattori della coagulazione, processo che prende il nome di cascata coagulativa e comprende due vie principali: una via estrinseca (che si attiva conseguentemente a una lesione endoteliale con rilascio di fattore tissutale) e una via intrinseca (che si attiva conseguentemente all'esposizione del collagene sottostante l'endotelio vascolare). Queste due vie, poi, convergono fino alla via comune, la quale, a valle di tutto, determina l'attivazione della fibrina, che va a stabilizzare il tappo piastrinico [107, 109-111].

5.1.4. *Fase di retrazione del coagulo*

Le piastrine possiedono le proteine actina e miosina, che, scorrendo l'una sull'altra, determinano la contrazione del tappo, in modo da avvicinare le estremità lese dell'endotelio e facilitarne, poi, la riparazione. Le piastrine, inoltre, in questa fase rilasciano fattori di crescita, come il PDGF che, interagendo con le cellule muscolari lisce e con il collagene, ne stimola la loro riparazione; oppure, il VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) che agisce, invece, sulla riparazione e rigenerazione dell'endotelio danneggiato [107, 109-111].

5.1.5. *Fase fibrinolitica*

Una volta ristabilita la normale fisiologia vasale c'è bisogno di rimuovere il tappo di fibrina e piastrine. Per fare ciò, entrano in gioco diverse sostanze ad azione fibrinolitica

con lo scopo di degradare la fibrina e rimuovere il tappo. Tra queste sostanze, la principale è l'attivatore tissutale del plasminogeno (tPA, *tissue Plasminogen Activator*) il quale ha la funzione di convertire il plasminogeno in plasmina, che, a sua volta, va a degradare la fibrina, determinando il rilascio dei prodotti di degradazione della fibrina (FDP, *Fibrin Degradation Products*), come il D-dimero.

È fondamentale che tutto questo processo venga finemente regolato, in modo da evitare che esso si sbilanci più verso un quadro pro-coagulante (potendo potenzialmente portare a fenomeni trombotici) o, al contrario, verso un quadro anticoagulante (aumentando, invece, il rischio di emorragie). È proprio per questo motivo che a livello vascolare sono presenti fattori anticoagulanti che prevengano l'attivazione dei fattori di coagulazione e l'amplificazione della cascata coagulativa. Tra questi, si ricordano l'ossido nitrico (NO) e la prostaciclina (PGI₂) che hanno una funzione inibitoria sulle piastrine, prevenendone l'attivazione, l'adesione e l'aggregazione; l'eparan solfato, un recettore posto sul versante luminale degli endotelioцитi che lega l'antitrombina III (AT-III), formando un complesso che inattiva i fattori della coagulazione II, IX e X; la trombomodulina, anch'essa un recettore endoteliale posto sul versante luminale che, legando la trombina (fattore II), forma un complesso che attiva la proteina C a proteina C attivata (APC), la quale, a sua volta, ha lo scopo di inattivare i fattori della coagulazione V e VIII [107, 109-111].

5.1.6. *Via intrinseca*

Consequenzialmente all'attivazione piastrinica, i trombociti aggregati iniziano ad esporre sulla loro superficie molecole di fosfatidilserina. Questo fosfolipide presenta cariche negative che sono in grado di attivare il fattore XII circolante in fattore XII attivato (XIIa). Da qui in poi si susseguono tutta una serie di reazioni che portano all'attivazione di diversi fattori della coagulazione (vedi tabella 5.1). Il fattore XIIa media l'attivazione del fattore XI in fattore XI attivato (XIa). Quest'ultimo attiverà il fattore IX a fattore IX attivato (IXa) che, a sua volta, attiverà, in presenza di trombina, il fattore VIII a fattore VIII attivato (VIIIa). Questi due si andranno a legare, insieme al fattore tissutale (o fattore III) e al calcio, per formare un complesso che prende il nome di complesso di Tenase [112]. Tale complesso ha l'importante funzione di attivare il fattore X in fattore X attivato (Xa) e dare inizio alla via comune della cascata coagulativa [107, 109-111].

5.1.7. *Via estrinseca*

La via estrinseca si attiva quando sussistono dei danni a livello tissutale che determinano il rilascio di fattore tissutale (o fattore III). Questo va ad attivare il fattore VII a fattore VII attivato (VIIa) che, a sua volta, determinerà sia l'attivazione del fattore IX in fattore IX attivato (IXa), e quindi all'attivazione anche della via intrinseca della cascata coagulativa, sia l'attivazione del fattore X in fattore X attivato (Xa) e dare inizio alla via comune della cascata coagulativa [112].

Va notato come, data la minor numerosità di fattori della coagulazione coinvolti in questa via, essa si attivi molto più velocemente. Impiega, infatti circa 11-13 secondi per avviare la via comune, rispetto invece ai 38-40 secondi della via intrinseca [107, 109-111].

5.1.8. *Via comune*

A questo punto, il fattore Xa, insieme a fattore V, fattore piastrinico (fattore III) e calcio, formerà un secondo complesso, denominato, invece, complesso della protrombinasi. Tale complesso attiva la protrombina (o fattore II) in trombina (o fattore IIa), che, da un lato, fungerà da meccanismo di feedback positivo sull'attivazione della cascata coagulativa, dall'altro porterà alla attivazione del fibrinogeno (o fattore I) in fibrina (o fattore Ia), oltre che all'attivazione del fattore XIII in fattore XIII attivato (XIIIa). La fibrina ha lo scopo, polimerizzando con altri monomeri di fibrina, di creare dei filamenti che vadano ad ancorare stabilmente il tappo piastrinico precedentemente formato. Il fattore XIIIa, invece, è deputato alla creazione di cross-link tra i polimeri di fibrina, in modo da creare una rete che risulti ancora più stabile nel fissaggio del tappo piastrinico [107, 109-111].

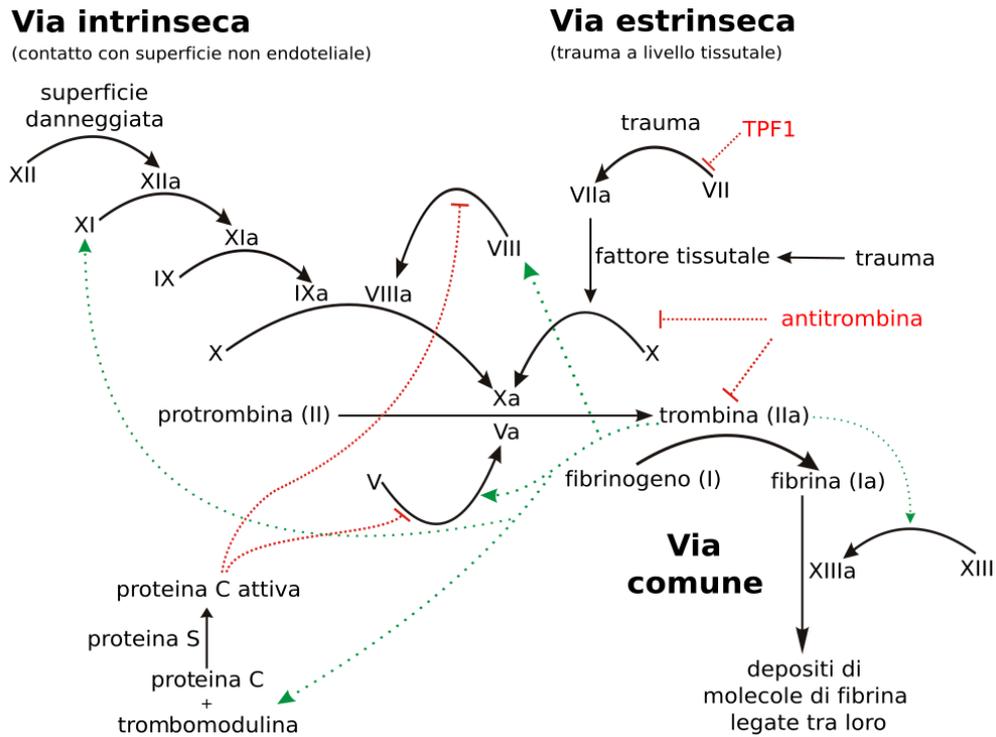


Figura 5.1: Cascata coagulativa [141]

Tabella 5.1: Fattori della coagulazione e loro sinonimi. Adattato da [108]

| FATTORI DELLA COAGULAZIONE | SINONIMI |
|----------------------------|---|
| VIA INTRINSECA | |
| Fattore VIII | Fattore antiemofilico (AHF); globulina antiemofilica (AHG); fattore antiemofilico A |
| Fattore IX | Componente della tromboplastina plasmatica (PTC); fattore di Christmas; fattore antiemofilico B |
| Fattore XI | Antecedente della tromboplastina plasmatica (PTA); fattore antiemofilico C |
| Fattore XII | Fattore di Hageman |

| | |
|--|--|
| Precallicreina | Fattore di Fletcher |
| Chininogeno ad alto peso molecolare (HMWK) | Fattore di Fitzgerald |
| VIA ESTRINSECA | |
| Fattore tissutale | Fattore III; tromboplastina tissutale |
| Fattore VII | Acceleratore della conversione della protrombina serica (SPCA); proconvertina; fattore stabile |
| VIA COMUNE | |
| Fibrinogeno | Fattore I |
| Protrombina | Fattore II |
| Calcio | Fattore IV |
| Fattore V | Proaccelerina; fattore labile; Ac-globulina (IgG) |
| Fattore X | Fattore di Stuart; fattore di Stuart-Prower |
| Fattore XIII | Fattore stabilizzante della fibrina |
| Piastrine | Trombociti |

5.2. *Patologie coagulative*

Come precedentemente constatato, tutto il meccanismo della coagulazione viene finemente regolato in modo da creare un equilibrio stabile tra stato coagulativo e anti-coagulativo. Quando il vaso è sano secerne sostanze anticoagulanti che fluidificano il sangue e prevengono la formazione di trombi. Quando, invece, l'endotelio è danneggiato

e i meccanismi appena citati vengono persi viene attivata la cascata coagulativa in modo da riparare il danno.

Tutto questo avviene fisiologicamente in risposta a una lesione, tuttavia, esistono patologie, ereditarie o acquisite, che attivano indiscriminatamente il meccanismo della coagulazione, predisponendo il soggetto alla formazione di trombi che possono propagare in circolo e potenzialmente causare danni anche molto gravi. Esistono, poi, altre patologie che, contrariamente a quanto appena detto, determinano dei deficit dell'aggregazione piastrinica e/o della cascata coagulativa, le quali non verranno correttamente attivate in caso di necessità, predisponendo, quindi, il soggetto ad un aumentato rischio di sanguinamenti.

Le trombofilie vengono definite come dei “disordini ereditari o acquisiti del meccanismo emostatico che predispongono alla trombosi” [113]. Il trombo (arterioso o venoso) generato dall'attivazione della cascata coagulativa può andare incontro a tre possibili destini. Fisiologicamente, quando l'endotelio si ristabilisce, vengono attivati i fattori fibrinolitici che degradano il trombo. Patologicamente, quando questi meccanismi falliscono, il trombo può crescere fino ad occludere parzialmente o totalmente il vaso in cui si sono formati. Questo risulta particolarmente rilevante quando avviene a livello coronarico, potendo portare a infarto miocardico. In alternativa, può succedere che il trombo, continuamente soggetto al flusso ematico circostante, si rompa disperdendo frammenti in circolo, che prendono il nome di emboli. Normalmente, se gli emboli ematici si formano dal versante venoso, questi risalgono fino al cuore destro raggiungendo il circolo polmonare dove possono occludere i vasi arteriosi polmonari e determinare embolia polmonare. Se, invece, gli emboli si formano dal versante arterioso o nel cuore sinistro (e.g. a livello dell'auricola dell'atrio sinistro o in presenza di protesi valvolari che predispongono la formazione di trombi), questi possono diffondere nella circolazione sistemica potendo potenzialmente occludere qualsiasi arteriola o capillare arterioso. In questi casi, le principali patologie risultanti sono l'infarto miocardico, la malattia cerebro-vascolare e l'arteriopatia obliterante degli arti inferiori.

5.2.1. *Trombosi venosa profonda*

Un trombo venoso è un deposito intravascolare composto di fibrille di fibrina, piastrine (trombo bianco) ed eritrociti (trombo rosso) che originano in zone in cui il flusso ematico è scarso o turbolento. Spesso, ciò avviene a livello periferico dove si presentano le tre componenti principali alla base della formazione di trombi che vengono raggruppate nella triade di Virchow. Questa comprende una riduzione del flusso sanguigno, un quadro di ipercoagulabilità e un danno della parete vascolare. Tali circostanze si manifestano in presenza di alterazioni genetiche predisponenti e fattori ambientali concomitanti (e.g. età avanzata, fumo, obesità, immobilizzazione prolungata, interventi chirurgici, etc.) che nel complesso aumentano l'incidenza di trombosi venosa profonda (TVP). Se questi trombi embolizzano risalgono nel torrente venoso arrivando fino al cuore destro e poi nel circolo polmonare dove può instaurarsi un quadro di embolia polmonare [114, 115].

5.2.2. *Trombofilie ereditarie*

5.2.2.1. *Deficit di antitrombina*

Il deficit di antitrombina III è una condizione patologica a trasmissione autosomica dominante. Fisiologicamente, l'antitrombina lega l'eparan solfato esposto sulla superficie luminale dell'endotelio formando un complesso che inattiva i fattori della coagulazione II, IX e X. Un suo deficit, inteso come mancata produzione di AT-III o in sue mutazioni che producono diverse isoforme meno efficienti rispetto al *wild type* (WT), aumentano il rischio di TVP e, conseguentemente, embolia polmonare [116, 117].

5.2.2.2. *Deficit di proteina C e proteina S*

Altra condizione patologica associata a trombofilia, a trasmissione autosomica dominante. Fisiologicamente, la proteina C lega la trombomodulina creando un complesso che degrada i fattori di coagulazione V e VIII, mentre, la proteina S è in grado di legare questo complesso, potenziandolo e accelerando il processo di degradazione dei fattori appena citati. Un deficit di queste proteine comporta una ridotta eliminazione dei fattori V e VIII, con conseguente aumento della produzione di trombina e formazione di coaguli [116].

5.2.2.3. *Fattore V di Leiden*

La mutazione del fattore V di Leiden è la più frequente causa di trombofilia ereditaria. Ha trasmissione autosomica dominante ed è presente nella popolazione generale con una frequenza di 1-15% (in Europa attorno al 5%) [115], rendendola, quindi un polimorfismo piuttosto che una mutazione. Tale condizione è causata da una mutazione puntiforme a livello del gene che sintetizza per il fattore V della coagulazione (G1691A), caratterizzata da una sostituzione di un'arginina con una glutammina in posizione 506 (R506Q). Questa mutazione genera un fattore V più resistente al clivaggio da parte della proteina C attivata (APC), che ha il compito di inattivare i fattori V e VIII della coagulazione. Ne consegue, quindi, che la cascata coagulativa verrà maggiormente attivata, portando ad una maggior produzione di trombina e aumentando il rischio di TVP e trombotosi arteriosa. Si calcola che negli eterozigoti ci sia un rischio di trombotosi aumentato di 5-8 volte, mentre, negli omozigoti, di 30-140 volte rispetto alla popolazione generale WT. Si presume che questo polimorfismo sia stato selezionato nel corso dell'evoluzione per ridurre il rischio di sanguinamento (e.g. nel post-partum) [113, 116, 118, 119].

5.2.2.4. *Mutazione G20210A della protrombina*

La mutazione G20210A del gene del fattore II (protrombina) è una variante genetica la cui prevalenza può arrivare fino al 4% a seconda della popolazione di riferimento [120] che si associa ad un aumentato rischio di TVP. Viene trasmessa per via autosomica dominante e consiste nella sostituzione di una guanina (G) con una adenina (A) nella posizione 20210 del gene che trascrive per la protrombina, sul cromosoma 11. Ciò, porta alla sintesi di un mRNA più stabile dal quale verranno prodotte più molecole di protrombina, e conseguentemente trombina, aumentando il rischio di formazione di coaguli [119, 121].

5.2.3. *Trombofilie acquisite*

5.2.3.1. *Sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi*

La sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi (APS, Anti-Phospholipid Syndrome) è una condizione autoimmune che si associa sia ad eventi tromboembolici (venosi ed arteriosi) che a complicanze ostetriche. Si tratta di autoanticorpi che riconoscono e si legano a membrane cellulari attivate, tra cui la β 2-glicoproteina I o la protrombina. Tra i principali

anticorpi antifosfolipidi si cita il lupus anticoagulant (LA) che, a discapito del nome, in vivo è associato ad un aumentato rischio trombotico [122], gli anticorpi anti-cardiolipina e gli anticorpi anti- β 2-GPI-1, anch'essi associati a maggiore rischio di trombosi [113].

5.2.3.2. *Iperomocisteinemia*

L'iperomocisteinemia è una condizione patologica caratterizzata da elevati livelli di omocisteina. Questa, è un amminoacido che deriva dal metabolismo dalla metionina e che, a sua volta, può essere riconvertito in metionina da parte dell'enzima metilene-tetraidrofolato reduttasi (MTHFR), processo che richiede vitamina B12 e folati, oppure può essere convertito a cisteina mediante trans-sulfurazione, processo che richiede, invece, la vitamina B6. La funzione principale dell'omocisteina risiede proprio nella possibilità di convertirla in metionina o cisteina, svolgendo, quindi, un importante ruolo sia nella sintesi proteica che nei processi antiossidanti e detossificanti (la cisteina prodotta mediante trans-sulfurazione è un componente essenziale per la produzione di glutatione, il quale funge da agente antiossidante e detossificante). Deficit degli enzimi implicati nel metabolismo dell'omocisteina sono associati ad aumentati livelli della stessa. Si possono manifestare sia per difetti genetici sia per sindromi carenziali di vitamine del gruppo B e folati e vari studi hanno dimostrato come quadri di iperomocisteinemia si associno ad aumentato rischio cardiovascolare e trombotico. Non si è del tutto certi di come questa situazione avvenga da un punto di vista fisiopatologico, ma alcuni suppongono che alla base del quadro protrombotico vi siano meccanismi legati al danno endoteliale, all'attivazione della cascata coagulativa, all'inibizione della fibrinolisi, all'alterazione della funzione piastrinica e allo stress ossidativo [113, 123].

5.2.4. *Trombosi arteriosa*

I trombi a livello arterioso si formano conseguentemente ad aterosclerosi, dove si forma una placca aterosclerotica che, rompendosi, espone lo strato sotto-endoteliale di collagene sul quale aderiscono le piastrine, iniziando il processo trombotico. La rottura di questi trombi e la loro embolizzazione in circolo porta all'occlusione arteriosa a valle. Per esempio, un trombo che si forma a livello carotideo, quando si stacca può risalire fino a livello cerebrale causando trombosi cerebrale e ictus [113].

5.3. *Differenze di genere e rischio tromboembolico nella popolazione transgender*

Un fattore importante da tenere in considerazione quando si parla di rischio tromboembolico, oltre ai vari fattori di rischio quali età, fumo od obesità, è sicuramente il sesso. Le differenze di genere, in questo contesto, sono ben documentate. Il rapporto di incidenza di eventi tromboembolici tra maschi e femmine oscilla tra lo 0,8 e l'1,2 in base agli studi che vengono presi in considerazione [133]. Nonostante ciò, si è dimostrato che il rischio di ricorrenza di tromboembolismo nel sesso maschile sia significativamente più elevato rispetto al sesso femminile [136]. Il rischio di sviluppare eventi trombotici non rimane costante lungo la vita di un individuo e risente fortemente di fattori di rischio, quali per esempio il fumo, le dislipidemie oppure l'utilizzo di contraccettivi orali.

Generalmente, le donne durante il periodo fertile presentano un rischio tromboembolico aumentato a causa di fattori come gravidanza o utilizzo di contraccettivi orali, i quali è stato confermato associarsi positivamente con l'insorgenza di eventi tromboembolici [135].

Il sesso femminile è caratterizzato da fattori biologici ed ormonali che modificano l'assetto coagulativo ed il rischio di sviluppare eventi pro-trombotici. Gli estrogeni, in particolare, manifestano diversi effetti a livello sistemico: agiscono sul metabolismo lipidico aumentando i livelli di HDL e trigliceridi e riducendo quelli di LDL, avendo, quindi, un effetto protettivo sul sistema cardiovascolare; sul metabolismo glucidico hanno un effetto bifasico, andando ad aumentare la sensibilità all'insulina quando si ritrovano a basse dosi nel sangue e a diminuirla quando invece si ritrovano ad alte dosi; sulla coagulazione, invece, si è notato come gli estrogeni abbiano un impatto significativo nell'aumentare la produzione epatica di alcuni fattori, quali il fattore VIII e il fibrinogeno [126], e allo stesso tempo di ridurre l'attività fibrinolitica, portando, nel complesso, ad un quadro protrombotico [127].

Tenuto conto di ciò, se si considera la popolazione femminile senza questi fattori di rischio riproduttivi, il rischio intrinseco di sviluppare TVP rimane più alto nella popolazione maschile [124, 125]. È stato stimato che i maschi presentino, infatti, un rischio di TVP, oltre che di ricorrenza di tromboembolismo venoso, 2 volte più elevato

rispetto alle femmine [134]; tuttavia, il meccanismo fisiopatologico alla base di tale differenza è tutt'ora sconosciuto [136-140].

5.3.1. Effetti della terapia femminilizzante sulla coagulazione nei pazienti AMAB

La terapia femminilizzante a base di estrogeni e antiandrogeni nei pazienti AMAB si è visto avere un impatto significativo sull'assetto coagulativo. Per questo motivo, è importante monitorare questi pazienti con uno stretto follow-up, in modo da adattare la GAHT affinché questa permetta di raggiungere le caratteristiche fenotipiche desiderate evitando, al contempo, l'insorgenza di effetti collaterali gravi.

Si è visto che la terapia estrogenica aumenta la sintesi epatica di alcuni fattori della coagulazione, in particolare il fattore IX (fIX) ed il fattore XI (fXI), già nei primi 12 mesi di terapia. Allo stesso tempo, si è notato, invece, come il testosterone riduca i livelli di tali fattori [128], confermando l'effetto protrombotico legato alla terapia estrogenica [129].

Inoltre, gli estrogeni influiscono sulla riduzione dei livelli ematici di alcuni fattori anticoagulanti, quali proteina S (in base allo studio considerato si sono notate diminuzioni del 2-12%) e antitrombina (con un abbassamento del 5-6%), oltre che una generale aumentata resistenza all'azione della proteina C attivata, andando, quindi, a ridurre il suo effetto anticoagulante [130].

È curioso da notare, infine, come la via di somministrazione vada ad influire sugli effetti procoagulanti degli estrogeni. Si è notato, infatti, che la somministrazione orale si associ maggiormente al rischio di insorgenza di TVP rispetto alla formulazione parenterale. Questo si ipotizza essere legato all'effetto di primo passaggio epatico che caratterizza le formulazioni orali, andando a stimolare la produzione dei fattori della coagulazione e confermando come la terapia ormonale transdermica sembra essere più sicura rispetto al rischio di malattia aterosclerotica e tromboembolica venosa [130].

5.3.2. *Effetti della terapia mascolinizante sulla coagulazione nei pazienti AFAB*

La terapia mascolinizante a base di testosterone nei pazienti AFAB influisce diversamente sul profilo coagulativo e sul rischio tromboembolico. Il testosterone sembra influire su alcuni parametri coagulativi riducendo alcuni fattori come il fattore IX e il fattore XI, oltre che ad un aumento dei livelli del tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT) e dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1) [131]. Inoltre, pur incrementando i valori di emoglobina ed ematocrito, determinando, quindi, una maggiore viscosità ematica, ciò non sembra avere un impatto significativo sul rischio tromboembolico [132]. Resta comunque importante, per quanto riguarda l'eritrocitosi associata alla terapia androgenica, monitorare questi pazienti, intervenendo sulla modifica della posologia o sulla formulazione quando necessario [131].

5.3.3. *Fattori di rischio aggiuntivi e monitoraggio personalizzato*

Per quanto la terapia ormonale possa influire sul profilo coagulativo, va comunque considerato come questo non sia l'unico fattore di rischio che può influenzare il rischio tromboembolico. Oltre alla GAHT è importante valutare altri fattori, quali età, fumo, eventuali interventi chirurgici ed altre comorbidità come ipertensione arteriosa od obesità, oltre che la predisposizione genetica del singolo individuo.

Data l'ampia variabilità nelle risposte individuali alla GAHT, è mandatorio uno stretto follow-up dei pazienti, valutando i parametri della coagulazione, tramite esami del sangue regolari, ed eventuali segni clinici di trombosi.

5.3.4. *Raccomandazioni per la gestione del rischio tromboembolico*

Secondo le linee guida internazionali e nazionali, il medico deve adottare un approccio attento e personalizzato per ogni paziente transgender, valutando il rischio tromboembolico prima dell'inizio della terapia ormonale, durante il trattamento ed in caso la persona si sottoponga ad interventi chirurgici [10]. Selezionare la giusta terapia (e.g. preferire formulazioni topiche di estrogeni piuttosto che formulazioni orali per ovviare l'effetto di primo passaggio epatico, maggiormente associato a TVP, in particolare dopo

i 45 anni) risulta cruciale, soprattutto per i pazienti predisposti al rischio di tromboembolismo.

È importante, inoltre, raccogliere dati e condurre studi longitudinali al fine di approfondire e comprendere meglio come la GAHT influenzi i parametri emocoagulativi nelle persone transgender. Ciò permetterà di sviluppare raccomandazioni e linee guida più precise e basate sull'evidenza al fine di assistere al meglio questi pazienti. Per quanto, infatti, la terapia ormonale porti a significativi benefici nell'affermazione di genere, è importante saper gestire con attenzione i potenziali rischi tromboembolici (ed altri effetti collaterali in generale) mediante un attento monitoraggio ed un approccio terapeutico personalizzato.

6. RISCHIO CARDIOVASCOLARE

6.1. *Differenze di genere*

Le differenze di genere giocano un ruolo cruciale nella manifestazione e nella gestione di molte malattie. Per quanto riguarda le malattie cardiovascolari (*Cardiovascular Diseases*, CVD), sono presenti meccanismi specifici del sesso biologico che vanno ad influenzare il fenotipo della malattia. Oltre all'età, all'etnia, all'ambiente e alle abitudini voluttuarie del singolo individuo, si è visto come i cromosomi sessuali e gli ormoni sessuali (in particolare estrogeni e testosterone) abbiano un ruolo chiave nello sviluppo di CVD tra maschi e femmine [142]. Per esempio, recenti studi hanno evidenziato delle differenze a livello dei cardiomiociti di embrioni maschili e femminili già prima dello sviluppo delle gonadi, supportando, quindi, il coinvolgimento dei cromosomi sessuali indipendentemente dagli ormoni sessuali o dall'ambiente [143]. Una conferma del ruolo degli ormoni sessuali nelle CVD si nota quando si va a studiare la loro incidenza tra i due sessi. Le donne in età fertile presentano, infatti, una minore incidenza di patologie cardiache rispetto alla popolazione maschile, ma tale differenza sparisce dopo la menopausa. Nell'infarto miocardico, per esempio, il rapporto tra femmine e maschi è di 1:6 prima dei 50 anni e di 1:1 tra i 70 e gli 80 anni [144, 145]. Ciò fa supporre, quindi, che gli estrogeni fungano da fattore protettivo per alcuni eventi cardiovascolari.

6.1.1. *Ruolo degli ormoni sessuali: estradiolo e testosterone nel sistema cardiovascolare*

Gli estrogeni (e soprattutto l'estradiolo, E2) hanno un effetto vasodilatativo, agendo sia direttamente che indirettamente a livello della muscolatura liscia nelle arterie [144]. Inoltre, l'effetto degli estrogeni nell'assetto lipidico (ovvero riduzione dei valori di colesterolo LDL e aumento del colesterolo HDL in premenopausa e, viceversa, aumento di LDL e riduzione di HDL dopo la menopausa) determina, nel complesso, un quadro meno aterogeno, e quindi protettivo per il genere femminile [144]. In particolare, le donne tendono a sviluppare un'aterosclerosi più diffusa e meno stenotica rispetto alla controparte maschile [146].

A favore di ciò, alcuni studi longitudinali che seguivano le donne durante la transizione menopausale hanno documentato cambiamenti significativi degli ormoni sessuali, della

composizione corporea, dell'assetto lipidico e della salute vascolare che aumentano significativamente il rischio di CVD dopo la menopausa [170]. In particolare, è stato dimostrato come la menopausa si associ ad un aumentato rischio di malattie coronariche e mortalità cardiovascolare e di come livelli più elevati di estradiolo siano associati ad una minore incidenza di aterosclerosi carotidea [170]. Il sovvertimento del profilo lipidico (aumento del colesterolo totale, aumento del colesterolo LDL e potenziale inversione del fattore protettivo determinato dal colesterolo HDL), la maggiore deposizione di grasso soprattutto a livello viscerale e pericardiaco e la maggiore associazione di diabete mellito di tipo 2 dopo la menopausa, sono tutti fattori di rischio che contribuiscono in queste donne ad un incremento del rischio cardiovascolare e di CVD [171].

Gli effetti del testosterone sul sistema cardiocircolatorio sono, invece, meno chiari. Il testosterone gioca un ruolo importante nella regolazione del calcio: i cardiomiociti maschili mostrano, infatti, transiti di calcio più alti rispetto a quelli femminili. Inoltre, il testosterone sembrerebbe essere coinvolto anche nella risposta di rimodellamento cardiaco all'aumento del carico. Determina, infatti, un aumento del peso cardiaco, della gittata cardiaca e della frazione d'eiezione. Tuttavia, sebbene queste evidenze suggeriscano un effetto negativo moderato da parte degli androgeni sulla funzione cardiovascolare, non è ancora chiaro se la somministrazione esogena di testosterone influisca negativamente sulle CVD nei maschi e nelle femmine [144].

Alcuni studi effettuati su uomini ipogonadici hanno valutato come i bassi livelli di testosterone e la TRT a base di testosterone influiscano sulla mortalità e sul rischio cardiovascolare. I risultati sembrano essere contrastanti: alcuni studi riportano un beneficio sul sistema cardiovascolare nei pazienti ipogonadici trattati con testosterone [168-170]; altri studi risultano, invece, inconcludenti, affermando che la TRT non portava né a benefici né a rischi consistenti in termini di esiti cardiovascolari [167]. È importante sottolineare, tuttavia, che tali studi sono stati condotti per valutare il rischio nel breve termine. Dunque, è fondamentale approfondire la tematica con ulteriori studi che valutino il rischio a lungo termine del testosterone come TRT sul rischio cardiovascolare. Ciò che si è potuto constatare è che livelli fisiologici di testosterone raggiunti mediante la TRT hanno un effetto protettivo sul sistema cardiovascolare, influenzando positivamente sul controllo glucidico, sulla pressione arteriosa, sulle funzioni epatiche e sui parametri

antropometrici, ovvero i principali fattori modificabili che impattano sul sistema cardiovascolare e sulle CVD [170]. Al contrario, bassi livelli di testosterone sembrano associarsi ad una maggiore incidenza di CVD [168-170].

6.1.2. *Fattori di rischio e differenze di genere*

È importante ricordare che le CVD sono patologie multifattoriali nelle quali coesiste una componente genetica ed una ambientale. Riguardo quest'ultima, si ricorda come fumo, sedentarietà e abitudini alimentari scorrette siano tra i principali fattori che influiscono negativamente sul benessere cardiovascolare. In particolare, le donne tendono ad essere più sedentarie rispetto agli uomini, mentre, per quanto riguarda il tabagismo, se in passato era più frequente tra i maschi, al giorno d'oggi tale differenza si sta appianando [144].

Un ultimo aspetto che non può essere trascurato è quello socioculturale che si riflette non solo nella vita di tutti i giorni, ma anche nell'ambiente scientifico e medico-sanitario. Basti pensare, per esempio, come la maggior parte degli studi e delle sperimentazioni terapeutiche siano stati condotti principalmente su popolazioni maschili. Ciò ha permesso di ottenere risultati che beneficiassero gli uomini, tralasciando, invece, la controparte femminile [146].

6.2. *Rischio cardiovascolare nella popolazione transgender*

Per quanto riguarda il rischio cardiovascolare associato alla GAHT, la questione è ancora poco chiara e necessita di ulteriori studi di approfondimento. Si è notata una riduzione dei livelli di colesterolo HDL tra i pazienti AFAB trattati con testosterone e un loro aumento, invece, tra le pazienti AMAB trattate con estrogeni. Tuttavia, sembra che tale differenza sia statisticamente significativa solo tra gli AFAB. Se si considera, poi, che in entrambi i gruppi la GAHT si associa ad un aumento dei livelli di trigliceridi, si potrebbe supporre che fra gli AFAB ci sia un leggero aumento del rischio cardiovascolare [147]. La GAHT, ed in particolare la terapia femminilizzante nelle persone AFAB sembra, inoltre, associarsi ad un aumentato rischio di eventi cardiovascolari maggiori (*Major Adverse Cardiovascular Events*, MACE), in particolare di infarto miocardico e tromboembolismo venoso [172]. Si è, inoltre, notato che la terapia femminilizzante aumenta il rischio di ricaduta in quei pazienti che hanno avuto precedenti episodi di infarto miocardico, ma ciò accade solo ad alti dosaggi di estrogeni [144].

Anche riguardo l'effetto della GAHT sulla pressione arteriosa, la questione è poco chiara. Alcuni studi hanno notato una lieve riduzione della pressione arteriosa sistolica tra le persone AMAB, ma ciò è probabilmente da ricondurre alla contemporanea somministrazione di spironolattone come antiandrogeno, piuttosto che all'estrogeno di per sé [38, 49].

Detto ciò, per quanto la terapia ormonale possa in qualche modo influire su alcuni parametri fondamentali allo sviluppo di eventi cardiovascolari, come il colesterolo HDL, i trigliceridi o la pressione arteriosa, non si può, tutt'ora, affermare che essa dia un danno diretto al sistema cardiocircolatorio [147].

Un ultimo fattore che è importante considerare è l'impatto del *minority stress*, ovvero lo stress che alcune persone transgender percepiscono secondario a discriminazione, rifiuto e vittimismo basati sull'identità di genere. È risaputo che lo stress sia un fattore di rischio per gli eventi cardiovascolari e ciò spiegherebbe il motivo per cui esista una maggiore incidenza di infarto nella popolazione transgender rispetto che in quella cisgender [173].

6.3. *Cellule progenitrici endoteliali*

Le Cellule Progenitrici Endoteliali (EPC) sono cellule staminali presenti a livello ematico caratterizzate dalle seguenti proprietà [148]:

- Capacità di differenziarsi in cellule endoteliali;
- Capacità, in vitro, di formare strutture tubulari con lume simili a capillari;
- Capacità di formare vasi stabili quando vengono impiantati in un tessuto umano;
- Capacità di integrarsi nel sistema circolatorio dell'ospite una volta impiantate in un tessuto;
- Capacità di differenziarsi formando la membrana intima di arterie, vene e capillari.

Nella pratica, queste proprietà sono solo parzialmente riscontrabili. Solo parte delle EPC identificate con metodi odierni soddisfa ciascuna di queste caratteristiche. Infatti, molte delle cellule isolate non sono in grado di dare proliferazione vascolare in vitro e generare dei vasi completi [148].

6.3.1. Isolamento delle EPC

Ad oggi, è possibile isolare da campioni ematici le EPC con tre metodi distinti.

Il primo metodo prevede l'isolamento delle cellule staminali mononucleate a bassa densità (*low density Mononuclear Cells*, MNCs) circolanti nel sangue, seguito dalla coltura in un substrato di fibronectina arricchito con fattori di crescita endoteliale e siero bovino fetale. Dopo 4-5 giorni, si rimuovono le cellule non adese alla fibronectina, conservando solo quelle che si sono legate. Queste vengono poi testate per la loro adesione alle AcLDL (*Acetyl Low Density Lipoprotein*) e a un'agglutinina vegetale (*Ulex europeaus agglutinin I*) [149, 150]. Tuttavia, questa tecnica risente di poca specificità, e le EPC ottenute possono non essere completamente pure.

Il secondo metodo è simile al primo, con la differenza che, in questo caso, la semina delle cellule viene attuata in due passaggi distinti: una prima semina nel terreno di fibronectina seguita da un periodo di incubazione di 48 ore e poi una seconda semina, sempre in un terreno di fibronectina. Questo permette di fare una prima selezione e di eliminare quelle cellule, come monociti, macrofagi e cellule endoteliali mature, che possiedono un'alta capacità di adesione al terreno di fibronectina. In questo modo, rimuovendo tali cellule dalle MNCs isolate, si ottengono colonie cellulari molto più pure [149, 150].

Il terzo metodo, utilizzato per il presente studio, prevede l'analisi direttamente da sangue intero mediante l'utilizzo di anticorpi diretti contro antigeni di membrana delle EPC e successiva analisi citofluorimetria. Siccome non esiste un marcatore antigenico specifico per le EPC, si utilizzano marcatori di staminalità delle cellule ematopoietiche e marcatori specifici delle cellule endoteliali simultaneamente. Tutte quelle cellule che legano questi marcatori contemporaneamente sono le EPC [151].

6.3.2. Marcatori

Nella ricerca delle cellule progenitrici endoteliali sono stati scoperti 4 principali marcatori antigenici che permettono di identificarle.

Il primo marcatore che viene utilizzato per l'identificazione delle EPC è il marcatore di staminalità CD34. Si era notato, infatti, che questo antigene veniva espresso sia dalle cellule ematopoietiche che dalle cellule endoteliali e che, inoltre, le cellule CD34+

presentavano una maggiore adesione ai terreni di fibronectina rispetto alle altre popolazioni cellulari. Ciò ha permesso di stabilire che all'interno della popolazione CD34+ fossero presenti anche le EPC [151].

Il secondo ed il terzo marcatore utilizzati sono, rispettivamente, il CD133 (che lega l'omonimo antigene, comunemente espresso nelle cellule staminali ematopoietiche) e il CD309 (definito anche KDR, comunemente espresso negli angioblasti embrionici). Analizzando la popolazione CD34+, si era notato che le cellule doppie positive CD34+/CD133+ non corrispondevano interamente alle doppie positive CD34+/CD309+. Analizzando l'espressione di questi marcatori in cellule luminari in pazienti portatori di pacemaker è stato possibile definire che solo le cellule che esprimono sia il CD133 che il CD309 appartenevano alla famiglia delle EPC [152].

Il quarto ed ultimo marcatore utilizzato è il CD184 (o CXCR4), il quale riconosce un recettore che media l'attivazione della neo-angiogenesi consequenzialmente a stimolo ipossico. Le cellule che esprimono tale recettore sono responsabili della proliferazione vascolare e, pertanto, rientrano nella famiglia delle EPC [153].

6.3.3. *EPC e rischio cardiovascolare*

Le EPC svolgono un ruolo protettivo nei confronti del sistema cardiovascolare. Stimolano la neo-angiogenesi e giocano un ruolo importante nella riparazione dei vasi lesi. La riduzione del numero di EPC circolanti si associa ad un aumento della mortalità per problematiche cardiovascolari [154] e ad una progressione più rapida delle malattie aterosclerotiche [155]. Alcuni studi hanno anche dimostrato che con l'avanzare dell'età si assiste a una progressiva riduzione del numero e della sopravvivenza delle EPC, inficiando, inoltre, sulla loro capacità di differenziazione e migrazione [156, 157].

La stretta correlazione tra riduzione del numero di EPC ed aumento del rischio cardiovascolare è da imputarsi anche alla compresenza di fattori di rischio cardiovascolari (e.g. diabete mellito, ipercolesterolemia, ipertensione arteriosa, etc.), che, causando un danneggiamento vascolare, inducono la specializzazione delle EPC circolanti per riparare la lesione con conseguente riduzione del loro livello nel sangue [158]. Tra i fattori di rischio che determinano maggiormente una riduzione delle progenitrici endoteliali si annovera:

- Diabete mellito: il livello di EPC è inversamente proporzionale al controllo glicemico [159, 160];
- Colesterolo: l'ipercolesterolemia provoca una riduzione modesta delle EPC nei soggetti sani [150] e una riduzione più marcata nei soggetti con patologie cardiovascolari [161];
- Ipertensione arteriosa: lo stress ossidativo riduce i livelli di ossido nitrico (NO), limitando la mobilitazione delle cellule CD34+ [162];
- Obesità: in particolare quella viscerale, si è notata una relazione indirettamente proporzionale tra circonferenza della vita e numero di EPC [163];
- Fumo e omocisteina: sono anch'essi correlati ad una riduzione delle EPC [161, 164].

Sempre nel contesto del rischio cardiovascolare, sembra che anche gli ormoni sessuali giochino un ruolo significativo, andando a modificare sia la funzione che il comportamento delle EPC stesse. Gli estrogeni, in particolare, agiscono a livello vascolare stimolando la produzione di NO, il quale abbassa la produzione di ROS da parte delle cellule endoteliali. Questo stimolo è strettamente correlato alla proliferazione delle cellule staminali CD34+ nel midollo osseo. Ciò rende gli estrogeni un importante stimolo del processo di riparazione dei vasi [165]. Si ritiene, infatti, che il maggior numero di EPC nelle donne in età fertile rispecchi il ruolo protettivo degli estrogeni nel sistema cardiocircolatorio [166].

Per quanto riguarda il testosterone, invece, la situazione è meno chiara. È stato dimostrato che esso stimoli una maggiore mobilitazione delle EPC nel midollo, tuttavia, non si è certi se ciò derivi dalla presenza del recettore degli androgeni (AR) sulla superficie delle EPC (il che spiegherebbe un effetto diretto del testosterone sulle stesse) oppure dall'aromatizzazione periferica del testosterone che viene convertito in estrogeni oppure ancora per altri meccanismi tutt'ora non noti [153].

7. SCOPO DELLA TESI

Questo studio si propone di indagare le modificazioni dei parametri emo-coagulativi, dell'eritropoiesi e dei livelli circolanti di cellule progenitrici endoteliali indotte dalla terapia ormonale di affermazione di genere. Utilizzando i test che, ad oggi, rappresentano il gold standard, è stato monitorato come i parametri della coagulazione evolvono nel corso del trattamento. Parallelamente, sono stati esaminati lo sviluppo di eritrocitosi, come possibile effetto collaterale legato alla terapia mascolinizante a base di testosterone, e l'influenza degli ormoni sui livelli di EPC circolanti. Infine, lo studio ha cercato di rilevare il rischio di tromboembolismo e di eritrocitosi nei soggetti transgender in trattamento con GAHT, mettendo in relazione i risultati coagulativi, i livelli ormonali e le specificità della terapia.

8. MATERIALI E METODI

Il presente lavoro consiste in uno studio longitudinale prospettico con l'obiettivo di analizzare gli aspetti emo-coagulativi in persone transgender nei primi due anni di GAHT. Il percorso presso il Centro di Riferimento Regionale per l'Incongruenza di Genere (CRRIG) prevede una prima visita endocrinologica durante la quale viene raccolta l'anamnesi e l'esame obiettivo del paziente e vengono eseguiti degli esami di screening per verificare che non vi siano controindicazioni alla terapia ormonale. Successivamente, il paziente torna per la prima prescrizione della GAHT. In occasione delle visite di controllo previste dalla pratica clinica (3, 6, 12 e 24 mesi), sono stati misurati, nuovamente, i parametri ormonali ed emo-coagulativi.

8.1. *Criteri di inclusione ed esclusione*

Son stati inclusi in questo studio pazienti transgender sia AMAB che AFAB, di almeno 18 anni di età, afferenti all'ambulatorio di Disforia e Incongruenza di Genere del CRRIG. Tutti i partecipanti hanno espresso interesse ad intraprendere un percorso di affermazione di genere ed erano, al momento del reclutamento, già in possesso di una diagnosi di incongruenza di genere redatta da uno psicologo o psichiatra competente in *transgender care*. I pazienti sono stati adeguatamente informati circa le modalità e lo scopo dello studio ed è stato chiesto loro di firmare il consenso informato. Son stati esclusi dallo studio i pazienti che erano già in trattamento ormonale al momento del reclutamento, quelli che hanno abbandonato lo studio durante il follow-up o non hanno sottoscritto il consenso informato.

8.2. *Visite ambulatoriali*

Ai pazienti è stato chiesto di presentarsi alle visite di controllo al fine di valutare lo stato di salute durante la terapia ormonale, modulandone i dosaggi in base agli effetti clinici, ai livelli ormonali e al fine di minimizzare il rischio di sviluppare eventi avversi.

8.2.1. *Prima visita*

La prima visita è volta alla raccolta dell'anamnesi del paziente e alla prescrizione dei primi esami che aiutano il medico a definire se vi siano delle ragioni per non somministrare la GAHT. Durante la visita vengono raccolti anche i consensi informati

relativi alla conservazione della cartella presso i nostri archivi, alla somministrazione di farmaci off-label e alla partecipazione allo studio in esame. Viene specificato che la non sottoscrizione del consenso a partecipare allo studio non comporta la cessazione del rapporto medico o un trattamento differente. L'anamnesi inizia con la registrazione del nome e dei pronomi di elezione al fine di creare un ambiente confortevole per il paziente. Viene chiesto quali siano le aspettative riguardo al percorso (terapia ormonale, riassegnazione anagrafica, chirurgia) e se vi sia il desiderio di una completa virilizzazione/femminilizzazione o se la persona, talvolta in virtù di un'identità non binaria, desideri ottenere un aspetto androgino. Viene, inoltre, indagata l'intenzione del paziente a preservare la fertilità mediante i programmi di crioconservazione dei gameti per consentire in futuro di poter avere figli biologici in quanto la terapia affermativa influenza negativamente la fertilità [10, 174].

Nell'anamnesi familiare vengono raccolte informazioni circa la familiarità per malattie cardiovascolari e tromboemboliche e per altre malattie degne di nota (e.g. tumori, diabete mellito, malattie autoimmuni, etc.). L'anamnesi patologica remota indaga problematiche cardiache, tromboembolismo venoso, diabete mellito, ipertensione polmonare e arteriosa, dislipidemie, obesità e patologie psichiatriche (e.g. ansia, depressione). Vengono, inoltre, indagate le abitudini voluttuarie come fumo, alcol e altre sostanze d'abuso. Con l'anamnesi farmacologica vengono indagati i farmaci che il paziente sta attualmente assumendo, con particolare attenzione alla terapia ormonale. Questa informazione è molto importante poiché ci consente di comprendere se il soggetto sia arruolabile o meno nello studio. In occasione della prima visita, viene eseguito un esame obiettivo; ai fini del presente studio sono stati indagati peso, altezza e calcolo del BMI, pressione arteriosa, circonferenza di vita e fianchi, valutazione di torace, polmoni, cuore, fegato e reni, presenza di edemi declivi e valutazione dello stato di salute endocrinologico del paziente. Riportati i dati raccolti con l'anamnesi in cartella, vengono prescritti gli esami di controllo per la visita successiva, ossia quella dove verrà effettivamente prescritta la terapia ormonale. Vengono richieste indagini ecografiche per valutare le mammelle e l'addome, sia in pazienti AMAB che AFAB, nonché l'ecografia scrotale nei pazienti AMAB. Gli esami bio-umorali previsti al fine di iniziare un trattamento ormonale includono [174]: emocromo, ionemia, ormoni (testosterone, estrogeni, SHBG, LH, FSH e PRL),

funzionalità epatica e renale, vitamina D e profilo glico-metabolico. Inoltre, vengono eseguiti prelievi specifici per lo studio della coagulazione e dell'eritrocitosi.

In particolare, vengono eseguite le seguenti indagini:

- Pannello coagulativo:
 - Tempo di protrombina, tempo di tromboplastina parziale attivata;
 - Fattori della coagulazione (FII, FVIII, FIX, FX, FXI, fibrinogeno) e inibitori dei fattori della coagulazione (proteina C attività ed antigene, proteina S attività ed antigene, antitrombina);
 - Fattori fibrinolitici (plasminogeno, PAI-inibitore);
 - Anticorpi anti- β 2 glicoproteina, anticorpi anti-cardiolipina, LAC;
 - Polimorfismi trombofilici (test di resistenza alla proteina C attivata e mutazione fattore V Leiden, mutazione variante protrombinica G20210A);
 - Tromboelastografia (ROTEM) e test di aggregazione piastrinica (Multiplate®);
- Dosaggio di eritropoietina e di somatomedina C;
- Estrazione del DNA e ricerca di mutazioni del gene HFE;
- Analisi con citofluorimetro per il calcolo del numero delle EPC, valutate secondo il profilo fenotipico di espressione dei marcatori CD34, CD133/1, CD309 e CD184.

8.2.1.1. Valori derivati

Alcuni valori non sono stati direttamente ottenuti dalle analisi, ma sono stati derivati grazie a formule matematiche.

8.2.1.1.1. BMI

Tenendo conto dell'altezza in m e del peso in kg del paziente, è stato possibile ricavare il BMI mediante la seguente formula:

$$BMI = \frac{Altezza^2}{Peso}$$

8.2.1.1.2. Colesterolo LDL

Il valore del colesterolo LDL è stato ottenuto partendo dal colesterolo totale (in mg/dl) a cui sono stati sottratti i valori di colesterolo HDL (in mg/dl) e un quinto del valore dei trigliceridi (in mg/dl), mediante la seguente formula:

$$Colesterolo\ LDL = Colesterolo\ Tot - Colesterolo\ HDL - \frac{1}{5} Trigliceridi$$

8.2.1.1.3. Testosterone libero calcolato

Il valore del testosterone libero calcolato (cFT) è stato calcolato grazie alla formula di Vermeulen. Kt è la costante di associazione dell'SHBG per il testosterone, mentre N è un'altra costante del valore di 23,4.

$$fT = \frac{(Testosterone\ Tot) - (N * Testosterone\ Tot)}{Kt * [SHBG - Testosterone\ Tot + (N * Testosterone\ Tot)]}$$

8.2.2. Primo controllo: inizio della terapia

Dopo circa 3 mesi dalla prima visita, i pazienti sono invitati a tornare con i referti delle analisi richieste durante la prima visita. In questa sede, viene valutata l'idoneità alla prescrizione della terapia ormonale e l'assenza di patologie o di condizioni che debbano essere trattate prima dell'inizio della somministrazione. Inoltre, vengono prescritti gli esami di controllo da eseguire per la successiva visita a 3 mesi dall'inizio della GAHT.

8.2.3. Controlli a 3, 6, 12 e 24 mesi

Durante le visite di controllo, vengono valutati gli effetti clinici della GAHT, analizzati i risultati degli esami bioumorali e registrati eventuali effetti collaterali. In base a questi parametri, la terapia ormonale viene rimodulata dal medico. Nei pazienti che sviluppano eritrocitosi sono previste le analisi genetiche per ricercare le mutazioni dei geni EGLN1, EPAS1, VHL, BPGM, JAK2, ASXL1, EPOR, RUNX1, HBB.

8.3. Studio coagulativo

Lo studio coagulativo viene fatto mediante il controllo dei parametri della coagulazione (riassunti in Tabella 8.1), i dati per controllare l'eritropoiesi e le analisi con i test su sangue intero per lo studio della coagulazione (ROTEM) e aggregazione piastrinica (Multiplate®).

Tabella 8.1: Variabili utilizzate per la valutazione dello stato coagulativo del paziente in terapia di affermazione

| | |
|-------------------------------------|--|
| Parametri della coagulazione | PT, PT-INR, aPTT, FII, FVIII, FIX, FX, FXI, Fibrinogeno, AT, livelli di proteina C, livelli di proteina S, FV Leiden, Protrombina G20210A, Plasminogeno, PAI-1, Anticorpi antifosfolipide e LAC. |
| ROTEM | EXTEM CT, EXTEM CFT, EXTEM MCF, INTEM CT, INTEM CFT, INTEM MCF eFIBTEM MCF |
| Multiplate® | ADP, ASPI, TRAP |
| Eritropoiesi | Fe, Ferritina, Transferrina, TSAT, sol. TRF, PCR, IGF-1, EPO, Mut. gene HFE |

8.3.1. ROTEM

Il ROTEM (*Rotational Thromboelastometry*) è un sistema di analisi che fornisce informazioni sulla capacità coagulativa del sangue. Si tratta di una versione automatizzata della tromboelastografia, una tecnica utilizzata per misurare la viscosità del sangue durante il processo di polimerizzazione della fibrina. Il ROTEM esegue l'analisi

registrando la resistenza opposta a un pin mobile che oscilla con una velocità angolare di 4°75' ogni 6 secondi, in un campione ematico di 300 µl. Man mano che il sangue coagula, la resistenza al movimento del pin aumenta, causando una deviazione dell'ansa. Tale deviazione viene rilevata in tempo reale da un sistema ottico e i dati vengono analizzati da un computer [175]. Attraverso questa metodologia è possibile valutare diversi parametri, come la dimensione del coagulo, il tempo necessario per avviare la coagulazione e la velocità di lisi del coagulo. I risultati sono rappresentati in un grafico dove l'ascissa corrisponde al tempo trascorso dall'inizio della coagulazione, mentre l'ordinata mostra la stabilità del coagulo, espressa in millimetri.

Nel presente studio, grazie alla tecnica ROTEM, sono stati analizzati i seguenti parametri:

- CT (*Clotting Time*): tempo di coagulazione, espresso in secondi. Misura il tempo che intercorre tra l'inizio del processo coagulativo e la formazione di un coagulo di almeno 2mm, soglia minima di rilevazione del macchinario. Questo dato fornisce informazioni sull'inizio della coagulazione riferendosi al tempo di formazione della trombina e della polimerizzazione del coagulo;
- CFT (*Clotting Formation Time*): tempo di formazione del coagulo, espresso in secondi. Misura il tempo impiegato dal sangue per passare da un coagulo di 2mm ad un coagulo di 20mm e fornisce informazioni sulle fasi di amplificazione e propagazione della polimerizzazione della fibrina. Questo dato fornisce informazioni sulla stabilizzazione del coagulo, strettamente connesso alla funzionalità piastrinica;
- MCF (*Maximum Clotting Firmness*): massima ampiezza raggiunta dal coagulo, espressa in millimetri. Rappresenta la forza del coagulo ed è strettamente legato alla funzione piastrinica, all'ematocrito e alla funzionalità del fattore XIII.

Il macchinario consente di analizzare lo stesso campione in quattro canali separati dove verranno addizionati al sangue quattro attivatori della coagulazione differenti. Tra questi, il nostro studio si è servito di:

- EXTEM: viene addizionato al campione fattore tissutale per innescare la via estrinseca della coagulazione, fornendo informazioni simili al PT;

- INTEM: vengono addizionati al campione fosfolipidi e acido ellagico per stimolare l'attivazione per "contatto" e innescare la via intrinseca della coagulazione, fornendo informazioni simili all'aPTT;
- FIBTEM: vengono addizionati fattore tissutale come attivatore e citochalasin D come inibitore della polimerizzazione dell'actina per bloccare il contributo piastrinico nella formazione del coagulo. Questo dato deve essere messo in relazione con l'analisi EXTEM in modo da comprendere il contributo del fibrinogeno alla coagulazione e valutare gli eventuali difetti qualitativi e quantitativi della polimerizzazione della fibrina.

8.3.2. *Multiplate®*

Il Multiplate® (*Roche Diagnostics International, Rotkreuz, Switzerland*) è uno strumento utilizzato per l'analisi dell'aggregazione piastrinica attraverso la tecnica dell'impedenzometria. Questa tecnologia, chiamata *Whole Blood Impedance Aggregometry*, si basa sulla misurazione dell'impedenza elettrica in un campione di sangue intero indotto ad aggregare in un pozzetto, dove sono immersi due elettrodi. Durante il processo di aggregazione piastrinica, le piastrine si depositano sugli elettrodi, aumentando la resistenza al passaggio della corrente elettrica, e quindi l'impedenza cresce proporzionalmente alla dimensione del trombo piastrinico formato.

L'analisi dura circa 6 minuti, e i risultati vengono rappresentati da due curve, una per ciascun elettrodo, che indicano la variazione dell'aggregazione piastrinica (espressa in unità di aggregazione, AU) rispetto al tempo.

Multiplate® deriva dal fatto che questo strumento, a differenza delle versioni precedenti, permette l'utilizzo di più elettrodi simultaneamente [175].

Per l'analisi, in ogni cuvetta vengono inseriti 300µl di sangue intero addizionati a 300µl di una sostanza diluente specifica per l'antagonista dell'aggregazione piastrinica utilizzato. Dopo un'incubazione di 3 minuti, vengono aggiunti 20µl di agonista e, trascorsi altri 6 minuti, il campione è pronto per essere analizzato.

I principali test che si possono eseguire con questa tecnica includono:

- ADP-test: quantifica la funzione piastrinica stimolando i recettori dell'adenosina difosfato (ADP) con 6,5 $\mu\text{mol/l}$ di ADP. Questo test è utile per valutare l'inibizione del recettore P2Y₁₂ e la funzionalità del recettore GP-IIb/IIIa;
- ASPI-test: misura la funzione piastrinica in risposta alla stimolazione con 500 $\mu\text{mol/l}$ di acido arachidonico, e viene utilizzato per rilevare l'inibizione della ciclossigenasi piastrinica (COX) e la funzionalità del recettore GP-IIb/IIIa;
- TRAP-test: quantifica l'aggregazione piastrinica stimolata dal peptide attivatore della trombina-6 (TRAP-6), utilizzando una concentrazione di 32 $\mu\text{mol/l}$. questo test è particolarmente efficace nel valutare la funzione piastrinica tramite il recettore PAR-1, senza attivare la formazione di fibrina.

8.3.3. *Eritropoiesi*

Per monitorare l'eritropoiesi, sono stati considerati diversi parametri, tra cui l'ematocrito, il metabolismo del ferro, le proteine infiammatorie, l'eritropoietina e le eventuali mutazioni del gene HFE.

Il primo parametro valutato è l'ematocrito, che misura la percentuale di cellule nel sangue rispetto al volume totale. Questo valore consente di determinare l'insorgenza di eritrocitosi, una condizione comune nei pazienti sottoposti a terapia con testosterone. Un ematocrito uguale o superiore a 48 l/l è stato utilizzato come soglia per identificare l'eritrocitosi.

Per quanto riguarda il metabolismo del ferro, sono stati monitorati i seguenti indicatori:

- Ferro (Fe): essenziale per la sintesi del gruppo EME, che lega l'ossigeno all'emoglobina. Una carenza può causare anemia microcitica. I valori di riferimento sono 65-168 $\mu\text{g/dl}$ per gli uomini e 50-170 $\mu\text{g/dl}$ per le donne;
- Ferritina: proteina che immagazzina il ferro; la sua misurazione nel sangue indica le riserve di ferro dell'organismo. I valori normali superano i 30 $\mu\text{g/l}$, con limiti superiori di 150 $\mu\text{g/l}$ nelle donne in età fertile, 250 $\mu\text{g/l}$ in menopausa, e 350 $\mu\text{g/l}$ negli uomini;

- Transferrina: proteina che trasporta il ferro nel sangue, con valori normali di 240-360 mg/dl in entrambi i sessi.
- Saturazione della Transferrina (TSAT): indica la percentuale di transferrina che trasporta ferro. I livelli normali variano tra il 16% e il 45%. Valori inferiori indicano carenza di ferro, mentre valori superiori segnalano un sovraccarico di ferro.
- Recettore solubile della Transferrina (sTfR): rappresenta la richiesta di ferro da parte delle cellule. Più recettori vengono espressi, più recettori solubili della transferrina vengono rilevati nel sangue.

La ferritina è anche un indicatore di infiammazione, pertanto è necessario esaminarne altri per distinguere tra infiammazione e alterazioni dei livelli di ferro. La Proteina C Reattiva (PCR) viene utilizzata per identificare rapidamente l'infiammazione, con i seguenti valori di riferimento:

- < 0.50 mg/dl: assenza di processi infiammatori;
- 0.50 – 1.00 mg/dl: possibile processo infiammatorio non acuto;
- 1.00 – 10.00 mg/dl: processo infiammatorio acuto lieve o moderato;
- > 10.00 mg/dl: processo infiammatorio acuto e significativo.

Anche alcuni ormoni sono stati valutati per monitorare la funzione ematopoietica, come l'eritropoietina (EPO) e l'IGF-1 (fattore di crescita insulino-simile 1).

L'EPO è un ormone prodotto principalmente dai reni, responsabile della stimolazione del midollo osseo per la produzione di globuli rossi. I livelli di riferimento variano tra 9 e 28 mU/ml nei soggetti adolescenti e tra 4 e 10 mU/ml negli adulti [176].

L'IGF-1 è un ormone della crescita prodotto dal fegato in risposta al GH (Growth Hormone). Alti livelli di IGF-1 possono indicare acromegalia o altre condizioni legate all'ipofisi. I valori normali sono 0,01-0,97 ng/ml negli uomini e 0,01-3,61 ng/ml nelle donne [177].

Infine, il gene HFE è stato esaminato per le sue mutazioni, che sono strettamente legate all'accumulo eccessivo di ferro e all'emocromatosi ereditaria. Le mutazioni più comuni sono C282Y e H63D, che, in omozigosi, possono causare la malattia, mentre in eterozigosi provocano solo lievi alterazioni del metabolismo del ferro [178].

8.4. Cellule progenitrici endoteliali

L'analisi delle cellule progenitrici endoteliali è stata condotta su campioni di sangue prelevati durante le visite ambulatoriali. Per il nostro studio, sono stati raccolti campioni iniziali prima dell'inizio della terapia ormonale e successivamente a 3, 6, 12 e 24 mesi. In questo documento, verranno esaminati i dati relativi solo al tempo 0, al controllo a 3 mesi e al controllo a 6 mesi.

8.4.1. Citofluorimetria

La citofluorimetria è una tecnica multi-parametrica che misura diverse caratteristiche chimico-fisiche delle cellule in sospensione mentre passano attraverso un sistema di rilevazione ottico-elettronico. Per le analisi, è stato utilizzato il citofluorimetro *Cell Sorter CytoFLEX SRT* (Beckman Coulter, Milano, Italia). Questo strumento permette l'analisi individuale delle cellule e la loro separazione attraverso un *sorting* multicanale (nello specifico a quattro canali) in base ai criteri impostati.

Il citofluorimetro è composto da sei componenti:

- Cella di flusso
- Sorgente luminosa
- Sistema di rilevazione e conversione analogico-digitale dei segnali (ADC)
- Amplificatori
- Computer
- Dispositivo per il *sorting* cellulare

La cella di flusso genera un flusso laminare sfruttando un gradiente pressorio tra il campione e il fluido di trasporto, forzando le cellule a passare in fila singola sotto il sistema di rilevazione composto da un fascio di luce a sorgente ellittica. Il fascio di fotoni può provenire da diverse sorgenti luminose, come lampade al mercurio o xenon, laser ad alta o bassa potenza raffreddati ad aria o ad acqua e laser a diodi.

Al fine di ottenere un valore coerente nell'analisi, il citofluorimetro viene calibrato con delle biglie a dimensioni note ad ogni accensione così da ridurre al minimo l'errore.

Quando il fascio di fotoni attraversa il campione, modifica la sua traiettoria e viene registrato dal sistema di rilevazione e convertito in segnale digitale. La massa e la granulosità delle cellule sono analizzate attraverso i parametri *Forward-scatter* (FS) e *Side-Scatter* (SS): nel primo caso si parla della deviazione anteriore che consente di calcolare la grandezza delle cellule che stanno passando attraverso il flusso laminare mentre nel secondo si va ad analizzare la deviazione laterale, ossia i raggi luminosi che sono rimbalzati nei granuli interni alla cellula definendone la granulosità. Questi due valori sono definiti parametri intrinseci poiché verranno sempre prodotti da qualsiasi analisi cellulare e consentono di isolare e riconoscere diversi tipi cellulari come linfociti, monociti e granulociti. In aggiunta a questi parametri, i rilevatori sono in grado di captare le diverse emissioni luminose generate dalle cellule trattate con il laser, che emettono fluorescenza. Tali emissioni possono essere naturali, derivanti da specifiche sostanze presenti nelle cellule, oppure possono essere amplificate e specificate grazie all'uso di marcatori coniugati a fluorofori, che si legano a proteine, vescicole o altri elementi di interesse nel campione.

L'analisi dei segnali luminosi viene fatta mediante specifici filtri ottici che separano il fascio luminoso andando ad indirizzare ogni specifica lunghezza d'onda verso il proprio trasduttore che converte il segnale analogico in segnale elettrico. Nello specifico, viene misurata l'ampiezza del segnale in volt (da 0 a 10) per poi generare degli istogrammi che aiutino meglio a visualizzare l'intensità di questi segnali (vengono generati da 0 a 1023 canali da conta separati mediante questo processo).

L'amplificazione serve a distinguere con maggiore chiarezza i segnali registrati e può essere realizzata in due modi: l'amplificazione lineare permette una separazione più accurata dei segnali di alta intensità, mentre quella logaritmica facilita la distinzione dei segnali a bassa intensità.

Il computer è essenziale per gestire l'interfaccia del dispositivo, creando un ambiente digitale in cui i dati vengono analizzati in base ai parametri stabiliti e visualizzati sotto forma di grafici. Solitamente, i grafici generati sono *Dot Plot*, che illustrano l'intensità di due segnali in relazione al numero di cellule conteggiate per canale. È anche possibile visualizzare i dati come istogrammi, suddividendoli per intensità del segnale.

Il *sorting* cellulare, sebbene non utilizzato in questo studio, permette anche di separare le cellule in base a cariche diverse e direzionarle verso specifici canali. Ciò avviene grazie a delle piastre polarizzate che donando una carica positiva, debolmente positiva, debolmente negativa o negativa permettono di deviare la caduta delle cellule nel flusso laminare in 4 differenti recipienti in modo da avere delle popolazioni cellulari pure per i parametri indicati.

8.4.2. *Preparazione del campione*

I campioni ematici sono stati raccolti in provette lilla contenenti EDTA per prevenire la coagulazione e conservati in frigorifero a +4°C fino al momento dell'analisi. I prelievi sono stati effettuati in occasione delle visite endocrinologiche e analizzati entro 24 ore dal prelievo.

Il campione viene preparato prelevando 150 µl di sangue che vengono poi inseriti in una provetta per citofluorimetria. Successivamente, si aggiungono 8 µl di ciascun marcatore (CD34, CD133/1, CD184 e CD309), lasciando il tutto a riposo al buio per 15 minuti, per permettere ai marcatori di legarsi alle cellule, evitando al contempo che il fluoroforo degeneri se esposto alla luce.

Nell'attesa che questo processo avvenga, viene preparata una soluzione 1:10 di lisante eritrocitario: per ogni campione si utilizzano 400 µl di lisante portati ad un volume di 4 ml con acqua distillata.

Al termine dei 15 minuti, si aggiungono i 4 ml di soluzione di lisante 1:10 al campione e si lascia nuovamente riposare al buio per altri 15 minuti, durante i quali il lisante elimina gli eritrociti distruggendone la membrana.

A questo punto, si esegue una prima centrifugazione a 1800 giri per 5 minuti, ottenendo un deposito corpuscolato. Dopo aver rimosso il lisante, facendo attenzione a non perdere il fondo, si aggiungono 4 ml di DPBS (tampono fosfato salino, utile per mantenere stabile il pH) per eliminare i residui di lisante. Si riporta il sedimento in soluzione agitando la provetta e si ripete la centrifugazione con le stesse impostazioni.

Dopo l'ultima centrifugazione, si elimina nuovamente il solvente e si aggiungono 400µl di DPBS. Prima di avviare l'analisi al citofluorimetro si utilizza un agitatore per far

tornare in soluzione il deposito ed eliminare eventuali cordoni di cellule generati con le due centrifughe. Il campione è ora pronto per l'analisi [182-184].

8.4.3. *Marcatori*

8.4.3.1. *CD34*

Questa glicoproteina di membrana media il contatto cellula-cellula e rappresenta un marker associato principalmente alle cellule ematopoietiche. È presente nelle cellule progenitrici endoteliali, nelle cellule dell'endotelio dei vasi, nelle cellule del cordone ombelicale, nel midollo osseo, nei mastociti e in una specifica popolazione di cellule dendritiche situate nel derma. Le cellule CD34+ possono essere trovate anche in alcuni tumori dei tessuti molli [179].

8.4.3.2. *CD133/1*

Questa proteina di membrana, caratterizzata da cinque domini transmembrana, è localizzata principalmente nelle protrusioni di membrana come i microvilli. È espressa in alte concentrazioni nelle cellule staminali ematopoietiche, neurali e prostatiche, ma è anche rilevabile in diversi tipi di tumori, tra cui al colon-retto, al polmone, al fegato e alle ovaie [180].

8.4.3.3. *CD309*

Conosciuta anche come recettore per il fattore di crescita endoteliale di tipo 2 (VEGFR-2), questa proteina di membrana viene espressa nelle cellule epiteliali ed ha il compito di legarsi al fattore di crescita tissutale, innescando una serie di segnali che preparano la cellula alla divisione. Questo recettore è tipicamente espresso dalle cellule staminali dei tessuti e stimola la proliferazione cellulare [152].

8.4.3.4. *CD184*

Chiamata anche CXCR4 o *chemochine receptor type 4*, questa proteina transmembrana regola processi come l'embriogenesi, la riparazione tissutale, l'angiogenesi e la chemiotassi delle cellule immunitarie. Il recettore è particolarmente importante nel processo di neoformazione dei vasi, soprattutto in condizioni ipossiche, rendendolo importante per comprendere la neoangiogenesi dei tumori [181].

8.4.4. Individuazione delle EPC

L'individuazione delle EPC è stata possibile utilizzando diversi marcatori e di una strategia di *gating progressivo* basata su parametri morfologici e fluorimetrici. L'analisi è partita dal grafico di *scattering morfologico*, che ha permesso di individuare le popolazioni di linfociti e monociti in base alla loro granulosità e dimensioni ridotte. La creazione di *gate* ad hoc ha consentito di selezionare solo gli eventi di interesse per l'analisi successiva. Dopo aver riconosciuto le cellule e creato i *gate* adeguati, è stato generato un grafico per valutare la positività al marcatore CD34.

Successivamente, sono stati incrociati i dati dei vari marcatori per individuare gli eventi che rispettassero tutti i criteri necessari. I dati sono stati raccolti per:

- CD34+ su linfociti e monociti
- CD133/1+ su CD34+
- CD309+ su CD34+
- CD184+ su CD34+
- CD309+ su CD34+CD133/1+
- CD184+ su CD34+CD133/1+
- CD184+ su CD34+CD309+
- CD184+ su CD34+CD309+CD133/1+

Le EPC corrispondono alla popolazione cellulare positiva per CD184, CD34, CD309 e CD133/1 poiché rappresenta l'unica popolazione che esprime tutti questi marcatori.

Sono stati, quindi, calcolati i rapporti tra ciascuna cellula e la rispettiva popolazione parentale di e confrontati con i dati dell'ematocrito del paziente, permettendo così di stimare la quantità di EPC nel sangue del paziente.

8.5. Analisi dei dati

Le variabili quantitative sono state espresse come media e deviazione standard (SD), mentre le variabili categoriali sono state riportate come numero assoluto e frequenza relativa (%). La distribuzione normale delle variabili è stata valutata utilizzando il test di Shapiro-Wilk.

È stato eseguito un confronto al basale tra i gruppi AMAB e AFAB utilizzando un T-test per campioni indipendenti per le variabili continue e il test del Chi-quadro per le variabili categoriali. Quando i presupposti per il test del Chi-quadro non erano soddisfatti (numero di casi inferiore a 5), è stato impiegato il test esatto di Fisher.

Successivamente, è stata condotta una variazione prospettica dei dati raccolti nei gruppi AMAB e AFAB al basale (T0), a 3 (T3) e a 6 (T6) mesi dall'inizio della terapia ormonale. Per le variabili continue è stata utilizzata un'analisi univariata con test post-hoc di Bonferroni per confrontare i diversi punti temporali, mentre per le variabili categoriali è stato nuovamente impiegato il test del Chi-quadro.

Nell'analisi univariata delle cellule progenitrici endoteliali, è stato considerato sia il numero assoluto delle cellule che il valore normalizzato rispetto al basale.

Infine, è stata effettuata una correlazione di Pearson per esplorare le associazioni tra i parametri clinici, emo-coagulativi ed endocrino-metabolici nelle persone transgender, includendo sia individui AMAB che AFAB.

Un valore di $p < 0,05$ è stato considerato significativo in tutti i test statistici. L'analisi statistica è stata condotta utilizzando il software IBM SPSS, versione 26.

9. RISULTATI

Nel nostro studio sono stati reclutati 102 pazienti transgender, di cui 62 AFAB (61%) e 40 AMAB (39%). Sono stati raccolti, analizzati e poi messi a confronto i dati riguardanti dati anamnestici e clinici, esami endocrino-metabolici, esami coagulativi, ROTEM, Multiplate®, eritropoiesi e metabolismo del ferro ed EPC tra i vari campioni al basale (T0), dopo 3 mesi dall'inizio della GAHT (T3) e dopo 6 mesi dall'inizio della GAHT (T6).

9.1. Campione al basale (T0)

9.1.1. Caratteristiche cliniche del campione

L'età media del campione è $24,12 \pm 8,55$ anni e il BMI medio è $24,09 \pm 5,61$ kg/m².

Nella tabella 9.1 vengono riassunte le caratteristiche generali del campione del nostro studio. Le persone AMAB hanno una maggiore età, altezza e peso se confrontate con il gruppo AFAB, mentre non si notano differenze significative per quanto riguarda l'indice di massa corporea (BMI).

Tabella 9.1: Caratteristiche cliniche del campione nello studio. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; AMAB = Assegnato maschio alla nascita; SD = Deviazione standard.

| | | N | Media \pm SD | p value |
|-------------------------------|------|----|-------------------|-------------------|
| Età [anni] | AFAB | 62 | 22,55 \pm 5,44 | 0,020 |
| | AMAB | 40 | 26,55 \pm 11,54 | |
| Peso [kg] | AFAB | 60 | 66,65 \pm 14,95 | 0,078 |
| | AMAB | 39 | 72,79 \pm 19,26 | |
| Altezza [m] | AFAB | 60 | 1,65 \pm 0,06 | < 0,001 |
| | AMAB | 39 | 1,76 \pm 0,07 | |
| BMI [kg/m²] | AFAB | 60 | 24,47 \pm 5,34 | 0,402 |
| | AMAB | 39 | 23,50 \pm 6,01 | |

9.1.2. Dati anamnestici

In concomitanza alla prima visita, viene raccolta l'anamnesi del paziente.

Nella tabella 9.2 vengono analizzate le familiarità per eventi cardiovascolari e TVP dimostrando che non vi siano differenze significative nel nostro campione. Nello specifico, sono stati trovati 47 casi di familiarità per eventi cardiovascolari (30 fra gli AFAB e 17 tra le AMAB) e 22 casi di familiarità per TVP (13 tra gli AFAB e 9 tra le AMAB).

Tabella 9.2: Tabella di contingenza dei dati ottenuti dall'anamnesi familiare riguardo la familiarità per eventi cardiovascolari e tromboembolici. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; AMAB = Assegnato maschio alla nascita; TVP = Trombosi venosa profonda.

| | AFAB [%] | AMAB [%] | p value su test di χ^2 |
|---|---------------|---------------|--------------------------------|
| Familiarità per eventi cardiovascolari | 30 [48,4%] | 17 [42,5%] | 0,560 |
| Familiarità per TVP | 13 [21%] | 9 [22,5%] | 0,887 |

La tabella 9.3 riassume i dati raccolti riguardo eventi cardiovascolari, diabete mellito, ipertensione arteriosa, dislipidemia, obesità, ansia e depressione, TVP e tabagismo. Riguardo tali parametri, non sono state riscontrate differenze statisticamente significative tra i due gruppi.

Tabella 9.3: Tabella di contingenza dei dati ottenuti dall'anamnesi patologica remota riguardo le pregresse patologie del paziente. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; AMAB = Assegnato maschio alla nascita; CV = Cardiovascolare; DM = Diabete mellito; TVP = Trombosi venosa profonda.

| | AFAB [%] | AMAB [%] | p value su test di χ^2 |
|------------------|-------------|-------------|--------------------------------|
| Eventi CV | 1 [1,6%] | 1 [2,5%] | 0,752 |
| DM | 0 | 1 [2,5%] | 0,211 |

| | | | |
|-------------------------------|---------------|---------------|-------|
| Ipertensione arteriosa | 1 [1,6%] | 2 [5%] | 0,323 |
| Dislipidemia | 7 [11,3%] | 9 [22,5%] | 0,114 |
| Obesità | 9 [14,5%] | 4 [10%] | 0,534 |
| Ansia/Depressione | 15 [24,2%] | 7 [17,5%] | 0,421 |
| TVP | 1 [1,6%] | 1 [2,5%] | 0,425 |
| Tabagismo | 20 [32,3%] | 13 [32,5%] | 1,000 |

9.1.3. Esami biochimici

L'analisi dei parametri endocrino-metabolici ha permesso di confrontare i due campioni al basale. Il gruppo AFAB presenta valori di ALT ($p = 0,025$), SHBG ($p = 0,014$), estradiolo ($p < 0,001$) e LH ($p = 0,016$) significativamente più elevati rispetto al gruppo AMAB. Al contrario, il gruppo AMAB presenta valori di emoglobina ($p < 0,001$), ematocrito ($p < 0,001$), creatinina ($p < 0,001$), AST ($p = 0,014$), testosterone totale ($p < 0,001$), e testosterone libero calcolato ($p < 0,001$) significativamente più elevati rispetto al gruppo AFAB. Non si sono notate differenze significative nei parametri del profilo lipidico e della glicemia tra i due gruppi a T0 (vedi tabella 9.4).

Tabella 9.4: Confronto dei dati ottenuti dagli esami endocrino-metabolici prima dell'inizio della GAHT tra il gruppo AFAB ed il gruppo AMAB. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; AMAB = Assegnato maschio alla nascita; SD = Deviazione standard.

| | | N | Media ± SD | p value |
|-------------------------------|------|----------|-------------------|-------------------|
| Emoglobina (Hb) [g/dl] | AFAB | 49 | 12,87 ± 1,27 | < 0,001 |
| | AMAB | 36 | 15,33 ± 0,99 | |
| Ematocrito (Hct) [%] | AFAB | 51 | 39,43 ± 2,77 | < 0,001 |
| | AMAB | 36 | 45,74 ± 2,86 | |
| | AFAB | 49 | 87,90 ± 7,74 | 0,329 |

| | | | | |
|--|------|----|----------------|---------|
| Volume corpuscolare medio (MCV) [fL] | AMAB | 36 | 89,30 ± 4,23 | |
| Contenuto medio di emoglobina (MCH) [pg] | AFAB | 49 | 28,89 ± 3,45 | 0,090 |
| | AMAB | 36 | 29,97 ± 1,78 | |
| Piastrine (PLT) [x 10⁹/l] | AFAB | 49 | 258,33 ± 61,30 | 0,475 |
| | AMAB | 36 | 248,67 ± 61,19 | |
| Creatinina [mg/dl] | AFAB | 46 | 0,68 ± 0,13 | < 0,001 |
| | AMAB | 34 | 0,84 ± 0,13 | |
| Colesterolo totale [mg/dl] | AFAB | 48 | 160,12 ± 31,25 | 0,658 |
| | AMAB | 36 | 157,08 ± 30,70 | |
| Colesterolo HDL [mg/dl] | AFAB | 48 | 57,38 ± 12,40 | 0,126 |
| | AMAB | 35 | 53,46 ± 9,86 | |
| Trigliceridi [mg/dl] | AFAB | 48 | 67,29 ± 26,17 | 0,509 |
| | AMAB | 35 | 70,91 ± 22,11 | |
| Colesterolo LDL calcolato [mg/dl] | AFAB | 48 | 89,29 ± 26,28 | 0,933 |
| | AMAB | 36 | 89,78 ± 24,78 | |
| Glicemia [mg/dl] | AFAB | 43 | 85,44 ± 6,65 | 0,940 |
| | AMAB | 32 | 85,31 ± 8,28 | |
| AST [U/l] | AFAB | 45 | 19,73 ± 8,18 | 0,014 |
| | AMAB | 35 | 24,00 ± 6,69 | |
| ALT [U/l] | AFAB | 47 | 17,02 ± 10,70 | 0,025 |
| | AMAB | 36 | 24,11 ± 17,51 | |
| Testosterone totale [ng/ml] | AFAB | 49 | 0,41 ± 0,28 | < 0,001 |
| | AMAB | 35 | 5,38 ± 1,59 | |
| SHBG [nmol/l] | AFAB | 48 | 58,45 ± 33,89 | 0,014 |
| | AMAB | 35 | 39,99 ± 31,84 | |
| Testosterone libero calcolato (cfT) [pg/ml] | AFAB | 47 | 0,04 ± 0,10 | < 0,001 |
| | AMAB | 33 | 0,38 ± 0,10 | |
| Estradiolo (E2) [ng/l] | AFAB | 51 | 102,76 ± 95,38 | < 0,001 |
| | AMAB | 36 | 33,12 ± 15,47 | |
| Ormone luteinizzante (LH) [U/l] | AFAB | 49 | 8,19 ± 6,43 | 0,016 |
| | AMAB | 34 | 5,27 ± 2,94 | |

| | | | | |
|---|------|----|-------------|-------|
| Ormone follicolo stimolante (FSH) [UI/l] | AFAB | 50 | 4,85 ± 2,22 | 0,555 |
| | AMAB | 35 | 4,50 ± 3,16 | |

9.1.4. Esami coagulativi

Nello screening coagulativo è emerso che il gruppo AFAB presenta valori significativamente più elevati di fattore VIII ($p = 0,019$) e fibrinogeno ($p = 0,016$). Al contrario, nel gruppo AMAB si notano livelli più elevati dei fattori anticoagulanti, come proteina C attività coagulometrica ($p = 0,002$), proteina S attività ($p = 0,003$) e proteina S antigene libero ($p = 0,003$). Inoltre, gli anticorpi anti-cardiolipina IgM sono più elevati nel gruppo AMAB ($p = 0,006$) rispetto alla controparte AFAB (vedi tabella 9.5).

Tabella 9.5: Confronto dei dati ottenuti dallo screening della coagulazione prima dell'inizio della GAHT tra il gruppo AFAB ed il gruppo AMAB. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; AMAB = Assegnato maschio alla nascita; SD = Deviazione standard; PT = Protrombina; AT = Antitrombina; APC-R = Resistenza della proteina C attivata.

| | | N | Media ± SD | p value |
|-------------------|------|----|----------------|--------------|
| PT [%] | AFAB | 52 | 97,70 ± 8,09 | 0,966 |
| | AMAB | 35 | 97,79 ± 10,94 | |
| PT-INR | AFAB | 52 | 1,04 ± 0,08 | 0,182 |
| | AMAB | 35 | 1,00 ± 0,18 | |
| aPTT [sec] | AFAB | 52 | 27,96 ± 3,18 | 0,745 |
| | AMAB | 35 | 28,18 ± 2,81 | |
| fII [%] | AFAB | 51 | 108,16 ± 15,28 | 0,970 |
| | AMAB | 35 | 108,23 ± 17,09 | |
| fVIII [%] | AFAB | 52 | 134,83 ± 40,83 | 0,019 |
| | AMAB | 35 | 114,80 ± 34,02 | |
| fIX [%] | AFAB | 51 | 104,37 ± 24,12 | 0,854 |
| | AMAB | 35 | 105,24 ± 17,26 | |
| fX [%] | AFAB | 51 | 99,98 ± 18,45 | 0,628 |
| | AMAB | 35 | 101,96 ± 18,66 | |
| fXI [%] | AFAB | 51 | 108,16 ± 22,36 | 0,643 |

| | | | | |
|---|------|----|-----------------|--------------|
| | AMAB | 35 | 106,02 ± 18,92 | |
| | AFAB | 52 | 335,35 ± 66,96 | 0,016 |
| Fibrinogeno [mg/dl] | AMAB | 35 | 300,37 ± 62,10 | |
| | AFAB | 52 | 102,72 ± 9,76 | 0,201 |
| AT [%] | AMAB | 35 | 99,03 ± 16,86 | |
| | AFAB | 52 | 100,27 ± 17,78 | 0,002 |
| Proteina C attività coagulometrica [%] | AMAB | 35 | 113,71 ± 21,80 | |
| | AFAB | 52 | 113,54 ± 18,31 | 0,535 |
| Proteina C attività cromogenica [%] | AMAB | 35 | 125,54 ± 137,47 | |
| | AFAB | 52 | 116,00 ± 20,11 | 0,161 |
| Proteina C antigene [%] | AMAB | 35 | 109,89 ± 19,31 | |
| | AFAB | 52 | 100,17 ± 17,61 | 0,003 |
| Proteina S attività [%] | AMAB | 35 | 111,69 ± 16,07 | |
| | AFAB | 52 | 98,42 ± 15,89 | 0,003 |
| Proteina S antigene libero [%] | AMAB | 35 | 109,23 ± 17,04 | |
| | AFAB | 52 | 113,04 ± 17,84 | 0,187 |
| Proteina S antigene totale [%] | AMAB | 35 | 118,14 ± 17,11 | |
| | AFAB | 51 | 2,89 ± 0,79 | 0,152 |
| APC-R | AMAB | 35 | 3,15 ± 0,87 | |
| | AFAB | 50 | 1,07 ± 0,24 | 0,314 |
| APC sensitivity ratio (APC-R normalizzato) | AMAB | 35 | 1,12 ± 0,24 | |
| | AFAB | 51 | 100,56 ± 18,65 | 0,730 |
| Plasminogeno [%] | AMAB | 34 | 99,35 ± 9,94 | |
| | AFAB | 49 | 20,64 ± 21,47 | 0,964 |
| PAI antigene [ng/ml] | AMAB | 30 | 20,42 ± 20,90 | |
| | AFAB | 51 | 0,99 ± 1,16 | 0,101 |
| Anticorpi anti-β2-glicoproteina 1 (IgG) [U/ml] | AMAB | 35 | 1,91 ± 3,71 | |
| | AFAB | 51 | 0,77 ± 0,74 | 0,006 |
| Anticorpi anti-β2-glicoproteina 1 (IgM) [U/ml] | AMAB | 35 | 1,73 ± 2,23 | |
| | AFAB | 51 | 1,23 ± 0,97 | 0,617 |
| Anticorpi anti-cardiolipina (IgG) [U/ml] | AMAB | 35 | 1,34 ± 1,08 | |

| | | | | |
|---|------|----|--------------|-------|
| Anticorpi anti-cardiolipina (IgM) [U/ml] | AFAB | 51 | 1,95 ± 5,32 | 0,563 |
| | AMAB | 35 | 2,55 ± 3,70 | |
| dRVVT [sec] | AFAB | 51 | 34,96 ± 3,39 | 0,746 |
| | AMAB | 35 | 35,31 ± 6,62 | |
| aPTT-LA [sec] | AFAB | 51 | 34,20 ± 6,33 | 0,064 |
| | AMAB | 35 | 36,46 ± 3,87 | |

9.1.5. Mutazioni trombofiliche

L'analisi genetica delle mutazioni trombofiliche (fattore V di Leiden e mutazione G20210A della protrombina) non hanno mostrato differenze statisticamente significative tra i due gruppi, come riassunto nella tabella 9.6. Sono state trovate 5 mutazioni fattore V di Leiden (4 tra gli AFAB e 1 tra le AMAB) e 3 mutazioni G20210A della protrombina nel gruppo AMAB.

Tabella 9.6: Tabelle di contingenza per la frequenza delle mutazioni trombofiliche: Fattore V di Leiden e Mutazione G20210A della protrombina. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; AMAB = Assegnato maschio alla nascita.

| | AFAB | AMAB | p value su test del χ^2 |
|--|--------------|--------------|------------------------------|
| | [%] | [%] | |
| Fattore V di Leiden | 4 [7,69%] | 1 [2,86%] | 0,342 |
| Mutazione G20210A della protrombina | 0 | 3 [8,57%] | 0,062 |

9.1.6. ROTEM

La tromboelastografia rotazionale (ROTEM) ha mostrato differenze statisticamente significative tra i valori di EXTEM CT, EXTEM MCF, INTEM CFT, INTEM MCF e FIBTEM MCF. Il gruppo AFAB presenta valori più elevati di EXTEM MCF ($p < 0,001$), INTEM MCF ($p < 0,001$) e FIBTEM MCF ($p = 0,006$). Al contrario, il gruppo AFAB presenta valori più elevati di EXTEM CT ($p = 0,020$) e INTEM CFT ($p < 0,001$) rispetto alla controparte AMAB, come riassunto nella tabella 9.7.

Tabella 9.7: Confronto dei dati ottenuti dalla Tromboelastografia rotazionale (ROTEM) prima dell'inizio della GAHT tra il gruppo AFAB ed il gruppo AMAB. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; AMAB = Assegnato maschio alla nascita; SD = Deviazione standard.

| | | N | Media ± SD | p value |
|-----------------|------|----|----------------|-------------------|
| EXTEM CT [sec] | AFAB | 54 | 67,61 ± 8,54 | 0,020 |
| | AMAB | 36 | 72,96 ± 12,93 | |
| EXTEM CFT [sec] | AFAB | 54 | 93,17 ± 125,65 | 0,866 |
| | AMAB | 36 | 89,58 ± 17,13 | |
| EXTEM MCF [mm] | AFAB | 54 | 66,19 ± 4,48 | < 0,001 |
| | AMAB | 36 | 62,33 ± 3,60 | |
| INTEM CT [sec] | AFAB | 54 | 194,85 ± 38,35 | 0,273 |
| | AMAB | 36 | 205,06 ± 49,22 | |
| INTEM CFT [sec] | AFAB | 54 | 70,24 ± 16,49 | < 0,001 |
| | AMAB | 36 | 85,36 ± 19,71 | |
| INTEM MCF [mm] | AFAB | 54 | 63,74 ± 4,48 | < 0,001 |
| | AMAB | 36 | 59,75 ± 3,95 | |
| FIBTEM MCF [mm] | AFAB | 54 | 16,67 ± 4,25 | 0,006 |
| | AMAB | 36 | 14,17 ± 4,00 | |

9.1.7. Multiplate®

L'analisi aggregometrica Multiplate® ha riscontrato differenze significative sono per il parametro ASPI, maggiore nel gruppo AFAB (p = 0,017) (vedi tabella 9.8).

Tabella 9.8: Confronto dei dati ottenuti dall'analisi aggregometrica (Multiplate®) prima dell'inizio della GAHT tra il gruppo AFAB ed il gruppo AMAB. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; AMAB = Assegnato maschio alla nascita; SD = Deviazione standard.

| | | N | Media ± SD | p value |
|------------|------|----|---------------|--------------|
| ADP [AUC] | AFAB | 54 | 80,35 ± 23,66 | 0,154 |
| | AMAB | 35 | 72,77 ± 25,30 | |
| ASPI [AUC] | AFAB | 54 | 73,70 ± 20,76 | 0,017 |
| | AMAB | 35 | 63,14 ± 18,69 | |

| | | | | |
|-------------------|------|----|----------------|-------|
| TRAP [AUC] | AFAB | 54 | 114,89 ± 25,81 | 0,251 |
| | AMAB | 35 | 108,89 ± 20,67 | |

9.1.8. Eritropoiesi

Agli esami marziali connessi al profilo eritropoietico dei pazienti si sono notate varie differenze statisticamente significative al basale (vedi tabella 9.9). Il gruppo AMAB presenta maggiori riserve di ferro rispetto al gruppo AFAB (maggiori livelli di ferro, ferritina e saturazione della transferrina e minori valori di transferrina). Gli individui transgender AFAB presentano, invece, maggiori livelli di EPO e recettore solubile della transferrina.

Tabella 9.9: Confronto dei dati ottenuti dagli esami marziali collegati all'eritrocitosi prima dell'inizio della GAHT tra il gruppo AFAB ed il gruppo AMAB. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; AMAB = Assegnato maschio alla nascita; SD = Deviazione standard.

| | | N | Media ± SD | p value |
|--|------|----------|-------------------|-------------------|
| Fe [μmol/l] | AFAB | 40 | 13,35 ± 6,52 | 0,011 |
| | AMAB | 30 | 17,64 ± 7,13 | |
| Ferritina [μg/l] | AFAB | 40 | 42,15 ± 41,01 | < 0,001 |
| | AMAB | 30 | 145,13 ± 83,56 | |
| Transferrina [mg/dl] | AFAB | 39 | 281,05 ± 41,97 | 0,004 |
| | AMAB | 30 | 252,27 ± 37,43 | |
| Saturazione della transferrina (TSAT) [%] | AFAB | 39 | 19,91 ± 11,04 | 0,003 |
| | AMAB | 30 | 28,06 ± 10,35 | |
| Recettore solubile della transferrina (sTfR) [mg/l] | AFAB | 10 | 3,37 ± 1,22 | 0,015 |
| | AMAB | 12 | 2,29 ± 0,63 | |
| PCR [mg/dl] | AFAB | 33 | 0,60 ± 1,01 | 0,360 |
| | AMAB | 20 | 0,38 ± 0,47 | |
| IGF1 [μg/l] | AFAB | 39 | 250,90 ± 67,52 | 0,366 |
| | AMAB | 30 | 235,00 ± 76,10 | |
| EPO [mUI/ml] | AFAB | 39 | 13,72 ± 12,15 | 0,016 |
| | AMAB | 30 | 8,17 ± 2,17 | |

9.1.9. Eritrocitosi, Anemia, Mutazioni del gene HFE

Sono stati studiati anche i quadri di eritrocitosi (definita come valori di emoglobina superiori a 16 g/dl oppure ematocrito superiore a 48%) e anemia (definita come valori di emoglobina inferiori a 12 g/dl).

Nel gruppo AMAB sono stati riscontrati 14 casi di eritrocitosi (35%) a fronte di nessun caso negli AFAB ($p < 0,001$).

Nel gruppo AFAB sono stati riscontrati 9 casi di anemia (14,5%) a fronte dell'unico caso nelle AMAB (2,5%), sottolineando, anche in questo caso, una significativa differenza ($p = 0,028$).

Infine, analizzando i test genetici delle mutazioni HFE nel gruppo AFAB abbiamo osservato 10 mutazioni (28,6%) di cui 7 mutazioni H63D in eterozigosi, 2 mutazioni C282Y in eterozigosi e 1 doppia eterozigosi (H63D + C282Y). Nel gruppo AMAB, invece abbiamo notato 8 mutazioni del gene HFE (32%) di cui 6 mutazioni H63D in eterozigosi, 1 mutazione H63D in omozigosi e 1 mutazione C282Y in eterozigosi. Confrontando i dati non si sono evidenziate differenze statisticamente significative tra i due gruppi (vedi tabella 9.10).

Tabella 9.10: Tabella di contingenza per l'incidenza di episodi di eritrocitosi ($Hb > 16$ g/dl oppure $Hct > 48\%$), anemia ($Hb < 12$ g/dl) e mutazioni del gene HFE. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; AMAB = Assegnato maschio alla nascita.

| | AFAB [%] | AMAB [%] | p value su test del χ^2 |
|---|---------------|-------------|---------------------------------|
| Eritrocitosi ($Hb > 16$ g/dl o $Hct > 48\%$) | 0 | 14 [35%] | < 0,001 |
| Anemia ($Hb < 12$ g/dl) | 9 [14,5%] | 1 [2,5%] | 0,028 |
| Mutazioni HFE | 10 [28,6%] | 8 [32%] | 0,775 |

9.1.10. Cellule progenitrici endoteliali

Dallo studio delle EPC non sono emerse differenze significative tra i due gruppi al basale (vedi tabella 9.11).

Tabella 9.11: Confronto dei dati ottenuti dall'analisi delle EPC. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; AMAB = Assegnato maschio alla nascita; SD = Deviazione standard.

| | | N | Media ± SD | p value |
|-----------------------|------|----|---------------------|---------|
| CD34+ | AFAB | 27 | 2.708,52 ± 1.830,89 | 0,887 |
| | AMAB | 14 | 2.992,36 ± 1.512,30 | |
| EPC | AFAB | 27 | 465,85 ± 474,91 | 0,464 |
| | AMAB | 14 | 623,64 ± 510,75 | |
| %CD184+ su EPC | AFAB | 28 | 19,37 ± 14,36 | 0,829 |
| | AMAB | 14 | 18,43 ± 12,64 | |

9.2. Terapia

La scelta di formulazione e posologia della GAHT è un fattore importante, in quanto influisce in modo rilevante sia su alcuni effetti attesi sia su alcuni effetti indesiderati.

Nel gruppo AFAB, il 75,6% dei partecipanti è in trattamento con testosterone in formulazione transdermica a base di gel, mentre il restante 24,4% la formulazione iniettiva (19,5% con testosterone enantato, tramite iniezioni intramuscolo a cadenza mensile, e 4,9% con testosterone undecanoato, tramite iniezioni intramuscolo a cadenza trimestrale).

Nel gruppo AMAB, tutte le partecipanti erano in trattamento con estradiolo in formulazione transdermica e nessuna con quella orale. Il 20,7% ha preferito l'estrogeno emiidrato in formulazione gel, il 75,8% ha scelto lo stesso tipo di estrogeno ma in formulazione spray ed il restante 3,5% ha optato per il cerotto. La scelta dell'antiandrogeno è ricaduta principalmente nel ciproterone acetato in circa il 96,4% delle pazienti, mentre solo nel restante 3,6% si è deciso per lo spironolattone.

9.3. Confronto tra T0, T3 e T6 nel gruppo AFAB

9.3.1. Caratteristiche cliniche

Nel gruppo AFAB, la GAHT con testosterone non ha influito significativamente su peso e BMI dei pazienti (vedi tabella 9.12).

Tabella 9.12: Confronto dei valori di peso e BMI tra i gruppi AFAB T0, AFAB T3 e AFAB T6. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; T0 = Misurazione prima della GAHT; T3 = Misurazione dopo 3 mesi di GAHT; T6 = Misurazione dopo 6 mesi di GAHT; SD = Deviazione standard; BMI = Body Mass Index.

| | Controllo | N | Media ± SD | p value |
|--------------------------|-----------|----|---------------|-------------------|
| Peso [kg] | T0 | 60 | 66,65 ± 14,95 | p (T0-T3) = 0,929 |
| | T3 | 59 | 66,38 ± 14,36 | p (T0-T6) = 0,668 |
| | T6 | 34 | 68,16 ± 16,20 | p (T3-T6) = 0,614 |
| BMI [kg/m ²] | T0 | 60 | 24,47 ± 5,34 | p (T0-T3) = 0,988 |
| | T3 | 59 | 24,46 ± 5,08 | p (T0-T6) = 0,770 |
| | T6 | 34 | 24,81 ± 5,55 | p (T3-T6) = 0,761 |

9.3.2. Esami endocrino-metabolici

Durante i primi 6 mesi di GAHT, nel gruppo AFAB si sono notate diverse differenze dei parametri ematochimici ed ormonali (vedi tabella 9.13). Emoglobina (+ 1,56 g/dl; $p < 0,001$) ed ematocrito (+ 4,68%; $p < 0,001$) aumentano significativamente nei primi 6 mesi di terapia.

Per quanto riguarda il profilo lipidico, il colesterolo HDL diminuisce nei 6 mesi ($p = 0,006$), mentre trigliceridi ($p < 0,001$) e colesterolo LDL ($p = 0,014$) aumentano. La creatinina è soggetta ad un incremento nei primi 6 mesi di GAHT. Glicemia e funzionalità epatica non sembrano, invece, essere soggette a differenze statisticamente significative.

Infine, come atteso per effetto della terapia in atto, il profilo ormonale varia notevolmente, vedendo un significativo aumento dei livelli di testosterone totale ($p < 0,001$) e testosterone libero calcolato ($p < 0,001$) e una riduzione dei livelli di SHBG, mentre i livelli di estradiolo subiscono una riduzione numerica, che tuttavia non raggiunge la significatività statistica.

Tabella 9.13: Confronto dei parametri endocrino-metabolici tra i gruppi AFAB T0, AFAB T3 e AFAB T6. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; T0 = Misurazione prima della GAHT; T3 = Misurazione dopo 3 mesi di GAHT; T6 = Misurazione dopo 6 mesi di GAHT; SD = Deviazione standard; PT = Protrombina; AT = Antitrombina; APC-R = Resistenza della proteina C attivata.

| | Controllo | N | Media ± SD | p value |
|---|-----------|----|----------------|--------------------------|
| Emoglobina (Hb) [g/dl] | T0 | 49 | 12,87 ± 1,27 | p (T0-T3) < 0,001 |
| | T3 | 36 | 14,03 ± 1,45 | p (T0-T6) < 0,001 |
| | T6 | 34 | 14,43 ± 1,20 | p (T3-T6) = 0,166 |
| Ematocrito (Hct) [%] | T0 | 51 | 39,43 ± 2,77 | p (T0-T3) < 0,001 |
| | T3 | 38 | 42,27 ± 3,73 | p (T0-T6) < 0,001 |
| | T6 | 35 | 44,11 ± 2,82 | p (T3-T6) = 0,233 |
| Volume corpuscolare medio (MCV) [fL] | T0 | 49 | 87,90 ± 7,74 | p (T0-T3) = 0,345 |
| | T3 | 36 | 86,16 ± 11,92 | p (T0-T6) = 0,071 |
| | T6 | 34 | 84,51 ± 10,88 | p (T3-T6) = 0,410 |
| Contenuto medio di emoglobina (MCH) [pg] | T0 | 49 | 28,89 ± 3,45 | p (T0-T3) = 0,642 |
| | T3 | 36 | 28,61 ± 2,94 | p (T0-T6) = 0,496 |
| | T6 | 33 | 28,48 ± 2,62 | p (T3-T6) = 0,831 |
| Piastrine (PLT) [x 10⁹/l] | T0 | 49 | 258,33 ± 61,30 | p (T0-T3) = 0,264 |
| | T3 | 36 | 272,93 ± 63,24 | p (T0-T6) = 0,685 |
| | T6 | 33 | 264,71 ± 63,56 | p (T3-T6) = 0,522 |
| Creatinina [mg/dl] | T0 | 46 | 0,68 ± 0,13 | p (T0-T3) = 0,048 |
| | T3 | 35 | 0,74 ± 0,14 | p (T0-T6) = 0,003 |
| | T6 | 31 | 0,78 ± 0,15 | p (T3-T6) = 0,300 |
| Colesterolo totale [mg/dl] | T0 | 48 | 160,12 ± 31,25 | p (T0-T3) = 0,917 |
| | T3 | 8 | 161,38 ± 30,86 | p (T0-T6) = 0,137 |
| | T6 | 13 | 174,85 ± 36,18 | p (T3-T6) = 0,342 |
| Colesterolo HDL [mg/dl] | T0 | 48 | 57,38 ± 12,40 | p (T0-T3) = 0,285 |
| | T3 | 5 | 51,60 ± 16,23 | p (T0-T6) = 0,006 |
| | T6 | 12 | 47,08 ± 10,70 | p (T3-T6) = 0,460 |
| Trigliceridi [mg/dl] | T0 | 48 | 67,29 ± 26,17 | p (T0-T3) = 0,307 |
| | T3 | 8 | 81,63 ± 32,85 | p (T0-T6) < 0,001 |
| | T6 | 12 | 117,33 ± 87,17 | p (T3-T6) = 0,035 |

| | | | | |
|--|----|----|----------------|--------------------------|
| Colesterolo LDL calcolato [mg/dl] | T0 | 48 | 89,29 ± 26,28 | p (T0-T3) = 0,975 |
| | T3 | 5 | 88,92 ± 32,14 | p (T0-T6) = 0,014 |
| | T6 | 12 | 109,95 ± 20,49 | p (T3-T6) = 0,125 |
| Glicemia [mg/dl] | T0 | 43 | 85,44 ± 6,65 | p (T0-T3) = 0,321 |
| | T3 | 3 | 80,67 ± 12,06 | p (T0-T6) = 0,850 |
| | T6 | 13 | 85,92 ± 8,70 | p (T3-T6) = 0,309 |
| AST [U/l] | T0 | 45 | 19,73 ± 8,18 | p (T0-T3) = 0,925 |
| | T3 | 35 | 19,89 ± 6,46 | p (T0-T6) = 0,232 |
| | T6 | 33 | 21,70 ± 8,96 | p (T3-T6) = 0,297 |
| ALT [U/l] | T0 | 47 | 17,02 ± 10,70 | p (T0-T3) = 0,966 |
| | T3 | 35 | 16,91 ± 7,51 | p (T0-T6) = 0,305 |
| | T6 | 33 | 19,82 ± 13,24 | p (T3-T6) = 0,317 |
| Testosterone totale [ng/ml] | T0 | 49 | 0,41 ± 0,28 | p (T0-T3) < 0,001 |
| | T3 | 35 | 4,53 ± 3,49 | p (T0-T6) < 0,001 |
| | T6 | 32 | 4,65 ± 2,74 | p (T3-T6) = 0,806 |
| SHBG [nmol/l] | T0 | 48 | 58,45 ± 33,89 | p (T0-T3) = 0,013 |
| | T3 | 15 | 37,87 ± 17,69 | p (T0-T6) < 0,001 |
| | T6 | 23 | 28,16 ± 18,20 | p (T3-T6) = 0,294 |
| Testosterone libero calcolato (cFT) [pg/ml] | T0 | 47 | 0,04 ± 0,10 | p (T0-T3) < 0,001 |
| | T3 | 15 | 0,29 ± 0,20 | p (T0-T6) < 0,001 |
| | T6 | 22 | 0,43 ± 0,30 | p (T3-T6) = 0,021 |
| Estradiolo (E2) [ng/l] | T0 | 51 | 102,76 ± 95,38 | p (T0-T3) = 0,120 |
| | T3 | 35 | 65,52 ± 61,36 | p (T0-T6) = 0,078 |
| | T6 | 34 | 60,18 ± 36,34 | p (T3-T6) = 0,838 |
| Ormone luteinizzante (LH) [UI/l] | T0 | 49 | 8,19 ± 6,43 | p (T0-T3) = 0,100 |
| | T3 | 36 | 11,84 ± 15,57 | p (T0-T6) = 0,339 |
| | T6 | 33 | 10,36 ± 16,13 | p (T3-T6) = 0,542 |
| Ormone follicolo stimolante (FSH) [UI/l] | T0 | 50 | 4,85 ± 2,22 | p (T0-T3) = 0,129 |
| | T3 | 34 | 8,07 ± 16,76 | p (T0-T6) = 0,158 |
| | T6 | 33 | 7,87 ± 15,14 | p (T3-T6) = 0,931 |

9.3.3. ROTEM

All'analisi ROTEM nel gruppo AFAB si sono notati un incremento dei valori di INTEM CFT ($p = 0,001$) a 6 mesi di trattamento e una riduzione dei valori di EXTEM MCF ($p = 0,001$), INTEM MCF ($p = 0,009$) e FIBTEM MCF ($p = 0,013$), come riassunto nella tabella 9.14.

Tabella 9.14: Confronto dei dati ottenuti dalla Tromboelastografia rotazionale (ROTEM) tra i gruppi AFAB T0, AFAB T3 e AFAB T6. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; T0 = Misurazione prima della GAHT; T3 = Misurazione dopo 3 mesi di GAHT; T6 = Misurazione dopo 6 mesi di GAHT; SD = Deviazione standard.

| | Controllo | N | Media \pm SD | p value |
|-----------------|-----------|----|--------------------|--------------------------|
| EXTEM CT [sec] | T0 | 54 | 67,61 \pm 8,54 | p (T0-T3) = 0,576 |
| | T3 | 37 | 70,43 \pm 12,69 | p (T0-T6) = 0,360 |
| | T6 | 35 | 72,31 \pm 21,29 | p (T3-T6) = 0,736 |
| EXTEM CFT [sec] | T0 | 54 | 93,17 \pm 125,65 | p (T0-T3) = 0,742 |
| | T3 | 37 | 88,51 \pm 10,89 | p (T0-T6) = 0,837 |
| | T6 | 35 | 90,20 \pm 11,97 | p (T3-T6) = 0,914 |
| EXTEM MCF [mm] | T0 | 54 | 66,19 \pm 4,48 | p (T0-T3) = 0,019 |
| | T3 | 37 | 63,86 \pm 4,57 | p (T0-T6) = 0,001 |
| | T6 | 35 | 62,77 \pm 6,10 | p (T3-T6) = 0,313 |
| INTEM CT [sec] | T0 | 54 | 194,85 \pm 38,35 | p (T0-T3) = 0,478 |
| | T3 | 37 | 202,41 \pm 38,56 | p (T0-T6) = 0,540 |
| | T6 | 35 | 201,49 \pm 56,95 | p (T3-T6) = 0,938 |
| INTEM CFT [sec] | T0 | 54 | 70,24 \pm 16,49 | p (T0-T3) = 0,003 |
| | T3 | 37 | 83,68 \pm 22,93 | p (T0-T6) = 0,001 |
| | T6 | 35 | 85,37 \pm 20,72 | p (T3-T6) = 0,727 |
| INTEM MFC [mm] | T0 | 54 | 63,74 \pm 4,48 | p (T0-T3) = 0,003 |
| | T3 | 37 | 61,27 \pm 4,58 | p (T0-T6) = 0,009 |
| | T6 | 35 | 60,83 \pm 4,82 | p (T3-T6) = 0,003 |
| FIBTEM MFC [mm] | T0 | 54 | 16,67 \pm 4,25 | p (T0-T3) = 0,021 |
| | T3 | 37 | 14,65 \pm 3,28 | p (T0-T6) = 0,013 |
| | T6 | 35 | 14,46 \pm 3,85 | p (T3-T6) = 0,842 |

9.3.4. Multiplate®

L'analisi Multiplate® negli AFAB ha mostrato il singolo decremento dei livelli di ADP dopo 3 e 6 mesi di GAHT, come illustrato in tabella 9.15.

Tabella 9.15: Confronto dei dati ottenuti dall'analisi aggregometrica (Multiplate®) tra i gruppi AFAB T0, AFAB T3 e AFAB T6. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; T0 = Misurazione prima della GAHT; T3 = Misurazione dopo 3 mesi di GAHT; T6 = Misurazione dopo 6 mesi di GAHT; SD = Deviazione standard.

| | Controllo | N | Media ± SD | p value |
|------------|-----------|----|----------------|--------------------------|
| ADP [AUC] | T0 | 54 | 80,35 ± 23,66 | p (T0-T3) = 0,023 |
| | T3 | 37 | 69,38 ± 19,90 | p (T0-T6) = 0,014 |
| | T6 | 36 | 68,42 ± 19,97 | p (T3-T6) = 0,855 |
| ASPI [AUC] | T0 | 54 | 73,70 ± 20,76 | p (T0-T3) = 0,149 |
| | T3 | 37 | 67,86 ± 19,02 | p (T0-T6) = 0,181 |
| | T6 | 36 | 68,25 ± 17,20 | p (T3-T6) = 0,931 |
| TRAP [AUC] | T0 | 54 | 114,89 ± 25,81 | p (T0-T3) = 0,638 |
| | T3 | 37 | 117,22 ± 21,03 | p (T0-T6) = 0,776 |
| | T6 | 36 | 116,31 ± 22,05 | p (T3-T6) = 0,867 |

9.3.5. Eritropoiesi

L'analisi del profilo marziale non ha mostrato differenze significative, se non per una riduzione dei livelli di PCR dopo 6 mesi di trattamento (p = 0,005).

Tabella 9.16: Confronto dei dati ottenuti dagli esami marziali collegati all'eritrocitosi tra i gruppi AFAB T0, AFAB T3 e AFAB T6. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; T0 = Misurazione prima della GAHT; T3 = Misurazione dopo 3 mesi di GAHT; T6 = Misurazione dopo 6 mesi di GAHT; SD = Deviazione standard.

| | Controllo | N | Media ± SD | p value |
|------------------|-----------|----|---------------|-------------------|
| Fe [µmol/l] | T0 | 40 | 13,35 ± 6,52 | p (T0-T3) = 0,674 |
| | T3 | 24 | 12,28 ± 7,49 | p (T0-T6) = 0,102 |
| | T6 | 26 | 17,46 ± 12,79 | p (T3-T6) = 0,067 |
| Ferritina [µg/l] | T0 | 40 | 42,15 ± 41,01 | p (T0-T3) = 0,659 |

| | | | | |
|--|----|----|----------------|--------------------------|
| | T3 | 24 | 35,10 ± 71,49 | p (T0-T6) = 0,345 |
| | T6 | 27 | 27,58 ± 21,79 | p (T3-T6) = 0,665 |
| | T0 | 39 | 252,17 ± 37,43 | p (T0-T3) = 0,216 |
| | T3 | 24 | 294,54 ± 43,89 | p (T0-T6) = 0,122 |
| Transferrina [mg/dl] | T6 | 27 | 297,37 ± 51,61 | p (T3-T6) = 0,810 |
| | T0 | 39 | 19,91 ± 11,04 | p (T0-T3) = 0,394 |
| | T3 | 19 | 16,81 ± 13,25 | p (T0-T6) = 0,698 |
| Saturazione della transferrina (TSAT) [%] | T6 | 24 | 21,21 ± 13,53 | p (T3-T6) = 0,270 |
| | T0 | 10 | 3,37 ± 1,22 | p (T0-T3) = 0,314 |
| | T3 | 19 | 2,83 ± 1,78 | p (T0-T6) = 0,053 |
| Recettore solubile della transferrina (sTfR) [mg/l] | T6 | 20 | 2,34 ± 1,70 | p (T3-T6) = 0,259 |
| | T0 | 33 | 0,60 ± 1,01 | p (T0-T3) = 0,284 |
| | T3 | 20 | 0,42 ± 0,48 | p (T0-T6) = 0,005 |
| PCR [mg/dl] | T6 | 25 | 0,15 ± 0,22 | p (T3-T6) = 0,134 |
| | T0 | 39 | 250,90 ± 67,52 | p (T0-T3) = 0,526 |
| | T3 | 22 | 239,00 ± 66,08 | p (T0-T6) = 0,804 |
| IGF1 [µg/l] | T6 | 23 | 255,48 ± 74,13 | p (T3-T6) = 0,433 |
| | T0 | 39 | 13,72 ± 12,15 | p (T0-T3) = 0,900 |
| | T3 | 21 | 14,06 ± 12,18 | p (T0-T6) = 0,694 |
| EPO [mUI/ml] | T6 | 25 | 12,73 ± 12,53 | p (T3-T6) = 0,649 |

9.3.6. Eritrocitosi e Anemia

Andando a valutare nel tempo la comparsa di eritrocitosi, si è notato un aumento da nessun caso a 7 casi di eritrocitosi dopo 6 mesi di terapia con testosterone (p = 0,019).

Per quanto riguarda i casi di anemia si è vista una progressiva diminuzione, da 9 casi a T0 a nessun caso dopo 6 mesi di GAHT (p = 0,012).

Tabella 9.17: Tabella di contingenza per l'incidenza di episodi di eritrocitosi ($Hb > 16$ g/dl oppure $Hct > 48\%$), anemia ($Hb < 12$ g/dl).

| | Controllo | N | p value su test del χ^2 |
|---|-----------|---|------------------------------|
| Eritrocitosi ($Hb > 16$ g/dl o $Hct > 48\%$) | T0 | 0 | 0,019 |
| | T3 | 2 | |
| | T6 | 7 | |
| Anemia ($Hb < 12$ g/dl) | T0 | 9 | 0,012 |
| | T3 | 2 | |
| | T6 | 0 | |

9.3.7. Cellule progenitrici endoteliali

L'analisi delle EPC non ha mostrato variazioni significative durante i 6 mesi di terapia nel gruppo AFAB. Si nota tuttavia un aumento della %CD184+ su EPC nel dato normalizzato rispetto al basale ($p = 0,027$).

Tabella 9.18: Confronto dei dati assoluti e relativi (normalizzati rispetto al basale) ottenuti dall'analisi delle EPC tra i gruppi AFAB T0, AFAB T3 e AFAB T6. AFAB = Assegnato femmina alla nascita; T0 = Misurazione prima della GAHT; T3 = Misurazione dopo 3 mesi di GAHT; T6 = Misurazione dopo 6 mesi di GAHT; SD = Deviazione standard.

| | Controllo | N | Media \pm SD [dato normalizzato] | p value [p normalizzato] |
|--------------|-----------|----|---|------------------------------|
| CD34+ | T0 | 27 | 2.708,52 \pm 1.830,89 [100 \pm 0] | p (T0-T3) = 0,066 [0,071] |
| | T3 | 23 | 5.905,13 \pm 12.349,49 [226,44 \pm 425,34] | p (T0-T6) = 0,946 [0,701] |
| | T6 | 19 | 2.831,68 \pm 2.454,7 [128,26 \pm 148,99] | p (T3-T6) = 0,105 [0,207] |
| EPC | T0 | 27 | 465,85 \pm 474,91 [100 \pm 0] | p (T0-T3) = 0,652 [0,701] |
| | T3 | 21 | 551,48 \pm 1.120,47 [185,13 \pm 323,03] | p (T0-T6) = 0,789 [0,848] |

| | | | | |
|-----------------------|----|----|-------------------------------------|------------------------------|
| | T6 | 19 | 518,21 ± 523,9 [143,73 ± 141,98] | p (T3-T6) = 0,872 [0,866] |
| | T0 | 28 | 19,37 ± 14,36 [100 ± 0] | p (T0-T3) = 0,565 [0,027] |
| | T3 | 21 | 21,6 ± 16,82 [167,17 ± 149,37] | p (T0-T6) = 0,523 [0,160] |
| %CD184+ su EPC | T6 | 19 | 16,83 ± 11,96 [143,80 ± 138,57] | p (T3-T6) = 0,262 [0,484] |

9.4. Confronto tra T0, T3 e T6 nel gruppo AMAB

9.4.1. Caratteristiche cliniche

Nel gruppo AMAB, la GAHT con estrogeni e antiandrogeni non ha influito significativamente su peso e BMI delle pazienti (vedi tabella 9.12).

Tabella 9.19: Confronto dei valori di peso e BMI tra i gruppi AMAB T0, AMAB T3 e AMAB T6. AMAB = Assegnato maschio alla nascita; T0 = Misurazione prima della GAHT; T3 = Misurazione dopo 3 mesi di GAHT; T6 = Misurazione dopo 6 mesi di GAHT; SD = Deviazione standard; BMI = Body Mass Index.

| | Controllo | N | Media ± SD | p value |
|-------------------------------|-----------|----|---------------|-------------------|
| Peso [kg] | T0 | 39 | 72,79 ± 19,26 | p (T0-T3) = 0,666 |
| | T3 | 39 | 71,19 ± 17,10 | p (T0-T6) = 0,877 |
| | T6 | 39 | 72,22 ± 17,62 | p (T3-T6) = 0,872 |
| BMI [kg/m²] | T0 | 39 | 23,50 ± 6,01 | p (T0-T3) = 0,678 |
| | T3 | 39 | 22,99 ± 5,21 | p (T0-T6) = 0,872 |
| | T6 | 39 | 23,30 ± 5,36 | p (T3-T6) = 0,799 |

9.4.2. Esami endocrino-metabolici

Durante i primi 6 mesi di GAHT, nel gruppo AMAB si sono notate diverse differenze dei parametri ematochimici ed ormonali (vedi tabella 9.20). Emoglobina (– 1,01 g/dl; p = 0,003) ed ematocrito (– 3,16%; p < 0,001) si riducono significativamente nei primi 6 mesi di terapia ormonale.

Per quanto riguarda creatinina e profilo lipidico, non sembrano essere soggetti a differenze statisticamente significative, anche se è presente un trend verso la riduzione di colesterolo totale e trigliceridi. Tuttavia, dopo 6 mesi di terapia abbiamo notato una significativa riduzione dei casi di dislipidemia, passando da 9 a T0 ad un solo caso a T6 ($p < 0,001$).

La glicemia si riduce significativamente a T6 ($p = 0,031$) e le AST vedono una diminuzione sia a 3 mesi ($p = 0,013$) che a 6 mesi ($p = 0,033$) di GAHT.

Come atteso, il profilo ormonale varia notevolmente, vedendo una significativa diminuzione dei livelli di testosterone totale ($p < 0,001$) e testosterone libero calcolato ($p < 0,001$) e un aumento dei livelli di estradiolo ($p < 0,001$).

Tabella 9.20: Confronto dei parametri endocrino-metabolici tra i gruppi AMAB T0, AMAB T3 e AMAB T6. AMAB = Assegnato maschio alla nascita; T0 = Misurazione prima della GAHT; T3 = Misurazione dopo 3 mesi di GAHT; T6 = Misurazione dopo 6 mesi di GAHT; SD = Deviazione standard.

| | Controllo | N | Media \pm SD | p value |
|---|-----------|----|--------------------|--------------------------|
| Emoglobina (Hb) [g/dl] | T0 | 36 | 15,33 \pm 0,99 | p (T0-T3) = 0,001 |
| | T3 | 27 | 14,29 \pm 1,07 | p (T0-T6) = 0,003 |
| | T6 | 19 | 14,32 \pm 1,00 | p (T3-T6) = 0,949 |
| Ematocrito (Hct) [%] | T0 | 36 | 45,74 \pm 2,86 | p (T0-T3) < 0,001 |
| | T3 | 28 | 42,24 \pm 2,79 | p (T0-T6) < 0,001 |
| | T6 | 19 | 42,58 \pm 2,84 | p (T3-T6) = 0,707 |
| Volume corpuscolare medio (MCV) [fL] | T0 | 36 | 89,30 \pm 4,23 | p (T0-T3) = 0,747 |
| | T3 | 27 | 88,61 \pm 5,36 | p (T0-T6) = 0,750 |
| | T6 | 19 | 90,06 \pm 5,60 | p (T3-T6) = 0,565 |
| Contenuto medio di emoglobina (MCH) [pg] | T0 | 36 | 29,97 \pm 1,78 | p (T0-T3) = 0,836 |
| | T3 | 27 | 30,11 \pm 2,09 | p (T0-T6) = 0,412 |
| | T6 | 19 | 30,59 \pm 2,06 | p (T3-T6) = 0,548 |
| Piastrine (PLT) [x 10⁹/l] | T0 | 36 | 248,67 \pm 61,19 | p (T0-T3) = 0,576 |
| | T3 | 27 | 257,70 \pm 62,41 | p (T0-T6) = 0,529 |
| | T6 | 18 | 260,22 \pm 67,24 | p (T3-T6) = 0,896 |
| Creatinina [mg/dl] | T0 | 34 | 0,84 \pm 0,13 | p (T0-T3) = 0,376 |

| | | | | |
|--|----|----|----------------|--------------------------|
| | T3 | 25 | 0,81 ± 0,11 | p (T0-T6) = 0,553 |
| | T6 | 16 | 0,82 ± 0,13 | p (T3-T6) = 0,876 |
| | T0 | 36 | 157,08 ± 30,70 | p (T0-T3) = 0,087 |
| | T3 | 8 | 135,88 ± 27,74 | p (T0-T6) = 0,350 |
| Colesterolo totale [mg/dl] | T6 | 5 | 143,00 ± 30,98 | p (T3-T6) = 0,691 |
| | T0 | 35 | 53,46 ± 9,86 | p (T0-T3) = 0,751 |
| | T3 | 5 | 55,20 ± 11,12 | p (T0-T6) = 0,514 |
| Colesterolo HDL [mg/dl] | T6 | 4 | 49,50 ± 7,05 | p (T3-T6) = 0,460 |
| | T0 | 35 | 70,91 ± 22,11 | p (T0-T3) = 0,619 |
| | T3 | 5 | 62,20 ± 21,43 | p (T0-T6) = 0,556 |
| Trigliceridi [mg/dl] | T6 | 5 | 60,60 ± 16,86 | p (T3-T6) = 0,945 |
| | T0 | 36 | 89,78 ± 24,78 | p (T0-T3) = 0,052 |
| | T3 | 4 | 63,20 ± 11,96 | p (T0-T6) = 0,755 |
| Colesterolo LDL calcolato [mg/dl] | T6 | 4 | 85,55 ± 37,13 | p (T3-T6) = 0,219 |
| | T0 | 32 | 85,31 ± 8,28 | p (T0-T3) = 0,871 |
| | T3 | 7 | 85,86 ± 8,30 | p (T0-T6) = 0,031 |
| Glicemia [mg/dl] | T6 | 4 | 76,00 ± 14,17 | p (T3-T6) = 0,053 |
| | T0 | 35 | 24,00 ± 6,69 | p (T0-T3) = 0,013 |
| | T3 | 27 | 19,41 ± 4,46 | p (T0-T6) = 0,033 |
| AST [U/l] | T6 | 18 | 19,56 ± 5,76 | p (T3-T6) = 0,946 |
| | T0 | 36 | 24,11 ± 17,51 | p (T0-T3) = 0,332 |
| | T3 | 27 | 21,15 ± 9,16 | p (T0-T6) = 0,736 |
| ALT [U/l] | T6 | 18 | 22,94 ± 9,37 | p (T3-T6) = 0,622 |
| | T0 | 35 | 5,38 ± 1,59 | p (T0-T3) < 0,001 |
| | T3 | 26 | 1,08 ± 1,78 | p (T0-T6) < 0,001 |
| Testosterone totale [ng/ml] | T6 | 18 | 0,81 ± 1,42 | p (T3-T6) = 0,673 |
| | T0 | 35 | 39,99 ± 31,84 | p (T0-T3) = 0,187 |
| | T3 | 11 | 27,26 ± 14,03 | p (T0-T6) = 0,432 |
| SHBG [nmol/l] | T6 | 11 | 32,44 ± 18,47 | p (T3-T6) = 0,663 |
| | T0 | 33 | 0,38 ± 0,10 | p (T0-T3) < 0,001 |
| | T3 | 11 | 0,08 ± 0,15 | p (T0-T6) < 0,001 |
| Testosterone libero calcolato (cFT) [pg/ml] | T6 | 11 | 0,03 ± 0,03 | p (T3-T6) = 0,437 |

| | | | | |
|---|----|----|-----------------|--------------------------|
| Estradiolo (E2) [ng/l] | T0 | 36 | 33,12 ± 15,47 | p (T0-T3) = 0,001 |
| | T3 | 26 | 125,86 ± 199,97 | p (T0-T6) < 0,001 |
| | T6 | 19 | 159,80 ± 191,93 | p (T3-T6) = 0,302 |
| Ormone luteinizzante (LH) [UI/l] | T0 | 34 | 5,27 ± 2,94 | p (T0-T3) = 0,117 |
| | T3 | 26 | 1,13 ± 2,00 | p (T0-T6) = 0,150 |
| | T6 | 19 | 1,12 ± 1,83 | p (T3-T6) = 0,988 |
| Ormone follicolo stimolante (FSH) [UI/l] | T0 | 35 | 4,50 ± 3,16 | p (T0-T3) = 0,141 |
| | T3 | 26 | 0,87 ± 1,37 | p (T0-T6) = 0,151 |
| | T6 | 19 | 0,60 ± 0,66 | p (T3-T6) = 0,926 |

9.4.3. ROTEM

La tromboelastografia ha visualizzato un singolo aumento dei livelli di FIBTEM MCF dopo 6 mesi di terapia femminilizzante ($p = 0,011$) (tabella 9.21).

Tabella 9.21: Confronto dei dati ottenuti dalla Tromboelastografia rotazionale (ROTEM) tra i gruppi AMAB T0, AMAB T3 e AMAB T6. AMAB = Assegnato maschio alla nascita; T0 = Misurazione prima della GAHT; T3 = Misurazione dopo 3 mesi di GAHT; T6 = Misurazione dopo 6 mesi di GAHT; SD = Deviazione standard.

| | Controllo | N | Media ± SD | p value |
|------------------------|-----------|----|----------------|-------------------|
| EXTEM CT [sec] | T0 | 36 | 72,96 ± 12,93 | p (T0-T3) = 0,892 |
| | T3 | 25 | 72,12 ± 11,27 | p (T0-T6) = 0,208 |
| | T6 | 23 | 80,91 ± 60,22 | p (T3-T6) = 0,199 |
| EXTEM CFT [sec] | T0 | 36 | 89,58 ± 17,13 | p (T0-T3) = 0,768 |
| | T3 | 25 | 84,48 ± 13,25 | p (T0-T6) = 0,745 |
| | T6 | 23 | 83,83 ± 13,81 | p (T3-T6) = 0,973 |
| EXTEM MCF [mm] | T0 | 36 | 62,33 ± 3,60 | p (T0-T3) = 0,489 |
| | T3 | 25 | 63,16 ± 4,15 | p (T0-T6) = 0,369 |
| | T6 | 23 | 63,43 ± 3,89 | p (T3-T6) = 0,836 |
| INTEM CT [sec] | T0 | 36 | 205,06 ± 49,22 | p (T0-T3) = 0,743 |
| | T3 | 25 | 200,80 ± 45,63 | p (T0-T6) = 0,323 |
| | T6 | 23 | 191,87 ± 76,87 | p (T3-T6) = 0,536 |

| | | | | |
|-----------------|----|----|---------------|--------------------------|
| INTEM CFT [sec] | T0 | 36 | 85,36 ± 19,71 | p (T0-T3) = 0,329 |
| | T3 | 25 | 80,12 ± 24,54 | p (T0-T6) = 0,279 |
| | T6 | 22 | 79,32 ± 21,76 | p (T3-T6) = 0,894 |
| INTEM MFC [mm] | T0 | 36 | 59,75 ± 3,95 | p (T0-T3) = 0,326 |
| | T3 | 25 | 60,88 ± 4,18 | p (T0-T6) = 0,371 |
| | T6 | 22 | 60,82 ± 4,17 | p (T3-T6) = 0,962 |
| FIBTEM MFC [mm] | T0 | 36 | 14,17 ± 4,00 | p (T0-T3) = 0,085 |
| | T3 | 25 | 16,00 ± 4,25 | p (T0-T6) = 0,011 |
| | T6 | 23 | 16,96 ± 4,99 | p (T3-T6) = 0,417 |

9.4.4. Multiplate®

In 6 mesi di GAHT nel gruppo AMAB si è notato un aumento dei livelli di ASPI ($p = 0,021$) e TRAP ($p = 0,040$) all'analisi Multiplate®.

Tabella 9.22: Confronto dei dati ottenuti dall'analisi aggregometrica (Multiplate®) tra i gruppi AMAB T0, AMAB T3 e AMAB T6. AMAB = Assegnato maschio alla nascita; T0 = Misurazione prima della GAHT; T3 = Misurazione dopo 3 mesi di GAHT; T6 = Misurazione dopo 6 mesi di GAHT; SD = Deviazione standard.

| | Controllo | N | Media ± SD | p value |
|------------|-----------|----|----------------|--------------------------|
| ADP [AUC] | T0 | 35 | 72,77 ± 25,30 | p (T0-T3) = 0,299 |
| | T3 | 25 | 66,64 ± 23,38 | p (T0-T6) = 0,844 |
| | T6 | 23 | 73,96 ± 21,56 | p (T3-T6) = 0,261 |
| ASPI [AUC] | T0 | 35 | 63,14 ± 18,69 | p (T0-T3) = 0,339 |
| | T3 | 25 | 67,88 ± 21,25 | p (T0-T6) = 0,021 |
| | T6 | 23 | 74,91 ± 13,28 | p (T3-T6) = 0,199 |
| TRAP [AUC] | T0 | 35 | 108,89 ± 20,67 | p (T0-T3) = 0,683 |
| | T3 | 24 | 106,38 ± 25,26 | p (T0-T6) = 0,040 |
| | T6 | 23 | 121,74 ± 22,61 | p (T3-T6) = 0,024 |

9.4.5. Eritropoiesi

L'analisi del metabolismo marziale nel gruppo AMAB ha notato un aumento a T3 dei livelli di ferro ($p = 0,018$) e saturazione della transferrina ($p = 0,011$) con una successiva riduzione a T6 verso valori simili al basale.

Tabella 9.23: Confronto dei dati ottenuti dagli esami marziali collegati all'eritrocitosi tra i gruppi AMAB T0, AMAB T3 e AMAB T6. AMAB = Assegnato maschio alla nascita; T0 = Misurazione prima della GAHT; T3 = Misurazione dopo 3 mesi di GAHT; T6 = Misurazione dopo 6 mesi di GAHT; SD = Deviazione standard.

| | Controllo | N | Media \pm SD | p value |
|---|-----------|----|--------------------|--------------------------|
| Fe [$\mu\text{mol/l}$] | T0 | 30 | 17,64 \pm 7,13 | p (T0-T3) = 0,018 |
| | T3 | 18 | 24,72 \pm 17,20 | p (T0-T6) = 0,668 |
| | T6 | 13 | 19,05 \pm 7,35 | p (T3-T6) = 0,118 |
| Ferritina [$\mu\text{g/l}$] | T0 | 30 | 145,13 \pm 83,56 | p (T0-T3) = 0,161 |
| | T3 | 17 | 171,52 \pm 85,26 | p (T0-T6) = 0,994 |
| | T6 | 14 | 145,29 \pm 57,40 | p (T3-T6) = 0,241 |
| Transferrina [mg/dl] | T0 | 30 | 252,27 \pm 37,43 | p (T0-T3) = 0,064 |
| | T3 | 16 | 228,00 \pm 28,85 | p (T0-T6) = 0,286 |
| | T6 | 14 | 237,64 \pm 38,15 | p (T3-T6) = 0,530 |
| Saturazione della transferrina (TSAT) [%] | T0 | 30 | 28,06 \pm 10,35 | p (T0-T3) = 0,011 |
| | T3 | 13 | 39,19 \pm 20,69 | p (T0-T6) = 0,420 |
| | T6 | 7 | 32,46 \pm 11,77 | p (T3-T6) = 0,269 |
| Recettore solubile della transferrina (sTfR) [mg/l] | T0 | 12 | 2,29 \pm 0,63 | p (T0-T3) = 0,491 |
| | T3 | 12 | 1,91 \pm 0,66 | p (T0-T6) = 0,342 |
| | T6 | 12 | 1,76 \pm 0,96 | p (T3-T6) = 0,793 |
| PCR [mg/dl] | T0 | 20 | 0,38 \pm 0,47 | p (T0-T3) = 0,751 |
| | T3 | 19 | 0,32 \pm 0,30 | p (T0-T6) = 0,487 |
| | T6 | 13 | 0,23 \pm 0,22 | p (T3-T6) = 0,684 |
| IGF1 [$\mu\text{g/l}$] | T0 | 29 | 235,00 \pm 76,10 | p (T0-T3) = 0,163 |
| | T3 | 15 | 266,34 \pm 72,64 | p (T0-T6) = 0,171 |
| | T6 | 13 | 267,21 \pm 60,02 | p (T3-T6) = 0,974 |
| EPO [mUI/ml] | T0 | 30 | 8,17 \pm 2,17 | p (T0-T3) = 0,526 |

| | | | |
|----|----|-------------|-------------------|
| T3 | 15 | 6,44 ± 2,43 | p (T0-T6) = 0,606 |
| T6 | 12 | 8,33 ± 4,05 | p (T3-T6) = 0,331 |

9.4.6. Eritrocitosi e Anemia

Il dato più interessante da notare riguarda gli eventi di eritrocitosi nel gruppo AMAB. La diminuzione di emoglobina ed ematocrito ha portato a una riduzione dai 14 casi al basale, a nessun evento ai controlli a T3 ($p < 0,001$). Le eritrocitosi rilevate nel gruppo AMAB risultano essere forme lievi, poiché la definizione adottata è più ampia rispetto a quella che sarebbe stata più appropriata per questo gruppo. Nello specifico, i criteri per il sesso maschile sono un'emoglobina $> 16,5$ g/dl o un ematocrito $> 49\%$.

Riguardo l'anemia non si sono notate differenze significative.

Tabella 9.24: Tabella di contingenza per l'incidenza di episodi di eritrocitosi ($Hb > 16$ g/dl oppure $Hct > 48\%$), anemia ($Hb < 12$ g/dl).

| | Controllo | N | p value su test del χ^2 |
|---|-----------|----|------------------------------|
| Eritrocitosi ($Hb > 16$ g/dl o $Hct > 48\%$) | T0 | 14 | < 0,001 |
| | T3 | 0 | |
| | T6 | 0 | |
| Anemia ($Hb < 12$ g/dl) | T0 | 0 | 0,714 |
| | T3 | 0 | |
| | T6 | 2 | |

9.4.7. Cellule progenitrici endoteliali

L'analisi delle EPC non ha mostrato variazioni significative durante i 6 mesi di terapia nel gruppo AMAB. Normalizzando i valori rispetto al valore basale, si nota un aumento delle EPC totali a 3 mesi ($p = 0,033$).

Tabella 9.25: Confronto dei dati assoluti e relativi (normalizzati rispetto al basale) ottenuti dall'analisi delle EPC tra i gruppi AMAB T0, AMAB T3 e AMAB T6. AMAB = Assegnato maschio alla nascita; T0 = Misurazione prima della GAHT; T3 = Misurazione dopo 3 mesi di GAHT; T6 = Misurazione dopo 6 mesi di GAHT; SD = Deviazione standard.

| | Controllo | N | Media ± SD [dato normalizzato] | p value [p normalizzato] |
|---------------------------|-----------|----|---|------------------------------|
| CD34+ | T0 | 14 | 2.992,36 ± 1.512,30 [100 ± 0] | p (T0-T3) = 0,710 [0,410] |
| | T3 | 10 | 3.928,6 ± 2.782,21 [183,25 ± 197,22] | p (T0-T6) = 0,787 [0,999] |
| | T6 | 8 | 2.265,5 ± 1.523,36 [100,18 ± 102,09] | p (T3-T6) = 0,564 [0,473] |
| EPC | T0 | 14 | 623,64 ± 510,75 [100 ± 0] | p (T0-T3) = 0,828 [0,033] |
| | T3 | 10 | 564,8 ± 522,8 [774,53 ± 2.210,11] | p (T0-T6) = 0,277 [0,262] |
| | T6 | 8 | 308,5 ± 237,79 [477,98 ± 1.199,90] | p (T3-T6) = 0,409 [0,410] |
| %CD184+ su EPC | T0 | 14 | 18,43 ± 12,64 [100 ± 0] | p (T0-T3) = 0,597 [0,464] |
| | T3 | 11 | 15,58 ± 7,78 [131,22 ± 138,13] | p (T0-T6) = 0,209 [0,243] |
| | T6 | 8 | 25,9 ± 14,71 [153,32 ± 127,49] | p (T3-T6) = 0,099 [0,650] |

9.5. Correlazione di Pearson nel gruppo AFAB

9.5.1. Caratteristiche cliniche

Dall'analisi della correlazione di Pearson appare come vi sia una correlazione inversa significativa ($p < 0,01$) tra i livelli di SHBG ed i valori di peso e BMI. Il peso correla negativamente anche con i livelli di LH ($p < 0,05$).

Tabella 9.26: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati anagrafici del paziente AFAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|---------|--------|-----------------|--------|----------------|--------|
| Età | -0,046 | 0,069 | -0,035 | 0,012 | 0,026 |
| Peso | -0,032 | -0,413** | -0,066 | -0,190* | -0,092 |
| Altezza | 0,024 | -0,075 | -0,055 | -0,116 | -0,101 |
| BMI | -0,052 | -0,423** | -0,055 | -0,167 | -0,071 |

9.5.2. Esami endocrino-metabolici

Negli esami endocrino-metabolici nei pazienti AFAB si nota come il testosterone correla positivamente con i livelli di emoglobina ($p < 0,01$), ematocrito ($p < 0,01$), creatinina ($p < 0,05$), trigliceridi ($p < 0,01$), LH ($p < 0,01$) ed FSH ($p < 0,01$), mentre correla negativamente con i livelli di colesterolo HDL ($p < 0,01$) e SHBG ($p < 0,05$).

SHBG correla negativamente con i livelli di emoglobina ($p < 0,01$) ed ematocrito ($p < 0,01$), oltre che con colesterolo totale ($p < 0,01$), trigliceridi ($p < 0,05$) e colesterolo LDL ($p < 0,05$), mentre correla positivamente con colesterolo HDL ($p < 0,05$) ed estradiolo ($p < 0,01$).

L'estradiolo correla negativamente con l'ematocrito ($p < 0,05$) e positivamente con i livelli di LH ($p < 0,05$).

LH ed FSH, oltre a correlare con gli ormoni precedentemente citati, non sembra che correlino significativamente con gli altri parametri ematochimici (vedi tabella 9.27).

Tabella 9.27: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi degli esami endocrino-metabolici nel gruppo AFAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|--|-----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|
| Emoglobina (Hb) | 0,335** | -0,378** | -0,183 | 0,072 | 0,122 |
| Ematocrito (Hct) | 0,392** | -0,380** | -0,226* | 0,015 | 0,051 |
| Volume corpuscolare medio (MCV) | -0,082 | -0,013 | 0,001 | 0,011 | 0,119 |
| Contenuto medio di emoglobina (MCH) | -0,043 | -0,154 | -0,039 | 0,091 | 0,151 |
| Piastrine (PLT) | 0,008 | -0,300** | -0,147 | 0,010 | 0,019 |
| Creatinina | 0,228* | -0,194 | -0,133 | -0,024 | -0,044 |
| Colesterolo totale | 0,082 | -0,383** | -0,026 | 0,189 | 0,085 |
| Colesterolo HDL | -0,349** | 0,270* | 0,069 | 0,187 | 0,158 |
| Trigliceridi | 0,470** | -0,307* | -0,124 | -0,043 | 0,032 |
| Colesterolo LDL calcolato | 0,146 | -0,475** | -0,029 | 0,187 | 0,062 |
| Glicemia | 0,030 | 0,026 | -0,036 | -0,042 | -0,017 |
| AST | 0,110 | 0,162 | -0,059 | 0,073 | 0,050 |
| ALT | 0,170 | 0,019 | -0,092 | -0,025 | -0,035 |
| Testosterone totale | 1 | -0,256* | -0,146 | 0,328** | 0,355** |
| SHBG | -0,256* | 1 | 0,298** | 0,064 | 0,118 |
| Testosterone libero calcolato (cT) | 0,911** | -0,293** | -0,102 | 0,163 | 0,044 |
| Estradiolo (E2) | -0,146 | 0,298** | 1 | 0,191* | -0,149 |
| Ormone luteinizzante (LH) | 0,328** | 0,064 | 0,191* | 1 | 0,588** |
| Ormone follicolo stimolante (FSH) | 0,355** | 0,118 | -0,149 | 0,588** | 1 |

9.5.3. ROTEM

Dall'analisi ROTEM (tabella 9.28) si nota come il testosterone correli negativamente con EXTEM MCF ($p < 0,05$), INTEM MCF ($p < 0,05$) e FIBTEM MCF ($p < 0,05$), mentre SHBG correla negativamente con FIBTEM MCF ($p < 0,05$).

Tabella 9.28: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi ROTEM del paziente nel gruppo AFAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|-------------------|----------------|-----------------|-----------|-----------|------------|
| EXTEM CT | 0,154 | -0,158 | -0,033 | 0,142 | 0,169 |
| EXTEM CFT | -0,021 | 0,203 | -0,017 | 0,084 | 0,014 |
| EXTEM MCF | -0,198* | -0,209 | -0,045 | -0,059 | -0,017 |
| INTEM CT | -0,025 | -0,058 | -0,086 | 0,078 | 0,042 |
| INTEM CFT | 0,112 | 0,052 | -0,125 | 0,049 | 0,016 |
| INTEM MCF | -0,202* | -0,213 | -0,041 | -0,106 | -0,043 |
| FIBTEM MCF | -0,201* | -0,285** | 0,016 | -0,099 | -0,084 |

9.5.4. Multiplate®

Dall'analisi Multiplate® (tabella 9.29) si nota che il testosterone correla negativamente con ADP ($p < 0,01$) e l'LH correla negativamente con TRAP ($p < 0,05$).

Tabella 9.29: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi Multiplate® del paziente nel gruppo AFAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|-------------|-----------------|-------------|-----------|----------------|------------|
| ADP | -0,308** | -0,054 | 0,067 | -0,137 | -0,085 |
| ASPI | -0,125 | -0,139 | -0,007 | -0,090 | 0,028 |
| TRAP | -0,048 | -0,110 | -0,064 | -0,207* | -0,113 |

9.5.5. Eritropoiesi

Dei parametri marziali l'estradiolo correla positivamente con IGF-1 ($p < 0,01$) e LH correla positivamente con EPO ($p < 0,01$) (vedi tabella 9.30).

Tabella 9.30: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi del metabolismo del ferro del paziente nel gruppo AFAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|---|--------|--------|----------------|----------------|--------|
| Fe | 0,042 | -0,053 | -0,052 | 0,052 | 0,050 |
| Ferritina | 0,080 | -0,044 | 0,070 | -0,067 | -0,107 |
| Transferrina | 0,142 | -0,203 | -0,029 | 0,105 | 0,017 |
| Saturazione della transferrina (TSAT) | -0,026 | 0,008 | 0,143 | 0,166 | 0,108 |
| Recettore solubile della transferrina (sTfR) | -0,029 | 0,016 | 0,004 | -0,012 | -0,147 |
| PCR | -0,161 | 0,117 | -0,038 | -0,025 | -0,004 |
| IGF1 | 0,007 | -0,129 | 0,298** | 0,018 | -0,198 |
| EPO | 0,056 | 0,017 | 0,165 | 0,331** | 0,063 |

9.5.6. Eritrocitosi e Anemia

Dall'analisi di eritrocitosi ed anemia, sembra esserci una correlazione positiva tra SHBG ed anemia ($p < 0,01$) (vedi tabella 9.31).

Tabella 9.31: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi dell'eritrocitosi e dell'anemia del paziente nel gruppo AFAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|--|--------|----------------|--------|--------|--------|
| Eritrocitosi (Hb > 16 g/dl o Hct > 48%) | 0,098 | -0,119 | -0,131 | -0,030 | -0,012 |
| Anemia (Hb < 12 g/dl) | -0,145 | 0,325** | 0,083 | -0,088 | -0,046 |

9.5.7. Cellule progenitrici endoteliali

Dall'analisi delle EPC nel gruppo AFAB emerge una correlazione positiva tra FSH e cellule CD34+ ($p < 0,001$) e una correlazione negativa tra FSH e %CD184+ su EPC ($p < 0,05$) (vedi tabella 9.32).

Tabella 9.32: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi delle EPC del paziente nel gruppo AFAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|-----------------------|-------|--------|--------|--------|----------------|
| CD34+ | 0,149 | 0,100 | -0,042 | 0,169 | 0,340** |
| EPC | 0,168 | 0,154 | -0,046 | 0,115 | 0,126 |
| %CD184+ su EPC | 0,145 | -0,124 | -0,081 | -0,157 | -0,275* |

9.6. Correlazione di Pearson nel gruppo AMAB

9.6.1. Caratteristiche cliniche

Tra i parametri raccolti all'anamnesi fisiologica dei pazienti AMAB, sembra esserci una correlazione negativa tra i livelli di SHBG ed il BMI ($p < 0,05$) (vedi tabella 9.34).

Tabella 9.34: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati anagrafici del paziente nel gruppo AMAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|----------------|--------|----------------|--------|--------|-------|
| Età | -0,079 | 0,413** | 0,029 | 0,160 | 0,188 |
| Peso | -0,152 | -0,209 | -0,114 | -0,022 | 0,024 |
| Altezza | 0,099 | 0,156 | -0,132 | 0,134 | 0,032 |
| BMI | -0,198 | -0,270* | -0,088 | -0,072 | 0,017 |

9.6.2. Esami endocrino-metabolici

Negli esami endocrino-metabolici nei pazienti AMAB, come si nota nella tabella 9.35, il testosterone correla positivamente con i livelli di emoglobina ($p < 0,01$) ed ematocrito ($p < 0,01$). Correla positivamente anche con AST ($p < 0,01$), SHBG ($p < 0,01$), LH ($p < 0,01$) ed FSH ($p < 0,01$), mentre correla negativamente con l'estradiolo ($p < 0,01$).

SHBG correla positivamente con LH ($p < 0,01$) ed FSH ($p < 0,01$) e negativamente con i valori di creatinina ($p < 0,01$).

L'estradiolo correla negativamente con creatinina ($p < 0,01$), LH ($p < 0,05$) ed FSH ($p < 0,05$).

LH ed FSH correlano entrambi positivamente con emoglobina ($p < 0,01$) ed ematocrito ($p < 0,01$). Inoltre, l'LH correla positivamente con l'FSH ($p < 0,01$), mentre l'FSH correla positivamente anche con colesterolo totale ($p < 0,05$) e AST ($p < 0,01$).

Tabella 9.35: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi degli esami endocrino-metabolici nel gruppo AMAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|--|----------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|
| Emoglobina (Hb) | 0,410** | -0,066 | -0,069 | 0,292** | 0,323** |
| Ematocrito (Hct) | 0,470** | -0,033 | -0,136 | 0,349** | 0,372** |
| Volume corpuscolare medio (MCV) | -0,154 | -0,035 | 0,118 | -0,149 | -0,029 |
| Contenuto medio di emoglobina (MCH) | -0,233* | -0,106 | 0,159 | -0,227* | -0,112 |
| Piastrine (PLT) | -0,064 | -0,244 | -0,046 | -0,059 | -0,207 |
| Creatinina | 0,156 | -0,446** | -0,305** | 0,005 | 0,191 |
| Colesterolo totale | 0,261 | -0,145 | -0,172 | 0,087 | 0,332* |
| Colesterolo HDL | 0,307 | -0,028 | 0,008 | -0,030 | -0,045 |
| Trigliceridi | 0,009 | -0,103 | 0,034 | 0,124 | 0,232 |
| Colesterolo LDL calcolato | 0,055 | -0,121 | -0,163 | -0,013 | 0,304 |
| Glicemia | 0,077 | 0,282 | 0,171 | 0,073 | 0,227 |

| | | | | | |
|--|-----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| AST | 0,339** | -0,017 | -0,076 | 0,197 | 0,323** |
| ALT | -0,023 | -0,249 | 0,044 | 0,105 | 0,157 |
| Testosterone totale | 1 | 0,376** | -0,340** | 0,776** | 0,605** |
| SHBG | 0,376** | 1 | 0,140 | 0,542** | 0,364** |
| Testosterone libero calcolato (cFT) | 0,948** | 0,129 | -0,548** | 0,694** | 0,518** |
| Estradiolo (E2) | -0,340** | 0,140 | 1 | -0,247* | -0,256* |
| Ormone luteinizzante (LH) | 0,776** | 0,542** | -0,247* | 1 | 0,682** |
| Ormone follicolo stimolante (FSH) | 0,605** | 0,364** | -0,256* | 0,682** | 1 |

9.6.3. ROTEM

Alle analisi ROTEM si nota come il testosterone correli negativamente con EXTEM MCF ($p < 0,01$), INTEM MCF ($p < 0,05$) e FIBTEM MCF ($p < 0,05$) e positivamente con INTEM CFT ($p < 0,05$).

SHBG correla negativamente sia con EXTEM MCF ($p < 0,05$) che con INTEM MCF ($p < 0,05$), mentre FSH correla negativamente con FIBTEM MCF ($p < 0,05$) (VEDI TABELLA 9.36).

Tabella 9.36: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi ROTEM del paziente nel gruppo AMAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|-------------------|-----------------|----------------|-----------|-----------|----------------|
| EXTEM CT | -0,066 | -0,131 | -0,035 | -0,091 | -0,054 |
| EXTEM CFT | 0,250* | 0,252 | 0,087 | 0,156 | 0,116 |
| EXTEM MCF | -0,304** | -0,335* | -0,023 | -0,190 | -0,170 |
| INTEM CT | 0,134 | -0,032 | 0,129 | 0,019 | 0,004 |
| INTEM CFT | 0,268* | 0,141 | 0,053 | 0,160 | 0,140 |
| INTEM MCF | -0,294* | -0,321* | -0,060 | -0,226 | -0,201 |
| FIBTEM MCF | -0,272* | -0,152 | 0,075 | -0,157 | -0,263* |

9.6.4. Multiplate®

Dall'analisi Multiplate®, come rappresentato in tabella 9.37, il testosterone correla negativamente con TRAP ($p < 0,05$), SHBG correla negativamente con ASPI ($p < 0,05$), LH correla negativamente con ASPI ($p < 0,05$) ed infine FSH correla negativamente con ASPI ($p < 0,05$) e TRAP ($p < 0,05$).

Tabella 9.37: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi Multiplate® del paziente nel gruppo AMAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|------|----------------|----------------|--------|----------------|----------------|
| ADP | 0,152 | 0,021 | -0,112 | 0,020 | -0,018 |
| ASPI | -0,230 | -0,343* | -0,099 | -0,239* | -0,248* |
| TRAP | -0,238* | -0,181 | -0,054 | -0,214 | -0,256* |

9.6.5. Eritropoiesi

Agli esami marziali la tabella 9.38 mostra come vi sia una correlazione indiretta tra testosterone e ferritina ($p < 0,05$) e diretta tra testosterone e transferrina ($p < 0,05$). Inoltre, SHBG correla negativamente con IGF-1 ($p < 0,05$) e LH correla positivamente con PCR ($p < 0,05$).

Tabella 9.38: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi del metabolismo del ferro del paziente nel gruppo AMAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|---------------------------------------|----------------|--------|--------|--------|--------|
| Fe | -0,201 | 0,053 | 0,088 | -0,195 | -0,155 |
| Ferritina | -0,272* | 0,250 | -0,009 | 0,040 | -0,026 |
| Transferrina | 0,305* | -0,153 | 0,049 | -0,066 | 0,070 |
| Saturazione della transferrina (TSAT) | -0,279 | 0,182 | 0,249 | -0,123 | -0,156 |

| | | | | | |
|---|--------|----------------|--------|---------------|--------|
| Recettore solubile della transferrina (sTfR) | 0,266 | -0,179 | -0,046 | 0,000 | 0,275 |
| PCR | 0,094 | -0,108 | 0,014 | 0,327* | 0,203 |
| IGF1 | -0,038 | -0,380* | -0,010 | -0,205 | -0,198 |
| EPO | 0,053 | 0,022 | 0,055 | 0,163 | 0,022 |

9.6.6. Eritrocitosi

Valutando il quadro di eritrocitosi si è notata una correlazione positiva con i livelli di testosterone ($p < 0,01$), LH ($p < 0,01$) ed FSH ($p < 0,01$), mentre non sembrano esserci correlazioni statisticamente significative tra l'anemia e i parametri ormonali. Tuttavia, si è notata una correlazione positiva tra fumo e anemia (correlazione di Pearson 0,224; $p < 0,05$) nel gruppo AMAB.

Tabella 9.39: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi dell'eritrocitosi e dell'anemia del paziente nel gruppo AMAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|--|----------------|-------------|-----------|----------------|----------------|
| Eritrocitosi (Hb > 16 g/dl o Hct > 48%) | 0,430** | 0,006 | -0,188 | 0,355** | 0,393** |
| Anemia (Hb < 12 g/dl) | 0,141 | 0,059 | -0,050 | 0,088 | -0,036 |

9.6.7. EPC

Per quanto riguarda le EPC, si nota una correlazione negativa tra SHBG e cellule CD34+ ($p < 0,01$) (vedi tabella 9.40).

Tabella 9.40: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi delle EPC del paziente nel gruppo AMAB. T = Testosterone; SHBG = Sex Hormone Binding Globulin; E2 = Estradiolo; LH = Ormone luteinizzante; FSH = Ormone follicolo stimolante. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

| | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|----------------------|--------|-----------------|--------|--------|--------|
| CD34+ | -0,144 | -0,590** | -0,162 | -0,023 | 0,057 |
| EPC | 0,168 | -0,390 | -0,138 | 0,257 | 0,289 |
| CD184+ su EPC | -0,032 | -0,166 | 0,258 | -0,182 | -0,147 |

10. DISCUSSIONE

Nel corso di due anni, da dicembre 2022 a settembre 2024, sono stati arruolati 102 pazienti transgender che si sono recati presso l'ambulatorio endocrinologico per l'incongruenza di genere, all'interno dell'UOC di Andrologia e Medicina della Riproduzione. Tutti i pazienti che hanno aderito volontariamente allo studio non erano mai stati sottoposti in passato a terapia ormonale di affermazione di genere. Raccogliendo i dati anamnestici e antropometrici, ematochimici e coagulativi e analizzando le cellule progenitrici endoteliali al basale e ai vari controlli di follow-up è stato possibile analizzare e confrontare tali valori in modo da fornire un quadro più chiaro su come la GAHT in queste persone influisse sui parametri emo-coagulativi.

10.1. *Campione al basale*

10.1.1. *Dati anamnestici*

Le differenze ottenute dall'analisi dei dati anamnestici raccolti al basale mostrano come la media di età dei pazienti afferenti presso l'UOC di Andrologia e Medicina della Riproduzione sia di $24,12 \pm 8,55$ anni, confermando come sia più comune vedere pazienti giovani che vogliono intraprendere questo percorso [185].

In media le persone AMAB presentano un peso ed un'altezza maggiori rispetto alla controparte AFAB, in linea con i dati della popolazione generale, mentre non si sono notate differenze statisticamente significative per quanto riguarda il BMI.

10.1.2. *Esami endocrino-metabolici*

Gli esami ematochimici al basale presentano differenze significative tra AMAB e AFAB sovrapponibili a ciò che ci si aspetterebbe anche nella popolazione cisgender. In particolare, si notano livelli più elevati di emoglobina, ematocrito, creatinina, AST e ALT nella popolazione AMAB. Inoltre, in quest'ultima abbiamo notato una diminuzione dei casi di dislipidemia, passando da 9 casi a T0 a un solo caso a T6 ($p < 0,001$).

Riguardo il profilo ormonale, le persone AMAB presentano livelli di testosterone più alti, mentre per gli estrogeni sono le persone AFAB a presentare livelli più elevati. Nel gruppo AFAB si nota anche un incremento dei valori di SHBG, in linea con le aspettative [186].

Per quanto riguarda, infine, i livelli di FSH ed LH si sono notate differenze significative solo per quest'ultimo valore, che risulta più elevato fra gli AFAB. Tuttavia, va notata anche l'ampia variabilità di questi due valori nel gruppo AFAB, imputabile probabilmente alle diverse fasi del ciclo ovarico in cui sono stati effettuati i prelievi.

10.1.3. Coagulazione

Le analisi dei risultati ottenuti dallo screening coagulativo, inclusi ROTEM e Multiplate®, suggerisce una maggiore tendenza all'iper-coagulabilità nel gruppo AFAB al basale. Questo viene confermato dai livelli significativamente più elevati di fattore VIII e fibrinogeno, entrambi stimolati dagli estrogeni [126]. Inoltre, in linea con quanto osservato nella popolazione generale, il gruppo AFAB mostra livelli più bassi di fattori anticoagulanti (proteina C e proteina S), ridotti dagli estrogeni circolanti [187].

L'analisi ROTEM ha ulteriormente confermato questa tendenza all'iper-coagulabilità negli AFAB, evidenziando una riduzione significativa nei livelli di EXTEM CT ($p = 0,020$) e un aumento nei valori di EXTEM MCF ($p < 0,001$), INTEM MCF ($p < 0,001$) e FIBTEM MCF ($p = 0,006$).

Infine, anche l'analisi Multiplate® ha rilevato una maggiore aggregazione piastrinica nel gruppo AFAB rispetto al gruppo AMAB.

Riguardo le mutazioni trombofiliche predisponenti la TVP non sono state riscontrate differenze significative circa il fattore V di Leiden (4 casi tra gli AFAB e 1 caso tra le AMAB) o la mutazione G20210A della protrombina (nessun caso tra gli AFAB e 3 casi tra le AMAB), in linea con la letteratura sulle differenze di genere nella popolazione generale [191].

Analizzando il profilo marziale dei due gruppi al basale, si nota una differenza significativa nei livelli di ferro e nelle sue riserve. In particolare, il gruppo AMAB presenta livelli di sideremia più elevati, come anche di ferritina e saturazione della transferrina. La riduzione delle riserve di ferro nel gruppo AFAB è principalmente attribuibile al ciclo mestruale che mensilmente comporta una perdita di emoglobina.

Il gruppo AFAB mostra livelli più elevati di recettore solubile della transferrina ed EPO rispetto alla controparte AMAB. Questo aumento di EPO potrebbe essere spiegato dalla

necessità del corpo di compensare le perdite ematiche, attraverso la formazione di nuovi eritrociti. Al contrario, nei soggetti AMAB, i livelli di EPO risultano inferiori al controllo basale, probabilmente a causa della presenza di livelli più elevati di emoglobina ed ematocrito che ne inibiscono la produzione renale.

Riguardo le mutazioni del gene HFE nel gruppo AFAB abbiamo osservato 10 mutazioni (28,6%) di cui 7 mutazioni H63D in eterozigosi, 2 mutazioni C282Y in eterozigosi e 1 doppia eterozigosi (H63D + C282Y). Nel gruppo AMAB, invece, abbiamo notato 8 mutazioni del gene HFE (32%) di cui 6 mutazioni H63D in eterozigosi, 1 mutazione H63D in omozigosi e 1 mutazione C282Y in eterozigosi. Andando però a confrontare i dati, non sono state evidenziate differenze statisticamente significative tra i due gruppi.

10.1.4. Eritrocitosi e Anemia

In linea con le aspettative, il gruppo AMAB al basale presenta più frequentemente eritrocitosi ($p < 0,001$), dovuta allo stimolo da parte del testosterone sulla produzione di eritrociti [87, 93-98, 102-104].

Allo stesso modo, coerentemente con le previsioni, il gruppo AMAB al basale presenta più frequentemente anemia ($p = 0,028$).

10.1.5. Cellule progenitrici endoteliali

Non sono emerse evidenze statisticamente significative riguardo le EPC. Solitamente i livelli di EPC sono più elevati nella popolazione femminile, grazie alla stimolazione da parte degli estrogeni sulla produzione di ossido nitrico a livello dell'endotelio vascolare. Ciò riduce i livelli di radicali liberi, promuovendo la proliferazione di nuove cellule CD34+ e portando ad un incremento delle EPC circolanti [165]. Tuttavia, questo risultato potrebbe essere imputabile alla dimensione limitata del campione analizzato.

10.2. Confronto a T3 e a T6

10.2.1. Dati anamnestici

Valutando l'andamento del peso, e di conseguenza del BMI, ai vari follow-up non si sono notate differenze significative né nel gruppo AFAB né nel gruppo AMAB.

Verosimilmente, 6 mesi di terapia non sono sufficienti per determinare netti cambiamenti della composizione corporea dell'individuo [10].

10.2.2. *Esami endocrino-metabolici*

Al controllo a T3 e T6 gli esami ematochimici ed ormonali di entrambi i gruppi hanno mostrato notevoli cambiamenti in linea con le nostre aspettative.

Come atteso, nelle persone AFAB, i livelli di testosterone totale e testosterone libero calcolato aumentano significativamente ($p < 0,001$) in corso di terapia androgenica, parallelamente ad una riduzione dei livelli di SHBG ($p < 0,001$). Per quanto concerne estrogeni e gonadotropine, si nota un loro decremento, ma non significativo. Questo potrebbe ricondursi al fatto che nel primo anno di terapia ormonale si tende a prescrivere dosaggi di testosterone lievemente più bassi per poi incrementarli, quando necessario, nei successivi follow-up. Ciò permette al clinico di monitorare più precisamente l'efficacia della GAHT, modulandola secondo le specifiche del paziente. Tuttavia, essendo i primi dosaggi in media lievemente più bassi, l'effetto inibitorio del testosterone sulle gonadotropine e sull'estrogeno è meno marcato.

Nel gruppo AFAB, degno di nota è il significativo incremento di emoglobina ($p < 0,001$) ed ematocrito ($p < 0,001$). Tale aumento era correlato con i livelli di testosterone, a conferma di una forma di eritrocitosi secondaria al trattamento con androgeni (p di Pearson $< 0,001$) [76]. Anche la creatinina vede un progressivo incremento durante i 6 mesi di GAHT ($p = 0,003$), compatibile con un aumento della massa muscolare in corso di terapia con testosterone [192]. La terapia ormonale mascolinizante ha avuto un impatto negativo sul profilo lipidico con aumento di trigliceridi ($p < 0,001$), riduzione del colesterolo HDL ($p = 0,006$) e conseguente aumento del colesterolo LDL calcolato ($p = 0,014$) [193].

Conformemente alle previsioni, nel gruppo AMAB il quadro ormonale risulta nettamente cambiato grazie alla terapia con estrogeni e antiandrogeni: si nota un significativo aumento dei livelli di estrogeni ($p < 0,001$), parallelamente a una significativa riduzione dei livelli di testosterone totale ($p < 0,001$) e testosterone libero calcolato ($p < 0,001$), a comprova dell'efficacia dell'antiandrogeno co-somministrato. I livelli di SHBG non vengono significativamente intaccati, mentre, per quanto riguarda le gonadotropine, si

nota una riduzione di LH e FSH, seppur non statisticamente significativa. Nel gruppo AMAB, contrariamente agli AFAB, la soppressione del testosterone determina una riduzione significativa dei livelli di emoglobina (passando da $15,33 \pm 0,99$ g/dl a T0 a $14,32 \pm 1,00$ g/dl a T6) ed ematocrito (passando da $45,74 \pm 2,86\%$ a T0 a $42,58 \pm 2,84\%$ a T6). Diversamente dagli AFAB, nel gruppo AMAB non si sono notate differenze significative sui livelli di creatinina e nel profilo lipidico, mentre si è notata una diminuzione della glicemia a 6 mesi ($p = 0,031$) e dei livelli di AST ($p = 0,033$). Tuttavia, la prevalenza di dislipidemia nella popolazione AMAB si è significativamente ridotta dopo 6 mesi di trattamento ormonale. Una revisione sistematica della letteratura ha sottolineato l'effetto ipocolesterolemizzante della terapia estrogenica, mentre i dati sono contrastanti riguardo ai livelli di trigliceridi [193-194].

10.2.3. Coagulazione

Valutando a follow-up i pazienti AFAB in GAHT con testosterone si è notato come alle analisi ROTEM vi sia un decremento significativo dei valori di EXTEM MCF, INTEM MCF e FIBTEM MCF (p di Pearson $< 0,05$), suggerendo una riduzione dell'ipercoagulabilità indotta dagli estrogeni. Inoltre, l'analisi Multiplate® ha visualizzato una diminuzione dei valori di ADP, suggerendo una riduzione della aggregazione piastrinica. È interessante notare che nelle donne cisgender è stata documentata una maggiore aggregazione piastrinica e una minore efficacia delle terapie antiaggreganti [135, 195].

Al contrario, nel gruppo AMAB abbiamo riscontrato un aumento dei parametri ASPI e TRAP all'analisi Multiplate®, il che fa supporre che vi sia una maggiore aggregazione piastrinica in queste pazienti dopo 6 mesi di terapia femminilizzante.

10.2.4. Eritropoiesi

Nel gruppo AFAB non si sono notate differenze statisticamente significative tra i parametri del metabolismo del ferro. Abbiamo notato solo una riduzione dei livelli di PCR a T6 ($p = 0,005$). Tra i diversi meccanismi cardio-protettivi degli estrogeni, alcuni studi hanno infatti evidenziato un effetto antinfiammatorio, coerentemente con quanto trovato nei pazienti AMAB [196].

Il profilo marziale del gruppo AMAB in follow-up vede, invece, un picco di incremento di sideremia a 3 mesi di GAHT ($p = 0,018$) che successivamente tende a tornare a livelli basali, oltre che ad un analogo trend nei livelli di TSAT ($p = 0,011$). Questi due risultati potrebbero essere attribuiti all'effetto degli estrogeni sul metabolismo del ferro, che potrebbero aver ridotto la produzione di epcidina, favorendo un maggiore assorbimento intestinale del ferro ed il suo accumulo nelle riserve [188]. Per quanto riguarda transferrina e recettore solubile della transferrina, entrambi sono soggetti a una progressiva diminuzione che, tuttavia, non risulta significativa. Questa riduzione potrebbe indicare una minore necessità di trasporto del ferro nel sangue, verosimilmente legata alla maggiore disponibilità di ferro precedentemente notata. Inoltre, il calo di sTfR, considerato un marker di attività eritropoietica, potrebbe suggerire che, secondariamente all'aumento del ferro circolante, l'organismo non necessita di stimolare ulteriormente l'eritropoiesi. Tale circostanza avrebbe un potenziale effetto additivo sulla riduzione dell'eritropoiesi determinata dalla soppressione del testosterone da parte dell'antiandrogeno.

10.2.5. *Eritrocitosi e Anemia*

Valutando i pazienti AFAB in terapia mascolinizante si è notato un aumento dei casi di eritrocitosi tra i vari follow-up con una prevalenza del 28%. Questo dato, in linea con la letteratura, avvalorava quanto detto riguardo l'effetto del testosterone sulla stimolazione della produzione di globuli rossi, incrementando sia i livelli di emoglobina che di ematocrito [87, 93-98, 102-104].

Valutando, invece, i pazienti AMAB in terapia femminilizzante si è notata una netta riduzione dei quadri di eritrocitosi. Dei 14 casi riscontrati a T0, dopo 6 mesi di GAHT nessun paziente presentava policitemia ($p < 0,001$). Questo è verosimilmente imputabile all'effetto dell'antiandrogeno somministrato assieme all'estrogeno, il quale, sopprimendo i livelli di testosterone circolante, previene il suo stimolo eritropoietico. Tuttavia, il rischio di anemia, non riportato nelle attuali linee guida, potrebbe rappresentare una problematica clinica rilevante, soprattutto in pazienti con livelli basali di emoglobina verso il limite inferiore della norma. Risulta, quindi, fondamentale monitorare regolarmente l'emocromo anche in questo gruppo di individui.

10.2.6. *Cellule progenitrici endoteliali*

Le cellule staminali CD34+ presenti a livello midollare esprimono sia il recettore androgenico che il recettore estrogenico. La modulazione di queste cellule in risposta alla terapia ormonale è stata oggetto di studio, in particolare per quanto riguarda l'aumento delle EPC conseguente alla GAHT. Questo fenomeno è in linea con quanto riportato in letteratura circa l'utilizzo del testosterone come TRT negli uomini cisgender ipogonadici e degli estrogeni nelle donne in età fertile rispetto a quelle in menopausa [166].

Gli estrogeni sembrano avere un ruolo rilevante nello stimolo delle EPC a livello midollare [165], come dimostrato dal fatto che le donne in età fertile presentano dei livelli più elevati di EPC circolanti rispetto alla controparte maschile. Nei soggetti AMAB in terapia con estrogeni si è osservato un aumento significativo delle EPC già dopo i primi 3 mesi di trattamento ($p = 0,033$). Tale incremento lo si può attribuire alla capacità degli estrogeni di stimolare la proliferazione delle EPC a livello midollare. Al controllo a T6, tale differenza perdeva di significatività, pur in presenza di un valore medio di staminali ematopoietiche superiore rispetto a T0. Questo riscontro potrebbe essere imputabile alla scarsa numerosità del campione a T6, che comporta un'elevata deviazione standard. Pertanto, è necessario raccogliere ulteriori dati per comprendere se questo aumento dei livelli di EPC circolanti dopo 3 mesi di terapia sia temporaneo, con successivo ritorno ai valori basali, oppure se vi sia una tendenza a mantenersi elevate nel tempo.

Per quanto concerne il testosterone, il suo effetto sulle EPC potrebbe ricondursi anche alla sua conversione in estrogeni mediante aromatizzazione. Infatti, alcuni studi affermano che negli uomini cisgender in TRT si assiste ad un incremento dei livelli di EPC circolanti. Tuttavia, nel nostro studio la popolazione di partenza era costituita da soggetti AFAB, i quali non presentavano ipogonadismo e manifestavano un pool fisiologico di EPC. In questi soggetti non è stato riscontrato una modificazione significativa dei livelli di staminali ematopoietiche circolanti, le quali sono rimaste stabili nel tempo. Questo potrebbe essere spiegato dal fatto che la GAHT con testosterone in questi pazienti garantisce dei livelli di androgeni che vengono mantenuti nel range fisiologico maschile con valori di estrogeni non soppressi. Pertanto, l'attività residua delle gonadi e l'aromatizzazione periferica del testosterone potrebbero fornire dei livelli circolanti di estrogeni sufficienti ad evitare una riduzione significativa delle EPC

circolanti. Nel gruppo AFAB l'analisi delle EPC ai vari follow-up ha mostrato esclusivamente un aumento a 3 mesi della %CD184 su EPC ($p = 0,027$). CD184 è un marker di mobilitazione e attivazione cellulare nelle EPC associato a neoangiogenesi [153, 189]. Inoltre, i soggetti AFAB in trattamento con testosterone tendono a sperimentare un aumento della massa muscolare [190]. A sostegno di ciò, tale aumento potrebbe essere indirettamente spiegato anche dall'incremento dei livelli di creatinina riscontrati nel gruppo AFAB ai diversi follow-up. Si potrebbe ipotizzare che la maggiore mobilitazione delle EPC osservata sia una risposta funzionale a questa crescente richiesta metabolica, facilitando la formazione di nuovi vasi sanguigni necessari per vascolarizzare le nuove fibre muscolari generate durante il trattamento. Alla luce dei nostri dati, possiamo al momento concludere che la terapia a base di testosterone sembra sicura in questi pazienti in termini di mantenimento di EPC circolanti, non influenzando sull'aumento del rischio cardiovascolare.

11. CONCLUSIONI

I risultati ottenuti finora da questo studio hanno evidenziato come i dati al basale di coagulazione, eritrocitosi ed EPC del nostro campione siano sovrapponibili a quelli riportati in letteratura riguardo la popolazione cisgender.

Al controllo a 3 e 6 mesi dall'inizio della GAHT abbiamo notato una minore tendenza all'ipercoagulabilità e all'aggregazione piastrinica nel gruppo AFAB in terapia con testosterone. Agli esami ematochimici, negli stessi soggetti, è stato riscontrato un aumento di emoglobina ed ematocrito che ha determinato un incremento dei casi di eritrocitosi. Tale dato suggerisce la necessità di un attento e costante monitoraggio di questi parametri durante il trattamento con androgeni al fine di modulare il loro dosaggio ed evitare i possibili effetti collaterali. Parallelamente, nel gruppo di persone AMAB, si è assistito ad una riduzione dei livelli di emoglobina ed ematocrito e, conseguentemente, un aumento dei casi di anemia. Le EPC non hanno mostrato differenze significative al basale; tuttavia, nel corso della GAHT si è osservato un aumento dei livelli di EPC circolanti nel gruppo AMAB, verosimilmente legato alla somministrazione di estrogeni e alla soppressione androgenica, in linea la letteratura riguardante la popolazione cisgender.

La prosecuzione dello studio prevede l'arruolamento di nuovi pazienti al fine di ampliare il campione e la prosecuzione delle indagini fino a 12 e 24 mesi dall'inizio della GAHT al fine di consolidare i risultati ottenuti finora e di valutare la comparsa di altri effetti della terapia a più lungo termine.

12. BIBLIOGRAFIA

- [1] INFOTRANS. "Glossario Transgender." INFOTRANS, . Accessed July 21st, 2024.
- [2] World Health Organization. (2024). ICD-11: Gender incongruence. International Classification of Diseases (ICD). Accessed on August 2024
- [3] American Psychiatric Association. (n.d.). Gender dysphoria. Retrieved August 16, 2024, from . Accessed on August 2024.
- [4] MSD Manual. "Incongruenza di genere e disforia di genere." MSD Manuale, versione per i professionisti, . Accessed 21 July 2024.
- [5] INFOTRANS. (n.d.). Transgender person. Italian National Institute of Health. Retrieved August 17, 2024, from
- [6] Miscioscia, M., Rigo, P., Spandri, M., Cerantola, D., & Simonelli, A. (2020). La disforia di genere in età evolutiva: questioni diagnostiche e aspetti relazionali. Una rassegna narrativa della letteratura. *Giornale Italiano di Psicologia*, 47(1), 231-262.
- [7] Simons, L. K., Leibowitz, S. F., & Hidalgo, M. A. (2014). Understanding gender variance in children and adolescents. *Pediatric Annals*, 43(6), e126–e131.
- [8] De Cuypere G, Van Hemelrijck M, Michel A, et al. Prevalence and demography of transsexualism in Belgium. *Eur Psychiatry* .
- [9] Società Italiana di Andrologia e Medicina della Sessualità (SIAMS). (n.d.). Epidemiologia e inquadramento diagnostico e psicoterapeutico. SIAMS Wiki. Retrieved August 18, 2024, from
- [10] E. Coleman et al., «Standard of care for the Health of the transgender and gender diverse people, Version 8,» *International Journal of Transgender Helth*, vol. 23, n. 1, pp. S1-S259, 2022.
- [11] Witcomb, G. L., Bouman, W. P., Claes, L., Brewin, N., Crawford, J. R., & Arcelus, J. (2018). Levels of depression in transgender people and its predictors: Results of a large matched control study with transgender people accessing clinical services. *Journal of Affective Disorders*, 235, 308-315.
- [12] Bouman, W. P., Claes, L., Brewin, N., Crawford, J. R., Millet, N., Fernández-Aranda, F., & Schmidt, H. (2016). Transgender and anxiety: A comparative study between transgender people and the general population. *International Journal of Transgenderism*, 17(1), 16-26.
- [13] Heylens, G., Elaut, E., Kreukels, B. P. C., Paap, M. C. S., Cerwenka, S., Richter-Appelt, H., Cohen-Kettenis, P. T., Haraldsen, I. R., & De Cuypere, G. (2014). Psychiatric characteristics in transsexual individuals: Multicentre study in four European countries. *British Journal of Psychiatry*, 204(2), 151–156.
- [14] Arcelus, J., Claes, L., Witcomb, G. L., Marshall, E., & Bouman, W. P. (2016). Risk factors for non-suicidal self-injury among trans youth. *Journal of Sexual Medicine*, 13(3), 402–412.

- [15] Marconi E, Monti L, Marfoli A, et al. A systematic review on gender dysphoria in adolescents and young adults: focus on suicidal and self-harming ideation and behaviours. *Child Adolesc Psychiatry Ment Health*. 2023;17(1):110.
- [16] Skagerberg E, Parkinson R, Carmichael P. Self-harming thoughts and behaviors in a group of children and adolescents with gender dysphoria. *Int J of Transg*. 2013;14:86–92.
- [17] David LW, Stenberg N, Diseth TH, et al. Autistic Characteristics in a Nationally Representative Clinical Sample of Adolescents Seeking Medical Gender-Affirming Treatment in Norway. *J Autism Dev Disord*. Published online December 6, 2023. <https://doi.org/10.1007/s10803-023-06181-6>.
- [18] MSD Manual. "Incongruenza di genere e disforia di genere." MSD Manuale, versione per i professionisti, .
- [19] Hembree, W. C., Cohen-Kettenis, P., Delemarre-van de Waal, H. A., Gooren, L. J., Meyer, W. J., Spack, N. P., Tangpricha, V., & Montori, V. M. (2009). Endocrine treatment of transsexual persons: An Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(9), 3132-3154.
- [20] E. Coleman et al., «Standard of care for the Health of the transgender and gender diverse people, Version 8,» *International Journal of Transgender Health*, vol. 23, n. 1, pp. S1-S259, 2022
- [21] de Vries, A. L. C., McGuire, J. K., Steensma, T. D., Wagenaar, E. C. F., Doreleijers, T. A. H., & Cohen-Kettenis, P. T. (2014). Young adult psychological outcome after puberty suppression and gender reassignment. *Pediatrics*, 134(4), 696–704.
- [22] Ortmann, O., Weiss, J. M., & Diedrich, K. (2012). Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and GnRH agonists: mechanisms of action. *Reproductive BioMedicine Online*, 24(2), 233-240.
- [23] Calcaterra et al. (2024). Adolescent gender dysphoria management: position paper from the Italian Academy of Pediatrics, the Italian Society of Pediatrics, the Italian Society for Pediatric Endocrinology and Diabetes, the Italian Society of Adolescent Medicine and the Italian Society of Child and Adolescent Neuropsychiatry. *the Italian Journal of Pediatrics/Italian Journal of Pediatrics*, 50(1).
- [24] Mahfouda S, Moore JK, Siafarikas A, Zepf FD, Lin A. Puberty suppression in transgender children and adolescents. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017;5(10):816–26.
- [25] Steensma, T. D., & Cohen-Kettenis, P. T. (2011). Gender transitioning before puberty? *Archives of Sexual Behavior*, 40(4), 649–650.
- [26] Waal, H. A. D., & Cohen-Kettenis, P. T. (2006). Clinical management of gender identity disorder in adolescents: A protocol on psychological and paediatric endocrinology aspects. *European Journal of Endocrinology*, 155(1), S131–S137.
- [27] Emmanuel, M., & Bokor, B. R. (2022). Tanner Stages. In *StatPearls* (December 11, 2022 ed.). StatPearls Publishing. Available at:

- [28] Schagen, S. E. E., Cohen-Kettenis, P. T., Delemarre-van de Waal, H. A., & Hannema, S. E. (2016). Efficacy and safety of gonadotropin-releasing hormone agonist treatment to suppress puberty in gender dysphoric adolescents. *The Journal of Sexual Medicine*, 13(7), 1125-1132.
- [29] Blakemore SJ, Burnett S, Dahl RE. The role of puberty in the developing adolescent brain. *Hum Brain Mapp*. 2010;31(6):926–33.
- [30] Goddings AL, Mills KL, Clasen LS, Giedd JN, Viner RM, Blakemore SJ. The influence of puberty on subcortical brain development. *Neuroimage*. 2014;88:242–51.
- [31] Staphorsius AS, Kreukels BP, Cohen-Kettenis PT, et al. Puberty suppression and executive functioning: an fMRI-study in adolescents with gender dysphoria. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;56:190–9.
- [32] Klink D, Caris M, Heijboer A, van Trotsenburg M, Rotteveel J. Bone mass in young adulthood following gonadotropin-releasing hormone analog treatment and cross-sex hormone treatment in adolescents with gender dysphoria. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(2):E270-5
- [33] Italian National Institute of Health (ISS). Infotrans. <https://www.infotrans.it/en-home> Accessed on August, 17, 2024.
- [34] Cocchetti, C., Ristori, J., Romani, A., Maggi, M., & Fisher, A. D. (2020). Hormonal treatment strategies tailored to non-binary transgender individuals. *Journal of Clinical Medicine*, 9(6), 1609.
- [35] Società Italiana Genere, Identità e Salute. (n.d.). SIGIS - Società Italiana Genere, Identità e Salute.
- [36] Poretsky, L., & Hembree, W. C. (Eds.). (2019). *Transgender medicine: A multidisciplinary approach*. Springer Nature Switzerland AG.
- [37] Velho, I., Figuera, T. M., Ziegelmann, P. K., & Spritzer, P. M. (2017). Effects of testosterone therapy on BMI, blood pressure, and laboratory profile of transgender men: A systematic review. *Andrology*, 5(5), 881-888.
- [38] Vita R, et al. Changes in hormonal and metabolic parameters in transgender subjects on cross-sex hormone therapy: a cohort study. *Maturitas*. 2018;107:92–6.
- [39] Johnsen, S. G., Kampmann, J. P., Bennett, E. P., & Jørgensen, F. S. (1976). Enzyme induction by oral testosterone. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 20(2), 233-237.
- [40] Wierckx K, et al. Cross-sex hormone therapy in trans persons is safe and effective at short-time follow-up: results from the European network for the investigation of gender incongruence. *J Sex Med*. 2014;11(8):1999–2011.
- [41] Fernandez JD, Tannock LR. Metabolic effects of hormone therapy in transgender patients. *Endocr Pract*. 2016;22(4):383–8.

- [42] Emmelot-Vonk MH, et al. Effect of testosterone supplementation on functional mobility, cognition, and other parameters in older men: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2008;299(1):39–52.
- [43] Gooren LJ, et al. Breast cancer development in transsexual subjects receiving cross-sex hormone treatment. *J Sex Med*. 2013;10(12):3129–34.
- [44] Gooren L, et al. Five new cases of breast cancer in transsexual persons. *Andrologia*. 2015;47 (10):1202–5.
- [45] Shao T, Grossbard ML, Klein P. Breast cancer in female-to-male transsexuals: two cases with a review of physiology and management. *Clin Breast Cancer*. 2011;11(6):417–9.
- [46] Book, A. S., Starzyk, K. B., & Quinsey, V. L. (2001). The relationship between testosterone and aggression: A meta-analysis. *Aggression and Violent Behavior*, 6(6), 579-599. [https://doi.org/10.1016/S1359-1789\(00\)00032-X](https://doi.org/10.1016/S1359-1789(00)00032-X)
- [47] Tangpricha V, den Heijer M. Oestrogen and anti-androgen therapy for transgender women. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017;5(4):291–300.
- [48] Canonico M, et al. Hormone replacement therapy and risk of venous thromboembolism in postmenopausal women: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2008;336(7655): 1227–31.
- [49] Banks, K., Kyinn, M., Leemaqz, S. Y., Sarkodie, E., Goldstein, D., & Irwig, M. S. (2021). Blood pressure effects of gender-affirming hormone therapy in transgender and gender-diverse adults. *Hypertension*, 77(6).
- [50] Serri O, et al. Lactotroph hyperplasia in an estrogen treated male-to-female transsexual patient. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(9):3177–9.
- [51] E. Coleman et al., «Standard of care for the Health of the transgender and gender diverse people, Version 8,» *International Journal of Transgender Helth*, vol. 23, n. 1, pp. S1-S259, 2022
- [52] J. Kaufman, J. Reginster, S. Boonen, M. Brandi, C. Cooper, W. Dere, J. Devogelaer, A. Diez-Perez, J. Kanis, E. McCloskey, B. Mitlak, E. Orwoll, J. Ringe, G. Weryha e R. Rizzoli, «Treatment of osteoporosis in men,» *Bone*, vol. 53, n. 1, pp. 134-144, 2013.
- [53] Corte Costituzionale. (2015, 5 novembre). *Sentenza n. 221*. [Decisione]. <https://www.cortecostituzionale.it/actionSchedaPronuncia.do?anno=2015&numero=221>. Accessed July 21st, 2024.
- [54] C. deBolk, A. Staphorsius, C. Wiepjes e e. al., «Frequency, determinants, and satisfaction of breast augmentation in trans woman receiving hormone treatment,» *Journal of Sexual Medicine*, vol. 17, n. 2, pp. 342-348, 2019.
- [55] Blossnich, J. R., Gordon, A. J., Fine, M. J., & Shipherd, J. C. (2013). Addressing the mental health and substance use disorders of lesbian, gay, bisexual, and transgender

veterans and active duty service members. *American Journal of Public Health*, 103(1), 27-38. doi:10.2105/AJPH.2013.301420

[56] Kauth, M. R., Shipherd, J. C., Lindsay, J., Blossnich, J. R., & Brown, G. R. (2014). Access to care for transgender veterans in the Veterans Health Administration: 2006-2013. *American Journal of Public Health*, 104(S4), S532-S534. doi:10.2105/AJPH.2014.302086

[57] Dragon, C. N., Guerino, P., Ewald, E., & Laffan, A. M. (2017). Transgender Medicare beneficiaries and chronic conditions: Exploring fee-for-service claims data. *LGBT Health*, 4(6), 404–411. <https://doi.org/10.1089/lgbt.2016.0208>.

[58] Ewald, E. R., Guerino, P., Dragon, C., Laffan, A. M., Goldstein, Z., & Streed, C. (2019). Identifying Medicare beneficiaries accessing transgender-related care in the era of ICD-10. *LGBT Health*, 6(4), 166–173. <https://doi.org/10.1089/lgbt.2018.0175>.

[59] Jasuja, G. K., de Groot, A., Quinn, E. K., Ameli, O., Hughto, J. M., Dunbar, M., Deutsch, M., Streed, C. G., Paasche-Orlos, M., Wolfe, H. L., & Rose, A. J. (2020). Beyond gender identity disorder diagnosis codes: An examination of additional methods to identify transgender individuals in administrative databases. *Medical Care*, 58(10), 903. <https://doi.org/10.1097/MLR.0000000000001362>.

[60] Quinn, V. P., Nash, R., Hunkeler, E., Contreras, R., Cromwell, L., Becerra-Culqui, T. A., Getahun, D., Giammattei, S., Lash, T. L., Millman, A., Robinson, B., Roblin, D., Silverberg, M. J., Slovis, J., Tangpricha, V., Tolsma, D., Valentine, C., Wads, K., Winter, S., & Goodman, M. (2017). Cohort profile: Study of Transition, Outcomes and Gender (STRONG) to assess health status of transgender people. *BMJ Open*, 7(12), e018121. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-018121>.

[61] Conron, K. J., Scott, G., Stowell, G. S., & Landers, S. J. (2012). Transgender health in Massachusetts: Results from a household probability sample of adults. *American Journal of Public Health*, 102(1), 118–122. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2011.300315>.

[62] Crissman, H. P., Berger, M. B., Graham, L. F., & Dalton, V. K. (2017). Transgender demographics: A household probability sample of US adults, 2014. *American Journal of Public Health*, 107(2), 213–215. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2016.303571>.

[63] Kuyper, L., & Wijzen, C. (2014). Gender identities and gender dysphoria in the Netherlands. *Archives of Sexual Behavior*, 43(2), 377–385. <https://doi.org/10.1007/s10508-013-0140-y>.

[64] Van Caenegem, E., Wierckx, K., Elaut, E., Buysse, A., Dewaele, A., Van Nieuwerburgh, F., ... & T'Sjoen, G. (2015). Prevalence of gender nonconformity in Flanders, Belgium. *Archives of Sexual Behavior*, 44(5), 1281-1287. doi:10.1007/s10508-014-0452-6

[65] Coffman, K. B., Coffman, L. C., & Ericson, K. M. (2016). The size of the LGBT population and the magnitude of anti-gay sentiment are substantially underestimated. *Management Science*, 62(6), 1887-1901. doi:10.1287/mnsc.2015.2203

- [66] James, S. E., Herman, J. L., Rankin, S., Keisling, M., Mottet, L., & Anafi, M. (2022). *The Report of the 2022 U.S. Transgender Survey*. Washington, DC: National Center for Transgender Equality.
- [67] Rider, G. N., McMorris, B. J., Gower, A. L., Coleman, E., & Eisenberg, M. E. (2018). Health and care utilization of transgender and gender nonconforming youth: A population-based study. *Pediatrics*, *141*(3), e20171683. doi:10.1542/peds.2017-1683
- [68] McNeill, E. J. M., Wilson, J. A., Clark, S., & Deakin, J. (2008). Perception of voice in the transgender client. *Journal of Voice*, *22*(6), 727–733. <https://doi.org/10.1016/j.jvoice.2006.12.010>.
- [69] Solberg, R. T., Norvold, H., & Pedersen, A. L. (2019). Health and health care use of transgender and non-binary young adults in Norway. *Scandinavian Journal of Public Health*, *47*(5), 522-530. doi:10.1177/1403494819841476
- [70] Reisner, S. L., Radix, A., & Deutsch, M. B. (2019). Integrated and gender-affirming transgender clinical care and research. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, *82*(S3), S238-S244. doi:10.1097/QAI.0000000000002092
- [71] Marshall WA, Tanner JM: Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* *45*(239):13–23, 1970.
- [72] Lee, K. S., Zhang, J. J. Y., Kirolos, R., Santarius, T., Nga, V. D. W., & Yeo, T. T. (2022). A systematic review and meta-analysis of the association between cyproterone acetate and intracranial meningiomas. *Scientific Reports*, *12*, Article 1942. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05992-6>
- [73] Jameson, J. L., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Hauser, S. L., Longo, D. L., & Loscalzo, J. (Eds.). (2018). *Harrison's principles of internal medicine* (20th ed., pp. 393-394). McGraw-Hill Education.
- [74] Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Chapter 12: The Endocrine System. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editors. *Robbins Basic Pathology*. 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2018. p. 459.
- [75] Dickerman, R. D., Pertusi, R., Zachariah, N. Y., & Schaller, F. (1998). Androgen-induced erythrocytosis. *American Journal of Hematology*, *59*(3), 263-264. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-8652\(199811\)59:3<263::aid-ajh19>3.0.co;2-u](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-8652(199811)59:3<263::aid-ajh19>3.0.co;2-u)
- [76] Antun, A., Zhang, Q., Bhasin, S., Bradlyn, A., Flanders, W. D., Getahun, D., & Goodman, M. (2020). Longitudinal changes in hematologic parameters among transgender people receiving hormone therapy. *Journal of the Endocrine Society*, *4*(11), 1–11. <https://doi.org/10.1210/jendso/bvaa119>.
- [77] Wierckx K, et al. Long-term evaluation of cross-sex hormone treatment in transsexual persons. *J Sex Med*. 2012;*9*(10):2641–51.
- [78] Ott J, et al. Incidence of thrombophilia and venous thrombosis in transsexuals under cross-sex hormone therapy. *Fertil Steril*. 2010;*93*(4):1267–72.

- [79] Buckler HM, et al. The effects of low-dose testosterone treatment on lipid metabolism, clotting factors and ultrasonographic ovarian morphology in women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998;49(2):173–8.
- [80] O. Calof, A. Singh, M. Lee e et al, «Adverse events associated with testosterone replacement in middle-aged and older men: a meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials,» *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*, vol. 60, n. 11, pp. 1451-1457, 2005.
- [81] Dobs AS, et al. Pharmacokinetics, efficacy, and safety of a permeation-enhanced testosterone transdermal system in comparison with bi-weekly injections of testosterone enanthate for the treatment of hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(10):3469–78.
- [82] Gagnon DR, Zhang TJ, Brano FN, Kannel WB: Hematocrit and the risk of cardiovascular disease—the Framingham study: A 34 year follow-up. *Am Heart J* 127:674–682, 1994.
- [83] Drinka PJ, Jochen AL, Cuisnier M, Bloom R, Rudman I, Rudman D: Polycythemia as a complication of testosterone replacement therapy in nursing home men with low testosterone levels. *J Am Geriatr Soc* 4:899–901, 1995.
- [84] A. Isidori, G. Balercia, A. Calogero, G. Corona, A. Ferlin, S. Francavilla, D. Santi e M. Maggi, «Outcomes of androgen replacement therapy in adult male hypogonadism: recommendations from the Italian society of endocrinology,» *Journal of Endocrinological Investigation*, vol. 38, n. 1, p. 103–112, 2015.
- [85] Bhasin S, Brito JP, Cunningham GR, Hayes FJ, Hodis HN, Matsumoto AM, et al. Testosterone Therapy in Men With Hypogonadism: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2018;103:1715–44.
- [86] Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391–405.
- [87] Jones SD Jr, Dukovac T, Sangkum P, Yafi FA, Hellstrom WJ. Erythrocytosis and Polycythemia Secondary to Testosterone Replacement Therapy in the Aging Male. *Sex Med Rev* 2015;3:101–12.
- [88] Nolan BJ, Leemaqz SY, Ooi O, Cundill P, Silberstein N, Locke P, et al. Prevalence of polycythaemia with different formulations of testosterone therapy in transmasculine individuals. *Intern Med J* 2021;51:873–8.
- [89] Scala, A., Graziani, A., Vianello, F., Ferlin, A., & Garolla, A. (2024). Risk of erythrocytosis in transgender individuals undergoing testosterone therapy: A systematic review. *Minerva Endocrinology*, 49(2), 205-216. <https://doi.org/10.23736/S2724-6507.24.04171-X>
- [90] Braekkan SK, Mathiesen EB, Njølstad I, Wilsgaard T, Hansen JB. Hematocrit and risk of venous thromboembolism in a general population. The Tromso study. *Haematologica* 2010;95:270–5.

- [91] Ory J, Nackeeran S, Balaji NC, Hare JM, Ramasamy AR. Secondary Polycythemia in Men Receiving Testosterone Therapy Increases Risk of Major Adverse Cardiovascular Events and Venous Thromboembolism in the First Year of Therapy. *J Urol* 2022;207:1295–301.
- [92] Wang C, Nieschlag E, Swerdloff R, Behre HM, Hellstrom WJ, Gooren LJ, et al. Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males: ISA, ISSAM, EAU, EAA and ASA recommendations. *Eur J Endocrinol* 2008;159:507–14.
- [93] Maggio M, Snyder PJ, Ceda GP, Milaneschi Y, Luci M, Cattabiani C, et al. Is the haematopoietic effect of testosterone mediated by erythropoietin? The results of a clinical trial in older men. *Andrology* 2013;1:24–8.
- [94] Bachman E, Feng R, Travison T, Li M, Olbina G, Ostland V, et al. Testosterone suppresses hepcidin in men: a potential mechanism for testosterone-induced erythrocytosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:4743–7.
- [95] Palacios A, Campfield LA, McClure RD, Steiner B, Swerdloff RS. Effect of testosterone enanthate on hematopoiesis in normal men. *Fertil Steril* 1983;40:100–4.
- [96] Coviello AD, Kaplan B, Lakshman KM, Chen T, Singh AB, Bhasin S. Effects of graded doses of testosterone on erythropoiesis in healthy young and older men. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:914–9.
- [97] Tenover JS. Effects of testosterone supplementation in the aging male. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1092–8.
- [98] Mirand EA, Gordon AS, Wenig J. Mechanism of testosterone action in erythropoiesis. *Nature* 1965;206:270–2.
- [99] Haase VH. Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors. *Blood Rev* 2013;27:41–53.
- [100] Pokala P, Llanera M, Sherwood J, Scharf S, Steinberg H. Erythropoietin response in subjects with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1862–5.
- [101] Graziani A, Grande G, Ferlin A. The complex relation between obstructive sleep apnoea syndrome, hypogonadism and testosterone replacement therapy. *Front Reprod Health* 2023;5:1219239.
- [102] Ly LP, Jimenez M, Zhuang TN, Celermajer DS, Conway AJ, Handelsman DJ. A double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial of transdermal dihydrotestosterone gel on muscular strength, mobility, and quality of life in older men with partial androgen deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4078–88.
- [103] Aghazadeh M, Pastuszak AW, Johnson WG, McIntyre MG, Hsieh TM, Lipshultz LI. Elevated Dihydrotestosterone is Associated with Testosterone Induced Erythrocytosis. *J Urol* 2015;194:160–5.
- [104] Ohlander SJ, Varghese B, Pastuszak AW. Erythrocytosis Following Testosterone Therapy. *Sex Med Rev* 2018;6:77–85.

- [105] determinant of thrombotic risk in erythrocytosis. *Haematologica*, 104(4), 653–658. <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.210732>
- [106] Olivas-Martinez, A., Corona-Rodarte, E., Nuñez-Zuno, A., Barrales-Benítez, O., Montante-Montes de Oca, D., Delgado-de la Mora, J., León-Aguilar, D., Hernández-Juárez, H. E., & Tuna-Aguilar, E. (2021). Causes of erythrocytosis and its impact as a risk factor for thrombosis according to etiology: experience in a referral center in Mexico City. *Blood Research*, 56(3), 166-174. <https://doi.org/10.5045/br.2021.2021111>
- [107] Hall, J. E., & Hall, M. E. (2021). *Guyton and Hall textbook of medical physiology* (14th ed.). Elsevier.
- [108] Hall, J. E., & Hall, M. E. (2021). *Guyton and Hall textbook of medical physiology* (14th ed., Chapter 37, pp. 477-488). Elsevier.
- [109] Hoffbrand, A. V., & Moss, P. A. H. (2016). *Essential Haematology*. (7th ed.)
- [110] Rodak, B. F., Fritsma, G. A., & Keohane, E. M. (2019). *Hematology: Clinical Principles and Applications*.
- [111] Norris, L. A. (2003). Blood coagulation. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 17(3), 369-383. . Accessed on August 2024
- [112] Mackman, N. (2009). The role of tissue factor and factor VIIa in hemostasis. *Anesthesia & Analgesia*.
- [113] Hoffbrand, A. V., & Moss, P. A. H. (2016). *Essential Haematology*. (7th ed., Chapter 27, pp. 303-310)
- [114] Gandrille, S., & Alhenc-Gelas, M. (2006). Hereditary thrombophilia. *Thrombosis Journal*, 4, 15. . Accessed on August 2024.
- [115] Buchanan, G. S., Rodgers, G. M., & Branch, D. W. (2003). The inherited thrombophilias: Genetics, epidemiology, and laboratory evaluation. *Clinical Medicine & Research*, 1(2), 123-135. . Accessed on August 2024
- [116] Soare, A. M., & Popa, C. (2010). Deficiencies of proteins C, S, and antithrombin and factor V Leiden and the risk of ischemic strokes. *Journal of Medicine and Life*, 3(3), 235–238. PMID: 20945813. PMCID: PMC3018997.
- [117] Găman, A. M., & Găman, G. D. (2014). Deficiency of antithrombin III (AT III) - Case report and review of the literature. *Current Health Sciences Journal*, 40(2), 141–143. . Accessed on August 2024
- [118] Kujovich, J. L. (2011). Factor V Leiden thrombophilia. *Genetics in Medicine*, 13(1), 1-16.
- [119] Silver, R. M., Saade, G. R., Thorsten, V., Parker, C. B., Reddy, U. M., Drews-Botsch, C., Conway, D., Coustan, D., Dudley, D. J., Bukowski, R., Hogue, C. J. R., Pinar, H., Varner, M. W., Goldenberg, R., & Willinger, M. (2016). Factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylene tetrahydrofolate reductase mutations and

stillbirth: The Stillbirth Collaborative Research Network. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 215(4), 468.e1-468.e17. . Accessed on August 2024

[120] Streiff, M. B. (2023). Mutazione 20210 del gene della protrombina (fattore II). In *Manuali MSD Edizione Professionisti*. Merck & Co., Inc. . Accessed on August 2024

[121] Miles, J, Miletich, J, Goldhaber, S. et al. G20210A mutation in the prothrombin gene and the risk of recurrent venous thromboembolism. *JACC*. 2001 Jan, 37 (1) 215–218. . Accessed on August 2024

[122] Triplett, D. A. (2002). Antiphospholipid Antibodies. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 126(11), 1424–1429.

[123] Clarke, R., Daly, L., Robinson, K., Naughten, E., Cahalane, S., Fowler, B., & Graham, I. (1991). Hyperhomocysteinemia: An independent risk factor for vascular disease. *New England Journal of Medicine*, 324(17), 1149-1155. . Accessed on August 2024

[124] Inokuchi, K., Asano, T., Ochi, A., Gokan, T., Yoshikawa, K., Nakamura, Y., Ogawa, K., Chiba, Y., Kawasaki, S., Onishi, Y., Munetsugu, Y., Onuma, Y., Onuki, T., Watanabe, N., Kawamura, Y. M., Adachi, T., & Kobayashi, Y. (2017). Sex is a significant factor influencing the blood coagulation systems. *Sapporo Medical Journal*, 29(2), 151-162.

[125] Kain, K., Carter, A. M., Bamford, J. M., Grant, P. J., & Catto, A. J. (2003). Gender differences in coagulation and fibrinolysis in white subjects with acute ischemic stroke. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 1(3), 390-397.

[126] Balleisen, L., Bailey, J., Epping, P. H., Schulte, H., & van de Loo, J. (1985). Epidemiological study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population: I. Baseline data on the relation to age, sex, body weight, smoking, alcohol, pill use, and menopause. *Thrombosis and Haemostasis*, 54(2), 475-479. PMID: 3936217.

[127] Cagnacci, A., Generali, M., Zanin, R., & Volpe, A. (2006, Ottobre). Interferenza degli estrogeni-progestinici sul metabolismo lipidico, glucidico e sui fattori dell'emocoagulazione. *Repronews*. . Accessed on August 2024

[128] L. Scheres, N. Selier, N. Nota, J. vanDiemen, S. Cannegieter e M. denHeijer, «Effect of gender-affirming hormone use on coagulation profiles in transmen and transwomen,» *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, vol. 19, pp. 1029-1037, 2021.

[129] J. Meijers, W. Tekelenburg, B. Bouma, R. Bertina e F. Rosendaal, «High levels of coagulation factor XI as a risk factor for venous thrombosis,» *New England Journal of Medicine*, vol. 342, n. 10, pp. 696-701, 2000.

[130] M. Hemelaar, M. van der Mooren, M. Rad, C. Kluft e P. Kenemans, «Effects of non-oral postmenopausal hormone therapy on markers of cardiovascular risk: a systematic review,» *Fertility and Sterility*, vol. 90, n. 3, pp. 642-672, 2008.

[131] Tienforti, D., Pastori, D., & Barbonetti, A. (2024). Effects of gender affirming hormone therapy with testosterone on coagulation and hematological parameters in

transgender people assigned female at birth: A systematic review and meta-analysis. *Thrombosis Research*, 236, 170-178.

[132] Lanzi, V., Indirli, R., Tripodi, A., Clerici, M., Bonomi, M., Cangiano, B., Petria, I., Arosio, M., Mantovani, G., & Ferrante, E. (2024). Testosterone therapy does not affect coagulation in male hypogonadism: A longitudinal study based on thrombin generation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Advance online publication.

[133] Naess, I. A., Christiansen, S. C., Romundstad, P., Cannegieter, S. C., Rosendaal, F. R., & Hammerstrøm, J. (2007). Incidence and mortality of venous thrombosis: A population-based study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 5(4), 692-699. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02450.x>

[134] Roach, R. E. J., Lijfering, W. M., Rosendaal, F. R., Cannegieter, S. C., & le Cessie, S. (2014). Sex difference in risk of second but not of first venous thrombosis: Paradox explained. *Circulation*, 129(1), 51-56. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.004768>

[135] Hvas, A. M., & Favaloro, E. J. (2017). Gender-related issues in thrombosis and hemostasis. *Expert Review of Hematology*, 10(11), 941-949. <https://doi.org/10.1080/17474086.2017.1371010>

[136] Kyrle PA, Minar E, Bialonczyk C, Hirschl M, Weltermann A, Eichinger S. The risk of recurrent venous thromboembolism in men and women. *N Engl J Med*. 2004;350:2558–2563.

[137] Douketis J, Tosetto A, Marcucci M, Baglin T, Cosmi B, Cushman M, Kyrle P, Poli D, Tait RC, Iorio A. Risk of recurrence after venous thromboembolism in men and women: patient level meta-analysis. *BMJ*. 2011;342:d813.

[138] McRae S, Tran H, Schulman S, Ginsberg J, Kearon C. Effect of patient's sex on risk of recurrent venous thromboembolism: a meta-analysis. *Lancet*. 2006;368:371–378.

[139] Christiansen SC, Lijfering WM, Helmerhorst FM, Rosendaal FR, Cannegieter SC. Sex difference in risk of recurrent venous thrombosis and the risk profile for a second event. *J Thromb Haemost*. 2010;8:2159–2168.

[140] Rodger MA, Kahn SR, Wells PS, Anderson DA, Chagnon I, Le Gal G, Solymoss S, Crowther M, Perrier A, White R, Vickars L, Ramsay T, Betancourt MT, Kovacs MJ. Identifying unprovoked thromboembolism patients at low risk for recurrence who can discontinue anticoagulant therapy. *CMAJ*. 2008;179:417–426.

[141] Medicina Online. (2018, 2 aprile). *Coagulazione del sangue: Cascata coagulativa, fibrinolisi, spiegazione e schema*. <https://medicinaonline.co/2018/04/02/coagulazione-del-sangue-cascata-coagulativa-fibrinolisi-spiegazione-e-schema/>. Accessed september 9th, 2024.

[142] Regitz-Zagrosek, V., & Gebhard, C. (2022). Gender medicine: Effects of sex and gender on cardiovascular disease manifestation and outcomes. *Nature Reviews Cardiology*, 19(1), 31-43. <https://doi.org/10.1038/s41569-022-00797-4>

- [143] Shi, W. et al. Cardiac proteomics reveals sex chromosome-dependent differences between males and females that arise prior to gonad formation. *Dev. Cell* 56, 3019–3034 e3017 (2021)
- [144] Mercurio, G., Deidda, M., Piras, A., Cadeddu Dessalvi, C., Maffei, S., & Rosano, G. M. C. (2010). Gender determinants of cardiovascular risk factors and diseases. *Journal of Cardiovascular Medicine*, 11(3), 207-220. <https://doi.org/10.2459/JCM.0b013e3283365a48>
- [145] Lodi, E., Stefani, O., Reggianini, L., Carollo, A., Martinotti, V., & Modena, M. G. (2020). Gender differences in cardiovascular risk factors. *Italian Journal of Gender-Specific Medicine*, 6(3), 118-125. Retrieved from <https://www.pensiero.it>
- [146] Arain, F. A., Kuniyoshi, F. H., Abdalrhim, A. D., & Miller, V. M. (2009). The biological basis for personalized care in cardiovascular medicine. *Circulation Journal*, 73(10), 1774-1782. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-09-0554>
- [147] M. Elamin, M. Garcia, M. Murad, P. Erwin e V. Montori, «Effect of sex steroid use on cardiovascular risk in transsexual individuals: a systematic review and meta-analyses,» *Clinical Endocrinology*, vol. 72, pp. 1-10, 2010.
- [148] M. Yoder, «Human Endothelial Progenitor Cells,» *Cold Spring Harbor Perspective in Medicine*, vol. 2, p. a006692, 2012.
- [149] H. Ito, I. Rovira, M. Bloom, K. Takeda, V. Ferrans, A. Quyyumi e T. Finkel, «Endothelial progenitor cells as putative targets for angiostatin,» *Cancer Research*, vol. 59, n. 23, p. 5875–5877, 1999.
- [150] J. Hill, G. Zalos, J. Halcox, W. Schenke, M. Waclawiw, A. Quyyumi e T. Finkel, «Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk,» *The New England Journal of Medicine*, vol. 348, n. 7, p. 593–600, 2003.
- [151] T. Asahara, T. Murohara, A. Sullivan, M. Silver, R. Van der Zee, T. Li, B. Witzenbichler, G. Schattman e J. Isner, «Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis,» *Science*, vol. 275, n. 5302, p. 964–967, 1997.
- [152] M. Peichev, A. Naiyer, D. Pereira, Z. Zhu, W. Lane, M. Williams, M. Oz, D. Hicklin, L. Witte, M. Moore e et al, «Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34+ cells identifies a population of functional endothelial precursors,» *Blood*, vol. 95, n. 3, pp. 952-958, 2000.
- [153] C. Foresta, L. De Toni, A. Ferlin e A. Di Mambro, «Clinical Implication of Endothelial Progenitor Cell,» *Expert Review of Molecular Diagnostics*, vol. 10, n. 1, pp. 89-105, 2010.
- [154] N. Werner, S. Kosiol, T. Schiegl e et al, «Corculating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes,» *New England Journal of Medicine*, vol. 353, n. 10, pp. 999-1007, 2005.
- [155] C. Schimidt-Lucke, L. Rössig, S. Fichtlscherer e et al, «Reduced number of circulating endothelial progenitori cells predicts future cardiovascular events: proof of

concept for the clinical importance of endogenous vascular repair,» *Circulation*, vol. 111, n. 22, pp. 2981-2987, 2005.

[156] S. Zhu, X. Liu, Y. Li, P. Goldschmidt-Clermont e C. Dong, «Aging in the atherosclerosis milieu may accelerate the consumption of bone marrow endothelial progenitor cells,» *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 27, n. 1, pp. 113-119, 2006.

[157] S. Dimmeler e M. Vasa-Nicotera, «Aging of progenitor cells: limitation for regenerative capacity?,» *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 42, n. 12, pp. 2081-2082, 2003.

[158] E. Shantisila, T. Watson e Y. Gregory, «Endothelial progenitor cells in cardiovascular disorders,» *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 49, n. 7, p. 741-752, 2007.

[159] J. Waltenberg, «Impaired collateral vessel development in diabetes: potential cellular mechanisms and therapeutic implications,» *Cardiovascular Research*, vol. 49, n. 3, pp. 554-560, 2001.

[160] A. Abaci, A. Oguzhan, S. Kahraman e et al, «Effects of diabetes mellitus on formation of coronary collateral vessels,» *Circulation*, vol. 99, n. 17, pp. 2239-2242, 1999.

[161] M. Vasa, S. Fichtlscher, A. Aicher e et al, «Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary disease,» *Circulation Research*, vol. 89, p. e1-e7, 2001.

[162] G. Fadini, A. Coracina, I. Baesso e et al, «Peripheral blood CD34+KDR+ endothelial progenitor cells are determinants of subclinical atherosclerosis in a middle-aged general population,» *Stroke*, vol. 37, n. 9, pp. 2277-2282, 2006.

[163] G. Fadini, S. de Kreutzenberg, A. Coracina e et al, «Circulating CD34+ cells, metabolic syndrome, and cardiovascular risk,» *European Heart Journal*, vol. 27, n. 18, pp. 2247-2255, 2006.

[164] J. Chen, J. Zhu, X. Wang e et al, «Effects of homocysteine on number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood,» *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, vol. 36, n. 2, pp. 233-239, 2004.

[165] A. Iwaruka, C. Leudemann, S. Shastry e et al, «Estrogen-mediated, endothelial nitric oxide synthase-dependent mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells contributes to reendothelialization after arterial injury,» *Circulation*, vol. 108, n. 25, pp. 3115-3121, 2003.

[166] S. Gabel, V. Walker, R. London, C. Steenberg, K. Korach e E. Murphy, «Estrogen receptor β mediates gender differences in ischemia / reperfusion injury,» *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, vol. 38, n. 2, pp. 289-297, 2005.

- [167] de Silva, N. L., Grant, B., Minhas, S., & Jayasena, C. N. (2024). Cardiovascular disease and testosterone therapy in male hypogonadism. *Annals of the New York Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1111/nyas.15211>
- [168] Lincoff, A. M., Bhasin, S., Flevaris, P., Mitchell, L. M., Basaria, S., Boden, W. E., Cunningham, G. R., & the TRAVERSE Study Investigators. (2023). Cardiovascular safety of testosterone-replacement therapy. *The New England Journal of Medicine*, 389(2), 107-117. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2215025>
- [169] Hudson, J., Cruickshank, M., Quinton, R., Aucott, L., Aceves-Martins, M., Gillies, K., Bhasin, S., Snyder, P. J., Ellenberg, S. S., Grossmann, M., Travison, T. G., Gianatti, E. J., van der Schouw, Y. T., Emmelot-Vonk, M. H., Giltay, E. J., Hackett, G., Ramachandran, S., Svartberg, J., Hildreth, K. L., Groti Antonic, K., Brock, G. B., Tenover, J. L., Tan, H. M., Ho Chee Kong, C., Tan, W. S., Marks, L. S., Ross, R. J., Schwartz, R. S., Manson, P., Roberts, S., Andersen, M. S., Magnussen, L. V., Hernández, R., Oliver, N., Wu, F., Dhillon, W. S., Bhattacharya, S., & Brazzelli, M. (2022). Adverse cardiovascular events and mortality in men during testosterone treatment: An individual patient and aggregate data meta-analysis. *Lancet Healthy Longev*, 3(6), e381-e393. [https://doi.org/10.1016/S2666-7568\(22\)00096-4](https://doi.org/10.1016/S2666-7568(22)00096-4)
- [170] Traish, A. M., Haider, A., & Saad, F. (2017). Long-term testosterone therapy improves cardiometabolic function and reduces risk of cardiovascular disease in men with hypogonadism: A real-life observational registry study setting comparing treated and untreated (control) groups. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. <https://doi.org/10.1177/1074248417691136>
- [171] El Khoudary, S. R., Aggarwal, B., Beckie, T. M., Hodis, H. N., Johnson, A. E., Langer, R. D., Limacher, M. C., Manson, J. E., Stefanick, M. L., & Allison, M. A. (2020). Menopause transition and cardiovascular disease risk: Implications for timing of early prevention: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 142(25). <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000912>
- [172] Getahun, D., Nash, R., Flanders, W. D., Baird, T. C., Becerra-Culqui, T. A., Cromwell, L., Hunkeler, E., Lash, T. L., Millman, A., Quinn, V. P., Robinson, B., Roblin, D., Silverberg, M. J., Safer, J., Slovis, J., Tangpricha, V., & Goodman, M. (2018). Cross-sex hormones and acute cardiovascular events in transgender persons: A cohort study. *Annals of Internal Medicine*, 169(4), 205-213. <https://doi.org/10.7326/M17-2785>
- [173] Streed, C. G., Beach, L. B., Caceres, B. A., Dowshen, N. L., Moreau, K. L., Mukherjee, M., Poteat, T., Radix, A., Reisner, S. L., Singh, V., & American Heart Association. (2021). Assessing and addressing cardiovascular health in people who are transgender and gender diverse: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 144(6), e136-e148. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001003>
- [174] A. Fisher, G. Senofonte, C. Cocchetti, G. Guercio, V. Lingiardi e e. al., «SIGIS-SIAMS-SIE position statement of gender affirming hormonal treatment in transgender and non-binary people,» *Journal of Endocrinological Investigation*, vol. 45, pp. 657-673, 2022.

- [175] E. J. Favalaro e G. Lippi, *Hemostasis and Thrombosis - Methods and Protocols*, New York: Humana Press - Springer Nature, 2017.
- [176] Erslev, A. J. (1991). Erythropoietin. *The New England Journal of Medicine*, 324(19), 1339-1344. <https://doi.org/10.1056/NEJM199105093241907>
- [177] Hall, K., & Van Wyk, J. J. (1974). Somatomedin. In V. H. T. James & L. Martini (Eds.), *Current Topics in Experimental Endocrinology* (Vol. 2, pp. 155-178). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-153202-4.50012-1>
- [178] Barton, J. C., Edwards, C. Q., & Acton, R. T. (2015). HFE gene: Structure, function, mutations, and associated iron abnormalities. *Gene*, 574(2), 179-192. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.10.009>
- [179] L. Sidney, M. Branch, S. Dunphy, H. Dua, Hopkinsona e A, «Concise Review: Evidence for CD34 as a Common Marker for Diverse Progenitors,» *Stem Cells*, vol. 32, n. 6, p. 1380–1389, 2014.
- [180] P. Glumac e A. LeBeau, «The role of CD133 in cancer: a concise review,» *Clinical and Translational Medicine*, vol. 7, n. 18, 2018.
- [181] G. Luker, J. Yang, A. Richmond, S. Scala, C. Festuccia, M. Schottelius, H. Wester e J. Zimmermann, «At the Bench: Pre-clinical evidence for multiple functions of CXCR4 in cancer,» *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 109, n. 5, p. 969–989, 2021.
- [182] Bonora, B. M., Cappellari, R., Grasso, M., Mazzucato, M., D'Anna, M., Avogaro, A., & Fadini, G. P. (2022). Glycaemic control achieves sustained increases of circulating endothelial progenitor cells in patients hospitalized for decompensated diabetes: An observational study. *Diabetes Therapy*, 13(7), 1327-1337. <https://doi.org/10.1007/s13300-022-01273-5>
- [183] Rigato, M., Avogaro, A., & Fadini, G. P. (2016). Levels of circulating progenitor cells, cardiovascular outcomes and death: A meta-analysis of prospective observational studies. *Circulation Research*, 118(12), 1930-1939. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308366>
- [184] Fadini, G. P., Dassie, F., Albiero, M., Boscaro, E., Albano, I., Martini, C., Vigili de Kreutzenberg, S., Agostini, C., Avogaro, A., Vettor, R., & Maffei, P. (2014). Endothelial progenitor cells are reduced in acromegalic patients and can be restored by treatment with somatostatin analogs. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(12), E2549-E2556. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-2275>
- [185] Statistics Canada, «Census of population Canada,» <https://www150.statcan.gc.ca/n1/daily-quotidien/220427/dq220427beng.htm>, 2022.
- [186] Fortunati, N., Catalano, M. G., Boccuzzi, G., & Frairia, R. (2009). Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG), estradiol and breast cancer. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 301(1-2), 84–88. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.09.012>
- [187] J. Connors e S. Middeldorp, «Transgender patients and the role of the coagulation clinician,» *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, vol. 17, n. 11, pp. 1790-1797, 2019.

- [188] Lehtihet, M., Bonde, Y., Beckman, L., Berinder, K., Hoybye, C., Rudling, M., Sloan, J. H., Konrad, R. J., & Angelin, B. (2016). Circulating hepcidin-25 is reduced by endogenous estrogen in humans. *PLOS ONE*, *11*(2), e0148802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148802>
- [189] Li Calzi, S., Nuovo, M. B., Shaw, L. C., Kielczewski, J. L., Moldovan, N. I., & Grant, M. B. (2010). EPC e angiogenesi patologica: quando le cellule buone diventano cattive. *Microvascular Research*, *79*(3), 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2010.02.011>
- [190] Scagnet B., *Ruolo del sesso e dell'identità di genere sulla salute osteomuscolare* [tesi di laurea magistrale a ciclo unico]. Padova: Università degli studi di Padova, 2023.
- [191] Assaf, N., Chamseddine, F., Taher, A., & Mahfouz, R. (2021). Prevalence of thrombophilia-associated mutations and their clinical significance in a large cohort of Lebanese patients. *Meta Gene*, *29*, 100936. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2021.100936>
- [192] Ford, K., Huggins, E., & Sheean, P. (2022). Characterising body composition and bone health in transgender individuals receiving gender-affirming hormone therapy. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, *35*(6), 1105-1114. <https://doi.org/10.1111/jhn.13027>
- [193] Maraka, S., Singh Ospina, N., Rodriguez-Gutierrez, R., Davidge-Pitts, C. J., Nippoldt, T. B., Prokop, L. J., & Murad, M. H. (2017). Sex steroids and cardiovascular outcomes in transgender individuals: A systematic review and meta-analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *102*(11), 3914-3923. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-01643>
- [194] Cocchetti, C., Castellini, G., IacuanIELlo, D., Romani, A., Maggi, M., Vignozzi, L., Schreiner, T., den Heijer, M., T'Sjoen, G., & Fisher, A. D. (2021). Does gender-affirming hormonal treatment affect 30-year cardiovascular risk in transgender persons? A two-year prospective European study (ENIGI). *The Journal of Sexual Medicine*, *18*(4), 821-829. <https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2021.01.185>
- [195] Grifoni, E., Gori, A. M., Giusti, B., & Marcucci, R. (2017). Gender differences in antithrombotic therapy. *Italian Journal of Gender-Specific Medicine*, *3*(1), 15-22. <https://doi.org/10.1723/2751.28028>
- [196] Morselli, E., Santos, R. S., Criollo, A., Nelson, M. D., Palmer, B. F., & Clegg, D. J. (2017). The effects of oestrogens and their receptors on cardiometabolic health. *Nature Reviews Endocrinology*, *13*(6), 352-364. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.12>