

Università degli Studi di Padova

Corso di laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Endocrinologia
Direttore: Prof Paolo Simioni

UOC andrologia e medicina della riproduzione
Direttore: Prof Alberto Ferlin

TESI DI LAUREA

Influenza dei trattamenti ormonali sui parametri emo-coagulativi in persone con incongruenza di genere

Relatore: Prof. Andrea Garolla
Correlatrice: Prof.ssa Elena Campello

Laureando: Torresan Francesco
Matricola 1177054

Anno accademico 2022/2023

| | |
|--|-----------|
| 1. Indice | |
| 2. Riassunto | 9 |
| 2.1. Presupposti | 9 |
| 2.2. Scopo dello studio | 9 |
| 2.3. Materiali e metodi | 10 |
| 2.4. Risultati | 10 |
| 2.5. Conclusione | 10 |
| 3. Abstract | 11 |
| 3.1. Background | 11 |
| 3.2. Aim of the study | 11 |
| 3.3. Materials and Methods | 11 |
| 3.4. Results | 12 |
| 3.5. Conclusion | 12 |
| 4. Introduzione | 13 |
| 4.1. Differenze di genere nell'equilibrio emo-coagulativo | 14 |
| 4.1.1. Malattie cardiovascolari..... | 15 |
| 4.1.2. Malattie autoimmuni e rischio cardiovascolare..... | 16 |
| 4.1.3. Malattia coronarica..... | 16 |
| 4.1.4. Ictus ischemico..... | 17 |
| 4.1.5. Tromboembolismo venoso..... | 19 |
| 4.1.6. Eritrocitosi..... | 20 |
| 4.1.7. Trombofilie..... | 20 |
| 4.1.8. Cromosomi..... | 22 |
| 4.1.8.1. Aneuploidie..... | 23 |
| 4.1.8.2. Sindrome di Turner (45, X0)..... | 24 |
| 4.1.8.3. Sindrome di Klinefelter (47, XXY)..... | 24 |
| 4.1.8.4. Altre trisomie..... | 25 |
| 4.1.9. Trasposizione del gene SRY..... | 25 |
| 4.1.10. Mutazioni ai geni SRY e NR5A1..... | 26 |
| 4.1.11. Ormoni e differenza di genere..... | 26 |
| 4.1.11.1. Testosterone..... | 26 |
| 4.1.11.2. Estrogeni..... | 29 |
| 4.1.11.2.1. Gravidanza..... | 31 |
| 4.1.11.2.2. Menopausa..... | 31 |
| 4.1.12. Ormoni esogeni..... | 32 |
| 4.1.12.1. Contraccezione ormonale..... | 32 |
| 4.1.12.2. Terapia ormonale sostitutiva..... | 34 |
| 4.1.12.3. Doping..... | 35 |
| 4.2. Incongruenza di genere | 36 |
| 4.2.1. Percorso di affermazione di genere..... | 38 |
| 4.2.1.1. Percorso Psicologico: Diagnosi di Incongruenza di genere..... | 39 |
| 4.2.1.2. Percorso Endocrinologico: Terapia affermativa..... | 39 |
| 4.2.1.2.1. Terapia mascolinizante..... | 41 |
| 4.2.1.2.2. Terapia femminilizzante..... | 41 |
| 4.2.1.3. Percorso Legale: Rettifica dei dati anagrafici..... | 43 |
| 4.2.1.4. Percorso Chirurgico: Chirurgia affermativa..... | 44 |
| 4.2.2. Possibili effetti avversi delle terapie ormonali affermative..... | 45 |
| 4.2.2.1. Eritrocitosi e terapia mascolinizante..... | 47 |
| 4.2.2.2. Rischio tromboembolico e terapia femminilizzante..... | 48 |
| 4.2.2.3. Aumento del rischio cardiovascolare nella GAHT..... | 49 |
| 4.3. Coagulazione | 49 |

| | | |
|-------------|--|------------|
| 4.3.1. | Fisiologia della coagulazione..... | 49 |
| 4.3.1.1. | Via estrinseca..... | 51 |
| 4.3.1.2. | Via intrinseca..... | 52 |
| 4.3.1.3. | Via comune..... | 53 |
| 4.3.2. | Anticoagulanti intravasali..... | 54 |
| 4.3.3. | Fibrinolisi..... | 55 |
| 4.4. | Cellule Progenitrici Endoteliali..... | 56 |
| 4.4.1. | Tre principali metodi per identificare le EPC..... | 56 |
| 4.4.2. | EPC e fattori di rischio cardiovascolari..... | 58 |
| 5. | Scopo della tesi..... | 61 |
| 6. | Materiali e metodi..... | 63 |
| 6.1. | Criteri di inclusione ed esclusione..... | 63 |
| 6.2. | Visite..... | 63 |
| 6.2.1. | Prima visita..... | 64 |
| 6.2.1.1. | Valori derivati..... | 66 |
| 6.2.1.1.1. | BMI..... | 66 |
| 6.2.1.1.2. | Colesterolo LDL..... | 66 |
| 6.2.1.1.3. | Testosterone..... | 66 |
| 6.2.2. | Primo controllo – Inizio della terapia..... | 67 |
| 6.2.3. | Controlli a 3, 6, 12 e 24 mesi..... | 67 |
| 6.3. | Studio coagulativo..... | 67 |
| 6.3.1. | ROTEM..... | 68 |
| 6.3.2. | Multiplate®..... | 70 |
| 6.3.3. | Eritropoiesi..... | 72 |
| 6.4. | Cellule progenitrici endoteliali..... | 74 |
| 6.4.1. | Citofluorimetro..... | 74 |
| 6.4.2. | Preparazione del campione..... | 77 |
| 6.4.3. | Marcatori..... | 78 |
| 6.4.3.1. | CD34..... | 78 |
| 6.4.3.2. | CD133/1..... | 78 |
| 6.4.3.3. | CD309..... | 78 |
| 6.4.3.4. | CD184..... | 79 |
| 6.4.4. | Individuazione delle EPC..... | 79 |
| 7. | Analisi dei dati..... | 81 |
| 8. | Risultati..... | 83 |
| 8.1. | Campione..... | 83 |
| 8.2. | Descrizione del campione..... | 83 |
| 8.3. | Terapia..... | 93 |
| 8.4. | Confronto tra T0 e T3..... | 94 |
| 8.4.1. | Test t di Student..... | 94 |
| 8.4.1.1. | AFAB T0 vs AFAB T3..... | 94 |
| 8.4.1.2. | AMAB T0 vs AMAB T3..... | 97 |
| 8.4.2. | ANOVA..... | 101 |
| 8.4.2.1. | AFAB T0 vs AMAB T3..... | 101 |
| 8.4.2.2. | AMAB T0 vs AFAB T3..... | 104 |
| 8.4.3. | Correlazione di Pearson..... | 107 |
| 8.4.3.1. | AMAB..... | 107 |
| 8.4.3.2. | AFAB..... | 111 |
| 8.4.4. | Eritropoiesi..... | 115 |
| 9. | Discussione..... | 117 |
| 9.1. | Differenze riscontrate al basale..... | 117 |
| 9.1.1. | Anamnesi..... | 117 |

| | | |
|-------------|--|------------|
| 9.1.2. | Esami ematochimici..... | 118 |
| 9.1.3. | Coagulazione | 118 |
| 9.1.4. | Eritropoiesi | 119 |
| 9.1.5. | EPC | 119 |
| 9.2. | Differenze a 3 mesi di terapia..... | 119 |
| 9.2.1. | Esami ematochimici..... | 120 |
| 9.2.2. | Coagulazione | 120 |
| 9.2.3. | Eritropoiesi | 120 |
| 10. | Conclusione..... | 121 |
| 11. | Bibliografia | 123 |

2. Riassunto

2.1. Presupposti

La medicina di genere è quella branca della medicina che si propone di studiare le differenze fisiologiche e fisiopatologiche delle varie patologie in maschi e femmine. Questa disciplina è nata negli ultimi 20 anni in seguito a studi che hanno mostrato come alcune patologie, tra cui le malattie emo-coagulative, abbiano una manifestazione differente nei due sessi a prescindere dai fattori di rischio individuali. Questi studi hanno dimostrato che una delle cause alla base delle differenze di genere nella manifestazione di alcune patologie è da ricercare nell'effetto degli ormoni sessuali su diverse funzioni corporee.

Definito quindi che una delle cause di queste differenze risiede nel diverso assetto ormonale, ci si è chiesti cosa succeda in quei pazienti che, per motivi di incongruenza di genere, assumono ormoni sessuali del sesso opposto. La terapia per l'affermazione di genere, infatti, prevede la somministrazione di ormoni sessuali esogeni per modificare i caratteri sessuali secondari nelle persone con disforia di genere, definita come malessere verso il proprio genere di appartenenza, mancata identificazione in esso e desiderio di vivere come una persona appartenente al genere opposto.

Al fine di indagare questo aspetto, il presente studio si pone l'obiettivo di analizzare in modo longitudinale i pazienti afferenti al Centro di Riferimento Regionale per l'Incongruenza di Genere (CRRIG) dell'Azienda Ospedale-Università di Padova, presso l'ambulatorio di Andrologia e Medicina della Riproduzione, analizzandone i parametri ormonali e coagulativi al fine di comprendere meglio la relazione tra terapia di affermazione e modificazioni coagulative.

2.2. Scopo dello studio

Lo scopo del presente studio è quello di valutare gli effetti della terapia di affermazione di genere sui parametri coagulativi e sul rischio cardiovascolare dei pazienti afferenti al CRRIG della AO di Padova.

2.3. Materiali e metodi

Tutti i pazienti non ancora in trattamento sono stati valutati al basale e successivamente a tre mesi di terapia ormonale. Allo scopo di controllare i parametri coagulativi, i prelievi di sangue sono stati analizzati mediante le metodologie Multiplate® e ROTEM oltre che mediante un'analisi approfondita dell'assetto ormonale del paziente. È stato, inoltre, calcolato il numero di cellule progenitrici endoteliali circolanti basali con una successiva rivalutazione delle stesse a tre mesi di trattamento; questi valori sono stati analizzati longitudinalmente tra i pazienti. Infine, è stata monitorato il potenziale ematopoietico dei pazienti sia al basale che successivamente a tre mesi di trattamento.

2.4. Risultati

I risultati che abbiamo raccolto hanno mostrato che sono presenti svariati cambiamenti dei parametri presi in esame durante la terapia di affermazione sia verso maschio che verso femmina. Sono stati osservati cambiamenti soprattutto a livello di emoglobina ed ematocrito senza però riscontrate differenze significative nei parametri della coagulazione.

2.5. Conclusione

I dati provenienti dal nostro campione hanno sottolineato come questo sia conforme alle aspettative in base ai dati trovati in letteratura. Le discrepanze riscontrate tra i dati raccolti e la letteratura consultata sono verosimilmente riconducibili alla bassa numerosità del campione e al breve periodo di terapia: nei 3 mesi di trattamento è stato infatti possibile notare modifiche a livello dell'eritropoiesi e dei livelli ormonali indotti dalla GAHT ma non sono state riscontrate differenze sostanziali nei dati relativi alla coagulazione.

3. Abstract

3.1. Background

Gender medicine is the branch of medicine that aims to study the physiological and pathophysiological differences in various diseases between males and females. This discipline has emerged in the last 20 years following studies that have shown how certain diseases, including hematological and coagulative disorders, manifest differently in both sexes regardless of individual risk factors. These studies have demonstrated that one of the underlying causes of gender differences in the manifestation of some diseases can be attributed to the effects of sex hormones on various bodily functions.

With it established that one of the causes of these differences lies in the different hormonal profiles, the question arises of what happens in those patients who, due to gender incongruence, take hormones of the opposite sex. Gender affirmation therapy, in fact, involves the administration of exogenous sex hormones to modify secondary sexual characteristics in individuals with gender dysphoria, defined as distress related to one's gender identity, a lack of identification with it, and a desire to live as a person of the opposite gender.

In order to investigate this aspect, the present study aims to longitudinally analyze patients referred to the Regional Reference Center for Gender Incongruence (CRRIG) at the University Hospital of Padua, specifically within the Andrology and Reproductive Medicine department. The study will analyze their hormonal and coagulative parameters to gain a better understanding of the relationship between affirmation therapy and coagulative changes.

3.2. Aim of the study

The aim of this study is to evaluate the effect of the Gender Affirming Hormonal Therapy on the parameters of coagulation and on cardiovascular risk of the patients referring to the CRRIG of the AO of Padua.

3.3. Materials and Methods

All patients not yet undergoing treatment were assessed at baseline and then after three months of hormonal therapy. In order to monitor coagulation parameters, blood samples were analyzed using Multiplate[®] and ROTEM methodologies, in addition to a comprehensive analysis of the patient's hormonal profile.

Furthermore, the number of baseline circulating endothelial progenitor cells was calculated, with a subsequent reevaluation at three months of treatment; these values were analyzed longitudinally among patients. Finally, the hematopoietic potential of the patients was monitored both at baseline and after three months of treatment.

3.4. Results

The results we have collected have shown that there are several changes in the parameters examined during gender affirmation therapy, both towards male and female. Changes have been observed mainly in hemoglobin and hematocrit levels; however, significant differences in coagulation parameters have not been found to date.

3.5. Conclusion

The data from our sample have highlighted how this is in line with expectations based on the data found in the literature. The differences observed between the collected data and the consulted literature can be attributed to the small sample size and the short duration of therapy: in fact, within 3 months, it is possible to observe the initial changes in erythropoiesis and hormonal levels obtained from GAHT, but substantial differences in the data related to coagulation cannot be recognized.

4. Introduzione

La medicina di genere è quella branca della medicina che studia le differenze biologiche in relazione al sesso e alle condizioni socioeconomico-culturali, e l'influenza di queste sullo stato di salute e di malattia di ogni persona. Nel giugno del 2019 in Italia è stato approvato il Piano Nazionale per la Medicina di Genere, documento che ha lo scopo di sottolineare l'importanza di un approccio di genere alla medicina, comprendendo che uomini e donne hanno differenti necessità biomediche in ogni specializzazione.

In questo senso nella cultura medica e scientifica, si sta progressivamente affermando una nuova e più ampia visione, dove le differenze di genere non riguardano esclusivamente specifiche discipline quali ginecologia e andrologia. Pertanto, vengono riconosciuti, in maschi e femmine, diversi e specifici fattori di rischio, che devono essere tenuti in considerazione nella pratica medica di tutti i giorni. Le differenze possono essere riscontrate nei più vari ambiti, spaziando dall'endocrinologia, alle malattie genetiche, fino alle problematiche cardiovascolari e tromboemboliche [1].

Per investigare in maniera adeguata il concetto di differenza di genere bisogna comprendere innanzitutto la terminologia usata in questo ambito. Si parla di “*genere*”, infatti, quando ci si riferisce a caratteristiche sociali, ossia l'insieme di norme, ruoli e relazioni tra individui definiti come uomini, donne o persone non binarie. Il genere è quindi un costrutto sociale che può variare tra le società e nel tempo e si differenzia dal concetto di “*sesso*” definito come l'insieme delle caratteristiche biologiche geneticamente determinate e con le quali una persona nasce. Alla nascita il genere viene assegnato basandosi sulle caratteristiche genitali per questo si parla di “*sesso assegnato alla nascita*”.

Data la differenza dei concetti di “*genere*” e “*sesso*”, si parla di “*identità di genere*” per indicare la percezione intima e personale del singolo di appartenere ad un genere maschile, femminile o uno diverso. Chi non si identifica nel proprio sesso assegnato alla nascita viene definito “*Transgender*”, mentre chi lo fa prende il nome di “*Cisgender*”. Esistono però altre sfumature che rendono impossibile analizzare in maniera binaria l'identità di genere: vi sono persone che si definiscono “*Bigender*” poiché si riconoscono in due diversi generi, e ancora persone “*Agender*” che non si identificano in nessuno [2].

Tutte queste definizioni, inoltre, non devono essere considerate come paradigmi fissi e non modificabili. Infatti, ci sono la cui identità “fluttua tra i generi variando a seconda del momento e delle circostanze” [2] per le quali viene utilizzato il termine “*genderfluid*”. Il genere oltre che essere un concetto non binario è un concetto fluido che dipende da tantissimi fattori e che si modifica con il tempo e con i cambiamenti sociali [2].

Anche i termini utilizzati per parlare di incongruenza trascendono il concetto binario dei generi riconoscendo l’esistenza di situazioni intermedie ed esterne al semplice dualismo maschio e femmina. Allo stesso modo, anche il sesso biologico non risponde a questo binarismo: esistono, infatti, condizioni di intersessualità, in cui non esiste una stretta corrispondenza tra cromosomi, ormoni sessuali, genitali e caratteristiche sessuali secondarie come per esempio l’iperplasia surrenalica congenita, la sindrome di Morris e il deficit della aromatasi.

Nella vita di ogni giorno, ciascun individuo esprime e presenta pubblicamente il proprio genere attraverso il comportamento e l’aspetto esteriore (“*espressione di genere*”). Questo include ad esempio il modo di vestirsi, truccarsi e comunicare.

Questi concetti non vanno confusi però con l’*“orientamento sessuale”* che, invece, definisce l’orientamento del desiderio sessuale ed affettivo [2].

I “*percorsi di affermazione di genere*” hanno lo scopo di accompagnare tutte quelle persone che percepiscono una “*incongruenza*” tra il proprio genere e il sesso assegnato alla nascita; questa percezione può portare ad uno stato di sofferenza psicologica persistente derivante da tale incongruenza: in tal caso si parla di “*disforia di genere*”.

Nel presente studio verrà analizzata la relazione che intercorre tra il genere e le caratteristiche emo-coagulative, analizzando come i fattori di rischio specifici interagiscono e si modificano in individui che hanno intrapreso un percorso volto a modificare le caratteristiche corporee tipiche del sesso assegnato alla nascita per raggiungere un aspetto fisico più congruente con la propria identità di genere.

4.1. Differenze di genere nell’equilibrio emo-coagulativo

Le differenze tra maschi e femmine sono un tema che deve essere tenuto strettamente in considerazione, soprattutto quando ci si avvicina al paziente transgender, nonostante non ci siano ancora numerosi dati a riguardo. Il tema delle

malattie cardiovascolari ed emo-coagulative, però, ha mostrato alcune differenze sostanziali che sono state indagate per individuarne le cause sottostanti [1].

Quando si parla di “medicina di genere” si parla di tutte quelle malattie o condizioni che si presentano una differenza nella frequenza, nella manifestazione e/o nella severità a seconda del genere e del sesso biologico.

Questa definizione si concentra sulle differenze biologiche tenendo conto di tutte quelle situazioni che possono predisporre un sesso rispetto all'altro a dei rischi specifici: condizione socio-economica, etnia e cultura di origine del paziente sono tenute in questo caso in considerazione nella definizione di quelli che sono i fattori di rischio specifici che danno ragione dello studio di una medicina di genere [3] [4]. Dati questi presupposti, le differenze di genere hanno origine dalla composizione genetica dell'individuo dove una coppia di cromosomi, definiti appunto sessuali, definisce la manifestazione delle caratteristiche sessuali primarie e quindi l'aspetto dei genitali esterni ed interni. Crescendo, l'influenza di questi cromosomi si estende sull'organismo mediante gli ormoni che stimolano il corpo e portano, durante la pubertà, allo sviluppo anche dei caratteri sessuali definiti secondari producendo in uomini e donne differenti cambiamenti in ambito di sviluppo della massa muscolare, del tessuto adiposo e distribuzione del pelo corporeo. La pubertà non è il solo momento in cui si manifestano queste differenze di genere nei sessi: con l'inizio del periodo fertile la donna è esposta alle modifiche ormonali date dal ciclo mestruale e può andare incontro ad una gravidanza, altra condizione di importanti cambiamenti corporei. Infine, anche il fenomeno della menopausa, durante la donna esce dal periodo fertile della vita, comporta una importante riduzione della produzione ormonale che influenza lo stato di salute generale.

4.1.1. Malattie cardiovascolari

Le malattie cardiovascolari sono la prima causa di morte in entrambi i sessi [5], sebbene individui di sesso maschile e femminile vengano colpiti diversamente da queste patologie: è noto, infatti, che il rapporto tra le morti per malattie cardiovascolari tra maschi e femmine sia di 2:1. Vi è, però, un interessante effetto legato all'età: prendendo in considerazione la popolazione di pazienti oltre i 75 anni di età si nota come le morti per cause cardiovascolari si vanno a pareggiare tra i due sessi, mentre si osserva nuovamente il rapporto di 2:1 solo sotto ai 65 anni. La fascia di età compresa tra i 65 e i 75 anni vede, dunque, un progressivo aumento della

mortalità per cause cardiovascolari femminile [5]. Questo fenomeno non è stato ancora completamente spiegato, ma una motivazione potrebbe essere trovata nell'assetto ormonale delle persone di sesso femminile: gli estrogeni, infatti, fungono da protettore cardiovascolare riducendo la mortalità nella popolazione femminile [6]. Questo spiega anche l'apparente aumento di mortalità femminile oltre i 75 anni di età: con l'arrivo della menopausa le donne vanno incontro ad una riduzione della produzione di ormoni che quindi comporta una cessazione della protezione cardiovascolare data dagli stessi con una progressiva riduzione della differenza nella mortalità cardiovascolare tra i sessi.

4.1.2. Malattie autoimmuni e rischio cardiovascolare

Le malattie autoimmuni presentano una maggiore prevalenza nel sesso femminile. In questo gruppo di malattie troviamo anche il Lupus Eritematoso Sistemico e l'Artrite Reumatoide che portano un aumento del rischio cardiovascolare e un conseguente aumento della mortalità per malattie cardiache.

Normalmente la popolazione affetta da queste patologie mostra una mortalità per eventi cardiovascolari maggiore rispetto alla popolazione sana: questo effetto non si presenta nella popolazione femminile in cui l'incidenza di malattie cardiovascolari non presenta differenze significative tra il gruppo affetto dalle malattie autoimmuni e il gruppo delle persone sane. Questo dato è a favore dell'effetto protettivo di livelli fisiologici di estrogeni sull'aumento del rischio cardiovascolare [7] [8] [9] [10] [11].

4.1.3. Malattia coronarica

Tra le malattie cardiovascolari, quelle che presentano una mortalità maggiore sono le malattie coronariche. Anche in questo caso si riscontra una maggiore mortalità negli uomini rispetto alle donne, differenza che si assottiglia nettamente con la menopausa [12].

Tra le ragioni che spiegano questa differenza di genere c'è una diversa distribuzione dei fattori di rischio come fumo e dislipidemia. È noto, infatti, che vi sia una maggiore incidenza di fumatori tra la popolazione maschile rispetto alla popolazione femminile [13]. In materia di dislipidemie, è stato dimostrato che un aumento del colesterolo LDL e dei trigliceridi associato ad un abbassamento del colesterolo HDL porta in entrambi i sessi ad un aumento dell'incidenza delle

malattie coronariche. Analizzando i marcatori di sintesi del colesterolo, però, si nota come uno di questi in particolare, lo Squalene, abbia effetti differenti nei sessi: alti livelli di questo precursore del colesterolo nel sangue risultano correlare negativamente con l'insorgenza di malattie coronariche nelle persone di sesso femminile, mentre correlano positivamente in quelle di sesso maschile. L'effetto pare essere limitato a questo precursore poiché l'analisi di altri marcatori come il desmosterolo e il latosterolo, non hanno fornito risultati significativi [14]. Esiste, inoltre, una predisposizione femminile ad episodi di iper-coagulabilità a causa di una maggiore aggregazione piastrinica [15], tanto che le linee guida e gli score per il rischio coronarico, come il CHADS2 score, inseriscono il genere femminile tra i fattori di rischio da tenere in considerazione [16] [17].

In quanto a terapia, la prevenzione per le malattie coronariche è a base di antiaggreganti come, per esempio, l'aspirina e il Clopidogrel. Storicamente, però, gli studi di farmacologia sono spesso stati eseguiti senza tenere conto delle differenze di genere tra i vari pazienti: a causa della maggiore aggregazione piastrinica tipica del sesso femminile, l'effetto antiaggregante della terapia risulta essere meno efficace rispetto al sesso maschile.

In un primo momento questo farmaco era stato solamente valutato come meno efficace nelle persone di sesso femminile, studiando longitudinalmente gruppi di pazienti femmine trattate con aspirina o placebo a fini preventivi per 10 anni si è notato come non vi siano differenze significative nell'insorgenza di nuovi episodi di infarto al miocardio, mentre vi è un miglioramento solo per quanto riguarda l'insorgenza di attacchi ischemici transitori [18].

Il Clopidogrel, altro farmaco usato nella prevenzione secondaria, viene usato perché ha mostrato un effetto protettivo contro le malattie cardiovascolari in ambo i sessi. Nel sesso femminile l'effetto protettivo è risultato significativo solo in ambito di frequenze di infarti del miocardio senza però mostrare una differenza significativa negli altri parametri presi in considerazione dagli studi ossia mortalità e ictus [19].

4.1.4. Ictus ischemico

L'ictus ischemico risulta essere una delle principali cause di morte sia nel sesso maschile che in quello femminile, ma presenta importanti differenze tra i sessi. Analizzando le differenti fasce di età si nota che nella fascia di popolazione più giovane si trova una mortalità maggiore nel sesso maschile, tendenza che si inverte

completamente nella fascia di età superiore agli 85 anni [20]. Il dato è da leggersi alla luce dell'età avanzata dei pazienti di entrambi i sessi e potrebbe essere spiegato con la differenza dell'aspettativa di vita: nella fascia di età superiore agli 85 anni vi è una maggiore presenza di femmine rispetto ai maschi portando ad avere una maggiore incidenza di episodi di ictus in questo primo gruppo rispetto che nel secondo. Analizzando il campione per coorti di età, però, si può notare come l'inversione di tendenza inizi già a partire dai 65 anni, sottolineando un aumento del rischio di sviluppare ictus età specifico [21].

Lo studio dell'ictus ischemico ha però portato alla luce anche un importante ruolo protettivo del Testosterone per la circolazione cerebrale: è stato notato, infatti, che le donne che sopravvivono agli ictus presentano spesso danni cerebrali più gravi rispetto agli uomini presi nella stessa fascia di età [22] [23] ed è stato quindi ipotizzato un ruolo protettivo del Testosterone sulla vascolarizzazione cerebrale [24]. Nello specifico è stato scoperto che il Testosterone ha un ruolo fondamentale nella reattività delle strutture cerebrovascolari e nella modulazione della risposta infiammatoria.

Studi su modello animale hanno inoltre suggerito un ruolo protettivo degli Estrogeni sul danno ischemico nel topo giovane, protezione che viene a mancare nelle femmine di topo anziane. Per quanto riguarda l'estensione del danno, è stato notato che il volume del danno ischemico nelle femmine anziane era statisticamente maggiore di quello in topi dello stesso sesso, ma più giovani e di quello in topi di sesso opposto nella stessa fascia di età [25].

Recenti studi sull'effetto protettivo degli Estrogeni però hanno portato alla luce una contraddizione: nonostante ne sia stato dimostrato l'effetto protettivo in alcuni studi preclinici [26], è stato anche dimostrato come la terapia ormonale sostitutiva porti ad un aumento del rischio di sviluppare trombosi arteriose e di conseguenza ictus ischemici [27].

Infatti, condizioni in cui i livelli di estrogeni e progesterone circolanti sono aumentati (gravidanza, terapia contraccettiva, terapia ormonale sostitutiva), portano ad uno stato di iper-coagulabilità che sembra aumentare l'incidenza di ictus ischemici. Tale effetto, per quanto confermato da recenti metanalisi, non è ancora stato chiarito. Infatti, gli estrogeni sembrano avere un ruolo protettivo nei confronti delle patologie vascolari e riducono la formazione di placche aterosclerotiche [27].

Infine, esistono delle condizioni specifiche del sesso femminile che possono modificare il rischio di manifestare un ictus ischemico come, per esempio, la gravidanza [28]: durante questo periodo, infatti, l'assetto ormonale della donna cambia drasticamente modificando quelli che sono stati analizzati precedentemente come fattori protettivi e predisponenti.

Durante il periodo di fertilità, inoltre, si sta facendo sempre più uso dei contraccettivi orali: questi farmaci sono stati dimostrati responsabili di un aumento del rischio di sviluppare ictus ischemico nei primi 6-12 mesi di somministrazione [29].

4.1.5. Tromboembolismo venoso

Le differenze di genere in questo ambito vedono una simile incidenza di eventi tromboembolici tra maschi e femmine, con un rapporto che oscilla tra lo 0,8 e l'1,2 nei diversi studi [15]. Nonostante questo, è stato dimostrato come il sesso maschile sia significativamente più soggetto alla ricorrenza di eventi tromboembolici rispetto al sesso femminile [30].

Il rischio di sviluppare eventi tromboembolici non è però costante lungo la vita di un individuo: esistono condizioni che possono rendere più o meno frequenti questi eventi a causa di cambiamenti ormonali e fisiologici. Durante il periodo fertile nel sesso femminile, la probabilità di manifestare un primo evento tromboembolico è aumentata a causa, per esempio, della gravidanza, che genera un cambiamento molto importante nel corpo. Nello stesso periodo della vita, inoltre, vi è un più ampio uso di contraccettivi orali che aumentano, soprattutto nel primo anno di assunzione, l'incidenza di trombosi nella popolazione trattata. Tenuto conto di tutti questi fattori di rischio è possibile stimare quale sia il rapporto netto tra i sessi che mostra come il rischio del sesso maschile di sviluppare trombosi è 2,1 volte maggiore di quello femminile [31].

Le modifiche dei livelli di estrogeni che avvengono durante la gravidanza espongono il sesso femminile ad una condizione pro-trombotica: durante il periodo gestazionale il rischio di sviluppare trombosi venose aumenta di 5 volte rispetto alle femmine non in gravidanza della stessa età [32].

L'assetto ormonale e i rischi relativi alla gravidanza portano, quindi, ad un aumento generalizzato del rischio nel sesso femminile, ma questo scompare tenendo in

considerazione le diverse fasce d'età dove la numerosità delle gravidanze non è sufficiente a produrre un effetto apprezzabile [33].

4.1.6. Eritrocitosi

Una delle cause importanti di tromboembolismo venoso è la modifica della composizione sanguigna: è stato dimostrato infatti che un aumento della viscosità del sangue ne rallenta il flusso attivando la cascata coagulativa e portando alla manifestazione di tromboembolismi [34]. Una misura della viscosità sanguigna è l'ematocrito che consente di calcolare la frazione tra componente corpuscolata e liquida nel sangue.

Analizzando i dati di una vasta popolazione di pazienti in un follow up di 12 anni è stato possibile dimostrare come l'ematocrito correli positivamente con la probabilità di mostrare eventi tromboembolici. Nella popolazione maschile vi è, inoltre, in media un valore di ematocrito più elevato della popolazione femminile ($43\pm 3\%$ contro $39\pm 3\%$) e i fattori di rischio cardiovascolari come fumo ed obesità hanno un'incidenza maggiore [35]. La somma di questi due effetti porta ad un aumento del rischio di sviluppare tromboembolismo nel sesso maschile rispetto al sesso femminile.

Studiando, inoltre, altri parametri estraibili dalle analisi dell'emocromo è stato notato come emoglobina e conta dei globuli rossi correlino ad un aumento del rischio tromboembolico, ma, contrariamente alle aspettative, non il volume medio dei globuli rossi (MCV). Anche in questo caso un aumento dell'emoglobina e della conta dei globuli rossi si traduce in un aumento del rischio maggiore nei maschi rispetto che nelle femmine.

Nel sesso femminile, quindi, il tasso di incidenza netto di tromboembolismo venoso passa da 1,11 casi su 1000 pazienti a 2,57, mentre nel maschile si registra un cambiamento da 1,47 a 1,90. Analizzando questo dato per fasce d'età viene mostrato, però, che il sesso maschile ha un peggioramento più marcato, effetto riscontrabile anche nelle analisi relative all'emoglobina.

4.1.7. Trombofilie

Le trombofilie son un gruppo di malattie che comporta una modifica dei fattori della coagulazione che può manifestarsi sia qualitativamente con mutazioni che

quantitativamente. Le trombofilie generano un aumento della coagulabilità del sangue che consegue in un aumento del rischio di sviluppare tromboembolismo.

All'interno di questo gruppo sono classificati sia disturbi ereditari che secondari ad altre patologie o condizioni, come la somministrazione prolungata di eparina, sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi o alcune neoplasie. I disordini ereditari della coagulazione comprendono tutte quelle malattie che modificano i fattori della cascata coagulativa e le proteine ad essa annesse; i più comuni sono i disturbi legati al fattore V di Leiden, della protrombina, i deficit di antitrombina III, di proteina C e della proteina S della coagulazione [36].

Tra i disordini coagulativi ereditari, il più comune è la mutazione del fattore V di Leiden che si presenta in forma eterozigote nel 3-8% della popolazione mondiale mentre si presenta in omozigosi in 1 paziente ogni 5000 [37]. La mutazione in forma eterozigote aumenta il rischio di sviluppare tromboembolismo venoso di 5-10 volte e richiede un controllo accurato del paziente, ma la mutazione in omozigosi risulta essere la più pericolosa: essa, infatti, aumenta il rischio di andare incontro a trombosi dalle 50 alle 100 volte rispetto alla popolazione non mutata [37].

Il secondo più comune disturbo della coagulazione è legato al deficit della protrombina che si presenta nel 1,7-3% della popolazione [38], mentre il deficit di antitrombina III è meno comune e si presenta con un'incidenza di 1 paziente ogni 500-5000 a seconda degli studi presi in considerazione [39].

Per quanto riguarda le proteine S e C, esse condividono la stessa incidenza di circa 1 individuo ogni 500 pazienti, ma differiscono quando si vanno ad analizzare i deficit più severi: non è infatti possibile stimare quale sia l'incidenza dei deficit severi di proteina S, mentre il deficit di proteina C si riscontra in 1 neonato su 4.000.000 [40].

Un'altra malattia degna di nota è la malattia di Von Willenbrand, compresa tra i disturbi della coagulazione ereditari più comuni sia negli uomini che nelle donne in quanto la sua incidenza è di un individuo ogni 1000 pazienti. La particolarità di questo disturbo è che esso viene diagnosticato più frequentemente, e quindi più frequentemente trattato, nelle donne rispetto che negli uomini [41].

Tra i disordini della coagulazione più rari esistono, inoltre, dei difetti ereditari a carico di alcuni fattori della coagulazione (deficit del fattore V, VII, X, XI e XIII e deficit combinato di fattore V e VIII) e del fibrinogeno. Questi risultano essere molto

rari e presentano complessivamente un'incidenza di un paziente ogni 1-2 milioni [42].

4.1.8. Cromosomi

La definizione del sesso biologico avviene mediante diverse caratteristiche che comprendono l'assetto ormonale e i caratteri sessuali primari e secondari. Nel soggetto sano, inteso come in mancanza di mutazioni genetiche, questi fattori sono determinati geneticamente mediante i cromosomi sessuali. Delle 13 coppie di cromosomi che compongono il patrimonio genetico cellulare, solo una si differenzia in maniera importante tra maschio e femmina, prendendo il nome di coppia di cromosomi sessuali. Genotipicamente si parla di assetto genetico femminile quando il cariotipo presenta due cromosomi X (XX), mentre si parla di assetto genetico maschile quando il cariotipo presenta un cromosoma X e un cromosoma Y (XY).

I due cromosomi sono molto differenti in quanto a dimensioni e contenuto di geni portando a delle conseguenze importanti. Negli autosomi, la presenza di coppie di geni consente, nella maggior parte dei casi, di sopperire alla mutazione di uno grazie alla produzione proteica dell'omologo cosa che, prendendo in considerazione i cromosomi sessuali, si verifica solo nella femmina: questo comporta che tutte le malattie conseguenti a mutazioni del cromosoma X, definite X-linked, si manifestino con maggiore frequenza nel maschio che nella femmina poiché in questo è sufficiente una sola mutazione per la manifestazione della patologia. In questi casi è possibile parlare di femmine portatrici sane della malattia poiché possiedono la mutazione su di un solo gene riuscendo a sopperire alla mancanza di proteina funzionante grazie all'omologo. Nel caso queste mutazioni necessitino comunque di un solo gene malato per manifestarsi vi è una maggiore gravità della malattia tipicamente nel maschio rispetto che nella femmina.

Un secondo effetto molto importante nelle persone XX è il fenomeno della Lyonizzazione ossia il silenziamento stocastico di uno dei due cromosomi X in modo da non avere una sovra espressione dei geni presenti su di essi. Questo processo, come descritto da Lyon nel 1961 [43], avviene in due diverse fasi: una prima fase nella quale vi è un silenziamento specifico del gene X paterno [44] e una seconda fase dove il cromosoma silenziato viene nuovamente espresso e avviene un secondo silenziamento stocastico di uno dei due cromosomi [45].

Il cromosoma Y presenta un gene detto SRY (*Sex-determining Region Y*) necessario per stimolare lo sviluppo dei testicoli. Nello specifico questo gene stimola SOX9 per promuovere lo sviluppo delle cellule di Sertoli che, mediante la produzione del Testosterone consentono lo sviluppo dei testicoli [46].

L'esistenza e lo studio di alcune patologie a carico del gene SRY e dei cromosomi sessuali hanno consentito di capire meglio il processo di mascolinizzazione e femminilizzazione fetale. La prima di queste condizioni prende il nome di Sindrome di Morris ed è caratterizzata da una resistenza dei tessuti fetali alla stimolazione da parte del Testosterone. In questo caso si parla di un embrione con cariotipo XY e gene SRY funzionante che vede una formazione di gonadi che iniziano a produrre Testosterone. Il Testosterone prodotto però non riesce a stimolare i tessuti poiché vi è una resistenza al suo effetto impedendo quindi la mascolinizzazione fetale che si sviluppa dunque in senso femminile [47]. In questo caso è possibile avere una persona fenotipicamente femmina che presenta però degli pseudotesticoli e un cariotipo tipicamente maschile.

Esistono poi delle rare mutazioni *loss of function* che inattivano il gene SRY andando a produrre, come nel caso della sindrome di Morris, un cariotipo maschile ed un fenotipo femminile e al contrario è possibile avere una trasposizione del gene SRY sul cromosoma X producendo individui XX ma con fenotipo maschile (o viceversa) [48].

Il ruolo centrale del gene SRY è quello quindi di stimolare la formazione di cellule che siano in grado di produrre Testosterone in modo che questo guidi lo sviluppo embrionale verso il sesso maschile. In assenza di questo gene non vi è la stimolazione ormonale necessaria allo sviluppo dei testicoli e si sviluppano quindi le ovaie manifestando un fenotipo femminile.

La sola presenza di un fenotipo maschile ottenuto dalla trasposizione del gene SRY non garantisce però la fertilità del paziente: vengono infatti prodotti dei testicoli in grado di secernerne il Testosterone, ma spesso mancano altri geni presenti nel cromosoma Y che consentono lo sviluppo degli spermatozoi [49].

4.1.8.1. *Aneuploidie*

Esistono delle condizioni genetiche a carico dei cromosomi sessuali che possono portare a delle manifestazioni fenotipiche particolari: le aneuploidie. Si parla di aneuploidia quando i cromosomi si presentano in un numero differente da 46,

portando a manifestazioni spesso non compatibili con la vita. Al di fuori della coppia di cromosomi sessuali l'aneuploidia più famosa e comune è la trisomia 21 che si manifesta con la sindrome di Down. Le caratteristiche uniche della coppia di cromosomi sessuali, come l'effetto di lyonizzazione, rendono possibili diverse aneuploidie, correlate a patologie che possono essere più o meno impattanti nella vita del paziente. Le cause più comuni di questi errori sono la non disgiunzione che può avvenire sia durante le prime fasi della meiosi, venendo quindi ereditata da tutto l'embrione, o durante le prime fasi dello sviluppo post zigotico.

In questo caso nel feto sarà presente un mosaicismo, ossia presenterà alcune cellule mutate e alcune sane con un effetto più o meno impattante sul fenotipo dell'individuo [50].

4.1.8.2. *Sindrome di Turner (45, X0)*

La sindrome di Turner è causata dalla deplezione di un cromosoma sessuale, indipendentemente se X o Y, che lascia una singola copia di un cromosoma X. Il meccanismo per mezzo del quale avviene questa deplezione non è ancora stato completamente compreso, ma si è studiato come i danni provocati da questa condizione siano probabilmente collegati ad un "*Gene Dosage Effect*" ossia una mancanza di geni in omozigosi che porta a non avere una sufficiente quantità del loro prodotto manifestando effetti negativi nell'organismo [51]. Le manifestazioni più comuni della sindrome di Turner comprendono: bassa statura con ritardo della crescita, amenorrea primaria, infertilità e mancato sviluppo puberale, sintomi neurologici come difficoltà di concentrazione e apprendimento, ipoacusia, problematiche linfatiche e malformazioni come clinodattilia, scoliosi, unghie fragili, disallineamento degli occhi, micrognazia, blefaroptosi e anomalie cardiache. La sindrome di Turner si può presentare anche con varie micro-delezioni del cromosoma X che portano, a seconda della posizione, a fenotipi differenti rendendo questa malattia molto varia nella sua manifestazione [52].

4.1.8.3. *Sindrome di Klinefelter (47, XXY)*

Sindrome genetica caratterizzata dalla presenza di un cromosoma X aggiuntivo (cariotipo XXY), causato da una mancata disgiunzione durante la prima meiosi [53]. Questo errore può provenire sia dal gamete materno che paterno e si può presentare come forma pura 47,XXY nell'80-90% dei casi, mentre le restanti

casistiche comprendono diverse aneuploidie (48,XXXXY o 48,XXYY), anomalie strutturali dell'X (47,iXq,Y) o situazioni definite di mosaicismo [53].

La sindrome di Klinefelter presenta un ampio spettro di caratteristiche fenotipiche. Tra le possibili manifestazioni cliniche si annovera la diminuzione del volume testicolare (inferiore ai 4 ml), ipogonadismo ipogonadotropo, azoospermia ginecomastia e habitus eunucoide. Questa sindrome si associa, inoltre ad altre complicanze tra cui la sindrome metabolica, l'obesità, le malattie cardiovascolari, il tromboembolismo venoso, l'osteoporosi e il criptorchidismo.

Normalmente le forme a mosaico risultano meno severe, ma in generale si nota un aumento della statura in tutti i pazienti [54] [55].

Oltre al genotipo classico esistono altre varianti della sindrome di Klinefelter che si presentano come 48,XXYY, 48,XXXXY e 49,XXXXXY o mosaicismi. Nonostante la differenza queste condividono quasi interamente il fenotipo con la sindrome di Klinefelter [56]

4.1.8.4. Altre trisomie

Esistono inoltre altre trisomie degne di nota nell'ambito dei cromosomi sessuali. La prima è la trisomia della X (47, XXX), la più comune nel sesso femminile e tra le trisomie analizzate. È spesso trovata in mosaicismo con altre aneuploidie legate alla X e raramente anche con la sindrome di Turner [57]. Si stima che questa trisomia si manifesti in un paziente ogni 1000 nascite [58] [59] [60].

Vi è infine la trisomia 47, XYY, che si stima essere la più comune dopo la sindrome di Klinefelter con una prevalenza di 1-5 pazienti ogni 10.000 [61] [62].

4.1.9. Trasposizione del gene SRY

Esiste una rara condizione che venne studiata per la prima volta nel 1964 che prende il nome di disordine ovotesticolare dello sviluppo sessuale. L'evento scatenante in questa patologia è una trasposizione di un segmento di DNA che dovrebbe contenere il gene SRY dal braccio corto del cromosoma Y al cromosoma X. Le manifestazioni della sindrome si differenziano in base al fatto che questo segmento contenga o meno il gene SRY definendo quindi un caso SRY+ e uno SRY-.

Nel primo caso, si presentano pazienti con organi genitali interni ed esterni maschili ben formati ad eccezione del ridotto volume testicolare. Nel caso SRY- vi è una completa ambiguità dei genitali con la manifestazione classica del disordine

ovotesticolare dello sviluppo sessuale. Pare che dietro a questa malattia si nasconda la presenza di alcuni geni nel braccio corto della Y vicini al gene SRY che subirebbero delle mutazioni *gain of function* che quindi consentirebbero loro di produrre una minima virilizzazione anche in assenza del gene. Contemporaneamente la mancanza di SRY porta ad una virilizzazione parziale e alla manifestazione delle caratteristiche femminili [55].

4.1.10. Mutazioni ai geni SRY e NR5A1

Lo studio delle mutazioni del gene SRY e del gene NR5A1 ha consentito di far luce sul processo di mascolinizzazione dell'embrione tanto che questi sono ritenuti esserne le componenti principali. Mutazioni di NR5A1 e trasposizioni di SRY portano alla generazione di genitali ambigui nel paziente, che mostrerà quindi sia caratteri maschili che femminili. Inoltre, mutazioni in eterozigosi del gene NR5A1 hanno portato alla manifestazione di insufficienza ovarica suggerendo quindi l'importanza di questo gene sia per lo sviluppo testicolare che per la follicologenesi ovarica [63].

Questo sottolinea l'importanza del gene NR5A1 sia nello sviluppo maschile che nello sviluppo femminile fungendo da regolatore per la produzione di steroidi sia a livello del surrene che a livello gonadico [63].

4.1.11. Ormoni e differenza di genere

Lo sviluppo sessuale parte dalla genetica del paziente che codifica per una mascolinizzazione o femminilizzazione del feto. La secrezione di ormoni sessuali, però, si ferma dopo la nascita e rimane inattivo fino alla pubertà dove un nuovo picco di ormoni sessuali porta alla maturazione dei caratteri sessuali primari e alla comparsa dei caratteri sessuali secondari [64].

4.1.11.1. Testosterone

Il Testosterone è l'ormone maschile principale e viene prodotto nel testicolo a livello delle cellule di Leydig. Una volta rilasciato in circolo, viaggia nel sangue per raggiungere i tessuti bersaglio dove viene metabolizzato dalla 5 α R, 5 α -Reduttasi. Il metabolismo ad opera di questo enzima produce il DHT, il diidrotestosterone, la forma attiva del Testosterone [65].

A livello fetale il gene SRY stimola la formazione delle cellule di Leydig, principali produttrici di Testosterone, che quindi indirizzano lo sviluppo fetale verso il sesso maschile. In questo modo vi è una stimolazione alla formazione di testicoli, scroto, vescichette seminali, dotti deferenti e prostata. Contemporaneamente, le cellule di Sertoli producono ormone anti-mulleriano (AMH) che produce la regressione delle strutture mulleriane (utero, ovaio e cervice uterina). Negli ultimi 2-3 mesi di gestazione, il Testosterone ha anche il compito di stimolare la discesa del testicolo nello scroto.

Dopo la nascita vi è una fase di quiescenza testicolare che termina con lo sviluppo puberale. Con l'inizio della fase puberale, le cellule di Leydig iniziano nuovamente a produrre Testosterone stimolando lo sviluppo dei caratteri sessuali maschili sia primari che secondari: pene e testicoli aumentano di dimensioni, viene stimolata la crescita del pelo corporeo e avviene un abbassamento del tono della voce. Il Testosterone ha inoltre un importante ruolo nella calvizie maschile stimolando la caduta dei capelli nella regione fronto-parietale dei soggetti predisposti geneticamente ed è il principale colpevole dello sviluppo dell'acne maschile stimolando le ghiandole sebacee e rendendo più consistente il tessuto sottocutaneo. Altri effetti del Testosterone comprendono lo sviluppo muscolare e scheletrico con il cambio di conformazione del bacino, oltre a una redistribuzione del grasso corporeo verso un profilo più androide [65].

Un effetto importante è quello relativo all'eritropoiesi: Il Testosterone stimola infatti il midollo osseo a produrre nuovi eritrociti portando ad un aumento dell'ematocrito e dell'emoglobina [66]. Nel caso delle terapie sostitutive a base di Testosterone questo aumento è visibile già nei primi 3-6 mesi, diventando meno probabile dopo un anno di terapia [67]. È importante tenere in considerazione questo effetto del Testosterone in quanto l'aumento dell'ematocrito porta a una aumentata viscosità sanguigna che può predisporre all'insorgenza di eventi cardiovascolari maggiori [33].

Il Testosterone è strettamente legato alla salute cardiovascolare in quanto una sua variazione, indipendentemente dalla direzione della stessa, porta ad un aumento del rischio cardiovascolare. La terapia a base di Testosterone nei pazienti ipogonadici ha portato ad avere un ottimo controllo sulla sintomatologia della malattia mostrando anche effetti protettivi sul sistema cardiocircolatorio [68] ma questo farmaco deve essere però attentamente dosato sulle esigenze del paziente: alcuni

studi sugli effetti collaterali della terapia sostitutiva a base di Testosterone hanno mostrato un aumento del rischio cardiovascolare tanto da sconsigliarne l'utilizzo in categorie fragili come chi ha avuto eventi cardiovascolari nei sei mesi precedenti [67]. L'eccesso di Testosterone porta quindi ad un aumento del rischio tromboembolico e cardiovascolare legato all'aumento dell'ematocrito e della viscosità del sangue [35].

Sorprendentemente, anche la mancanza di Testosterone porta ad un aumento del rischio tromboembolico: lo studio dei pazienti affetti da sindrome di Klinefelter ha mostrato come vi sia un rischio di manifestare eventi tromboembolici che si stima essere dalle 4 alle 8 volte maggiore nel paziente malato rispetto ai controlli [69] [70] ed è stato notato come questo sia presente sia prima che dopo la diagnosi [71]. Questa informazione è molto utile a comprendere come l'aumento del rischio non sia imputabile ad una errata gestione della terapia a base di Testosterone, quindi colpa di un eccesso di ormone, ma piuttosto alla sua mancanza. L'effetto è infatti causato dalla tendenza all'aumento del BMI nel paziente Klinefelter che associato alla mancanza di Testosterone porta ad un aumento del PAI-1 che agisce inibendo la fibrinolisi [72] [73].

Nel sesso femminile esiste una condizione che colpisce dal 5% al 20% della popolazione che genera uno stato di iperandrogenismo: la sindrome dell'ovaio policistico [74]. Nell'ovaio policistico avviene una maggiore espressione dei citocromi P450c17 e P450scc che sono responsabili della produzione di Testosterone nell'ovaio. Questa eccessiva produzione di Testosterone può portare allo sviluppo di irsutismo, acne e/o alopecia; si stima, infatti, che quasi l'80% delle donne che presentano questi sintomi di iperandrogenismo sia affetta da ovaio policistico [75].

Nonostante questo aumento porti ad effetti a livello epatico, muscolare, nervoso e metabolico [74] il rapporto con le problematiche cardiovascolari è ancora soggetto di studio. La presenza, nella sindrome dell'ovaio policistico, di molti fattori che aumentano il rischio cardiovascolare potrebbe spiegare l'aumento della mortalità per queste cause, rendendo difficile comprendere quale sia l'effettivo ruolo del Testosterone [76]. Non vi è dubbio che questo ormone abbia un effetto sul sistema cardiocircolatorio delle persone affette da sindrome dell'ovaio policistico, rimane però incerto il meccanismo di azione in questa specifica malattia.

4.1.11.2. *Estrogeni*

Sono ormoni steroidei femminili, necessari allo sviluppo dei caratteri sessuali nella femmina. La loro produzione avviene nelle ovaie e in minima parte nel surrene, mentre durante la gravidanza vengono prodotti in grande quantità anche dalla placenta.

Ne esistono differenti forme che prendono il nome che vengono prodotte in specifici loci corporei [77]:

- 17 β -Estradiolo: è il principale e più forte tra gli estrogeni e viene prodotto dall'ovaio
- Estrone: è l'ormone con l'effetto meno marcato tra gli estrogeni, viene prodotto nel tessuto adiposo dalla conversione degli androgeni. Viene prodotto mediante lo stesso processo anche nel maschio.
- Estriolo: viene prodotto dalla placenta durante la gravidanza, negli individui non in gravidanza è trovato in minime quantità.

Gli estrogeni hanno il compito di stimolare lo sviluppo dei caratteri sessuali primari e secondari nella femmina e la loro produzione non è costante nel tempo. Dopo la nascita i livelli di estrogeni nel sangue rimangono bassi fino alla pubertà: in questa fase vi è un aumento della produzione di ormoni sessuali che consente lo sviluppo dei caratteri sessuali secondari e l'inizio delle mestruazioni con il menarca. Questo evento dà inizio al periodo fertile della donna che durerà fino a che non sopraggiungerà la menopausa, periodo nel quale vi è una importante riduzione della secrezione di ormoni sessuali.

Gli estrogeni durante la pubertà portano all'ingrandimento dei genitali sia interni che esterni: avviene un ingrossamento dell'utero, delle tube e delle ovaie e una deposizione di tessuto adiposo sul monte di Venere e sulle grandi labbra. Al di fuori dell'apparato riproduttore, gli estrogeni stimolano un aumento del volume della ghiandola mammaria definita telarca, primo effetto della pubertà nella femmina, che viene dato principalmente dalla deposizione locale di tessuto adiposo e dallo sviluppo dell'epitelio che riveste interamente i dotti ghiandolari. Contestualmente avviene anche la produzione di nuovi vasi sanguigni per nutrire la struttura e un aumento della permeabilità del tessuto connettivo circostante.

Gli estrogeni non si limitano alla manifestazione dei caratteri sessuali primari e secondari, ma hanno anche un importante ruolo metabolico andando ad agire su

osso, deposizione del tessuto adiposo, produzione sebacea e vascolarizzazione della cute [65].

I livelli di estrogeni correlano con la salute cardiovascolare: è chiaro, infatti, che livelli fisiologici di questi ormoni abbiano un effetto protettivo sul sistema cardiocircolatorio [31] [78]. Sbilanci nei livelli ematici di questi ormoni, possono portare ad un aumento dell'incidenza di differenti malattie a carico del cuore e dei vasi: gli studi sulla menopausa, fisiologica e iatrogena, dimostrano che la mancanza di estrogeni genera un aumento dell'incidenza di ictus ischemici e di infarti coronarici [31]. Allo stesso modo un eccesso di questi ormoni può portare all'aumento del rischio di sviluppare trombosi come viene sottolineato dagli studi sulle terapie ormonali sostitutive e sugli anticoncezionali orali [79].

L'effetto protettivo di dosi fisiologiche di estrogeni sulla manifestazione di eventi cardiovascolari maggiori nella femmina è stato testato anche nel maschio: basandosi su questo principio, sono stati condotti degli studi che prevedevano la somministrazione di estrogeni ad un gruppo di uomini. È risultato che anche nell'uomo la somministrazione di concentrazioni fisiologiche di ormoni femminili porta ad un abbassamento del rischio cardio-vascolare [80] riducendo inoltre l'isulino-resistenza, l'intolleranza al glucosio e l'incidenza di DM2. Questo è particolarmente vero soprattutto in quegli individui che hanno una mutazione nel gene dell'aromatasi, enzima atto alla conversione degli androgeni in estrogeni.

Studiando le concentrazioni di estrogeni in questi soggetti si nota che esiste un range ottimale nel quale mantenere i livelli di estrogeni nel maschio al fine di ridurre i rischi cardiovascolari. Questo limite si attesta tra 22 e 30 pg/ml, soglia molto inferiore a quella a cui le femmine sono esposte durante tutte le fasi del ciclo [78]. Alcuni studi degli anni '70 e '80 che volevano ricercare dei farmaci per ridurre il rischio cardiovascolare nel maschio hanno fornito dati contrastanti scoprendo come la somministrazione di estrogeni porti ad un aumento sensibile dell'incidenza di morti per cause cardiovascolari [81] [82].

La somministrazione di estrogeni nel maschio, o nel paziente assegnato maschio alla nascita, deve essere fatta in modo molto controllato impostando dei follow up precisi e regolari in modo da controllare e bilanciare la terapia tenendo il rischio cardiovascolare al minimo.

4.1.11.2.1. Gravidanza

Durante la gravidanza, si assiste ad importanti modifiche dell'assetto ormonale femminile con un aumento della produzione di estrogeni e progesterone. Di conseguenza, la gravidanza e il post-partum rappresentano della situazione in cui il rischio tromboembolico della donna aumenta significativamente. Infatti, la gravidanza aumenta il rischio tromboembolico di 5 volte rispetto al controllo, rischio che diventa 60 volte maggiore nei tre mesi successivi al parto [32].

Il rischio di sviluppare tromboembolismo venoso non è inoltre costante durante la gravidanza, ma aumenta in maniera lineare raggiungendo un picco nel terzo trimestre [32].

4.1.11.2.2. Menopausa

Si definisce menopausa il periodo della vita di una donna successivo all'età fertile. In questo periodo le ovaie smettono di produrre estrogeni e ovuli fecondabili, portando, dopo una iniziale fase di cicli irregolari, all'amenorrea. L'età di inizio della menopausa varia nella popolazione con una media che si aggira attorno ai 52 anni.

Come detto in precedenza, quindi, l'abbassamento dei livelli di estrogeni prodotto dalla menopausa porta a mancare, nel sesso femminile, quel fattore di protezione che abbassa l'incidenza di problematiche cardiovascolari [78]. Esistono, però, delle condizioni nelle quali la menopausa può manifestarsi anticipatamente: è il caso della menopausa chirurgica e della menopausa precoce. Nel primo caso le ovaie vengono rimosse in seguito a chirurgia oncologica andando a generare una menopausa che viene definita anche iatrogena. Si parla, invece di menopausa precoce, o anticipata, se questa si presenta prima dei 45 anni di età in maniera spontanea. Esiste, infatti, una piccola percentuale di individui, circa il 2-5% della popolazione femminile, in cui la produzione di estrogeni e ovuli fecondabili da parte delle ovaie si conclude prematuramente. In questa specifica popolazione, l'incidenza delle problematiche legate all'ipogonadismo è maggiore poiché queste pazienti vengono esposte per più tempo ad una situazione di ipoestrogenismo. Allo stesso modo anche nella menopausa chirurgica l'incidenza degli effetti dell'ipogonadismo, come l'aumento del rischio cardiovascolare, hanno un'incidenza maggiore rispetto alla popolazione fertile.

Pertanto, in caso di menopausa precoce, qualsiasi sia la motivazione per la sua insorgenza, è raccomandata la somministrazione di terapia ormonale sostitutiva per ridurre il rischio di complicanze cardio-metaboliche nelle pazienti [83].

4.1.12. Ormoni esogeni

Le terapie ormonali non si limitano solo alla terapia di affermazione di genere: esistono infatti condizioni, come quelle sopra descritte, dove la mancanza di ormoni potrebbe renderne necessaria la somministrazione esogena. In questi casi si somministrano ormoni del sesso assegnato alla nascita perché lo scopo della terapia è quello di curare una condizione di ipogonadismo sia nel maschio che nella femmina. Questo genere di terapia viene definita Terapia Ormonale Sostitutiva (TOS).

La terapia a base di estrogeni e progestinici viene inoltre utilizzata come metodo anticoncezionale per impedire l'instaurarsi di gravidanze non desiderate. Questa terapia prende il nome di Contraccezione Ormonale Combinata (COC) e viene usata dai ginecologi anche per ridurre la sindrome premestruale nelle donne in età fertile.

Esiste, inoltre, la somministrazione di ormoni a scopo di doping nello sport. In questo caso vengono usati Steroidi Androgeni Anabolizzanti (SAA) per migliorare la performance sportiva. Naturalmente questa pratica è illegale.

4.1.12.1. *Contraccezione ormonale*

Per contraccezione si intende il complesso dei sistemi che vengono utilizzati per impedire la gravidanza. È possibile categorizzare i vari metodi di contraccezione in base al loro rapporto temporale con l'amplesso dividendole in prima, durante e dopo l'atto sessuale [84].

La contraccezione prima del rapporto è composta da un insieme di ormoni che inibiscono l'ovulazione e modificano il muco vaginale per rendere la struttura più difficilmente attraversabile dagli spermatozoi. Di questa tipologia esistono differenti formulazioni: la pillola estroprogestinica o a base di soli progestinici, l'anello vaginale, i cerotti transdermici e la contraccezione sottocutanea [85].

La spirale (IUD, intra uterine device), si pone a metà tra la contraccezione prima e durante il rapporto ed è composta da un dispositivo posizionato dal ginecologo all'interno dell'utero. Esistono due tipologie di IUD: un dispositivo rivestito di

rame e uno che rilascia piccole dosi di progestinico (Levonorgestrel). Questo metodo contraccettivo ostacola la fecondazione dell'ovulo da parte degli spermatozoi e crea un ambiente endometriale meno favorevole all'impianto dell'embrione [85].

I metodi che vengono usati durante il rapporto sono definiti a barriera e possono fungere da barriera meccanica al passaggio degli spermatozoi, come nel caso di preservativi e diaframmi, o barriere chimiche come per gli spermicidi [85].

La contraccezione successiva al rapporto è detta contraccezione di emergenza pertanto deve essere intesa come un metodo occasionale e non come sostituzione degli altri metodi contraccettivi: in questo caso dopo un rapporto a rischio si somministra una pillola ad alte dosi di progestinici o il posizionamento tempestivo di un IUD da parte di un ginecologo per impedire l'impianto dell'ovulo [85].

La COC è composta dall'associazione di estrogeni e progestinici che nonostante siano farmaci altamente studiati e sicuri [85], non sono esenti da effetti collaterali: l'atrofia dell'ovaio, l'ipertrofia uterina e dalla ghiandola mammaria, amenorrea prolungata in seguito a sospensione della pillola, effetti sulle strutture nervose, funzione endocrina, metabolismo di lipidi e fegato sono le problematiche che le donne a cui viene somministrato questo farmaco possono sperimentare.

La somministrazione di COC ha inoltre mostrato nelle donne un aumento del rischio tromboembolico dalle 3 alle 6 volte. Questo rischio è particolarmente elevato soprattutto nei primi 6-12 mesi di somministrazione e, dividendo le pazienti in base alla loro età, ha la maggiore incidenza nella fascia tra i 40 e i 50 anni.

Il rischio aumentato di andare incontro ad un primo evento trombotico quando si fa uso di contraccettivi orali dipende da diversi fattori.

Il primo di questi da tenere in considerazione è naturalmente il dosaggio: studi su diverse tipologie di COC hanno mostrato che alte dosi di estrogeni possono portare a raddoppiare il rischio di sviluppare tromboembolismi venosi [79].

Altro fattore molto importante per la definizione del rischio è la tipologia di estrogeni utilizzata: la storia dello sviluppo dei contraccettivi orali mostra che vi è stato il passaggio graduale dall'utilizzo di Etinilestradiolo (EE) all'utilizzo di estradiolo valerato (E2V) e infine all'utilizzo di estradiolo. È stato notato infatti che il progressivo passaggio a diverse tipologie di estrogeni ha ridotto gradualmente il rischio di sviluppare tromboembolismi a parità di progestinico usato: l'utilizzo di EE mostrava un'incidenza di circa 5-12 eventi tromboembolici ogni 10.000 pazienti

(variabile a seconda dello studio preso in considerazione), la somministrazione di E2V 7 su 10.000, mentre infine, la somministrazione di estradiolo solo di 2 pazienti ogni 10.000 trattate [86].

Il progestinico associato, infine, modifica in maniera importante il rischio tromboembolico: lo studio di diversi progestinici associati ad uno stesso estrogeno ha portato alla conclusione che la relazione del progestinico con l'AR giochi un importante ruolo [86]. Per esempio, il Ciproterone acetato mostra un rischio relativo di 2,4 volte maggiore rispetto a quello del Levonorgestrel progestinico di II generazione [87].

L'analisi dei marcatori della coagulazione delle pazienti in terapia con COC ha notato differenti modifiche dei fattori della coagulazione sottolineando come non sia possibile imputare ad una singola causa l'aumento del rischio tromboembolico. Sebbene, infatti, i tempi di sanguinamento non cambino [88] esistono molteplici fattori, sia pro che anticoagulanti, che vengono modificati andando ad aggravare condizioni preesistenti, come la presenza di fattori di rischio slegati dalla terapia ormonale, che aumentano il rischio tromboembolico [86].

4.1.12.2. *Terapia ormonale sostitutiva*

Questa terapia viene prescritta nelle donne in menopausa per alleviare la sintomatologia da ipogonadismo tipica di questa condizione. La terapia è composta dall'utilizzo, come nella COC di estrogeni e progesterone per poter sostituire in maniera completa gli effetti delle gonadi che smettono di produrre ormoni con il passare del tempo.

Tipicamente la paziente in menopausa si presenta dal medico lamentando sintomi vasomotori, secchezza delle mucose, sintomi sessuali e neuropsicologici chiedendo pertanto un farmaco che migliori la sua qualità di vita. La somministrazione della TOS, però, ha anche il compito di proteggere la paziente dall'insorgenza di osteoporosi e dall'aumento del rischio cardiovascolare tipico di questa condizione. La TOS viene somministrata per lunghi periodi di tempo, soprattutto in casistiche come la menopausa anticipata [83], pertanto è importante valutare gli effetti collaterali. Uno studio facente parte del progetto WHI (*Woman's Health Initiative*) ha provato a sottolineare i rischi della terapia sostitutiva a base di estrogeni e progestinici sottolineando un possibile aumento del rischio cardiovascolare [83]. Le variabili confondenti all'interno di questi gruppi di studio, però, non hanno reso

possibile confermare che l'aumento del rischio non sia imputabile all'obesità o all'insulino-resistenza [89].

In quanto a rischio cardiovascolare, tuttavia, è stato dimostrato come l'effetto sulla riduzione delle LDL, che aumentano in maniera fisiologica una volta che viene soppressa la produzione endogena di estradiolo, non è sufficiente a produrre un effetto protettivo. Nonostante questo, lo stato dell'arte attualmente suggerisce la somministrazione di questo farmaco alle pazienti, soprattutto se queste sono entrate in una menopausa anticipata [83].

4.1.12.3. *Doping*

L'utilizzo di steroidi anabolizzanti (AAS) come metodo per aumentare la performance sportiva o per modificare l'apparenza del corpo è ampiamente conosciuto sebbene non ci siano molti studi sugli effetti a lungo termine di queste sostanze. Si stima che in America vi siano dai 2,9 ai 4 milioni di sportivi che fanno uso, o hanno fatto uso per un periodo di tempo prolungato, di questi ormoni per scopi sportivi [90].

I pochi studi che si sono proposti di analizzare gli effetti di questi ormoni sul sistema cardiocircolatorio hanno messo in luce una presenza preponderante di placche arteriosclerotiche a livello coronarico nei pazienti che fanno uso di steroidi. È stato riscontrata, infatti, una correlazione diretta tra anni di utilizzo ed estensione delle placche, ma non con il loro spessore [91].

Anche la struttura cardiaca viene cambiata dall'utilizzo di steroidi anabolizzanti. In queste persone il volume e lo spessore di parete del ventricolo sinistro sono aumentati, mantenendo tuttavia una ipertrofia concentrica. Il 71% dei pazienti che fanno attivamente uso di steroidi anabolizzanti mostra una ridotta frazione di eiezione del ventricolo sinistro (<52%). Tuttavia, la sospensione dell'uso di farmaci anabolizzanti, porta a una normalizzazione della funzione ventricolare. Anche la velocità di rilassamento del ventricolo sinistro risulta rallentata negli utilizzatori attivi con il 50% di essi che non raggiunge il cutoff di 8,5 cm/s. A differenza della frazione di eiezione questo effetto è solo parzialmente recuperato nei pazienti che hanno smesso di fare uso di queste droghe [91].

L'effetto di queste sostanze sulla coagulazione è mediato da differenti fattori: è stato infatti notata una maggiore incidenza di disturbi della coagulazione in seguito al consumo continuativo di AAS che è stata imputata in maniera diretta ed indiretta

all'aumento di ormoni maschili in circolo [92]. L'effetto degli androgeni sulla coagulazione ha come primo fattore l'effetto sulle piastrine che vengono stimulate nella produzione di trombossano A₂, un importante fattore aggregante. Contemporaneamente nel tessuto muscolare liscio delle arterie, soprattutto a livello dell'aorta, viene inibita la produzione di PGI₂, un inibitore dell'aggregazione piastrinica. Gli androgeni stimolano inoltre la produzione di piastrine effetto che unito ai due sopracitati, è sufficiente a spiegare l'aumentata incidenza di coaguli riscontrati nei pazienti che fanno uso di AAS.

L'utilizzo di derivati sintetici del Testosterone porta, come per la terapia ormonale, a base di solo Testosterone, ad un aumento della viscosità del sangue che si manifesta con un conseguente aumento del rischio cardiovascolare.

Oltre agli effetti diretti, però, esistono anche degli effetti indiretti degli androgeni sulla coagulazione come l'aumento del colesterolo LDL e del fibrinogeno che stimolano l'aggregazione delle piastrine [93].

4.2. Incongruenza di genere

Il termine "*incongruenza di genere*" è stato introdotto nell'undicesima edizione dell'*International Classification of Diseases* (ICD-11) per indicare tutte quelle persone che percepiscono una significativa e persistente incongruenza tra la propria identità di genere e il sesso assegnato alla nascita [2] [94]. Questa definizione è un traguardo raggiunto solo recentemente dalla comunità scientifica: fino al 2015 il DSM-IV non conteneva una definizione univoca per l'incongruenza di genere che trovava spazio nelle due differenti patologie, al tempo, di "*Disturbo dell'identità sessuale*" e "*Transessualismo*". Fu proprio il passaggio al DSM-V che portò l'introduzione del termine "*disforia di genere*" e, di conseguenza, alla possibilità di identificare e sviluppare con il tempo, un percorso adatto al suo trattamento sollevando l'importante condizione di malessere e stress della persona. È proprio su questa condizione che si concentra la definizione attuale, poiché si parla di disforia di genere quando una persona "prova malessere verso il proprio genere assegnato alla nascita, non identificandosi in esso, e vive o vorrebbe vivere come una persona appartenente al genere opposto o altro genere" [95].

Allo scopo di slegare i termini dalla loro radice binaria, si preferisce considerare il sesso assegnato alla nascita. In ambito scientifico si utilizzano i termini assegnato

maschio alla nascita (Assigned Male At Birth - AMAB) e assegnate femmine alla nascita (Assigned Female At Birth - AFAB). Questi termini hanno sostituito i precedenti MtF (Male to Female, da maschio a femmina) e FtM (Female to Male, da femmina a maschio) e permettono di includere anche le persone che non si riconoscono in nessuno dei due generi, ovvero la cui identità è non binaria (*non-binary*) [2].

Lo studio dell'identità di genere ha messo in luce come questa si formi già durante la vita fetale grazie all'effetto degli ormoni sessuali sul sistema nervoso centrale in via di sviluppo. Son state, infatti, notate differenze sostanziali nella struttura cerebrale di maschi e femmine e, analizzando il cervello di pazienti transgender è stato studiato come questa rispecchi il genere percepito e non il sesso assegnato alla nascita [96]. Questi studi hanno mostrato che volume di materia grigia, spessore corticale, grandezza delle strutture sottocorticali come putamen e ippocampo, nonché struttura del peduncolo cerebrale e giri fronto-occipitale inferiore destro, parietali bilaterali e temporali siano differenti nei due sessi. I pazienti transgender differiscono nella grandezza di queste strutture dal gruppo cisgender che condivide con loro il sesso assegnato alla nascita mostrandosi invece molto più simili al genere percepito [96].

Alcune altre teorie pongono l'accento sullo sviluppo neonatale e sul fenotipo genitale del soggetto: lo sviluppo di genitali non conformi con il proprio genotipo porterebbe con maggiore probabilità alla manifestazione di incongruenza di genere durante la vita [96].

Le persone transgender che desiderano modificare il proprio aspetto fisico per renderlo più aderente alla propria identità di genere possono intraprendere un processo di affermazione di genere. Il percorso, personalizzato in base ai desideri e alle aspettative della persona, comprende in genere il supporto psicologico, la terapia ormonale, gli interventi chirurgici e la rettifica anagrafica del nome e del genere anagrafico [97] [98] [99].

I numeri dei pazienti transgender che si rivolgono ad un medico per iniziare questo genere di percorso sono in netto aumento e negli ultimi anni sono stati eseguiti degli studi per comprendere la grandezza della popolazione transgender, ma i dati che sono stati ottenuti sono spesso discordanti.

Basandosi sui sistemi sanitari, attualmente si stima che tra la popolazione adulta mondiale le persone transgender siano circa lo 0,5%, con importanti oscillazioni tra

gli studi che mostravano da 0,02% a 2,2% nella popolazione generale e valori fino al 1,2-2,7% nei giovani [100].

Indagando la popolazione per fascia di età è stato notato un effetto interessante: pare che le percentuali relative ad ogni fascia dimostrino un aumento della prevalenza di persone transgender nelle nuove generazioni rispetto che nelle vecchie. Le fasce d'età prese in considerazione sono le persone nate prima della fine della Seconda Guerra Mondiale (prima del 1945, 0,12%), quelli definiti “*baby boomer*” (1946-1965, 0,15%), *generazione X* (1966-1980, 0,19%), *millennials* (1981-1996, 0,51%) e *generazione Z* (1997-2006, 0,76%) [101]. Non è chiaro come interpretare questo dato, se con un aumento della presenza di persone transgender, come un aumento della consapevolezza e quindi una manifestazione di una condizione prima ignorata o se ancora come un cambio nella società che ha visto recentemente una riduzione dello stigma e il tentativo di riconoscere adeguati diritti e una minore discriminazione. Sta di fatto che le persone che si rivolgono ad un centro specialistico per condizioni collegate all'incongruenza di genere sono aumentate di circa 20 volte se messe a confronto con le coorti storiche degli anni '80 [98].

4.2.1. Percorso di affermazione di genere

Si definisce percorso di affermazione (o percorso affermativo) l'insieme di passaggi che “porta una persona ad appartenere al genere in linea con l'identità di genere percepita” [2]. È importante sottolineare che le varie fasi che compongono il percorso affermativo non sono da intendersi come obbligatorie: ogni persona può personalizzare il proprio percorso decidendo di fermarsi alla tappa che sente più conforme alla sua identità.

Nella sua totalità il percorso comprende quattro passaggi consecutivi:

- 1) Il percorso Psicologico dove verrà redatto il documento di diagnosi di incongruenza di genere;
- 2) Il percorso Medico (Endocrinologico) che in seguito alla redazione del documento consisterà nella prescrizione e la somministrazione della terapia ormonale;
- 3) Il percorso Legale con la rettifica del nome e del sesso anagrafico su tutti i documenti legali di proprietà della persona;

- 4) Il percorso Chirurgico dove il paziente potrà ottenere le caratteristiche fenotipiche desiderate.

Durante il percorso legale, un avvocato competente deve inoltrare ad un tribunale la richiesta per il cambio anagrafico in modo che dalla sentenza in poi tutti i documenti siano aggiornati con il nome e il genere di elezione. Contestualmente è possibile chiedere al giudice anche l'accesso alla chirurgia affermativa: secondo la Legge Italiana, infatti, non vi è necessità della chirurgia affermativa per ottenere la rettifica dei dati anagrafici (Lg. 164/1982).

Si ribadisce che il percorso di affermazione è quanto più possibile personalizzato sui desideri del singolo individuo che potrebbe non essere interessato al cambio dei documenti e quindi fermarsi alla sola terapia ormonale di affermazione di genere.

4.2.1.1. *Percorso Psicologico: Diagnosi di Incongruenza di genere*

Il percorso di affermazione inizia con il percorso psicologico e con la diagnosi di incongruenza di genere. Questo percorso deve essere compiuto con un “esperto in *transgender care*” [100], normalmente psicologi e psichiatri. Nei colloqui psicologici la persona esplora la propria identità di genere mentre vengono messe in luce eventuali problematiche che possono comprometterne il benessere generale o costituire un rischio per la successiva terapia ormonale [102]. Nel contesto di queste visite viene anche redatto il documento di diagnosi di incongruenza di genere secondo l'ICD-11 [94].

È in questa fase che si inizia l'informazione del paziente su quelli che sono gli effetti possibili ed avversi, avvertendolo anche della possibilità di preservare la fertilità con il congelamento dei gameti.

Il percorso psicologico e clinico-diagnostico può avere durata variabile, ma ad ogni modo ha una durata di almeno sei mesi.

4.2.1.2. *Percorso Endocrinologico: Terapia affermativa*

La terapia farmacologica che accompagna lungo il percorso di affermazione di genere deve essere bilanciata e controllata con cura e, al fine di fornire una linea guida precisa ed aiutare i professionisti sanitari nell'accompagnamento dei pazienti, esiste un documento definito “*Standard of Care*” redatto dalla *World Professional Association for Transgender Health* (WPATH) [100]. In questo documento sono

stati identificati sette criteri per l'inquadramento dei pazienti che richiedono la terapia ormonale affermativa:

1. Si deve suggerire una terapia affermativa richiesta da un paziente transgender solo se la percezione di incongruenza di genere è marcata e duratura;
2. Ci si deve assicurare che i criteri diagnostici per incongruenza di genere siano rispettati prima dell'inizio della terapia affermativa nelle regioni dove la diagnosi è necessaria all'accesso alle cure;
3. Si deve identificare ed escludere altre possibili cause apparenti di Incongruenza di genere prima dell'inizio della terapia affermativa;
4. Ci si deve assicurare che non vi siano condizioni di salute mentale che possano impattare negativamente sugli esiti del trattamento ormonale, discutendo di rischi e benefici prima dell'inizio della terapia;
5. Ci si deve assicurare che non vi siano condizioni di salute fisica che possano impattare negativamente sugli esiti del trattamento ormonale, discutendo di rischi e benefici prima dell'inizio della terapia;
6. Si deve assicurare la capacità di fornire il consenso specifico al trattamento per prima dell'inizio della terapia;
7. Ci si deve assicurare della capacità di adulti transgender e gender diverse di comprendere gli effetti della terapia ormonale, in particolare per quanto riguarda la fertilità ed esporre eventuali soluzioni per la presentazione della stessa prima dell'inizio della terapia.

La terapia ormonale per l'affermazione di genere (GAHT – *Gender Affirming Hormonal Therapy*) prevede la somministrazione di ormoni come farmaci off-label poiché non esistono farmaci specificatamente creati per la terapia di affermazione di genere: i farmaci usati sono stati messi in commercio per la terapia dell'ipogonadismo maschile e femminile. Per tale ragione il paziente deve essere adeguatamente informato degli effetti attesi, della solidità dei dati alla base della nostra scelta terapeutica e dei possibili effetti collaterali; è mandatorio far firmare un consenso informato per l'utilizzo di farmaci off-label.

Come si è continuato a sottolineare la terapia è un percorso altamente personalizzato sui desideri e le aspettative del paziente. La modulazione della GAHT deve quindi tenere conto di quattro dimensioni per ottenere le trasformazioni fisiche attese dal paziente: mascolinizzazione, femminilizzazione,

demascolinizzazione, defemminilizzazione. Nel caso del paziente non-binario, non è ancora presente un paradigma condiviso [103] quindi risulta ancora più importante attuare un follow-up preciso per comprendere se la terapia stia dando gli effetti desiderati.

4.2.1.2.1. Terapia mascolinizzante

La terapia mascolinizzante è generalmente a base di Testosterone che può essere somministrato sia per via intramuscolo che come gel transdermico. La Tabella 1 mostra le diverse tipologie di farmaci, la via di somministrazione e la posologia. Al fine di ottenere la massima aderenza possibile alla terapia, la scelta della via di somministrazione viene decisa e discussa assieme al paziente per andare incontro alle sue esigenze e preferenze.

Le due vie di somministrazione differiscono per i livelli ormonali nel sangue poiché la via intramuscolo ha un'emivita più lunga generando un picco ormonale corrispondente all'iniezione, che si abbassa gradualmente tra le somministrazioni. La via transdermica, invece, ha un'emivita più corta (circa 24 ore) e mantiene quindi un livello costante di ormone nel sangue.

Gli effetti attesi dalla terapia sono gradualmente e possono insorgere in tempi differenti nei vari pazienti. I primi effetti che appaiono riguardano la sfera dell'umore e del desiderio sessuale che grazie al Testosterone aumenta; a livello genitale durante i primi sei mesi si ha un aumento della grandezza del clitoride e una atrofizzazione della mucosa vaginale. Entro i primi 6-12 mesi vi è la cessazione delle mestruazioni che però saltuariamente potrebbe richiedere un intervento aggiuntivo mediante l'utilizzo di progestinici, GnRH analoghi o altri dispositivi intra uterini [104]. L'abbassamento della voce e l'eventuale comparsa di acne a causa dall'aumento della produzione sebacea pelle sono tipici dei primi sei mesi di trattamento e a partire dal sesto mese di terapia, e generalmente entro l'anno, vi è la comparsa di barba e l'aumento dei peli corporei. Nello stesso periodo aumenta la massa muscolare e il tessuto adiposo viene ridistribuito in senso maschile [100] [105].

4.2.1.2.2. Terapia femminilizzante

La terapia femminilizzante è a base di Estrogeni e viene associata ad una terapia demascolinizzante a base di antiandrogeni che legano il recettore dell'ormone e ne impediscono l'effetto.

Come per il Testosterone, esistono diverse formulazioni

Come per il testosterone, esistono diverse formulazioni di estrogeni disponibili in commercio (Tabella 4-1). Si prediligono gli estrogeni naturali, in formulazione orale o transdermica (cerotto, gel, spray). Esistono inoltre delle formulazioni iniettive, non disponibili in Italia.

Per quanto riguarda gli antiandrogeni il più utilizzato in Europa è il Ciproterone acetato che presenta effetti antiandrogenici sia a livello centrale che periferico: questo farmaco ha un duplice effetto, il primo diretto sul recettore degli androgeni occupando il sito di legame e quindi impedendone l'attivazione; inoltre, essendo un progestinico, inibisce la secrezione di gonadotropine a livello centrale, portando alla soppressione della produzione testicolare di Testosterone. Un altro farmaco antiandrogeno frequentemente utilizzato (soprattutto in Nord America) è lo Spironolattone che ha un effetto analogo al Ciproterone andando ad antagonizzare il recettore del diidrotestosterone. Dato il suo effetto antagonista anche verso l'aldosterone, per cui viene utilizzato come diuretico antiipertensivo, il suo utilizzo è attentamente valutato in quanto potrebbe portare ad ipertensione o disidratazione. È inoltre possibile utilizzare gli analoghi delle GnRH somministrati per via intramuscolo o sottocutanea, i quali inibiscono la secrezione del GnRH. Anche in questo caso gli effetti della terapia sono gradualmente e, come per gli uomini transgender, i primi riguardano la sfera sessuale ed emotiva: in questo caso l'utilizzo di antiandrogeni soprattutto può portare a una riduzione del tono dell'umore e della libido portando inoltre ad una minore frequenza delle erezioni. L'ingrossamento della mammella si manifesta tra il terzo e il sesto mese di terapia e, nel 20% delle donne transgender, raggiunge entro i 12-24 mesi un livello compatibile con quello di una donna cisgender adulta (stadio Tanner G4-G5), senza necessità di interventi di mastoplastica additiva [106]. Contestualmente la pelle si fa più morbida e sottile, mentre l'adipe inizia a redistribuirsi in senso femminile e vi è una riduzione della massa muscolare. La crescita pilifera tende a diminuire a partire in media tra il sesto e il dodicesimo mese. A differenza della terapia mascolinizante, in questa terapia affermativa non si ottiene un sensibile cambio della voce. Infine, non sono chiare le tempistiche legate all'atrofia testicolare e al blocco della spermatogenesi [100] [105].

Tabella 4-1: Farmaci e posologia per GAHT Mascolinizzante, Femminilizzante e Demascolinizzante. Adattato da [107]

| Terapia | | Posologia |
|-------------------------|--|--|
| Testosterone (T) | Mix di Esteri del Testosterone | IM, 250 mg ogni 3 sett. |
| | Testosterone Enantato | IM, 250 mg ogni 2-4 sett. |
| | Testosterone Undecanoato | IM, 1000 mg ogni 12 sett. |
| | Testosterone Gel | TD, 50 mg/die |
| Estrogeni (E2) | Estrogeno Valerato | PO, 2-6 mg/die |
| | Estrogeno Cerotto | TD, 25-100 µg/24h 1-2 volte a settimana |
| | Estrogeno Emidrato Gel | TD, 1,5-3 mg/die |
| Antiandrogeni | Ciproterone Acetato | PO, 10-50 mg/die |
| | Spirolattone | PO, 100-200 mg/die |
| | GnRH analoghi (leuprolide, triptorelina) | IM o SC, 3,75 mg ogni 4 sett. o 11,25 mg ogni 12 sett. |

4.2.1.3. *Percorso Legale: Rettifica dei dati anagrafici*

Nel 1982 viene promulgata la legge 164/1982, la quale consentiva di fare richiesta per il cambio anagrafico solo per quelle persone che avessero già effettuato una chirurgia affermativa. La legge così redatta, però, poneva un importante vincolo che escludeva dalla possibilità di accedere a questa procedura tutte quelle persone che non erano intenzionate o non potevano per questioni economiche accedere alla chirurgia.

La legge così come era stata approvata non era, quindi, adatta alle esigenze della popolazione transgender, ma vennero fatti nuovi tentativi nel tempo di adeguare la legge alle richieste delle persone: dopo una prima modifica nel 2011 (art 31 del Decreto legislativo 150/2011), fu una sentenza della Corte di Cassazione n. 15138/2015 e la sentenza della Corte costituzionale n. 221/2015, entrambe pubblicate nel 2015, a definire il percorso come è in vigore oggi.

Si parla, quindi, di riattribuzione anagrafica per fare riferimento alla modifica dei dati personali come nome e sesso assegnato alla nascita nei registri dell'anagrafica a cui si è iscritti. Per ottenere questa riattribuzione è necessario richiedere

l'autorizzazione al tribunale di residenza portando documentazione medica e psicologica che certifichi la propria incongruenza di genere [2]. In questa sede è possibile chiedere anche l'accesso alla chirurgia affermativa mediante Sistema Sanitario Nazionale, ma, se la persona non fosse interessata a questa opzione, ci si può limitare al solo cambio anagrafico. Il giudice valuterà la richiesta per capire se la persona sia decisa a vivere in modo irreversibile secondo il genere di elezione e potrà richiedere una relazione psicologica e medica del percorso di affermazione di genere che la persona transgender sta seguendo, a sostegno della solidità della propria richiesta.

4.2.1.4. Percorso Chirurgico: Chirurgia affermativa

La chirurgia affermativa ha il compito di andare a modificare in maniera definitiva, i caratteri sessuali primari che non sono modificabili con gli ormoni. Attualmente in Italia è possibile fare questo genere di operazioni appoggiandosi al Sistema Sanitario Nazionale, ma non è raro che, i pazienti ricorrano a strutture private sul territorio nazionale o all'estero.

È possibile dividere gli interventi di chirurgia affermativa in due grosse categorie ossia la chirurgia del torace e dei genitali (Tabella 4-2).

Le operazioni al torace comprendono la mastoplastica additiva nelle persone AMAB e la mastoplastica riduttiva o la mascolinizzazione del torace nel caso delle persone AFAB fornendo quindi la possibilità di avere un corpo più conforme ai propri desideri.

Questo genere di chirurgia porta un miglioramento significativo dell'esperienza di vita dei pazienti riducendo la disforia di genere, aumentando la soddisfazione riguardo al proprio corpo e migliorando la qualità di vita generale [108] [109] [110] [111] [112].

Per quanto riguarda la chirurgia genitale è possibile eseguire una gonadectomia che si concretizza nelle persone AMAB con una orchietomia associata a vaginoplastica. Nelle persone AFAB, invece, si propone una istero-annessiectomia con eventuale falloplastica o metaidioplastica.

Oltre a questi interventi, sono disponibili una serie di chirurgie dette "ancillari". Tra queste si annoverano la chirurgia foniatrica per il cambio della voce nelle persone AMAB in quanto non ottengono un effetto marcato con la sola terapia medica. Oltre alla chirurgia è possibile anche seguire un percorso con un logopedista per

controllare meglio la voce e renderla più femminile. Altre operazioni sono la tireoplastica, la femminilizzazione del viso, il trapianto di capelli e gli interventi di contouring (es. liposuzione) che aiutano a scolpire meglio il corpo del paziente [100].

Tabella 4-2: Interventi di Chirurgia affermativa

| Chirurgia al torace | Mascolinizzazione del torace |
|-----------------------------|---|
| | Mastoplastica additiva |
| Chirurgia genitale | Orchiectomia |
| | Isterectomia e/o |
| | salpingectomia/ooforectomia |
| | Falloplastica (con o senza scrotoplastica) |
| | Metoidoplastica (con o senza scrotoplastica) |
| | Vaginoplastica (inversione, peritoneale, intestinale) |
| Operazioni ancillari | Chirurgia foniatrica |
| | Tireoplastica |
| | Femminilizzazione del viso |
| | Trapianto di capelli |
| | Interventi di contouring (liposuzione) |

4.2.2. Possibili effetti avversi delle terapie ormonali affermative

Come detto in precedenza, la terapia ormonale affermativa punta a modificare i caratteri sessuali secondari sfruttando l'effetto di ormoni appartenenti al genere di elezione. Come in tutte le terapie farmacologiche, è importante monitorare gli effetti di tali terapie al fine di prevenire e trattare eventuali effetti avversi.

Entrambe le terapie, mascolinizzante e femminilizzante, condividono un effetto collaterale comune che è la tendenza a sviluppare infertilità; pertanto, è importante discutere con il paziente delle opzioni di preservazione della fertilità (es. crioconservazione dei gameti maschili o degli ovuli), prima di iniziare la terapia ormonale.

Durante la terapia mascolinizante la cessazione del ciclo mestruale è attesa tra il primo e il dodicesimo mese [100] [104]. Durante la terapia femminilizzante, invece, si può verificare l'atrofia testicolare e il blocco della spermatogenesi, sebbene non siano ancora chiare le tempistiche di insorgenza [100] [104].

Nonostante la riduzione della funzione riproduttiva, è comunque importante ricordare ai pazienti che in caso di rapporti sessuali non protetti persiste il rischio di gravidanze non desiderate e di contrarre infezioni sessualmente trasmissibili.

La terapia mascolinizante a base di Testosterone ha tra i suoi effetti collaterali un aumento consistente dell'eritrocitosi dato che questo ormone stimola in maniera diretta il midollo osseo. Questo aumento tende a generare un aumento dell'ematocrito che a sua volta aumenta il rischio cardiovascolare [113]. L'aumento del rischio cardiovascolare in seguito a somministrazione di Testosterone si manifesta sia con un aumento diretto degli episodi di infarto del miocardio, che con una maggiore incidenza dei fattori di rischio come aumento della pressione arteriosa del colesterolo HDL e una tendenza al sovrappeso [114] [115] [116]. Altri effetti legati alla terapia mascolinizante sono: l'alopecia androgenica, lo sviluppo di apnee notturne soprattutto in pazienti con Indice di massa corporea (IMC) alto e una maggiore incidenza di acne causata dalle caratteristiche della pelle [100].

Anche la terapia a base di estrogeni ha mostrato un aumento del rischio cardiovascolare causato da un effetto di questi ormoni sui fattori della coagulazione aumentando il rischio di trombosi [117]. Altri effetti collaterali sono collegati alla iperproduzione di prolattina e allo sviluppo di colelitiasi nei soggetti predisposti.

La terapia a base di Spironolattone ha un'azione anti-mineralcorticoide e pertanto può portare a ipotensione arteriosa e iponatriemia [118].

L'utilizzo del Ciproterone acetato come antiandrogeno ha portato nelle pazienti allo sviluppo di iperprolattinemie e un abbassamento del colesterolo HDL. Il trattamento prolungato con questa terapia, inoltre, ha fatto registrare (rarissimi) casi di meningiomi [119] [120] [121] [122].

Infine, la sospensione della terapia ormonale porta alla manifestazione di effetti collaterali legati all'osso: è noto che nei pazienti a cui sono state rimosse le gonadi la sospensione della terapia a base di Testosterone porta ad una marcata perdita di matrice ossea soprattutto negli anziani [123].

4.2.2.1. Eritrocitosi e terapia mascolinizante

L'eritropoiesi è il processo mediante il quale vengono prodotti globuli rossi nel midollo osseo e quando vi è un eccesso di queste cellule nel sangue si parla di eritrocitosi.

Questa è una problematica da tenere in considerazione in quanto è un fattore di rischio importante per la manifestazione di eventi tromboembolici e una conseguenza dell'aumento del Testosterone circolante.

La relazione tra rischio tromboembolico ed ematocrito mostra un aumento dell'incidenza di TEV a partire da valori di ematocrito di 48-50 % e che il Testosterone ha un effetto dose dipendente sull'aumento di questo valore [124]. Prendendo in considerazione i dati riguardo la terapia di affermazione [35] si nota che:

- Ematocrito superiore a 50L/L:
 - Riscontrato in una singola misurazione: 24%
 - Riscontrato in due misurazioni: 11,1%
- Ematocrito superiore a 52L/L:
 - Riscontrato in una singola misurazione: 7,6%
 - Riscontrato in due misurazioni: 3,7%
- Ematocrito superiore a 54L/L:
 - Riscontrato in una singola misurazione: 2,2%
 - Riscontrato in due misurazioni: 0,5%

Esistono altri fattori che possono contribuire all'aumento dell'ematocrito come il fumo e un elevato BMI: tenendo in considerazione questi fattori confondenti ed isolandoli dalla popolazione è possibile riscontrare che l'aumento dell'ematocrito dato dalla sola somministrazione di Testosterone risulta essere più basso nella fascia di età inferiore ai 40 anni rispetto alla fascia superiore. Si misura infatti un OR di 1,5 (95%, CI 0,8-2,8) nel caso della popolazione giovane, sotto i 40 anni di età, mentre un OR di 1,9 (95%, CI 0,9-3,9) [35].

L'innalzamento dell'ematocrito però non avviene in maniera continua nel tempo: durante il primo anno di terapia vi è infatti l'aumento più marcato dell'ematocrito che poi tende a stabilizzarsi o crescere in maniera molto più moderata.

La via di somministrazione del Testosterone, inoltre, è molto importante in quanto ad aumento dell'ematocrito: è infatti dimostrato che il Testosterone in formulazione intramuscolare è più strettamente correlato con l'aumento dell'ematocrito rispetto

alla formulazione transdermica tanto che è suggerito un cambio della formulazione in caso di eccessivo aumento di questo parametro durante la terapia affermativa o per ipogonadismo [125]. Nello specifico la via intramuscolare mostra un aumento dell'incidenza di valori aumentati di ematocrito di 3,15 volte maggiore rispetto alla terapia transdermica [126]. Le linee guida italiane suggeriscono di sospendere comunque la terapia nel caso in cui venga trovato un ematocrito con un valore superiore a 54 L/L [126].

4.2.2.2. *Rischio tromboembolico e terapia femminilizzante*

Anche la terapia femminilizzante a base di estrogeni porta ad importanti modifiche nel rischio tromboembolico che richiedono un follow up stretto nei pazienti in GAHT.

Una prima analisi riguardo agli effetti degli Estrogeni deve essere indirizzata sulle modifiche ai fattori della coagulazione: la terapia affermativa femminilizzante ha, infatti, un effetto importante sul fattore XI già nei primi 12 mesi di somministrazione, andandone ad aumentare la concentrazione nel sangue [117]. Lo studio della protrombina, del fattore VII e del fibrinogeno hanno confermato come vi sia una riduzione in seguito alla terapia ormonale e che questa sia più marcata nel caso della terapia orale rispetto alle altre formulazioni [127].

L'aumento della concentrazione di questo fattore ha un effetto pro-coagulante portando ad un aumento della probabilità sia di manifestare un primo evento tromboembolico sia la probabilità di ricadute [128]. Il fattore XI tende però a diminuire nelle persone che assumono terapia a base di Testosterone: questo sottolinea l'effetto diretto degli Estrogeni nell'aumento del rischio tromboembolico [117].

Lo studio approfondito degli effetti della terapia ormonale sulla coagulazione ha consentito di notare come vi sia una riduzione delle proteine anticoagulanti come un abbassamento del 2-12% (a seconda dello studio preso in considerazione) dei livelli di proteina S e un abbassamento del 5-6% nei livelli di antitrombina [127]. Viene notata inoltre un effetto importante riguardo la via di somministrazione poiché, soprattutto nel caso della proteina S, la via orale pare generare un effetto più marcato, mentre tutte le altre vie di somministrazione non producono un effetto apprezzabile [127].

La terapia ormonale genera, infine, una resistenza all'azione della proteina C attivata impedendole di attuare il suo effetto anticoagulante. Questo comporta un

importante fattore di rischio nello sviluppo di tromboembolismo venoso che si manifesta anche in questo caso con un aumento maggiore nella terapia orale rispetto alle altre formulazioni [127].

4.2.2.3. *Aumento del rischio cardiovascolare nella GAHT*

Il ruolo della terapia affermativa in materia di aumento del rischio cardiovascolare è ancora ambiguo e in fase di studio: l'effetto principale che parrebbe essere stato trovato è di una diminuzione sensibile del colesterolo HDL nei pazienti AFAB trattati con Testosterone ed un aumento dello stesso nelle pazienti AMAB trattate con Estrogeni. Nonostante questo, la differenza è statisticamente significativa solo negli AFAB, fatto che, unito all'accumulo di trigliceridi notato in tutti i pazienti durante la terapia GAHT, porterebbe ad un aumento del rischio cardiovascolare [129]. Gli estrogeni sembrerebbero, inoltre, aumentare il rischio di ricaduta in tutti i pazienti che hanno già avuto episodi di infarto al miocardio, ma solo se dati ad alti dosaggi.

Nonostante gli studi e le metanalisi, non è ancora certo come la GAHT vada ad influenzare il rischio cardiovascolare: non sono state, infatti, trovate differenze significative analizzando concentrazioni diverse di principio attivo, vie di somministrazione o differenti tipologie di farmaco.

Alla luce di questo, si può affermare che la terapia ormonale per l'affermazione di genere influisca su alcuni dei fattori di rischio fondamentali nello sviluppo di problematiche cardiocircolatorie che sono il livello di colesterolo HDL nel sangue, il livello di trigliceridi e la pressione sistolica [129], ma che non vi sia un danno diretto al sistema cardiocircolatorio.

4.3. Coagulazione

4.3.1. Fisiologia della coagulazione

Coagulazione ed emostasi sono degli eventi fisiologici che consentono al corpo di limitare la perdita di sangue in caso di lesione dei vasi sanguigni. Nello specifico con emostasi si definisce una serie di processi all'interno e all'esterno dei vasi, che si raggruppano in quattro fasi:

- Fase vascolare
- Fase piastrinica

- Fase coagulativa
- Fase trombolitica

Durante la prima fase avviene la vasocostrizione, che riduce il calibro dei vasi grazie ad un riflesso nervoso che provoca uno spasmo miogeno locale. Questo riflesso è stimolato dalla liberazione degli autacoidi, segnali ormonali prodotti dai vasi stessi e dalle piastrine circolanti.

Proprio queste ultime sono le attrici principali della fase successiva (fase piastrinica) andando a formare il tappo piastrinico spesso sufficiente a bloccare l'emorragia e risolvere il danno soprattutto in vasi di piccole dimensioni. Entrate in contatto con il collagene esposto in seguito alla rottura di un vaso, le piastrine modificano la loro struttura rigonfiandosi e producendo svariati pseudopodi [130]. Contemporaneamente, avviene il rilascio di numerose vescicole contenenti sostanze quali l'ADP e il trombossano A₂, volte alla stimolazione delle piastrine vicine, provocandone l'attivazione e dando inizio ad un processo a cascata che porta alla formazione del trombo, o tappo, piastrinico. Le piastrine che formano il trombo si ancorano tra loro e alla parete vasale legandosi al fattore di Von Willenbrand, una proteina circolante che si attiva quando entra in contatto con il tessuto leso [130].

Il tappo di piastrine che si viene a formare è un aggregato ancora lasso che prende il nome di trombo bianco. In seguito, tipicamente a partire da 15-20 secondi dall'evento lesivo, inizia la terza fase, quella definita coagulativa, che in 3-6 minuti bloccherà completamente l'emorragia [65].

La fase coagulativa è composta da due processi paralleli che convergono in una via comune in seguito alla creazione dell'attivatore protrombinico. Questi due processi prendono il nome di via intrinseca ed estrinseca della coagulazione e si differenziano sia per le molecole ed enzimi che le compongono e consentono il loro funzionamento, sia per il trigger che ne stimola l'innescamento. La via estrinseca si attiva in seguito alla liberazione del fattore tissutale (fattore III) che viene rilasciato in seguito al danneggiamento dei vasi sanguigni. La via intrinseca invece si innesca in seguito alla esposizione del sangue ad una superficie estranea come il collagene della parete dei vasi danneggiati. Gli stimoli che consentono l'innescamento della coagulazione possono essere divisi in 3 categorie:

1. Traumi alla parete vasale o ai tessuti adiacenti;
2. Modifiche della composizione o della viscosità del sangue che ne modificano il flusso da laminare a non laminare;

3. Contatto tra sangue e superfici non endoteliali come il collagene o altri tessuti esterni ai vasi.

La terza via, quella comune, vede l'attivazione della protrombinasi che attiva, infine, la trombina consentendo la formazione del coagulo [65].

Ogni enzima che compone la "cascata della coagulazione" si trova già nel sangue nella sua forma inattivata così da essere velocemente attivabile da un altro enzima a monte.

Il processo della coagulazione è sostenuto da feedback biochimici messi in atto dalle piastrine che una volta legate ai filamenti di fibrina liberano, tra le varie sostanze, un fattore stabilizzante la fibrina che ne rafforza i legami crociati; le piastrine sono anche responsabili della retrazione del coagulo, una diminuzione delle dimensioni dello stesso data dalla contrazione dei filamenti di actina e miosina presenti nei trombociti: in questo modo le pareti lesionate del vaso vengono avvicinate stimolando un'ulteriore vasocostrizione e un'ulteriore emostasi.

Il coagulo è mantenuto, inoltre, da un feedback positivo attuato direttamente dalla trombina che agisce sulla protrombina stessa producendo ulteriore trombina. La cascata che si viene a creare mantiene il coagulo formato, stimolando inoltre svariati fattori della coagulazione, tra cui i fattori VIII, IX, X, XI e XII.

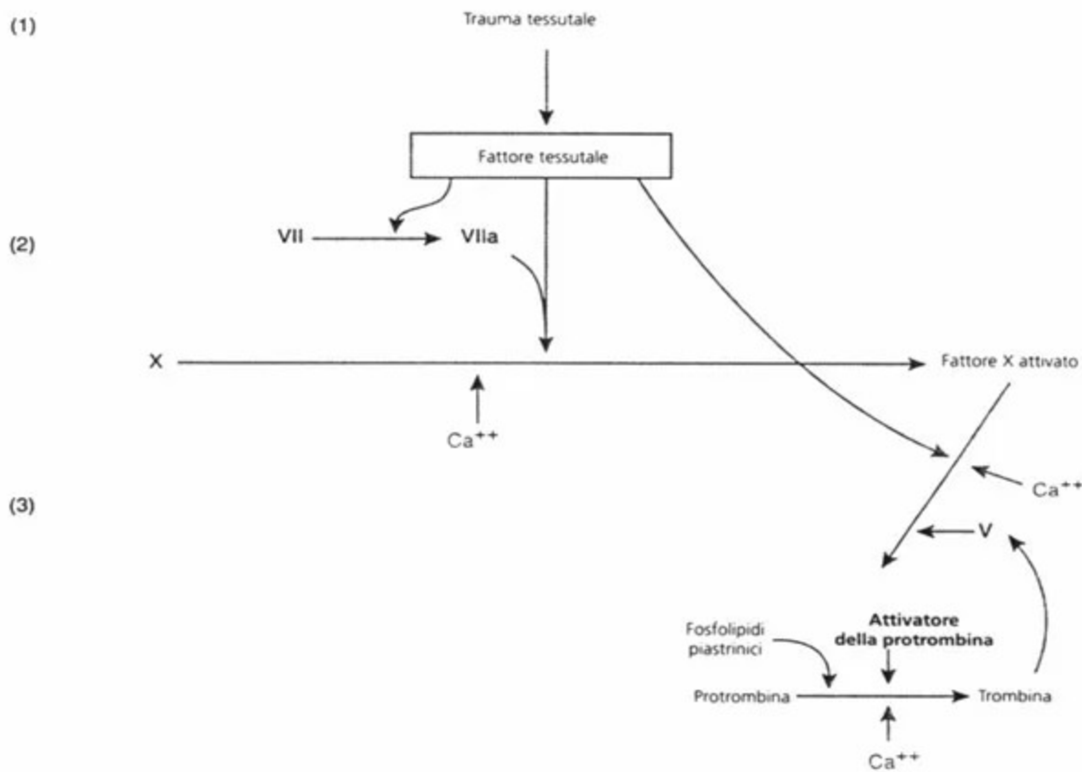
La fase finale prende il nome di fase trombolitica dove il coagulo viene disciolto avendo completato il suo compito: i legami crociati della fibrina vengono distrutti dalla plasmina consentendo al vaso di tornare al suo stato originale prima della comparsa del trombo [65].

4.3.1.1. *Via estrinseca*

Come detto in precedenza, la via estrinseca della coagulazione (Figura 4-1) si attiva quando vi è una lesione del vaso e il sangue entra in contatto con la parete lesa o con i tessuti extravasali. La lesione porta alla liberazione del fattore tissutale, un complesso di fosfolipidi e lipoproteine che funge da enzima proteolitico con diverse funzioni. Primariamente, il fattore tissutale attiva il fattore VII (fattore VIIa) unendosi poi ad esso. Il complesso che si viene a formare funge da attivatore per il fattore X della coagulazione, il quale in presenza di ioni Ca^{2+} si lega ai lipidi e lipoproteine del fattore tissutale stesso e al fattore V della coagulazione. L'unione di questi tre fattori compone il complesso enzimatico che prende il nome di attivatore della protrombina. La produzione di trombina ha un potente effetto di

feedback positivo sul fattore Va, mantenendo e accelerando il processo una volta iniziato. La quantità di fattore tissutale è l'unica limitante di questo processo rendendo la via estrinseca molto più veloce di quella intrinseca [131].

Figura 4-1: Via Estrinseca della Coagulazione del sangue [65]



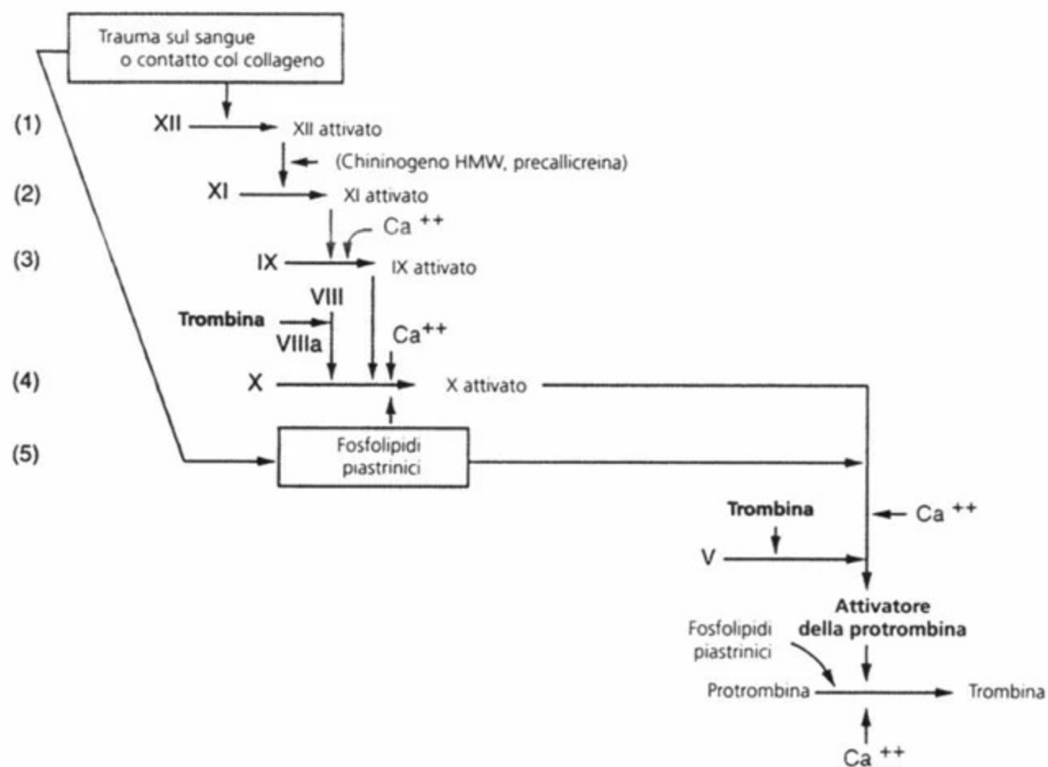
4.3.1.2. Via intrinseca

La via intrinseca della coagulazione (Figura 4-2) si attiva quando il sangue entra in contatto con una superficie estranea, come il collagene esposto dai vasi danneggiati. Questo evento stimola l'attivazione del fattore XII e la liberazione da parte delle piastrine del fattore tissutale che svolgerà un importante ruolo anche nelle successive fasi della coagulazione. La cascata prosegue con l'attivazione del fattore XI in XIa grazie al chininogeno ad alto peso molecolare (HMWK) e alla precallieireina che funge da acceleratore; in presenza di ioni calcio il fattore XIa media l'attivazione del fattore IX.

Il passo successivo è l'attivazione del fattore X che avviene grazie a diversi fattori: il primo è il fattore IXa che ha bisogno per funzionare del fattore VIII della coagulazione, dei fosfolipidi di membrana liberati in caso di lesioni vasali e dal fattore tissutale prodotto, come precedentemente detto, dal contatto delle piastrine con il collagene. Una volta attivato il fattore X l'ultima fase della cascata continua

come nella via estrinseca: il fattore Xa si unisce al fattore tissutale (fosfolipidi e lipoproteine) e al fattore V per attivare la protrombina in trombina [132].

Figura 4-2: Via intrinseca della Coagulazione del sangue [65]



4.3.1.3. Via comune

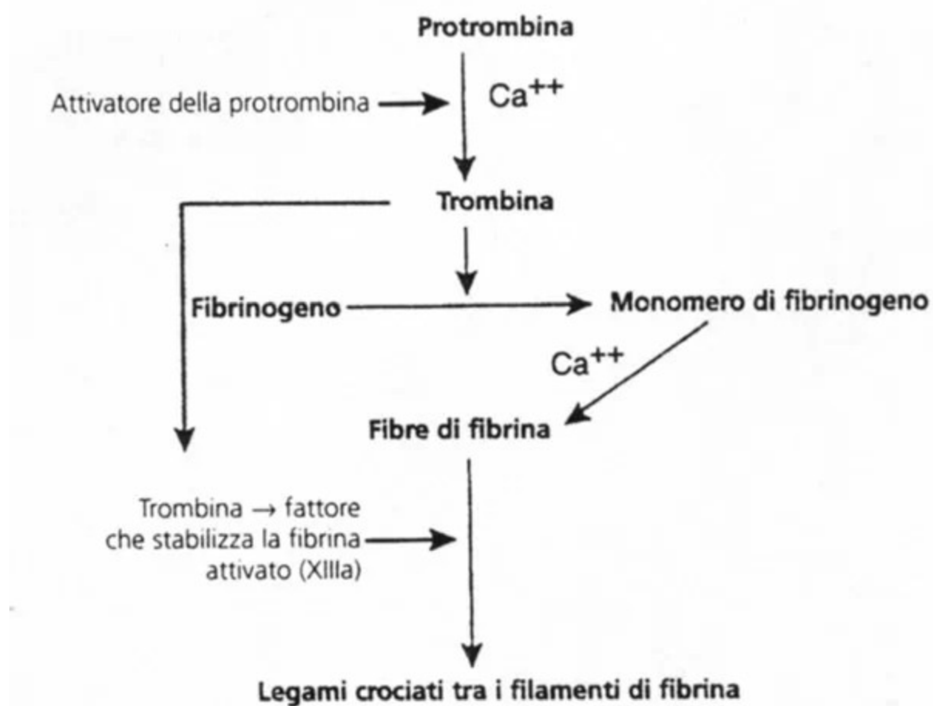
La creazione dell'attivatore protrombinico (Figura 4-3) è quindi il passo finale delle due vie, intrinseca ed estrinseca, dove convergono per formare la via comune. L'attivatore protrombinico è composto dal fattore tissutale, dal fattore Xa e dal fattore Va che hanno il compito di attivare una alfa-proteina plasmatica, la protrombina, producendo la trombina (fattore IIa). La protrombina è continuamente prodotta dal fegato in un processo vitamina K-dipendente.

Una volta attivata, la trombina risulta essere una proteina con attività enzimatica che, agendo sul fibrinogeno, ne rimuove quattro peptidi per formare dei monomeri di fibrina. Questi hanno la capacità di polimerizzare creando una fitta rete di lunghi filamenti in pochi secondi.

La struttura di questa rete è rafforzata dall'azione del fattore XIII che stimola la formazione di legami covalenti e legami crociati tra i filamenti di fibrina adiacenti al posto dei più deboli legami ad idrogeno che si formano in maniera spontanea.

La rete così formata andrà ad intrappolare le cellule ematiche generando un tappo che aderisce in maniera stretta alla lesione bloccando la perdita di sangue. Entro 20-60 minuti dall'inizio del processo avviene la retrazione del coagulo, un processo mediante il quale il siero viene espulso grazie all'azione delle piastrine che si attaccano ai filamenti di fibrina saldandoli tra loro e liberando ulteriore fattore XIII. Questo processo di retrazione è stimolato dalla contrazione dei filamenti di actina e miosina interni alle piastrine che vengono a loro volta stimolati dagli ioni calcio depositati nei mitocondri, nel reticolo plasmatico e nell'apparato di Golgi. Funzionalmente la retrazione del coagulo aiuta i margini lesionati del vaso a saldarsi [131].

Figura 4-3: Schema della conversione della protrombina in Trombina e polimerizzazione del fibrinogeno in filamenti di fibrina [65]



4.3.2. Anticoagulanti intravasali

La coagulazione si basa sull'equilibrio tra agenti pro-aggreganti ed antiaggreganti che consente ai fattori della coagulazione di agire in fretta in caso di lesione, ma di impedire una massiva coagulazione del sangue.

Primariamente, è proprio l'endotelio con le sue caratteristiche ad impedire la coagulazione del sangue grazie alla sua superficie levigata che consente al sangue

di procedere con un flusso definito laminare, alla presenza del glicocalice (un mucopolisaccaride che respinge i fattori della coagulazione) e, infine, grazie alla trombomodulina legata alla membrana delle cellule, che rallenta e modula la coagulazione agendo sulla proteina C. La proteina C, assieme alla proteina S, hanno il compito di inattivare alcuni fattori della coagulazione tra cui V e VIII fungendo quindi da fattori anticoagulanti.

Un secondo gruppo di importanti fattori anticoagulanti sono i filamenti di fibrina, i principali elementi leganti la trombina: quando il processo di coagulazione si innesca circa l'85-90% della trombina viene legata a questi filamenti prodotti dalle piastrine impedendo la diffusione di questa molecola nel circolo sanguigno con un'eccessiva conseguente espansione del coagulo. La trombina che non viene assorbita dai filamenti di fibrina entra in contatto con l'antitrombina III che la sequestra inibendola nel breve periodo e impendendone l'effetto sul fibrinogeno.

Mastociti e basofili producono poi una sostanza che si lega all'antitrombina III aumentandone di molto l'effetto: l'eparina. Il legame eparina-antitrombina III potenzia quest'ultima dalle 100 alle 1000 volte consentendole di rimuovere quasi istantaneamente la trombina presente in circolazione. Per un ulteriore effetto anticoagulante il complesso elimina anche i fattori XIIa, XIa, Xa e IXa [65] [133].

4.3.3. Fibrinolisi

Esaurito il suo compito, il coagulo viene rimosso per ristabilire il normale flusso ematico: a questo scopo esiste una proteina dedicata alla dissoluzione del coagulo: la plasmina.

La produzione di questa proteina avviene a partire dal plasminogeno che rimane intrappolato, assieme alle altre proteine plasmatiche, nel coagulo in formazione. In questo stato il plasminogeno rimane silente poiché ha bisogno di un attivatore per poter funzionare: i tessuti vasali lesionati rilasciano una molecola detta attivatore tissutale del plasminogeno (t-PA). L'attivazione della plasmina porta a due importanti effetti che portano alla lisi completa del coagulo. Il primo effetto consiste nella degradazione del reticolo di filamenti proteici andando ad agire direttamente sulla fibrina. Contemporaneamente alla lisi del coagulo la plasmina funge da inattivatore dei fattori della coagulazione impedendo di conseguenza l'instaurarsi di una nuova cascata coagulativa. I fattori che vengono bloccati in questo modo sono: fattore V, fattore VIII, protrombina e fattore XII.

Questo processo di lisi del coagulo consente la riapertura del vaso leso e, in maniera più costante ogni giorno, a riaprire tutti quei circuiti capillari che subiscono le microlesioni ogni giorno e di conseguenza rimangono occlusi dai processi di emostasi e coagulazione [65].

4.4. Cellule Progenitrici Endoteliali

Le Cellule Progenitrici Endoteliali (EPC) sono un gruppo di cellule staminali presenti nel sangue accomunate dalle seguenti caratteristiche [134]:

1. Sono cellule staminali che hanno la capacità di differenziarsi in cellule endoteliali;
2. Sono cellule che hanno la capacità di formare strutture cellulari tubulari con lume in vitro simili a capillari;
3. Sono cellule staminali che hanno la capacità di formare vasi stabili (che comprendano anche membrana basale) quando vengono impiantati in un tessuto umano;
4. Sono cellule staminali in grado di integrarsi al sistema circolatorio dell'ospite una volta impiantate in un tessuto;
5. Sono cellule staminali che mostrano la capacità di differenziarsi formando membrana intima di arterie, vene e capillari.

La loro identificazione è stata molto controversa tanto che ad oggi la definizione sopra riportata è solo teorica: solo parte delle cellule che vengono identificate con i metodi odierni come EPC rispondono a tutte queste caratteristiche. Infatti, molte delle cellule isolate non sono in grado di dare proliferazione in vitro generando vasi completi [134].

4.4.1. Tre principali metodi per identificare le EPC.

L'analisi delle EPC parte dal loro isolamento all'interno del campione sanguigno. Esistono tre principali metodi per isolare le EPC.

Il primo metodo comprende l'isolamento di MNCs (*low density mononuclear cells* ossia cellule staminali circolanti mononucleate), e la loro semina in un terreno ricco in Fibronectina e addizionato con fattori di crescita endoteliali e siero bovino fetale. Dopo quattro-cinque giorni il campione viene lavato dalle cellule che non hanno adeso alla Fibronectina: in questo modo si selezionano solo cellule con proprietà di

adesione simili a quelle delle EPC. Le cellule rimaste vengono ulteriormente analizzate per le loro capacità di aderire alle AcLDL, le lipoproteine a bassa densità acetilate, e ad una agglutinina di origine vegetale (*Ulex europeus* agglutinin 1) [135] [136]. Questo metodo, però, risente in maniera molto marcata della scarsa specificità selettiva non consentendo di isolare delle famiglie pure di cellule progenitrici [137].

Il secondo metodo rispecchia metodologicamente il primo, aggiungendo un passaggio: le cellule del sangue devono essere prima seminate e lasciate per 48 ore in un terreno con Fibronectina per poi seminarle nuovamente in un nuovo terreno sempre a base di Fibronectina. Questo passaggio intermedio fa sì che le cellule con alta adesione alla Fibronectina come monociti, macrofagi e cellule endoteliali mature vengano rimosse dalle MNCs rendendo le colonie ottenute dalla seconda piastra molto più pure [135] [136].

Il terzo metodo, utilizzato per la presente ricerca, prevede la selezione della popolazione di cellule mediante marcatori di membrana analizzati con un citofluorimetro. Non esiste un singolo marcatore di membrana in grado di identificare la popolazione delle EPC, pertanto, è necessario utilizzare diversi anticorpi per diverse strutture che siano in grado di filtrare le cellule e selezionare cellule staminali e cellule che appartengono alla famiglia delle cellule endoteliali. La ricerca di antigeni che siano presenti nella membrana sia delle cellule ematopoietiche che delle cellule endoteliali ha portato a notare che le cellule CD34+ mostrano una maggiore adesione alla fibronectina delle alte. Mettendo in relazione le cellule isolate con i metodi sopracitati con quelle positive all'antigene è stato possibile definire che all'interno della popolazione CD34+ vi è anche la popolazione delle EPC [138].

Ritornando ancora una volta alla definizione di EPC è possibile dedurre che questo gruppo di cellule presenti dei marcatori tipici delle cellule staminali ematopoietiche, che possano essere usati per identificarle. Testando l'antigene CD133, comunemente espresso in cellule staminali ematopoietiche, downregolate durante la differenziazione cellulare, e il CD309 (definito anche KDR), espresso negli angioblasti embrionici, si ottiene una risposta parziale della popolazione CD34+: la popolazione CD34+CD133+ non corrisponde interamente alla popolazione 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 CD309 che il CD133 appartengono alla famiglia delle cellule progenitrici endoteliali [139]. Il quarto marcatore che viene usato per riconoscere queste cellule va a riconoscere un recettore, il CXCR4, che media per l'attivazione delle cellule legate alla neo-angiogenesi in seguito a stimolo ipossico. Le cellule che presentano questo recettore (che prende il nome anche di CD184) sono legate alla proliferazione vasale e quindi appartengono alla famiglia delle EPCs [140].

Le EPCs hanno quindi una funzione protettiva nell'organismo stimolando la neo-angiogenesi e la riparazione dei vasi in caso di lesione. La riduzione del numero di EPCs circolanti è collegata ad un aumento della mortalità per problematiche cardiovascolari [141] e ad una più veloce progressione delle malattie arteriosclerotiche [142]. Il numero delle EPCs tende a ridurre con l'età poiché le cellule CD34+ e CD309+ tendono a ridurre la loro funzione con il passare degli anni riducendo la loro sopravvivenza, capacità di differenziazione e migrazione [143] [144].

4.4.2. EPC e fattori di rischio cardiovascolari

I fattori di rischio cardiovascolari sono inoltre strettamente legati alla presenza di EPCs poiché pare che con l'aumento di questi fattori diminuisca la presenza di EPCs circolanti. Essi, infatti, danneggiano i vasi obbligando le EPCs a specializzarsi per stimolarne la riparazione con un conseguente abbassamento del loro numero nel sangue [145]. I fattori di rischio maggiormente collegati alla diminuzione delle progenitrici endoteliali sono:

- Diabete: il livello di cellule progenitrici circolanti è infatti inversamente proporzionale alla glicemia [146] [147];
- Colesterolo: l'aumento del colesterolo è correlato ad una diminuzione moderata delle EPCs nei soggetti sani [136], mentre la diminuisce drasticamente nei pazienti già affetti da malattie cardiovascolari [148];
- Ipertensione arteriosa: l'aumento dei ROS è correlato ad una diminuzione della biodisponibilità del monossido di azoto (NO) che porta ad un difetto della mobilizzazione delle cellule CD34+ [149];
- Obesità: soprattutto l'obesità viscerale poiché è stato notato un rapporto inverso tra la circonferenza della vita e la presenza di EPCs. In questo caso

la sintomatologia della sindrome metabolica inibisce il funzionamento delle cellule CD34+ [150];

- Fumo [148];
- Livelli di omocisteina [151].

Le EPC sembrerebbero essere correlate anche all'effetto protettivo sul sistema cardiocircolatorio messo in atto dagli ormoni: è ormai risaputo che gli ormoni sessuali abbiano una relazione con le EPC andandone a modificare la funzione e il comportamento. Gli estrogeni agiscono sui vasi andando a stimolare la produzione di NO che a sua volta abbassa la produzione di ROS da parte delle cellule endoteliali. Questo stimolo è strettamente correlato con la proliferazione nel midollo osseo delle cellule CD34+ rendendo di fatto l'estrogeno un importante stimolo del processo di guarigione del tessuto vasale [152]. Si ritiene che il maggiore numero di EPC circolanti nelle donne in età fertile sia una delle ragioni alla base dell'effetto protettivo degli estrogeni sul sistema cardiocircolatorio [153]. I dati relativi al Testosterone sono invece più controversi: nel maschio il Testosterone sembrerebbe essere associato ad una maggiore mobilitazione delle cellule progenitrici endoteliali dal midollo osseo. Questo effetto parrebbe spiegato dalla presenza del recettore per gli androgeni (AR) nella superficie delle EPCs che suggerirebbe un effetto diretto dell'ormone su questo gruppo di cellule. Inoltre, parte del Testosterone viene convertito in estrogeni per azione delle aromatasi. L'effetto del Testosterone sull'aumento delle EPCs è stato quindi dimostrato, sebbene non si è ancora chiarito quale sia il meccanismo alla sua base: si sospetta esso possa essere collegato alla stimolazione del sistema NO/cGMP, ma nessuna prova è stata ancora raccolta a riguardo [140].

5. Scopo della tesi

Il presente studio ha lo scopo di indagare le possibili modificazioni indotte dalla terapia ormonale di affermazione di genere sui parametri coagulativi, sulla eritropoiesi e sui livelli circolanti di cellule progenitrici endoteliali. Per questo ci siamo concentrati sui parametri della coagulazione andando a controllare mediante i test che attualmente rappresentano il *gold-standard* in questo settore, come i parametri emo-coagulativi si modificano durante la terapia affermativa. Inoltre, abbiamo valutato anche lo sviluppo di eritrocitosi, che rappresenta un possibile effetto collaterale della terapia con androgeni ed infine l'influenza degli ormoni sui livelli di EPC circolanti.

Secondariamente lo studio è volto a rilevare, anche nel nostro campione, il rischio di tromboembolismo ed eritrocitosi dei soggetti transgender durante la GAHT valutandone i rapporti tra i parametri di coagulazione, i livelli ormonali e le caratteristiche specifiche della terapia in atto.

6. Materiali e metodi

Il presente lavoro descrive le prime fasi di 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 CRRIG prevede una prima visita endocrinologica durante la quale viene raccolta l'anamnesi 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.

6.1. Criteri di inclusione ed esclusione

Son stati inclusi in questo studio pazienti transgender sia AMAB che AFAB, con un'età di almeno 18 anni, 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 certificazione di diagnosi di Incongruenza di Genere redatta da uno psicologo o psichiatra competente. 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 al momento del reclutamento, quello che hanno abbandonato lo studio durante il follow-up o non hanno sottoscritto il consenso informato.

6.2. Visite

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.

6.2.1. 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 naturalmente specificato che la non sottoscrizione del consenso a partecipare allo studio non comporta la cessazione del rapporto medico o un trattamento differente. I primi due consensi sono invece necessari per la pratica clinica, soprattutto quello relativo alla somministrazione del farmaco come off label non esistendo farmaci appositamente approvati per la terapia ormonale di affermazione di genere.

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 comprendendo se vi sia il desiderio di un cambio di genere completo, comprensivo di cambio anagrafico ed eventuale chirurgia, o se il paziente punti ad una condizione intermedia e quindi ad una forma non binaria. 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 [100] [104]. In caso il paziente sia interessato alla crioconservazione si consegna anche il consenso a tale procedura.

Viene raccolta, quindi, l'anamnesi familiare andando ad informarsi riguardo la presenza di malattie cardiovascolari e tromboemboliche in famiglia e riguardo ad altre malattie degne di nota (tumori, diabete mellito, malattie autoimmuni...).

Per quanto riguarda l'anamnesi patologica remota, si basa prevalentemente sulle pregresse problematiche cardiache, sul tromboembolismo venoso, diabete mellito, ipertensione polmonare, arteriosa, dislipidemie ed obesità. Vengono inoltre indagate le abitudini voluttuarie come fumo, alcol e droghe e se vi siano stati in passato delle diagnosi per disturbi psichiatrici quali depressione, comune in questa popolazione di pazienti [154].

Ultima importante fase dell'anamnesi è quella definita farmacologica dove vengono indagati i farmaci che il paziente sta attualmente assumendo con particolare attenzione all'assunzione, attiva o pregressa di terapia ormonale sia per

percorsi affermativi pregressi che per altre problematiche concomitanti come ipogonadismi o simili. 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 indaga peso, altezza e calcolo del BMI, valutazione del torace, polmoni, cuore, fegato e reni. Viene misurata la pressione arteriosa e controllata la presenza di edemi declivi valutando, infine, lo 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 [104]: emocromo, ionemia, ormoni (Testosterone, Estrogeni, SHBG, TSH, LH, FSH e PRL), funzionalità epatica, renale 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 coagulazione:
 - 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;
 - Polimorfismi trombofilici (test di resistenza alla proteina C attivata e mutazione fattore V Leiden, mutazione variante protrombinica G20210A);
 - Tromboelastografia e test di aggregazione piastrinica MULTIPATE;
 - Proteina C Reattiva (PCR)

- Analisi con citofluorimetro per il calcolo del numero delle EPC, valutate secondo il profilo fenotipico di espressione dei marcatori CD34, CD133/13, CD309 e CD184;
- Test di aggregazione della trombina con e senza trombomodulina;
- Dosaggio di eritropoietina e di somatomedina C;
- Estrazione del DNA e la ricerca della mutazione del gene HFE.

6.2.1.1. Valori derivati

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

6.2.1.1.1. BMI

Per il calcolo del BMI è stato tenuto conto dell'altezza in m e del peso in kg. La formula usata è stata:

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

6.2.1.1.2. Colesterolo LDL

Il valore relativo al colesterolo LDL è stato ottenuto sottraendo dal colesterolo totale il valore di colesterolo HDL e 1/5 del valore dei trigliceridi esprimendo il risultato in mg/dl.

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

6.2.1.1.3. Testosterone

Il valore del testosterone libero 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 dal valore di 23,4.

$$Testosterone\ Libero = \frac{(Testosterone) - (N * Testosterone)}{Kt * (SHBG - Testosterone + N * Testosterone)}$$

6.2.2. 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 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 in vista della successiva visita a 3 mesi dall' inizio della GAHT.

6.2.3. 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. In occasione della visita di controllo vengono prelevate quattro provette di sangue in citrato (tappo azzurro) per proseguire i controlli emo-coagulativi, una provetta in EDTA (tappo lilla) per la ricerca delle EPC, una verde chiaro e una ocra per lo screening dell' eritrocitosi.

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.

6.3. Studio coagulativo

Lo studio coagulativo viene fatto mediante il controllo dei parametri della coagulazione (riassunti in Tabella 6-1), 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 6-1: Variabili analizzate 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, PC attività coagulometrica, PC attività cromogenica, PC antigene, PS attività coagulometrica, PS Ag libera, PS Ag totale, APC-R, APC-R normalizzato, FV Leiden, Protrombina G20210A, Plasminogeno, PAI-1, B2GP-I IgG, B2GP-I IgM, anticardiolipina IgG, anticardiolipina IgM, dRVVT e aPTT-LA. |
| ROTEM | EXTEM CT, EXTEM CFT, EXTEM MCF, INTEM CT, INTEM CFT, INTEM MCF e FIBTEM MCF |
| Multiplate® | ADP, ASPI, TRAP e TGA |
| Eritropoiesi | Fe, Ferritina, Transferrina, TSAT, sol. TRF, PCR, IGF-1, EPO, Mut. gene HFE |

6.3.1. ROTEM

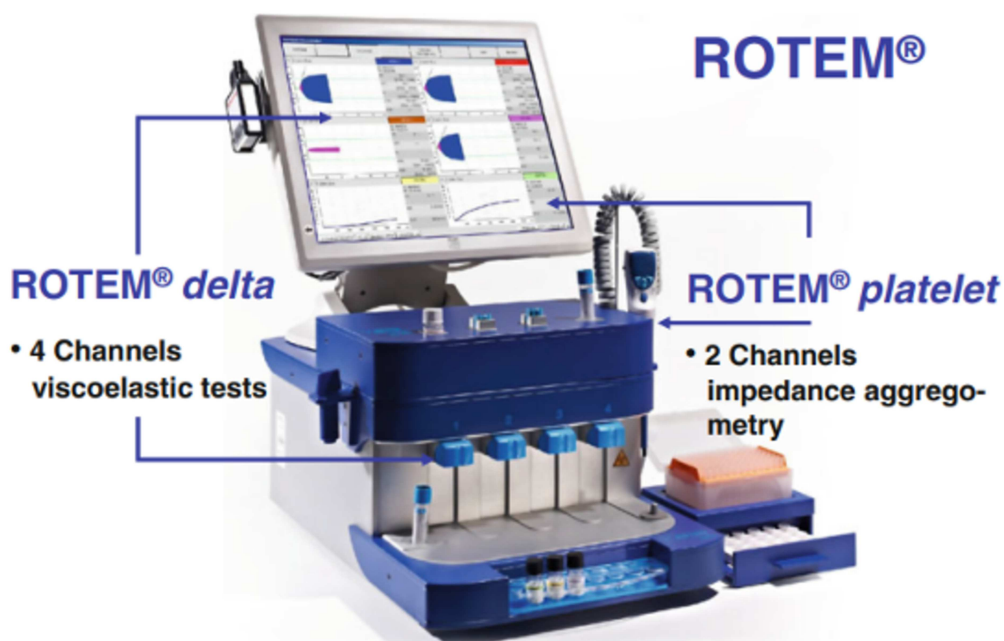
Il ROTEM (*Rotational Thromboelastometry*) è un metodo di analisi del campione sanguigno in grado di fornire informazioni sulla sua coagulabilità. Questa tipologia di analisi corrisponde all'automatizzazione della tromboelastografia, un'analisi che misura il grado di viscosità del sangue in seguito alla polimerizzazione della fibrina. Il macchinario che esegue l'analisi ROTEM registra la resistenza impressa su di un pin mobile fatto oscillare nel campione. Il recipiente contiene 300 µl di sangue intero e il pin si muove con una velocità angolare di 4°75' ogni 6 secondi. Con la progressiva coagulazione del sangue, il movimento del pin subirà una resistenza sempre maggiore portando alla deviazione dell'ansa; questa deviazione viene calcolata in tempo reale da un sistema ottico e analizzata dal computer [155].

Grazie a questa metodologia è possibile analizzare diversi parametri come la grandezza del coagulo in formazione, il tempo impiegato dal sangue a coagulare e la velocità di lisi. Una volta raccolti i dati il macchinario li esprime in un grafico presentando in ascissa il tempo trascorso dall'inizio della coagulazione e in ordinata la stabilità del coagulo espressa in millimetri.

Grazie alla tecnica ROTEM, nel presente studio sono stati analizzati i seguenti parametri:

- CT: rappresenta il *Clotting Time*, o tempo di coagulazione, espresso in secondi. È la misura del tempo che intercorre tra l'inizio del processo coagulativo e la formazione di un coagulo di almeno 2 mm, 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: rappresenta il *Clotting Formation Time*, o tempo di formazione del coagulo, espresso in secondi. È la misura del tempo impiegato da un coagulo ad aumentare le proprie dimensioni da 2 mm a 20 mm e fornisce informazioni sulle fasi di amplificazione e propagazione della polimerizzazione della fibrina. Fornendo dati sulla stabilizzazione del coagulo è strettamente connesso alla funzionalità piastrinica;
- MCF: rappresenta il *Maximum Clotting Firmness*, la massima ampiezza, espressa in millimetri, raggiunta dal coagulo. È un parametro che rappresenta la forza del coagulo ed è strettamente legato alla funzione piastrinica, all'ematocrito e alla funzionalità del fattore XIII.

Figura 6-1: Macchinario per la Tromboelastografia Rotazionale ROTEM



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. In questo modo viene innescata la via estrinseca della coagulazione, fornendo informazioni simili al PT;
- INTEM: vengono addizionati al campione fosfolipidi e acido ellagico. In questo modo si stimola l'attivazione per "contatto" andando ad innescare la via intrinseca della coagulazione, fornendo informazioni simili all'aPTT;
- FIBTEM: vengono addizionati Fattore Tissutale come attivatore e citocalasina D come inibitore della polimerizzazione dell'actina. In questo modo viene bloccato 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. In questo modo vengono valutati i difetti qualitativi e quantitativi della polimerizzazione della fibrina.

6.3.2. Multiplate®

Il Multiplate® (Roche Diagnostics International, Rotkreuz, Switzerland) è un macchinario che consente di analizzare l'aggregazione su sangue intero con metodica impedenzometria. Il nome completo della tecnica è *Whole Blood Impedance Aggregometry* e il suo funzionamento si basa sul calcolo dell'impedenza elettrica del sangue posto ad aggregare in un pozzetto dentro il quale vengono immersi due elettrodi. L'impedenza è proporzionale alle dimensioni del trombo piastrinico in quanto l'aggregazione porta alla deposizione di trombociti sugli elettrodi generando maggiore resistenza al passaggio della corrente elettrica.

La misurazione viene eseguita per sei minuti e i risultati vengono espressi con due curve, una per elettrodo. Queste curve descrivono l'aggregazione piastrinica (espressa in AU, unità di aggregazione), in ordinata, in relazione al tempo, in ascissa. Il calcolo dell'area sotto le due curve (AUC) è importante per controllare che l'analisi sia stata eseguita in maniera corretta: la AUC deve essere uguale nelle due misurazioni, in caso contrario è stato probabilmente compiuto qualche errore nella preparazione del campione o nel settaggio dei parametri del macchinario. Il

nome Multiplate® deriva dal fatto che a differenza delle sue versioni precedenti, questo metodo di analisi utilizza più elettrodi [156].

All'interno di ogni cuvetta atta all'analisi vengono aggiunti 300 µl di sangue intero e 300 µl soluzione diluente specifica per l'antagonista dell'aggregazione piastrinica usato. Il campione viene lasciato ad incubare per 2 minuti e vengono aggiunti successivamente 20 µl di agonista.

Figura 6-2: Macchinario per l'analisi impedenziometrica della coagulazione Multiplate®



I test che possono essere eseguiti con questa tecnica sono:

- ADP-test: in questo test viene determinata la funzione piastrinica in maniera quantitativa in seguito alla stimolazione dei loro recettori dell'adenosina difosfato. Vengono in questo test utilizzati 6,5 µmol/l di ADP allo scopo di rilevare l'inibizione del recettore P2Y12 e l'inibizione o l'assenza del recettore GpIIb/IIIa;
- ASPI-test: in questo test viene determinata la funzione piastrinica in maniera quantitativa in seguito alla stimolazione con 500 µmol/l di acido

arachidonico. Questo test è utilizzato per rilevare eventuali inibizioni della ciclossigenasi (COX) piastrinica e l'inibizione o l'assenza del recettore GpIIb/IIIa;

- TRAP-test: in questo test viene determinata la funzione piastrinica in maniera quantitativa in seguito alla stimolazione di 32 $\mu\text{mol/l}$ di TRAP-6, peptide attivatore della trombina-6. È il più potente attivatore dall'aggregazione piastrinica grazie al recettore PAR-1. Questo test è utilizzato per rilevare la funzione piastrinica attivata tramite recettore della trombina senza innescare la formazione della fibrina.

6.3.3. Eritropoiesi

Per il controllo dell'eritropoiesi sono stati presi in considerazione diversi valori che comprendono l'emocromo, il metabolismo del ferro, le proteine infiammatorie, l'eritropoietina e le eventuali mutazioni del gene HFE.

Il metabolismo del ferro è stato analizzato registrando:

- Ferro: è necessario all'organismo per la sintesi dell'EME, gruppo prostetico dell'emoglobina che lega l'ossigeno. La sua carenza porta alla produzione di eritrociti dalle dimensioni ridotte, portando quindi una anemia microcitica. I valori normali di ferro nel sangue sono 65-168 $\mu\text{g/dl}$ per il maschio e 50-170 $\mu\text{g/dl}$ per la femmina;
- Ferritina: è una proteina che funge da deposito di ferro, con le analisi del sangue se ne misura la sua componente sierica. Questo valore è un indice diretto delle riserve di ferro ematico del paziente; i valori normali sono sopra i 30 $\mu\text{g/l}$. Il limite superiore varia nella popolazione: 150 $\mu\text{g/l}$ nelle femmine in periodo fertile, 250 $\mu\text{g/l}$ in menopausa e 350 $\mu\text{g/l}$ nei maschi;
- Transferrina: è la proteina di trasporto del ferro nel sangue e consente di muovere questo metallo dagli organi di deposito verso le sedi dove viene richiesta. I valori normali di questa proteina nel sangue sono tra 240 e 360 mg/dl in entrambi i sessi;
- Saturazione della Transferrina: questo valore indica la percentuale di transferrina del sangue che è legata al ferro. È espressione dei depositi corporei di ferro e della capacità della Transferrina di cedere questo metallo alle cellule. I livelli normali si attestano tra il 16% e il 45%. In caso di valori

inferiori si parla di carenza di ferro, in caso di valori superiori c'è un sovraccarico di ferro;

- Recettore solubile della Transferrina: questo valore è una misura diretta della richiesta di ferro da parte delle cellule. Quando una cellula ha bisogno di ferro esprime sulla sua membrana i recettori per la Transferrina che servono a legare la proteina di trasporto e quindi ottenere il ferro; più recettori vengono espressi, più questi possono scindersi e diventare recettori solubili della transferrina.

La ferritina è anche un importante indice di flogosi andando ad indicare la presenza di svariate condizioni infiammatorie. È dunque importante analizzare altri indici di flogosi per comprendere se il valore di ferritina trovato è da imputarsi alla concentrazione del ferro o ad una condizione separata. L'utilizzo della Proteina C Reattiva, o PCR, consente di comprendere velocemente la presenza di uno stato flogistico nel paziente poiché correla in maniera diretta con l'infiammazione. I valori soglia di questa proteina sono:

- < 0,50 mg/dl: assenza di processi infiammatori;
- 0,50 - 1,00 mg/dl: possibilità di processo infiammatorio non acuto;
- 1,00 - 10,00 mg/dl: processo infiammatorio acuto lieve o moderato;
- > 10,00 mg/dl: processo infiammatorio acuto ed esteso.

Per controllare lo stato di salute della funzione ematopoietica dei pazienti è utile anche analizzare alcuni ormoni: eritropoietina (EPO) e il fattore di crescita insulino-simile 1 (IGF-1).

L'EPO è un ormone prodotto dai reni (ed in misura minore da fegato e cervello), che ha il compito di stimolare il midollo osseo alla produzione di nuovi eritrociti. I suoi valori non sono stabili durante la crescita e si attestano tra 9 e 28 mU/ml nel paziente adolescente fino ai 16 anni e tra 4 e 10 mU/ml nell'adulto.

L'IGF-1, invece, è un ormone della crescita prodotto al livello epatico in risposta alla secrezione di GH (*growth hormone*) da parte dell'ipofisi. In caso di valori elevati di questa proteina si deve indagare la presenza di acromegalia e altre condizioni ipofisarie. I valori normali di questo ormone nel sangue sono 0.01-0.97 ng/ml nei maschi e 0.01-3.61 ng/ml nelle femmine.

È stato inoltre analizzato il gene HFE poiché codifica per l'omonima proteina che funge da sensore del ferro. Le mutazioni a questo gene sono strettamente correlate con un accumulo eccessivo di ferro che consente lo sviluppo di quella che viene

definita emocromatosi ereditaria. Le due mutazioni del gene HFE più frequentemente associate all'emocromatosi (90% delle casistiche) sono le sostituzioni amminoacidiche C282Y e H63D che determinano una perdita o riduzione della funzione della proteina. Questa malattia richiede la mutazione in omozigosi per potersi manifestare: i pazienti che presentano la mutazione in eterozigosi presentano solo anomalie minori nel metabolismo del ferro.

Ultimo parametro preso in considerazione è l'emocromo che calcola la frazione della parte corpuscolata sul totale del sangue. Grazie a questo siamo in grado di definire quando il paziente va incontro ad eritrocitosi ossia un aumento della cellularità del sangue, effetto tipico della terapia a base di testosterone. È stata utilizzata come soglia per definire l'eritrocitosi, un ematocrito pari o superiore a 48,0% oppure livelli di emoglobina superiori a 165 g/l.

6.4. Cellule progenitrici endoteliali

L'analisi delle cellule progenitrici endoteliali è stata fatta su campione di sangue prelevato in seguito alla visita ambulatoriale in provette lilla addizionate in EDTA o in provette azzurre per coagulazione addizionate in citrato. Entrambe le sostanze non andavano a modificare i risultati analizzati dal citofluorimetro.

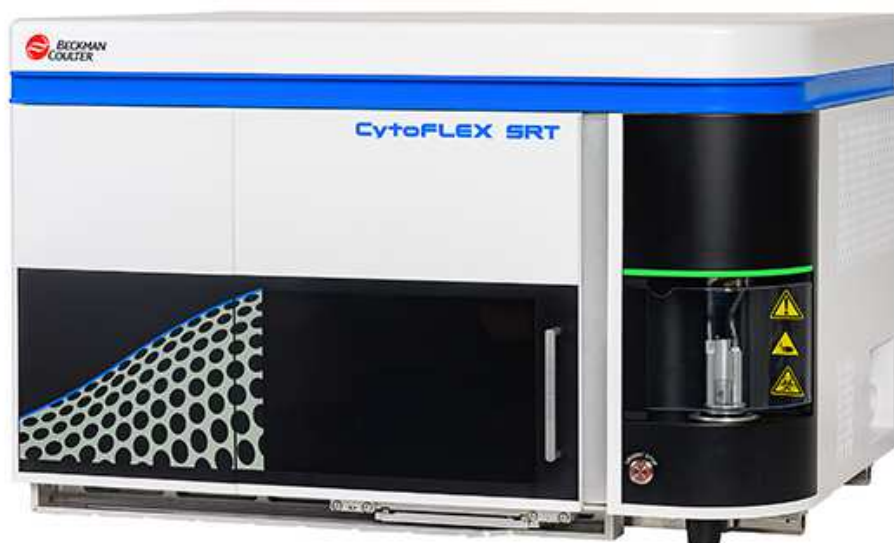
Secondo il nostro modello di studio sono stati raccolti campioni basali prima dell'inizio della GAHT e campioni raccolti in occasione dei controlli a tre, sei, dodici e ventiquattro mesi. Nel presente elaborato verranno analizzati i dati unicamente relativi al tempo 0 e al primo controllo dei 3 mesi.

6.4.1. Citofluorimetro

La citoflorimetria è un sistema di misurazione multi-parametrico di caratteristiche chimico-fisiche su cellule in sospensione monodispersa fatte passare per un sistema di rilevazione ottico-elettronico in singola fila. Nello specifico, nel laboratorio dove sono state condotte le analisi, è stato utilizzato il citofluorimetro *Cell Sorter CytoFLEX SRT*.

Questo macchinario consente l'analisi su singola cellula di diverse caratteristiche utili a identificarla e, se necessario, dividerla dalle altre grazie alla componente di *sorting* multicanale (nello specifico caso a quattro canali) secondo i criteri stabiliti dall'utilizzatore.

Figura 6-3: Citofluorimetro a flusso Cytoflex SRT



Il citofluorimetro è composto da sei componenti fondamentali:

- 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 è la componente che genera un flusso laminare sfruttando il gradiente pressorio tra campione e fluido di trasporto (processo che prende il nome di focalizzazione idrodinamica). Questo processo forza le cellule a passare in una singola fila, fino a raggiungere il sistema di rilevazione composto da un fascio di luce a sorgente ellittica focalizzato sul flusso.

Il fascio di fotoni utilizzati per l'analisi viene generato da differenti sorgenti luminose che possono essere:

- Lampade al Mercurio o Xenon;
- Laser ad alta potenza raffreddati ad acqua (Argon, Krypton o gas organici);
- Laser a bassa potenza raffreddati ad aria come quelli ad Argon, Red-HeNe, Green He-Ne e HeCd;
- Laser a diodi (blu, verde, rosso e violetto).

Quando il fascio di fotoni attraversa il campione, modifica la sua traiettoria e viene quindi registrato dal sistema di rilevazione e convertito da segnale analogico a segnale digitale. Uno dei primi effetti che si possono registrare è l'analisi della massa e della granulosità del campione mediante il *Foreward-scatter* (FS) e il *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 ci consentono di isolare e riconoscere molti gruppi di cellule del sangue come linfociti, monociti e granulociti. 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. Oltre a questi parametri, i rilevatori possono captare le differenti sorgenti luminose prodotte per fluorescenza dalle cellule caricate con il laser. Queste emissioni fluorescenti possono essere presenti in modo naturale nella cellula e quindi prodotte da determinate sostanze, o possono essere amplificate e predeterminate mediante l'utilizzo di marcatori coniugati a fluorofori che si legano a proteine, vescicole o corpuscoli di nostro interesse all'interno del 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). La componente di amplificazione viene utilizzata per comprendere meglio le differenze tra i vari segnali registrati e può essere messa in atto mediante due differenti modalità: l'amplificazione detta lineare consente di separare in maniera più precisa i segnali ad alta intensità, mentre il processo detto logaritmico aiuta alla separazione dei segnali a bassa intensità.

Il computer serve naturalmente per interagire con il macchinario, produrre l'ambiente digitale dove verranno analizzati i dati con i parametri desiderati ed elaborare grafici. Normalmente i grafici prodotti sono *Dot Plot*, che mostrano l'andamento dell'intensità di due segnali rispetto al numero di cellule contate per

canale. È inoltre possibile esporre i dati anche come istogrammi andando quindi a contarli e suddividendoli per l'intensità del segnale.

L'ultima componente, non utilizzata ai fini dello studio, è il *sorter* che consente di dividere le cellule in quattro canali diversi: mediante delle piastre polarizzate si può deviare la caduta delle cellule nel flusso laminare in differenti recipienti in modo da avere delle popolazioni pure per parametri indicati. Questo processo avviene donando una carica positiva, debolmente positiva, debolmente negativa o negativa in modo da indirizzare la cellula verso uno dei quattro canali.

6.4.2. Preparazione del campione

I campioni di sangue sono stati prelevati in provette lilla addizionate in EDTA o azzurre addizionate in citrato per evitarne la coagulazione e conservate in frigorifero a +4°C per una successiva analisi. I prelievi sono stati eseguiti in occasione delle visite endocrinologiche e l'analisi è stata eseguita entro 24 ore dal prelievo.

La preparazione del campione avviene prelevando 300 µl di sangue e depositandoli in un cilindro per citofluorimetro. Si aggiungono a questo punto 16 µl di ognuno dei marcatori CD34, CD133/1, CD184 e CD309 per poi lasciare a riposare il campione al buio per 15 minuti. Questo passaggio consente ai marcatori di legarsi alle cellule e viene fatto al buio per evitare che il fluoroforo degeneri.

Durante questi 15 minuti viene preparato il lisante con cui eliminare gli eritrociti ad 1/10 della sua concentrazione: per ogni campione si utilizzano 400 µl di lisante portati ad un volume di 4 ml con acqua distillata.

Alla fine dei 15 minuti si aggiungono i 4 ml di lisante 1:10 al campione e si lascia nuovamente riposare al buio per altri 15 minuti. Durante questo periodo il lisante per eritrociti distrugge la membrana delle cellule e le rimuove quindi dalla soluzione.

Per poter isolare le cellule rimaste viene fatta, a questo punto, una prima centrifuga a 1800 giri per 5 minuti in modo da ottenere un deposito corpuscolato. Svotato il tubo dal lisante stando attenti a non perdere il fondo corpuscolato, si devono aggiungere 4 ml di PBS (tampone fosfato salino, utile per mantenere il pH della soluzione costante) per pulire le cellule dal residuo di lisante rimasto. Agitando i tubi si riporta in soluzione il sedimento corpuscolato e si ripete la centrifuga con gli stessi parametri della precedente.

A questo punto si ottiene nuovamente un fondo corpuscolato, si rimuove il solvente e si aggiungono 400 µl di PBS per consentire l'analisi al citofluorimetro. Prima di avviare l'analisi si utilizza un agitatore per far tornare in soluzione il deposito ed eliminare eventuali cordoni di cellule generati con le centrifughe. Il campione così preparato è pronto per l'analisi.

6.4.3. Marcatori

6.4.3.1. *CD34*

Questa proteina è una glicoproteina di membrana che media il contatto cellula-cellula. È un marcatore strettamente collegato alle cellule ematopoietiche e riconosce cellule progenitrici endoteliali, cellule dell'endotelio dei vasi, cellule presenti nel cordone ombelicale, nel midollo osseo, i mastociti e una specifica popolazione di cellule dendritiche che si trovano nell'interstizio del derma cutaneo. È possibile trovare cellule positive a questi marcatori anche all'interno di alcuni tumori dei tessuti molli [157].

6.4.3.2. *CD133/1*

Questa proteina di membrana possiede cinque domini transmembrana ed è localizzata principalmente nelle protrusioni della membrana come i microvilli. È molto presente nelle cellule staminali ematopoietiche, neurali e della prostata e può essere trovato anche in molti altri tumori tra cui, colon-retto, polmone, fegato e ovario [158].

6.4.3.3. *CD309*

Questa proteina prende anche il nome di recettore per il fattore di crescita endoteliale di tipo 2 o VEGFR-2 ed è espressa tipicamente nelle cellule epiteliali. Ha il compito di legarsi al fattore di crescita tissutale e stimolare una cascata di segnali che porti la cellula a prepararsi alla replicazione. Questo tipo di proteina di membrana è spesso presente nelle cellule staminali dei tessuti stimolando la replicazione e il ricambio cellulare [139].

6.4.3.4. CD184

Questa proteina prende il nome di CXCR4 o *chemokine receptor type 4* ed è un recettore transmembrana che ha il compito di regolare processi come l'embriogenesi, la riparazione tissutale l'angiogenesi e la chemiotassi delle cellule immunitarie. Il processo di neoformazione dei vasi è strettamente collegato agli stimoli ipossici rendendo questo recettore molto importante nella definizione della neo-angiogenesi nelle masse tumorali [159].

6.4.4. Individuazione delle EPC

L'individuazione delle EPC è stata resa possibile mediante l'utilizzo di diversi marcatori e di un filtraggio consecutivo delle informazioni ricavate dal citofluorimetro. Il punto di partenza è stato l'analisi del grafico di *scattering*: in tale grafico sono state individuate le popolazioni di Linfociti e Monociti selezionandoli in base alla loro bassa granulosità e dimensioni. La creazione di *gate* ad hoc nell'interfaccia consente al programma di selezionare solo gli eventi utili allo sperimentatore per creare i grafici successivi. Una volta riconosciute le cellule e creati i *gate* adeguati, è stato generato un grafico che andasse ad analizzare la positività per il primo dei nostri marcatori: il CD34.

Partendo dalla popolazione di CD34+ sono stati incrociati poi i dati di tutti gli altri marcatori andando a calcolare gli eventi che soddisfacessero ogni criterio. In questo modo sono stati raccolti i dati 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 CD184+, CD34+, CD309+ e CD133/1+, ovvero la popolazione che è positiva a tutti i marcatori utilizzati.

Son stati quindi calcolati i rapporti tra ogni cellula e la sua popolazione di partenza definita "parentale" e messi in relazione con i dati provenienti dall'ematocrito del

paziente. In questo modo è stato possibile calcolare la presenza di EPC presenti in maniera teorica in tutto il sangue del paziente.

7. Analisi dei dati

L'analisi statistica è stata condotta utilizzando il software statistico IBM SPSS statistics, v. 26. Le variabili quantitative continue sono state espresse come medio \pm deviazione standard (DS), mentre le variabili categoriche in valore assoluto (n) e frequenza (%). I risultati sono stati considerati significativi per valori di $p < 0.05$.

Per l'analisi delle variabili quantitative è stato usato il test t di Student (t), mentre per l'analisi dei dati categorici è stato utilizzato il test Chi-quadro (χ^2).

Per le analisi delle differenze lungo la terapia è stata eseguita un'analisi della varianza (ANOVA) mettendo a confronto il gruppo AMAB e AFAB a T0 (inizio terapia) con la rispettiva popolazione a T3 (terzo mese di terapia). Sono stati, inoltre, analizzati i dati delle popolazioni a T3 mettendoli a confronto con la popolazione opposta a T0; in caso di positività del test ANOVA è stato utilizzato il test *post hoc* di Bonferroni per confermare quali valori fossero significativi.

Nello specifico son stati analizzate le seguenti condizioni:

- AMAB T0 vs AMAB T3;
- AFAB T0 vs AFAB T3;
- AMAB T0 vs AFAB T3;
- AFAB T0 vs AMAB T3.

L'analisi dei parametri coagulativi, compiuta solo a T0 come da design del nostro studio, è stata messa a confronto con i range di normalità utilizzati in ematologia.

8. Risultati

8.1. Campione

Sono state reclutate 66 persone transgender (27 AMAB e 39 AFAB) che hanno intrapreso un percorso di affermazione di genere presso il nostro centro tra dicembre 2022 e settembre 2023.

L'età media dei partecipanti allo studio è di 24.26 ± 7.94 anni e nonostante il gruppo AMAB presenti una media più elevata (26.29 ± 10.61 anni e 22.84 ± 5.08 anni), la distribuzione dei dati rende la differenza non statisticamente significativa (p 0.363).

Le persone AMAB sono mediamente più alte e hanno un peso maggiore rispetto al gruppo AFAB, sebbene non vi siano differenze in quanto BMI. La Tabella 8-1 riassume le caratteristiche generali del campione.

Tabella 8-1: Caratteristiche del campione usato nello studio. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Intervallo interquartile = IR.

| <i>Descrittiva</i> | | N | Media \pm SD [Mediana; IR] | p Value t Test [p value U test] |
|--------------------|------|----------|--|--|
| <i>Età</i> | AFAB | 39 | 22.8 ± 5.1 [21.0; 6.0] | 0.021 [0.363] |
| | AMAB | 27 | 26.3 ± 10.6 [23.5; 6.0] | |
| <i>Peso</i> | AFAB | 39 | 65.18 ± 12.10 [65.5; 17.0] | 0.044 [0.007] |
| | AMAB | 27 | 76.08 ± 18.79 [68.0; 23.25] | |
| <i>Altezza</i> | AFAB | 39 | 1.70 ± 0.01 [1.65; 0.08] | 0.084 [<0.001] |
| | AMAB | 27 | 1.80 ± 0.05 [1.78; 0.09] | |
| <i>BMI</i> | AFAB | 39 | 23.85 ± 4.5 [24.00; 6.29] | 0.231 [0.814] |
| | AMAB | 27 | 24.2 ± 6.0 [21.30; 6.80] | |

8.2. Descrizione del campione

I dati ottenuti dalla raccolta dell'anamnesi hanno consentito di analizzare la familiarità per eventi cardiovascolari e per trombosi venose dimostrando che non

vi son differenze significative nella nostra popolazione. Son stati trovati 26 casi di pregressi eventi cardiovascolari (19 tra gli AFAB e 7 le AMAB) e 14 di trombosi venose profonde (9 tra gli AFAB e 5 tra le AMAB) nelle famiglie dei nostri pazienti. Lo studio delle patologie pregresse non ha fornito dati significativi per diabete mellito, ipertensione arteriosa, dislipidemia e obesità, mentre è stato notato come la diagnosi di depressione fosse più comune nella popolazione AFAB, con 14 pazienti, rispetto alla popolazione AMAB dove è stata trovata solo in 2 pazienti (p 0.009). Tra le abitudini voluttuarie è stato analizzato il tabagismo che non ha mostrato differenze significative (Tabella 8-2, Tabella 8-3).

Tabella 8-2: Tabelle di contingenza d4i dati ottenuti dall'anamnesi riguardo la familiarità con eventi tromboembolici e cardiovascolari. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB.

| | AFAB (Tot 39) | AMAB (Tot 27) | p Value su test di χ^2 |
|---|--------------------------|--------------------------|---|
| <i>Familiarità per eventi cardiovascolari</i> | 19 [48.72%] | 7 [29.93%] | 0.077 |
| <i>Familiarità per trombosi venose profonde</i> | 9 [23.08%] | 5 [18.52%] | 0.765 |

Tabella 8-3: Tabelle di contingenza dei dati ottenuti dall'anamnesi riguardo alle malattie pregresse dei pazienti. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB.

| | AFAB [%] (Tot 39) | AMAB [%] (Tot 27) | p Value su test di χ^2 |
|--------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---|
| <i>DM</i> | 0 [0%] | 2 [7.41%] | 0.164 |
| <i>IPA</i> | 1 [2.56%] | 1 [3.70%] | 1 |
| <i>Dislipidemia</i> | 3 [7.69%] | 7 [25.93%] | 0.077 |
| <i>Obesità</i> | 3 [7.69%] | 3 [11.11%] | 0.682 |
| <i>Ansia/depressione</i> | 14 [35.90%] | 2 [7.41%] | 0.009 |
| <i>Tabagismo</i> | 13 [33.33%] | 10 [37.04%] | 0.797 |

L'analisi di ematocrito, parametri ematici, ionemia e valori ormonali ha mostrato dati significativi a livello di diversi fattori: questi sono il calcolo degli ormoni LH

e FSH, risultati più elevati nei pazienti appartenenti al gruppo AFAB, che hanno mostrato una significatività rispettivamente di 0.018 e 0.024 nel test di t.

I parametri di emoglobina ($p < 0.001$), ematocrito ($p < 0.001$) e creatinina ($p < 0.001$) si sono mostrati maggiormente elevati a livello della popolazione AMAB rispetto che in quella AFAB, mentre gli enzimi epatici, aumentati sempre nel gruppo AMAB, non si sono mostrati significativamente differenti nel test t.

Infine, le differenze relative agli ormoni sessuali hanno mostrato un valore maggiore di testosterone, sia libero che calcolato secondo la formula di Vermeulen, nella popolazione AMAB e un valore maggiore di estrogeni nella popolazione AFAB. Allo stesso modo anche la proteina SHBG è stata trovata con concentrazioni sanguigne più elevate nei pazienti AFAB rispetto al gruppo AMAB ($p 0.002$).

Non sono invece risultati differenti tra i due gruppi il volume dei globuli rossi, il loro contenuto in emoglobina, le piastrine, il colesterolo (totale, HDL ed LDL) e i trigliceridi (Tabella 8-4).

Tabella 8-4: Confronto dei valori degli Esami Ematochimici e Ormonali prima dell'inizio della terapia tra il gruppo AMAB e il gruppo AFAB. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Intervallo interquartile = IR.

| Esami Ematici ed Ormonali | | N | Media \pm SD [Mediana; IR] | p Value t Test [p value U test] |
|----------------------------------|------|----------|--|--|
| <i>Hb</i> | AFAB | 27 | 12.8 \pm 1.1 [12.8; 0.9] | 0.452 [<0.001] |
| | AMAB | 16 | 15.5 \pm 0.8 [15.2; 2.1] | |
| <i>HCT</i> | AFAB | 29 | 39.8 \pm 2.3 [39.9; 2.4] | 0.162 [<0.001] |
| | AMAB | 16 | 46.1 \pm 2.7 [44.75; 5.0] | |
| <i>MCV</i> | AFAB | 27 | 87.7 \pm 7.0 [88.2; 8.7] | 0.126 [0.443] |
| | AMAB | 16 | 89.6 \pm 4.6 [89.7; 6.85] | |
| <i>MCH</i> | AFAB | 27 | 28.3 \pm 3.3 [28.9; 3.6] | 0.120 [0.068] |
| | AMAB | 16 | 30.1 \pm 1.9 [30.0; 2.6] | |
| <i>PLT</i> | AFAB | 27 | 264.6 \pm 70.1 [255.0; 109.0] | 0.241 [0.811] |
| | AMAB | 16 | 260.2 \pm 54.1 [272.5; 88.75] | |

| | | | | |
|--|------|----|-------------------------------|--------------------------------------|
| <i>Creatinina</i> | AFAB | 25 | 0.7 ± 0.1 [0.66; 0.16] | 0.259 <0.001 |
| | AMAB | 16 | 0.8 ± 0.1 [0.83; 0.25] | |
| <i>Colesterolo Totale</i> | AFAB | 26 | 154.2 ± 29.8 [149.0; 56.0] | 0.556 [0.111] |
| | AMAB | 16 | 168.8 ± 31.7 [159.0; 65.3] | |
| <i>Colesterolo Hdl</i> | AFAB | 26 | 56.8 ± 11.7 [56.0; 14.0] | 0.992 [0.826] |
| | AMAB | 16 | 56.4 ± 11.3 [52.0; 17.8] | |
| <i>Trigliceridi</i> | AFAB | 26 | 64.3 ± 25.6 [57.0; 27.0] | 0.450 [0.066] |
| | AMAB | 16 | 77.6 ± 26.8 [67.5; 46.3] | |
| <i>Colesterolo LDL calcolato</i> | AFAB | 26 | 84.6 ± 23.6 [83.6; 43.0] | 0.172 [0.186] |
| | AMAB | 16 | 96.9 ± 26.3 [84.0; 57.0] | |
| <i>Glicemia</i> | AFAB | 22 | 83.9 ± 6.6 [85.0; 10.0] | 0.073 [0.417] |
| | AMAB | 15 | 85.9 ± 9.3 [86.0; 16.0] | |
| <i>AST</i> | AFAB | 25 | 20.8 ± 9.0 [19.0; 9.0] | 0.877 [0.012] |
| | AMAB | 16 | 24.9 ± 7.1 [20.5; 13.5] | |
| <i>ALT</i> | AFAB | 26 | 14.8 ± 6.3 [13.0; 6.0] | 0.088 <0.001 |
| | AMAB | 17 | 25.9 ± 16.7 [19.0; 16.3] | |
| <i>Testosterone Totale</i> | AFAB | 28 | 0.34 ± 0.17 [0.26; 0.27] | <0.001 <0.001 |
| | AMAB | 16 | 2.92 ± 1.13 [2.21; 1.61] | |
| <i>SHBG</i> | AFAB | 28 | 58.4 ± 32.2 [50.9; 40.5] | 0.002 [0.010] |
| | AMAB | 15 | 33.8 ± 11.5 [37.1; 19.1] | |
| <i>Testosterone Libero Calcolato</i> | AFAB | 28 | 0.00 ± 0.00 [0.00; 0.00] | <0.001 <0.001 |
| | AMAB | 14 | 0.07 ± 0.04 [0.04; 0.06] | |
| <i>Estradiolo</i> | AFAB | 29 | 92.4 ± 91.8 [68;0; 104.2] | 0.021 <0.001 |
| | AMAB | 16 | 35.7 ± 11.3 | |

| | | | | |
|-----|------|----|-------------------------|-------------------------|
| | | | [31.5; 18.3] | |
| LH | AFAB | 28 | 7.8 ± 4.9 [6.7; 5.8] | 0.018 [0.198] |
| | AMAB | 14 | 5.7 ± 2.5 [5.1; 3.6] | |
| FSH | AFAB | 28 | 4.7 ± 2.0 [5.2; 2.5] | 0.024 [0.407] |
| | AMAB | 15 | 4.5 ± 3.4 [2.8; 5.2] | |

Tra gli esami della coagulazione è stato riscontrato un numero maggiore di pazienti AMAB con anticorpi anti cardiolipina (IgG) (p 0.011).

Lo studio del fattore VIII ha mostrato valori più elevati nella popolazione AFAB (p 0.028), mentre l'attività coagulometrica della proteina S è maggiore nella popolazione AMAB (p 0.033).

Sempre all'interno della popolazione AMAB si sono trovati valori più elevati per quanto riguarda l'antigene libero della proteina S, risultato con una media di 108.13±16.10 % e un livello di significatività di 0.031 (Tabella 8-5).

Tabella 8-5: Confronto dei valori degli Esami della Coagulazione prima dell'inizio della terapia tra il gruppo AMAB e il gruppo AFAB. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Intervallo interquartile = IR.

| Esami Coagulazione | | N | Media ± SD [Mediana; IR] | p Value t Test [p value U test] |
|---------------------------|------|----------|-------------------------------------|--|
| PT | AFAB | 29 | 97.1 ± 8.1 [97.7; 11.1] | 0.129 [0.499] |
| | AMAB | 16 | 100.0 ± 12.5 [99.0; 22.0] | |
| INR | AFAB | 29 | 1.0 ± 0.1 [1.01; 0.1] | 0.222 [0.483] |
| | AMAB | 16 | 1.0 ± 0.1 [1.0; 0.2] | |
| aPTT | AFAB | 29 | 27.9 ± 3.1 [28.3; 3.9] | 0.415 [0.537] |
| | AMAB | 16 | 28.3 ± 3.5 [28.9; 6.1] | |
| FII | AFAB | 29 | 105.4 ± 25.7 [105.1; 30.7] | 0.264 [0.972] |
| | AMAB | 16 | 110.1 ± 18.2 [108.7; 29.3] | |
| FVIII | AFAB | 29 | 134.7 ± 39.9 [130.1; 56.4] | 0.704 [0.028] |
| | AMAB | 16 | 108.6 ± 36.7 | |

| | | | | |
|---|------|----|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | <i>[111.3; 50.5]</i> | |
| <i>FIX</i> | AFAB | 29 | 104.8 ± 25.0 <i>[100.5; 31.0]</i> | 0.322 <i>[0.413]</i> |
| | AMAB | 16 | 107.9 ± 16.3 <i>[110.7; 29.3]</i> | |
| <i>FX</i> | AFAB | 29 | 101.1 ± 21.0 <i>[95.4; 28.0]</i> | 0.969 <i>[0.380]</i> |
| | AMAB | 16 | 107.2 ± 21.3 <i>[100.3; 29.8]</i> | |
| <i>FXI</i> | AFAB | 29 | 108.2 ± 20.5 <i>[102.7; 29.2]</i> | 0.948 <i>[0.822]</i> |
| | AMAB | 16 | 108.9 ± 22.1 <i>[99.7; 25.5]</i> | |
| <i>Fibrinogeno</i> | AFAB | 29 | 341.3 ± 65.2 <i>[341.8; 73.6]</i> | 0.396 <i>[0.275]</i> |
| | AMAB | 16 | 315.6 ± 76.1 <i>[317.1; 131.1]</i> | |
| <i>AT</i> | AFAB | 29 | 103.3 ± 11.0 <i>[101.2; 17.5]</i> | 0.404 <i>[0.413]</i> |
| | AMAB | 16 | 96.2 ± 23.3 <i>[98.9; 11.7]</i> | |
| <i>Proteina C attività Coagulometrica</i> | AFAB | 29 | 101.2 ± 20.3 <i>[103.7; 39.2]</i> | 0.291 <i>[0.553]</i> |
| | AMAB | 16 | 98.5 ± 17.6 <i>[98.8; 21.8]</i> | |
| <i>Proteina C attività Cromogenica</i> | AFAB | 29 | 113.3 ± 21.1 <i>[110.5; 26.0]</i> | 0.888 <i>[0.200]</i> |
| | AMAB | 16 | 104.6 ± 17.6 <i>[99.6; 31.2]</i> | |
| <i>Proteina C antigene (ELISA)</i> | AFAB | 29 | 116.6 ± 22.3 <i>[111.0; 19.75]</i> | 0.566 <i>[0.319]</i> |
| | AMAB | 16 | 110.7 ± 24.0 <i>[109.0; 45.0]</i> | |
| <i>Proteina S attività Coagulometrica</i> | AFAB | 29 | 99.0 ± 18.2 <i>[95.7; 24.0]</i> | 0.375 <i>[0.033]</i> |
| | AMAB | 16 | 111.5 ± 15.4 <i>[110.6; 23.1]</i> | |
| <i>Proteina S antigene Libero (ELISA)</i> | AFAB | 29 | 98.1 ± 13.7 <i>[90.0; 10.0]</i> | 0.464 <i>[0.031]</i> |
| | AMAB | 16 | 108.1 ± 16.1 <i>[108.0; 23.0]</i> | |
| <i>Proteina S antigene Totale (ELISA)</i> | AFAB | 29 | 111.9 ± 18.5 <i>[107.5; 32.0]</i> | 0.460 <i>[0.441]</i> |
| | AMAB | 16 | 116.5 ± 15.4 <i>[110.0; 24.0]</i> | |
| <i>APC sensitivity ratio</i> | AFAB | 29 | 3.0 ± 0.7 <i>[3.3; 1.0]</i> | 0.172 <i>[0.393]</i> |

| | | | | |
|---|------|----|-------------------------------|--------------------------------|
| <i>APC sensitivity ratio normalization</i> | AMAB | 16 | 3.4 ± 1.0 [3.4; 1.0] | 0.135 [0.380] |
| | AFAB | 28 | 1.0 ± 0.2 [1.1; 0.3] | |
| <i>Plasminogeno attività</i> | AMAB | 16 | 1.2 ± 0.3 [1.2; 0.3] | 0.186 [0.794] |
| | AFAB | 29 | 98.4 ± 21.6 [97.5; 12.9] | |
| <i>PAI Antigene</i> | AMAB | 16 | 101.6 ± 11.0 [101.0; 19.1] | 0.068 [0.374] |
| | AFAB | 29 | 18.6 ± 17.9 [14.2; 16.8] | |
| <i>Anticorpi anti-beta2-glicoproteina I IgG</i> | AMAB | 16 | 28.0 ± 34.4 [18.0; 31.2] | 0.884 [0.730] |
| | AFAB | 29 | 0.9 ± 0.7 [0.6; 0.3] | |
| <i>Anticorpi anti-beta2-glicoproteina I IgM</i> | AMAB | 16 | 0.9 ± 0.6 [1.0; 0.9] | 0.006 [0.010] |
| | AFAB | 29 | 0.6 ± 0.4 [0.5; 0.6] | |
| <i>Anticorpi anti cardiolipina IgG</i> | AMAB | 16 | 1.7 ± 2.1 [0.9; 1.7] | 0.251 [0.167] |
| | AFAB | 29 | 1.2 ± 0.9 [0.8; 0.6] | |
| <i>Anticorpi anti cardiolipina IgM</i> | AMAB | 16 | 1.6 ± 1.2 [1.3; 1.0] | 0.011 [0.483] |
| | AFAB | 29 | 1.1 ± 0.5 [1.3; 0.7] | |
| <i>dRVVT</i> | AMAB | 16 | 2.2 ± 3.4 [1.1; 1.4] | 0.322 [0.077] |
| | AFAB | 29 | 35.2 ± 2.6 [35.4; 3.5] | |
| <i>aPTTLA</i> | AMAB | 16 | 37.1 ± 3.2 [37.7; 5.7] | 0.287 [0.068] |
| | AFAB | 29 | 35.5 ± 3.6 [35.3; 4.05] | |
| | AMAB | 16 | 37.7 ± 4.3 [36.0; 4.3] | |

L'analisi delle tabelle di contingenza che raccoglievano i dati relativi alle mutazioni trombofiliche (Fatt ore V di Leiden e mutazioni del recettore della protrombina) non ha mostrato dati dignificativi. Si descrivono 4 casi di mutazione del fattore V di Leiden nella popolazione AFAB. È stato, inoltre, riscontrato un singolo paziente nel gruppo AMAB positivo per gli Anticorpi anti cardiolipina IgM. (Tabella 8-6).

Tabella 8-6: Tabelle di contingenza per la frequenza delle mutazioni trombofiliche: Fattore V di Leiden e Protrombina. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB;

| | AFAB [%] (Tot 29) | AMAB [%] (Tot 16) | p Value su test del χ^2 |
|--|----------------------------------|----------------------------------|--|
| <i>Fattore V di Leiden</i> | 4 [13.79%] | 0 [0%] | 0.29 |
| <i>Protrombina</i> | 0 [0%] | 0 [0%] | NA |
| <i>Anticorpi anti cardiolipina IgM</i> | 0 [0%] | 1 [6,25%] | NA |

La tromboelastografia rotazionale (ROTEM) ha mostrato delle differenze solo tra i parametri EXTEM CT, EXTEM CF, INTEM CFT e INTEM MCF.

Le analisi riguardanti la via estrinseca (EXTEM) hanno sottolineato una differenza significativa nel parametro CT ha mostrato nel gruppo AFAB un tempo di coagulazione più corto (p 0.025) e un aumento del parametro MCF (p 0.024).

Anche nella via intrinseca (INTEM) sono stati registrati parametri minori nei pazienti AFAB rispetto al parametro CFT (p 0.01) e parametro MCF aumentato con una p di 0.012 rispetto al gruppo AMAB (Tabella 8-7).

Tabella 8-7: Confronto dei risultati ottenuti dalla Tromboelastografia Rotazionale (ROTEM) prima dell'inizio della terapia tra il gruppo AMAB e il gruppo AFAB. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Intervallo interquartile = IR.

ROTEM

| | | N | Media \pm SD [Mediana; IR] | p Value t Test [p value U test] |
|------------------|------|----------|--|--|
| <i>EXTEM CT</i> | AFAB | 30 | 68.6 \pm 7.9 [68.5; 11.8] | 0.287 [0.025] |
| | AMAB | 16 | 75.8 \pm 11.8 [76.0; 8.0] | |
| <i>EXTEM CFT</i> | AFAB | 30 | 75.5 \pm 14.4 [69.0; 29.8] | 0.398 [0.086] |
| | AMAB | 16 | 86.1 \pm 19.0 [87.0; 15.0] | |
| <i>EXTEM MCF</i> | AFAB | 30 | 66.7 \pm 4.4 [67.5; 6.25] | 0.846 [0.024] |
| | AMAB | 16 | 63.1 \pm 4.1 [63.0; 7.0] | |
| <i>INTEM CT</i> | AFAB | 30 | 211.2 \pm 115.4 [180.0; 42.3] | 0.099 [0.362] |
| | AMAB | 16 | 199.0 \pm 32.8 [196.0; 66.0] | |

| | | | | |
|------------|------|----|-----------------------------|-------------------------|
| INTEM CFT | AFAB | 30 | 67.4 ± 13.0 [66.0; 22.8] | 0.060 [0.010] |
| | AMAB | 16 | 81.1 ± 17.9 [76.0; 31.0] | |
| INTEM MCF | AFAB | 30 | 64.2 ± 4.5 [67.0; 5.5] | 0.943 [0.012] |
| | AMAB | 16 | 60.5 ± 4.4 [59.0; 5.0] | |
| FIBTEM MCF | AFAB | 30 | 17.1 ± 5.1 [17.5; 9.3] | 0.581 [0.203] |
| | AMAB | 16 | 14.8 ± 4.4 [13.0; 5.0] | |

Le analisi compiute su test Multiplate® non hanno mostrato alcuna differenza significativa nelle due popolazioni al basale (Tabella 8-8).

Tabella 8-8: Confronto dei risultati dell'analisi eseguita con Multiplate® prima dell'inizio della terapia tra il gruppo AMAB e il gruppo AFAB. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Intervallo interquartile = IR.

Multiplate®

| | | N | Media ± SD [Mediana; IR] | p Value t Test [p value U test] |
|------|------|----|-------------------------------|------------------------------------|
| ADP | AFAB | 30 | 80.5 ± 26.0 [79.0; 30.3] | 0.502 [0.926] |
| | AMAB | 16 | 80.3 ± 27.7 [82.0; 54.0] | |
| ASPI | AFAB | 30 | 73.7 ± 19.5 [80.5; 28.5] | 0.837 [0.131] |
| | AMAB | 16 | 64.9 ± 20.2 [65.0; 38.0] | |
| TRAP | AFAB | 30 | 115.3 ± 26.7 [118.5; 39.3] | 0.053 [0.926] |
| | AMAB | 16 | 114.6 ± 17.6 [119.0; 27.0] | |

L'analisi della Ferritina ha mostrato che questa è maggiormente concentrata nel sangue dei pazienti AMAB con una p sul test di Student di 0.005 e sul test di Mann-Whitney di < 0.001.

Sono stati osservati valori di Transferrina tendenzialmente più elevati e minori livelli di saturazione della Transferrina nella popolazione AFAB, pur non raggiungendo la significatività statistica.

Il test di t infine ha mostrato come la PCR risulti significativamente maggiore nel gruppo AMAB (p 0.001) mentre l'eritropoietina risulti maggiore nel gruppo AFAB (p 0.049) (Tabella 8-9).

Tabella 8-9: Confronto dei risultati ottenuti dall'analisi dei parametri collegati all'eritrocitosi prima della terapia tra il gruppo AMAB e il gruppo AFAB. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Intervallo interquartile = IR.

Eritropoiesi

| | | N | Media \pm SD [Mediana; IR] | p Value t Test [p value U test] |
|--------------|------|----|---------------------------------------|------------------------------------|
| Fe | AFAB | 20 | 11.06 \pm 6.09 [7.90; 10.98] | 0.642 [0.113] |
| | AMAB | 11 | 15.26 \pm 5.97 [14.20; 9.70] | |
| Ferritina | AFAB | 20 | 30.0 \pm 20.8 [21.0; 26.5] | 0.005 [<0.001] |
| | AMAB | 11 | 165.82 \pm 66.05 [158.00; 76.00] | |
| Transferrina | AFAB | 19 | 2.96 \pm 0.46 [2.92; 0.73] | 0.347 [0.014] |
| | AMAB | 11 | 2.52 \pm 0.37 [2.55; 0.46] | |
| TSAT | AFAB | 19 | 15.64 \pm 10.07 [19.75; 16.18] | 0.839 [0.023] |
| | AMAB | 11 | 24.54 \pm 9.87 [19.34;] | |
| PCR | AFAB | 15 | 0.57 \pm 0.08 [0.5;] | 0.001 [0.168] |
| | AMAB | 5 | 0.90 \pm 0.71 [0.8;] | |
| IGF1 | AFAB | 19 | 253.37 \pm 78.92 [270.00; 82.75] | 0.189 [0.268] |
| | AMAB | 11 | 222.36 \pm 55.51 [211.00;] | |
| EPO | AFAB | 19 | 15.18 \pm 16.10 [7.55; 4.98] | 0.049 [0.497] |
| | AMAB | 11 | 8.81 \pm 2.40 [11.1;] | |

L'eritrocitosi analizzata utilizzando un valore di ematocrito superiore al 48% hanno mostrato un'incidenza di questa condizione maggiore nel gruppo AMAB rispetto al gruppo AFAB. Sono stati infatti riscontrati 6 casi di eritrocitosi nel campione AMAB e le tabelle di contingenza hanno sottolineato una significatività importante con una p di 0.001 (Tabella 8-10).

Tabella 8-10: tabella di contingenza per l'incidenza di episodi di eritrocitosi basata sulla presenza di ematocrito superiore a 48%. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB.

| | AFAB (Tot 39) | AMAB (Tot 22) | p Value su test del χ^2 |
|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|--|
| <i>Eritrocitosi (HCT > 48)</i> | 0 [0%] | 6 [27.27%] | 0.001 |

Infine, l'analisi delle cellule progenitrici endoteliali non ha mostrato nessun dato significativo. (Tabella 8-11).

Tabella 8-11: Confronto dei risultati ottenuti dall'analisi delle EPC. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Intervallo interquartile = IR.

| | EPC | N | Media \pm SD [Mediana; IR] | p Value t Test [p value U test] |
|-------------------------|------------|----------|--|--|
| <i>EPC Totali</i> | AMAB | 8 | 29080 \pm 12054 [34312; 11190] | 0.145 [0.176] |
| | AFAB | 17 | 20734 \pm 13274 [16380; 22515] | |
| <i>EPC % sul totale</i> | AMAB | 8 | 0.001 \pm 0.000 [0.0010; 0.0007] | 0.021 [0.151] |
| | AFAB | 17 | 0.001 \pm 0.000 [0.001; 0.000] | |
| <i>EPC % sul CD34+</i> | AMAB | 8 | 0.89 \pm 0.60 [1.13; 0.86] | 0.327 [0.876] |
| | AFAB | 17 | 1.41 \pm 1.40 [1.44; 2.32] | |

8.3. Terapia

La scelta della terapia, e di conseguenza la via di somministrazione, è un fattore da tenere in considerazione in quanto può variare sensibilmente gli effetti sia desiderati che attesi.

Nel gruppo AMAB la scelta è ricaduta solo sulla terapia transdermica in quanto nessuna delle partecipanti ha preferito l'alternativa orale. L'80% delle pazienti è stata trattata con Estradiolo Emiidratato che presenta una formulazione in gel, il dosaggio medio per questo farmaco è stato 5,16 μ g/die; il restante 20% ha ricevuto una terapia formulata con il medesimo principio attivo, ma in forma di spray transdermico e con un dosaggio medio di 2 μ g/die.

Contestualmente è stato somministrato anche un antiandrogeno per inibire il Testosterone endogeno: tutte le pazienti hanno ricevuto Ciproterone Acetato con un dosaggio medio di 30 mg/die.

Il gruppo AFAB ha avuto la possibilità di scegliere tra una terapia iniettiva e una terapia transdermica a base di gel. Il 64,71% dei partecipanti ha preferito una terapia a base di testosterone gel il cui dosaggio medio è stato 35,82 µg/die, mentre i restanti hanno preferito una terapia iniettiva. Sul totale dei partecipanti, nel gruppo AFAB, il 23,53% ha ricevuto il Testosterone Enantato, 250 µg ogni 2-4 settimane, mentre l'11,74% ha ricevuto Testosterone Undecanoato, 1000 µg ogni 12 settimane.

8.4. Confronto tra T0 e T3

Il confronto tra i dati raccolti prima dell'inizio della terapia (T0) e dopo tre mesi (T3) son stati analizzati in tre modi: mediante il test t di Student, mediante, analisi della varianza ANOVA e mediante correlazione r di Pearson.

Il test di Student è stato analizzato per comparare ogni gruppo con sé stesso longitudinalmente nel tempo per vedere quali sono gli effetti della terapia di affermazione di genere al primo controllo. I dati provenienti dall'ANOVA son stati invece usati per analizzare i dati raccolti a tre mesi di terapia per ogni gruppo con i valori basali del gruppo opposto che fungeva in questo modo da gruppo di controllo: il sesso biologico dei pazienti nel gruppo di controllo (T0) corrispondeva così con il genere di elezione del gruppo a T3 in analisi.

Infine, la correlazione di Pearson è stata utilizzata per comprendere come gli ormoni correlassero con i vari altri parametri in studio e la loro variazione durante la terapia.

8.4.1. Test t di Student

8.4.1.1. AFAB T0 vs AFAB T3

All'interno del gruppo AFAB i primi tre mesi di terapia a base di Testosterone hanno consentito di registrare un aumento dell'emoglobina ($p < 0.011$), dell'ematocrito ($p < 0.001$) e dei livelli di creatinina ($p < 0,013$). Data la terapia è stato naturalmente riscontrato un aumento marcatamente significativo dei livelli di Testosterone ($p < 0.001$) (Tabella 8-12).

Tabella 8-12: Confronto dei parametri Ematochimici ed Ormonali tra il gruppo AFAB T0 e il gruppo AFAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

Esami Ematici e Ormonali

| | | N | Media \pm SD | p Value t Test |
|--|----------|----|--------------------|------------------|
| <i>Hb</i> | AFAB T0 | 27 | 12.80 \pm 1.14 | 0.011 |
| | AFAB T3M | 13 | 13.73 \pm 0.97 | |
| <i>HCT</i> | AFAB T0 | 29 | 39.77 \pm 2.27 | <0.001 |
| | AFAB T3M | 15 | 42.93 \pm 1.97 | |
| <i>MCV</i> | AFAB T0 | 27 | 87.65 \pm 7.04 | 0.542 |
| | AFAB T3M | 13 | 86.41 \pm 5.71 | |
| <i>MCH</i> | AFAB T0 | 27 | 28.33 \pm 3.30 | 0.623 |
| | AFAB T3M | 13 | 27.86 \pm 2.96 | |
| <i>PLT</i> | AFAB T0 | 27 | 264.56 \pm 70.07 | 0.358 |
| | AFAB T3M | 13 | 285.38 \pm 66.49 | |
| <i>Creatinina</i> | AFAB T0 | 25 | 0.65 \pm 0.10 | 0.013 |
| | AFAB T3M | 15 | 0.76 \pm 0.16 | |
| <i>Colesterolo Totale</i> | AFAB T0 | 26 | 154.23 \pm 29.82 | 0.438 |
| | AFAB T3M | 8 | 142.66 \pm 62.37 | |
| <i>Trigliceridi</i> | AFAB T0 | 26 | 64.31 \pm 25.63 | 0.061 |
| | AFAB T3M | 8 | 85.00 \pm 30.18 | |
| <i>AST</i> | AFAB T0 | 25 | 20.84 \pm 9.02 | 0.781 |
| | AFAB T3M | 14 | 21.57 \pm 7.74 | |
| <i>ALT</i> | AFAB T0 | 26 | 14.85 \pm 6.32 | 0.905 |
| | AFAB T3M | 14 | 14.43 \pm 7.88 | |
| <i>Testosterone Totale</i> | AFAB T0 | 28 | 0.35 \pm 0.17 | <0.001 |
| | AFAB T3M | 15 | 2.79 \pm 1.07 | |
| <i>SHBG</i> | AFAB T0 | 28 | 58.37 \pm 32.23 | 0.069 |
| | AFAB T3M | 6 | 36.60 \pm 22.55 | |
| <i>Testosterone Libero calcolato</i> | AFAB T0 | 28 | 0.00 \pm 0.00 | 0.976 |
| | AFAB T3M | 6 | 0.07 \pm 0.05 | |
| <i>Estradiolo</i> | AFAB T0 | 29 | 92.43 \pm 91.83 | 0.337 |
| | AFAB T3M | 14 | 53.52 \pm 50.39 | |
| <i>LH</i> | AFAB T0 | 28 | 7.80 \pm 4.89 | 0.057 |
| | AFAB T3M | 15 | 14.97 \pm 22.82 | |
| <i>FSH</i> | AFAB T0 | 28 | 4.65 \pm 1.98 | 0.087 |
| | AFAB T3M | 14 | 11.67 \pm 26.08 | |

La Tromboelastografia non ha registrato cambiamenti a tre mesi di terapia (Tabella 8-13).

Tabella 8-13: Confronto dei risultati ottenuti dall'analisi ROTEM tra il gruppo AFAB T0 e il gruppo AFAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| ROTEM | | N | Media ± SD | p Value t Test |
|--------------|----------|----------|-------------------|-----------------------|
| EXTEM CT | AFAB T0 | 30 | 68.6 ± 7.9 | 0.979 |
| | AFAB T3M | 7 | 68.7 ± 14.6 | |
| EXTEM CFT | AFAB T0 | 30 | 75.5 ± 14.4 | 0.587 |
| | AFAB T3M | 7 | 77.1 ± 12.7 | |
| EXTEM MCF | AFAB T0 | 30 | 66.7 ± 4.4 | 0.851 |
| | AFAB T3M | 7 | 67.0 ± 4.4 | |
| INTEM CT | AFAB T0 | 30 | 211.2 ± 115.4 | 0.503 |
| | AFAB T3M | 7 | 199.4 ± 27.6 | |
| INTEM CFT | AFAB T0 | 30 | 67.4 ± 13.0 | 0.794 |
| | AFAB T3M | 7 | 69.0 ± 13.4 | |
| INTEM MCF | AFAB T0 | 30 | 64.2 ± 4.5 | 0.780 |
| | AFAB T3M | 7 | 63.7 ± 5.2 | |
| FIBTEM MCF | AFAB T0 | 30 | 17.1 ± 5.1 | 0.845 |
| | AFAB T3M | 7 | 16.7 ± 2.9 | |

L'analisi Multiplate® non ha consentito di individuare nessuna differenza significativa nei primi tre mesi di terapia (Tabella 8-14).

Tabella 8-14: Confronto dei risultati ottenuti dall'analisi Multiplate® tra il gruppo AFAB T0 e il gruppo AFAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| Multiplate® | | N | Media ± SD | p Value t Test |
|--------------------|----------|----------|-------------------|-----------------------|
| ADP | AFAB T0 | 30 | 80.5 ± 26.0 | 0.058 |
| | AFAB T3M | 7 | 58.9 ± 14.4 | |
| ASPI | AFAB T0 | 30 | 73.7 ± 19.5 | 0.192 |
| | AFAB T3M | 7 | 61.7 ± 16.2 | |
| TRAP | AFAB T0 | 30 | 115.3 ± 26.7 | 0.796 |
| | AFAB T3M | 7 | 118.1 ± 24.9 | |

L'analisi dell'eritrocitosi non ha mostrato dati significativi (Tabella 8-15).

Tabella 8-15: Confronto dei risultati delle analisi sull'Eritrocitosi tra il gruppo AFAB T0 e il gruppo AFAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| Eritropoiesi | | N | Media ± SD | p Value t Test |
|---------------------|----------|----------|-------------------|-----------------------|
| <i>Fe</i> | AFAB T0 | 20 | 11.1 ± 6.1 | 0.926 |
| | AFAB T3M | 7 | 11.3 ± 7.0 | |
| <i>Ferritina</i> | AFAB T0 | 20 | 30.0 ± 20.7 | 0.727 |
| | AFAB T3M | 7 | 23.4 ± 19.1 | |
| <i>Transferrina</i> | AFAB T0 | 19 | 3.0 ± 0.5 | 0.857 |
| | AFAB T3M | 7 | 3.1 ± 0.1 | |
| <i>TSAT</i> | AFAB T0 | 19 | 15.6 ± 10.1 | 0.345 |
| | AFAB T3M | 6 | 11.2 ± 7.5 | |
| <i>PCR</i> | AFAB T0 | 15 | 0.6 ± 0.1 | 0.137 |
| | AFAB T3M | 7 | 2.1 ± 4.4 | |
| <i>IGF1</i> | AFAB T0 | 19 | 253.4 ± 78.9 | 0.579 |
| | AFAB T3M | 6 | 233.8 ± 87.1 | |
| <i>EPO</i> | AFAB T0 | 19 | 15.2 ± 16.1 | 0.481 |
| | AFAB T3M | 6 | 11.3 ± 4.4 | |

L'analisi delle EPC non ha mostrato dati significativi (Figura 8-16).

Tabella 8-16: Tabella 8 15: Confronto dei risultati del calcolo delle EPC tra il gruppo AFAB T0 e il gruppo AFAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| EPC | | N | Media ± SD | p Value t Test |
|-------------------------|----------|----------|-------------------|-----------------------|
| <i>EPC Totali</i> | AFAB T0 | 17 | 20734 ± 13274 | 0.061 |
| | AFAB T3M | 6 | 54598 ± 83552 | |
| <i>EPC % sul totale</i> | AFAB T0 | 17 | 0.001 ± 0.000 | 0.063 |
| | AFAB T3M | 6 | 0.002 ± 0.003 | |
| <i>EPC % sul CD34+</i> | AFAB T0 | 17 | 1.41 ± 1.40 | 0.860 |
| | AFAB T3M | 6 | 1.54 ± 2.58 | |

8.4.1.2. AMAB T0 vs AMAB T3

La terapia a base di estrogeni e antiandrogeni nelle pazienti AMAB ha consentito di registrare naturalmente un abbassamento del testosterone ($p < 0.001$) e un innalzamento degli estrogeni ($p 0.007$). È stato, inoltre registrato un abbassamento

significativo dei valori di emoglobina (p 0.009), dell'ematocrito (p< 0.001) e del colesterolo totale (p 0.030) (Tabella 8-17).

Tabella 8-17: Confronto dei parametri Ematochimici ed Ormonali tra il gruppo AMAB T0 e il gruppo AMAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

Esami Ematici e Ormonali

| | | N | Media ± SD | p Value t Test |
|----------------------------------|----------|----|---------------|------------------|
| Hb | AMAB T0 | 16 | 15.5 ± 0.8 | 0.009 |
| | AMAB T3M | 8 | 14.2 ± 1.3 | |
| HCT | AMAB T0 | 16 | 46.1 ± 2.7 | <0.001 |
| | AMAB T3M | 8 | 41.5 ± 3.2 | |
| MCV | AMAB T0 | 16 | 89.6 ± 4.6 | 0.504 |
| | AMAB T3M | 8 | 87.9 ± 4.9 | |
| MCH | AMAB T0 | 16 | 30.1 ± 1.9 | 0.867 |
| | AMAB T3M | 8 | 30.3 ± 2.3 | |
| PLT | AMAB T0 | 16 | 260.2 ± 54.1 | 0.827 |
| | AMAB T3M | 8 | 266.5 ± 76.7 | |
| Creatinina | AMAB T0 | 16 | 0.8 ± 0.1 | 0.119 |
| | AMAB T3M | 6 | 0.8 ± 0.1 | |
| Colesterolo Totale | AMAB T0 | 16 | 168.8 ± 31.7 | 0.030 |
| | AMAB T3M | 3 | 117.3 ± 23.2 | |
| Trigliceridi | AMAB T0 | 16 | 77.6 ± 26.8 | 0.165 |
| | AMAB T3M | 2 | 49.5 ± 21.9 | |
| AST | AMAB T0 | 16 | 24.9 ± 7.1 | 0.103 |
| | AMAB T3M | 7 | 19.0 ± 3.3 | |
| ALT | AMAB T0 | 17 | 25.9 ± 16.7 | 0.564 |
| | AMAB T3M | 7 | 23.1 ± 8.0 | |
| Testosterone Totale | AMAB T0 | 16 | 2.9 ± 1.1 | <0.001 |
| | AMAB T3M | 7 | 0.2 ± 0.1 | |
| SHBG | AMAB T0 | 15 | 33.8 ± 11.5 | 0.936 |
| | AMAB T3M | 3 | 35.2 ± 4.6 | |
| Testosterone Libero calcolato | AMAB T0 | 14 | 0.1 ± 0.0 | <0.001 |
| | AMAB T3M | 3 | 13.0 ± 22.5 | |
| Estradiolo | AMAB T0 | 16 | 35.7 ± 11.3 | 0.007 |
| | AMAB T3M | 7 | 191.5 ± 335.4 | |
| LH | AMAB T0 | 14 | 5.7 ± 2.5 | 0.306 |
| | AMAB T3M | 7 | 0.2 ± 0.1 | |
| FSH | AMAB T0 | 15 | 4.5 ± 3.4 | 0.470 |
| | AMAB T3M | 7 | 0.4 ± 0.2 | |

La tromboelastografia non ha mostrato differenze significative nei primi tre mesi di terapia a base di estrogeni ed antiandrogeni (Tabella 8-18).

Tabella 8-18: Confronto dei risultati ottenuti dall'analisi ROTEM tra il gruppo AMAB T0 e il gruppo AMAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| ROTEM | | N | Media ± SD | p Value t Test |
|--------------|----------|----------|-------------------|-----------------------|
| EXTEM CT | AMAB T0 | 16 | 75.8 ± 11.8 | 0.719 |
| | AMAB T3M | 5 | 73.8 ± 14.2 | |
| EXTEM CFT | AMAB T0 | 16 | 86.1 ± 19.0 | 0.857 |
| | AMAB T3M | 5 | 74.6 ± 10.7 | |
| EXTEM MCF | AMAB T0 | 16 | 63.1 ± 4.1 | 0.687 |
| | AMAB T3M | 5 | 64.0 ± 3.4 | |
| INTEM CT | AMAB T0 | 16 | 199.0 ± 32.8 | 0.865 |
| | AMAB T3M | 5 | 221.2 ± 72.4 | |
| INTEM CFT | AMAB T0 | 16 | 81.1 ± 17.9 | 0.399 |
| | AMAB T3M | 5 | 74.6 ± 16.6 | |
| INTEM MCF | AMAB T0 | 16 | 60.5 ± 4.4 | 0.312 |
| | AMAB T3M | 5 | 62.8 ± 1.3 | |
| FIBTEM MCF | AMAB T0 | 16 | 14.8 ± 4.4 | 0.367 |
| | AMAB T3M | 5 | 17.0 ± 5.1 | |

L'analisi Multiplate® non ha mostrato differenze significative nei primi tre mesi di terapia a base di estrogeni ed antiandrogeni (Tabella 8-19).

Tabella 8-19: Confronto dei risultati ottenuti dall'analisi Multiplate® tra il gruppo AMAB T0 e il gruppo AMAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| Multiplate® | | N | Media ± SD | p Value t Test |
|--------------------|----------|----------|-------------------|-----------------------|
| ADP | AMAB T0 | 16 | 80.3 ± 27.7 | 0.245 |
| | AMAB T3M | 5 | 64.2 ± 38.5 | |
| ASPI | AMAB T0 | 16 | 64.9 ± 20.2 | 0.838 |
| | AMAB T3M | 5 | 67.2 ± 39.7 | |
| TRAP | AMAB T0 | 16 | 114.6 ± 17.6 | 0.533 |
| | AMAB T3M | 5 | 106.2 ± 43.2 | |

I parametri dell'eritropoiesi e del metabolismo del ferro non ha mostrato differenze significative nei primi tre mesi di terapia a base di estrogeni ed antiandrogeni (Tabella 8-20).

Tabella 8-20: Confronto dei risultati ottenuti dalle analisi sull'Eritrocitosi tra il gruppo AMAB T0 e il gruppo AMAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

Eritropoiesi

| | | N | Media \pm SD | p Value t Test |
|--------------|----------|----|------------------|----------------|
| Fe | AMAB T0 | 11 | 15.3 \pm 6.0 | 0.536 |
| | AMAB T3M | 4 | 17.5 \pm 5.8 | |
| Ferritina | AMAB T0 | 11 | 165.8 \pm 66.1 | 0.615 |
| | AMAB T3M | 4 | 153.3 \pm 69.7 | |
| Transferrina | AMAB T0 | 11 | 2.5 \pm 0.4 | 0.997 |
| | AMAB T3M | 3 | 2.3 \pm 0.2 | |
| TSAT | AMAB T0 | 11 | 24.5 \pm 9.9 | 0.456 |
| | AMAB T3M | 3 | 29.4 \pm 13.5 | |
| PCR | AMAB T0 | 5 | 0.9 \pm 0.7 | 0.732 |
| | AMAB T3M | 3 | 0.4 \pm 0.5 | |
| IGF1 | AMAB T0 | 11 | 222.4 \pm 55.5 | 0.404 |
| | AMAB T3M | 3 | 263.3 \pm 80.3 | |
| EPO | AMAB T0 | 11 | 8.8 \pm 2.4 | 0.920 |
| | AMAB T3M | 3 | 8.0 \pm 0.9 | |

Il calcolo delle EPC non ha mostrato alcun valore statisticamente significativo (Tabella 8-21)

Tabella 8-21: Confronto dei risultati ottenuti dal calcolo delle EPC tra il gruppo AMAB T0 e il gruppo AMAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

EPC

| | | N | Media \pm SD | p Value t Test |
|------------------|----------|---|-------------------|----------------|
| EPC Totali | AMAB T0 | 7 | 29080 \pm 12054 | 0.785 |
| | AMAB T3M | 2 | 21116 \pm 11158 | |
| EPC % sul totale | AMAB T0 | 7 | 0,001 \pm 0,000 | 0.706 |
| | AMAB T3M | 2 | 0.001 \pm 0.000 | |
| EPC % sul CD34+ | AMAB T0 | 7 | 0,89 \pm 0,60 | 0.872 |
| | AMAB T3M | 2 | 0.69 \pm 0.28 | |

8.4.2. ANOVA

8.4.2.1. AFAB T0 vs AMAB T3

Vengono ora messi a confronto i dati ottenuti dalle analisi del gruppo AMAB a 3 mesi con le analisi del gruppo AFAB al tempo 0. I dati sono stati analizzati con un ANOVA e controllati mediante test post hoc di Bonferroni. Sono riportate le significatività al test di Bonferroni che indicano quali valori son risultati effettivamente differenti.

I dati delle analisi ematiche e ormonali hanno mostrato che persiste una differenza significativa in quanto a livelli di emoglobina, maggiori nei pazienti AMAB a 3 mesi di terapia (p 0.008). Non risultano esserci differenze significative nei livelli di Testosterone (p 1) e degli estrogeni (p 0.368) (Tabella 8-22).

Tabella 8-22: Confronto dei parametri Ematochimici ed Ormonali tra il gruppo AFAB T0 e il gruppo AMAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

Esami Ematici e Ormonali

| | | N | Media ± SD | p Value ANOVA |
|----------------------------|----------|----------|-------------------|----------------------|
| <i>Hb</i> | AFAB T0 | 27 | 12.8 ± 1.1 | 0.008 |
| | AMAB T3M | 8 | 14.2 ± 1.3 | |
| <i>HCT</i> | AFAB T0 | 29 | 39.8 ± 2.3 | 0.451 |
| | AMAB T3M | 8 | 41.5 ± 3.2 | |
| <i>MCV</i> | AFAB T0 | 27 | 87.7 ± 7.0 | 1 |
| | AMAB T3M | 8 | 87.9 ± 4.9 | |
| <i>MCH</i> | AFAB T0 | 27 | 28.3 ± 3.3 | 0.545 |
| | AMAB T3M | 8 | 30.3 ± 2.3 | |
| <i>PLT</i> | AFAB T0 | 27 | 264.6 ± 70.1 | 1 |
| | AMAB T3M | 8 | 266.5 ± 76.7 | |
| <i>Creatinina</i> | AFAB T0 | 25 | 0.7 ± 0.1 | 0.543 |
| | AMAB T3M | 6 | 0.8 ± 0.1 | |
| <i>Colesterolo Totale</i> | AFAB T0 | 26 | 154.2 ± 29.8 | 0.628 |
| | AMAB T3M | 3 | 117.3 ± 23.2 | |
| <i>Trigliceridi</i> | AFAB T0 | 26 | 64.3 ± 25.6 | 1 |
| | AMAB T3M | 2 | 49.5 ± 21.9 | |
| <i>AST</i> | AFAB T0 | 25 | 20.8 ± 9.0 | 1 |
| | AMAB T3M | 7 | 19.0 ± 3.3 | |
| <i>ALT</i> | AFAB T0 | 26 | 14.9 ± 6.3 | 0.413 |
| | AMAB T3M | 7 | 23.1 ± 8.0 | |
| <i>Testosterone Totale</i> | AFAB T0 | 28 | 0.4 ± 0.2 | 1 |
| | AMAB T3M | 7 | 0.2 ± 0.1 | |
| <i>SHBG</i> | AFAB T0 | 28 | 58.4 ± 32.2 | 0.891 |
| | AMAB T3M | 3 | 35.2 ± 4.6 | |

| | | | | |
|----------------------------|----------|----|---------------|------------------|
| <i>Testosterone Libero</i> | AFAB T0 | 28 | 0.0 ± 0.0 | <0.001 |
| | AMAB T3M | 3 | 13.0 ± 22.5 | |
| <i>calcolato</i> | AFAB T0 | 29 | 92.4 ± 91.8 | 0.368 |
| | AMAB T3M | 7 | 191.6 ± 335.4 | |
| <i>Estradiolo</i> | AFAB T0 | 28 | 7.8 ± 4.9 | 0.755 |
| | AMAB T3M | 7 | 0.2 ± 0.1 | |
| <i>LH</i> | AFAB T0 | 28 | 4.7 ± 2.0 | 1 |
| | AMAB T3M | 7 | 0.4 ± 0.2 | |
| <i>FSH</i> | AFAB T0 | 28 | 4.7 ± 2.0 | 1 |
| | AMAB T3M | 7 | 0.4 ± 0.2 | |

La tromboelastografia non mostra differenze significative a tre mesi di terapia a base di estrogeni e antiandrogeni (Tabella 8-23).

Tabella 8-23: Confronto dei risultati ottenuti con l'analisi ROTEM tra il gruppo AFAB T0 e il gruppo AMAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| ROTEM | | N | Media ± SD | p Value ANOVA |
|-------------------|----------|----------|-------------------|----------------------|
| <i>EXTEM CT</i> | AFAB T0 | 30 | 68.60 ± 7.88 | 1 |
| | AMAB T3M | 5 | 73.80 ± 14.20 | |
| <i>EXTEM CFT</i> | AFAB T0 | 30 | 105.53 ± 168.02 | 1 |
| | AMAB T3M | 5 | 74.60 ± 10.71 | |
| <i>EXTEM MCF</i> | AFAB T0 | 30 | 66.67 ± 4.35 | 1 |
| | AMAB T3M | 5 | 64.00 ± 3.39 | |
| <i>INTEM CT</i> | AFAB T0 | 30 | 271.20 ± 344.34 | 1 |
| | AMAB T3M | 5 | 221.20 ± 72.36 | |
| <i>INTEM CFT</i> | AFAB T0 | 30 | 67.37 ± 12.96 | 1 |
| | AMAB T3M | 5 | 74.60 ± 16.62 | |
| <i>INTEM MCF</i> | AFAB T0 | 30 | 64.23 ± 4.50 | 1 |
| | AMAB T3M | 5 | 62.80 ± 1.30 | |
| <i>FIBTEM MCF</i> | AFAB T0 | 30 | 17.10 ± 5.05 | 1 |
| | AMAB T3M | 5 | 17.00 ± 5.10 | |

Il test Multiplate® non mostra differenze significative a tre mesi di terapia a base di estrogeni e antiandrogeni (Tabella 8-24).

Tabella 8-24: Confronto dei risultati ottenuti dall'analisi Multiplate® tra il gruppo AFAB T0 e il gruppo AMAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| | | Multiplate® | | N | Media ± SD | p Value ANOVA |
|------|----------|--------------------|----------------|----------|-------------------|----------------------|
| ADP | AFAB T0 | 30 | 80.50 ± 26.04 | 1 | | |
| | AMAB T3M | 5 | 64.20 ± 38.48 | | | |
| ASPI | AFAB T0 | 30 | 73.67 ± 19.50 | 1 | | |
| | AMAB T3M | 5 | 67.20 ± 39.66 | | | |
| TRAP | AFAB T0 | 30 | 115.30 ± 26.70 | 1 | | |
| | AMAB T3M | 5 | 106.20 ± 43.23 | | | |

L'analisi dei parametri dell'eritrocitosi non mostra differenze significative a tre mesi di terapia a base di estrogeni e antiandrogeni (Tabella 8-25).

Tabella 8-25: Confronto dei risultati ottenuti dall'analisi dell'Eritrocitosi tra il gruppo AFAB T0 e il gruppo AMAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| | | Eritropoiesi | | N | Media ± SD | p Value ANOVA |
|--------------|----------|---------------------|----------------|----------|-------------------|----------------------|
| Fe | AFAB T0 | 20 | 11.06 ± 6.09 | 0.384 | | |
| | AMAB T3M | 4 | 17.52 ± 5.77 | | | |
| Ferritina | AFAB T0 | 20 | 30.00 ± 20.75 | <0.001 | | |
| | AMAB T3M | 4 | 153.25 ± 69.67 | | | |
| Transferrina | AFAB T0 | 19 | 2.96 ± 0.46 | 1 | | |
| | AMAB T3M | 3 | 2.33 ± 0.23 | | | |
| TSAT | AFAB T0 | 19 | 15.64 ± 10.07 | 0.192 | | |
| | AMAB T3M | 3 | 29.41 ± 13.47 | | | |
| PCR | AFAB T0 | 15 | 0.57 ± 0.08 | 1 | | |
| | AMAB T3M | 3 | 0.36 ± 0.53 | | | |
| IGF1 | AFAB T0 | 19 | 253.37 ± 78.92 | 1 | | |
| | AMAB T3M | 3 | 263.33 ± 80.31 | | | |
| EPO | AFAB T0 | 19 | 15.18 ± 16.10 | 1 | | |
| | AMAB T3M | 3 | 8.03 ± 0.85 | | | |

8.4.2.2. AMAB T0 vs AFAB T3

Vengono ora messi a confronto i dati ottenuti dalle analisi del gruppo AFAB a 3 mesi con le analisi del gruppo AMAB al tempo 0. I dati sono stati analizzati con un test ANOVA e controllati mediante test post hoc di Bonferroni. Sono riportate le significatività al test di Bonferroni che indicano quali valori sono risultati effettivamente differenti.

I dati delle analisi bio-umorali hanno mostrato che persiste una differenza significativa in quanto a livelli di emoglobina, maggiore nei pazienti AMAB a T0 ($p < 0.001$), ed ematocrito, maggiore nei pazienti AMAB a T0 ($p = 0.004$). Non risultano esserci differenze significative nei livelli di Testosterone ed estrogeni con una p di Pearson di 1 in entrambi i casi (Tabella 8-26).

Tabella 8-26: Confronto dei parametri Ematochimici ed Ormonali tra il gruppo AMAB T0 e il gruppo AFAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| Esami Ematici e Ormonali | | N | Media \pm SD | p Value ANOVA |
|--------------------------|----------|----|--------------------|------------------|
| Hb | AMAB T0 | 16 | 15.46 \pm 0.84 | <0.001 |
| | AFAB T3M | 13 | 13.73 \pm 0.97 | |
| HCT | AMAB T0 | 16 | 46.08 \pm 2.66 | 0.004 |
| | AFAB T3M | 15 | 42.93 \pm 1.97 | |
| MCV | AMAB T0 | 16 | 89.60 \pm 4.61 | 0.96 |
| | AFAB T3M | 13 | 86.41 \pm 5.71 | |
| MCH | AMAB T0 | 16 | 30.08 \pm 1.92 | 0.237 |
| | AFAB T3M | 13 | 27.86 \pm 2.96 | |
| PLT | AMAB T0 | 16 | 260.19 \pm 54.05 | 1 |
| | AFAB T3M | 13 | 285.38 \pm 66.49 | |
| Creatinina | AMAB T0 | 16 | 0.85 \pm 0.13 | 0.34 |
| | AFAB T3M | 15 | 0.76 \pm 0.16 | |
| Colesterolo Totale | AMAB T0 | 16 | 168.81 \pm 31.73 | 0.632 |
| | AFAB T3M | 8 | 142.66 \pm 62.37 | |
| Trigliceridi | AMAB T0 | 16 | 77.63 \pm 26.77 | 1 |
| | AFAB T3M | 8 | 85.00 \pm 30.18 | |
| AST | AMAB T0 | 16 | 24.88 \pm 7.14 | 1 |
| | AFAB T3M | 14 | 21.57 \pm 7.74 | |
| ALT | AMAB T0 | 17 | 25.88 \pm 16.68 | 0.022 |
| | AFAB T3M | 14 | 14.43 \pm 7.88 | |
| Testosterone Totale | AMAB T0 | 16 | 2.92 \pm 1.13 | 1 |
| | AFAB T3M | 15 | 2.79 \pm 1.07 | |
| SHBG | AMAB T0 | 15 | 33.85 \pm 11.46 | 1 |

| | | | | |
|----------------------------------|----------|----|---------------|-------|
| Testosterone Libero calcolato | AFAB T3M | 6 | 36.60 ± 22.55 | 1 |
| | AMAB T0 | 14 | 0.07 ± 0.04 | |
| Estradiolo | AFAB T3M | 6 | 0.07 ± 0.05 | 1 |
| | AMAB T0 | 16 | 35.71 ± 11.29 | |
| LH | AFAB T3M | 14 | 53.52 ± 50.38 | 0.214 |
| | AMAB T0 | 14 | 5.74 ± 2.55 | |
| FSH | AFAB T3M | 15 | 14.97 ± 22.82 | 0.736 |
| | AMAB T0 | 15 | 4.50 ± 3.43 | |
| | AFAB T3M | 14 | 11.67 ± 26.08 | |

La tromboelastografia non mostra differenze significative a tre mesi di terapia a base di Testosterone (Tabella 8-27).

Tabella 8-27: Confronto dei risultati ottenuti con l'analisi ROTEM tra il gruppo AMAB T0 e il gruppo AFAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| ROTEM | | N | Media ± SD | p Value ANOVA |
|--------------|----------|----------|-------------------|----------------------|
| EXTEM CT | AMAB T0 | 16 | 75.75 ± 11.81 | 0.874 |
| | AFAB T3M | 7 | 68.71 ± 14.58 | |
| EXTEM CFT | AMAB T0 | 16 | 86.06 ± 19.03 | 1 |
| | AFAB T3M | 7 | 77.14 ± 12.67 | |
| EXTEM MCF | AMAB T0 | 16 | 63.13 ± 4.11 | 0.287 |
| | AFAB T3M | 7 | 67.00 ± 4.36 | |
| INTEM CT | AMAB T0 | 16 | 199.00 ± 32.83 | 1 |
| | AFAB T3M | 7 | 199.43 ± 27.63 | |
| INTEM CFT | AMAB T0 | 16 | 81.06 ± 17.87 | 0.470 |
| | AFAB T3M | 7 | 69.00 ± 13.59 | |
| INTEM MCF | AMAB T0 | 16 | 60.50 ± 4.40 | 0.677 |
| | AFAB T3M | 7 | 63.71 ± 5.19 | |
| FIBTEM MCF | AMAB T0 | 16 | 14.81 ± 4.42 | 1 |
| | AFAB T3M | 7 | 16.71 ± 2.93 | |

L'analisi Multiplate® non mostra differenze significative a tre mesi di terapia a base di Testosterone (Tabella 8-28).

Tabella 8-28: Confronto dei risultati ottenuti dall'analisi Multiplate® tra il gruppo AMAB T0 e il gruppo AFAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| Multiplate® | | N | Media ± SD | p Value ANOVA |
|--------------------|----------|----------|-------------------|----------------------|
| ADP | AMAB T0 | 16 | 80.25 ± 27.70 | 0.493 |
| | AFAB T3M | 7 | 58.86 ± 14.44 | |
| ASPI | AMAB T0 | 16 | 64.94 ± 20.21 | 1 |
| | AFAB T3M | 7 | 61.71 ± 16.21 | |
| TRAP | AMAB T0 | 16 | 114.56 ± 17.60 | 1 |
| | AFAB T3M | 7 | 118.14 ± 24.92 | |

L'analisi dei parametri dell'eritrocitosi non mostra differenze significative a tre mesi di terapia a base di Testosterone (Tabella 8-29).

Tabella 8-29: Confronto dei risultati ottenuti dall'analisi dei parametri di eritropoiesi e metabolismo del ferro tra il gruppo AMAB T0 e il gruppo AFAB T3. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB; Deviazione Standard = SD; Misurazione prima della terapia = T0; Misurazione dopo tre mesi di terapia = T3M.

| Eritropoiesi | | N | Media ± SD | p Value ANOVA |
|---------------------|----------|----------|-------------------|----------------------|
| Fe | AMAB T0 | 11 | 15.26 ± 5.97 | 1 |
| | AFAB T3M | 7 | 11.31 ± 6.98 | |
| Ferritina | AMAB T0 | 11 | 165.82 ± 66.05 | <0.001 |
| | AFAB T3M | 7 | 23.43 ± 19.10 | |
| Transferrina | AMAB T0 | 11 | 2.52 ± 0.37 | 0.063 |
| | AFAB T3M | 7 | 3.09 ± 0.06 | |
| TSAT | AMAB T0 | 11 | 24.54 ± 9.87 | 0.072 |
| | AFAB T3M | 6 | 11.20 ± 7.54 | |
| PCR | AMAB T0 | 5 | 0.90 ± 0.71 | 1 |
| | AFAB T3M | 7 | 2.06 ± 4.35 | |
| IGF1 | AMAB T0 | 11 | 222.36 ± 55.51 | 1 |
| | AFAB T3M | 6 | 233.83 ± 87.07 | |
| EPO | AMAB T0 | 11 | 8.81 ± 2.40 | 1 |
| | AFAB T3M | 6 | 11.27 ± 4.36 | |

8.4.3. Correlazione di Pearson

8.4.3.1. AMAB

Dall'analisi della correlazione di Pearson appare come vi sia una correlazione negativa significativa tra i livelli di SHBG e il peso e il BMI (Tabella 8-30).

Tabella 8-30: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati anagrafici del paziente. Testosterone = T, Globulina legante gli ormoni sessuali = SHBG, Estradiolo = E2, Ormone Luteinizzante = LH, Ormone Follicolo Stimolante = FSH.

| Dati anamnestici | | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|-------------------------|-------------------------|----------|--------------|-----------|-----------|------------|
| <i>Età</i> | Correlazione di Pearson | 0.129 | 0.222 | 0.002 | -0.067 | 0.068 |
| | P di Pearson | 0.514 | 0.256 | 0.991 | 0.735 | 0.732 |
| <i>Peso</i> | Correlazione di Pearson | -0.132 | -0.536 | -0.217 | -0.095 | 0.033 |
| | P di Pearson | 0.503 | 0.003 | 0.258 | 0.631 | 0.868 |
| <i>Altezza</i> | Correlazione di Pearson | -0.141 | 0.223 | -0.027 | 0.092 | 0.097 |
| | P di Pearson | 0.473 | 0.255 | 0.890 | 0.643 | 0.622 |
| <i>BMI</i> | Correlazione di Pearson | -0.112 | -0.589 | -0.209 | -0.135 | -0.013 |
| | P di Pearson | 0.571 | 0.001 | 0.276 | 0.495 | 0.948 |

Analizzando gli esami ematici è risultato che il testosterone abbia una correlazione positiva significativa con i parametri di Emoglobina ed ematocrito. Esso correla inoltre con i livelli di Trigliceridi.

SHBG correla negativamente con Trigliceridi e piastrine mentre è presente una correlazione positiva con AST.

Gli estrogeni son risultati correlare negativamente con la glicemia.

Infine, l'ormone luteinizzante correla negativamente con il colesterolo HDL (Tabella 8-31).

Tabella 8-31: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con gli esami ematici e ormonali del paziente. Testosterone = T, Globulina legante gli ormoni sessuali = SHBG, Estradiolo = E2, Ormone Luteinizzante = LH, Ormone Follicolo Stimolante = FSH.

Esami ematici e ormonali

| | | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|---------------------------|-------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|------------|
| <i>Hb</i> | Correlazione di Pearson | 0.337 | -0.076 | -0.078 | 0.267 | 0.232 |
| | P di Pearson | 0.036 | 0.685 | 0.637 | 0.101 | 0.160 |
| <i>HCT</i> | Correlazione di Pearson | 0.481 | -0.111 | -0.153 | 0.205 | 0.137 |
| | P di Pearson | 0.001 | 0.537 | 0.334 | 0.193 | 0.392 |
| <i>MCV</i> | Correlazione di Pearson | -0.082 | 0.052 | 0.004 | 0.196 | 0.224 |
| | P di Pearson | 0.619 | 0.782 | 0.979 | 0.231 | 0.176 |
| <i>MCH</i> | Correlazione di Pearson | -0.051 | 0.029 | 0.057 | 0.235 | 0.250 |
| | P di Pearson | 0.760 | 0.878 | 0.730 | 0.150 | 0.130 |
| <i>PLT</i> | Correlazione di Pearson | 0.148 | -0.391 | -0.175 | -0.169 | 0.008 |
| | P di Pearson | 0.370 | 0.030 | 0.286 | 0.303 | 0.960 |
| <i>Creatinina</i> | Correlazione di Pearson | 0.236 | -0.166 | -0.135 | -0.032 | -0.033 |
| | P di Pearson | 0.153 | 0.391 | 0.418 | 0.850 | 0.846 |
| <i>Colesterolo Totale</i> | Correlazione di Pearson | -0.022 | -0.025 | -0.025 | 0.061 | -0.102 |
| | P di Pearson | 0.904 | 0.907 | 0.888 | 0.741 | 0.586 |
| <i>Colesterolo HDL</i> | Correlazione di Pearson | -0.308 | 0.356 | 0.053 | 0.586 | 0.121 |
| | P di Pearson | 0.098 | 0.081 | 0.776 | 0.001 | 0.530 |
| <i>Trigliceridi</i> | Correlazione di Pearson | 0.456 | -0.450 | -0.296 | -0.206 | 0.163 |
| | P di Pearson | 0.009 | 0.021 | 0.100 | 0.258 | 0.381 |
| <i>Glicemia</i> | Correlazione di Pearson | -0.184 | -0.356 | -0.454 | 0.082 | 0.262 |
| | P di Pearson | 0.424 | 0.113 | 0.034 | 0.723 | 0.251 |
| <i>AST</i> | Correlazione di Pearson | -0.012 | 0.414 | -0.038 | -0.063 | 0.010 |
| | P di Pearson | 0.942 | 0.023 | 0.821 | 0.706 | 0.953 |

| | | | | | | |
|-----|-------------------------|--------|-------|-------|-------|-------|
| ALT | Correlazione di Pearson | -0.118 | 0.191 | 0.098 | 0.061 | 0.002 |
| | P di Pearson | 0.474 | 0.303 | 0.554 | 0.712 | 0.989 |

L'analisi della correlazione su test ROTEM ha mostrato dati significativi solo per la correlazione dei livelli di SHBG con i parametri EXTEM CFT, EXTEM MCF, INTEM MCF e FIBTEM MCF.

L'ormone follicolo stimolante è risultato correlato positivamente con il parametro CT dell'esame EXTEM (Tabella 8-32).

Tabella 8-32: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi ROTEM del paziente. Testosterone = T, Globulina legante gli ormoni sessuali = SHBG, Estradiolo = E2, Ormone Luteinizzante = LH, Ormone Follicolo Stimolante = FSH.

| ROTEM | | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|--------------|-------------------------|----------|--------------|-----------|-----------|--------------|
| EXTEM CT | Correlazione di Pearson | 0.316 | -0.021 | -0.275 | 0.310 | 0.390 |
| | P di Pearson | 0.078 | 0.914 | 0.128 | 0.085 | 0.030 |
| EXTEM CFT | Correlazione di Pearson | 0.133 | 0.627 | 0.239 | 0.282 | 0.151 |
| | P di Pearson | 0.469 | 0.000 | 0.188 | 0.118 | 0.416 |
| EXTEM MCF | Correlazione di Pearson | -0.074 | -0.536 | -0.234 | -0.227 | -0.125 |
| | P di Pearson | 0.687 | 0.003 | 0.197 | 0.211 | 0.503 |
| INTEM CT | Correlazione di Pearson | 0.010 | -0.203 | -0.006 | 0.060 | 0.047 |
| | P di Pearson | 0.956 | 0.300 | 0.974 | 0.742 | 0.803 |
| INTEM CFT | Correlazione di Pearson | 0.064 | 0.252 | -0.005 | 0.246 | 0.168 |
| | P di Pearson | 0.727 | 0.197 | 0.978 | 0.175 | 0.366 |
| INTEM MCF | Correlazione di Pearson | -0.117 | -0.387 | -0.171 | -0.171 | -0.127 |
| | P di Pearson | 0.523 | 0.042 | 0.349 | 0.351 | 0.496 |
| FIBTEM MCF | Correlazione di Pearson | -0.104 | -0.449 | -0.031 | -0.175 | -0.159 |
| | P di Pearson | 0.570 | 0.016 | 0.865 | 0.338 | 0.392 |

Il test Multiplate® non ha mostrato correlazioni significative con gli ormoni (Tabella 8-33).

Tabella 8-33: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi Multiplate® del paziente. Testosterone = T, Globulina legante gli ormoni sessuali = SHBG, Estradiolo = E2, Ormone Luteinizzante = LH, Ormone Follicolo Stimolante = FSH.

| | Multiplate® | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|-------------|-------------------------|----------|-------------|-----------|-----------|------------|
| ADP | Correlazione di Pearson | -0.242 | -0.162 | -0.008 | -0.175 | -0.104 |
| | P di Pearson | 0.181 | 0.412 | 0.965 | 0.339 | 0.577 |
| ASPI | Correlazione di Pearson | -0.120 | -0.075 | -0.152 | -0.112 | 0.049 |
| | P di Pearson | 0.515 | 0.703 | 0.405 | 0.541 | 0.791 |
| TRAP | Correlazione di Pearson | -0.059 | -0.095 | -0.097 | -0.172 | -0.113 |
| | P di Pearson | 0.750 | 0.632 | 0.596 | 0.346 | 0.546 |

L'analisi delle correlazioni tra ormoni sessuali e parametri dell'eritropoiesi ha mostrato una correlazione inversa tra SHBG ed Eritropoietina (Tabella 8-34).

Tabella 8-34: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi del metabolismo del ferro e dell'eritropoiesi del paziente. Testosterone = T, Globulina legante gli ormoni sessuali = SHBG, Estradiolo = E2, Ormone Luteinizzante = LH, Ormone Follicolo Stimolante = FSH.

Eritropoiesi

| | | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|---------------------|-------------------------|----------|-------------|-----------|-----------|------------|
| Fe | Correlazione di Pearson | 0.091 | 0.013 | -0.350 | -0.232 | 0.133 |
| | P di Pearson | 0.652 | 0.953 | 0.073 | 0.245 | 0.519 |
| Ferritina | Correlazione di Pearson | -0.084 | -0.085 | -0.165 | -0.039 | 0.185 |
| | P di Pearson | 0.679 | 0.708 | 0.411 | 0.848 | 0.365 |
| Transferrina | Correlazione di Pearson | 0.265 | -0.116 | 0.108 | -0.236 | -0.231 |
| | P di Pearson | 0.191 | 0.617 | 0.599 | 0.245 | 0.266 |
| TSAT | Correlazione di Pearson | -0.085 | 0.028 | -0.220 | -0.070 | 0.359 |
| | P di Pearson | 0.687 | 0.905 | 0.291 | 0.740 | 0.085 |
| IGF1 | Correlazione di Pearson | 0.069 | -0.124 | -0.065 | -0.193 | 0.028 |

| | | | | | | |
|------------|-------------------------|-------|--------------|-------|--------|--------|
| | P di Pearson | 0.742 | 0.591 | 0.758 | 0.354 | 0.895 |
| <i>EPO</i> | Correlazione di Pearson | 0.010 | -0.449 | 0.141 | -0.168 | -0.355 |
| | P di Pearson | 0.963 | 0.041 | 0.500 | 0.422 | 0.088 |

8.4.3.2. AFAB

L'analisi delle caratteristiche del nostro campione ha portato a notare che gli estrogeni correlano in maniera positiva con il peso.

Esiste inoltre una correlazione negativa tra SHBG e i parametri di peso e BMI (Tabella 8-35).

Tabella 8-35: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati anagrafici del paziente. Testosterone = T, Globulina legante gli ormoni sessuali = SHBG, Estradiolo = E2, Ormone Luteinizzante = LH, Ormone Follicolo Stimolante = FSH.

Dati anamnestici

| | | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|----------------|-------------------------|--------|--------------|--------------|--------|--------|
| <i>Età</i> | Correlazione di Pearson | 0.452 | 0.106 | 0.007 | -0.431 | 0.146 |
| | P di Pearson | 0.079 | 0.707 | 0.981 | 0.124 | 0.605 |
| <i>Peso</i> | Correlazione di Pearson | 0.398 | -0.535 | 0.518 | -0.030 | 0.142 |
| | P di Pearson | 0.127 | 0.040 | 0.040 | 0.919 | 0.614 |
| <i>Altezza</i> | Correlazione di Pearson | -0.283 | 0.216 | 0.220 | -0.074 | -0.296 |
| | P di Pearson | 0.288 | 0.439 | 0.414 | 0.800 | 0.285 |
| <i>BMI</i> | Correlazione di Pearson | 0.452 | -0.560 | 0.447 | -0.023 | 0.180 |
| | P di Pearson | 0.079 | 0.030 | 0.083 | 0.938 | 0.521 |

La correlazione con le analisi emato-ormonali ha mostrato una correlazione diretta tra Testosterone e i parametri di Emoglobina ed ematocrito; vi è inoltre una correlazione sempre positiva con il colesterolo, sia totale che LDL, che con i livelli di AST.

SHBG risulta correlare negativamente con Creatinina e ALT.

Gli estrogeni correlano negativamente con il volume degli eritrociti.

L'ormone luteinizzante correla positivamente con Emoglobina ed ematocrito ed infine il follicolo stimolante correla negativamente con i livelli di Creatinina (Tabella 8-36).

Tabella 8-36: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi degli esami ematici e ormonali del paziente del paziente. Testosterone = T, Globulina legante gli ormoni sessuali = SHBG, Estradiolo = E2, Ormone Luteinizzante = LH, Ormone Follicolo Stimolante = FSH.

Esami Ematici e ormonali

| | | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|----------------------------------|-------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <i>Hb</i> | Correlazione di Pearson | 0.472 | -0.186 | 0.085 | 0.479 | 0.154 |
| | P di Pearson | 0.027 | 0.475 | 0.706 | 0.028 | 0.506 |
| <i>HCT</i> | Correlazione di Pearson | 0.574 | -0.139 | 0.003 | 0.529 | 0.232 |
| | P di Pearson | 0.005 | 0.594 | 0.990 | 0.014 | 0.313 |
| <i>MCV</i> | Correlazione di Pearson | 0.244 | 0.276 | -0.509 | 0.041 | 0.064 |
| | P di Pearson | 0.273 | 0.284 | 0.016 | 0.859 | 0.783 |
| <i>MCH</i> | Correlazione di Pearson | 0.007 | 0.170 | -0.312 | -0.107 | -0.106 |
| | P di Pearson | 0.976 | 0.515 | 0.158 | 0.645 | 0.646 |
| <i>PLT</i> | Correlazione di Pearson | -0.110 | -0.032 | -0.323 | 0.054 | -0.093 |
| | P di Pearson | 0.625 | 0.902 | 0.143 | 0.815 | 0.689 |
| <i>Creatinina</i> | Correlazione di Pearson | 0.318 | -0.490 | 0.060 | 0.245 | 0.464 |
| | P di Pearson | 0.161 | 0.046 | 0.795 | 0.298 | 0.034 |
| <i>Colesterolo Totale</i> | Correlazione di Pearson | 0.736 | -0.250 | -0.278 | 0.428 | 0.339 |
| | P di Pearson | 0.001 | 0.368 | 0.264 | 0.087 | 0.183 |
| <i>Colesterolo HDL</i> | Correlazione di Pearson | 0.271 | 0.391 | -0.298 | 0.440 | -0.134 |
| | P di Pearson | 0.311 | 0.150 | 0.262 | 0.100 | 0.633 |
| <i>Trigliceridi</i> | Correlazione di Pearson | 0.409 | -0.288 | -0.161 | 0.158 | 0.154 |
| | P di Pearson | 0.103 | 0.297 | 0.536 | 0.558 | 0.568 |
| <i>Colesterolo LDL calcolato</i> | Correlazione di Pearson | 0.621 | -0.381 | 0.205 | -0.012 | 0.247 |
| | P di Pearson | 0.013 | 0.178 | 0.465 | 0.969 | 0.394 |
| <i>Glicemia</i> | Correlazione di Pearson | 0.085 | 0.121 | 0.243 | -0.268 | -0.023 |
| | P di Pearson | 0.773 | 0.693 | 0.402 | 0.376 | 0.936 |
| <i>AST</i> | Correlazione di Pearson | 0.470 | -0.351 | 0.065 | 0.286 | 0.244 |
| | P di Pearson | 0.027 | 0.167 | 0.773 | 0.221 | 0.286 |
| <i>ALT</i> | Correlazione di Pearson | 0.244 | -0.476 | 0.150 | 0.283 | 0.175 |
| | P di Pearson | 0.261 | 0.046 | 0.495 | 0.214 | 0.437 |

Le analisi della correlazione tra gli ormoni e i dati provenienti dal ROTEM hanno mostrato una correlazione positiva tra testosterone e il parametro EXTEM CFT, mentre è risultata una correlazione negativa con i parametri di INTEM MCF e FIBTEM MCF.

Gli estrogeni sono, invece, risultati correlati in maniera indiretta con il parametro FIBTEM MCF (Tabella 8-37).

Tabella 8-37: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi ROTEM del paziente. Testosterone = T, Globulina legante gli ormoni sessuali = SHBG, Estradiolo = E2, Ormone Luteinizzante = LH, Ormone Follicolo Stimolante = FSH.

| ROTEM | | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|-------------------|-------------------------|--------------|-------------|--------------|-----------|------------|
| <i>EXTE MCT</i> | Correlazione di Pearson | 0.341 | -0.256 | 0.374 | -0.129 | -0.213 |
| | P di Pearson | 0.166 | 0.356 | 0.126 | 0.634 | 0.412 |
| <i>EXTEM CFT</i> | Correlazione di Pearson | 0.502 | -0.381 | -0.203 | -0.011 | -0.138 |
| | P di Pearson | 0.034 | 0.161 | 0.420 | 0.967 | 0.596 |
| <i>EXTEM MCF</i> | Correlazione di Pearson | -0.393 | 0.268 | 0.290 | 0.175 | 0.187 |
| | P di Pearson | 0.107 | 0.334 | 0.243 | 0.517 | 0.473 |
| <i>INTEM CT</i> | Correlazione di Pearson | 0.107 | -0.325 | 0.297 | -0.362 | -0.409 |
| | P di Pearson | 0.672 | 0.237 | 0.232 | 0.168 | 0.103 |
| <i>INTEM CFT</i> | Correlazione di Pearson | 0.384 | -0.313 | -0.054 | -0.010 | -0.310 |
| | P di Pearson | 0.116 | 0.256 | 0.832 | 0.970 | 0.226 |
| <i>INTEM MCF</i> | Correlazione di Pearson | -0.532 | 0.309 | 0.187 | 0.033 | 0.136 |
| | P di Pearson | 0.023 | 0.263 | 0.457 | 0.903 | 0.602 |
| <i>FIBTEM MCF</i> | Correlazione di Pearson | -0.485 | 0.312 | 0.535 | -0.010 | -0.146 |
| | P di Pearson | 0.041 | 0.258 | 0.022 | 0.971 | 0.576 |

Non son state mostrate correlazioni tra gli ormoni e i parametri del test Multiplate® (Tabella 8-38).

Tabella 8-38: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi Multiplate® del paziente. Testosterone = T, Globulina legante gli ormoni sessuali = SHBG, Estradiolo = E2, Ormone Luteinizzante = LH, Ormone Follicolo Stimolante = FSH.

Multiplate®

| | | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|------|-------------------------|--------|--------|--------|--------|-------|
| ADP | Correlazione di Pearson | -0.011 | 0.379 | -0.245 | -0.122 | 0.170 |
| | P di Pearson | 0.967 | 0.163 | 0.326 | 0.654 | 0.513 |
| ASPI | Correlazione di Pearson | -0.303 | 0.155 | -0.081 | 0.023 | 0.172 |
| | P di Pearson | 0.221 | 0.581 | 0.749 | 0.933 | 0.510 |
| TRAP | Correlazione di Pearson | 0.119 | -0.473 | -0.301 | -0.216 | 0.158 |
| | P di Pearson | 0.637 | 0.075 | 0.224 | 0.422 | 0.544 |

L'analisi della correlazione tra ormoni e parametri dell'eritropoiesi ha mostrato una correlazione indiretta tra Testosterone e IGF1, ma che lo stesso parametro correla positivamente con SHBG.

È inoltre apparso che vi sia una correlazione diretta tra i livelli di ormone luteinizzante e i livelli di Eritropoietina (Tabella 8-39).

Tabella 8-39: Correlazione di Pearson tra parametri ormonali (Testosterone, SHBG, Estradiolo, LH e FSH) con i dati provenienti dall'analisi del metabolismo del ferro e dell'eritropoiesi del paziente. Testosterone = T, Globulina legante gli ormoni sessuali = SHBG, Estradiolo = E2, Ormone Luteinizzante = LH, Ormone Follicolo Stimolante = FSH.

Eritropoiesi

| | | T | SHBG | E2 | LH | FSH |
|--------------|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Fe | Correlazione di Pearson | -0.171 | 0.156 | 0.328 | 0.096 | -0.061 |
| | P di Pearson | 0.559 | 0.612 | 0.252 | 0.766 | 0.843 |
| Ferritina | Correlazione di Pearson | -0.204 | 0.026 | 0.370 | -0.294 | 0.028 |
| | P di Pearson | 0.485 | 0.933 | 0.192 | 0.354 | 0.929 |
| Transferrina | Correlazione di Pearson | 0.419 | -0.281 | -0.341 | 0.163 | -0.083 |
| | P di Pearson | 0.135 | 0.352 | 0.233 | 0.612 | 0.789 |
| TSAT | Correlazione di Pearson | -0.282 | 0.186 | 0.446 | -0.011 | -0.069 |
| | P di Pearson | 0.328 | 0.542 | 0.110 | 0.974 | 0.823 |
| IGF1 | Correlazione di Pearson | -0.569 | 0.599 | 0.263 | 0.185 | -0.128 |

| | | | | | | |
|-----|-------------------------|--------------|--------------|--------|--------------|-------|
| EPO | P di Pearson | 0.034 | 0.031 | 0.363 | 0.564 | 0.676 |
| | Correlazione di Pearson | 0.028 | -0.165 | -0.096 | 0.615 | 0.342 |
| | P di Pearson | 0.925 | 0.590 | 0.745 | 0.033 | 0.253 |

8.4.4. Eritropoiesi

A tre mesi di terapia non son stati registrati valori di ematocrito maggiori di 48 in nessuno dei pazienti in studio (Tabella 8-40).

Tabella 8-40: Tabella di contingenza episodi di eritrocitosi a 3 mesi. Assegnata femmina alla nascita = AFAB; assegnato maschio alla nascita = AMAB.

| | AFAB (Tot 15) | AMAB (Tot 8) | p Value su test del χ^2 |
|-----------------------------------|--------------------------|-------------------------|--|
| <i>Eritrocitosi (HCT > 48)</i> | 0 [0%] | 0 [0%] | NA |

9. Discussione

Il numero dei pazienti transgender che si sono rivolti al nostro centro ha visto un notevole aumento negli ultimi anni: secondo i dati ottenuti dalle cartelle cliniche della UOC di Andrologia e Medicina della Riproduzione, prima del 2022, anno nel quale è stato aperto l'ambulatorio per l'incongruenza di genere, si contavano 95 pazienti, di cui i primi a partire dal 2009. In un anno e mezzo il numero ha raggiunto, a settembre 2023, la quota di 251, con una media di circa 1-2 nuovi pazienti ogni settimana che arrivano per intraprendere o continuare il loro percorso di affermazione.

I 66 pazienti arruolati da dicembre 2022 a settembre 2023 all'interno del nostro studio sono stati arruolati tra coloro che si sono presentati con il desiderio di iniziare un percorso di affermazione, ma afferiscono al centro anche pazienti che hanno già iniziato il percorso presso altri centri.

9.1. Differenze riscontrate al basale

Le modifiche nei parametri da noi misurati su questo campione hanno mostrato dei dati in linea con le nostre aspettative e con la letteratura corrente.

9.1.1. Anamnesi

La differenza sottolineata riguardo l'età del nostro campione è solo apparente: il dato non è distribuito in maniera normale rendendo i campioni equiparabili per età. L'età media dei nostri partecipanti è quindi compresa tra i 20 e i 30 anni sottolineando come sia più comune vedere pazienti giovani intraprendere questo percorso in linea con le aspettative [101]. Nel nostro campione erano presenti 2 pazienti che si sono presentati in prima visita con un'età superiore ai 50 anni.

Le differenze in peso e altezza riscontrate sono invece in linea con quelle della popolazione generale e mostrano una tendenza per le persone AMAB ad avere un peso e un'altezza maggiore. Tuttavia, non ci sono differenze significative riguardo al calcolo del BMI.

9.1.2. Esami ematochimici

L'analisi degli esami ematici ha mostrato differenze significative negli ormoni sessuali come ci si aspetterebbe nella popolazione cisgender sottolineando come nessun paziente del nostro campione abbia ricevuto terapia ormonale prima dell'inizio dello studio.

Altre differenze che sono state riscontrate sono a livello dei parametri di emoglobina ed ematocrito: questi due parametri sono tipicamente maggiori nel maschio che nella femmina, tendenza che viene confermata dalla significatività nel test U.

La creatinina ha mostrato una differenza significativa nei due gruppi e rientra nelle aspettative riguardo la popolazione generale dove le soglie per questo parametro differiscono nei due sessi: nei maschi, infatti, il range di normalità è leggermente più elevato ed è compreso tra 0,7-1,3 mg/dl mentre nelle femmine si attesta su 0,6-1,1 mg/dl [65].

Nei soggetti AMAB i valori di AST e ALT sono risultati maggiori, in linea con quanto atteso [160]. La differenza significativa a livello degli ormoni FSH e LH è da imputare alle diverse fasi del ciclo in cui sono stati effettuati i prelievi ematici nelle persone AFAB. Pertanto, è presente una grande variabilità nel gruppo AFAB, mentre tale parametro è più stabile nelle persone AMAB.

9.1.3. Coagulazione

I dati ottenuti dall'analisi della coagulazione hanno mostrato come parrebbe esserci uno stato di iper-coagulabilità basale nel gruppo AFAB. Questo dato si manifesta nelle differenze nella proteina S e nelle tendenze per questo gruppo di avere dei valori all'analisi ROTEM leggermente inferiori rispetto ai pazienti AMAB.

Le differenze nella presenza degli anticorpi sono date semplicemente dal numero di pazienti: con queste numerosità basta un esiguo numero di *outlier* per rendere il dato significativo.

Come atteso la proteina S e il suo antigene libero si trovano maggiormente espressi nella popolazione AFAB in quanto i livelli di estrogeni nel sangue portano alla loro riduzione [161].

Allo stesso modo anche il fattore VIII dovrebbe aumentare grazie all'influenza degli estrogeni ma, nonostante vi siano livelli maggiori nei pazienti AFAB rispetto agli AMAB, nel nostro campione non sono state riscontrate variazioni significative [161].

9.1.4. Eritropoiesi

In questo pannello di esami è stato notato come gli episodi di eritrocitosi abbiano un'incidenza maggiore nella paziente AMAB rispetto che nel paziente AFAB, dato collegato all'aumento dell'ematocrito che tipicamente viene stimolato dal Testosterone [35]. È stato però possibile notare anche una differenza significativa riguardo i livelli di ferritina: è stato notato come il tasso di ferritina nel sangue dei nostri pazienti AFAB fosse significativamente minore che nelle pazienti AMAB. Normalmente il range di valori della ferritina varia nel maschio e nella femmina con un range di 30-300 mg/dl nel primo caso e 20-150 mg/dl nel secondo. Questo avviene perché nella donna il ciclo mestruale porta ad una perdita di ferro mensilmente andando ad intaccare le riserve corporee. Il dato nel nostro campione sembrerebbe pertanto in linea con le attese nella popolazione generale. Transferrina e PCR non sono risultate significativamente differenti: le significatività mostrate in analisi sono probabilmente da imputarsi alla ristretta numerosità del nostro campione.

9.1.5. EPC

Non sono stati trovati risultati significativi nelle EPC sebbene la tendenza del nostro campione sia anomala: normalmente si dovrebbero notare un numero assoluto di cellule progenitrici endoteliali maggiore nelle femmine grazie alla stimolazione, da parte degli estrogeni, della produzione di NO nell'epitelio dei vasi con conseguente diminuzione dei ROS. Questo stimola direttamente le cellule CD34+ a proliferare aumentando quindi il numero delle EPC [152]. La tendenza, seppure non significativa, del nostro campione mostra un valore di EPC maggiore nelle pazienti AMAB rispetto che negli individui AFAB. Questo dato può essere letto alla luce della scarsa numerosità campionaria come un artefatto ma rimane comunque interessante notare questo tipo di differenza.

9.2. Differenze a 3 mesi di terapia

Le differenze riscontrate a 3 mesi sono in linea con le aspettative della terapia: è ancora troppo presto per definire un cambiamento netto nei parametri, ma si vedono i primi effetti della GAHT.

9.2.1. Esami ematochimici

Il dato più significativo è naturalmente l'inversione dei livelli di estrogeni e Testosterone nei pazienti nei due gruppi indice che stanno seguendo la terapia in maniera corretta.

L'effetto che si è maggiormente notato, però, è riguardo i livelli di emoglobina e all'ematocrito: in entrambi questi parametri vi è stato un aumento significativo dei valori all'interno del gruppo AFAB e una simmetrica riduzione nel gruppo AMAB. È noto che il Testosterone porti ad un aumento dell'ematocrito e i dati confermano che già nei primi 3 mesi di terapia avviene un netto cambiamento [35]. Analizzando le differenze di ogni gruppo a 3 mesi di terapia con i dati a T0 dell'altro gruppo si nota come l'effetto degli antiandrogeni sia più marcato di quello del testosterone: le pazienti AMAB analizzate a 3 mesi hanno una tendenza alla riduzione dei livelli di ematocrito, seppur non significativa; il gruppo AFAB analizzato al T0, mentre i pazienti AFAB in terapia mostrano ancora importanti differenze rispetto alla controparte AMAB a T0. Questo dato mostra che l'effetto degli antiandrogeni sull'abbassamento dell'ematocrito è maggiore di quello del Testosterone sull'aumento dello stesso.

È stato inoltre notata una diminuzione significativa dei livelli di colesterolo totale nei pazienti in terapia con estrogeni.

9.2.2. Coagulazione

Non essendo state riscontrate modifiche significative nei parametri della coagulazione dei pazienti in studio è logico concludere che 3 mesi di terapia ormonale non siano sufficienti a rilevare le modifiche descritte in letteratura [117].

9.2.3. Eritropoiesi

Fatta eccezione per i dati relativi all'ematocrito, non sono state trovate differenze significative a livello dei parametri misurati. È probabile che 3 mesi siano troppo pochi per definire una modifica significativa. Permangono inoltre le differenze riscontrate al basale con una marcata carenza di ferritina nei pazienti AFAB.

10. Conclusione

I risultati di questo elaborato hanno messo in luce come i dati osservati nel nostro campione siano sovrapponibili a quelli riportati in letteratura.

I parametri coagulativi, di eritrocitosi e le EPC osservate in AFAB e AMAB al basale sono compatibili con quelli presenti nella popolazione Cisgender e le modifiche osservate a tre mesi di terapia sono compatibili con quelle attese dal trattamento.

Riteniamo tuttavia che la mancanza di significatività statistica in relazione ad alcuni cambiamenti, come per esempio la modifica nel numero di EPC, sia da imputare all'esiguo numero di pazienti ad ora arruolati nel nostro campione. È inoltre probabile che 3 mesi di terapia non siano sufficienti a mostrare delle modifiche significative dei dati di coagulazione in esame.

Lo studio di cui questa tesi fa parte proseguirà il follow-up dei pazienti raccogliendo dati a 6, 12 e 24 mesi, arruolando un numero maggiore di pazienti al fine di raggiungere un campione che renda affidabili e solidi i risultati ottenuti.

11. Bibliografia

- [1] A.-M. Hvas e E. J. Favaro, «Gender related issues in thrombosis and hemostasis,» *Expert Review of Hematology*, vol. 10, n. 11, 2017.
- [2] I. S. d. S. «Infotrans - Glossario,» [Online]. Available: https://www.infotrans.it/it-schede-8-glossario_transgender. [Consultato il giorno 21 Luglio 2023].
- [3] Ministero della Salute, «Piano per l'applicazione e la diffusione della Medicina di Genere (in attuazione dell'articolo 3, comma 1, Legge 3/2018),» 2019.
- [4] P. Verdonk, Y. Benschop, H. de Haes e et al, «From gender bias to gender awareness in medical education,» *Advances in health and science education: theory to practice*, vol. 14, n. 1, pp. 135-152, 2009.
- [5] Townsend, W. L, B. P e et al, «Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016,» *European Heart journal*, vol. 37, n. 42, pp. 3232-3245, 2016.
- [6] T. Pappa e M. Alevizaki, «Endogenous sex steroids and cardio- and cerebro-vascular disease in the postmenopausal period,» *European Journal of Endocrinology*, vol. 167, n. 2, pp. 145-156, 2012.
- [7] S. Manzi, E. Meilahn, J. Rairie e e. al, «Age specific incidence rates of myocardial infarction and aortic aneurysm in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham Study,» *American Journal of epidemiology*, vol. 145, n. 5, pp. 408-415, 1997.
- [8] Y. Asanuma, A. Oeser, A. Shintaki e e. al, «Premature coronary-artery atherosclerosis in systemic lupus erythematosus,» *The New England Journal of Medicine*, vol. 349, n. 35, pp. 2407-2415, 2003.
- [9] J. Avina-Zubieta, F. To, K. Vostretsova e e. al, «Risk of myocardial infarction and stroke in newly diagnosed systemic lupus erythematosus: a general population based study,» *Arthritis Care & Research (Hoboken)*, vol. 69, n. 6, pp. 489-856, 2017.
- [10] J. Avina-Zubieta, H. Choi, M. Sadatsafavi e e. al, «Risk of cardiovascular mortality in patient with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of

- observational studies,» *Arthritis Reumatoid*, vol. 59, n. 12, pp. 1690-1697, 2008.
- [11] H. Kremers, C. Crowson, T. Therneau e e. al, «High ten-year risk of cardiovascular disease in newly diagnosed rheumatoid arthritis patients: a population-based cohort study,» *Arthritis Rheumtoids*, vol. 58, n. 8, pp. 2268-2274, 2008.
- [12] D. Lerner e W. Kennel, «Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-years old follow up of the Framingham population,» *American Heart Journal*, vol. 111, n. 2, pp. 383-390, 1986.
- [13] P. Jousilahti, E. Vartiainen, J. Tomilehto e e. al, «Sex, age, cardiovascular riskfactors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14786 middle-aged men and woman in Finland,» *Circulation*, vol. 99, n. 9, pp. 1165-1172, 1999.
- [14] N. Matthan, L. Zhu, L. Pencina e e. al, «Sex-specific differences in the predictive value of cholesterol homeostasis markers and 10-year cardiovascular disease eventtate in Framingham Offspring Study partecipants,» *Journal of the American Heart Association*, vol. 2, n. 1, pp. 5-66, 2013.
- [15] I. Naess, S. Christiansen, P. Romundstad e e. al., «Incidence and mortality of venous thrombosis: a population-based study,» *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, vol. 5, n. 4, pp. 692-699, 2007.
- [16] X. Zhou, K. Cao, S. Ko, S. Qu, H. Li, Y. Yu, C. Wang, Y. Liu, P. Li e D. Li, «Usefulness of CHADS2 score for prognostic stratification of patients with coronary artery disease: A systematic review and meta-analysis of cohort studies,» *International Journal of Cardiology*, vol. 1, n. 228, pp. 906-911, 2017.
- [17] W. Mieghem e P. Lancellotti, «CHADS2 risk score and rate of stroke or systemic embolism and major bleeding in patients with non-valvular atrial fibrillation receiving non-vitamin K antagonist oral anticoagulants,» *Acta Cardiologica*, vol. 72, n. 4, pp. 390-396, 2017.
- [18] P. Ridker, N. Cook, I. Lee e e. al, «A randomized trial of low-dose aspirin in the primary preventionof cardiovascular disease in women,» *New Engaland Journal of Medicine*, vol. 18, n. 5, pp. 1293-1304, 2005.

- [19] J. Berger, D. Bhatt, C. Cannon e et al, «The relative efficacy and safety of Clopidogrel in women and men: a sex-specific collaborative meta-analysis,» *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 54, n. 21, pp. 1935-1945, 2009.
- [20] R. Petrea, A. Beiser, S. Sashadri e e. al, «Gender differences in stroke incidence and poststroke disability in the Framingham heart study,» *Stroke*, vol. 40, n. 4, pp. 1032-1037, 2009.
- [21] C. Ayala, J. Croft, K. Greenlund e e. al, «Sex differences in US mortality rates for stroke and stroke subtypes by race/ethnicity and age, 1995-1998,» *Stroke*, vol. 33, n. 5, pp. 1197-1201, 2002.
- [22] D. Gall, P. Tran, K. Martin e e. al, «Sex differences in long-term outcomes after stroke: functional outcome, handicap, and quality of life,» *Stroke*, vol. 43, n. 7, pp. 1982-1987, 2012.
- [23] D. Roth, W. Haley, O. Clay e e. al, «Race and gender differences in 1-year outcomes for community-dwelling stroke survivors with family caregivers,» *Stroke*, vol. 42, n. 3, pp. 626-631, 2011.
- [24] R. Gonzales, «Androgens and cerebrovasculature: modulation of vascular function during normal and pathophysiological conditions,» *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, vol. 465, n. 5, pp. 627-642, 2013.
- [25] F. Liu, R. Yuan, S. Benashski e e. al, «Changes in experimental stroke outcome across the life span,» *Journal of Cerebral Blood Flow Metabolism*, vol. 29, n. 4, pp. 792-802, 2009.
- [26] A. Billeci, M. Paciaroni, V. Caso e e. al, «Hormone replacement therapy and stroke,» *Current Vascular Pharmacology*, vol. 6, n. 2, pp. 112-123, 2008.
- [27] P. Bath e L. Gray, «Association between hormone replacement therapy and subsequent stroke: a meta-analysis,» *British Medical Journal*, vol. 330, n. 7487, p. 342, 2005.
- [28] A. James, C. Bushell, M. Jamison e e. al, «Incidence and risk factors for stroke in pregnancy and de puerperium,» *Obstetrics and Gynecology*, vol. 106, n. 3, pp. 509-516, 2005.

- [29] A. Lidegaard, E. Lokkegaard, A. Jensen e e. al, «Thrombotic stroke and myocardial infarction with hormonal contraception,» *New England Journal of Medicine*, vol. 106, n. 3, pp. 509-516, 2012.
- [30] P. Kyrle, E. Minar, C. Bialonczyk e e. al., «The risk of recurrent venous thromboembolism in men and women,» *New England Journal of Medicine*, vol. 350, n. 25, pp. 2558-2563, 2004.
- [31] R. Roach, S. Cannegieter e W. Lijfering, «Differential risks in men and women for first and recurrent venous thrombosis: the role of genes and environment,» *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, vol. 12, n. 10, pp. 1593-1600, 2014.
- [32] E. Pomp, A. Lenselink, F. Rosendaal e e. al., «Pregnancy, the postpartum period and prothrombotic defects: risk of venous thrombosis in the MEGA study,» *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, vol. 6, n. 4, pp. 632-637, 2008.
- [33] S. K. Brækkan, E. B. Mathiesen, I. Njølstad, T. Wilsgaard e J.-B. Hansen, «Hematocrit and risk of venous thromboembolism in a general population. The Tromsø study,» *Hematologica*, vol. 95, n. 2, pp. 270-275, 2010.
- [34] R. Virchow, *Thrombose und Embolie*, Lipsia, Germania: Verlag von Johann Ambrosius Barth, 1910.
- [35] M. Madsen, D. van Dijk, C. Wiepjes, E. Conemans, A. Thijs e M. den Heijer, «Erythrocytosis in a Large Cohort of Trans Men Using Testosterone: A Long-Term Follow-Up Study on Prevalence, Determinants, and Exposure Years,» *the Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 106, n. 6, pp. 1710-1717, 2021.
- [36] A. Dautaj, G. Krasi, V. Bushati, V. Preocone, M. Gheza, F. Fioretti, M. Sartori, A. Costantini, S. Benedetti e M. Bertelli, «Hereditary thrombophilia,» *Acta Biomedica*, vol. 90, n. 10, pp. 44-46, 2019.
- [37] J. Kujovich, *Factor V Leiden Thrombophilia*, Seattle (WA): University of Washington: Seattle, 2006.
- [38] J. Kouvich, *Prothrombin Thrombophilia*, Seattle (WA): University of Whashington: Seattle, 2006.

- [39] M. Patnaik e S. Moll, «Inherited antithrombin deficiency: a review,» *Haemophilia*, vol. 14, n. 6, pp. 1229-1239, 2008.
- [40] NIH - National Library of Medicine, «Medline Plus - Trusted health Information for you,» [Online]. Available: <https://ghr.nlm.nih.gov/>.
- [41] P. Kouides, «Females with von Willebrand disease: 72 years as the silent majority,» *Haemophilia*, vol. 4, n. 4, pp. 665-676, 1998.
- [42] P. Bolton-Maggs, D. Perry, E. Chalmers, L. Parapia, J. Wilde, M. Williams, P. Collins, S. Kitchen, G. Dolann e A. Mumford, «The rare coagulation disorders – review with guidelines for management from the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation,» *Haemophilia*, vol. 10, p. 593–628, 2004.
- [43] M. Lyon, «Gene action in the X-Chromosome of the mouse (*Mus Musculus* L.),» *Nature*, vol. 190, n. 4773, pp. 372-373, 1961.
- [44] T. Nobuo e S. Motomichi, «Preferential inactivation of the paternally derived X chromosome in the extraembryonic membranes of the mouse,» *Nature*, vol. 256, n. 5519, pp. 640-642, 1975.
- [45] I. Okamoto, A. Otte, C. Allis, D. Reinberg e E. Heard, «Epigenetic dynamics of imprinted X inactivation during early mouse development,» *Science*, vol. 303, n. 5658, pp. 644-649, 2004.
- [46] R. Sekido e R. Lovell-Badge, «Sex determination involves synergic action of SRY and SF1 on a specific Sox9 enhancer,» *Nature*, vol. 453, pp. 930-934, 2008.
- [47] I. Hughes, J. Davies, T. Bunch, V. Pasterski, K. Mastroiannopoulou e J. MacDougall, «Androgen insensitivity syndrome,» *Lancet*, vol. 380, n. 9851, pp. 1419-1428, 2012.
- [48] P. Berta e et al, «Genetic evidence equating SRY and the testis-determining factor,» *Nature*, vol. 348, pp. 448-450, 1990.
- [49] P. Vogt e e. al., «Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11,» *Human Molecular Genetics*, vol. 5, pp. 933-943, 1996.
- [50] D. Skuse, F. Printzlau e J. Wolstencroft, «Sex Chromosome Aneuploidies,» *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 147, pp. 355-376, 2018.

- [51] F. Alvarez-Nava e R. Lanes, «Epigenetics in Turner syndrome,» *Clinical Epigenetics*, vol. 10, n. 45, 2018.
- [52] T. Ogata e N. Matsuo, «Turner syndrome, and female sex aberration: deduction of the principal factors involved in the development of clinical features,» *Human Genetics*, vol. 95, pp. 607-629, 1995.
- [53] H. Klinefelter, E. Rifenstein e F. Albright, «Syndrome characterized by gynecomastia, aspermatogenesis without A-Leydigism, and increased excretion of follicle-stimulating hormone,» *Journal of Clinical Endocrinology*, vol. 2, pp. 615-627, 1942.
- [54] C. Gravholt, S. Chang, M. Wallentin, J. Fedder, P. Moore e A. Skakkebaek, «Klinefelter Syndrome: Integrating Genetics, Neuropsychology, and Endocrinology,» *Endocrinology Reviews*, vol. 39, n. 4, pp. 389-423, 2018.
- [55] F. Cioppi, V. Rosta e C. Krausz, «Genetic of Azoospermia,» *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, n. 3264, 2021.
- [56] N. Tartaglia, N. Ayari, S. Howell, C. D'Epagnier e P. Zeitler, «48,XXYY, 48,XXXY and 49,XXXXY syndromes: not just variants of Klinefelter syndrome,» *Acta Paediatrica*, vol. 100, n. 6, pp. 851-860, 2011.
- [57] J. Nielsen, «Sex chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results of a 13-years incidence study in Arhus, Denmark,» *Birth defects original article series*, vol. 26, n. 4, pp. 209-223, 1990.
- [58] N. Tartaglia, S. Howell, A. Sutherland, R. Wilson e L. Wilson, «A review of trisomy X (47,XXX),» *Orphanet Journal of Rare Diseases*, vol. 5, n. 8, 2010.
- [59] M. Linden, B. Bender, R. Harmon, D. Mrazek e A. Robinson, «47,XXX: what is the prognosis?,» *Pediatrics*, vol. 82, n. 4, pp. 619-630, 1988.
- [60] B. Bender, M. Linden e A. Robinson, «Neuropsychological impairment in 42 adolescents with sex chromosome abnormalities,» *Pediatrics*, vol. 96, pp. 302-308, 1995.
- [61] W. Ina, M. Kim, MPH, C. Arjun Khadilkar, Y. Edmund, M. Ko, S. Edmund Sabanegh Jr e MD, «47,XYY Syndrome and Male Infertility,» *Nature Reviews Urology*, vol. 15, n. 4, pp. 188-196, 2013.

- [62] F. El-Dahtory e H. Elsheikha, «Male infertility related to an aberrant karyotype, 47, XYY: four cases reports,» *Cases Journal*, vol. 2, n. 28, 2009.
- [63] N. Kherouatou-Chaoui, D. Chellat-Rezgoune, M. Larbi Rezgoune, K. Mc Elreavey, L. Souhem Touabti, N. Abadi e D. Satta, «SRY and NR5A1 gene mutation in Algerian children and adolescents with DSD and testicular dysgenesis,» *African Health Scieeces*, vol. 21, n. 3, pp. 1491-1497, 2021.
- [64] D. Silverthorn, *Fisiologia Umana. Un approccio integrato*, Pearson, 2017.
- [65] J. E. Hall, *Guyton e Hall - Fisiologia Medica*, Milano: Edra, 2017.
- [66] A. Coviello, B. Kaplan, K. Lakshman, T. Chen, A. Singh e S. Bashin, «Effects of General Doses of Testosterone on Erythropoiesis, in Healthy Young and Older Men,» *the Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 93, n. 3, pp. 914-919, 2008.
- [67] A. Barbonetti, S. D'Andrea e S. Francavilla, «Testosterone replacement Therapy,» *Andrology*, vol. 8, n. 6, pp. 1551-1556, 2020.
- [68] G. Corona, E. Maseroli, G. Rastrelli, A. Isidori, A. Sforza, E. Mannucci e M. Maggi, «Cardiovascular risk associated with testosterone-boosting medications: a systematic review and meta-analysis,» *Expert Opinion on Drug Safety*, vol. 13, n. 10, pp. 1327-1351, 2014.
- [69] A. Swerdlow, C. Higgins, M. Schoemaker, A. Wright e P. Jacobs, «Mortality in patients with Klinefelter syndrome in Britain: a cohort study,» *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 90, n. 12, pp. 6516-6522, 2005.
- [70] A. Bojesen, S. Juul, N. Birkebaek e C. Gravholt, «Morbidity in Klinefelter syndrome: a Danish register study based on hospital discharge diagnoses,» *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 91, n. 4, pp. 1254-1260, 2006.
- [71] B. Zoller, J. Ji, J. Sundquist e K. Sundquist, «High Risk of Venous Thromboembolism in Klinefelter Syndrome,» *Journal of the American Heart Association*, vol. 5, n. 5, p. e003567, 2016.
- [72] P. Caron, A. Bennet, R. Camare, J. Louvet, B. Boneu e P. Sie, «Plasminogen activator inhibitor in plasma is related to testosterone in men,» *Metabolism*, vol. 38, n. 10, pp. 1010-1015, 1989.

- [73] G. De Pergola, V. De Mitrio, M. Sciaraffia, N. Pannacciulli, A. Minenna, F. Giorgino, M. Petronelli, E. Laudadio e R. Giorgino, «Lower androgenicity is associated with higher plasma levels of prothrombotic factors irrespective of age, obesity, body fat distribution, and related metabolic parameters in men,» *Metabolism*, vol. 46, n. 11, pp. 1287-1293, 1997.
- [74] M. Sanchez-Garrido e M. Tena-Sempere, «Metabolic dysfunction in polycystic ovary syndrome: Pathogenic role of androgen excess and potential therapeutic strategies,» *Molecular Metabolism*, vol. 35, 2020.
- [75] S. Sirmans e K. Pate, «Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome,» *Clinical Epidemiology*, vol. 6, 2013.
- [76] E. Stener-Victorin, V. Padmanabhan, K. Walters, R. Campbell, A. Benrick, P. Giacobini, D. Dumesic e D. Abbott, «Animal Models to Understand the Etiology and Pathophysiology of Polycystic Ovary Syndrome,» *Endocrine Reviews*, vol. 41, n. 4, p. bnaa010, 2020 .
- [77] R. Ruggiero e F. Likis, «Estrogen: Physiology, Pharmacology, and Formulation for replacement therapy,» *Journal of Midwifery & Women's Health*, vol. 47, n. 3, pp. 130-138, 2002.
- [78] E. Morselli, R. Santos, A. Criollo, M. Nelson, B. Palmer e D. Clegg, «The effects of oestrogens and their receptors on cardiometabolic health,» *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 13, n. 6, pp. 352-364, 2017.
- [79] M. Gomes e S. Deitcher, «Risk of Venous Thromboembolic Disease Associated With Hormonal Contraceptives and Hormone Replacement Therapy,» *Archives of internal medicine*, vol. 164, n. 18, pp. 1965-1976, 2004.
- [80] T. Vikan e et al, «Low testosterone and sex hormonebinding globulin levels and high estradiol levels are independent predictors of type 2 diabetes in men,» *European Journal of Endocrinology*, vol. 162, n. 4, p. 747-754, 2010.
- [81] «The Coronary Drug Project. Initial findings leading to modifications of its research protocol,» *Journal of the American Medical Association*, vol. 214, n. 7, p. 1303-1313, 1970.
- [82] D. Byar e D. Corle, «Hormone therapy for prostate cancer: results of the Veterans Administration Cooperative Urological Research Group studies,»

- Journal of the National Cancer Institute - Monograph*, n. 7, p. 165–170, 1988.
- [83] J. Manson, R. Chlebowski, M. Stefanick, A. Aragaki, J. Rossouw, R. Prentice, G. Anderson, B. Howard, C. Thomson, A. LaCroix, J. Wactawski-Wende, R. Jackson, M. Limacher, K. Margolis, S. Wassertheil-Smoller e e. Al, «Menopausal hormone therapy and health outcomes during the intervention and extended poststopping phases of the Women’s Health Initiative randomized trials,» *The Journal of the American Medical Association*, vol. 310, n. 13, p. 1353–1368, 2013.
- [84] Ministero della Salute, «Salute della donna - Contraccezione,» 2 Marzo 2023. [Online]. Available: <https://www.salute.gov.it/portale/donna/dettaglioContenutiDonna.jsp?lingua=italiano&id=4475&area=Salute+donna&menu=societa>. [Consultato il giorno 26 Giugno 2023].
- [85] Ministero della salute, «Metodi contraccettivi ormonali,» Ministero della salute, Roma, 2012.
- [86] L. Morimont, H. Haguët, J. Dogne, U. Gaspard e J. Dourfils, «Combined Oral Contraceptives and Venous Thromboembolism: Review and Perspective to Mitigate the Risk,» *Frontiers in Endocrinology*, vol. 12, 2021.
- [87] M. Dragoman, N. Tepper, R. Fu, K. Curtis, R. Chou e M. Gaffield, «A systematic review and meta-analysis of venous thrombosis risk among users of combined oral contraception,» *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, vol. 141, n. 3, p. 287–294, 2018.
- [88] B. Katzung, *Basic & Clinical Pharmacology*, McGraw-Hill Education, 2018.
- [89] P. Goodwin e V. Stambolic, «Obesity and insulin resistance in breast cancer-chemoprevention strategies with a focus on metformin,» *Breast*, vol. 20, n. 3, p. S31–S35, 2011.
- [90] H. Pope, R. Wood, A. Rogol, F. Nyberg, L. Bowers e S. Bhasin, «Adverse health consequences of performance-enhancing drugs: an Endocrine Society scientific statement,» *Endocrine Reviews*, vol. 35, n. 3, p. 341–375, 2014.

- [91] A. Baggish, R. Weiner, G. Kanayama, J. Hudson, M. Lu, U. Hoffmann e H. Pope Jr., «Cardiovascular Toxicity of Illicit Anabolic-Androgenic Steroid Use,» *Circulation*, vol. 135, n. 21, p. 1991–2002, 2017.
- [92] A. Uzunova, E. Ramey e P. Ramwell, «Gonadal hormones and pathogenesis of occlusive arterial thrombosis,» *American Journal of Physiology*, vol. 234, n. 4, pp. H454- H459, 1978.
- [93] G. Ferencik, «Anabolic/androgenic steroid abuse and thrombosis Is there a connection?,» *Medical Hypothesis*, vol. 35, n. 1, pp. 27-31, 1991.
- [94] World Health Organization (WHO), International Classification of Diseases, Eleventh Revision (ICD-11), <https://icd.who.int/browse11>, 2019/2021.
- [95] K. Zucker, «The DSM-5 Diagnostic Criteria for Gender Dysphoria,» in *DSM-5*, Springer-Verlag Italia, 2015, pp. 33-37.
- [96] M. Altinay e A. Anand, «Neuroimaging gender dysphoria: a novel psychobiological model,» *Brain Imaging and Behavior*, vol. 14, n. 4, pp. 1281-1297, 2020 .
- [97] P. Expósito-Campos, M. Gómez-Balaguer, F. Hurtado-Murillo e C. Morillas-Ariño, «Evolution and trends in referrals to a specialist gender identity unit in Spain over 10 years (2012-2021),» *The Journal of Sexual Medicine*, vol. 20, n. 3, pp. 377-387, 2023.
- [98] C. Wiepjes, N. Nota, C. de Blok, M. Klaver, A. de Vries, S. Wensing-Kruger, R. de Jongh, M. Bouman, T. Steensma, P. Cohen-Kettenis, L. Gooren, B. Kreukels e M. den Heijer, «The Amsterdam Cohort of Gender Dysphoria Study (1972-2015): Trends in Prevalence, Treatment, and Regrets,» *The Journal of Sexual Medicine*, vol. 15, n. 4, pp. 582-590, 2018.
- [99] Q. Zhang, W. Rechler, A. Bradlyn, W. Flanders, D. Getahun, T. Lash, C. McCracken, R. Nash, L. Panagiotakopoulos, D. Roblin, D. Sandberg, M. Silverberg, V. Tangpricha, S. Vupputuri e M. Goodman, «Changes in Size and Demographic Composition of Transgender and Gender Non-Binary Population Receiving Care at Integrated Health Systems,» *Endocrine Practice*, vol. 27, n. 5, pp. 390-395, 2021 .

- [100] E. Coleman e e. al., «Standard of care for the Health of the transgender and gender diverse people, Vesion 8,» *International Journal of Trangender Helth*, vol. 23, n. 1, pp. S1-S259, 2022.
- [101] Statistics Canada, «Census of population Canada,» <https://www150.statcan.gc.ca/n1/daily-quotidien/220427/dq220427b-eng.htm>, 2022.
- [102] M. Miscioscia, P. Rigo, M. Spandri, D. Cerantola e A. Simonelli, «La disforia di genere in et`a evolutiva: questioni di- agnostiche e aspetti relazionali. Una rassegna nar- rativa della letteratura,» *Giornale Italiano di Psicologia*, 2020.
- [103] C. Cocchetti, J. Ristori, A. Romani, M. Maggi e A. Fisher, «Hormonal Treatment Strategies Tailored to Non-Binary Transgender Individuals,» *Journal of Clinical Medicine*, vol. 9, n. 6, p. 1609, 2020.
- [104] 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.
- [105] W. Hembree, P. G. L. Cohen-Kettenis e e. al., «Endocrine treatment of gender-dysphoric/gender-incongruent persons: an endocrine society clinical practice guideline,» *Journal of Clinical Endocrinol and Metabolics* , vol. 102, n. 11, pp. 3869-3903, 2017.
- [106] 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.
- [107] 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.
- [108] R. Weigert, E. Frison, Q. Sessiecq, K. Al Mutairi e V. Casoli, «Patienti satisfaction with breasts and psychological, sexual and physical well-being after breast augmentation in male-to-female transsexuals,» *Plastic Recostructive Surgery*, vol. 132, n. 6, pp. 1421-1429, 2013.

- [109] T. Van de Grift, L. Elfering, M. Greijdanus, J. Smit, M. Bouman, A. Klassen e M. Mullender, «Subcutaneous mastectomy improves satisfaction with body and psychological function in trans men: findings of a cross-sectional study using the BODY-Q chest module,» *Plastic Reconstructive Surgery*, vol. 142, n. 5, pp. 1125-1132, 2018.
- [110] T. Van de Grift, B. Kreukels, L. Elfering, M. Özer, M. Bouman, M. Buncamper, J. Smit e M. Mullender, «Body image in transmen: Multidimensional measurement and the effects of mastectomy,» *The Journal of Sexual Medicine*, vol. 13, n. 11, pp. 1778-1786, 2016.
- [111] C. Agarwal, M. Scheefer, L. Wright, N. Walzer e A. Rivera, «Quality of life improvement after chest wall masculinization in female-to-male transgender patients: A prospective study using the BREAST-Q and Body Uneasiness Test,» *Journal of Plastic Reconstructive & Aesthetic Surgery*, vol. 71, n. 5, pp. 651-657, 2018.
- [112] M. Frederick, A. Berhanu e R. Bartlett, «Chest surgery in female to male transgender individuals,» *Annals of Plastic Surgery*, vol. 78, n. 3, pp. 249-253, 2017.
- [113] Y. Jin, D. Zheng, Z. Duan, Y. Lin, X. Zhang, J. Wang, S. Han, G. Wang e Y. Zhang, «Relationship Between Hematocrit Level and Cardiovascular Risk Factors in a Community-Based Population,» *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, vol. 29, n. 4, pp. 289-293, 2015.
- [114] T. Alzahrani, T. Nguyen, A. Ryan, A. Dwairy, J. McCaffrey, R. Yunus, J. Forgione, J. Krepp, C. Nagy, R. Mazhari e J. Reiner, «Cardiovascular disease risk factors and myocardial infarction in the transgender population,» *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*, vol. 12, n. 4, 2019.
- [115] M. Irwig, «Cardiovascular health in transgender people,» *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, vol. 19, n. 3, pp. 243-251, 2018.
- [116] M. Kyinn, K. Banks, S. Leemaqz, E. Sarkodie, D. Goldstein e M. Irwig, «Weight gain and obesity rates in transgender and gender-diverse adults before and during hormone therapy,» *International Journal of Obesity*, vol. 45, n. 12, pp. 2562-2569, 2021.

- [117] 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.
- [118] K. Millington, E. Liu e Y. Chan, «The utility of potassium monitoring in gender-diverse adolescents taking spironolactone,» *Journal of the Endocrine Society*, vol. 3, n. 5, p. 1031–1038, 2019.
- [119] J. Bisson, K. Chan e J. Safer, «Prolactin levels do not rise among transgender women treated with estradiol and spironolactone,» *Endocrine Practice*, vol. 24, n. 7, p. 646–651, 2018.
- [120] H. Borghei-Razavi, V. Fragoza-Padilla, G. Hargus, S. Bakhti e U. Schick, «Meningioma: The unusual growth in a transsexual patient after estrogen-progesterone therapy,» *SOJ Neurology*, vol. 1, n. 1, pp. 1-3, 2014.
- [121] J. Defreyne, N. Nota, C. Pereira, T. Schreiner, A. Fisher, M. denHeijer e G. T'Sjoen, «Transient elevated serum prolactin in trans women is caused by Cyproterone Acetate treatment,» *LGBT Health*, vol. 4, n. 5, p. 328–336, 2017.
- [122] Y. Sofer, I. Yaish, M. Yaron, M. Bach, N. Stern e Y. Greenman, «Differential endocrine and metabolic effects of testosterone suppressive agents in transgender women,» *Endocrine Practice*, vol. 26, n. 8, p. 883–890, 2020.
- [123] C. Wiepjes, C. deBlok, A. Staphorsius, N. Nota, M. Vlot, R. deJongh e M. denHeijer, «Fracture risk in trans women and trans men using long-term gender-affirming hormonal treatment: A nationwide cohort study,» *Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, vol. 35, n. 1, pp. 64-70, 2020.
- [124] 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.

- [125] G. Corona, G. Rastrelli, E. Maseroli e A. ., M. Sforza, «Testosterone replacement therapy and cardiovascular risk: a review,» *The World Journal of Men's Health*, vol. 33, n. 3, pp. 130-142, 2015.
- [126] 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.
- [127] M. Hemelaar, M. van der Mooren, M. Rad, C. Klufft 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.
- [128] 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.
- [129] 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.
- [130] L. Brass, L. Zhu e T. Stalker, «Minding the gaps to promote thrombus growth and stability,» *the Journal of Clinical Investigation*, vol. 115, n. 12, p. 3385–3392, 2005.
- [131] B. Furie e B. Furie, «Mechanisms of thrombus formation,» *New England journal of Medicine*, vol. 359, n. 9, pp. 938-949, 2008.
- [132] D. Gailani e T. Renné, «Intrinsic pathway of coagulation and arterial thrombosis,» *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 27, n. 12, pp. 2507-2513, 2007.
- [133] R. He, D. Chen e S. He, «Factor XI: hemostasis, thrombosis, and antithrombosis,» *Thrombosis Research*, vol. 129, n. 5, pp. 541-550, 2012.
- [134] M. Yoder, «Human Endothelial Progenitor Cells,» *Cold Spring Harbor Perspective in Medicine*, vol. 2, p. a006692, 2012.

- [135] 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.
- [136] 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.
- [137] M. Prokopi, G. Pula, U. Mayr, C. Devue, J. Gallagher, Q. Xiao, C. Boulanger, N. Westwood, C. Urbich, J. Willeit e et al, «Proteomic analysis reveals presence of platelet microparticles in endothelial progenitor cell cultures,» *Blood*, vol. 114, n. 3, p. 723–732, 2009.
- [138] T. Asahara, T. Murohara, A. Sullivan, M. Silver, R. Van der Zee, T. Li, B. Witzenbichler, G. Schatteman e J. Isner, «Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis.,» *Science*, vol. 275, n. 5302, p. 964–967, 1997.
- [139] 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.
- [140] 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.
- [141] 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.
- [142] C. Schmidt-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 repaire,» *Circulation*, vol. 111, n. 22, pp. 2981-2987, 2005.
- [143] S. Zhu, X. Liu, Y. Li, P. Goldschmidt-Clermont e C. Dong, «Aging in the artherosclerosis milieu may accelerate the consumptionof bone marow endothelial progenitor cells,» *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 27, n. 1, pp. 113-119, 2006.

- [144] S. Dimmeler e M. Vasa-Nicotera, «Aging of progenitors cells: limitation for regenerative capacity?,» *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 42, n. 12, pp. 2081-2082, 2003.
- [145] 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.
- [146] J. Waltenberg, «Impaired collateral vessel development in diabetes: potential cellular mechanisms and therapeutic implications,» *Cardiovascular Research*, vol. 49, n. 3, pp. 554-560, 2001.
- [147] 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.
- [148] M. Vasa, S. Fichtlscher, A. Aicher e et al, «Number of migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary disease,» *Circulation Research*, vol. 89, p. e1–e7, 2001.
- [149] 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.
- [150] 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.
- [151] 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.
- [152] A. Iwaruka, C. Leudemann, S. Shastri 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.
- [153] 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.
- [154] J. White Hugto, S. Reisner e J. Pachankis, «Transgender stigma and health: a critical review of stigma determinants, mechanisms, and intervention,» *Social Science & Medicine*, vol. 147, pp. 222-231, 2015.
- [155] B. Korpallová, M. Samoš, T. Bolek, I. Škornová, F. Kovàr, P. Kubisz, J. Staško e M. Mokàn, «Role of Thromboelastography and Rotational Thromboelastometry in the Management of Cardiovascular Diseases,» *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, vol. 24, n. 8, pp. 1199-1207, 2018.
- [156] E. J. Favalaro e G. Lippi, *Hemostasis and Thrombosis - Methods and Protocols*, New York: Humana Press - Springer Nature, 2017.
- [157] 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.
- [158] P. Glumac e A. LeBeau, «The role of CD133 in cancer: a concise review,» *Clinical and Translational Medicine*, vol. 7, n. 18, 2018.
- [159] 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.
- [160] J. Mera, B. Dickson e M. Feldman, « Influence of Gender on the Ratio of Serum Aspartate Aminotransferase (AST) to Alanine Aminotransferase (ALT) in Patients With and Without Hyperbilirubinemia,» *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 53, n. 3, pp. 799-802, 2008 .
- [161] 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.
- [162] A. Agarwal, «Practical Approach to the Diagnosis and Treatment of Anemia Associated With CKD in Elderly,» *Journal of the American Medical Directors Association*, vol. 7, n. 9 Supplemento, pp. S7-S12, 2006.