

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TRIESTE

XXXII CICLO DEL DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE
DELLA RIPRODUZIONE E DELLO SVILUPPO

**Analysis of vaginal microbiota after Male-To-Female gender
reassignment surgery**

Settore scientifico-disciplinare: MED17 – MED24

DOTTORANDO
MICHELE RIZZO

COORDINATORE
PROF. PAOLO GASPARINI



SUPERVISORE DI TESI
PROF. CARLO TROMBETTA



ANNO ACCADEMICO 2018/2019

Analysis of vaginal microbiota after Male-To-Female gender reassignment surgery

Indice

<i>Analysis of vaginal microbiota after Male-To-Female gender reassignment surgery</i>	1
Introduzione	2
Definizione di disforia di genere	2
Razionale e scopo del lavoro.....	2
Tecnica chirurgica	3
Materiali a metodi	5
Risultati	6
Discussione	10
Conclusioni	12
References	13

Introduzione

Definizione di disforia di genere

La Disforia di Genere, è una condizione caratterizzata da una forte e persistente identificazione nel sesso opposto a quello biologico e/o al sesso assegnato anagraficamente alla nascita, tale condizione può essere causa di notevole dolore e sentimento di inadeguatezza nelle persone che ne soffrono. Il paziente il cui orientamento è gino-androide viene definito Female to Male (FtoM) mentre il paziente andro-ginoide viene definito FtoM [1]. Non tutti i transessuali soffrono di Disforia di Genere. La non conformità di genere consiste nella proporzione per cui l'identità di genere, il ruolo di genere, l'espressione di genere si differenzia dalle norme culturali comuni per un individuo dello stesso sesso. Per Disforia di Genere si intende invece il malessere o lo stress provocato dal percepire la propria identità di genere diversa dal sesso assegnato alla nascita.

Razionale e scopo del lavoro

Il microbiota umano è l'insieme di microrganismi simbiotici che convivono con l'organismo umano. Esiste una connessione diretta tra lo stato del microbiota e lo stato di salute dell'organismo che lo ospita. L'interesse su questo argomento è in continuo aumento [2] [3] [4]. Ad oggi, sono stati proposti modelli di microbiota per molti distretti corporei compresi i genitali maschili e femminili [4]. Tuttavia, sono molto scarsi i dati disponibili riguardo il microbiota vaginale nella donna affetta da disforia di genere che si è sottoposta ad intervento di conversione androginoide. Le pazienti che si sottopongono a vaginoplastica presentano caratteristiche endocrinologiche e anatomiche peculiari che le differenziamo sia dalle donne biologiche che dagli uomini. In particolare, assumono una terapia antiandrogena ed a base di estrogeni, presentano una vagina coperta da un lembo prodotto con la cute di scroto e pene. In conclusione, è ragionevole pensare che anche il microbiota genitale di questi

pazienti presenti delle differenze da quello maschile e femminile. Sappiamo inoltre che l'incidenza delle infezioni urinarie può arrivare ad interessare fino al 30% delle donne transessuali [5] [6]. Conoscere il microbiota vaginale delle donne transessuali potrebbe aiutare a comprendere i meccanismi che stanno alla base delle modificazioni del microbiota umano inoltre potrebbe essere utile per la gestione di questi pazienti in caso di infezioni dell'apparato genitourinario.

Lo scopo di questo studio è l'analisi e la caratterizzazione del microbiota vaginale nell'immediato post-operatorio dei pazienti che si sottopongono ad intervento di conversione dei genitali in senso androginoide e la ricerca di eventuali correlazioni tra le caratteristiche del microbiota e l'insorgenza di patologie infettivo-infiammatorie.

Tecnica chirurgica

La tecnica chirurgica utilizzata per l'intervento di conversione androginoide è descritta nelle precedenti pubblicazioni [7] [8]. In sintesi, l'intervento di vaginoplastica prevede la creazione di una cavità perineale al di sotto della prostata al di sopra del retto. L'isolamento di un gettone glandulare a costituzione di un neoclitoride sensibile. Lo spatolamento del moncone uretrale ed il suo posizionamento sulla parete anteriore della neovagina fino a circondare il neoclitoride ed infine la copertura della neovagina con il lembo di cute penoscrotale.

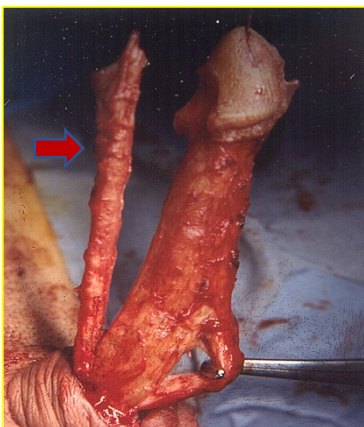


Figura 1: La freccia indica il lembo di glande isolato unitamente al suo fascio neurovascolare che sarà utilizzato per il confezionamento del neoclitoride

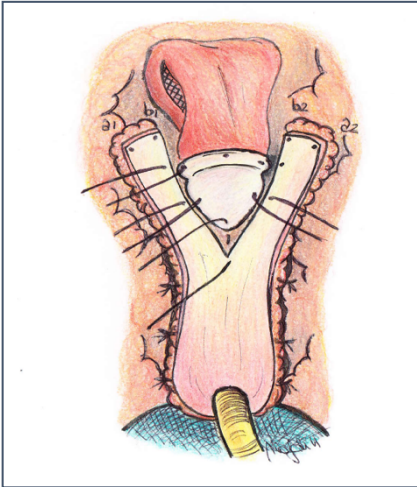


Figura 2: La figura mostra come il lembo uretrale detubularizzato viene utilizzato per coprire la parete anteriore dell'introito vaginale e circondare il neoclitoride. Tale lembo rappresenta l'unica superficie mucosa della neovagina.



Figura 3: Lembo di cute peniena che verrà anastomizzato al lembo di cute scrotale per formare il lembo penoscrotale utilizzato per foderare la cavità della neovagina.



Figura 4: RMN che mostra la profondità della neovagina.

Materiali a metodi

Sono state arruolate nello studio le donne trans sottoposte ad intervento di conversione androginoide tra il Luglio 2016 e l'ottobre 2017 presso la Clinica Urologica di Trieste. Queste pazienti hanno eseguito 2 tamponi uno a livello della mucosa uretrale in prossimità del meato uretrale (Figura 2), uno a livello del fondo della neovagina (Figura 4).

Sono stati inoltre raccolti tamponi di una paziente operata da circa 4 mesi e di altre 2 pazienti operate da circa 24 mesi.

Per ogni tampone è stata eseguita l'analisi mediante la metodica V3-16S rRNA Next Generation Sequencing (NGS) e PCR.

Per tutte le pazienti sono stati prospetticamente raccolti dati anagrafici e relativi alle proprie abitudini sessuali inoltre è stata indagata la storia di infezioni genitourinarie.

Il follow-up ha previsto come da protocollo interno visite di controllo a 3, 6, 12, 24, 36 mesi.

Risultati

Dal Luglio 2016 all'ottobre 2017 sono stati arruolati 16 pazienti sottoposti ad intervento di conversione dei genitali in senso androginoide MtoF. Tutte le pazienti sono state operate secondo la tecnica di vaginoplastica descritta precedentemente. L'età media era 35,2 anni (range 24-50). Tutte le pazienti assumevano terapia ormonale a base di antiandrogeni ed estrogeni da almeno 1 anno prima della chirurgia. Una paziente al momento dell'intervento era HIV sieropositiva. Tutte le altre pazienti erano HIV, HBV ed HCV sieronegative. Quindici pazienti (93,75%) presentavano orientamento eterosessuale mentre una paziente (6,25%) era omosessuale. Per tutte le pazienti sono stati raccolti 2 tamponi neovaginali, uno sulla porzione della parete anteriore della neovagina ricoperta dalla mucosa uretrale in prossimità del meato uretrale, uno sul fondo della neovagina. I tamponi sono stati eseguiti durante la degenza post-operatoria entro 15 giorni dall'intervento per 13 pazienti mentre una paziente è stata arruolata a 3 mesi dall'intervento e 2 pazienti 24 mesi dopo la chirurgia. Dopo l'intervento tutte le pazienti sono state seguite prospetticamente come da protocollo interno con una visita a 3 mesi, una a 6 mesi quindi annualmente. I pazienti che per ragioni private non sono potuti venire alla visita di controllo sono stati contattati telefonicamente. Il follow-up medio dell'intera corte di pazienti è di 21,1 mesi (DS: 8,03 mesi). Quindici pazienti hanno riferito di aver eseguito le dilatazioni neovaginali come indicato. Quattordici pazienti hanno riferito storia di rapporti penetrativi vaginali. Due pazienti hanno riferito storia di infezioni urinarie ricorrenti intese come oltre 2 infezioni urinarie ogni 6 mesi. La figura 5 riporta uno schema del microbiota neovaginale identificato dalle analisi dei tamponi neovaginali eseguiti sulla mucosa uretrale perimeatale e sul fondo vaginale. Sempre in figura 6 è riportato lo schema del microbiota. In appendice sono riportati nel dettaglio i risultati dell'analisi microbiologica. La figura

6 riporta il modello di microbiota neovaginale identificato dalla ricerca e lo compara ai modelli conosciuti di microbiota vaginale di donne biologiche e dei genitali maschili. La composizione microbica del fondo della neovagina e della regione mucosa perimeatale è risultata simile. In una paziente il tampone è risultato positivo per HPV. In nessun altro caso sono stati identificati batteri responsabili di infezioni sessualmente trasmesse. La flora neovaginale è risultata esser composta prevalentemente da *Provetella* ed *Escherichia*. In nessun campione è stata identificata la presenza di lattobacilli. Al follow-up di un anno la profondità media della neovagina nella popolazione considerata nel nostro studio è di circa 11cm. Una sola paziente che ha rifiutato di eseguire le dilatazioni periodiche della neovagina ha presentato una coartazione quasi completa della cavità vaginale. Quattordici pazienti hanno riferito rapporti penetrativi vaginali.

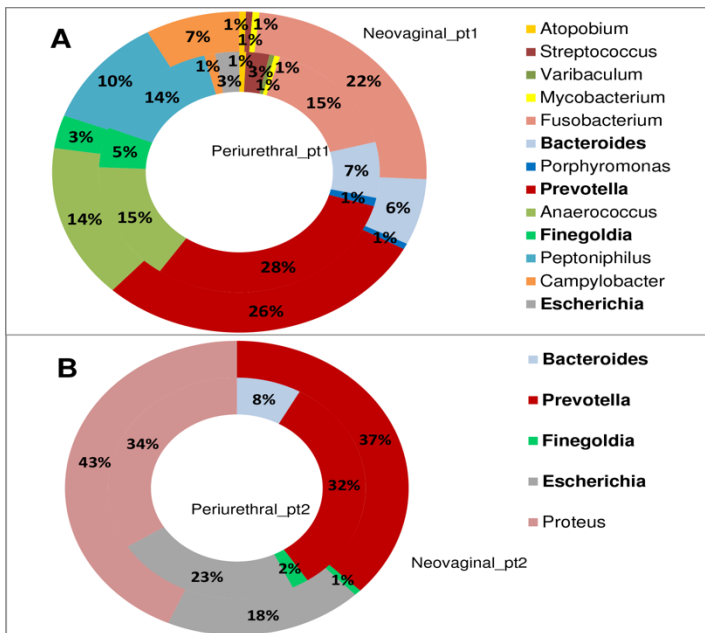


Figura 5: Le specie batteriche più frequentemente riscontrate a livello periuretrale sul fondo della neovagina. La figura A è basata sui tamponi eseguiti entro 10 giorni dall'intervento. La figura B è basata sui tamponi provenienti dalla paziente operata circa 4 mesi prima.

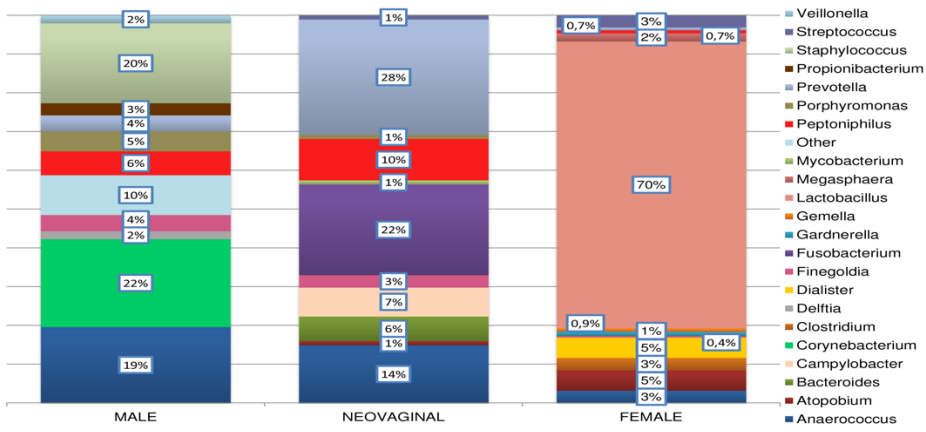


Figura 6: Sono riportati i noti modelli di microbiota genitale dell'umo della donna biologica ed il modello prodotto dalla nostra analisi della microflora presente nella neovagina

Discussione

Il presente studio fornisce il primo modello di microbiota neovaginale presente in letteratura. È interessante notare che la neovagina sia a livello del fondo che a livello perimeatale risulta essere colonizzata da batteri che sono comunemente responsabili di infezioni delle vie urinarie nelle donne biologiche tuttavia solo 2 pazienti hanno riportato storia di infezioni urinarie recidivanti. Tale dato è interessante in quanto viene dimostrato che la presenza di questi batteri non sembra determinare lo stesso effetto patologico nelle donne transgender e nelle donne biologiche. Petricevic et al nel 2014 hanno pubblicato uno studio su 61 donne transessuali sottoposte ad intervento di vaginoplastica, in media circa 5 anni prima dell'arruolamento nello studio, a cui è stato eseguito un tampone rettale ed uno vaginale[9]. Quarantatré donne (70.5%) presentavano contemporaneamente le stesse specie di lattobacilli sia a livello neovaginale che a livello rettale. Gli autori conclusero che questi dati sostenevano l'ipotesi che il retto rappresenti un reservoir di lattobacilli che normalmente colonizzano i genitali femminili. Diversamente da Petricevic nel nostro studio non è stata identificata la presenza di lattobacilli in nessuno dei campioni analizzati. L'assenza di lactobacilli era prevedibile in quanto questi non sono comunemente presenti nella cute dei genitali maschili. Non sono stati reperiti lattobacilli nei tamponi eseguiti nei primi 10 giorni post-operatori e nemmeno nei 2 pazienti che erano stati sottoposti all'intervento 24 mesi prima. Tale reperto sosterebbe l'ipotesi che la neovagina potrebbe essere colonizzata da lattobacilli provenienti dal retto e che questo processo richieda anni per instaurarsi. Nella casistica di pazienti presentata, solo uno era HIV positivo. Tutti gli altri erano HIV, HBV, HCV sieronegativi. Tale dato è significativo in quanto l'incidenza di queste patologie è solitamente più alta nella popolazione transgender[10,11]. È possibile che gli individui transessuali trovino oggi una società più disposta ad accettarli che nel passato e riescano a condurre una vita meno ghettizzata, questo riduce il rischio

di contrarre HIV, HBV, HCV ed altre infezioni. All'ultimo follow-up 15 pazienti (94%) presentavano una neovagina pervia e con profondità paragonabile a quella rilevata durante l'intervento. Tale risultato è dovuto probabilmente al buon counseling psicosessuologico e chirurgico eseguito nel perioperatorio in cui a tutte le pazienti è stata spiegata l'importanza delle quotidiane dilatazioni neovaginali. L'unica paziente con stenosi della neovagina aveva sospeso volontariamente le dilatazioni vaginali.

Questo reperto collaterale allo studio sostiene l'importanza delle quotidiane dilatazioni neovaginali.

Conclusioni

La nostra analisi ha permesso la caratterizzazione della microflora vaginale nell'immediato post-operatorio delle pazienti che si sottopongono ad intervento di conversione ginoandroide. Nonostante la terapia ormonale, la neovagina è risultata esser massivamente colonizzata da batteri comunemente presenti nei genitali maschili e spesso responsabili di infezioni del tratto genitourinario nelle donne biologiche. È stata esclusa la presenza di lactobacilli. Questo studio è il primo che fornisce un modello di microbiota vaginale nelle pazienti sottoposte ad intervento di conversione androginoide.

References

1. Knudson G, De Cuypere, G., & Bockting, W (2010) Recommendations for revision of the DSM diagnoses of gender identity disorders: Consensus statement of The World Professional Association for Transgender Health. *International Journal of Transgenderism*. doi:doi:10.1080/15532739.2010.509215
2. Team NIHMPA (2019) A review of 10 years of human microbiome research activities at the US National Institutes of Health, Fiscal Years 2007-2016. *Microbiome* 7 (1):31. doi:10.1186/s40168-019-0620-y
3. Integrative HMPRNC (2019) The Integrative Human Microbiome Project. *Nature* 569 (7758):641-648. doi:10.1038/s41586-019-1238-8
4. Pruski P, Lewis HV, Lee YS, Marchesi JR, Bennett PR, Takats Z, MacIntyre DA (2018) Assessment of microbiota: host interactions at the vaginal mucosa interface. *Methods* 149:74-84. doi:10.1016/j.ymeth.2018.04.022
5. Berli JU, Knudson G, Fraser L, Tangpricha V, Ettner R, Ettner FM, Safer JD, Graham J, Monstrey S, Schechter L (2017) What Surgeons Need to Know About Gender Confirmation Surgery When Providing Care for Transgender Individuals: A Review. *JAMA Surg* 152 (4):394-400. doi:10.1001/jamasurg.2016.5549
6. Horbach SE, Bouman MB, Smit JM, Ozer M, Buncamper ME, Mullender MG (2015) Outcome of Vaginoplasty in Male-to-Female Transgenders: A Systematic Review of Surgical Techniques. *J Sex Med* 12 (6):1499-1512. doi:10.1111/jsm.12868
7. Trombetta C, Liguori G, Benvenuto S, Petrovic M, Napoli R, Umari P, Rizzo M, Zordani A (2011) [Neo-urethroclitoroplasty according to Petrovic]. *Urologia* 78 (4):267-273. doi:10.5301/RU.2011.8855
8. Carlo T (2015) My Personal Technique. In: Springer M (ed) *Management of Gender Dysphoria*. doi:https://doi.org/10.1007/978-88-470-5696-1_11
9. Petricevic L, Kaufmann U, Domig KJ, Kraler M, Marschalek J, Kneifel W, Kiss H (2014) Rectal Lactobacillus species and their influence on the vaginal microflora: a model of male-to-female transsexual women. *J Sex Med* 11 (11):2738-2743. doi:10.1111/jsm.12671
10. Jadwin-Cakmak L, Reisner SL, Hughto JMW, Salomon L, Martinez M, Popoff E, Rivera BA, Harper GW (2019) HIV prevention and HIV care among transgender and gender diverse youth: design and implementation of a multisite mixed-methods study protocol in the U.S. *BMC Public Health* 19 (1):1531. doi:10.1186/s12889-019-7605-4
11. Herbst JH, Jacobs ED, Finlayson TJ, McKleroy VS, Neumann MS, Crepaz N, Team HAPRS (2008) Estimating HIV prevalence and risk behaviors of transgender persons in the United States: a systematic review. *AIDS Behav* 12 (1):1-17. doi:10.1007/s10461-007-9299-3