

## INDICE

1. INTRODUZIONE .....	2
2. OBIETTIVO DELLO STUDIO .....	3
2.1 MATERIALI E METODI.....	3
2.2 ANALISI STATISTICA.....	5
3. RISULTATI OTTENUTI.....	6
4. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI .....	8
Bibliografia .....	11

# 1. INTRODUZIONE

Il diabete è un problema sempre più diffuso che è stato fortemente associato a problemi sessuali sia negli uomini che nelle donne. La presenza di disfunzioni sessuali nel diabete di tipo 1 è stata associata a una qualità della vita notevolmente inferiore e a un disagio psicologico [1]

Le disfunzioni sessuali femminili (DSF) costituiscono un gruppo eterogeneo di disordini, caratterizzati da un disturbo clinicamente significativo del desiderio sessuale e/o dei cambiamenti fisico/psicologici che caratterizzano il ciclo completo della risposta sessuale. I dati oggi disponibili, pur se limitati, sembrano indicare la presenza di un'associazione tra malattie metaboliche quali diabete, dislipidemia, sindrome metabolica/obesità e DSF. Secondo ampi studi epidemiologici la prevalenza delle DSF varia dal 40% al 60%, con valori più alti osservati nelle donne in post-menopausa. Il diabete mellito è stato associato alle disfunzioni sessuali, sia nei maschi che nelle femmine. Riguardo le donne, le evidenze circa la correlazione tra il diabete e le disfunzioni sessuali, sono meno conclusive, sebbene la maggior parte degli studi abbia riportato una più alta prevalenza di disfunzioni sessuali in donne diabetiche rispetto alle donne non diabetiche [2,3]. La presenza di problemi sessuali nelle donne affette da diabete può essere spiegata da diversi possibili meccanismi come l'iperglicemia, le disfunzioni vascolari e nervose, i disordini endocrinologici e i fattori psicologici. L'iperglicemia contribuisce in maniera determinante al danno endoteliale, rendendosi responsabile di un processo di infiammazione cronica, produzione di specie reattive dell'ossigeno, alterazione dei sensori dell'ipossia. Nel mantenere la salute endoteliale giocano un ruolo fondamentale le cellule progenitrici endoteliali circolanti (EPCs) di natura midollare, caratterizzate dall'espressione di markers di superficie quali CD34, CD133 e KDR, e capaci di differenziarsi in cellule endoteliali mature, partecipando ai meccanismi di neoangiogenesi e di riparazione

endoteliale [4]. Ci sono evidenze scientifiche che i livelli circolanti di EPC sono ridotti nei pazienti diabetici rispetto ai soggetti di pari età [5], rappresentando uno dei meccanismi che collegano l'aumento del rischio vascolare con il diabete mellito [6].

Diversi studi hanno valutato la correlazione tra il ciclo mestruale e i livelli circolanti di EPCs in una popolazione di giovani donne sane in età fertile, Robb e collaboratori hanno riportato che le EPC triple positive (CD34+CD133+KDR+) variavano durante il ciclo mestruale con livelli 3 volte superiori nella fase follicolare rispetto alla fase ovulatoria [7]. Foresta e collaboratori hanno evidenziato un aumento significativo del numero di cellule PC (CD34+CD133+) ed EPC (CD34+CD133+ KDR+) durante la fase ovulatoria nelle giovani donne fertili [8].

## **2. OBIETTIVO DELLO STUDIO**

Alla luce di tali evidenze, l'obiettivo della mia tesi di dottorato è stato quello di valutare l'andamento dei livelli circolanti delle EPCs nella fase follicolare, ovulatoria e luteinica del ciclo mestruale e il cambiamento della funzione sessuale in giovani donne con diabete mellito di tipo 1 e in donne non diabetiche (controlli) appaiate per età.

### **2.1 MATERIALI E METODI**

Questo è uno studio longitudinale osservazionale condotto tra Gennaio 2019 e Marzo 2021. Ha incluso donne giovani con diabete tipo 1 assistite presso l'Unità di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo dell'Ospedale Universitario della Campania "Luigi Vanvitelli". Sono state selezionate in base ai seguenti criteri di elegibilità:

1. età compresa tra 18 e 35 anni
2. stabile relazione di coppia

3. cicli mestruali regolari
4. non utilizzo di contraccettivi orali

Sono state escluse donne con alterazioni del ciclo mestruale, con ipogonadismo, con ovaio policistico o in terapia con estro progestinici. Donne incinte o che stavano programmando una gravidanza.

La funzione sessuale è stata valutata completando il Female Sexual Function Index (FSFI) e il Female Sexual Distress Scale (FSDS).

L' FSFI è un questionario di autovalutazione comprendente 19 items suddivisi in sei domini (desiderio, eccitazione, lubrificazione, orgasmo, soddisfazione e dolore) riferiti all'attività sessuale nelle ultime 4 settimane. Ogni dominio è stato valutato su una scala da 0 a 6, con un punteggio più alto che indica una migliore funzione. Per ciascuno dei sei domini è stato calcolato un punteggio e il punteggio totale è stato ottenuto sommando i punteggi dei sei domini. L'intervallo di punteggio totale era 2–36. Un'alterazione della funzione sessuale è stata evidenziata da un punteggio di 26.55 o meno [9].

Il disagio legato all'attività sessuale è stato invece valutato utilizzando il FSDS, un questionario di autovalutazione composto da 12 items. Le donne dovevano quantificare la frequenza di ciascuna area su una scala da 0 a 4 (0 = mai, 4 = sempre). Un punteggio totale maggiore o uguale a 15 indicava disagio legato alla vita sessuale. Ogni dominio della funzione sessuale è stato considerato alterato se associato a disagio personale, in conformità con le linee guida dell'American Psychiatric Association. La FSD è stata diagnosticata in base a un punteggio FSFI inferiore a 26,55 e un punteggio FSDS superiore a 15 [10].

Per tutti i partecipanti dello studio sono state valutate: le misure antropometriche ed esame clinico (peso, BMI, pressione arteriosa): l'analisi di laboratorio (glicemia a digiuno, HbA1c, profilo lipidico).

Sono stati raccolti i campioni di sangue nelle tre fasi del ciclo mestruale per valutare i livelli degli ormoni sessuali FSH, LH, Progesterone e Estradiolo.

La valutazione delle variazioni dei livelli circolanti delle EPCs è stata valutata mediante citofluorimetria a flusso utilizzando anticorpi monoclonali diretti verso gli antigeni CD34, CD133 e KDR. Dalla combinazione di questi anticorpi monoclonali diretti verso tali antigeni sono stati identificati sette fenotipi delle EPCs (CD34+, CD133+, KDR+, CD34+CD133+, CD34+KDR+, CD133+KDR+ e CD34+CD133+KDR+).

## 2.2 ANALISI STATISTICA

I dati li abbiamo espressi come media  $\pm$  deviazione standard, mediana e intervallo interquartile o numero e percentuale. Le statistiche descrittive sono state utilizzate per le caratteristiche demografiche e cliniche di base di tutti i partecipanti allo studio. I confronti dei dati al basale tra i gruppi di pazienti sono stati eseguiti mediante il test t di Student o il test Mann-Whitney Rank Sum, a seconda della normalità della distribuzione del campione. La correlazione tra i cambiamenti nei livelli di EPC e i corrispondenti cambiamenti negli ormoni sessuali è stata valutata utilizzando il coefficiente di correlazione di Spearman. Il test  $\chi^2$  è stato utilizzato per confrontare le variabili dicotomiche.

I dati sono stati analizzati utilizzando Stata, versione 16.0 (Stata Corp, College Station, Texas). Il valore di  $P < 0.05$  è stato considerato statisticamente significativo.

### 3. RISULTATI OTTENUTI

La popolazione in studio ha incluso 18 giovani donne in età fertile affette da diabete di tipo 1 e 8 donne sane (controlli), con un'età media di 25.0 anni, BMI di 23.4 Kg/m<sup>2</sup>. L'età media non era diversa tra le donne con diabete e le donne di controllo, né diversi erano i parametri antropometrici, il profilo lipidico e la pressione sanguigna. Come previsto, le donne con diabete avevano livelli più elevati di glicemia a digiuno ( $P = 0.003$ ) e HbA1c ( $P < 0.001$ ), rispetto al gruppo di controllo. La prevalenza complessiva della FSD, definita come la presenza concomitante di punteggi FSFI e FSDS patologici, era del 7% (2/18) tra le donne con diabete e del 12.5% (1/8) tra le donne di controllo.

Nei due gruppi, c'era una normale variazione ciclica degli ormoni ipofisari e ovarici circolanti con picchi periovulatori sia nelle concentrazioni sieriche di LH che FSH e picchi periovulatori e medi lutei sia nelle concentrazioni sieriche di estradiolo che di progesterone. Non ci sono state differenze nei livelli degli ormoni sessuali durante le diverse fasi del ciclo mestruale tra i due gruppi.

Rispetto ai controlli, le donne con diabete hanno mostrato livelli significativamente più bassi di cellule CD34+ nella fase ovulatoria [casi vs controllo, mediana e IQR, 211 (171, 310) vs 361 (345, 437)  $P = 0.031$ ] e cellule CD34+KDR+ sia nella fase ovulatoria [22 (19, 26) vs 41 (17, 251)  $P = 0.041$ ] che nella fase luteale [19 (9, 27) vs 38 (28, 49)  $P = 0.002$ ]. Nessuna differenza significativa è stata registrata per gli altri fenotipi EPC tra i due gruppi.

Le pazienti con diabete hanno mostrato un punteggio FSFI totale significativamente più basso in tutte e tre le fasi del ciclo mestruale, rispetto alle donne di controllo. Abbiamo quindi valutato i singoli domini della funzione sessuale nelle diverse fasi del ciclo mestruale confrontando i punteggi FSFI dei singoli domini tra i due gruppi. Rispetto alle donne sane, le donne diabetiche hanno

mostrato punteggi significativamente più bassi nei domini del desiderio, eccitazione e dolore nella fase follicolare, punteggi significativamente più bassi nei domini del desiderio, eccitazione, lubrificazione, orgasmo e dolore nella fase ovulatoria e punteggi significativamente più bassi nei domini di eccitazione, lubrificazione, orgasmo e dolore nella fase luteale e abbiamo riscontrato una significativa riduzione del punteggio di tutti i domini tranne quello della soddisfazione nelle donne diabetiche rispetto ai controlli in fase ovulatoria.

Abbiamo poi eseguito l'analisi univariata per verificare la presenza di un'associazione tra i livelli circolanti di cellule CD34+ e CD34+KDR+ e le concentrazioni degli ormoni sessuali nelle diverse fasi del ciclo mestruale nelle donne con diabete e nelle donne di controllo.

Nelle donne con diabete, c'era un'associazione significativa tra il numero di cellule CD34+ e le concentrazioni di FSH nella fase luteale ( $r = 0.600$ ,  $P=0.013$ ). Inoltre, i livelli circolanti di cellule CD34+KDR+ erano positivamente associati al progesterone nella fase follicolare ( $r= 0.767$ ,  $P<0.001$ ) e negativamente associati al progesterone nella fase luteale ( $r = -0.738$ ,  $P= <0.001$ ).

Nel gruppo di controllo, il numero di cellule CD34+ era positivamente associato ai livelli di estradiolo nella fase follicolare ( $r=0.810$ ,  $P= 0.014$ ) e negativamente associato ai livelli di progesterone nella fase luteale ( $r = -0.967$ ,  $P = 0.002$ ). Inoltre, la conta delle cellule CD34+KDR+ era positivamente associata ai livelli di progesterone nella fase follicolare ( $r=0.892$ ,  $P=0.003$ ) e inversamente correlata con il livello di progesterone nella fase luteale ( $r = -0.894$ ,  $P = 0.016$ ).

## 4. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Abbiamo mostrato per la prima volta una diminuzione dei livelli circolanti delle EPC nelle giovani donne fertili con diabete durante il ciclo mestruale. I nostri risultati sono nuovi, poiché nessuno studio precedente ha valutato il cambiamento nelle cellule progenitrici circolanti in una popolazione di giovani donne fertili con diabete di tipo 1 in tutte le fasi del ciclo mestruale. Inoltre, le giovani donne diabetiche fertili hanno mostrato una funzione sessuale peggiore e un punteggio totale FSFI più basso nelle tre fasi del ciclo mestruale rispetto a quello dei soggetti di controllo.

Le donne in età riproduttiva sono esposte a un rischio cardiovascolare inferiore rispetto agli uomini di pari età. Ciò è generalmente attribuito alle differenze negli ormoni sessuali e, in particolare, alle proprietà cardiovascolari protettive degli estrogeni femminili. Oltre agli effetti sui lipidi plasmatici e sulla parete vasale, altri meccanismi possono collegare gli ormoni sessuali a un profilo cardiovascolare favorevole, inclusa la regolazione dell'omeostasi endoteliale. È interessante notare che le differenze sia quantitative che qualitative nelle EPC tra giovani uomini e donne, insieme all'osservazione che le EPC sono mobilitate durante il ciclo ormonale, hanno indicato che le EPC possono essere influenzate dagli ormoni sessuali femminili.

In effetti, ci sono prove che in donne sane normalmente mestruate, un ruolo fisiologico del ciclo mestruale nella regolazione della disponibilità di EPC è emerso durante le diverse fasi [11-12]. I nostri risultati confermano questi risultati; tuttavia, abbiamo riscontrato livelli significativamente più bassi di CD34+ nella fase ovulatoria associati a livelli significativamente più bassi di CD34+KDR+ sia nella fase ovulatoria che nella fase luteale nelle donne diabetiche rispetto al gruppo di controllo, suggerendo che la mobilitazione ciclica delle EPC durante il ciclo mestruale osservato in donne sane è smussato nelle donne diabetiche, anche nel contesto di una normale variazione ciclica degli

ormoni ipofisari e ovarici circolanti. La mancanza di studi precedenti che valutino la fluttuazione delle EPC nelle giovani donne fertili con diabete di tipo 1 in tutte le fasi del ciclo mestruale non consente di effettuare confronti.

Una potenziale ipotesi che spiega i nostri risultati potrebbe essere la perdita della funzione di regolazione degli ormoni sessuali sulle fluttuazioni dei livelli di EPC durante le fasi delle mestruazioni nelle donne con diabete. Nelle donne con diabete di tipo 2 è stato descritto uno squilibrio tra la distribuzione di ER $\alpha$ /ER $\beta$  responsabile dell'aumento della vasocostrizione e dell'aumento dell'infiammazione vascolare [13]. Inoltre, nelle donne sane in post-menopausa, con la cessazione dell'attività ovarica ed endometriale, il numero di EPC è simile a quello espresso nei maschi [13]. Attualmente mancano prove sulle donne diabetiche di tipo 1. Tuttavia, studi recenti hanno dimostrato che i livelli circolanti di EPC sono più bassi nei giovani con diabete di tipo 1 rispetto al controllo sano di pari età [11,14]. Inoltre, abbiamo precedentemente identificato differenze di genere nel conteggio delle EPC circolanti in una popolazione di giovani adulti con diabete di tipo 1 a favore dei maschi [15], suggerendo che le donne con diabete possono presentare condizioni dannose aggiuntive che attenuano ulteriormente la mobilizzazione fisiologica dal midollo osseo di queste cellule staminali. Non è noto se il gradiente di genere nel numero di EPC possa riflettere una vulnerabilità per le donne diabetiche in termini di aumento del rischio di complicanze vascolari.

Studi precedenti hanno mostrato una maggiore prevalenza di disfunzione sessuale tra le donne con diabete di tipo 1 [16,17]. I nostri dati confermano l'osservazione che il diabete di tipo 1 colpisce diversi aspetti della funzione sessuale femminile, tra cui l'eccitazione, la lubrificazione, l'orgasmo, il desiderio e il dolore, ma non la soddisfazione. Infatti, abbiamo riscontrato una significativa riduzione del punteggio di tutti i domini tranne quello della soddisfazione nelle donne diabetiche rispetto ai controlli in fase ovulatoria. Il punteggio totale FSFI così come i punteggi relativi a

desiderio, eccitazione, lubrificazione e dolore erano più bassi nelle donne diabetiche rispetto a quelli dei soggetti di controllo nelle tre fasi delle mestruazioni, anche se non possono essere considerati gravemente alterati.

I principali punti di forza di questo studio includono l'uso di uno strumento validato per la valutazione della disfunzione sessuale, la valutazione di quattro diversi fenotipi EPC mediante citometria a flusso in diverse fasi dello stesso ciclo mestruale. Questo studio ha anche dei limiti. A causa della natura osservativa di questo studio, non possiamo fare inferenze su causa ed effetto. Inoltre, una delle principali limitazioni dello studio riguarda il numero limitato di soggetti indagati, che necessita di conferma.

In conclusione, le donne con diabete di tipo 1 mostrano livelli più bassi di EPC durante le fasi ovulatoria e luteale del ciclo mestruale, associati a una peggiore funzione sessuale, rispetto ai controlli sani. Sono necessari ulteriori studi longitudinali per chiarire se queste disfunzioni possono essere correlate all'aumento del rischio cardiovascolare nelle donne con diabete di tipo 1.

## Bibliografia

1. Shindel AW, Lue TF. Sexual Dysfunction in Diabetes. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., eds. Endotext. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; June 8, 2021
2. Enzlin P, Rosen R, Wiegel M, Brown J, Wessells H, Gatcomb P, Rutledge B, Chan KL, Cleary PA; DCCT/EDIC Research Group. Sexual dysfunction in women with type 1 diabetes: long-term findings from the DCCT/ EDIC study cohort. *Diabetes Care*. 2009;32:780-5.
3. Esposito K, Maiorino MI, Bellastella G, Giugliano F, Romano M, Giugliano D. Determinants of female sexual dysfunction in type 2 diabetes. *Int J Impot Res*. 2010;22:179–184.
4. Fadini GP, Sartore S, Agostini C, Avogaro A. Significance of endothelial progenitor cells in subjects with diabetes. *Diabetes Care*. 2007;30(5):1305-1313.
5. Maiorino MI, Bellastella G, Giugliano D, Esposito K. From inflammation to sexual dysfunctions: a journey through diabetes, obesity, and metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest* 2018;41:1249–1258.
6. Koivisto VA, Stevens LK, Mattock M, et al. Cardiovascular disease and its risk factors in IDDM in Europe. EURODIAB IDDM complications study group. *Diabetes Care* 1996; 19: 689–97.
7. Robb AO, Mills NL, Smith IB, Short A, Tura-Ceide O, Barclay GR, Blomberg A, Critchley HO, Newby DE, Denison FC. Influence of menstrual cycle on circulating endothelial progenitor cells. *Hum Reprod*. 2009;24:619-25
8. Foresta C, De Toni L, Di Mambro A, Ferlin A, Perilli L, Bertuzzi I, Galan A, Zuccarello D. Role of estrogen receptors in menstrual cycle-related neoangiogenesis and their influence on endothelial progenitor cell physiology. *Fertil Steril*. 2010;93:220-8.
9. Rosen R, Brown C, Heiman J, Leiblum S, Meston C, Shabsigh R, Ferguson D, D'Agostino R Jr. The Female Sexual Function Index (FSFI): a multidimensional self-report instrument for the assessment of female sexual function. *J Sex Marital Ther*. 2000;26:191-208.
10. Longo M, Cirillo P, Scappaticcio L, Tomasuolo M, Pernice V, Caruso P, Bellastella G, Maiorino MI, Esposito K. Female Sexual Function in Young Women With Type 1 Diabetes and Additional Autoimmune Diseases. *J Sex Med*. 2021;18:219-223.
11. Fadini GP, de Kreutzenberg S, Albiero M, et al. Gender differences in endothelial progenitor cells and cardiovascular risk profile: the role of female estrogens. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:997-1004.
12. 137. Lemieux C, Cloutier I, Tanguay JF. Menstrual cycle influences endothelial progenitor cell regulation: a link to gender differences in vascular protection?. *Int J Cardiol*. 2009;136:200-210.
13. Dantas AP, Fortes ZB, de Carvalho MH. Vascular disease in diabetic women: Why do they miss the female protection?. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:570598.
14. Longo M, Scappaticcio L, Bellastella G, Pernice V, Cirillo P, Maio A, Castaldo F, Giugliano D, Esposito K, Maiorino MI; METRO Study Group. Alterations in the Levels of Circulating and Endothelial

Progenitor Cells Levels in Young Adults with Type 1 Diabetes: A 2-Year Follow-Up from the Observational METRO Study. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2020;13:777-784

15. Maiorino MI, Bellastella G, Casciano O, Petrizzo M, Gicchino M, Caputo M, Sarnataro A, Giugliano D, Esposito K. Gender-differences in glycemic control and diabetes related factors in young adults with type 1 diabetes: results from the METRO study. *Endocrine.* 2018;61:240-247.
16. Enzlin P, Mathieu C, Vanderschueren D, Demyttenaere K: Diabetes mellitus and female sexuality: a review of 25 years' research. *Diabet Med.*1998;15:809–815.
17. 141. Enzlin P, Mathieu C, Van den Bruel A, Bosteels J, Vanderschueren D, Demyttenaere K. Sexual dysfunction in women with type 1 diabetes: a controlled study. *Diabetes Care.* 2002;25:672-677.