

# Estudio genómico de la incongruencia de género mediante la tecnología de microarrays

Autor: Enrique Delgado Zayas

---

Tesis doctoral UDC / 2022

Directores: Eduardo J. Pásaro Méndez y Rosa M<sup>a</sup> Fernández García

Tutora: Rosa M<sup>a</sup> Fernández García

Departamento de Psicología. Área Psicobiología

Programa de doctorado en Desarrollo Psicológico, Aprendizaje y Salud  
(Interuniversitario)



UNIVERSIDADE DA CORUÑA



Los directores de la tesis doctoral titulada *Estudio genómico de la incongruencia de género mediante la tecnología de microarrays*, realizada por el licenciado en Psicología Enrique Delgado Zayas, acreditan que cumple los requisitos para optar al grado de doctor por la Universidad de A Coruña.

**Dr. Eduardo J. Pásaro Méndez**  
Catedrático de Universidad  
Departamento de Psicología. UDC

**Dra. Rosa M<sup>a</sup> Fernández García**  
Profesora Titular de Universidad  
Departamento de Psicología. UDC

A Coruña, 1 de febrero de 2022



El presente trabajo de investigación se desarrolló en el laboratorio de Psicobiología del departamento de Psicología, en la Facultad de Ciencias de la Educación de la UDC, entre los años 2018 y 2022. La investigación fue financiada a través de los siguientes proyectos:

- “Estudio genético y epigenético del tratamiento hormonal cruzado en una población transexual: Un estudio longitudinal”. Código: PGC2018-094919-B-C22. Entidad financiadora: Ministerio de Ciencia e Innovación MINCIN.
- “Ayudas para la consolidación y estructuración de unidades de investigación competitivas del Sistema Universitario de Galicia (modalidad de Grupos de Potencial de Crecimiento). Códigos: ED431B 2016/013 y ED431B 2019/02. Entidad financiadora: Xunta de Galicia-Consellería de Cultura, Educación e Ordenación Universitaria.

#### **Los resultados de esta investigación fueron publicados como artículos científicos:**

- Fernández R, **Delgado-Zayas E**, Ramírez-Olivero K, Cortés-Cortés J, Gómez-Gil E, Esteva I, Almaraz MC, Guillamon A & Pásaro E. (2020). Analysis of four polymorphisms located at the promoter of the estrogen receptor alpha *ESR1* gene in a transsexual population. *Sexual medicine*, 8(3), 490–500. <https://doi.org/10.1016/j.esxm.2020.04.002>.
- Ramírez K, Fernández R, **Delgado-Zayas E**, Gómez-Gil E, Esteva I, Guillamon A, & Pásaro E (2021): Implications of the estrogen receptor coactivators SRC1 and SRC2 in the biological basis of gender incongruence. *Sexual medicine*, 9(3), 100368. <https://doi.org/10.1016/j.esxm.2021.100368>

#### **Capítulo de libro:**

- Fernández R, Ramírez K, **Delgado-Zayas E**, Gómez Gil E, Esteva I, Guillamon A & Pásaro E (2021): Role of the estrogens and the receptor coactivators in the basis of gender incongruence in *Oxytocin and Health* [ISBN: 978-1-83969-138-6]. Dr. Wei Wu and Dr. Ifigenia Kostoglou-Athanassiou. Editors. London. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.96668>

### Comunicaciones en congresos:

- **Delgado-Zayas E**, Fernández R, & Pásaro E. Genomic study of Gender Dysphoria. Analysis of the polymorphism rs9478245. Training Session in Psychobiology (Spanish Society of Psychobiology). Madrid, 05 octubre 2018.
- Fernández R, **Delgado-Zayas E**, Ramírez K, Cortés-Cortés J, Gómez-Gil E, Esteva I, Almaraz MC, Guillamón A, & Pásaro E. Estrogen receptor alpha gene (*ESR1*) promoter region analysis in a population with Gender Dysphoria. III International Congress of Psychobiology. Granada, 29-31 mayo 2019. Doi: 10.13140/RG.2.2.12052.76166.
- **Delgado-Zayas E**, Gómez-Gil E, Fernández R, Ramírez K, Cortés-Cortés J, Esteva I, Almaraz MC, Guillamon A, & Pásaro E. Quality of life and personality analysis in a transsexual population. XV Congreso Internacional Gallego-Portugués de Psicopedagogía. A Coruña, 4-6 septiembre 2019.
- Ramírez K, Fernández R, **Delgado Zayas E**, Córtes-Córtes J, & Pásaro E. La adolescencia vista desde la epigenética. XV Congreso Internacional Gallego-Portugués de Psicopedagogía. A Coruña, 4-6 septiembre 2019.
- Gómez Gil E, Ramírez K, Fernández R, **Delgado-Zayas E**, Esteva I, Guillamon A, & Pásaro E. Estudio de 242 polimorfismos mitocondriales en una población española con disforia de género. X Congreso Internacional de psiquiatría, sexualidad y modernidad. Salamanca, 17-19 septiembre 2020.
- Fernández R, Ramírez-Olivero K, **Delgado-Zayas E**, Cortés-Cortés J, Gómez-Gil E, Esteva I, Almaraz MC, Guillamon A, & Pásaro E. An updated interpretation of sexual differentiation of the brain in mammals: genetic, epigenetic and sexual hormone mechanisms. I Jornada del Grup de Treball en Psiconeuroendocrinologia (PNECAT): Actualització en esteroides sexuals i psicopatología. Barcelona, 21 febrero 2020.
- Fernández R, Ramírez K, Collet S, Kiyar M, **Delgado-Zayas E**, Gómez-Gil E, T'Sjoen G, Mueller S, Guillamon A, & Pásaro E. Gender-affirming hormone treatment induces a

significant decrease in CpG methylation in trans men and trans women. IASR 47th Virtual Conference. 27 y 29 julio 2021.

- Gómez Gil E, Fernández García R, Pásaro E, Ramírez K, **Delgado-Zayas E**, Collarani Jiménez R, Ortega Barrio MA, & Gómez Gil FJ. Identidad de género e incongruencia de género: ¿genes o ambiente? Jornadas de sexualidad para profesionales sanitarios. 21-26 junio 2021
- Fernández R, Collet S, Ramírez K, Kiyar M, **Delgado-Zayas E**, Gómez-Gil E, T'Sjoen G, Guillamon A, Mueller S, & Pásaro E. The (epi)genetic basis of gender incongruence. e-ECE 2021-23rd European Congress of Endocrinology. *Endocrine Abstracts* (2021) 73 AEP451. Doi: 10.1530/endoabs.73. AEP451. 22-26 mayo 2021.
- Fernández R, Ramírez K, Kiyar M, Collet S, **Delgado-Zayas E**, Gómez-Gil E, T'Sjoen G, Guillamon A, Mueller S, & Pásaro E. A prospective global CpG methylation analysis in a transgender population pre vs. post six months of gender-affirming hormone treatment. 23rd Biennial Meeting of the International Society of Developmental Neuroscience (ISDN2021). 25 - 27 mayo 2021.



*A mi familia*

*A mis maestros*

*A todo aquel que, aún sin saberlo, me haya ayudado a crecer*



## **Agradecimientos**

Al doctor Eduardo Pásaro por su humanismo, y por abrirme las puertas del grupo de investigación DICOMOSA.

A la doctora Rosa Fernández por su paciencia y generosidad.

A la doctora Estefanía Lema Moreira por llevarme hasta las puertas del grupo de investigación.

A la doctora Karla Ramírez Olivero por su ayuda fraternal.

A todos los miembros del grupo DICOMOSA, especialmente a mis compañeros del laboratorio.

Al doctor Antonio Guillamón del departamento de Psicobiología, de la Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED), por ser el apoyo crítico para la discusión de los resultados.

A las doctoras Esther Gómez-Gil, Mireia Mora y Gloria Aranda de la Unidad de Identidad de Género del Hospital Clínic de Barcelona por su apoyo en la obtención de las muestras.

A Sara Paz Fabián por su ayuda imprescindible.

Al Ministerio de Educación Cultura y Deporte, por todas sus oportunidades.



<b>RESUMO</b> .....	<b>17</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>19</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>21</b>
<b>Lista de Figuras</b> .....	<b>23</b>
<b>Lista de Tablas</b> .....	<b>24</b>
<b>Abreviaturas</b> .....	<b>27</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>29</b>
1.1. Identidad de género e incongruencia de género .....	31
1.2. Concepto de incongruencia de género .....	32
1.3. Inicio, diagnóstico y tratamiento de la incongruencia de género .....	33
1.4. Estudio sociodemográfico de la incongruencia de género .....	37
1.5. Factores psicosociales que influyen en la calidad de vida de las personas transexuales 41	
1.6. Diferenciación sexual de los órganos reproductivos.....	43
1.7. Diferenciación sexual del cerebro .....	47
1.8. Dimorfismo cerebral .....	50
1.9. Dimorfismo sexual del cerebro e incongruencia de género .....	53
1.10. Etiología de la incongruencia de género .....	55
1.11. Principales estudios sobre la base genética de la incongruencia de género .	56
1.12. Genes mitocondriales y dimorfismo sexual .....	61
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>67</b>
<b>PRIMER ESTUDIO</b> .....	<b>69</b>
<i>Objetivos específicos</i> .....	69
<b>SEGUNDO ESTUDIO</b> .....	<b>69</b>
<i>Objetivos específicos:</i> .....	70
<b>TERCER ESTUDIO</b> .....	<b>70</b>
<i>Objetivos específicos:</i> .....	70
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>71</b>
<b>PRIMER ESTUDIO</b> .....	<b>73</b>
<i>Sujetos</i> .....	73
<i>Extracción de sangre</i> .....	75
<i>Análisis molecular</i> .....	75

<i>Análisis estadístico</i> .....	78
SEGUNDO ESTUDIO .....	79
<i>Sujetos</i> .....	79
<i>Extracción de sangre</i> .....	80
<i>Análisis molecular</i> .....	81
<i>Análisis estadístico</i> .....	82
TERCER ESTUDIO .....	82
<i>Sujetos</i> .....	82
<i>Extracción de sangre</i> .....	83
<i>Análisis molecular</i> .....	84
<i>Análisis estadístico</i> .....	84
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>85</b>
PRIMER ESTUDIO .....	87
<i>Estudio del polimorfismo de repetición C2 (rs3138774)</i> .....	87
<i>Análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas</i> .....	87
<i>Análisis de asociación de cada polimorfismo con la incongruencia de género</i> .....	89
<i>Análisis de los haplotipos</i> .....	89
SEGUNDO ESTUDIO .....	96
<i>Tasas de prevalencia de los polimorfismos analizados y comparación con la base de datos 1000 genomes</i> .....	96
<i>Análisis de interacción de los polimorfismos con la covariable “sexo”</i> ...	102
<i>Análisis de los haplotipos</i> .....	102
Polimorfismos en NCoA-1 .....	102
Polimorfismos en NCoA-2 .....	102
Polimorfismos en p300 .....	103
TERCER ESTUDIO .....	107
<i>Estudios de las frecuencias alélicas y genotípicas</i> .....	107
<i>Análisis de interacción de los polimorfismos con la covariable “sexo”</i> ...	107
<i>Análisis de los haplotipos</i> .....	108
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	<b>119</b>
PRIMER ESTUDIO .....	121

SEGUNDO ESTUDIO.....	124
TERCER ESTUDIO.....	128
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>133</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>137</b>
<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>163</b>
8.1. Glosario.....	165
8.2. Tablas de resultados .....	167
8.3. Artículos publicados.....	193



## RESUMO

A incongruencia de xénero defínese no CIE-11 (World Health Organization, 2018) como unha marcada e persistente discordancia entre o xénero experimentado e o sexo asignado ao nacer. A súa orixe é complexa e multifactorial.

*Obxectivo:* O obxectivo principal desta investigación centrouse na análise de diferentes polimorfismos xenéticos nunha poboación transxénero en contraste cunha poboación cisxénero con similares características. Na primeira parte analizáronse catro polimorfismos localizados no promotor do xene do receptor de estrógenos alfa (*ESR1*). Na segunda parte analizáronse 247 polimorfismos situados nos cofactores NCoA-1, NCoA-2, NCoA-3, NCoA-4, NCoA-5 e p300-CREBBP dada a íntima relación existente entre os esteroides e os coactivadores de esteroides. Finalmente, na terceira parte desta investigación analizáronse 242 polimorfismos situados no ADN mitocondrial dada a ausencia total de investigación relacionada ca incongruencia de xénero.

*Material e métodos:* En todos os polimorfismos analizáronse as frecuencias alélicas e xenotípicas mediante o test de  $\chi^2$ , comparando as poboacións cis- e transxénero respecto a o seu sexo xenético. A forza de asociación de cada polimorfismo coa incongruencia de xénero mediuse mediante regresión loxística binaria. Respecto ao único polimorfismo de repetición (C2), analizouse o número de repeticións en cada poboación coa U de Mann-Whitney. O desequilibrio de ligamento e a estimación das frecuencias haplotípicas foron tamén analizados.

*Resultados:* Respecto ao xene *ESR1* atopouse que a media de repeticións para o polimorfismo C2 era máis baixa na poboación de homes transxénero que na poboación cisxénero. Os xenotipos S/S e S/L atopábanse sobrerrepresentados na poboación de homes transxénero ( $P < 0,012$  e  $P < 0,003$  respectivamente). Tamén se atopou unha sobrerrepresentación do xenotipo A/A para o polimorfismo C4 na poboación de homes transxénero ( $P < 0,017$ ), mentres que o xenotipo A/G estaba sobrerrepresentado na poboación cisxénero ( $P < 0,009$ ).

En canto ao estudo dos cofactores, atopáronse diferenzas significativas en once polimorfismos localizados en NCoA-1, NCoA-2, e p300-CREBBP, sendo os coactivadores NCoA-2 e p300-CREBBP, os que presentaron maior número de polimorfismos con significación estatística (5/64 e 2/9 respectivamente). Ademais, os polimorfismos P2 (localizado en NCoA-1), P9 e P10 (localizados en p300-CREBBP) mostraron diferente distribución xenotípica dependendo da covariable sexo.

Respecto aos polimorfismos mitocondriais, atopáronse diferenzas significativas ( $P < 0,05$ ) en 26 polimorfismos. Só un deles pasou a corrección de Bonferroni ( $P < 0,0002$ ), estando ligado aos xenes *MT-ND4* e *MT-ND5* (OR=17,33).

*Conclusión:* Os xenes *ESR1*, *NCoA-1*, *NCoA-2*, *p300-CREBBP*, *MT-ND4* e *MT-ND5* pódense considerar xenes implicados na base biolóxica da incongruencia de xénero.

**Palabras Crave:** cofactores, dimorfismo cerebral, *ESR1*, estróxenos, incongruencia de xénero, xenes mitocondriais.

## RESUMEN

La marcada y persistente discordancia entre el género experimentado y el sexo asignado al nacer se define en el CIE-11 (World Health Organization, 2018) como incongruencia de género. Su origen es complejo y multifactorial.

*Objetivo:* El objetivo principal de esta investigación se centró en el análisis de diferentes polimorfismos genéticos en una población transgénero en contraste con una población cisgénero de similares características. En la primera parte del estudio se analizaron cuatro polimorfismos localizados en el promotor del gen del receptor de estrógenos alfa (*ESR1*). En la segunda parte se analizaron 247 polimorfismos situados en las moléculas coactivadoras de esteroides NCoA-1, NCoA-2, NCoA-3, NCoA-4, NCoA-5 y p300-CREBBP dada la íntima relación existente entre los esteroides y los coactivadores de esteroides. Finalmente se analizaron 242 polimorfismos situados en el ADN mitocondrial, dada la ausencia total de investigación relacionada con la incongruencia de género.

*Material y métodos:* En todos los polimorfismos se analizaron las frecuencias alélicas y genotípicas mediante el test de  $\chi^2$ , comparando las poblaciones cis- y transgénero según el sexo genético. La fuerza de asociación de cada polimorfismo con la incongruencia de género se midió mediante regresión logística binaria. Respecto al único polimorfismo de repetición (C2), se midió el número de repeticiones en cada población y se analizó mediante la U de Mann-Whitney. También se realizaron análisis de desequilibrio de ligamiento y estimación de las frecuencias haplotípicas.

*Resultados:* Respecto al gen *ESR1* se encontró que la media de repeticiones para el polimorfismo C2 era más baja en la población de hombres transgénero que en la población cisgénero. Los genotipos S/S y S/L estaban sobrerrepresentados en la población de hombres transgénero ( $P<0,012$  y  $P<0,003$  respectivamente). También se encontró una sobrerrepresentación del genotipo A/A para el polimorfismo C4 en la población de hombres transgénero ( $P<0,017$ ), mientras que el genotipo A/G estaba sobrerrepresentado en la población cisgénero ( $P<0,009$ ).

En cuanto al estudio de los cofactores, se encontraron diferencias significativas en once polimorfismos localizados en NCoA-1, NCoA-2, y p300-CREBBP. Siendo los coactivadores NCoA-2 y p300-CREBBP los que presentaron mayor número de polimorfismos con significación estadística (5/64 y 2/9 respectivamente). Además, los polimorfismos P2 (localizado en NCoA-1), P9 y P10 (localizados en p300-CREBBP) mostraron diferente distribución genotípica dependiente de la covariable sexo.

Respecto a los polimorfismos mitocondriales, se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en 26 polimorfismos; sólo uno de ellos pasó la corrección de Bonferroni ( $P < 0,0002$ ), estando ligado a los genes *MT-ND4* y *MT-ND5* (OR=17,33).

*Conclusión:* Los genes *ESR1*, *NCoA-1*, *NCoA-2*, *p300-CREBBP*, *MT-ND4* y *MT-ND5* se pueden considerar genes implicados en la incongruencia de género.

**Palabras clave:** Cofactores, dimorfismo cerebral, *ESR1*, estrógenos, genes mitocondriales, incongruencia de género.

## ABSTRACT

Gender incongruence is defined in the ICD-11 (World Health Organization, 2018) as a marked and persistent disagreement between the experienced gender and the assigned natal sex. Its origin is complex and multifactorial.

*Objective:* The main objective was focused on the analysis of different DNA polymorphisms in a transgender population in contrast to a cisgender population. The first part of the investigation involved the analysis of four polymorphisms that are encoded in the promoter of the estrogen receptor alpha (*ESR1*) gene. The second part focused on the study of 247 polymorphisms situated in the coactivator molecules NCoA-1, NCoA-2, NCoA-3, NCoA-4, NCoA-5 and p300-CREBBP given the close relationship between steroids and coactivators of steroids. Finally, 242 polymorphisms located in the mitochondrial DNA and their relationship with gender incongruence were analyzed, given the total absence of research related to this topic.

*Material and methods:* In all polymorphisms, allele and genotypic frequencies were analyzed using the  $\chi^2$  test, comparing the cis- and transgender populations with respect to their natal sex. The strength of association of each polymorphism with gender incongruence was measured using binary logistic regression. Regarding the only repeated polymorphism analyzed (C2), the number of repetitions was analyzed with the Mann-Whitney U test. Linkage disequilibrium and haplotype frequency analyses were also performed.

*Results:* Regarding the *ESR1* gene, it was found that the mean of repetitions for the C2 polymorphism was smaller in the transgender men population than in the cisgender population. The S/S and S/L genotypes were overrepresented in the transgender men population ( $P<0.012$  and  $P<0.003$  respectively). An overrepresentation of the A/A genotype was also found for the C4 polymorphism in the transgender men population ( $P<0.017$ ), while the A/G was overrepresented in the cisgender population ( $P<0.009$ ).

Regarding the study of cofactor molecules, significant differences were found in eleven polymorphisms located in NCoA-1, NCoA-2, and p300-CREBBP. Coactivators NCoA-2 and p300-CREBBP being those with the highest number of polymorphisms with statistical significance (5/64 and 2/9 respectively). Furthermore, only polymorphisms P2 (located in NCoA-1), P9 and P10 (located in p300-CREBBP) showed different genotypic distribution depending on the covariate “sex”.

Regarding mitochondrial polymorphisms, significant differences ( $P<0.05$ ) were found in 26 polymorphisms; only one of them passed the Bonferroni correction ( $P<0.0002$ ), being linked to the *MT-ND4* and *MT-ND5* genes, with an OR=17.33.

*Conclusion:* The *ESR1*, *NCoA-1*, *NCoA-2*, *p300-CREBBP*, *MT-ND4* and *MT-ND5* genes can be considered to be involved in gender incongruence

**Key words:** Brain dimorphism, cofactors, *ESR1*, estrogens, gender incongruence, mitochondrial genes.

## Lista de Figuras

<i>Figura 1.</i> Diferenciación sexual en humanos. ....	45
<i>Figura 2.</i> Esquema de actuación de los receptores de estrógenos ER $\alpha$ y ER $\beta$ . ....	48
<i>Figura 3.</i> Gel de poliacrilamida con los resultados de digestión con la enzima <i>BsrDI</i> . ....	76
<i>Figura 4.</i> Posición aproximada de los cuatro polimorfismos del <i>ESR1</i> analizados. ....	79
<i>Figura 5.</i> Representación del número de repeticiones TA del polimorfismo C2 en las poblaciones de mujeres cisgénero y hombres transgénero. ....	88
<i>Figura 6.</i> Representación del número de repeticiones TA del polimorfismo C2 en las poblaciones de hombres cisgénero y mujeres transgénero. ....	88

## Lista de Tablas

Tabla 1. <i>Comparación de las tres últimas versiones del ICD y el DSM para la incongruencia de género.</i> .....	35
Tabla 2. <i>Principales investigaciones sobre la base genética y epigenética de la incongruencia de género.</i> .....	59
Tabla 3. <i>Condiciones de las reacciones de amplificación por PCR que se emplearon en los estudios moleculares del gen ESRI.</i> .....	77
Tabla 4. <i>Descripción de los genes y número de polimorfismos analizados</i> .....	81
Tabla 5. <i>Estudio de asociación del polimorfismo C2 con la incongruencia de género según diferentes modelos de herencia.</i> .....	90
Tabla 6. <i>Análisis de asociación del polimorfismo C4 con la incongruencia de género en la población con sexo natal femenino (cis vs trans) según diferentes modelos de herencia.</i> .....	91
Tabla 7. <i>Análisis de interacción del polimorfismo C2 según la covariable “sexo”</i> .....	92
Tabla 8. <i>Análisis de interacción del polimorfismo C4 según la covariable “sexo”</i> .....	93
Tabla 9. <i>Estimación de las frecuencias haplotípicas en las poblaciones cisgénero y transgénero.</i> .....	94
Tabla 10. <i>Estimación de las frecuencias haplotípicas en las poblaciones cisgénero y transgénero según la covariable sexo.</i> .....	95
Tabla 11. <i>Análisis de asociación de los polimorfismos con diferencias estadísticamente significativas según diferentes modelos de herencia (n=188).</i> .....	98
Tabla 12. <i>Descripción de las frecuencias alélicas para los polimorfismos con diferencias significativas, y su comparación con las frecuencias alélicas según la base de datos 1000 genomes a nivel mundial y europeo (<a href="http://www.1000genomes.org">http://www.1000genomes.org</a>).</i> .....	101
Tabla 13. <i>Análisis de las frecuencias haplotípicas para los polimorfismos localizados en NCoA-1 (P1, P2 y P3).</i> .....	104
Tabla 14. <i>Análisis de las frecuencias haplotípicas para los polimorfismos localizados en NCoA-2 (P4, P5, P6, P7 y P8).</i> .....	105
Tabla 15. <i>Análisis de las frecuencias haplotípicas para los polimorfismos localizados en p300.</i> .....	106

Tabla 16. <i>Análisis de interacción haplotípica según la covariable sexo para los polimorfismos localizados en p300</i> .....	106
Tabla 17. <i>Características de los polimorfismos mitocondriales analizados que presentaron diferencias estadísticamente significativas a nivel <math>P &lt; 0,05</math></i> . ....	109
Tabla 18. <i>Análisis de las frecuencias genotípicas para los polimorfismos mitocondriales con diferencias estadísticamente significativas a nivel <math>P &lt; 0,05</math></i> . ....	111
Tabla 19. <i>Tabla de interacción con la covariable sexo para los tres polimorfismos mitocondriales con significación estadística a nivel <math>P &lt; 0,05</math></i> . ....	114
Tabla 20. <i>Resultados del análisis (valores <math>P</math>) del estudio de las frecuencias haplotípicas y asociación de los haplotipos con la IG para los polimorfismos mitocondriales</i> .....	115
Tabla 21. <i>Estimación de las frecuencias haplotípicas (<math>n=188</math>) para los polimorfismos mitocondriales</i> . ....	116
Tabla 22. <i>Estudio de asociación de los haplotipos y la incongruencia de género (<math>n=188</math>, ajustado a la covariable sexo) para los polimorfismos mitocondriales</i> . ....	117
Tabla 23. <i>Análisis del polimorfismo Affx-79504644</i> .....	167
Tabla 24. <i>Análisis del polimorfismo Affx-52321592</i> .....	168
Tabla 25. <i>Análisis del polimorfismo Affx-34461959</i> .....	169
Tabla 26. <i>Análisis del polimorfismo Affx-79381661</i> .....	170
Tabla 27. <i>Análisis del polimorfismo Affx-92047845</i> .....	171
Tabla 28. <i>Análisis del polimorfismo Affx-89025744</i> .....	172
Tabla 29. <i>Análisis del polimorfismo Affx-79381669</i> .....	173
Tabla 30. <i>Análisis del polimorfismo Affx-34462083</i> .....	174
Tabla 31. <i>Análisis del polimorfismo Affx-89025691</i> .....	175
Tabla 32. <i>Análisis del polimorfismo Affx-34462190</i> .....	176
Tabla 33. <i>Análisis del polimorfismo Affx-79443447</i> .....	177
Tabla 34. <i>Análisis del polimorfismo Affx-89025749</i> .....	178
Tabla 35. <i>Análisis del polimorfismo Affx-79381684</i> .....	179
Tabla 36. <i>Análisis del polimorfismo Affx-79381690</i> .....	180
Tabla 37. <i>Análisis del polimorfismo Affx-89025669</i> .....	181
Tabla 38. <i>Análisis del polimorfismo Affx-79381693</i> .....	182
Tabla 39. <i>Análisis del polimorfismo Affx-34461653</i> .....	183
Tabla 40. <i>Análisis del polimorfismo Affx-79381700</i> .....	184

Tabla 41. <i>Análisis del polimorfismo Affx-79381702</i> .....	185
Tabla 42. <i>Análisis del polimorfismo Affx-89025746</i> .....	186
Tabla 43. <i>Análisis del polimorfismo Affx-86496743</i> .....	187
Tabla 44. <i>Análisis del polimorfismo Affx-34461803</i> .....	188
Tabla 45. <i>Análisis del polimorfismo Affx-79381709</i> .....	189
Tabla 46. <i>Análisis del polimorfismo Affx-79381711</i> .....	190
Tabla 47. <i>Análisis del polimorfismo Affx-79381717</i> .....	191
Tabla 48. <i>Análisis del polimorfismo Affx-34461862</i> .....	192

## Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNmt	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
ARNr	Ácido ribonucleico ribosómico
ARNt	Ácido ribonucleico de transferencia
<i>ESR1</i>	Gen del receptor de estrógenos alfa
<i>ESR2</i>	Gen del receptor de estrógenos beta
ER $\alpha$	Receptor de estrógenos alfa
ER $\beta$	Receptor de estrógenos beta
GAHT	Tratamiento hormonal de afirmación de género
GS	Glutamina sintetasa
IG	Incongruencia de género
Kb	Kilobase
LD	Desequilibrio de ligamiento
Mb	Megabase
OXPHOS	Fosforilación oxidativa
Pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la enzima Taq polimerasa
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i> , o polimorfismo de un único nucleótido
SRY	El gen <i>SRY</i> ( <i>sex-determining region Y</i> ), es un gen de determinación sexual en los mamíferos.
STR	<i>Short tandem repeats</i> , o microsatélites, consisten en unidades de repetición con 1 a 5 nucleótidos, repetidos entre 2 a 4 veces.
VNTR	<i>Variable number of tandem repeats</i> , o número variable de repeticiones en tándem
WPATH	Asociación Mundial de Profesionales para la Salud Transgénero



## **1.INTRODUCCIÓN**

---



### **1.1. Identidad de género e incongruencia de género**

Hasta hace muy poco se creía que los esteroides gonadales tenían mecanismos de acción comunes, restringidos a un grupo de regiones concretas del cerebro, para crear las diferencias sexuales, induciendo la formación de circuitos masculinos en los hombres y circuitos femeninos en las mujeres. Las últimas investigaciones en este sentido hablan a favor de un proceso complejo y paralelo, donde el desarrollo de las diferencias sexuales en el cerebro resultan de la interacción entre factores propios del sexo, hormonales, genéticos y epigenéticos, que actúan mediante mecanismos intracelulares e intercelulares específicos de cada región cerebral (McCarthy & Arnold, 2011; Wright, Schwarz, Dean, & McCarthy, 2010).

En los seres humanos las diferencias debidas al sexo no se derivan exclusivamente de procesos biológicos como en la mayoría de las especies (McCarthy, 2016) sino también del sexo cerebral o género que, a su vez, es el resultado de una compleja combinación entre factores genéticos, epigenéticos, hormonales, ambientales, culturales, familiares y psicológicos, mediatizados por la percepción que el individuo tiene del propio sexo y de cómo éste es percibido por la sociedad. La identidad de género, determinada por el hecho de sentirse hombre, mujer, o de otro género alternativo, obedece a niveles de identificación con el sexo biológico, con las características sexuales primarias y secundarias, y con el propio género (Gómez-Gil, 2019; McCarthy, 2016). Se refiere al sexo psicológico y a cómo el individuo experimenta su género ante sí mismo y lo expresa ante los demás a través de la conducta.

Así, en la mayoría de las personas, el sexo cromosómico, establecido en el momento de la fecundación, el sexo gonadal, resultado directo del complemento genético, y el sexo cerebral o género, suelen ser coincidentes, dando lugar a la convicción de ser hombre o mujer (población cisgénero). Pero no siempre ocurre así. A veces, en mayor o menor medida, y de forma más o menos persistente, se producen discordancias entre el género sentido y el sexo biológico, dando lugar a las minorías de género. Algunas de estas personas, cuyo grado de malestar con el sexo biológico es leve o está ausente, generalmente no precisan de atención clínica, y se clasifican como: genderqueer, andróginos, género no binario o no conformes con

el género. Cuando dicho malestar es significativo y persistente, produce estrés o deterioro en la calidad de vida del individuo, induce el deseo de ser tratado como miembro del otro sexo, a un sentimiento de inadecuación con el sexo biológico, a una identificación permanente con el sexo opuesto y, o, a una transición social de hombre a mujer, o de mujer a hombre, estamos en presencia de incongruencia de género (IG) (World Health Organization, 2018).

## 1.2. Concepto de incongruencia de género

La incongruencia de género (IG) se define como el descontento de un individuo con el género que le han asignado al nacer y su identificación con un género diferente al asociado con sus características sexuales físicas" (Butler, 2020). A fin de clarificar los términos usados en el análisis de las personas con trastorno de la identidad de género (DSM-IV-TR), disforia de género (DSM-5), transexualismo (ICD-10) o incongruencia de género (ICD-11), la mayoría de los estudios realizados hasta la fecha definen en esta población dos grandes grupos dependiendo del género (Gómez-Gil, 2019).

- *Mujer transgénero*: en referencia a la persona cuyo sexo biológico, o sexo asignado al nacer, es masculino, con cariotipo 46,XY y gónadas masculinas, pero género femenino. Se define como mujer y muestra un deseo de adoptar los roles y las características sexuales del sexo femenino.
- *Hombre transgénero*: en referencia a la persona con sexo biológico, o sexo asignado al nacer, femenino, con cariotipo 46,XX y gónadas femeninas, pero género masculino. Se define como varón y muestra un deseo de adoptar los roles y las características sexuales del sexo masculino.

Los primeros síntomas de la IG suelen aparecer en la primera infancia (3-4 años), pero también pueden aparecer de forma tardía, en la adolescencia o en la edad adulta (Gómez-Gil, 2019). La mayoría sufre una notable aversión hacia sus genitales y hacia sus características sexuales secundarias, que los lleva a buscar tratamiento hormonal y a veces también quirúrgico, para adecuar su cuerpo al género deseado. En España los estudios sitúan la edad media de solicitud de cambio de sexo entre los 20 y los 25 años (Gómez-Gil, Esteva de Antonio, Fernández Rodríguez, et al., 2020).

### **1.3. Inicio, diagnóstico y tratamiento de la incongruencia de género**

Desde edades tan tempranas como los 2-3 años, los niños con IG pueden manifestar una fuerte persistencia por vestirse y actuar según patrones femeninos, con interés por juguetes y actividades estereotipadamente femeninas, evitación de juegos deportivos o violentos, rechazo hacia su anatomía sexual, fantasías típicamente asociadas al otro sexo, a menudo prefieren orinar sentados y con frecuencia sufren el rechazo de los niños de su propio sexo. Las niñas con IG presentan una preferencia notable por vestir ropas masculinas e igual resistencia a vestirse y comportarse según el sexo femenino. Suelen formar grupo con amistades masculinas, mostrar interés por deportes o juegos violentos y desinterés por los juegos con muñecas o de roles domésticos. Prefieren héroes masculinos, orinar de pie, que se les llame con nombre de chico y a menudo las personas desconocidas pueden confundirlas con niños (Fernández Rodríguez, Guerra Mora, & Méndez Díaz, 2014; Gómez-Gil, 2019; Hurtado-Murillo, 2015).

En el DSM-IV-TR se había propuesto cambiar el término diagnóstico Trastorno de la Identidad de Género por el de Incongruencia de Género. Pero en 2013 el DSM-5 propone el reemplazo del término diagnóstico de Trastorno de la Identidad de Género por el de Disforia de Género, y en él se recoge la disforia de género en niños, disforia de género en adolescentes o adultos y disforia de género no especificada (Tabla 1). Establece un criterio temporal de seis meses de mantenimiento de los síntomas, e incluye como necesaria para realizar el diagnóstico, aunque no suficiente, la condición de presentar un fuerte deseo de ser del otro género, la insistencia de ser del género opuesto o de otra alternativa distinta del género asignado, pero haciendo énfasis en la incongruencia entre el género sentido y el asignado, y no en la identificación con el sexo opuesto, tal como venían haciendo las versiones anteriores. De modo que tampoco excluye a las personas con trastorno de la diferenciación sexual (Tabla 1).

La IG puede darse también en otros trastornos de la identidad de género como el travestismo no fetichista, en algunas parafilias o en estados intersexuales. Aunque los nuevos manuales y los estándares asistenciales han introducido cambios terminológicos y conceptuales, en aras del proceso de despatologización vigente, se sigue catalogando la IG como un trastorno

mental. Por otro lado, algunos autores sostienen que el término trastorno hace alusión al malestar y no a una enfermedad (Gómez-Gil, 2019; Gómez-Gil et al., 2020; Hurtado-Murillo, 2015).

Los criterios diagnósticos para la disforia de género en adolescentes y adultos según el DSM-5 comprenden la manifestación, durante al menos seis meses, de dos de los siguientes aspectos:

- Una marcada incongruencia entre el género sentido o expresado y los caracteres sexuales primarios o secundarios, o los caracteres sexuales secundarios previstos, en el caso de los adolescentes o jóvenes.
- Un fuerte deseo de desprenderse de los caracteres sexuales primarios o secundarios por causa de una marcada incongruencia con el género sentido o expresado, o de impedir el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios previstos, en el caso de los adolescentes o jóvenes.
- Un fuerte deseo de poseer los caracteres sexuales primarios y secundarios que corresponden al sexo opuesto.
- Un fuerte deseo de pertenecer al otro sexo o a un sexo alternativo diferente del asignado.
- Un fuerte deseo de ser tratado como miembro del otro sexo o de un sexo alternativo diferente del asignado.
- Una fuerte convicción de que se tienen los sentimientos y reacciones típicos del otro sexo o de un sexo alternativo diferente del asignado (American Psychiatric Association, 2013).

INTRODUCCIÓN

**Tabla 1.**

*Comparación de las tres últimas versiones del ICD y el DSM para la Incongruencia de Género.*

<i>Manual</i>	<i>Denominación</i>	<i>Criterio diagnóstico en función de la edad</i>	<i>Definición</i>	<i>Subtipos</i>	<i>Criterios de exclusión</i>
<b>DSM-III (APA, 1980)</b>	Trastorno de la identidad de género	Pautas diagnósticas específicas para cada grupo de edad.	Malestar persistente e intenso por su identidad y deseo manifiesto de ser del sexo opuesto.		Haber alcanzado la pubertad.
<b>DSM-III-TR (APA, 1987)</b>	Trastorno de la identidad de género	Pautas diagnósticas específicas para cada grupo de edad.	Malestar persistente e intenso por su identidad y deseo manifiesto de ser del sexo opuesto.		Haber alcanzado la pubertad.
<b>DSM-IV (APA, 1994)</b>	Trastorno de la identidad de género	Criterios comunes para niños, adolescentes y adultos.	Identificación persistente con el otro sexo.		Haber alcanzado la pubertad.
<b>DSM-IV-TR (APA, 2002)</b>	Trastorno de la identidad de género	Criterios comunes para niños, adolescentes y adultos (indicadores propios de la infancia).	Identificación persistente con el otro sexo (énfasis en la identidad).	Basados en la orientación sexual.	No coexiste con enfermedad intersexual.
<b>DSM-5 (APA, 2013)</b>	Disforia de género	Criterios diagnósticos propios para cada grupo de edad.	Incongruencia entre el género experimentado y el género asignado (énfasis en el género).	Se retiran los subtipos, no considerados clínicamente útiles.	No exclusión de personas con trastorno del desarrollo sexual.
<b>ICD-9 (WHO, 1978)</b>	Trastorno de la identidad psicosexual	No ofrece criterios distintos según la edad.	No define el trastorno de identidad psicosexual, solo ofrece una definición general de transexualismo.		
<b>ICD-10 (WHO, 1992)</b>	Transexualismo	Criterios diagnósticos para cada grupo de edad.	Deseo de vivir y ser aceptado como miembro del sexo opuesto. En adultos, fuerte rechazo al propio cuerpo y el deseo de modificarlo.	No depende de los trastornos de la inclinación sexual ni de las disfunciones sexuales.	Existencia de trastorno mental o anomalía cromosómica.
<b>ICD-11 (WHO, 2018)</b>	Incongruencia de género	Criterios diagnósticos para cada grupo de edad.	Incongruencia marcada y persistente entre el sexo experimentado y el sexo asignado, que conduce a un deseo de "transición".	No depende de disfunciones sexuales ni de trastornos relacionados con la sexualidad.	Trastornos Parafilicos.

Dado que en las últimas dos décadas el número de personas que se identifican como transgénero y que solicitan ayuda para una transición hacia el otro sexo ha ido en aumento en todo el mundo, se ha hecho cada vez más necesario que se cumplan los criterios clínicos específicos para su diagnóstico. La IG se diagnosticará a aquellos individuos cuyo malestar, o deterioro de la calidad de vida, asociados a la incongruencia entre el género sentido y el sexo biológico, sean del grado suficiente como para condicionar su funcionamiento social, familiar, laboral o en otras esferas importantes de la vida (Gómez-Gil, 2019; Gómez-Gil et al., 2020). Para ello el diagnóstico y el tratamiento de esta población debe realizarse en el marco de equipos multidisciplinarios, basándose en los estándares asistenciales propuestos por la Asociación Mundial de Profesionales para la Salud Transgénero (WPATH) que son los más aceptados entre los distintos equipos de expertos, y cuyos protocolos para el proceso transexualizador constan de terapia psicológica, hormonal y quirúrgica. En la fase de diagnóstico, que incluirá psicoterapia si se necesita, se establecerán criterios de elegibilidad que deberán cumplirse antes de proseguir con el tratamiento hormonal y la cirugía, y donde se hará el diagnóstico diferencial con el travestismo fetichista y no fetichista, la orientación sexual egodistónica, el trastorno de maduración sexual y otros trastornos sexuales no especificados (Gómez-Gil, 2019; Gómez-Gil et al., 2020; Hurtado-Murillo, 2015). Actualmente no existen pruebas objetivas que permitan realizar el diagnóstico de IG más allá de las entrevistas clínicas y la información aportada por los propios individuos transgénero, sus familias y sus entornos (Hurtado-Murillo, 2015).

El tratamiento con testosterona en hombres transgénero traerá consigo cambios irreversibles como el agravamiento de la voz, el crecimiento del clítoris y otros cambios reversibles como el aumento del vello facial y corporal, aumento de la masa muscular y cese de la menstruación. Para someterse a la cirugía de reasignación de sexo es necesario haber alcanzado la mayoría de edad, haber superado las fases anteriores y realizado la transición social con un diagnóstico persistente de IG. Algunos hombres transgénero que hubieran desarrollado pechos requerirán mastectomía. También se practicará histerectomía y ovariectomía, así como vaginectomía y metaiodioplastia o faloplastia si desean tener genitales masculinos.

Por otro lado, las mujeres transgénero por lo general requerirán mamoplastia con prótesis mamarias, penectomía parcial y vaginoplastia (Gómez-Gil, 2019; Hurtado-Murillo, 2015). La última versión de los estándares asistenciales contempla como subsidiarias de atención clínica a todas las personas no conformes con su género, siempre que presenten IG (Fernández Rodríguez et al., 2014).

#### **1.4. Estudio sociodemográfico de la incongruencia de género**

La mayoría de los estudios europeos y americanos sobre la IG plantean que ésta es de dos a tres veces más frecuente en varones que en mujeres (en términos biológicos), aunque no se cuenta con datos epidemiológicos fiables acerca de la IG en la infancia (Gómez-Gil, 2019). En general, los datos indican que las personas que se identifican a sí mismas como transgénero, o no conformes con el género, representan una proporción de la población general que oscila entre el 0,1% y el 0,2% entre adultos, dependiendo de los criterios de inclusión y de la ubicación geográfica (Goodman et al., 2019). Por otro lado, se debe señalar que los datos que se manejan globalmente sobre la prevalencia de población con IG pertenecen a Unidades especializadas o Unidades de identidad de género (UIG) y por lo tanto presentan un importante sesgo, pues sólo tienen en cuenta a los individuos que solicitan tratamiento de reasignación de género (Arcelus et al., 2015).

Debido a la visibilidad en aumento de la diversidad sexual y de género, ha surgido la necesidad de generar un marco legal que acoja los derechos de las personas transgénero e intersexuales, así como de proporcionar una atención sanitaria adecuada a sus particularidades. Una de las demandas más frecuentes requeridas al Sistema Sanitario Español es de recursos sanitarios y de personal especializado, no sólo para la evaluación inicial y el tratamiento hormonal, sino para el asesoramiento y acompañamiento psicológico en todas las fases del proceso, además de disminuir los tiempos de acceso a los tratamientos, particularmente a la cirugía. Además, se está realizando un cambio en el modelo de atención, derivado de las demandas de “despatologización” y descentralización de la atención que hace que se pase de Unidades de referencia en hospitales (UIG), con un equipo diverso que incluye psicólogos, psiquiatras, endocrinos y otro tipo de especialistas,

a una atención en centros de atención primaria, que provoca que los profesionales que atienden a las personas transgénero no sean especialistas (Gómez-Gil et al., 2020).

Las investigaciones más recientes indican que la presencia de IG no implica la existencia de trastornos mentales (Hurtado-Murillo, 2015). Los trastornos psiquiátricos primarios como la esquizofrenia o el trastorno bipolar existen en la población con IG con una prevalencia semejante a la de la población general (Gómez-Gil, Trilla, Salamero, Godás, & Valdés, 2009). Sin embargo, muchos experimentan problemas psicosociales y de salud mental que, probablemente, se deban a los desafíos con los que se tienen que enfrentar para ser aceptados socialmente. Estos problemas psicosociales incluyen el rechazo familiar, el rechazo de iguales de edad, el acoso, posibles abusos, discriminación, problemas legales y ausencia de apoyo económico (Hurtado-Murillo, 2015). Las personas con IG no sólo se enfrentan a una mayor predisposición a sufrir problemas de salud mental como ansiedad, depresión o tendencia al suicidio (Gómez-Gil et al., 2020), sino a un mayor riesgo de sufrir violencia y discriminación. Todo ello conduce a una tasa de mortalidad mayor que la población general (Ibrahim, Haddad, & Richa, 2016; Yang et al., 2015, 2016).

Aunque, en general, las personas con IG ven afectada su calidad de vida por dificultades en los ámbitos psicológico, familiar, social y económico (Gutiérrez., 2020), algunos estudios destacan que aquellos que han recibido terapia hormonal, apoyo familiar y tienen un trabajo, perciben una mayor calidad de vida que aquellos individuos que carecen de alguna de estas condiciones (Gómez-Gil et al., 2014). Además, los niveles de ansiedad, depresión y distrés social se reducen tras la intervención quirúrgica de reasignación de sexo (Gómez-Gil et al., 2012). Por otra parte, la salud mental de las mujeres transgénero, previamente a la cirugía de reasignación del sexo, es peor que la de la población general. Sin embargo, las mujeres transgénero que han recibido terapia hormonal, cirugía de reasignación de sexo, o ambas, presentan una puntuación en salud mental similar a la de la población femenina general (Ainsworth & Spiegel, 2010). En otros estudios se ha visto que la calidad de vida de los varones transgénero era más alta que la de las mujeres transgénero, según los cuestionarios SF36 y WHOQOL. Tenían mejores estilos de vida profesionales y sociales que las mujeres transgénero (Eftekhar Ardebili et al., 2020).

En un estudio realizado por Guzmán-Parra y colaboradores en 2016, sobre una población transgénero española de 197 individuos, se observó que la población de hombres transgénero encuentra una dificultad menor de integración social y consiguen mayor nivel educacional que la población de mujeres transgénero, que suele sufrir más situaciones de discriminación, exclusión social, explotación sexual y están relacionadas con el consumo de sustancias estupefacientes (Guzmán-Parra et al., 2016).

En cuanto al proceso transexualizador, las cuatro primeras versiones de los estándares asistenciales de la Asociación Mundial para los Profesionales de la Salud Transgénero (WPATH) excluían el tratamiento hormonal y quirúrgico en la adolescencia y a menores de edad. El retraso del tratamiento hormonal hasta la mayoría de edad trajo consigo que muchos adolescentes con IG persistente presentaran comorbilidad y comportamientos de riesgo. Cada vez con mayor frecuencia, preadolescentes y adolescentes que se identifican, de forma transitoria o persistente, con un sexo diferente al suyo, buscan servicios médicos para afirmarse en el género que desean mediante la adquisición de las características físicas que se adecuen a sus preferencias. El inicio de la pubertad en jóvenes transgénero suele ir acompañado de una mayor disforia, y esta angustia, clínicamente significativa, cede al ir adquiriendo la transformación transgénero de reasignación de sexo (Hurtado-Murillo, 2015).

A partir de la quinta versión de la WPATH se establece el tratamiento hormonal en casos excepcionales a menores de 18 años, después de un mínimo de seis meses de intervención por un profesional de salud mental y con la participación de la familia. En la sexta versión, los adolescentes son elegibles para demorar la pubertad a través de tratamiento hormonal, con la recomendación de que lo hagan una vez alcanzado el estadio II de Tanner, así como son elegibles para recibir tratamiento hormonal cruzado (GAHT), con el consentimiento de los padres, aquellos menores que hayan alcanzado los 16 años. La supresión puberal ha proporcionado más tiempo para evaluar la identidad de género e impide el desarrollo de caracteres sexuales no deseados, haciendo menos invasivas las cirugías, aunque por otro lado, produce una reducción de la velocidad de crecimiento y desaceleración de la maduración de la masa ósea. Los efectos de la supresión hormonal sobre el desarrollo del

cerebro durante la pubertad aún se encuentran en estudio (Fernández Rodríguez et al., 2014; Hurtado-Murillo, 2015).

En la séptima versión de la WPATH se admite aplicar tratamiento hormonal en edades tempranas a personas con IG. La frenación puberal con agonistas GnRH, que es reversible, requiere: manifestación de la IG desde edades tempranas y aumento de la misma durante las primeras etapas de la pubertad, ausencia de problemas psicosociales que interfieran con el diagnóstico o tratamiento, comprensión de las consecuencias del tratamiento de reasignación, apoyo familiar, ser mayor de 12 años, presentar esteroides en sangre y haber alcanzado los estadios II o III de Tanner. Durante este proceso el adolescente tendrá un seguimiento por parte de profesionales de la psicología que evaluarán sus sentimientos y su decisión respecto a la transición hacia el sexo deseado. El tratamiento con estrógenos y antiandrógenos en mujeres transgénero les provocará cambios irreversibles como el crecimiento del pecho, disminución de la masa testicular, del tamaño del pene y la fertilidad, y otros reversibles como redistribución de la grasa corporal, disminución del pelo facial y corporal (Hurtado-Murillo, 2015).

Debido a las demandas de despatologización, desmedicalización y descentralizaciones vigentes, y a la asunción de que la intervención biomédica confronta con el concepto de autodeterminación identitaria, en algunas comunidades españolas se ha sustituido este modelo tradicional basado en equipos multidisciplinares especializados de referencia, por nuevos modelos de atención en proximidad y sin la participación de profesionales de psicología o salud mental. A pesar de que el objetivo de estos cambios ha sido lograr mejoras en el sistema, contribuyendo a que otros profesionales de la red sanitaria tomen conciencia de estos temas y adquieran conocimiento, con los nuevos modelos no se han implementado nuevas UIGs, sino puntos de atención aislada de prescripción endocrinológica. En algunos casos, sin posibilidad de seguimiento. Por las dificultades que conlleva instruir a todo el personal sanitario sobre esta temática compleja, la formación aportada a los profesionales de los niveles asistenciales básicos ha sido puntual y escasa, aumentando el riesgo de mala praxis por parte de profesionales con escasa experiencia, tanto debido a tratamientos precipitados como por resistencia excesiva a iniciar dichos tratamientos por temor a equivocarse. De modo que se han constatado conflictos

identitarios de inicio casi súbito, sobre todo en jóvenes, que obligan a una observación y atención supervisadas ya que, hasta no ver su evolución, podrían no requerir un abordaje intervencionista. Estas situaciones complejas incrementan el riesgo de una escasa valoración de la indicación terapéutica, medicalizaciones poco reflexivas o apresuradas, inadecuadas expectativas, procesos de salud mental no diagnosticados con confusión de identidad o inestabilidad temporal de la misma, malos resultados quirúrgicos, frustración social y otros (Gómez-Gil et al., 2020).

### **1.5. Factores psicosociales que influyen en la calidad de vida de las personas transexuales**

La transexualidad trasciende desde diferentes culturas. Existen documentos que sugieren la existencia de transexuales a lo largo de toda la historia de la humanidad y, cada una de las sociedades reacciona de manera diferente ante ella. La transexualidad se ha idolatrado en algunas sociedades y en otras se ha marginado y rechazado.

Desde la antigüedad hasta nuestros días, existe el registro de personas trans en diferentes culturas y sociedades occidentales y orientales. En principio el término transexual define al individuo como “persona que se siente del sexo contrario, y adopta sus atuendos y comportamientos” o bien “persona que mediante tratamiento hormonal e intervención quirúrgica adquiere los caracteres sexuales del sexo opuesto (RAE, 2022). Según Baker and Beagan, (2014) algunas personas transgénero sufren rechazo, discriminación, estigmatización y ausencia de apoyo familiar, provocando problemas psicológicos relacionados con la depresión, lo cual genera una disminución de la calidad de vida y un importante deterioro de su salud, tanto mental como física.

Según Lo & Horton (2016) en el mundo existen aproximadamente 25 millones de individuos con IG, y en muchos casos, se les discrimina por esta condición. La poca información acerca de la IG en la sociedad, crea todo tipo de problemas que afecta directamente la vida de las personas trans. Es por esta razón que el 60% de las personas trans padecen depresión, desprecio por parte de los demás y falta de aceptación de su entorno familiar, conllevando la adopción de comportamientos de riesgo como la prostitución y aumentando la probabilidad de contraer VIH.

Los individuos transgénero se sienten incómodos si se les considera como miembros de su propio sexo o si su función en la sociedad no es la correspondiente al otro sexo. La adopción del comportamiento, la ropa y los movimientos del otro sexo se efectúa en diferentes grados. En privado, estos individuos pueden pasar mucho tiempo vestidos como el otro sexo y esforzándose para conseguir la apariencia adecuada. Muchos intentan pasar en público por personas del sexo opuesto, mediante el uso de un tratamiento hormonal cruzado, no siempre supervisado por un profesional sanitario. Gran parte de esta población pasa inadvertida como personas del otro sexo (Guzmán-Parra et al., 2016; Hurtado-Murillo, 2015).

En este orden de ideas, la calidad de vida de las personas trans ha mejorado de manera significativa en los últimos años dado que, en muchos casos, tienen más fácil acceso a procedimientos médicos, acompañamiento psicológico y psiquiátrico, a tratamientos hormonales y a intervenciones quirúrgicas. Además, existe un cambio en las dinámicas sociales al incrementarse su aceptación, lo que representa menos discriminación y una mejora en las relaciones sociales de estos individuos (Gómez-Gil et al, 2020).

Aun así, con o sin reasignación de sexo, las personas transgénero siguen siendo discriminadas y estigmatizadas, además, están expuestos a situaciones estresantes que se enmarcan en el concepto “estrés de las minorías” Meyer & Frost (2012). Teniendo en cuenta estos factores, se puede determinar que a las personas transgénero se les dificulta tener una vida de calidad, tanto en el ámbito social, como en el psicológico y mental, debido, en gran parte, a los señalamientos y segregación que viven constantemente en su vida diaria.

De igual manera, es importante reconocer el aislamiento social como una de las principales características que afecta el nivel de autoestima; esto se debe a las consecuencias adversas de un autoconcepto poco reforzado socialmente ya que se crean dificultades de adaptación social como ocurre con los casos de interrupción de la escolarización o de la adaptación laboral, llevando en muchos casos a la práctica de trabajos marginales. Por otro lado, la preocupación por el aspecto físico y los cambios para adaptarse al otro sexo, se convierte en una actividad absorbente que ocupa gran parte de su tiempo (Bergero et al., 2004)

La calidad de vida se define como un estado de satisfacción general, derivado de la realización de las potencialidades de la persona, el cual se relaciona con aspectos subjetivos y aspectos objetivos (Ardila, 2003). En el caso de las personas trans, la calidad de vida enfrenta desafíos profundos en áreas como la salud y la asistencia sanitaria, el acceso a ésta, la salud física y mental, el empleo, la vivienda y demás aspectos.

A su vez, el área social incluye un foco principal en todos los seres humanos, este foco principal es su familia, ya que es la primera comunidad en la que las personas se encuentran inmersas, y por esta razón es tan importante abordar de manera amplia y precisa cómo influye la familia en las personas transgénero. Los estudios de la relación familia-transexualidad son recientes y estos surgen a partir de la necesidad de encontrar propuestas que contribuyan al crecimiento humano de las personas que hasta hace muy poco tiempo han sido etiquetadas con el diagnóstico de trastorno de identidad de género, ya que la experiencia de acompañar a sus hijos en la construcción de una identidad transgénero, resulta dolorosa e incluye un duelo de sus proyectos de pareja y visualización de lo que sería la familia de su hijo. Por esta razón muchos padres abandonan la tarea de la paternidad por sentirse vinculados a lo inesperado o no deseado (Paulino, Pastor-Valero, & Machin, 2021).

El aspecto psicológico de estas personas es muy importante para el desarrollo y aceptación social, por lo cual deben contar con un proceso de acompañamiento que les permita disminuir los efectos negativos que genera el ser transexual, como la discriminación y el rechazo por parte de la sociedad. Para ello el apoyo familiar es de suma importancia ya que les ayuda a una reducción de pensamientos, sentimientos y culpas relacionadas con su poca aceptación, y de esta manera se reduce considerablemente todo tipo de problemas de salud emocional, mental y físico (Gümüşsoy et al., 2021).

### **1.6. Diferenciación sexual de los órganos reproductivos**

En la mayoría de las especies del reino animal el sexo está determinado según criterios reproductivos. Desde una perspectiva biológica, el sexo se define por el tamaño de los gametos dentro de una especie: los animales con gametos grandes (es decir, huevos) son

hembras y los que tienen gametos pequeños (es decir, espermatozoides) son machos (Smith, 1978).

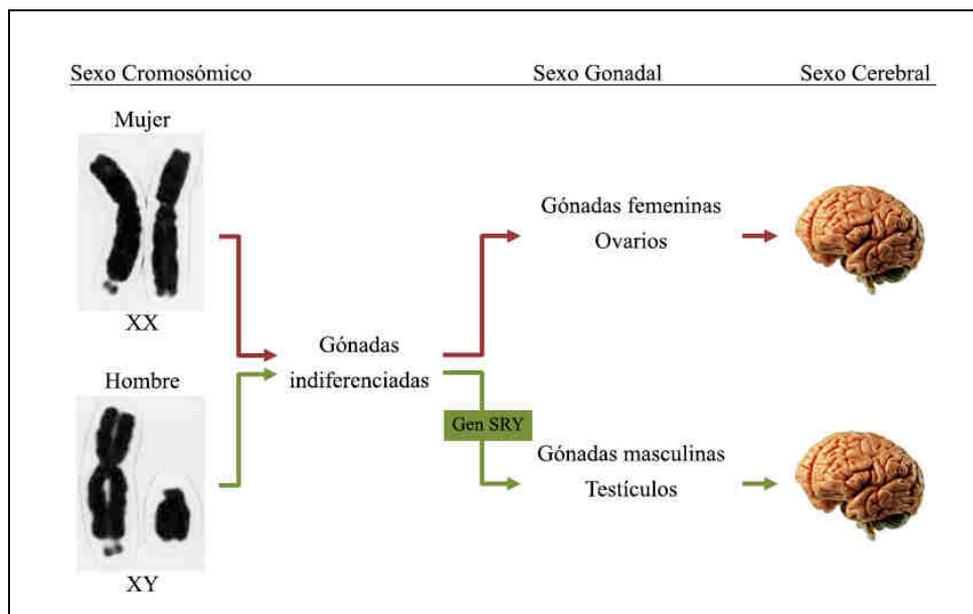
En los mamíferos, los óvulos se producen en los ovarios y los espermatozoides en los testículos, por lo que el tipo de gónadas se usa a menudo como una forma abreviada de definir el sexo. Las gónadas intersexuales (parte testículo-parte ovario) son muy raras, por lo que el sexo biológico en los mamíferos es una variable en gran medida dicotómica. En aquellas especies en las que el sexo está determinado genéticamente, son los cromosomas sexuales los que establecen las diferencias entre machos y hembras: XY vs XX, respectivamente para los mamíferos, y ZW vs ZZ, respectivamente para las aves (McCarthy, 2016).

En mamíferos, el sexo cromosómico implica la ausencia o presencia de genes determinantes del sexo como el gen *Sry* localizado en el cromosoma Y (Roselli, 2018). Los genes sexuales, localizados en los cromosomas sexuales, son también los que constituyen el origen de las diferencias entre el cigoto masculino y el femenino (McCarthy & Arnold, 2011).

Por otro lado, el cerebro, al igual que las gónadas, es también un órgano sexualmente dimórfico, de tal forma que los genes localizados en los cromosomas sexuales determinarán el género cerebral (Arnold, 2004), bien actuando sobre las gónadas que a su vez producirán secreciones gonadales diferentes según el sexo y que tendrán efectos específicos sobre el cerebro. O bien, mediante la actuación por sí misma de los cromosomas sexuales X e Y en las células cerebrales (McCarthy, 2020).

En 1990 el estudio de una región de 35 pares de bases en el cromosoma Y de los mamíferos, implicada en la determinación del sexo masculino, resultó en la identificación del gen *Sry*, que codifica una transcripción específica a través del factor determinante del testículo TDF, y que es el responsable de una expresión génica en cascada, necesaria para que la gónada embrionaria, inicialmente bipotencial, se desarrolle en testículos (Sinclair et al., 1990). Hasta ese momento, el embrión tiene dos sistemas de conductos urogenitales: Wolffian y Müllerian, con capacidad de desarrollarse en tractos reproductivos tubulares

masculinos o femeninos. Una vez que los testículos se desarrollan, comienzan a producir testosterona y la hormona antimülleriana AMH causará la degeneración de los conductos müllerianos y permitirá que el conducto de Wolffian se desarrolle (Roselli, 2018). La exposición a la testosterona durante este período crítico de sensibilidad restringida, induce la formación del epidídimo, los conductos deferentes y los genitales masculinos (Schwarz & McCarthy, 2008a).



**Figura 1. Diferenciación sexual en humanos.**

*Esquema de los tres sexos presentes en el ser humano: el sexo cromosómico, que se establece en el momento de la fecundación; el sexo gonadal, resultado directo del complemento genético, y el sexo cerebral o género, resultado de las hormonas, de genes y receptores hormonales. Fuente: adaptado de Fernández & Pásaro (2017).*

Por otro lado, los trabajos de Phoenix en 2009, en los que se trató cobayas gestantes con andrógenos, y en los que se obtuvieron hembras con genitales y comportamiento sexual masculino, evidenciaron que la estimulación del sistema de conductos de Wolffian, a través del tratamiento de las hembras con testosterona, provocaba la supresión o inhibición del conducto de Müllerian e inhibía la capacidad de expresar el comportamiento femenino. Estructuralmente, vestigios de los tractos genitales del sexo opuesto persisten en el período fetal durante el período crítico, y son especialmente sensibles a las hormonas gonadales que potencian su desarrollo (Phoenix, 2009).

La ausencia del gen *Sry* da lugar a que la gónada indiferenciada se convierta en ovario, que se desarrolla bajo la influencia de un conjunto de genes influenciados por la expresión del gen *Dax1* en el cromosoma X, que actúa antagónicamente al *Sry*. El tracto reproductivo femenino del embrión se desarrolla en ausencia de andrógenos y madura después bajo la influencia de las hormonas producidas por el ovario (Roselli, 2018).

A pesar de que los efectos directos de los cromosomas sexuales sobre las diferencias sexuales aún no han sido bien estudiados, en parte por el predominio de la teoría hormonal de la diferenciación sexual, y en parte porque la manipulación de los cromosomas sexuales en los modelos animales también provoca cambios hormonales significativos, se puede asegurar que el complemento cromosómico (XX vs XY) es una de las variables principales que determinan la diferenciación sexual, aparte de la acción de las hormonas (McCarthy & Arnold, 2011; McCarthy, Herold, & Stockman, 2018).

Uno de los modelos que ha permitido el estudio de los efectos directos de los cromosomas sexuales en el dimorfismo sexual ha sido la creación de ratones transgénicos, a los que se les ha movido el gen *Sry* a un autosoma (Arnold, 2009; De Vries et al., 2002), originando un modelo de ratón transgénico de cuatro genotipos centrales (FCG) de "inversión sexual" que desacopla el complemento cromosómico del sexo gonadal. Así, independizándolo del sexo cromosómico, el gen *Sry* ha dado lugar a machos gonadales XXm o XYm, o hembras gonadales XXf o XYf, con ovarios o testículos, independientemente del cariotipo. Estos y otros experimentos han permitido determinar la influencia directa del complemento cromosómico de algunas diferencias gonadales. Se trata de un modelo animal óptimo para discernir las diferencias debidas a los cromosomas sexuales (XX vs XY) de las diferencias debidas a las hormonas (estrógenos vs andrógenos).

Recientemente, Ocañas y colaboradores (2021) para desenredar las contribuciones relativas al sexo genético (XX vs XY) y el sexo gonadal (ovarios vs testículos) en el hipocampo de ratón, usaron el modelo FCG. Los análisis transcriptómicos y epigenómicos de ARN y ADN del hipocampo de ratones FCG de ~ 12 meses de edad, revelaron efectos reguladores diferenciales del contenido cromosómico *per se*. La expresión génica y los patrones de metilación del ADN en el cromosoma X fueron impulsados principalmente por el

contenido de los cromosomas sexuales, no por el sexo gonadal. Estos datos demuestran la importancia de los cromosomas sexuales por sí mismos, independientemente del estado hormonal, en la regulación de los efectos sexuales del hipocampo. Estos hallazgos son consistentes con la hipótesis de que los cromosomas sexuales tienen efectos independientes del sexo gonadal sobre el epigenoma y el transcriptoma del hipocampo. El uso del modelo de ratón FCG permitió esta demostración por primera vez en el cerebro de ratón (Ocañas et al., 2021).

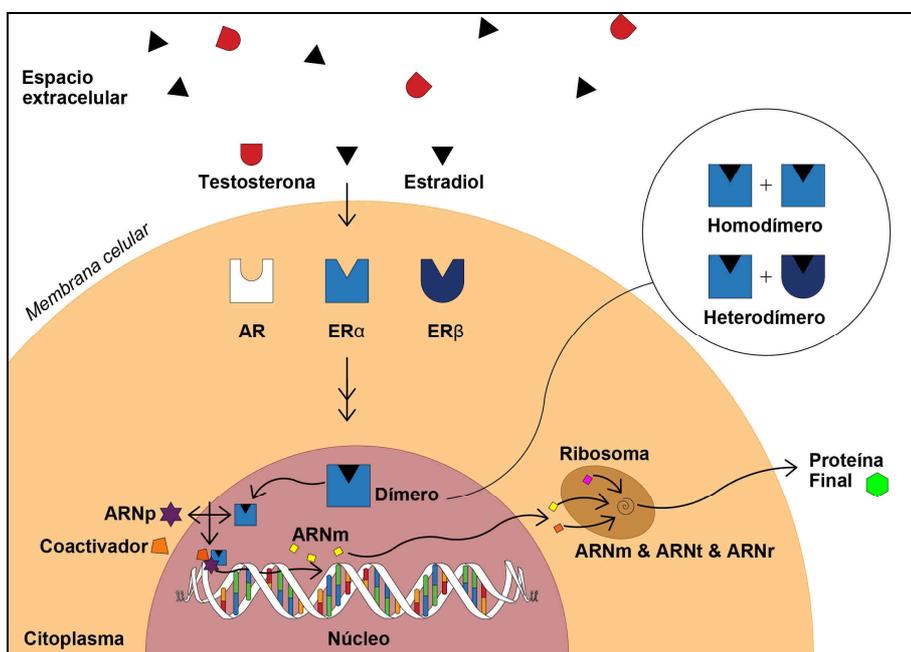
### **1.7. Diferenciación sexual del cerebro**

Una vez terminada la diferenciación de los órganos sexuales, y ya establecido el sexo gonadal, se produce la diferenciación sexual del cerebro, hacia la segunda mitad del embarazo. Es entonces cuando los testículos comienzan a segregar testosterona, mientras que el ovario permanece quiescente. La testosterona, que también es esencial para completar la diferenciación de los órganos sexuales masculinos, penetrará en el cerebro, y actuará a través de los receptores de andrógenos AR, o bien después de su aromatización (Forger, Strahan, & Castillo-Ruiz, 2016; McCarthy, Vries, & Forger, 2017; Morris, Jordan, & Breedlove, 2004; Wright et al., 2010) activando los receptores de estrógenos ER $\alpha$  y ER $\beta$ , respectivamente involucrados en la masculinización y la desfeminización del sistema nervioso (Kudwa et al., 2006).

La exposición a la testosterona, a través de la activación del receptor de andrógenos AR durante este período crítico, es un requisito indispensable para la masculinización del cerebro, garantizando que el sexo gonadal coincida con el cerebral. La organización del cerebro por la acción de las hormonas durante este período, y los posteriores efectos activadores sobre el comportamiento sexual en la vida adulta, constituyen la base de la hipótesis organizacional y activacional del cerebro y el comportamiento (Schwarz & McCarthy, 2008a). La testosterona, convertida en estradiol por la acción de la aromatasa, podrá causar masculinización directamente por la activación del receptor AR, o indirectamente por la activación de los receptores ER $\alpha$  y ER $\beta$  (Naftolin et al., 1975).

El estradiol fomentará el desarrollo de neurocircuitos masculinos y suprimirá el desarrollo de neurocircuitos femeninos (Sánchez & Vilain, 2010). Una vez los estrógenos y los

andrógenos han entrado en la neurona, y se han acoplado a sus receptores específicos, se producirá el dímero resultante ( $\alpha\alpha$ ,  $\alpha\beta$ , o  $\beta\beta$ ) que viajará al núcleo, donde se unirá a secuencias específicas de ADN situadas en las regiones promotoras de genes concretos, activando o inhibiendo su transcripción e influyendo en la actividad transcripcional de otros genes en forma de cascada (Li et al., 2001; Safe, 2001) (Figura 2). La dimerización del receptor provocará cambios conformacionales en el dominio de unión del ligando (LBD) que permitirá el reclutamiento de moléculas coactivadoras, y otras proteínas correguladoras, esenciales para la regulación transcripcional de los genes diana.



**Figura 2. Esquema de actuación de los receptores de estrógenos ER $\alpha$  y ER $\beta$ .**

*Los receptores ER $\alpha$ - $\beta$  y AR son proteínas que se unen a sus ligandos (estrógenos y andrógenos respectivamente). Estos receptores están presentes en la mayoría de nuestras células, y su presencia permite que las células respondan a las hormonas esteroideas. Generalmente estos receptores flotan en el citoplasma de la célula en forma inactiva pero cuando se unen a su ligando adquieren una forma activa (dimerización) que les permite entrar en el núcleo de la célula y unirse a regiones específicas del ADN ubicadas cerca de las regiones promotoras de numerosos genes diana, modulando la transcripción de miles de genes relacionados con el desarrollo sexual. Fuente: Modificado a partir Fernández y Pásaro, (2017).*

Sin embargo, el fenotipo femenino no resulta exclusivamente de la ausencia del gen *Sry*, sino también de la exposición del feto femenino a unos niveles necesariamente bajos de hormonas esteroideas durante un período prenatal crítico en el que los ovarios aun no producen estrógenos, además de la acción de un compuesto llamado  $\alpha$  feto proteína (AFP),

que presenta una gran afinidad por los estrógenos maternos e impedirá la entrada de éstos en las células (Bakker et al., 2006).

El feto en desarrollo presenta niveles altos de AFP, que se une de manera potente al estradiol secuestrándolo en la circulación fetal. Este hallazgo coincidió con el de que los núcleos cerebrales sexualmente dimórficos expresan altos niveles de la enzima aromatasas P450, que convierte la testosterona en estradiol. La testosterona secretada por los testículos, a diferencia del estradiol, no se une a la AFP, sino que entra libremente en el cerebro, donde se convierte en estradiol en núcleos específicos, y por eso se ha encontrado más del doble de estradiol en las regiones del cerebro vinculadas a la diferenciación sexual en los machos que en las hembras, precisamente en aquellas zonas del cerebro donde se concentran altos niveles de ER, que inician la cascada de cambios que inducen a la masculinización (Schwarz & McCarthy, 2008a).

Antes del nacimiento, la concentración de AFP disminuirá y el feto quedará más expuesto a los estrógenos de la placenta, trayendo consigo la inhibición del eje gonadal-hipotálamo-hipofisario. Después del nacimiento, esta inhibición desaparecerá, induciendo un aumento de la testosterona en los niños y un aumento de los estrógenos en las niñas, que también se cree que modulan el desarrollo de circuitos cerebrales de forma permanente (McCarthy, 2008).

Entre el primer mes y el tercero, después del nacimiento, los niveles de testosterona vuelven a ser más altos en los hombres que en las mujeres. Se considera que estos dos picos de testosterona, unidos a la actividad de los receptores esteroideos, programan el cerebro masculino tanto fenotípicamente como neurológicamente, influyendo en la conectividad neuronal y en la especificación neuroquímica mucho después de la exposición inicial a las hormonas (Roselli, 2018).

Dado que la diferenciación sexual de los genitales y la diferenciación sexual del cerebro tienen lugar en momentos distintos del desarrollo intrauterino, ambos pueden tomar direcciones distintas, en cuyo caso el grado de masculinización de los genitales podría no reflejar el grado de masculinización del cerebro, dando lugar a individuos con cariotipo XY y genitales masculinos, pero con cerebros feminizados, o a individuos con cariotipo

XX y genitales femeninos, pero con cerebros masculinizados (Swaab & Garcia-Falgueras, 2009). Si un embrión femenino se expone a altos niveles de testosterona o de estradiol durante un período prenatal crítico, sus genitales y su cerebro se masculinizarán independientemente de cuál sea su cariotipo (Phoenix, 2009). Algunos de estos procesos en el desarrollo fetal tendrán efectos organizadores y permanentes, que se activarán más tarde, en la pubertad (Roselli, 2018). Después, durante los dos primeros años de vida, las hormonas propician conexiones entre redes y estructuras del cerebro. Estas conexiones se reforzarán, y otras nuevas surgirán, con los cambios hormonales de la pubertad (Schwarz & McCarthy, 2008a).

### **1.8. Dimorfismo cerebral**

La exposición perinatal transitoria a la testosterona o su metabolito, el estradiol, causa muchas de las diferencias sexuales mejor estudiadas en los cerebros de los roedores, y la evidencia reciente sugiere que los mecanismos epigenéticos subyacen a muchos de estos efectos hormonales (Cortes, Cisternas, & Forger, 2019; Forger, 2016; 2018; McCarthy & Nugent, 2015; McCarthy et al., 2009).

Por ejemplo, las diferencias de sexo en el área preóptica del hipotálamo se alteran al inyectar directamente en el cerebro de ratas o ratones recién nacidos, durante el período crítico para la diferenciación sexual, un inhibidor de la metiltransferasa (Mosley et al., 2017; Nugent et al., 2015). De manera similar, una interrupción neonatal de la acetilación de histonas inhibe el desarrollo de diferencias sexuales en el comportamiento copulador de ratas macho (Matsuda et al., 2011) y modifica el tamaño del núcleo del lecho de la estría terminal en ratones, una región del cerebro vinculada al comportamiento sexual masculino (Murray et al., 2009). Estos hallazgos sugieren que la diferenciación sexual del cerebro requiere cambios orquestados en la metilación del ADN y la acetilación de histonas (Cortes et al., 2019).

En otro enfoque, según los estudios del genoma completo, tanto los patrones de metilación de histonas como los de metilación del ADN difieren según el sexo en el área preóptica del ratón (Ghahramani et al., 2014; Shen et al., 2015). El tratamiento con testosterona de

ratones hembra recién nacidos masculiniza parcialmente el patrón de metilación del ADN presente en la edad adulta (Ghahramani et al., 2014), y las diferencias sexuales en la metilación de genes específicos también se revierten con el tratamiento neonatal con esteroides gonadales en ratas (Schwarz et al., 2010). Por lo tanto, las hormonas esteroideas alteran la expresión o actividad de enzimas que colocan marcas epigenéticas (Bramble et al., 2016; Kolodkin & Auger, 2011; Nugent et al., 2015) pudiendo ser el mecanismo por el cual las hormonas afectan al epigenoma (Cortes et al., 2019).

Otro estudio en roedores sugiere el papel del sexo cromosómico y hormonal en la epigenética cerebral. En las ratas, las madres lamen con mayor frecuencia a sus neonatos sólo si son machos, pero no a las hembras (Moore & Morelli, 1979), habiéndose demostrado que la cantidad de atención maternal que recibe una cría de rata afecta al grado de metilación del gen del receptor de estrógenos alfa *ESRI* en el cerebro (Champagne et al., 2006; Kurian et al., 2010). Edelman y Auger, (2011) asignaron al azar a algunas hembras recién nacidas para que recibieran la atención adicional que normalmente se les da a los machos, al simular el lamido ano-genital con un pincel. Esto, de hecho, masculinizó el patrón de metilación de su ADN y modificó la expresión del gen *ESRI* en la amígdala cerebral de las hembras así tratadas (Edelman & Auger, 2011). En este caso, el tratamiento diferencial por parte de la madre se basa en el olor de la orina del recién nacido (Moore, 1985), que a su vez se debe a las diferencias en la testosterona circulante, y por lo tanto al sexo genético y hormonal.

Por otra parte, algunas diferencias sexuales en el cerebro son independientes de las hormonas gonadales y, en cambio, se deben al complemento de los cromosomas sexuales (Arnold, 2012; Arnold et al., 2003; Cisternas et al., 2018). De manera similar, los cromosomas sexuales influyen en la expresión de enzimas epigenéticas y causan diferencias sexuales en el epigenoma de roedores y moscas (Arnold, 2012; Jiang et al., 2010; Lemos et al., 2010; Xu et al., 2008). Por lo tanto, según los estudios en animales, los dos determinantes principales del sexo biológico (cromosomas sexuales y esteroides gonadales) contribuyen a las diferencias sexuales en el epigenoma cerebral (Cortes et al., 2019).

La información sobre las diferencias sexuales en el epigenoma del cerebro humano es muy limitada. Durante algunas etapas del desarrollo fetal humano, los cerebros de hombres y mujeres difieren tanto en la metilación del ADN como en la hidroximetilación (Spiers et al., 2015, 2017). Debido a que estas diferencias se ven antes del nacimiento, y presumiblemente antes de las influencias sociales, se trata de diferencias debidas al sexo. También existen diferencias en las marcas epigenéticas en la corteza prefrontal de hombres y mujeres adultos (Gross et al., 2015; Lister et al., 2013; Xu et al., 2014). Sin embargo, los adultos han tenido muchas experiencias de género, por lo que no está claro si estas diferencias se deben al sexo o al género.

Aunque las diferencias entre hombres y mujeres engloban un amplio espectro de procesos y características, la mayor de todas radica en el género. Muchos estudios sobre los mecanismos biológicos tras las diferencias sexuales en el comportamiento, la psicopatología y el rendimiento cognitivo en tareas concretas, avalan la idea de que estas se basan en las diferencias sexuales en la morfología, la conectividad y las funciones del cerebro (Kreukels & Guillamon, 2016).

Existen unas diferencias innatas de distribución y conectividad de los circuitos neuronales entre hombres y mujeres basadas en la dotación genética recibida, como la mayor asimetría funcional de los hemisferios del cerebro femenino respecto al masculino (los hombres tienen una mayor conectividad intra-hemisférica mientras que en las mujeres predomina la conectividad inter-hemisférica), incluso antes de que las hormonas comiencen a actuar y potencien la funcionalidad de las áreas donde más se concentran aquellos receptores con los que interactúan (Swaab & Hofman, 1984). El volumen total del cerebro y la proporción de materia blanca es mayor en los hombres que en las mujeres quienes, por otra parte, presentan mayor proporción de materia gris que los hombres (Nguyen et al., 2019).

Entre las estructuras sexualmente dimórficas del cerebro humano se hallan el hipotálamo y la amígdala, que son más grandes en los hombres que en las mujeres, con un predominio de receptores de andrógenos sobre los de estrógenos en la amígdala. Por otro lado, el núcleo caudado y el hipocampo, son más grandes en las mujeres que en los hombres, con

un predominio de receptores de estrógenos sobre los de andrógenos en el hipocampo (Kreukels & Guillamon, 2016).

### **1.9. Dimorfismo sexual del cerebro e incongruencia de género**

La hipótesis de la diferenciación sexual del cerebro también se ha estudiado comprobando en qué medida el cerebro de las personas con IG concuerda con su sexo natal o con su género (Kreukels & Guillamon, 2016). Aunque aún no está claro el verdadero papel que juega el dimorfismo cerebral en el desarrollo de la IG, parece ser que éste es el resultado de una combinación de los efectos de las hormonas en el cerebro, de la expresión de determinados genes, y de los factores epigenéticos. Por la complejidad de dicha combinación, se hace especialmente difícil determinar el grado de implicación que tienen sus elementos por separado. Sin embargo, las diferencias sexuales, estructurales y funcionales de algunas áreas del cerebro, en función de la identidad de género, apuntan a una compleja red neuronal implicada en distintos aspectos del comportamiento sexual (Swaab & Garcia-Falgueras, 2009).

Una parte de los estudios *in vivo* sugiere que, en general, la morfología cerebral y el rendimiento cognitivo de la población transgénero muestran una notable congruencia con los de su sexo natal. Sin embargo, la mayor parte de la literatura indica que la estructura y el funcionamiento del cerebro de la población transgénero concuerda más con su género que con su sexo natal, y que la tendencia hacia la feminización cerebral en las mujeres transgénero, y hacia la masculinización en el caso de los hombres transgénero es una cualidad innata, independiente del tratamiento hormonal (Nguyen et al., 2019).

Hahn y colaboradores (2015) en un estudio sobre las redes de conectividad cerebral en personas transgénero, encontraron una relación de conectividad intra-hemisférica disminuida para las mujeres transgénero en las regiones subcorticales y límbicas en comparación con la población cisgénero. En el grupo de hombres transgénero encontraron una disminución de la conectividad intra-hemisférica entre las áreas subcortical/límbicas derechas, y en los lóbulos frontal y temporal derechos en comparación con la población cisgénero y con las mujeres transgénero. Las diferencias entre los grupos transgénero y la dirección de la conectividad cerebral sugieren que la IG se caracteriza por firmas

cerebrales específicas pero distintas para ambos grupos (Hahn et al., 2015; Kreukels & Guillamon, 2016).

La investigación en el campo del tratamiento hormonal para la afirmación de género (GAHT) ha aportado mucha información sobre el origen y el desarrollo de las diferencias cerebrales asociadas al sexo, a través de la manipulación de los esteroides gonadales (Nguyen et al., 2019). Ahora no solo se sabe que las hormonas sexuales influyen en la morfología y la organización funcional del cerebro durante el desarrollo prenatal y peripuberal, sino que los estudios sobre las terapias de afirmación de género han demostrado que dichas hormonas pueden afectar al cerebro aun cuando éste está completamente desarrollado, y que lo hacen de un modo no uniforme. De modo que algunas estructuras tienden a modificarse a favor del género elegido, mientras que otras no lo hacen o se sitúan en una posición intermedia. Se ha encontrado que, en mujeres transgénero sometidas a GAHT, el volumen de la amígdala, el cuerpo caloso y el núcleo putamen no difieren del de los hombres cisgénero, correspondiéndose con su sexo biológico o sexo natal, mientras que la corteza insular derecha y la unión temporal-parietal derecha era más grande que en los dos grupos cisgénero. Sin embargo, en los hombres transgénero, el tercer ventrículo y el núcleo accumbens son diferentes que en las mujeres cisgénero coincidiendo con el género elegido y no con el sexo natal. Los hombres cisgénero, al igual que las mujeres transgénero sometidas a GAHT, presentan mayor volumen global de materia gris que las mujeres cisgénero en el córtex frontal pósterior superior, mientras que tanto mujeres como hombres transgénero presentan menor volumen de materia gris en la ínsula que las mujeres cisgénero (Nguyen et al., 2019).

En otro estudio se ha encontrado que, después de cuatro semanas de GAHT los cambios en los niveles de testosterona en hombres transgénero correlacionaban inversamente con el volumen de materia gris en el área de Broca y el área de Wernicke (Kranz et al., 2017).

A pesar de las diferencias en los resultados, en general, estos estudios indican que las mujeres transgénero presentan patrones desmasculinizados en cuanto al espesor cortical de la microestructura de la sustancia blanca, y que los hombres transgénero presenta patrones desfeminizados, y que tanto mujeres como hombres transgénero presentan una

diferenciación sexual característica y compleja, en forma de mosaico, con patrones femeninos y masculinos y no una simple contraposición del fenotipo cerebral en relación a su sexo biológico (Guillamon et al., 2016).

### **1.10. Etiología de la incongruencia de género**

En cuanto a su etiología, la IG se considera multifactorial y compleja. Algunas hipótesis sugieren que el aprendizaje y la comunicación establecen las pautas para el desarrollo de la identidad de género y, por lo tanto, son el proceso de interacción entre los adultos y los niños, y el aprendizaje social, los que permiten la adquisición de los comportamientos relacionados con la masculinidad y la femineidad, derivándola psicológicamente a través de patrones sociales que el niño interioriza según la apariencia de sus genitales externos (Katz & Boswell, 1986; Sasaki et al., 2016).

Otras líneas de investigación sugieren que la IG está fuertemente ligada al desarrollo del cerebro y que los factores biológicos (hormonales, genéticos y epigenéticos) juegan en ella un papel fundamental (Joel et al., 2020). Los autores plantean que la IG está relacionada con la discordancia entre la diferenciación sexual cerebral y la gonadal, basándose en evidencias que demuestran la existencia de una morfología cerebral característica, un fenotipo cerebral mosaico, a medio camino entre lo femenino y lo masculino, discordante con el sexo biológico, y que parece derivarse de un funcionamiento atípico de las hormonas en regiones específicas del cerebro, cuyos niveles y funcionamiento se hallan genéticamente codificados (Bao & Swaab, 2010; Guillamon et al., 2016; Hines, 2010; Kranz et al., 2017; Kreukels & Guillamon, 2016; McCarthy, 2016; Smith et al., 2015).

Por otro lado, los estudios de asociación familiar y de gemelos han mostrado una alta concordancia para la IG tanto en familiares de primer grado, como en gemelos homocigóticos y dicigóticos, lo que sugiere una base genética que se estima que es la responsable del 62 % de la varianza en su morbilidad (Gómez-Gil et al., 2010, 2011). Los gemelos monocigóticos (MZ) muestran una mayor concordancia para la IG que los gemelos dicigóticos DZ y entre hermanos no gemelos se ha encontrado una mayor prevalencia de la IG que en la población general (Gómez-Gil et al., 2010). Otros estudios corroboran la idea de que los hermanos de personas transgénero presentan mayor riesgo de compartir factores transgénero que la población general,

aunque a través de estos estudios no es posible dilucidar si esto se debe a factores ambientales, biológicos, o a ambos (Gómez-Gil et al., 2010). Por todo ello se han realizado estudios de los principales genes implicados en la diferenciación sexual del cerebro: el gen del receptor de andrógenos *AR*, el gen del receptor de estrógenos  $\alpha$  *ESR1*, el gen del receptor de estrógenos  $\beta$  *ESR2*, el gen de la aromatasa *CYP19A1* y el gen de la 17-alfa-hidroxilasa *CYP17A1*.

### **1.11. Principales estudios sobre la base genética de la incongruencia de género**

La evidencia científica acumulada durante los últimos años apunta a una etiología compleja con disruptores hormonales, genéticos, epigenéticos y mecanismos inmunológicos que originan un perfil neuropsicológico específico (Joel et al., 2020; McCarthy, 2020). Una de las hipótesis actuales sugiere que la IG podría estar relacionada con una diferenciación sexual diferente del cerebro, no concordante con el sexo natal o sexo asignado al nacer, como resultado de cambios en la secuencia de ADN del gen del receptor de estrógenos ER  $\alpha$ - $\beta$  y el gen del receptor de andrógenos AR (Fernández et al., 2018). Estos cambios en la secuencia del ADN implicarían una variabilidad en la sensibilidad de los receptores hormonales, provocando una vulnerabilidad genética relacionada con la producción de receptores hormonales más o menos sensibles a sus ligandos (estrógenos y andrógenos).

Los receptores ER $\alpha$ - $\beta$  y AR son proteínas que se unen a sus ligandos (estrógenos y andrógenos respectivamente). Estos receptores están presentes en la mayoría de nuestras células (incluidas las neuronas del hipocampo y el hipotálamo) y su presencia permite que las células respondan a las hormonas esteroideas. Generalmente, estos receptores flotan en el citoplasma de la célula en una forma inactiva (Figura 2), pero cuando se unen a su ligando adquieren una forma activa (dimerización) que les permite entrar en el núcleo de la célula y unirse a regiones específicas del ADN ubicadas cerca de las regiones promotoras de numerosos genes diana, modulando así la transcripción de miles de genes relacionados con el desarrollo sexual en un efecto dominó o cascada. Por tanto, ER y AR son proteínas que actúan al mismo tiempo como receptores hormonales y como moléculas reguladoras de la transcripción. Todas estas ideas llevaron a sugerir la posible implicación de dichos receptores en la base genética de la IG.

En la tabla 2 se muestran los principales estudios sobre la base genética de la IG. El primer estudio fue realizado por Henningson y colaboradores (2005), quienes analizaron por

primera vez tres polimorfismos de repetición localizados en los genes de los receptores ER $\beta$ , AR y en el gen de la enzima aromatasa (*CYP19A1*) en una población de 29 mujeres transgénero. Específicamente encontraron polimorfismos más largos (con un mayor número de repeticiones) en el polimorfismo del ER $\beta$  (Henningsson et al., 2005) que en la población trans. Además, el análisis de regresión logística indicó la existencia de interacciones entre los tres polimorfismos analizados que incrementaban la posibilidad de presentar IG (Tabla 2). En esta línea, los resultados obtenidos sugieren que el riesgo de presentar IG también está influenciado por los polimorfismos del gen de la aromatasa y el ER $\beta$ , pero la contribución de estos genes es mucho mayor en presencia de alelos cortos del AR. Además, encontraron que los varones portadores de receptores AR menos activos (alelos largos) presentaban mayor probabilidad de presencia de IG.

Más tarde, Hare y colaboradores (2009) replicaron el estudio de Henningsson y colaboradores (2005) en una población más grande de mujeres transgénero encontrando también, al igual que el estudio anterior, polimorfismos del AR más largos en la población trans respecto a la población cis.

Sin embargo, cuando Ujike y colaboradores (2009) analizaron los mismos polimorfismos en una población transgénero japonesa, no encontraron ningún dato con significación estadística. Pero debemos señalar que el grupo de Ujike incorporó en el análisis pequeñas modificaciones que imposibilitan comparar sus resultados con el resto de investigaciones.

Estos y otros polimorfismos fueron también analizados en la población española (Tabla 2). Se analizaron 974 individuos transgénero respecto a una población cisgénero de 1.327 individuos. Los resultados confirmaron la implicación de ambos receptores ER  $\alpha$ - $\beta$  en la base genética de la IG. Además se encontraron asociaciones cruzadas entre los polimorfismos que incrementaban la probabilidad de presentar IG (Cortés-Cortés et al., 2017; Fernández et al., 2014a, 2014b, 2015, 2018, 2020; Ramírez et al., 2021).

En el año 2008, Bentz y colaboradores incrementaron la lista de genes analizados en la población con IG con el estudio del gen *CYP17A1* en una población transgénero del norte de Europa (Austria) formada por un grupo de 102 mujeres transgénero y 49 varones transgénero, que fueron comparados con 1.671 individuos cisgénero (756 hombres y 915

mujeres). Los resultados obtenidos apoyan la asociación entre el polimorfismo CYP17-rs743572 y la IG en la población de hombres trans, pues el alelo mutado (A2) se encontraba sobrerrepresentado en la población transgénero (Bentz et al., 2008) en comparación con la población cis femenina. Además, los autores encontraron una distribución alélica sexo dependiente en la población cis.

En 2016 nuestro grupo amplió el estudio del polimorfismo CYP17-rs743572 en una población española con IG compuesta por 317 mujeres transgénero, 223 hombres transgénero, 358 hombres cisgénero y 264 mujeres cisgénero (Fernández et al., 2016). Al contrario que Bentz y colaboradores (2008), en la población española las frecuencias alélicas y genotípicas no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones cis y transgénero. Además, las frecuencias alélicas y genotípicas tampoco diferían significativamente entre ambos grupos cisgénero, al contrario de lo que sugerían Bentz y colaboradores. Nuestros resultados, por tanto, contradijeron los aportados por Bentz y colaboradores (2008) sobre la implicación del polimorfismo CYP17-rs743572 en la base genética de la IG, basándonos, no solo en la población española analizada, sino también en los datos derivados de la base de datos 1000 Genomes y de los obtenidos en una revisión bibliográfica realizada específicamente para este estudio.

Las discrepancias existentes entre nuestro trabajo y el estudio de Bentz y colaboradores (2008) se deben a problemas en la selección de la muestra cisgénero femenina en el estudio austríaco, pues formaron este grupo con mujeres que habían realizado consultas médicas por desórdenes perimenopáusicos en los Hospitales Universitarios de Austria y Alemania. En este sentido los datos obtenidos por el grupo de Bentz y colaboradores sobre el polimorfismo CYP17-rs743572, podrían estar relacionados con enfermedades dependientes del funcionamiento de los estrógenos y no con la IG. En conclusión, podemos afirmar que, según nuestros datos, el polimorfismo CYP17-rs743572 no está asociado a la IG.

**Tabla 2.**

*Principales investigaciones sobre la base genética y epigenética de la incongruencia de género.*

<i>Publicaciones</i>	<i>Genes analizados</i>	<i>Muestra analizada</i>	<i>Conclusiones</i>
Henningsson et al., (2005)	<i>ERβ, AR, CYP19A1</i>	29 MT	-Polimorfismo del ERβ más largos en MT -Interacción del AR, ERβ y la aromatasa
Bentz et al., (2007)	<i>SRD5A2</i>	100 MT 47 HT	-Población alemana y austríaca -No encontraron diferencias estadísticamente significativas  -Encuentra diferencias en la población HT
Bentz et al., (2008)	<i>CYP17A1</i>	104 MT 49 HT	-El grupo control de mujeres (915) fue seleccionado entre la población femenina que acudió al hospital por desórdenes perimenopáusicos. Se duda de su resultado
Hare et al., (2009)	<i>ERβ, AR, CYP19A1</i>	112 MT	-AR más largo en la población MT  -Población japonesa
Ujike et al., (2009)	<i>ERβ, AR, CYP19A1</i>	74 MT 168 HT	-No encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los polimorfismos -Añaden una variación en el análisis utilizando la media en lugar de la mediana para hacer la distinción entre alelo corto y largo
Lombardo et al., 2013	<i>SRY, AR, DAX1, SOX9, AZF</i>	30 MT	-Población italiana -No encontraron diferencias estadísticamente significativas
Fernández et al., (2014a, 2014b)	<i>ERβ, AR, CYP19A1</i>	442 MT 273 HT	-Población español. Se trabaja por primera vez con población homogénea según raza, país, orientación sexual -Implicación del ERβ en HT, no en MT
Fernández et al., (2015, 2016)	<i>CYP17A1</i>	317 MT 223 HT	-Población española -Población homogénea -No implicación del CYP17A1

Cortés Cortés et al., (2017)	ER $\alpha$ : (TA)n-rs3138774 PvuII-rs2234693 XbaI-rs9340799	184 MT 183 HT	-Población española -Población homogénea -Implicación del polimorfismo XbaI in HT
Fernández et al., (2018)	ER $\alpha$ , ER $\beta$ , AR, CYP19A	425 HT 549 MT	-Población española -Población homogénea -Implicación del ER $\alpha$ y ER $\beta$ . -Interacción inversa entre AR y ER $\beta$ , en MT -Combinaciones alélicas específicas (ER $\alpha$ , ER $\beta$ y AR) se encuentran sobrerrepresentadas en la población transgénero.
Foreman et al., (2019)	AR, ER $\alpha$ , ER $\beta$ , SRD5A2, STS, SULT2A1, PGR, COMT, CYP17, SRD5A2	380 MT	ER $\alpha$ , SRD5A2, STS están implicados en la base genética de la IG. Combinaciones alélicas se encuentran sobrerrepresentadas en la población transgénero, en su mayoría involucrando al AR.
Fernández et al., (2020a)	ER $\alpha$ : rs9478245, rs3138774 rs2234693, rs9340799	273 MT 226 HT	Se analizan 4 polimorfismos situados en ER $\alpha$ , dos de ellos son significativos en la población HT frente a la población cisgénero.
Fernández et al., (2020b)	Análisis de metilación del fragmento RIII del promotor del ESR1 en una población transgénero	10 MT 10 HT	Los datos mostraron diferencias sexodimórficas en el patrón de metilación del fragmento RIII cuando se compararon las poblaciones cisgénero y transgénero antes y después del tratamiento GAHT. Los datos indican una implicación de los procesos epigenéticos en la etiología de la IG.
Settimio D'Andrea et al., (2020)	AR	795 MT	Metanálisis. La población MT mostró polimorfismos del AR más largos.
Fernández et al (2021)	Estrogen receptor coactivators SRC1, SRC2 y SRC3	47 MT 47 HT	Diferencias estadísticamente significativas para SRC-1 and SRC-2
Ramírez et al (2021)	Análisis epigenético de una población transgénero antes del tratamiento GAHT.	8 MT 8 HT	Análisis del perfil de metilación global de una población de 16 individuos transgénero respecto a una población cisgénero de similares características, antes del tratamiento GAHT.

MT= mujeres transgénero; HT=hombres transgénero

Nuestro grupo de investigación no confirmó la implicación de este polimorfismo CYP17-MspA1 (rs743572) ni tampoco el *CYP19A1* (rs60271534) en la base genética de la IG al analizar una muestra caucásica de origen español (Fernández et al., 2015). Nuestros resultados fueron confirmados posteriormente por otros grupos (D'Andrea et al., 2020; Foreman et al., 2019).

Posteriormente, el análisis de interacción entre polimorfismos a través de un estudio de regresión logística, mostró la existencia de una interacción alélica inversa entre el ER $\alpha$  y el AR en la población de mujeres transgénero. También se encontró una asociación entre el ER $\alpha$  y el ER $\beta$  en el grupo de hombres transgénero. Estos datos confirmaron el papel clave del ER $\beta$  en el desarrollo del género cerebral en humanos (Fernández et al., 2018).

Por otro lado, Fernández et al (2021) analizaron la implicación de las moléculas activadoras de los receptores de estrógenos SRC1, SRC2 y SRC3 confirmando su implicación en la diferenciación sexual del cerebro y el papel fundamental que juegan los estrógenos en ello (Fernández et al., 2021).

Finalmente, los primeros estudios sobre la implicación de la epigenética en la IG fueron realizados también por nuestro equipo (Ramírez et al., 2021). Los estudios en adultos con IG han demostrado que ciertos factores ambientales, como el tratamiento GAHT, modifican el perfil de metilación de las regiones promotoras de los genes *ESR1*, *ESR2* y *AR* (Aranda et al., 2017; Fernández et al., 2020). Además, el estudio de metilación global del ADN en la población adulta con IG mostró que existen diferencias en el grado de metilación incluso antes del tratamiento GAHT, cuando se compararon dos poblaciones cisgénero y transgénero con características similares (Fernández & Burke, 2022; Ramírez et al., 2021). Hasta la fecha, no hay otros estudios en la literatura que analicen la influencia de la epigenética en la IG.

### **1.12. Genes mitocondriales y dimorfismo sexual**

Las mitocondrias son organelas intracelulares que intervienen fundamentalmente en los procesos de generación de energía (la respiración celular). La mitocondria cuenta con su propio material genético formado por ADN, con ciertas peculiaridades. De entre ellas destaca que el ADN es bicatenario, circular y se presenta en múltiples copias (>1000) en

una misma célula. Más del 93% del ADN mitocondrial es codificante (frente a tan sólo el 1,5% del ADN nuclear) y sus 37 genes no tienen intrones (Gonçalves, 2019).

Otro de los aspectos más relevantes de las mitocondrias es que sólo se hereda de la madre, ya que se encuentran en el citoplasma del óvulo fecundado por el espermatozoide (que sólo aporta el núcleo al nuevo organismo recién constituido). Por lo tanto, el material genético mitocondrial de cualquier individuo se hereda exclusivamente por vía materna.

Dentro del genoma mitocondrial se encuentra la región control en la que existen 2 zonas, denominadas “regiones hipervariables” (HSV1 y HSV2), en donde se acumulan de forma preferente los polimorfismos. Las secuencias de la región control pueden ser analizadas fácilmente y utilizarse para comparar las muestras de diferentes sujetos.

En determinadas ocasiones el análisis de la región control tiene un poder limitado por lo que también se han identificado múltiples SNPs en la región codificante del genoma mitocondrial. La principal utilidad en el campo forense del ADN mitocondrial es en el esclarecimiento de relaciones de parentesco por vía materna, sobre todo cuando el material biológico de partida está mal conservado y existe una importante degradación del ADN que dificulta el análisis de otros marcadores polimorfismos autosómicos.

Las mitocondrias realizan diversas funciones interconectadas, produciendo ATP e intermediarios biosintéticos que contribuyen a las respuestas de estrés celular como la autofagia y la apoptosis. Producen ATP a través de la fosforilación oxidativa (OXPHOS) y desempeñan un papel clave en la modulación energética global. Una mayor necesidad de ATP se satisface aumentando la masa mitocondrial e induciendo OXPHOS. La regulación de la biogénesis mitocondrial está estrechamente coordinada con vías que inducen la vascularización y mejoran el suministro de oxígeno a los tejidos (Nunnari & Suomalainen, 2012).

El ensamblaje y la función de las mitocondrias requieren la expresión coordinada de dos genomas distintos, el ADN mitocondrial (ADNmt) y el ADN nuclear (ADNn) (Mossman et al., 2016). Hay más de 1000 genes mitocondriales que están codificados por el genoma

nuclear (Gonçalves, 2019). Las mutaciones en cualquiera de los genomas pueden ser una fuente de variación fenotípica (Mossman et al., 2016).

Las variantes del ADNmt que surgieron como adaptaciones energéticas, a la disponibilidad calórica y a las diferencias climáticas, tienen un impacto en nuestra salud. Las mitocondrias son la principal fuente de radicales libres derivados del oxígeno (ROS) como subproducto tóxico de la *fosforilación oxidativa mitocondrial* (OXPHOS), que dañan tanto el ADNmt como el nuclear, son mutagénicas y desempeñan un papel clave en procesos como el envejecimiento y la carcinogénesis (Darvishi et al., 2007).

Los órganos más comúnmente afectados son aquellos con una alta demanda energética como el músculo esquelético y/o el sistema nervioso central (DiMauro et al., 1999). Sin embargo, prácticamente cualquier órgano y tejido puede verse afectado (Moslemi & Darin, 2007).

Por otro lado, los cambios en la expresión génica durante el envejecimiento se conservan parcialmente en todas las especies y sugieren que el estrés oxidativo, la inflamación y la proteotoxicidad son el resultado de un mal funcionamiento mitocondrial y una señalización nuclear mitocondrial anormal (Tower, 2015). Cuando se mide en sangre, el ADNmt CN, número de copias de ADN mitocondrial, éste correlaciona positivamente con la buena salud y disminuye con la edad, y esta disminución se ha relacionado con múltiples enfermedades. Un número de copias de ADNmt elevado, por otra parte, se asocia con una mayor longevidad (Mengel-From et al., 2019). Las enfermedades mitocondriales pueden afectar a cualquier sistema de órganos, y manifestarse a cualquier edad (Nunnari & Suomalainen, 2012).

El DNAm tiene una alta tasa de mutación entre 100-1000 veces más alta que el genoma nuclear. Las variantes somáticas (deleciones o sustitución de bases) son aquellas que se acumulan con el tiempo dentro de los tejidos o linajes de células madre, y pueden surgir pronto en el desarrollo y llegar a distribuirse ampliamente (Gonçalves, 2019).

El funcionamiento mitocondrial también es sexualmente dimórfico. Los estudios de asociación en humanos han revelado loci de rasgos cuantitativos (QTL) específicos del

sexo que regulan el contenido mitocondrial del tejido sanguíneo (Tower, 2015). Investigaciones recientes sugieren que el dimorfismo sexual en el envejecimiento es una consecuencia de la transmisión inusual de ADNmt, predominantemente materna (Wolff & Gemmell, 2013).

La herencia uniparental del ADNmt da como resultado una asimetría de selección; las mutaciones que afectan solo a los machos no responderán a la selección natural, imponiendo una carga de mutación mitocondrial específica de los machos, que ha sido asociada a algunas enfermedades y a la infertilidad.

Nuevos datos de moscas de la fruta sugieren un papel destacado del ADNmt en el envejecimiento. Los machos, casi invariablemente, viven vidas más cortas que las hembras (Wolff & Gemmell, 2013). La función mitocondrial y las vías de regulación mitocondrial, incluyendo la autofagia y la apoptosis, muestran una especificidad sexual a nivel de las células y los tejidos. En los humanos, las mujeres también tienen una mayor esperanza de vida que los varones (Tower, 2015). Los datos sugieren que las hembras se aprovechan de la presencia de dos copias de genes críticos ligados al cromosoma X. Este nivel adicional de expresión y regulación dinámica de genes ligados al cromosoma X puede permitir a las hembras regular más eficazmente la función mitocondrial y la resistencia al estrés (Tower, 2015).

En un estudio de Lee et al., (2011) se comparó el número de copias de ADNmt en mujeres con y sin síndrome de ovario poliquístico (PCOS) (Lee et al., 2011). El síndrome de ovario poliquístico se caracteriza por un nivel crónicamente alto de testosterona, progesterona y estradiol desde la pubertad (Nguyen et al., 2019). Se estudiaron 50 mujeres con PCOS y 60 mujeres sanas con el mismo índice de masa corporal y edad, hallando que el número de copias de ADN mitocondrial fue significativamente menor en mujeres con PCOS ( $P < 0,01$ ) y se correlacionó positivamente con los niveles de globulina transportadora de hormonas sexuales. En las mujeres sin PCOS se encontró una correlación negativa entre el número de copias de ADNmt y los niveles de testosterona. De modo que el agotamiento del ADNmt puede estar implicado en la patogénesis del PCOS y en sus complicaciones metabólicas y hormonales (Lee et al., 2011).

Otros trabajos también han sugerido que las hormonas sexuales desempeñan un papel en la regulación de la dinámica mitocondrial, el metabolismo y la comunicación cruzada con otros orgánulos. Específicamente, la hormona sexual femenina, el estrógeno, tiene un papel tanto directo como indirecto en la regulación de la biogénesis mitocondrial a través de PGC-1 $\alpha$ , un coactivador de genes mitocondriales. Por otro lado, la testosterona es cardio protectora en los hombres y puede regular la biogénesis mitocondrial a través de PGC-1 $\alpha$  y PGC-1 $\alpha$ .

Tanto el receptor de estrógenos ER como el receptor de andrógenos AR se encuentran asociados a las mitocondrias de los mamíferos. Los estrógenos son los más conocidos por ser antiapoptóticos en los tejidos musculares y neuronales en caso de estrés. Los datos demuestran que los esteroides sexuales de los mamíferos son potentes reguladores de la respuesta al estrés a nivel de los tejidos y de las células individuales. Por todo ello es necesario realizar investigaciones futuras sobre el papel regulador de las hormonas sexuales en la señalización mitocondrial y su función en las disparidades subyacentes entre hombres y mujeres (Liu et al., 2014).



## 2. OBJETIVOS

---



El *objetivo general* de esta investigación consistió en el análisis de la base genética de la IG (ICD-11) en una población de hombres y mujeres transgénero de origen caucásico. Para ello se realizaron tres estudios:

**PRIMER ESTUDIO: Analysis of four polymorphisms located at the promoter of the estrogen receptor alpha *ESR1* gene in a population with gender incongruence. Publicado en *Sex Med.* 2020 Sep;8(3):490-500. doi: 10.1016/j.esxm.2020.04.002.**

*Objetivos específicos:*

1. Análisis de la implicación del gen *ESR1* en la base genética de la IG mediante el estudio de las frecuencias alélicas y genotípicas de cuatro polimorfismos situados en la región promotora del gen *ESR1*:
  - El microsatélite de repetición rs3138774 situado en la región promotora.
  - El polimorfismo rs9478245 definido por la enzima de restricción *BsrDI* (T452C) localizado en la región promotora.
  - El polimorfismo rs2234693 definido por la enzima de restricción *PvuII* (T397C) localizado en la región flanqueante del promotor, en el intrón 1.
  - El polimorfismo rs9340799 definido por la enzima de restricción *XbaI* (A351G) localizado en la región flanqueante del promotor, en el intrón 1.
2. Estudio de asociación de cada uno de los polimorfismos y la IG.
3. Estudio del desequilibrio de ligamiento entre los cuatro polimorfismos.
4. Estudio de asociación múltiple de los cuatro polimorfismos y su implicación en la base genética de la IG mediante el análisis de las frecuencias haplotípicas.

**SEGUNDO ESTUDIO: An analysis of the implication of estrogens and steroid receptor coactivators in the genetic basis of Gender Incongruence. Publicado en *Sexual medicine*, 9(3), 100368. <https://doi.org/10.1016/j.esxm.2021.100368> y como capítulo de libro en *Oxytocin and Health* [ISBN: 978-1-83969-138-6]. Dr. Wei Wu and Dr. Ifigenia Kostoglou-Athanassiou. Editors. London. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.96668>**

*Objetivos específicos:*

1. Análisis de la implicación de los coactivadores de los receptores de hormonas esteroideas NCoA-1, NCoA-2, NCoA-3, NCoA-4, NCoA-5, p300 y CREBBP en la base genética de la IG mediante el estudio de las frecuencias alélicas y genotípicas de 247 polimorfismos tipo SNP.
2. Estudio de asociación de cada uno de los polimorfismos y la IG.
3. Estudio del desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos.
4. Estudio de asociación múltiple de los polimorfismos y su implicación en la base genética de la IG mediante el análisis de las frecuencias haplotípicas.

**TERCER ESTUDIO: Analysis of the implication of 242 mitochondrial SNPs in the biological basis of Gender Incongruence. Pendiente de publicación.**

*Objetivos específicos:*

1. Análisis de la implicación del ADN mitocondrial en la base genética de la IG mediante el estudio de las frecuencias alélicas y genotípicas de 242 polimorfismos mitocondriales.
2. Estudio de asociación de cada uno de los polimorfismos y la IG.
3. Estudio del desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos.
4. Estudio de asociación múltiple de los polimorfismos y su implicación en la base genética de la IG mediante el análisis de las frecuencias haplotípicas.

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

---



La investigación se corresponde con un diseño experimental con grupo control, que se llevó a cabo en el laboratorio de Psicobiología de la Universidad de A Coruña. El trabajo experimental se llevó a cabo tras obtener el consentimiento firmado de todos los participantes en el estudio, siguiendo los parámetros establecidos en la Declaración de Helsinki sobre los principios éticos para la investigación médica en seres humanos, aprobada por la Asociación Médica Mundial y el Convenio de Oviedo del Consejo de Europa para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la investigación social, biológica y médica. Todos los protocolos, datos y metodologías realizadas, se llevaron a cabo de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999 de protección de datos.

**PRIMER ESTUDIO: Analysis of four polymorphisms located at the promoter of the estrogen receptor alpha *ESR1* gene in a population with Gender Incongruence. *Sex Med.* 2020 Sep;8(3):490-500. doi: 10.1016/j.esxm.2020.04.002.**

### *Sujetos*

La población analizada consistió en 323 mujeres transgénero, 235 hombres transgénero, 252 mujeres cisgénero y 285 hombres cisgénero, reclutados en los últimos diez años a través de las Unidades de identidad de género (UIG) de los Hospitales Clínic de Barcelona y el Hospital Regional Universitario de Málaga.

Con el fin de obtener una muestra lo más homogénea posible, evitando su estratificación, se siguieron los siguientes criterios:

Criterios de inclusión: Para el grupo transgénero fue necesario (1) presentar IG de acuerdo con el ICD-11; (2) identificación con el otro género (hombre o mujer); (3) presentar los primeros síntomas de IG antes o durante la pubertad; (4) sentirse atraídos por personas del otro género; (5) tener más de 18 años en el momento de la realización del estudio.

Los criterios de inclusión para los sujetos cisgénero fueron los siguientes: (1) ser mayor de edad en el momento de la inscripción; (2) identificación como hombre o mujer.

En el momento del reclutamiento, las personas transgénero que participaron en el estudio cumplían los criterios de diagnóstico de acuerdo con el CIE-10 y el DSM-4-TR, (American Psychiatric Association, 1995; World Health Organization, 1993) según la evaluación realizada por los psiquiatras y psicólogos especialistas de ambas UIGs. Para evitar la estigmatización, el diagnóstico se volvió a etiquetar como IG siguiendo el CIE-11 (World Health Organization, 2018). Estos cambios no interfirieron con la interpretación de los resultados ya que todos los participantes transgénero expresaron explícitamente sentimientos de pertenencia al otro género y comunicaron el deseo de terapia hormonal y quirúrgica.

La aparición temprana de los primeros síntomas de IG se estableció mediante entrevistas que evaluaron si los primeros síntomas estaban presentes antes de la pubertad. La orientación sexual en la población transgénero se definió al preguntar qué pareja (un hombre, una mujer, ambos o ninguno) preferirían, o por cuál sentirían atracción, si tuvieran total libertad para elegir y su cuerpo no interfiriera. Las mujeres y los hombres transgénero se sometieron a una evaluación hormonal endocrinológica para descartar trastornos del desarrollo hormonal y sexual.

Las muestras de ADN del grupo cisgénero fueron reclutadas a partir del biobanco generado para el estudio Pizarra, en el que todos los participantes firmaron la ficha informada otorgando el consentimiento para la donación de las muestras al biobanco del Hospital Regional Universitario de Málaga para estudios de investigación médica. El estudio Pizarra excluyó a las personas que habían sido hospitalizadas por cualquier motivo en las cuatro semanas anteriores a la evaluación, si estaban embarazadas o si presentaban un trastorno médico o psiquiátrico grave. Además, se preguntó a los participantes cisgénero sobre cualquier condición médica aguda o crónica existente y si se identificaban como mujer, hombre u otras identidades no binarias. La población cisgénero fue seleccionada según su origen geográfico, raza, edad y sexo. Las principales características de la población Pizarra fueron descritas anteriormente por Soriguer et al., (2013).

Los criterios de exclusión para ambas poblaciones fueron los siguientes: (1) presencia de desórdenes neurológicos o psiquiátricos; (2) presencia de desórdenes hormonales; (3) historial de abuso de alcohol y/o drogas; (4) hospitalización por cualquier razón las cuatro semanas

anteriores a la evaluación; (5) presentar alteración cromosómica (aneuploidía, inversiones, y/o translocaciones).

Para poder descartar la presencia de desórdenes psiquiátricos y la existencia de abuso de sustancias en la población transgénero, los profesionales de la UIG del Hospital Clínic de Barcelona aplicaron la entrevista Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.) (Sheehan et al., 1998).

Después de aplicar los criterios anteriormente descritos, fueron excluidos del estudio 39 mujeres transgénero y un hombre transgénero por presentar los primeros síntomas de incongruencia después de la pubertad, o por presentar otras orientaciones sexuales. También se excluyeron 11 mujeres y 8 hombres transgénero por presentar alteraciones en el cariotipo. La muestra final quedó formada por 1.036 individuos: 273 mujeres transgénero, 226 hombres transgénero, 252 mujeres cisgénero y 285 hombres cisgénero. El estudio obtuvo la aprobación del Comité de Ética de los Hospitales Clínic de Barcelona y el Hospital Regional Universitario de Málaga. Todos los participantes firmaron el informe de consentimiento previa realización del estudio.

### ***Extracción de sangre***

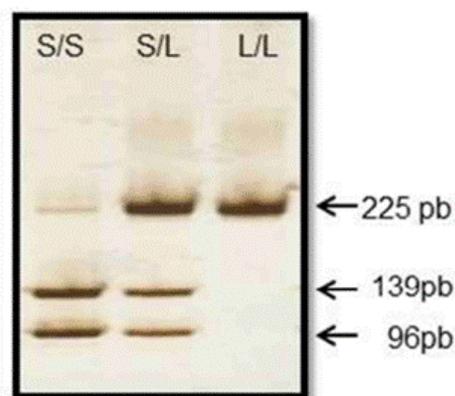
Se realizó en la UIG del Hospital Clínic de Barcelona en donde los especialistas extrajeron de cada participante del grupo transgénero 5ml de sangre periférica en anticoagulante EDTA (ácido etilendiaminotetraacético  $C_{10}H_{16}N_2O_8$ ) al comenzar el estudio. Estas muestras fueron enviadas al laboratorio de Psicobiología de la UDC a temperatura ambiente, mediante mensajería urgente, para la posterior extracción de ADN. Las muestras no excedieron nunca las 48 horas desde la extracción hasta la obtención del ADN.

### ***Análisis molecular***

El ADN genómico se obtuvo utilizando el Kit DNeasy Blood & Tissue Kit, de Qiagen (Madrid, España) siguiendo las recomendaciones de la casa comercial. Se analizaron tres polimorfismos de un solo nucleótido o SNP (*single nucleotide polymorphism*) C1=rs9478245,

C3=rs2234693 y C4=rs9340799; y un polimorfismo de repetición en tándem corto o STR (*short tandem repeat*): C2= rs3138774.

Según la base de datos Ensembl ([www.ensembl.org/](http://www.ensembl.org/)), los polimorfismos C1 y C2 se ubican en la región promotora del gen *ESR1*, mientras que los polimorfismos C3 y C4 se ubican en la región flanqueante del promotor, en el intrón 1 del gen (Tabla 3). Las reacciones de PCR se realizaron según las condiciones indicadas en la Tabla 3, siguiendo las indicaciones de Prieto y Fernández (2018) y van Meurs y colaboradores (2003). Posteriormente, para los polimorfismos tipo SNP (C1, C3, y C4), el genotipado se realizó mediante la digestión enzimática, durante al menos 12 horas, de los productos de PCR con la correspondiente enzima de restricción siguiendo las recomendaciones de la casa comercial: *BsrDI* (Thermo Scientific, Madrid, Spain), *PvuII* (BioLabs, Madrid, Spain) o *XbaI* (Roche, Madrid, Spain). Los productos de digestión fueron visualizados en un gel de poliacrilamida al 6% (GE Healthcare, Madrid, Spain).



**Figura 3.** Gel de poliacrilamida con los resultados de digestión con la enzima *BsrDI*.

Fragmento de un gel de poliacrilamida en donde se puede observar, de izquierda a derecha, los tres genotipos posibles: S/S (C/C), S/L (C/T) y L/L (T/T), después de digerir el producto de PCR con la enzima *BsrDI*.

Los genotipos resultantes de las digestiones con *BsrDI* y *PvuII* fueron C/C, C/T y T/T; y para la enzima *XbaI* fueron G/G, A/G y A/A (Tabla 3). El genotipado del polimorfismo de repetición C2 se realizó mediante electroforesis capilar automatizada (3130 XL Genetic Analyzer, AppliedBiosystems) en los Servicios de Investigación de la UDC, y se determinó la longitud de los alelos con el programa GeneMapper-5 (2012 AppliedBiosystems).

**Tabla 3.**

*Condiciones de las reacciones de amplificación por PCR que se emplearon en los estudios moleculares del gen ESRI.*

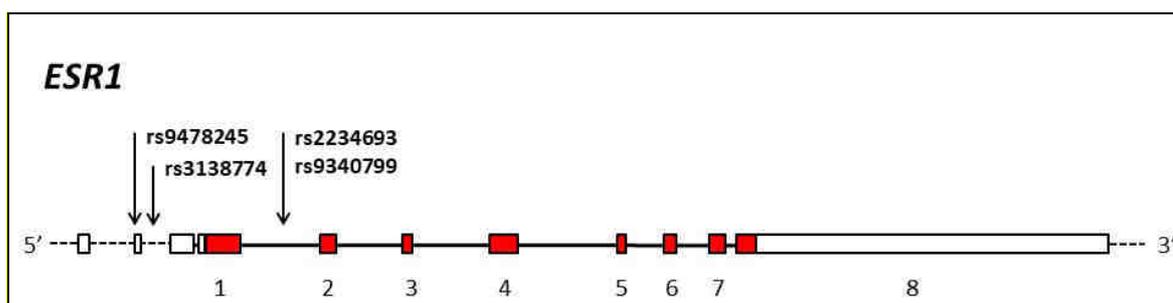
Polimorfismo	Posicionamiento según Ensembl	Alias	Tipo de polimorfismo	Enzima de digestión	Secuencia implicada en el polimorfismo	Secuencia de los cebadores	Descripción	Condiciones de la PCR
rs9478245	Promotor	C1	SNP	<i>BsrDI</i>	T>C	5'-TTCTCCTTTCCCCTGTTCC-3' 5'-AGACCCCCAGTATTGCAGTG-3'	Prieto & Fernandez, 2018	94°C 1 min 59°C 1 min 72°C 1 min
rs3138774	Promotor	C2	STR	--	(TA) <sub>n</sub>	5'-GACGCATGATATACTTCACC-3' FAM 5'-GCAGAATCAAATATCCAGATG-3'	van Meurs et al., 2003	94° C 40 seg 59° C 40 seg 72° C 40 seg
rs2234693	Intrón 1	C3	SNP	<i>PvuII</i>	T>C	5'-GATATCCAGGGTTATGTGGCA-3' 5'-AGGTGTTGCCTATTATATTAACCTTGA-3'	van Meurs et al., 2003	94° C 50 seg 60° C 50 seg 72° C 50 seg
rs9340799	Intrón 1	C4	SNP	<i>XbaI</i>	A>G	5'-GATATCCAGGGTTATGTGGCA-3' 5'-AGGTGTTGCCTATTATATTAACCTTGA-3'	van Meurs et al., 2003	92° C 1 min 56° C 1 min 72° C 1 min

### *Análisis estadístico*

Los análisis estadísticos se realizaron comparando las poblaciones según el sexo natal (hombre o mujer), en dos poblaciones independientes, utilizando el programa SPSS 23.0 (IBM Corp, Armonk, NY, EUA), considerando un valor de  $P$  significativo menor que 0,05.

Para los polimorfismos tipo SNP (C1, C3 y C4), las frecuencias alélicas y genotípicas fueron analizadas con el test  $\chi^2$ . La fuerza de asociación de cada genotipo con la IG se midió mediante regresión logística binaria, estimando la razón de probabilidades (OR *odds ratio*). Para el polimorfismo de repetición (C2), el número medio de repeticiones se analizó mediante la prueba U Mann-Whitney. Posteriormente, fue necesario transformar el polimorfismo C2 en una variable dicotómica, alelo corto (S) vs alelo largo (L), tomando como corte la mediana obtenida en el grupo cisgénero correspondiente, resultando los genotipos S/S (corto-corto), L/L (largo-largo), y S/L (corto-largo).

Los cuatro polimorfismos se localizan en el mismo cromosoma, muy próximos entre sí (Tabla 3; Figura 4), por lo que tienden a heredarse juntos con un grado alto de correlación o desequilibrio de ligamiento. Además, dado que los haplotipos en sí mismos pueden ser variantes causales (Stram, 2017) también estuvimos interesados en el análisis simultáneo de múltiples loci o haplotipos. La medición del desequilibrio de ligamiento, designado como  $D'$  y  $r^2$ , y el cálculo posterior de las frecuencias haplotípicas se realizaron mediante el software SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>) (Solé et al., 2006) utilizando modelos de regresión logística para determinar la fuerza de las asociaciones. Los falsos positivos fueron controlados mediante la corrección de Bonferroni ( $P \leq 0,05/4 = 0,0125$ ). En todos los análisis, la ausencia de datos para cualquier polimorfismo fue causa de exclusión de dicho individuo del análisis.



**Figura 4. Posición aproximada de los cuatro polimorfismos del ESR1 analizados.**

Los recuadros indican exones y las líneas indican intrones. La numeración de los exones se basa en las transcripciones anotadas en la base de datos Ensembl (<https://www.ensembl.org/index.html>). Las líneas de puntos y los exones no numerados indican intrones y exones de transcripciones alternativas. Las flechas indican las posiciones aproximadas de los polimorfismos analizados en el presente estudio. Cada polimorfismo está etiquetado con el número de referencia (rs) asignado por NCBI (Centro Nacional para información biotecnológica). Esquema modificado a partir de Maney (2017).

**SEGUNDO ESTUDIO: An analysis of the implication of estrogens and steroid receptor coactivators in the genetic basis of Gender Incongruence. Publicado en *Sexual medicine*, 9(3), 100368. <https://doi.org/10.1016/j.esxm.2021.100368> y como capítulo de libro en *Oxytocin and Health* [ISBN: 978-1-83969-138-6]. Dr. Wei Wu and Dr. Ifigenia Kostoglou-Athanassiou. Editors. London. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.96668>**

### *Sujetos*

La muestra se compuso de una población española constituida por 94 individuos con IG según el ICD-11 (47 hombres y 47 mujeres transgénero) y 94 individuos cisgénero (44 hombres y 50 mujeres cisgénero). El diagnóstico, selección de la muestra y tratamiento de los individuos transgénero fue realizado por los especialistas de la UIG del Hospital Clínic de Barcelona. La muestra fue seleccionada entre los años 2010-2020.

Con el fin de obtener una muestra lo más homogénea posible y evitar así su estratificación (Michels et al., 2013) los criterios de selección fueron los siguientes:

Criterios de inclusión: Para el grupo transgénero fue necesario (1) presentar IG de acuerdo con el ICD-11; (2) identificación con el otro género (hombre o mujer); (3) presentar los

primeros síntomas de IG antes o durante la pubertad; (4) sentirse atraídos por personas del otro género; (5) ser mayor de edad al inicio del estudio.

Para los sujetos cisgénero los criterios de inclusión fueron los siguientes: (1) ser mayor de edad al inicio del estudio; (2) identificación como hombre o mujer.

Las muestras de ADN del grupo cisgénero fueron obtenidas a partir del biobanco generado para el estudio Pizarra, previamente descrito Soriguer et al., (2013).

Los criterios de exclusión para ambas poblaciones fueron los siguientes: (1) presencia de desórdenes neurológicos o psiquiátricos; (2) presencia de desórdenes hormonales; (3) historial de abuso de alcohol y/o drogas; (4) hospitalización por cualquier razón las cuatro semanas previas a la evaluación; (5) presentar alteración cromosómica (aneuploidía, inversiones, y/o translocaciones).

Para poder descartar la presencia de desórdenes psiquiátricos y la existencia de abuso de sustancias en la población transgénero, los profesionales de la UIG del Hospital Clínic de Barcelona aplicaron la entrevista Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I) (Sheehan et al., 1998).

La edad media del grupo cisgénero al comienzo de la investigación fue 27,7 años ( $SD\pm 7,58$ ) y 34,1 años ( $SD\pm 14,0$ ) para el grupo transgénero. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes después de una explicación detallada de los procedimientos. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la UNED y del Hospital Clínic de Barcelona.

### ***Extracción de sangre***

Al igual que en el estudio anterior, la extracción de sangre se realizó en la UIG del Hospital Clínic de Barcelona en donde los especialistas extrajeron de cada participante del grupo transgénero, 5ml de sangre periférica en anticoagulante EDTA (ácido etilendiaminotetraacético  $C_{10}H_{16}N_2O_8$ ) al comenzar el estudio. Estas muestras fueron enviadas al laboratorio de Psicobiología de la UDC a temperatura ambiente, mediante

mensajería urgente para la posterior extracción de ADN. Las muestras no excedieron nunca las 48 horas desde la extracción hasta la obtención del ADN.

### *Análisis molecular*

El ADN genómico se obtuvo mediante el Kit DNeasy Blood & Tissue Kit, de Qiagen (Madrid, España) siguiendo las recomendaciones de la casa comercial. Los polimorfismos analizados fueron 247 SNPs localizados, según la base de datos Ensembl ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)), en los coactivadores de los receptores de esteroides NCoA-1 (63 SNPs), NCoA-2 (64 SNPs), NCoA-3 (30 SNPs), NCoA-4 (4 SNPs), NCoA-5 (8 SNPs), p300 (9 SNPs) y CREBBP (69 SNPs) (Tabla 4). El genotipado se realizó mediante el Array Axiom Spanish BioBank (Affymetrix).

**Tabla 4.**

*Descripción de los genes y número de polimorfismos analizados.*

<b>Gen</b>	<b>Cromosoma</b>	<b>Función</b>	<b>Número de SNPs analizados</b>
<b>NCoA-1</b>	2	La proteína codificada por este gen actúa como coactivador transcripcional de los esteroides y los receptores hormonales nucleares.	63
<b>NCoA-2</b>	8	La proteína codificada actúa como un factor intermediario para la actividad dependiente de ligando de los receptores nucleares, que regulan sus genes diana al unirse a los elementos de respuesta.	64
<b>NCoA-3</b>	20	La proteína codificada por este gen es un coactivador que interacciona con los receptores hormonales nucleares para mejorar sus funciones de activador transcripcional.	30
<b>NCoA-4</b>	10	Este gen codifica un coactivador del receptor de andrógenos.	4
<b>NCoA-5</b>	20	Este gen codifica un corregulador de los receptores de estrógenos $\alpha$ y $\beta$ .	8
<b>p300</b>	22	Este gen codifica una proteína coactivadora transcripcional.	9
<b>CREBBP</b>	16	Este gen se expresa de forma ubicua y está implicado en los factores de coactivación de la transcripción.	69
<b>Total SNPs analizados</b>			<b>247</b>

### *Análisis estadístico*

Los análisis se realizaron comparando las poblaciones según el sexo natal, en dos poblaciones independientes: individuos asignados mujer al nacer e individuos asignados varón, considerando significativo un valor de  $P \leq 0,05$ .

Las frecuencias alélicas y genotípicas se analizaron mediante la prueba  $\chi^2$ . La fuerza de asociación de cada polimorfismo con la IG fue medida mediante la regresión logística binaria, estimando la razón de posibilidades (OR) para cada genotipo. Los polimorfismos ubicados próximos entre sí, en el mismo cromosoma, tienden a heredarse juntos con un alto grado de correlación. Esta correlación, llamada desequilibrio de ligamiento, fue también analizada. Además, también nos interesó el análisis simultáneo de múltiples loci (haplotipos), dado que, como se ha comentado en el anterior estudio, pueden ser en sí mismos variantes causales.

La medición del desequilibrio de ligamiento, designado como  $D'$  y  $r^2$ , y la medición posterior de las frecuencias de los haplotipos se realizaron con el software en línea gratuito SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>) usando modelos de regresión logística para determinar la fuerza de las asociaciones. En todos los análisis, un valor perdido para cualquier respuesta, polimorfismo o covariable fue motivo de exclusión de ese individuo del análisis. Los falsos positivos se controlaron mediante la aplicación de la corrección de Bonferroni ( $0,05/247$ ;  $P < 0,0002$ ).

**TERCER ESTUDIO: Analysis of the implication of 242 mitochondrial SNPs in the biological basis of gender incongruence. Pendiente de publicación.**

### *Sujetos*

Al igual que el estudio anterior, la muestra se compuso de una población española constituida por 94 individuos con IG según el ICD-11 (47 hombres y 47 mujeres transgénero) y 94 individuos cisgénero (44 hombres y 50 mujeres cisgénero). El diagnóstico, selección de la muestra y tratamiento de los individuos transgénero fue realizado por los especialistas de la UIG del Hospital Clínic de Barcelona. La muestra fue seleccionada entre los años 2010-2020.

Con el fin de obtener una muestra lo más homogénea posible y evitar así su estratificación (Michels et al., 2013) los criterios de selección de la muestra fueron los siguientes:

Criterios de inclusión: Para el grupo transgénero fue necesario (1) presentar IG de acuerdo con el ICD-11; (2) identificación con el otro género (hombre o mujer); (3) presentar los primeros síntomas de IG antes o durante la pubertad; (4) sentirse atraídos por personas del otro género; (5) ser mayor de edad en el momento de la realización del estudio. Para el grupo cisgénero fue necesario (1) ser mayor de edad en el momento de la inscripción y (2) identificación como hombre o mujer.

Las muestras de ADN del grupo cisgénero fueron reclutadas a partir del biobanco generado para el estudio Pizarra, previamente descrito Soriguer et al., (2013).

Los criterios de exclusión para ambas poblaciones fueron los siguientes: (1) presencia de desórdenes neurológicos o psiquiátricos; (2) presencia de desórdenes hormonales; (3) historial de abuso de alcohol y/o drogas; (4) hospitalización por cualquier razón las cuatro semanas previas a la evaluación; (5) presentar alteración cromosómica (aneuploidía, inversiones, y/o translocaciones).

Para poder descartar la presencia de desórdenes psiquiátricos y la existencia de abuso de sustancias en la población transgénero, al igual que en los estudios anteriores, los profesionales de la UIG del Hospital Clínic de Barcelona aplicaron la entrevista Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I) (Sheehan et al., 1998).

La edad media del grupo cisgénero al comienzo de la investigación fue 27,7 años ( $SD\pm 7,58$ ) y 34,1 años ( $SD\pm 14,0$ ) para el grupo transgénero. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes después de una explicación detallada de los procedimientos. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la UNED y del Hospital Clínic de Barcelona.

### ***Extracción de sangre***

Al igual que en el estudio anterior, la extracción de sangre se realizó en la UIG del Hospital Clínic de Barcelona en donde los especialistas extrajeron de cada participante del grupo transgénero, 5ml de sangre periférica en anticoagulante EDTA (ácido

etilendiaminotetraacético C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) al comienzo del estudio. Estas muestras fueron enviadas al laboratorio de Psicobiología de la UDC a temperatura ambiente, mediante mensajería urgente, para la posterior extracción de ADN. Las muestras no excedieron nunca las 48 horas desde la extracción hasta la obtención del ADN.

### ***Análisis molecular***

Los polimorfismos analizados fueron polimorfismos tipo SNP, localizados en el ADN mitocondrial según la base de datos Ensembl ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)). El genotipado fue realizado mediante el Array Axiom Spanish BioBank (Affymetrix). Los análisis estadísticos fueron realizados mediante el software SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>) (Solé et al., 2006).

### ***Análisis estadístico***

Los análisis se realizaron comparando poblaciones con el mismo sexo natal (cis vs trans), en dos poblaciones independientes, hombres y mujeres, considerando significativo un valor de  $P \leq 0,05$ . La tasa de falsos positivos se controló mediante la corrección de Bonferroni ( $0,05/242$ ;  $P \leq 0,0002$ ). Las frecuencias alélicas y genotípicas se analizaron mediante la prueba de  $\chi^2$ . La fuerza de las asociaciones con la IG se midió mediante regresión logística binaria, estimando la razón de probabilidades (OR) para cada genotipo. También se realizó el análisis del desequilibrio de ligamiento y el análisis simultáneo de múltiples loci o haplotipos.

La medición del desequilibrio de ligamiento, designado como  $D'$  y  $r^2$ , y la medición posterior de las frecuencias haplotípicas, al igual que en los estudios anteriores, se realizaron mediante el software SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>) (Solé et al., 2006).

## 4. RESULTADOS

---



## PRIMER ESTUDIO

El estudio se realizó en un muestra constituida por 273 mujeres transgénero, 226 hombres transgénero, 252 mujeres cisgénero y 285 hombres cisgénero, después de aplicar los criterios de inclusión y exclusión anteriormente mencionados. Treinta y nueve mujeres transgénero y 1 varón transgénero fueron excluidos del estudio por presentar los primeros síntomas de IG después de la pubertad, o por ser bisexuales. Diecinueve individuos transgénero (11 mujeres y 8 hombres) fueron excluidos por presentar alteraciones en el cariotipo. Todos los polimorfismos estaban en equilibrio Hardy-Weinberg.

### *Estudio del polimorfismo de repetición C2 (rs3138774)*

La distribución alélica para el polimorfismo C2 (rs3138774) fue bimodal en todos los grupos (Figuras 5 y 6), con dos picos situados alrededor de los alelos 15 y 24. El número de repeticiones se extendió entre 10 y 28. Cuando el número de repeticiones fue analizado mediante la U Mann-Whitney, se encontró una diferencia en la población de hombres transgénero quienes presentaron una mediana significativamente más corta (16 repeticiones) respecto a la población cisgénero con el mismo genotipo (población de mujeres cisgénero, 18 repeticiones) ( $Z=-2,035$ ,  $P = 0,042$ ).

### *Análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas*

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de las frecuencias alélicas cuando se compararon las poblaciones de hombres transgénero y mujeres cisgénero. Se encontró una sobrerrepresentación del alelo corto (S) para el polimorfismo C2 y el alelo A para el polimorfismo C4 en la población de hombres trans ( $\chi^2 = 5,175$ ;  $P=0,023$  y  $\chi^2 = 4,952$ ;  $P = 0,026$ , respectivamente).

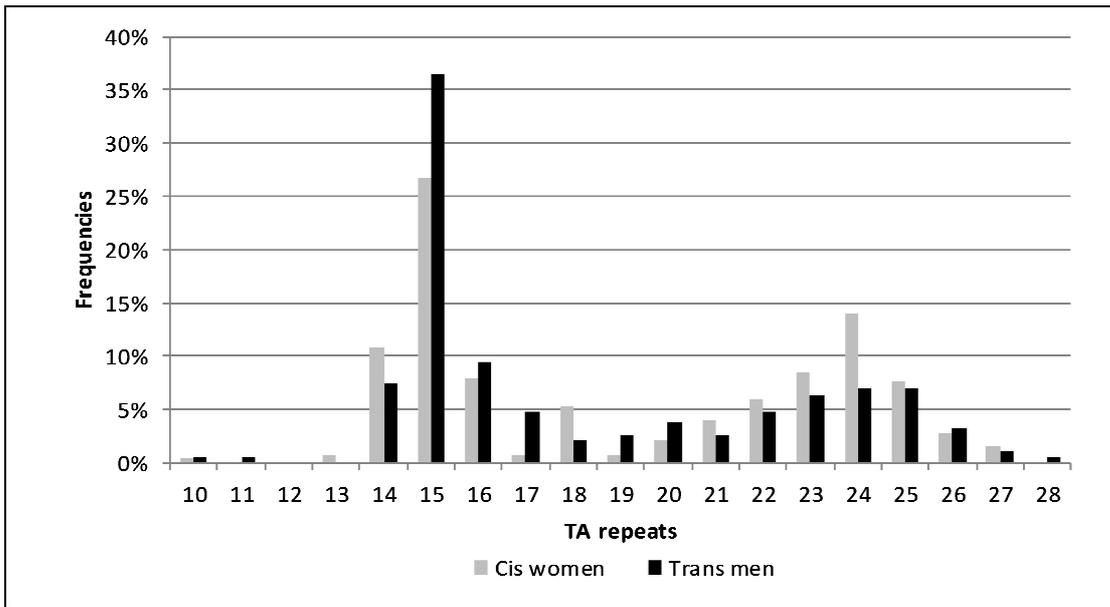


Figura 5. Representación del número de repeticiones TA del polimorfismo C2 en las poblaciones de mujeres cisgénero y hombres transgénero.

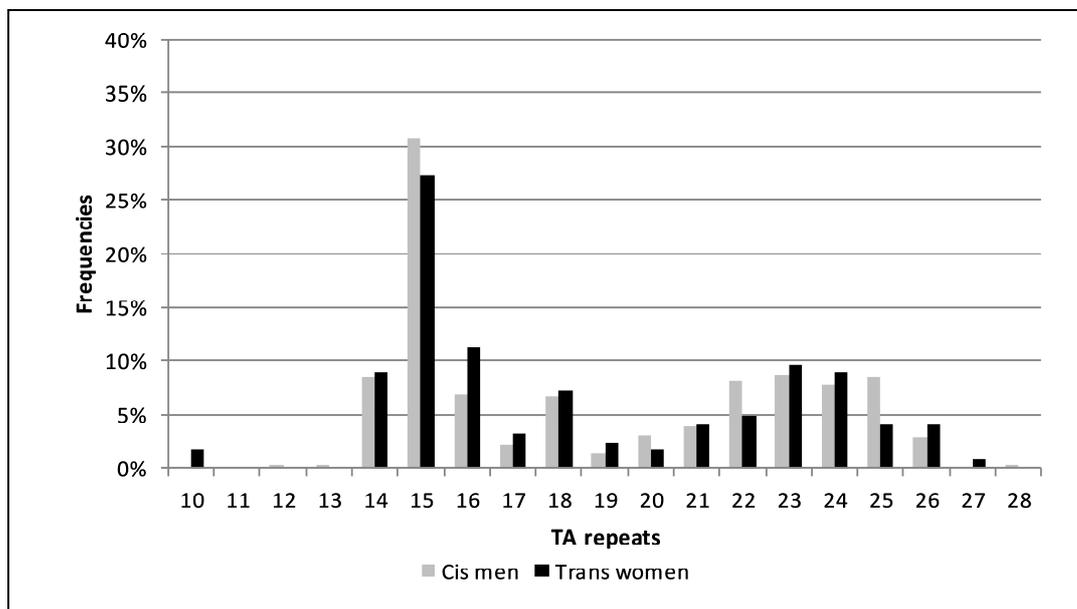


Figura 6. Representación del número de repeticiones TA del polimorfismo C2 en las poblaciones de hombres cisgénero y mujeres transgénero.

### *Análisis de asociación de cada polimorfismo con la incongruencia de género*

Se encontraron diferencias significativas en el análisis de asociación de los polimorfismos C2 y C4 con la IG. En concreto el odds ratio (OR) para los polimorfismos C2 y C4 mostraron diferencias estadísticamente significativas para múltiples patrones de herencia (Tablas 5 y 6). Los genotipos S/S y S/L para el polimorfismo C2 (Tabla 7) fueron factores de riesgo ( $OR > 1$ ) en presencia de un cariotipo femenino [ $OR = 2,62$  (1,23-5,58);  $P = 0,012$  y  $OR = 2,32$  (1,32-4,06);  $P = 0,003$ , respectivamente]. Respecto al polimorfismo C4, el genotipo A/G mostró un efecto protector ( $OR < 1$ ) en presencia de un cariotipo femenino [ $OR = 0,35$  (0,16-0,77);  $P = 0,009$ ] y respecto al genotipo A/A (Tabla 8).

### *Análisis de los haplotipos*

El alelo T en el polimorfismo C1 se encontró ligado al alelo corto (S) para el polimorfismo C2, al alelo T para el C3, y al alelo A para el C4 (haplotipo 1: T-S-T-A) (Tabla 9). Sin embargo, el alelo C del polimorfismo C1 estaba ligado al alelo largo (L) del polimorfismo C2, al alelo C para el C3 y al alelo G para el C4 (haplotipo 6: C-L-C-G) (Tabla 9). Los haplotipos más frecuentes fueron T-S-T-A (46,5%) y T-L-C-G (31,12%), mientras que los haplotipos C-S-T-A y C-L-C-A (Tabla 9) no estaban presentes en la población analizada.

El análisis de interacción de los haplotipos según la covariable “sexo” (Tabla 10) mostró que el haplotipo 2: T-L-C-G representa un factor genético protector [ $OR = 0,54$  (0,35-0,83);  $P = 0,005$ ] para los individuos con cariotipo femenino, y se encontraba sobrerrepresentado en la población cisgénero de mujeres; mientras que el haplotipo 3: T-L-C-A se encuentra sobrerrepresentado en los individuos con cariotipo femenino frente a los individuos con cariotipo masculino [ $OR = 6,35$  (1,35-29,96);  $P = 0,019$ ].

**Tabla 5.**

*Estudio de asociación del polimorfismo C2 con la incongruencia de género según diferentes modelos de herencia.*

Asociación del polimorfismo C2 con la incongruencia de género							
Modelo	Genotipo	Población cis (%)	Población trans (%)	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
<b>Codominante</b>	S/S	22,4	31,8	<b>1,00 (referencia)</b>	--		
	S/L	52	49,4	0,67 (0,42-1,06)	0,07	572,3	588,8
	L/L	25,7	18,8	0,52 (0,30-0,93)	<b>0,023*</b>		
<b>Dominante</b>	S/S	22,4	31,8	<b>1,00 (referencia)</b>	--		
	S/L-L/L	77,6	68,2	0,62 (0,40-0,96)	<b>0,035*</b>	571,1	583,5
<b>Recesivo</b>	S/S-S/L	74,3	81,2	<b>1,00 (referencia)</b>	--		
	L/L	25,7	18,8	0,68 (0,42-1,11)	0,12	573,2	585,5
<b>Sobredominante</b>	S/S-L/L	48	50,6	<b>1,00 (referencia)</b>	--		
	S/L	52	49,4	0,89 (0,60-1,33)	0,57	575,3	587,7
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	0,72 (0,54-0,96)	<b>0,023*</b>	570,4	582,8

OR=odds' ratio; AIC= Akaike's Information Criterion; BIC= Bayesian Information Criterion

\*Valor de P significativa ( $P \leq 0,05$ ).

El riesgo para cada genotipo es calculado respecto a la categoría de referencia (**1,00 referencia**).

**Tabla 6.**

*Análisis de asociación del polimorfismo C4 con la incongruencia de género en la población con sexo natal femenino (cis vs trans) según diferentes modelos de herencia.*

Asociación del polimorfismo C4 con la incongruencia de género							
Modelo	Genotipo	Mujeres cis (%)	Hombres trans (%)	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
<b>Codominante</b>	A/A	31,7	55,2	<b>1,00 (referencia)</b>	--		
	A/G	53,3	32,8	0,35 (0,16-0,77)	<b>0,024*</b>	174,2	182,8
	G/G	15	11,9	0,46 (0,15-1,37)	0,169		
<b>Dominante</b>	A/A	31,7	55,2	<b>1,00 (referencia)</b>	--		
	A/G-G/G	68,3	44,8	0,38 (0,18-0,78)	<b>0,007*†</b>	172,5	178,1
<b>Recesivo</b>	A/A-A/G	85	88,1	<b>1,00 (referencia)</b>	--		
	G/G	15	11,9	0,77 (0,28-2,14)	0,61	179,4	185,1
<b>Sobredominante</b>	A/A-G/G	46,7	67,2	<b>1,00 (referencia)</b>	--		
	A/G	53,3	32,8	0,43 (0,21-0,88)	<b>0,019*</b>	174,2	179,9
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	0,57 (0,34-0,96)	<b>0,03*</b>	175	180,6

OR=odds' ratio; AIC= Akaike's Information Criterion; BIC= Bayesian Information Criterion

\*Valor de P significativa ( $P \leq 0,05$ ).

†Valor significativo después de la corrección de Bonferroni ( $P < 0,05/4 = 0,0125$ ).

El riesgo para cada genotipo es calculado respecto a la categoría de referencia (**1,00 referencia**).

**Tabla 7.**

*Análisis de interacción del polimorfismo C2 según la covariable “sexo”*

<b>Sexo within polimorfismo C2</b>					
		<b>Población cis (%)</b>	<b>Población trans (%)</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
<b>S/S</b>	<b>XY</b>	8,95	3,93	<b>1,00 (referencia)</b>	--
	<b>XX</b>	5,90	6,77	2,62 (1,23-5,58)	0,012*†
<b>S/L</b>	<b>XY</b>	20,31	6,33	<b>1,00 (referencia)</b>	--
	<b>XX</b>	14,19	10,26	2,32 (1,32-4,06)	0,003*†
<b>L/L</b>	<b>XY</b>	9,83	3,06	<b>1,00 (referencia)</b>	--
	<b>XX</b>	7,21	3,28	1,46 (0,62-3,44)	0,393
<b>Polimorfismo C2 within sexo</b>					
		<b>Población cis (%)</b>	<b>Población trans (%)</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
<b>XY</b>	<b>S/S</b>	8,95	3,93	<b>1,00 (referencia)</b>	--
	<b>S/L</b>	20,31	6,33	0,71 (0,36-1,42)	0,333
	<b>L/L</b>	9,83	3,06	0,71 (0,31-1,60)	0,421
<b>XX</b>	<b>S/S</b>	5,90	6,77	<b>1,00 (referencia)</b>	--
	<b>S/L</b>	14,19	10,26	0,63 (0,33-1,19)	0,158
	<b>L/L</b>	7,21	3,28	0,40 (0,18-0,88)	0,023*

\*Valor de P significativa ( $P \leq 0,05$ ).

†Valor significativo después de la corrección de Bonferroni ( $P < 0,05/4=0,0125$ ).

El riesgo para cada genotipo es calculado respecto a la categoría de referencia (**1,00 referencia**).

**Tabla 8.**

*Análisis de interacción del polimorfismo C4 según la covariable “sexo”*

<b>Sexo within polimorfismo C4</b>					
		<b>Población cis (%)</b>	<b>Población trans (%)</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
<b>A/A</b>	<b>XY</b>	52,27	37,25	<b>1,00 (referencia)</b>	--
	<b>XX</b>	31,67	55,22	2,36 (1,04-5,36)	<b>0,039*</b>
<b>A/G</b>	<b>XY</b>	36,36	45,10	<b>1,00 (referencia)</b>	--
	<b>XX</b>	53,33	32,84	0,48 (0,21-1,11)	0,084
<b>G/G</b>	<b>XY</b>	11,36	17,65	<b>1,00 (referencia)</b>	--
	<b>XX</b>	15	11,94	0,49 (0,12-2,11)	0,335
<b>Polimorfismo C4 within sexo</b>					
		<b>Población cis (%)</b>	<b>Población trans (%)</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
<b>XY</b>	<b>A/A</b>	52,27	37,25	<b>1,00 (referencia)</b>	--
	<b>A/G</b>	36,36	45,10	1,74 (0,72-4,20)	0,220
	<b>G/G</b>	11,36	17,65	2,18 (0,62-7,61)	0,225
<b>XX</b>	<b>A/A</b>	31,67	55,22	<b>1,00 (referencia)</b>	--
	<b>A/G</b>	53,33	32,84	0,35 (0,16-0,77)	<b>0,009*†</b>
	<b>G/G</b>	15	11,94	0,46 (0,15-1,37)	0,17

\*Valor de P significativo ( $P \leq 0,05$ ).

†Valor significativo después de la corrección de Bonferroni ( $P < 0,05/4 = 0,0125$ ).

El riesgo para cada genotipo es calculado respecto a la categoría de referencia (**1,00 referencia**).

**Tabla 9.**

*Estimación de las frecuencias haplotípicas en las poblaciones cisgénero y transgénero.*

	Haplotipos				Total	Población cis	Población trans	Frecuencias acumulativas
	C1	C2	C3	C4				
<b>1</b>	T	S	T	A	0,465	0,444	0,492	0,465
<b>2</b>	T	L	C	G	0,311	0,327	0,286	0,776
<b>3</b>	T	L	C	A	0,086	0,070	0,099	0,862
<b>4</b>	T	L	T	A	0,065	0,084	0,045	0,926
<b>5</b>	T	S	T	G	0,020	0,015	0,024	0,947
<b>6</b>	C	L	C	G	0,017	0,019	0,020	0,964
<b>7</b>	T	S	C	A	0,016	0,024	0,008	0,980
<b>8</b>	T	S	C	G	0,012	0,016	0,015	0,992
<b>9</b>	C	S	C	G	0,008	0	0,011	1
<b>10</b>	C	S	T	A	0	0	0	1
<b>11</b>	C	L	C	A	0	0	0	1

RESULTADOS

**Tabla 10.**

*Estimación de las frecuencias haplotípicas en las poblaciones cisgénero y transgénero según la covariable sexo*

	Haplotipos				Frecuencias	Población XY		Población XX	
	C1	C2	C3	C4		OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
<b>1</b>	T	S	T	A	0,468	<b>1,00 (referencia)</b>	--	<b>1,00 (referencia)</b>	--
<b>2</b>	T	L	C	G	0,306	1,01 (0,67 - 1,54)	0,966	0,54 (0,35 - 0,83)	<b>0,005*†</b>
<b>3</b>	T	L	C	A	0,083	0,61 (0,22 - 1,69)	0,347	2,53 (0,74 - 8,63)	0,139
<b>4</b>	T	L	T	A	0,066	0,35 (0,07 - 1,83)	0,209	0,43 (0,15 - 1,21)	0,113
<b>5</b>	T	S	T	G	0,021	2,20 (0,39 - 12,50)	0,379	--	--
<b>6</b>	C	L	C	G	0,019	--	--	0,37 (0,07 - 1,82)	0,234
<b>7</b>	T	S	C	A	0,016	1,11 (0,13 - 9,64)	0,931	--	--
<b>8</b>	T	S	C	G	0,014	--	--	0,66 (0,07 - 6,49)	0,732

	Haplotipos				Frecuencias	Población XY	Población XX	
	C1	C2	C3	C4		OR referencia	OR (95% CI)	P
<b>1</b>	T	S	T	A	0,468	<b>1,00 (referencia)</b>	1,52 (0,83 - 2,80)	0,178
<b>2</b>	T	L	C	G	0,306	<b>1,00 (referencia)</b>	0,81 (0,48 - 1,37)	0,439
<b>3</b>	T	L	C	A	0,083	<b>1,00 (referencia)</b>	6,35 (1,35 - 29,96)	<b>0,019*</b>
<b>4</b>	T	L	T	A	0,066	<b>1,00 (referencia)</b>	1,90 (0,33 - 11,02)	0,482
<b>5</b>	T	S	T	G	0,021	<b>1,00 (referencia)</b>	--	--
<b>6</b>	C	L	C	G	0,019	<b>1,00 (referencia)</b>	--	--
<b>7</b>	T	S	C	A	0,016	<b>1,00 (referencia)</b>	--	--
<b>8</b>	T	S	C	G	0,014	<b>1,00 (referencia)</b>	--	--

\*Valor de P significativa ( $P \leq 0,05$ ). †Valor significativo después de la corrección de Bonferroni ( $P < 0,05/4 = 0,0125$ ).

El riesgo para cada genotipo es calculado respecto a la categoría de referencia (1,00 referencia).

## SEGUNDO ESTUDIO

### *Tasas de prevalencia de los polimorfismos analizados y comparación con la base de datos 1000 genomes*

Cuando se compararon las frecuencias alélicas y genotípicas en los 247 polimorfismos, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en once polimorfismos (P1-P11) (Tabla 11), lo que corresponde a 4,45% del total de polimorfismos analizados: tres situados en el NCoA-1, cinco situados en NCoA-2, dos en p300 y uno en CREBBP. Estos polimorfismos mostraron tasas de prevalencia similares a las encontradas en las bases de datos 1000 genomes a nivel mundial y europeo (<http://www.1000genomes.org>) (Tabla 12).

La descripción de los análisis de asociación significativos para cada modelo de herencia se encuentran en la Tabla 11 y se describen a continuación:

**Polimorfismo P1:** El genotipo T/T estaba sobrerrepresentado en la población cisgénero ( $P < 0,035$  para el modelo de herencia dominante) mientras que los genotipos T/C-C/C fueron más frecuentes en la población transgénero (OR=2,12;  $P < 0,038$ ). La distribución genotípica fue también significativa para el modelo log-aditivo (OR=2,15;  $P < 0,027$ ).

**Polimorfismo P2:** El genotipo T/T estaba sobrerrepresentado en la población cisgénero ( $P < 0,044$ ), mientras que los genotipos T/G (OR=1,97;  $P < 0,035$ ) y G/G (OR=2,65;  $P < 0,045$ ) estaban sobrerrepresentados en la población transgénero (modelo codominante).

**Polimorfismo P3:** El genotipo A/A estaba sobrerrepresentado en la población cisgénero ( $P < 0,0079$  para el modelo dominante), mientras que los genotipos A/G-G/G estaban sobrerrepresentados en la población transgénero (OR=2,20;  $P < 0,009$ ). La distribución de las frecuencias genotípicas del polimorfismo P3 fue significativo para los modelos codominante, dominante, sobre dominante y log-aditivo.

**Polimorfismo P4:** El polimorfismo P4 mostró solo significación estadística para el modelo log-aditivo. El genotipo G/G estaba sobrerrepresentado en la población cisgénero, mientras que los genotipos G/A y A/A estaban sobrerrepresentados en la población transgénero (OR=2,57;  $P < 0,034$ ).

**Polimorfismo P5:** Este polimorfismo mostró diferencias estadísticamente significativas para los modelos codominante, recesivo y sobredominante. Los genotipos G/G y A/A se encontraban sobrerrepresentados en la población transgénero ( $P < 0,0029$ ; modelo codominante) mientras que el genotipo G/A estaba sobrerrepresentado en la población cisgénero (OR=0,48;  $P < 0,036$ ).

**Polimorfismo P6:** El genotipo T/T estaba sobrerrepresentado en la población transgénero mientras que los genotipos T/G y G/G se mostraban sobrerrepresentados en la población cisgénero (OR=0,42;  $P < 0,008$  para el modelo dominante). La distribución genotípica fue significativa para los modelos codominante, dominante y log-aditiva.

**Polimorfismo P7:** Este polimorfismo mostró solamente significación para el modelo recesivo. El genotipo A/A se encontraba sobrerrepresentado en la población transgénero (OR=2,44;  $P < 0,026$ ).

**Polimorfismo P8:** El genotipo A/A se mostró sobrerrepresentado en la población cisgénero ( $P < 0,0068$  modelo dominante) mientras que el genotipo A/G se encontraba sobrerrepresentado en la población transgénero (OR=4,49;  $P < 0,024$ , modelo codominante). Este polimorfismo mostró diferencias estadísticamente significativas para los modelos codominante, dominante, sobredominante y log-aditivo. Solo el modelo recesivo no mostró diferencias estadísticamente significativas.

**Polimorfismo P9:** El genotipo C/C se encontraba sobrerrepresentado en la población transgénero, mientras que los genotipos T/C y T/T se encontraban sobrerrepresentados en la población cisgénero (OR=0,50;  $P < 0,025$ , modelo dominante).

**Polimorfismo P10:** Este polimorfismo mostró únicamente significación estadística para el modelo log-aditivo. El genotipo G/G se encontraba sobrerrepresentado en la población transgénero (OR=2,69;  $P < 0,030$ ).

**Polimorfismo P11:** Sólo el modelo recesivo mostró significación estadística. El genotipo A/A se encontraba sobrerrepresentado en la población transgénero (OR=4,82;  $P < 0,048$ ), mientras que los genotipos G/G-A/G presentaban una mayor frecuencia en la población cisgénero ( $P < 0,025$ ).

**Tabla 11.**

*Análisis de asociación de los polimorfismos con diferencias estadísticamente significativas según diferentes modelos de herencia (n=188)*

<b>Polimorfismo P1 (rs10495747)</b>					
<b>Modelo</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Población cis (%)</b>	<b>Población trans (%)</b>	<b>OR</b>	<b>P</b>
<b>Codominante</b>	T/T	79 (84%)	67 (71,3%)	1,00	0,068
	T/C	15 (16%)	26 (27,7%)	2,04 (1,00-4,17)	<b>0,05*</b>
	C/C	0 (0%)	1 (1,1%)	NA (0,00-NA)	--
<b>Dominante</b>	T/T	79 (84%)	67 (71,3%)	1,00	<b>0,035*</b>
	T/C-C/C	15 (16%)	27 (28,7%)	2,12 (1,04-4,32)	<b>0,038*</b>
<b>Recesivo</b>	T/T-T/C	94 (100%)	93 (98,9%)	1,00	0,24
	C/C	0 (0%)	1 (1,1%)	NA (0,00-NA)	--
<b>Sobredominante</b>	T/T-C/C	79 (84%)	68 (72,3%)	1,00	0,051
	T/C	15 (16%)	26 (27,7%)	2,01 (0,99-4,11)	0,054
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	2,15 (1,07-4,29)	<b>0,027*</b>
<b>Polimorfismo P2 (rs2584940)</b>					
<b>Modelo</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Población cis (%)</b>	<b>Población trans (%)</b>	<b>OR</b>	<b>P</b>
<b>Codominante</b>	T/T	43 (45,7%)	27 (28,7%)	1,00	<b>0,044*</b>
	T/G	42 (44,7%)	52 (55,3%)	1,97 (1,05-3,70)	<b>0,035*</b>
	G/G	9 (9,6%)	15 (16%)	2,65 (1,02-6,91)	<b>0,045*</b>
<b>Dominante</b>	T/T	43 (45,7%)	27 (28,7%)	1,00	<b>0,015*</b>
	T/G-G/G	51 (54,3%)	67 (71,3%)	2,09 (1,14-3,83)	<b>0,017*</b>
<b>Recesivo</b>	T/T-T/G	85 (90,4%)	79 (84%)	1,00	0,19
	G/G	9 (9,6%)	15 (16%)	1,79 (0,74-4,33)	0,198
<b>Sobredominante</b>	T/T-G/G	52 (55,3%)	42 (44,7%)	1,00	0,14
	T/G	42 (44,7%)	52 (55,3%)	1,53 (0,86-2,72)	0,148
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	1,72 (1,10-2,69)	<b>0,015*</b>

RESULTADOS

<b>Polimorfismo P3 (rs6756785)</b>					
<b>Modelo</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Población cis (%)</b>	<b>Población trans (%)</b>	<b>OR</b>	<b>P</b>
<b>Codominante</b>	A/A	50 (53,2%)	32 (34%)	1,00	<b>0,029*</b>
	A/G	38 (40,4%)	54 (57,5%)	2,22 (1,21-4,08)	<b>0,010*</b>
	G/G	6 (6,4%)	8 (8,5%)	2,08 (0,66-6,56)	0,213
<b>Dominante</b>	A/A	50 (53,2%)	32 (34%)	1,00	<b>0,0079*</b>
	A/G-G/G	44 (46,8%)	62 (66%)	2,20 (1,22-3,97)	<b>0,009*</b>
<b>Recesivo</b>	A/A-A/G	88 (93,6%)	86 (91,5%)	1,00	0,58
	G/G	6 (6,4%)	8 (8,5%)	1,36 (0,45-4,10)	0,598
<b>Sobredominante</b>	A/A-G/G	56 (59,6%)	40 (42,5%)	1,00	<b>0,019*</b>
	A/G	38 (40,4%)	54 (57,5%)	1,99 (1,11-3,55)	<b>0,020*</b>
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	1,77 (1,10-2,87)	<b>0,017*</b>
<b>Polimorfismo P4 (rs76968380)</b>					
<b>Modelo</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Población cis (%)</b>	<b>Población trans (%)</b>	<b>OR</b>	<b>P</b>
<b>Codominante</b>	G/G	88 (93,6%)	80 (85,1%)	1,00	0,075
	G/A	6 (6,4%)	12 (12,8%)	2,20 (0,79-6,14)	0,132
	A/A	0 (0%)	2 (2,1%)	NA (0,00-NA)	--
<b>Dominante</b>	G/G	88 (93,6%)	80 (85,1%)	1,00	0,055
	G/A-A/A	6 (6,4%)	14 (14,9%)	2,57 (0,94-7,00)	0,065
<b>Recesivo</b>	G/G-G/A	94 (100%)	92 (97,9%)	1,00	0,095
	A/A	0 (0%)	2 (2,1%)	NA (0,00-NA)	--
<b>Sobredominante</b>	G/G-A/A	88 (93,6%)	82 (87,2%)	1,00	0,13
	G/A	6 (6,4%)	12 (12,8%)	2,15 (0,77-5,98)	0,144
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	2,57 (1,01-6,55)	<b>0,034*</b>
<b>Polimorfismo P5 (rs34406737)</b>					
<b>Modelo</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Población cis (%)</b>	<b>Población trans (%)</b>	<b>OR</b>	<b>P</b>
<b>Codominante</b>	G/G	63 (67%)	72 (76,6%)	1,00	<b>0,0029*</b>
	G/A	31 (33%)	17 (18,1%)	0,48 (0,24-0,95)	<b>0,036*</b>
	A/A	0 (0%)	5 (5,3%)	NA (0,00-NA)	--
<b>Dominante</b>	G/G	63 (67%)	72 (76,6%)	1,00	0,14
	G/A-A/A	31 (33%)	22 (23,4%)	0,62 (0,33-1,18)	0,142
<b>Recesivo</b>	G/G-G/A	94 (100%)	89 (94,7%)	1,00	<b>0,0078*</b>
	A/A	0 (0%)	5 (5,3%)	NA (0,00-NA)	--
<b>Sobredominante</b>	G/G-A/A	63 (67%)	77 (81,9%)	1,00	<b>0,018*</b>
	G/A	31 (33%)	17 (18,1%)	0,45 (0,23-0,88)	<b>0,020*</b>
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	0,85 (0,49-1,49)	0,57
<b>Polimorfismo P6 (rs1963250)</b>					
<b>Modelo</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Población cis (%)</b>	<b>Población trans (%)</b>	<b>OR</b>	<b>P</b>
<b>Codominante</b>	T/T	20 (21,3%)	37 (39,4%)	1,00	<b>0,015*</b>
	T/G	54 (57,5%)	46 (48,9%)	0,46 (0,24-0,90)	<b>0,021*</b>
	G/G	20 (21,3%)	11 (11,7%)	0,30 (0,12-0,74)	<b>0,009*</b>
<b>Dominante</b>	T/T	20 (21,3%)	37 (39,4%)	1,00	<b>0,0067*</b>
	T/G-G/G	74 (78,7%)	57 (60,6%)	0,42 (0,22-0,79)	<b>0,008*</b>
<b>Recesivo</b>	T/T-T/G	74 (78,7%)	83 (88,3%)	1,00	0,075
	G/G	20 (21,3%)	11 (11,7%)	0,49 (0,22-1,09)	0,080

<b>Sobredominante</b>	T/T-G/G	40 (42,5%)	48 (51,1%)	1,00	0,24
	T/G	54 (57,5%)	46 (48,9%)	0,71 (0,40-1,26)	0,245
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	0,53 (0,34-0,83)	<b>0,0043*</b>

**Polimorfismo P7 (rs10755950)**

Modelo	Genotipo	Población cis (%)	Población trans (%)	OR	P
<b>Codominante</b>	G/G	33 (35,1%)	31 (33%)	1,00	0,064
	A/G	50 (53,2%)	40 (42,5%)	0,85 (0,45-1,62)	0,632
	A/A	11 (11,7%)	23 (24,5%)	2,23 (0,93-5,31)	0,071
<b>Dominante</b>	G/G	33 (35,1%)	31 (33%)	1,00	0,76
	A/G-A/A	61 (64,9%)	63 (67%)	1,10 (0,60-2,01)	0,770
<b>Recesivo</b>	G/G-A/G	83 (88,3%)	71 (75,5%)	1,00	<b>0,022*</b>
	A/A	11 (11,7%)	23 (24,5%)	2,44 (1,11-5,36)	<b>0,026*</b>
<b>Sobredominante</b>	G/G-A/A	44 (46,8%)	54 (57,5%)	1,00	0,14
	A/G	50 (53,2%)	40 (42,5%)	0,65 (0,37-1,16)	0,14
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	1,35 (0,90-2,04)	0,15

**Polimorfismo P8 (rs56055423)**

Modelo	Genotipo	Población cis (%)	Población trans (%)	OR	P
<b>Codominante</b>	A/A	91 (96,8%)	81 (86,2%)	1,00	<b>0,021*</b>
	A/G	3 (3,2%)	12 (12,8%)	4,49 (1,22-16,49)	<b>0,024*</b>
	G/G	0 (0%)	1 (1,1%)	NA (0,00-NA)	--
<b>Dominante</b>	A/A	91 (96,8%)	81 (86,2%)	1,00	<b>0,0068*</b>
	A/G-G/G	3 (3,2%)	13 (13,8%)	4,87 (1,34-17,69)	<b>0,016*</b>
<b>Recesivo</b>	A/A-A/G	94 (100%)	93 (98,9%)	1,00	0,24
	G/G	0 (0%)	1 (1,1%)	NA (0,00-NA)	--
<b>Sobredominante</b>	A/A-G/G	91 (96,8%)	82 (87,2%)	1,00	<b>0,012*</b>
	A/G	3 (3,2%)	12 (12,8%)	4,44 (1,21-16,29)	<b>0,024*</b>
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	4,69 (1,32-16,63)	<b>0,0057*</b>

**Polimorfismo P9 (rs133084)**

Modelo	Genotipo	Población cis (%)	Población trans (%)	OR	P
<b>Codominante</b>	C/C	27 (28,7%)	42 (44,7%)	1,00	0,056
	T/C	46 (48,9%)	39 (41,5%)	0,55 (0,29-1,04)	0,066
	T/T	21 (22,3%)	13 (13,8%)	0,40 (0,17-0,93)	<b>0,034*</b>
<b>Dominante</b>	C/C	27 (28,7%)	42 (44,7%)	1,00	<b>0,023*</b>
	T/C-T/T	67 (71,3%)	52 (55,3%)	0,50 (0,27-0,91)	<b>0,025*</b>
<b>Recesivo</b>	C/C-T/C	73 (77,7%)	81 (86,2%)	1,00	0,13
	T/T	21 (22,3%)	13 (13,8%)	0,56 (0,26-1,19)	0,135
<b>Sobredominante</b>	C/C-T/T	48 (51,1%)	55 (58,5%)	1,00	0,3
	T/C	46 (48,9%)	39 (41,5%)	0,74 (0,42-1,32)	0,307
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	0,61 (0,41-0,93)	<b>0,019*</b>

**Polimorfismo P10 (rs11806)**

Modelo	Genotipo	Población cis (%)	Población trans (%)	OR	P
<b>Codominante</b>	A/A	37 (39,8%)	25 (26,6%)	1,00	0,076
	A/G	45 (48,4%)	49 (52,1%)	1,61 (0,84-3,08)	0,151
	G/G	11 (11,8%)	20 (21,3%)	2,69 (1,10-6,58)	<b>0,030*</b>
<b>Dominante</b>	A/A	37 (39,8%)	25 (26,6%)	1,00	0,055
	A/G-G/G	56 (60,2%)	69 (73,4%)	1,82 (0,98-3,38)	0,058

RESULTADOS

<b>Recesivo</b>	A/A-A/G	82 (88,2%)	74 (78,7%)	1,00	0,08
	G/G	11 (11,8%)	20 (21,3%)	2,01 (0,91-4,48)	0,086
<b>Sobredominante</b>	A/A-G/G	48 (51,6%)	45 (47,9%)	1,00	0,61
	A/G	45 (48,4%)	49 (52,1%)	1,16 (0,65-2,06)	0,627
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	1,63 (1,06-2,52)	<b>0,023*</b>
<b>Polimorfismo P11 (rs2191416)</b>					
<b>Modelo</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Población cis (%)</b>	<b>Población trans (%)</b>	<b>OR</b>	<b>P</b>
<b>Codominante</b>	G/G	53 (57%)	47 (50%)	1,00	0,075
	A/G	38 (40,9%)	38 (40,4%)	1,13 (0,62-2,05)	0,702
	A/A	2 (2,1%)	9 (9,6%)	5,07 (1,04-24,67)	<b>0,044*</b>
<b>Dominante</b>	G/G	53 (57%)	47 (50%)	1,00	0,34
	A/G-A/A	40 (43%)	47 (50%)	1,32 (0,74-2,36)	0,354
<b>Recesivo</b>	G/G-A/G	91 (97,8%)	85 (90,4%)	1,00	<b>0,025*</b>
	A/A	2 (2,1%)	9 (9,6%)	4,82 (1,01-22,93)	<b>0,048*</b>
<b>Sobredominante</b>	G/G-A/A	55 (59,1%)	56 (59,6%)	1,00	0,95
	A/G	38 (40,9%)	38 (40,4%)	0,98 (0,55-1,76)	0,951
<b>Log-aditivo</b>	---	---	---	1,49 (0,92-2,41)	0,1

\*Valor de P significativa ( $P \leq 0,05$ ).

El riesgo para cada genotipo es calculado respecto a la categoría de referencia (1,00 referencia).

**Tabla 12.**

*Descripción de las frecuencias alélicas para los polimorfismos con diferencias significativas, y su comparación con las frecuencias alélicas según la base de datos 1000 genomes a nivel mundial y europeo (<http://www.1000genomes.org>).*

<b>Gen</b>	<b>Polimorfismo</b>	<b>Alias</b>	<b>Cambio genético</b>	<b>Frecuencias alélicas en el presente estudio</b>	<b>Frecuencias alélicas en Global 1000 genomes</b>	<b>Frecuencias alélicas en 1000 genomes europeo</b>
<b>NCoA-1</b>	rs10495747	P1	T/C	C= 0,11	C=0,1330	C=0,1153
	rs2584940	P2	T/G	G= 0,38	G=0,4605	G=0,4125
	rs6756785	P3	A/G	G=0,32	G=0,2115	G=0,2883
<b>NCoA-2</b>	rs76968380	P4	G/A	A=0,06	A=0,1138	A=0,0646
	rs34406737	P5	G/A	A=0,15	A=0,1300	A=0,1262
	rs1963250	P6	G/T	T=0,57	T=0,5691	T=0,5368
	rs10755950	P7	G/A	A=0,42	A=0,5655	A=0,4483
	rs56055423	P8	A/G	G=0,05	G=0,0132	G=0,0457
<b>p300</b>	rs133084	P9	T/C	C=0,5956	C=0,5447	C=0,59
	rs11806	P10	A/G	G=0,3894	G=0,3499	G= 0,42
<b>CREBBP</b>	rs2191416	P11	G/A	A=0,2660	A=0,2555	A=0,26

### ***Análisis de interacción de los polimorfismos con la covariable “sexo”***

Para el polimorfismo P2, el genotipo T/G se encontró sobrerrepresentado en la población transgénero de hombres respecto a la población cisgénero de mujeres (OR=2,76;  $P < 0,029$ ) mientras que el genotipo G/G fue más frecuente en la población de mujeres transgénero que en la población cisgénero de hombres (OR=8,0;  $P < 0,016$ ).

Respecto al polimorfismo P9, el genotipo T/T fue más frecuente en la población cisgénero de mujeres que en la población transgénero de hombres (OR=0,34;  $P < 0,014$ ). Mientras que los genotipos A/G y G/G del P10 estaban sobrerrepresentados en la población transgénero masculina respecto a la población cisgénero femenina (OR=2,68;  $P < 0,031$ ).

### ***Análisis de los haplotipos***

El análisis simultáneo de múltiples loci (haplotipos) se llevó a cabo exclusivamente entre los coactivadores con dos o más polimorfismos con diferencias estadísticamente significativas (NCoA-1, NCoA-2 y p300) mediante modelos de regresión logística:

#### ***Polimorfismos en NCoA-1***

Para los tres polimorfismos localizados en NCoA-1 (Tabla 13), el alelo T para el polimorfismo P1 estaba ligado al alelo T para el polimorfismo P2, y el alelo A del polimorfismo P3 (haplotipo 1: T-T-A) con una frecuencia del 45%. Este haplotipo fue más frecuente en la población cisgénero que en la población transgénero.

El haplotipo 5: C-G-A estaba sobrerrepresentado en la población transgénero y mostró también diferencias estadísticamente significativas (OR=2,62;  $P < 0,05$ ). La  $P$  global para el análisis haplotípico fue estadísticamente significativo ( $P < 0,009$ ).

#### ***Polimorfismos en NCoA-2***

Para los cinco polimorfismos localizados en NCoA-2 (Tabla 14), los haplotipos significativos fueron el haplotipo 2: (G-G-T-A-A) (OR=2,49;  $P < 0,02$ ) y el haplotipo 8: (G-

G-T-A-G) (OR=12,86;  $P<0,028$ ), con una  $P$  global de asociación haplotípica  $P<0,005$ . Los dos haplotipos estaban sobrerrepresentados en la población transgénero.

### *Polimorfismos en p300*

Para los polimorfismos localizados en p300 (Tabla 15), el haplotipo que mostró significación estadística fue el haplotipo 2 (T-A) (OR=0,57;  $P<0,018$ ) con un valor de  $P$  global  $P<0,033$ . Este haplotipo se encontró más frecuentemente en la población cisgénero que en la población transgénero, y solo mostró diferencias estadísticamente significativas en la población con sexo natal femenino (OR=0,43;  $P<0,013$ ) (Tabla 16).

Resumiendo, cuando analizamos las frecuencias alélicas y genotípicas, encontramos diferencias significativas en once polimorfismos localizados en NCoA-1, NCoA-2, p300 y CREBBP, siendo NCoA-2 y p300 los coactivadoras con el mayor número de polimorfismos con significación estadística (5/64 y 2/9 respectivamente).

Además, solo P2 (localizado en NCoA-1), P9 (localizado en p300) y P10 (localizado en p300) mostraron una distribución genotípica diferente en hombres y mujeres, es decir mostraron diferencias estadísticamente significativas en el análisis de interacción con la covariable “sexo”. Respecto al análisis haplotípico, se encontraron cuatro haplotipos con diferencias estadísticamente significativas: el haplotipo 5 (C-G-A) en NCoA-1, el haplotipo 2 (G-G-T-A-A) en NCoA-2, el haplotipo 8 (G-G-T-A-G) también en NCoA-2, y el haplotipo 2 (T-A) en p300. Los haplotipos del NCoA-1 y NCoA-2 fueron más frecuentes en la población transgénero (OR=2,62; OR=2,49 y OR=12,86, respectivamente) mientras que el haplotipo 2 (T-A) en p300 fue más frecuente en la población cisgénero (OR=0,57). El haplotipo 8 del NCoA-2 (OR=12,86;  $P<0,028$ ) mostró un valor OR sorprendentemente mucho más alto que los demás. Eso se debe al hecho de que este haplotipo solo se encuentra en la población transgénero.

**Tabla 13.**

*Análisis de las frecuencias haplotípicas para los polimorfismos localizados en NCoA-1 (P1, P2 y P3).*

Estimación de las frecuencias haplotípicas y estudio de asociación con la incongruencia de género (n=188, ajustado según la covariable sexo)									
Haplotipos	P1	P2	P3	Total	Población cis	Población trans	Frecuencias acumulativas	OR (95% CI)	P
1	T	T	A	0,4501	0,5201	0,377	0,4501	1,00	---
2	T	T	G	0,1495	0,134	0,1699	0,5996	2,25 (0,99 - 5,13)	0,054
3	T	G	G	0,147	0,1319	0,1601	0,7466	1,73 (0,81 - 3,71)	0,16
4	T	G	A	0,139	0,1341	0,144	0,8856	1,80 (0,81 - 3,97)	0,15
5	C	G	A	0,069	0,0531	0,0897	0,9546	2,62 (1,00 - 6,83)	<b>0,05*</b>
6	C	T	A	0,0228	0,0267	0,0169	0,9774	1,39 (0,23 - 8,34)	0,72
7	C	G	G	0,0226	0	0,0423	1	379142884,10 (379142883,16 - 379142885,04)	<b>&lt;0,0001*</b>

**P de asociación global: 0,009\***

RESULTADOS

**Tabla 14.**

*Análisis de las frecuencias haplotípicas para los polimorfismos localizados en NCoA-2 (P4, P5, P6, P7 y P8).*

Estimación de las frecuencias haplotípicas y estudio de asociación con la incongruencia de género (n=188, ajustado según la covariable sexo)											
Haplotipos	P4	P5	P6	P7	P8	Total	Población cis	Población trans	Frecuencias acumulativas	OR (95% CI)	P
1	G	G	G	G	A	0,2546	0,3239	0,1963	0,2546	1,00	---
2	G	G	T	A	A	0,2206	0,2142	0,236	0,4752	2,49 (1,16 - 5,34)	<b>0,02*</b>
3	G	G	T	G	A	0,2022	0,1721	0,2303	0,6773	2,00 (0,93 - 4,31)	0,079
4	G	G	G	A	A	0,0891	0,0861	0,0793	0,7664	1,05 (0,38 - 2,88)	0,92
5	G	A	G	G	A	0,0474	0,0656	0,0235	0,8138	0,55 (0,11 - 2,89)	0,48
6	G	A	T	A	A	0,0419	0,0474	0,0423	0,8557	1,11 (0,24 - 5,24)	0,89
7	G	A	T	G	A	0,041	0,0393	0,0426	0,8967	3,00 (0,10 - 86,09)	0,52
8	G	G	T	A	G	0,0217	0	0,036	0,9184	12,86 (1,34 - 123,38)	<b>0,028*</b>
9	A	G	T	G	A	0,0173	0,0085	0,0228	0,9357	5,62 (0,56 - 56,71)	0,15
10	A	G	G	G	A	0,0165	0,0077	0,0205	0,9522	3,53 (0,40 - 31,50)	0,26
11	G	A	T	A	G	0,0138	0,0028	0,0189	0,9659	2,68 (0,27 - 26,20)	0,4
12	A	G	T	A	A	0,0108	0,0158	0,0093	0,9767	0,00 (-Inf - Inf)	1
raro	*	*	*	*	*				1	268876742466656413941852925381944 58249584765033713636843978752,00 (26887674246622846799367197037120 806603076791371544336569204736,00 - 268876742467084359890033880392681 09896092738695882937118752768,00)	<b>&lt;0,0001*</b>

**P de asociación global: 0,005\***

**Tabla 15.**

*Análisis de las frecuencias haplotípicas para los polimorfismos localizados en p300.*

Estimación de las frecuencias haplotípicas y estudio de asociación con la incongruencia de género (n=188, ajustado según la covariable sexo)								
Haplotipos	P9	P10	Total	Población cis	Población trans	Frecuencias acumulativas	OR (95% CI)	P
1	C	G	0,4103	0,3468	0,4734	0,4103	1,00	---
2	T	A	0,4004	0,4549	0,3457	0,8107	0,57 (0,36 - 0,90)	<b>0,018*</b>
3	C	A	0,1828	0,1851	0,1809	0,9935	0,69 (0,38 - 1,27)	0,24
4	T	G	0,0065	0,0132	0	1	0,00 (-Inf - Inf)	1

Valor P de asociación global: **0,033\***

**Tabla 16.**

*Análisis de interacción haplotípica según la covariable sexo para los polimorfismos localizados en p300.*

Tabla de interacción cruzada de los haplotipos según la variable sexo (n=188, análisis crudo)					
Haplotipos	Frecuencias	mujeres		hombres	
		OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
1	0,4102	1,00	--	0,63 (0,19 - 2,07)	0,457
2	0,4003	0,43 (0,22 - 0,83)	<b>0,013*</b>	0,49 (0,19 - 1,27)	0,141
3	0,1829	0,60 (0,26 - 1,40)	0,237	0,52 (0,18 - 1,52)	0,232
raro	0,0066	0,00 (0,00 - Inf)	--	0,00 (-Inf - Inf)	--

Haplotipos within sex (n=188, crude analysis)					
Haplotipos	Frecuencias	mujeres		hombres	
		OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
1	0,4102	1,00	--	1,00	--
2	0,4003	0,43 (0,22 - 0,83)	<b>0,013*</b>	0,77 (0,40 - 1,49)	0,444
3	0,1829	0,60 (0,26 - 1,40)	0,237	0,82 (0,35 - 1,96)	0,665
raro	0,0066	0,00 (0,00 - Inf)	--	0,00 (0,00 - Inf)	--

Sexo within haplotipos (n=188, crude analysis)					
Haplotipos	Frecuencias	mujeres		hombres	
		OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
1	0,4102	1,00	--	0,63 (0,19 - 2,07)	0,457
2	0,4003	1,00	--	1,12 (0,55 - 2,30)	0,769
3	0,1829	1,00	--	0,87 (0,32 - 2,34)	0,796
raro	0,0066	1,00	--	Inf	--

## TERCER ESTUDIO

### *Estudios de las frecuencias alélicas y genotípicas*

Se analizaron las frecuencias alélicas y genotípicas de 242 polimorfismos mitocondriales (Tabla 17) en una población transgénero formada por 47 hombres y 47 mujeres, en comparación con una población cisgénero de 44 hombres y 50 mujeres, con el mismo origen geográfico, raza y sexo biológico.

Cuando comparamos la distribución de las frecuencias genotípicas entre las poblaciones cisgénero y transgénero según el sexo natal se encontraron diferencias estadísticamente significativas en 26 polimorfismos a nivel  $P < 0,05$  (Tabla 18), lo que corresponde a un 10,74% del total de polimorfismos mitocondriales analizados. Los polimorfismos mostraron frecuencias alélicas similares a las encontradas en la base de datos 1000 genomes a nivel mundial y europeo (<http://www.1000genomes.org>) (Tabla 18).

Solo el polimorfismo Afx-34461653 (rs2853496), localizado en los genes *MT-ND4* y *MT-ND5* pasó la corrección de Bonferroni ( $0,05/242$ ;  $P < 0,0002$ ) (Tabla 18). En este caso, el genotipo A/A se encontró sobrerrepresentado en la población transgénero (OR=17,33 (2,24-134,20);  $P < 0,0001$ ) (Tabla 18).

### *Análisis de interacción de los polimorfismos con la covariable “sexo”*

Cuando se analizaron las interacciones con la covariable “sexo” comparando poblaciones cisgénero y transgénero con el mismo sexo natal, solo tres polimorfismos mostraron diferencias estadísticamente significativas: Afx-79504644, Afx-34461959 y Afx-34462190 (Tabla 19), mostrando una distribución genotípica diferente en hombres y mujeres, tanto en la población cisgénero como en la transgénero.

Así, el polimorfismo Afx-79504644 (Tabla 19) mostró un OR con significación estadística solo en la población de mujeres transgénero. El genotipo G/G fue más frecuente en la población transgénero con sexo masculino (OR=2,51 (1,08-5,88);  $P < 0,033$ ), mientras

que el genotipo A/A fue más frecuente en la población de hombres cisgénero [OR=0,40 (0,16-0,99);  $P<0,048$ ] (Tabla 19).

Respecto a los otros dos polimorfismos que mostraron diferencias significativas debidas al sexo, Affx-34461959 y Affx-34462190 (Tabla 19) se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la población de mujeres transgénero. El genotipo G/G (polimorfismo Affx-34461959) se encontró sobrerrepresentado en la población de mujeres transgénero (OR=2,30 (1,06-5,02);  $P<0,035$ ), al igual que el genotipo T/T (polimorfismo Affx-34462190) (OR=2,30 (1,06-5,02);  $P<0,035$ ) (Tabla 19). Los otros genotipos no mostraron diferencias estadísticamente significativas.

### ***Análisis de los haplotipos***

El análisis del desequilibrio de ligamiento se llevó a cabo entre los polimorfismos con significación estadística. En las Tablas 20-22 se muestran los resultados del análisis de los haplotipos: valor de  $P$  (Tabla 20), estimación de las frecuencias haplotípicas (Tabla 21) y asociación de los haplotipos con la IG (Tabla 22). El valor de  $P$  global de la asociación de los haplotipos con la IG fue estadísticamente significativo ( $P\leq 0,00012$ ) siendo el haplotipo 6 el que mostró diferencias estadísticamente significativas [OR=3,28 (1,11 – 9,73);  $P<0,034$ ] con una frecuencia más alta en la población transgénero que en la población cisgénero (Tabla 22).

RESULTADOS

**Tabla 17.**

*Características de los polimorfismos mitocondriales analizados que presentaron diferencias estadísticamente significativas a nivel  $P < 0,05$ .*

Affy_SNP_ID	Posición	dbSNP_RS_ID	Genes implicados	Variación en el ADN	Frecuencias en el presente estudio (todos los sujetos)	Frecuencias en la base de datos 1000 genomes a nivel internacional	Frecuencias en la base de datos 1000 genomes a nivel europeo
Affx-79504644	73	---	---	G>A	0,5	---	---
Affx-52321592	228	rs41323649	Ninguno	G>A	0,04	0,055	0,060
Affx-34461959	2706	rs2854128	MT-ND1:2KB MT-ND2	A>G	0,57	0,610	0,575
Affx-79381661	3480	rs28358584	MT-ND1, MT-ND2	A>G	0,095	0,093	0,099
Affx-92047845	3834	rs372080842	MT-ND1, MT-ND2	G>A	0,002	0,005	0,006
Affx-89025744	4715	rs28357976	MT-CO1, MT-ND1, MT-ND2	A>G	0,004	0,004	0,003
Affx-79381669	4820	rs28357977	MT-CO1, MT-ND2	G>A	0,002	0,006	0,003
Affx-34462083	4883	rs200763872	MT-CO1, MT-ND2	C>T	0,003	0,012	0,001
Affx-89025691	5178	rs28357984	MT-CO1, MT-ND2	C>A	0,003	0,006	0,002
Affx-34462190	7028	rs2015062	MT-ATP6, MT-ATP8, MT-CO1, MT-CO2	C>T	0,43	0,640	0,582
Affx-79443447	7476	rs201950015	MT-ATP6, MT-ATP8, MT-CO1, MT-CO2, MT-CO3	C>T	0,02	0,015	0,016
Affx-89025749	8994	rs28358887	MT-ATP6, MT-ATP8, MT-CO3, MT-ND3, MT-ND4, MT-ND4L	G>A	0,02	0,022	0,021
Affx-79381684	9698	rs9743	MT-ATP6, MT-CO3, MT-ND3, MT-ND4, MT-ND4L	T>C	0,05	0,1537	0,165
Affx-79381690	10398	rs2853826	MT-CO3, MT-ND3, MT-ND4, MT-ND4L, MT-ND5	A>G	0,21	0,169	0,151
Affx-89025669	10400	rs28358278	MT-CO3, MT-ND3, MT-ND4, MT-ND4L, MT-ND5	C>T	0,08	0,028	0,011
Affx-79381693	10873	---	---	C>T	0,11	---	---
Affx-34461653	11914	rs2853496	MT-ND4, MT-ND5	G>A	0,09	0,110	0,098

---

Affx-79381700	12705	rs267606893	MT-ND5	T>C	0,81	0,910	0,907
Affx-79381702	13263	rs28359175	MT-CYB, MT-ND5	A>G	0,04	0,007	0,005
Affx-89025746	14167	rs28357670	---	T>C	0,05	---	---
Affx-86496743	14318	rs28357675	MT-CYB, MT-ND5, MT-ND6	T>C	0,04	0,003	0,001
Affx-34461803	14798	rs28357681	MT-CYB, MT-ND6	T>C	0,08	0,167	0,171
Affx-79381709	15043	---	---	G>A	0,09	---	---
Affx-79381711	15301	---	---	G>A	0,11	---	---
Affx-79381717	15930	---	---	G>A	0,02	---	---
Affx-34461862	16153	rs2853512	MT-CYB, MT-ND6	G>A	0,02	0,000	0,00

---

--- dato desconocido

RESULTADOS

**Tabla 18.**

*Análisis de las frecuencias genotípicas para los polimorfismos mitocondriales con diferencias estadísticamente significativas a nivel  $P < 0,05$ .*

<b>Affx-79504644 (n=187)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
G/G	37 (39,4%)	57 (61,3%)	1	0,003*
A/A	57 (60,6%)	36 (38,7%)	<b>0,41 (0,23-0,74)</b>	
<b>Affx-52321592 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
G/G	94 (100%)	87 (92,5%)	1	0,0015*
A/A	0 (0%)	7 (7,5%)	NA (0,00-NA)	
<b>Affx-34461959 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
G/G	46 (48,9%)	62 (66%)	1	0,019*
A/A	48 (51,1%)	32 (34%)	<b>0,50 (0,28-0,90)</b>	
<b>Affx-79381661 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
A/A	92 (97,9%)	86 (91,5%)	1	0,044*
G/G	2 (2,1%)	8 (8,5%)	<b>4,28 (0,88-20,71)</b>	
<b>Affx-92047845 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
G/G	91 (96,8%)	94 (100%)	1	0,044*
A/A	3 (3,2%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	
<b>Affx-89025744 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
A/A	94 (100%)	87 (92,5%)	1	0,0018*
G/G	0 (0%)	7 (7,5%)	NA (0,00-NA)	
<b>Affx-79381669 (n=186)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
G/G	94 (100%)	89 (96,7%)	1	0,041*
A/A	0 (0%)	3 (3,3%)	NA (0,00-NA)	
<b>Affx-34462083 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
C/C	94 (100%)	89 (94,7%)	1	0,0085*
T/T	0 (0%)	5 (5,3%)	NA (0,00-NA)	
<b>Affx-89025691 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
C/C	94 (100%)	89 (94,7%)	1	0,0085*
A/A	0 (0%)	5 (5,3%)	NA (0,00-NA)	
<b>Affx-34462190 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
T/T	46 (48,9%)	62 (66%)	1	0,019*
C/C	48 (51,1%)	32 (34%)	<b>0,50 (0,28-0,90)</b>	

<b>Affx-79443447 (n=187)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
C/C	90 (96,8%)	94 (100%)	1	0,037*
T/T	3 (3,2%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	
<b>Affx-89025749 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
G/G	94 (100%)	91 (96,8%)	1	0,042*
A/A	0 (0%)	3 (3,2%)	NA (0,00-NA)	
<b>Affx-79381684 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
T/T	92 (97,9%)	86 (91,5%)	1	0,044*
C/C	2 (2,1%)	8 (8,5%)	4,28 (0,88-20,71)	
<b>Affx-79381690 (n=187)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
A/A	83 (89,2%)	64 (68,1%)	1	3,00E-04*
G/G	10 (10,8%)	30 (31,9%)	3,95 (1,78-8,78)	
<b>Affx-89025669 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
C/C	92 (97,9%)	81 (86,2%)	1	0,002*
T/T	2 (2,1%)	13 (13,8%)	7,38 (1,60-33,98)	
<b>Affx-79381693 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
T/T	90 (95,7%)	77 (81,9%)	1	0,0021*
C/C	4 (4,3%)	17 (18,1%)	4,99 (1,59-15,62)	
<b>Affx-34461653 (n=187)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
G/G	92 (98,9%)	79 (84%)	1	1,00E-04†
A/A	1 (1,1%)	15 (16%)	17,33 (2,24-134,20)	
<b>Affx-79381700 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
C/C	83 (88,3%)	70 (74,5%)	1	0,016*
T/T	11 (11,7%)	24 (25,5%)	2,58 (1,17-5,69)	
<b>Affx-79381702 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
A/A	94 (100%)	87 (92,5%)	1	0,0018*
G/G	0 (0%)	7 (7,5%)	NA (0,00-NA)	
<b>Affx-89025746 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
C/C	92 (97,9%)	86 (91,5%)	1	0,044*
T/T	2 (2,1%)	8 (8,5%)	4,28 (0,88-20,71)	
<b>Affx-86496743 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
T/T	94 (100%)	87 (92,5%)	1	0,0018*
C/C	0 (0%)	7 (7,5%)	NA (0,00-NA)	

RESULTADOS

<b>Affx-34461803 (n=186)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
T/T	89 (96,7%)	82 (87,2%)	1	0,014*
C/C	3 (3,3%)	12 (12,8%)	<b>4,36 (1,19-16,01)</b>	
<b>Affx-79381709 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
G/G	91 (96,8%)	81 (86,2%)	1	0,0076*
A/A	3 (3,2%)	13 (13,8%)	<b>4,86 (1,32-17,87)</b>	
<b>Affx-79381711 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
G/G	90 (95,7%)	78 (83%)	1	0,0038*
A/A	4 (4,3%)	16 (17%)	<b>4,59 (1,46-14,37)</b>	
<b>Affx-79381717 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
G/G	94 (100%)	90 (95,7%)	1	0,018*
A/A	0 (0%)	4 (4,3%)	NA (0,00-NA)	
<b>Affx-34461862 (n=188)</b>				
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
G/G	91 (96,8%)	94 (100%)	1	0,042*
A/A	3 (3,2%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	

\* *diferencias estadísticas a nivel  $P < 0,05$ \**.

† Diferencias estadísticas según la corrección de Bonferroni ( $0,05/242$ ;  $P < 0,0002$ ).

**Tabla 19.**

*Tabla de interacción con la covariable sexo para los tres polimorfismos mitocondriales con significación estadística a nivel  $P < 0,05$ .*

<b>Affx-79504644 (n=187)</b>								
<b>Genotipos</b>	<b>mujeres</b>				<b>hombres</b>			
	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
<b>G/G</b>	22	21	1	---	15	36	<b>2,51 (1,08-5,88)</b>	<b>0,033*</b>
<b>A/A</b>	28	25	0,94 (0,42-2,09)	0,889	29	11	<b>0,40 (0,16-0,99)</b>	<b>0,048*</b>
<b>P de interacción: 0,0038*</b>								
<b>Affx-34461959 (n=188)</b>								
<b>Genotipos</b>	<b>mujeres</b>				<b>hombres</b>			
	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
<b>G/G</b>	28	25	1	---	18	37	<b>2,30 (1,06-5,02)</b>	<b>0,035*</b>
<b>A/A</b>	22	22	1,12 (0,50-2,49)	0,794	26	10	0,43 (0,17-1,07)	0,072
<b>P de interacción: 0,0035*</b>								
<b>Affx-34462190 (n=188)</b>								
<b>Genotipos</b>	<b>mujeres</b>				<b>hombres</b>			
	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
<b>T/T</b>	28	25	1	---	18	37	<b>2,30 (1,06-5,02)</b>	<b>0,035*</b>
<b>C/C</b>	22	22	1,12 (0,50-2,49)	0,794	26	10	0,43 (0,17-1,07)	0,072
<b>P de interacción: 0,0035*</b>								

\* *Diferencias estadísticamente significativas a nivel ( $P < 0,05$ ).*

RESULTADOS

**Tabla 20.**

*Resultados del análisis (valores P) del estudio de las frecuencias haplotípicas y asociación de los haplotipos con la IG para los polimorfismos mitocondriales.*

	Affx-79504644	Affx-34461959	Affx-79381661	Affx-34462190	Affx-79381684	Affx-79381690	Affx-89025669	Affx-79381693	Affx-34461653	Affx-79381700	Affx-89025746	Affx-34461803	Affx-79381709	Affx-79381711
Affx-79504644	,	0	0	0	0	0	0	0	0,031	0	0	0	0	0
Affx-34461959	,	,	1,00E-04	0	1,00E-04	0	0	0	0,1679	0	1,00E-04	0	0	0
Affx-79381661	,	,	,	1,00E-04	0	0	0,1823	0,1068	0	0,0289	0	0	0,1667	0,9277
Affx-34462190	,	,	,	,	1,00E-04	0	0	0	0,1679	0	1,00E-04	0	0	0
Affx-79381684	,	,	,	,	,	0	0,1823	0,1068	0	0,0289	0	0	0,1667	0,9277
Affx-79381690	,	,	,	,	,	,	0	0	0	0	0	0	0	0
Affx-89025669	,	,	,	,	,	,	,	0	0	0	0,1823	0,0953	0	0
Affx-79381693	,	,	,	,	,	,	,	,	0	0	0,1068	0,0441	0	0
Affx-34461653	,	,	,	,	,	,	,	,	,	1,00E-04	0	3,00E-04	0	0
Affx-79381700	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	0,0289	0,0065	0	0
Affx-89025746	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	0	0,1667	0,9277
Affx-34461803	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	0,0839	0,453
Affx-79381709	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	0
Affx-79381711	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,	,

**Tabla 21.**

*Estimación de las frecuencias haplotípicas (n=188) para los polimorfismos mitocondriales.*

Haplotipos	Affx-79504644	Affx-34461959	Affx-79381661	Affx-34462190	Affx-79381684	Affx-79381690	Affx-89025669	Affx-79381693	Affx-34461653	Affx-79381700	Affx-89025746	Affx-34461803	Affx-79381709	Affx-79381711	Total	Pobl. cis	Pobl. trans	Frecuencias acumulativas
1	A	A	A	C	T	A	C	T	G	C	C	T	G	G	0,383	0,4894	0,2766	0,383
2	G	G	A	T	T	A	C	T	G	C	C	T	G	G	0,1915	0,1915	0,1915	0,5745
3	A	G	A	T	T	A	C	T	G	C	C	T	G	G	0,0851	0,117	0,0532	0,6596
4	G	G	A	T	T	A	C	T	G	T	C	T	G	G	0,0691	0,0638	0,0745	0,7287
5	G	G	A	T	T	G	T	C	G	T	C	T	A	A	0,0426	0,0213	0,0638	0,7713
6	G	G	A	T	T	G	C	T	G	C	C	C	G	G	0,0372	0,0106	0,0638	0,8085
7	G	G	A	T	T	G	T	C	A	T	C	T	A	A	0,0372	NA	0,0745	0,8457
8	A	A	A	C	T	A	C	T	A	C	C	T	G	G	0,0266	NA	0,0532	0,8723
9	G	G	A	T	T	G	C	C	G	T	C	T	G	A	0,0213	0,0106	0,0319	0,8936
10	G	G	A	T	T	G	C	T	G	C	C	T	G	G	0,0213	0,0319	0,0106	0,9149
11	G	G	G	T	C	G	C	T	A	C	T	C	G	G	0,0213	0,0106	0,0319	0,9362
12	G	A	A	C	T	A	C	T	G	C	C	T	G	G	0,016	0,0213	0,0106	0,9521
13	G	G	G	T	C	G	C	T	G	C	T	C	G	G	0,016	NA	0,0319	0,9681
14	G	G	A	T	T	G	C	C	G	T	C	T	G	G	0,0106	0,0106	0,0106	0,9787
15	G	G	G	T	C	A	C	T	G	C	T	T	G	G	0,0106	NA	0,0213	0,9894
16	G	G	A	T	T	G	C	T	G	T	C	T	A	G	0,0053	0,0106	NA	0,9947
17	G	G	G	T	C	G	C	T	G	C	T	C	G	A	0,0053	0,0106	NA	1
18	G	G	A	T	T	A	T	C	G	T	C	T	A	A	0	0	NA	1

RESULTADOS

**Tabla 22.**

*Estudio de asociación de los haplotipos y la incongruencia de género (n=188, ajustado a la covariable sexo) para los polimorfismos mitocondriales.*

Haplotipos	Affx-79504644	Affx-34461959	Affx-79381661	Affx-34462190	Affx-79381684	Affx-79381690	Affx-89025669	Affx-79381693	Affx-34461653	Affx-79381700	Affx-89025746	Affx-34461803	Affx-79381709	Affx-79381711	Frecuencias	OR (95% CI)	P
1	A	A	A	C	T	A	C	T	G	C	C	T	G	G	0,383	1	---
2	G	G	A	T	T	A	C	T	G	C	C	T	G	G	0,1915	1,33 (0,89 - 2,00)	0,17
3	A	G	A	T	T	A	C	T	G	C	C	T	G	G	0,0851	0,90 (0,50 - 1,60)	0,71
4	G	G	A	T	T	A	C	T	G	T	C	T	G	G	0,0691	1,43 (0,79 - 2,60)	0,24
5	G	G	A	T	T	G	T	C	G	T	C	T	A	A	0,0426	2,29 (0,99 - 5,28)	0,054
6	G	G	A	T	T	G	C	T	G	C	C	C	G	G	0,0372	<b>3,28 (1,11 - 9,73)</b>	<b>0,034</b>
7	G	G	A	T	T	G	T	C	A	T	C	T	A	A	0,0372	103853,96 (-Inf - Inf)	1
8	A	A	A	C	T	A	C	T	A	C	C	T	G	G	0,0266	106835,21 (-Inf - Inf)	1
9	G	G	A	T	T	G	C	C	G	T	C	T	G	A	0,0213	2,30 (0,72 - 7,31)	0,16
10	G	G	A	T	T	G	C	T	G	C	C	T	G	G	0,0213	0,76 (0,24 - 2,42)	0,64
11	G	G	G	T	C	G	C	T	A	C	T	C	G	G	0,0213	2,30 (0,72 - 7,31)	0,16
12	G	A	A	C	T	A	C	T	G	C	C	T	G	G	0,016	0,92 (0,27 - 3,16)	0,89
13	G	G	G	T	C	G	C	T	G	C	T	C	G	G	0,016	103209,76 (-Inf - Inf)	1
14	G	G	A	T	T	G	C	C	G	T	C	T	G	G	0,0106	1,30 (0,31 - 5,36)	0,72
15	G	G	G	T	C	A	C	T	G	C	T	T	G	G	0,0106	107749,56 (-Inf - Inf)	1
raro	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0,0106	0,00 (-Inf - Inf)	1

**Valor de P global: 0,00012**



## 5. DISCUSIÓN

---



El objetivo principal de esta Tesis fue profundizar en el conocimiento de la base genética de la IG (ICD-11) (World Health Organization, 2018) dado que es un proceso de etiología compleja en donde intervienen la acción conjunta de diferentes hormonas, receptores hormonales, genes, interacciones gen-gen y gen-ambiente, durante las etapas pre y perinatales (Joel, 2021; Joel & McCarthy, 2017; McCarthy, Herold, & Stockman, 2018).

## **PRIMER ESTUDIO**

En el primer estudio se analizaron las frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas de cuatro polimorfismos (C1, C2, C3 y C4) situados en la región promotora del gen *ESR1* y su implicación en la base genética de la IG, a través del estudio de una población con IG respecto a una población cisgénero con similares características (raza, sexo y origen geográfico).

El estudio de las frecuencias alélicas mostró diferencias estadísticamente significativas para el alelo corto del polimorfismo C2 y el alelo A del polimorfismo C4, que aparecen asociados a la IG en la población de hombres transgénero, pero no en el de mujeres transgénero. Estos datos respaldan los resultados obtenidos en investigaciones previas sobre la implicación del ER $\alpha$  en la base genética de la IG (Cortés-Cortés et al., 2017; Fernández et al., 2018).

El análisis de las frecuencias haplotípicas también mostró una asociación estadísticamente significativa con la IG. Así, el haplotipo 3 (T-L-C-A) se encontró sobrerrepresentado en la población de hombres transgénero, mientras que el haplotipo 2 (T-L-C-G) se encontraba sobrerrepresentado en la población cisgénero.

El modelo teórico existente sobre la región promotora del gen *ESR1* muestra que los alelos menos frecuentes, es decir C para el polimorfismo C1 y L para el polimorfismo C2 impiden la unión del factor de transcripción en la región determinante del sexo en el cromosoma Y. Los polimorfismos C2 y C3 se encuentran en una región altamente conservada entre especies (Weickert et al., 2008), y según Mooney y colaboradores (2003), esto aumenta la posible implicación teórica de estos dos polimorfismos en la base genética de la IG. De

hecho, se sabe que los cambios espontáneos en la secuencia de ADN de los receptores de esteroides pueden tener efectos profundos en la fisiología reproductiva en la edad adulta (Brown, 1996; Tenbaum & Baniahmad, 1997; Toppari & Skakkebjk, 1998).

Teniendo en cuenta estas consideraciones sobre la importancia biológica teórica de la secuencia de ADN en la región promotora, nuestros resultados sugieren que los polimorfismos C1 y C2 podrían ser polimorfismos funcionalmente influyentes en la regulación de la expresión del gen *ESRI*. No obstante, estas predicciones necesitan ser confirmadas mediante experimentos de unión del factor de transcripción.

En cuanto a los polimorfismos C3 y C4, aunque no se encuentran en la región promotora del gen *ESRI*, se localizan en el primer intrón del gen y poseen un efecto significativo ya demostrado sobre la síntesis de la proteína (Laurie & Stam, 1994). Herrington y colaboradores (2002) encontraron que la variación T/C en el polimorfismo C3, da como resultado un nuevo sitio de unión para los factores de transcripción que podría mejorar la transcripción *in vitro*. Por tanto, en algunos entornos, la presencia del alelo C para el polimorfismo C3 podría amplificar teóricamente la transcripción del gen *ESRI* (Herrington et al., 2002).

Maruyama y colaboradores (2000) también detectaron una actividad potenciadora pequeña pero significativa que difería entre los diferentes haplotipos. Así, la actividad potenciadora del alelo G (en el polimorfismo C4) fue mayor que la actividad debida a la presencia del alelo A (Maruyama et al., 2000). Tangencialmente, los estudios farmacogenéticos sobre la osteoporosis han sugerido que las mujeres con haplotipo C-G (polimorfismos C3-C4) tienen una mayor sensibilidad al tratamiento con estrógenos que otras mujeres (Gennari et al., 2007).

En resumen, los datos provenientes de experimentación, así como los estudios de expresión genética y el hecho de que los SNPs que se localizan en las regiones promotoras, o próximas a ellas, tienen una implicación funcional en la expresión genética (Johnson et al., 2008; Ramírez-Bello & Jiménez-Morales, 2017), sugieren que los polimorfismos C1, C2, C3 y C4 podrían estar implicados en la base genética de la IG mediante su influencia en la regulación de la expresión del gen *ESRI*.

En humanos, los genes *ESR1* y *ESR2* codifican los receptores de estrógenos ER $\alpha$  y ER $\beta$  respectivamente, miembros de una familia de receptores que son al mismo tiempo receptores hormonales y factores de transcripción que se activan por la unión a su ligando, los estrógenos. Los dos ERs exhiben diferente distribución en el tejido cerebral, así como diferente afinidad por los estrógenos (Kuiper et al., 1997), además de presentar también diferentes propiedades transcripcionales (Matthews & Gustafsson, 2003). Así, una vez unido a los estrógenos, el receptor ER dimeriza pudiendo unirse a otra molécula igual a ella, formando un homodímero ( $\alpha$ - $\alpha$ ,  $\beta$ - $\beta$ ), pero también podrá formar un heterodímero ( $\alpha$ - $\beta$ ) permitiendo al receptor interactuar con mayor o menor afinidad con su secuencia de ADN diana, localizada en las proximidades de las regiones promotoras de los genes diana, modulando así el proceso de transcripción en un efecto dominó (Li et al., 2001; Matthews & Gustafsson, 2003; Ponglikitmongkol et al., 1988; Safe, 2001).

Esta capacidad de regular directamente la síntesis de proteínas contribuye a potenciar el efecto de los esteroides en el cerebro en desarrollo (McCarthy, 2009). Los estrógenos son un importante regulador de la diferenciación cerebral, y los receptores ERs juegan una función clave en la diferenciación sexual y en el comportamiento (McCarthy, 2008). Además, los receptores ER  $\alpha$  y  $\beta$  se encuentran tanto en el cerebro en desarrollo (González et al., 2007) como en el cerebro adulto (Osterlund, 2000).

Teniendo estas consideraciones en cuenta, podríamos hipotetizar que las variaciones en la secuencia de ADN en la región promotora del gen *ESR1* podrían modificar la transcripción genética, que a su vez modificarían características importantes del receptor hormonal, como por ejemplo alterando la respuesta a los estrógenos durante un periodo prenatal crítico, cuando el cerebro es sensible a los efectos organizativos de la testosterona y su metabolito, los estrógenos. Además, las hormonas esteroideas se encuentran entre las moléculas de señalización más poderosas y duraderas del cuerpo (McCarthy, 2009) de tal manera que una pequeña variación en la sensibilidad del receptor de estrógenos podría implicar grandes cambios a nivel cerebral (Schwarz & McCarthy, 2008a).

Una de las limitaciones de nuestro trabajo consistió en el tamaño y homogeneidad de la muestra, ya que representa solo una parte de la población transgénero. No debemos olvidar

que esta muestra fue obtenida exclusivamente a partir de una población transgénero que estaba siendo atendida en la UIG del Hospital Clínic de Barcelona y era solicitante de tratamiento hormonal cruzado (GAHT). Por lo tanto, en esta investigación solo se estudió una pequeña parte de la población transgénero con IG. Ello hace que nuestra muestra sea muy homogénea, tal como se requiere para el análisis genético, pero al mismo tiempo esto hace que los resultados solo sean representativos para una parte de la población transgénero.

Como conclusión final podemos afirmar que nuestros datos confirman la implicación del gen *ESRI* en la base genética de la IG. Además, nuestros datos apoyan la hipótesis de que la IG es un rasgo complejo y multifactorial de la conducta humana que implica complejas interacciones entre los esteroides, los receptores hormonales y múltiples genes.

## **SEGUNDO ESTUDIO**

Las mutaciones que ocurren espontáneamente en los receptores de esteroides o las alteraciones en los niveles normales de las hormonas esteroideas durante el desarrollo, tienen efectos severos sobre la fisiología reproductiva del adulto (Brown, 1996; Tenbaum & Baniahmad, 1997; Toppari & Skakkebjk, 1998). Sin embargo, no todos los trastornos relacionados con el sistema endocrino se deben a alteraciones en la secuencia del ADN del gen de los receptores de esteroides o a los niveles hormonales, es por ello que se ha implicado un papel potencial para una clase adicional de proteínas, los correguladores de los receptores nucleares (Hsiao et al., 1999).

Las hormonas esteroides actúan en el cerebro uniéndose a receptores intracelulares ubicados predominantemente en las neuronas (Auger, Tetel, & McCarthy, 2000). Al unirse al ligando, el complejo esteroide-receptor se une a un elemento de respuesta hormonal ubicado en el ADN (Jensen et al., 1968; Walters, 1985) donde regula la transcripción de genes y, en última instancia, la función neuronal (Carson-Jurica et al., 1990; Walters, 1985). Estudios recientes revelan que los receptores de esteroides interactúan con otras proteínas, coactivadores o correpresores de receptores nucleares, que aumentan o disminuyen respectivamente su unión y acción en el elemento de respuesta hormonal (Carson-Jurica et al., 1990; Jensen et al., 1968; Walters, 1985).

Sin embargo, hasta la fecha no se ha investigado el papel de los coactivadores de los receptores de esteroides en la base genética de la IG. Nuestros datos constituyen el primer trabajo de investigación realizado sobre esta temática. Por otro lado, los datos obtenidos en la investigación están en concordancia con los trabajos publicados sobre el papel fundamental de los coactivadores NCoA-1, NCoA-2 y p300, en la actividad transcripcional eficiente del ER en el cerebro (Kraus, Manning, & Kadonaga, 1999; Yore et al., 2010).

Los coactivadores NCoA-1 y NCoA-2 se encuentran distribuidos en diferentes proporciones, por varias regiones específicas del cerebro como son el hipotálamo y el hipocampo, mostrando al mismo tiempo, diferencias en su acoplamiento con los receptores de estrógenos (Molenda-Figueira et al., 2008; Yore et al., 2010). Estas interacciones diferenciales entre NCoA-1 y NCoA-2 con los subtipos  $\alpha$  y  $\beta$  del ER sugieren que estas regiones cerebrales tienen un patrón de expresión distinto de los correguladores, y comprender cómo funcionan y cómo es su interacción con los ERs es fundamental para comprender cómo actúan las hormonas esteroideas en diferentes regiones del cerebro.

Por otro lado, nuestros resultados también están en concordancia con el estudio del coactivador NCoA-1 y su implicación en el cerebro en desarrollo realizado por Auger, Tetel, & McCarthy (2000). Estos autores investigaron las consecuencias de la reducción de la proteína NCoA-1 durante la diferenciación sexual del cerebro en desarrollo, encontrando que una reducción de dicha proteína interfiere en las acciones desfeminizantes de los estrógenos en los cerebros de ratas neonatales. Sus datos indicaron que la expresión de NCoA-1 participa de forma crítica en el desarrollo del comportamiento reproductivo masculino y la morfología del cerebro. Así, nuestros datos están en concordancia con los resultados de Auger y colaboradores (2000) ya que el análisis polimórfico de este coactivador mostró diferencias significativas cuando se realizaron los análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas, así como el análisis de los haplotipos (Auger, Tetel, & McCarthy, 2000).

Nuestros datos también están en concordancia con otros estudios sobre el papel crítico del p300 y del CREBBP en la transcripción del ER $\alpha$ . p300 y CREBBP son dos de los múltiples coactivadores secundarios reclutados por NCoA1, NCoA2 y NCoA3 para formar

un complejo coactivador del receptor ER que puede promover la remodelación de la cromatina y facilitar la activación transcripcional (Yi et al., 2015). La transcripción por la ARN polimerasa II requiere la acción coordinada de múltiples factores como los factores de unión al ADN, los coactivadores, la remodelación de la cromatina, con la maquinaria transcripcional basal. Además, p300 y CREBBP, no se unen al ADN por sí mismos, pero juegan un papel esencial en el proceso de transcripción mediado por los estrógenos (Kraus et al., 1999; Yang et al., 1996). Por lo tanto, ER $\alpha$  funciona de manera cooperativa con p300 y CREBBP para facilitar la transcripción (Kraus & Kadonaga, 1998). En el presente trabajo encontramos diferencias estadísticamente significativas en p300, CREBBP, NCoA1 y NCoA2, pero no en NCoA3.

Yi y colaboradores (2015) definieron la estructura cuaternaria de un complejo activo de ER $\alpha$  unido al ADN, junto con el coactivador del receptor de esteroides y p300 como coactivador secundario. El modelo estructural sugiere que el ER se une a la región ERE del ADN como un dímero y luego recluta dos NCoA; estos dos coactivadores, a su vez, aseguran una molécula de p300 al complejo a través de múltiples contactos. Es muy importante mantener la secuencia de nucleótidos de los genes que codifican los coactivadores para mantener las interacciones del complejo ER-E2-NCoA-p300-CREBBP y así realizar la función genómica de los estrógenos (Yi et al., 2015). Por lo tanto, basándose en estos estudios se podría hipotetizar que los cambios a nivel de secuencia del ADN podrían resultar en interacciones ineficaces o poco efectivas que afectasen a los genes diana involucrados en el dimorfismo cerebral. En concreto en nuestro trabajo encontramos dos polimorfismos con diferencias estadísticamente significativas (P9 y P10) en p300 en el análisis de interacción según la covariable “sexo”. Ello implicó diferencias en la distribución de los haplotipos según el sexo, por lo que el haplotipo 2 (T-A) solo mostró diferencias significativas en la población asignada mujer al nacer. Los otros haplotipos no mostraron diferencias significativas.

Basándose en experimentos en roedores, se cree que la diferenciación sexual masculina del cerebro es el resultado de la acción de los andrógenos después de la conversión a estrógenos por la acción de la aromatasa (Lephart, 1996; Naftolin et al., 1971). Además, los estudios en humanos muestran que los efectos directos de la testosterona en el cerebro fetal en desarrollo y también durante la pubertad, son de gran importancia para el

desarrollo de la identidad de género masculina (Swaab, 2004). Sin embargo, en el presente trabajo, el estudio de los polimorfismos localizados en el coactivador de andrógenos NCoA-4 no mostró diferencias estadísticamente significativas.

Actualmente, continúa siendo difícil interconectar los hallazgos moleculares, cerebrales y conductuales (Swift-Gallant & Monks, 2017) debido a las complejas interacciones entre el comportamiento, los genes, las hormonas, los receptores y las enzimas. Pero debemos señalar que los estudios de resonancia magnética en personas con IG muestran perfiles cerebrales característicos (Guillamon et al., 2016). Ambas poblaciones transgénero (hombres y mujeres) comparten algunas características comunes: en primer lugar, la participación de los dos ER en su origen neurobiológico (Fernández et al., 2018) y, en segundo lugar, su corteza, en algunas regiones, es más gruesa que en la población cisgénero masculina (Guillamon et al., 2016). Estas observaciones apoyan la hipótesis de que hombres y mujeres transgénero experimentan un proceso de desarrollo atípico respecto a la diferenciación sexual de su corteza, hipotéticamente bajo la influencia de estrógenos cerebrales, andrógenos, sus receptores y ahora podemos añadir que también algunos de sus coactivadores.

Finalmente, nuestros datos también son consistentes con la hipótesis actual sobre la existencia de un modelo “mosaico” complejo del cerebro en mamíferos (Joel et al., 2020) con una multiplicidad de mecanismos involucrados, lo que permitiría un grado variable de masculinización/feminización en diferentes áreas del cerebro. El modelo simple según el cual la testosterona masculiniza el cerebro de los hombres alejándolo de un perfil femenino predeterminado, ha sido reemplazado por un modelo complejo, según el cual los efectos sexuales en el cerebro de mujeres y hombres son ejercidos por una combinación compleja de factores genéticos, epigenéticos y también hormonales (Joel et al., 2020).

En conclusión podemos afirmar que, basándonos en nuestros datos, junto con las investigaciones realizadas previamente, existe una base genética de la IG. Los coactivadores, NCoA-1, NCoA-2 y p300-CREBBP podrían por lo tanto considerarse genes candidatos para aumentar la lista de genes de "susceptibilidad" potencial de la IG. Además, nuestros datos continúan respaldando la hipótesis de que la IG es un rasgo complejo

multifactorial, que involucra intrincadas interacciones entre genes, esteroides, receptores de esteroides y coactivadores.

### **TERCER ESTUDIO**

Dado que la evolución de la célula eucariota implicó una interacción simbiótica entre la mitocondria y el núcleo, numerosos autores sugieren que esta historia evolutiva proporciona una base racional para investigar la interacción existente entre estos dos genomas (mitocondrial y nuclear). Numerosos autores proponen que el ADNmt (mitocondrial) y el ADNn (nuclear) interactúan, y juntos juegan un papel importante en la función celular y, por lo tanto, en el componente biológico de la conducta humana (Baris et al., 2017; Brown et al., 2020; Dujon, 2020; Kaniak-Golik & Skoneczna, 2015; Poyton & McEwen, 1996).

Este paradigma contempla la interacción entre el ADNmt y el ADNn en múltiples funciones mitocondriales como son la producción de energía, la señalización celular, la respuesta inmune, la homeostasis del calcio, la síntesis de esteroides y la apoptosis (DiMauro & Hirano, 2009; El-Hattab & Scaglia, 2016; Gorman et al., 2016). Al menos tres de estas funciones están implicadas en el establecimiento de las diferencias sexuales en el cerebro durante el período crítico de la diferenciación sexual: la respuesta inmune, la síntesis de esteroides y la apoptosis (Arambula & McCarthy, 2020).

La importancia de las interacciones entre estos dos genomas ha recibido más atención recientemente debido a sus posibles efectos evolutivos y a cómo pueden afectar a la salud y a la conducta humanas (Brown et al., 2020). Los órganos más comúnmente afectados son aquellos con una alta demanda de energía, entre los que se encuentra el sistema nervioso central, sin embargo, prácticamente cualquier órgano y tejido podría verse afectado (Moslemi & Darin, 2007).

En el presente trabajo se analizaron las frecuencias alélicas y genotípicas, así como las frecuencias haplotípicas, de 242 polimorfismos ubicados en el ADNmt, y su implicación en la IG. El estudio se realizó en una población de 94 individuos transgénero y 94

individuos cisgénero, con similares características de raza, sexo biológico y origen geográfico.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en 26 polimorfismos mitocondriales ( $P \leq 0,05$ ), pero sólo el polimorfismo Affx-34461653 pasó la corrección de Bonferroni. Este polimorfismo está relacionado con los genes MT-ND4 y MT-ND5 que están ligados a los efectos de la fosforilación oxidativa (Houštek et al., 2012). MT-ND5 interactúa con la glutamina sintetasa (GS) que predomina en el cerebro, los riñones y el hígado (Jayakumar & Norenberg, 2016). Además, tres SNPs mostraron interacción con la covariable “sexo” (Affx-79504644, Affx-34461959, Affx-34462190) mostrando significación únicamente en la población de mujeres transgénero, pero no en la población de hombres transgénero.

En el cerebro, la glutamina sintetasa participa en la regulación metabólica del glutamato, en el reciclaje de neurotransmisores y la terminación de sus señales (Liaw et al., 1995; Suárez et al., 2002). La glutamina sintetasa es una enzima dependiente de ATP que se encuentra en la mayoría de las especies y que sintetiza glutamina a partir de glutamato y amoníaco. En el cerebro, la glutamina sintetasa se localiza fundamentalmente en los astrocitos donde trabaja para mantener el ciclo glutamato-glutamina, así como el metabolismo del nitrógeno. Los estudios más recientes indican que la glutamina sintetasa también puede estar presente en otras células del SNC, incluidas las neuronas, la microglía y los oligodendrocitos. Además, se han identificado cambios en la actividad de esta enzima, así como en su expresión génica, en una serie de condiciones neurológicas (Jayakumar & Norenberg, 2016).

Se estima que el 95% de la neurotransmisión excitatoria en el cerebro ocurre en las espinas dendríticas, y los receptores de glutamato AMPA/kainato y NMDA se encuentran en alta proporción en la superficie de estas estructuras. Además, en el cerebro mamífero adulto, la expresión del comportamiento sexual masculino se correlaciona con altas concentraciones de glutamato excitatorio extracelular en el área preóptica POA (Dominguez et al., 2006).

Bloquear el receptor NMDA y, en consecuencia, la transmisión glutamatérgica en esta región del cerebro (POA) reduce el comportamiento sexual masculino en ratones, incluido el número de montas e intromisiones, e impide la mejora en estas medidas con la experiencia (Dominguez et al., 2006, 2007; Dominguez & Hull, 2005), mientras que el aumento del glutamato sináptico tiene el efecto contrario, mejorar el rendimiento sexual masculino (Dominguez et al., 2007).

Por lo tanto, dada la importancia teórica de la neurotransmisión glutamatérgica en el comportamiento sexual masculino adulto, los genes mitocondriales MT-ND4 y MT-ND5 podrían estar involucrados en la base genética de la IG. Así, se ha podido demostrar que el estradiol induce la liberación de glutamato en el hipotálamo para promover la desfeminización (Wright et al., 2010). El núcleo ventromedial (VMN) ubicado en el hipotálamo mediobasal (MBH) es una región cerebral clave para el control del comportamiento sexual femenino en ratones (Mathews & Edwards, 1977; Pfaff & Sakuma, 1979a, 1979b). Las dendritas de las neuronas del núcleo ventromedial (VMN) en los machos se ramifican con mayor frecuencia y, por lo tanto, en general tienen más sinapsis que las hembras (Mong et al., 2001; Schwarz & McCarthy, 2008b; Todd et al., 2007).

El estradiol induce tanto la masculinización como la desfeminización en ratones, pero a través de distintos mecanismos celulares. En el hipotálamo mediobasal (MBH), la desfeminización inducida por el estradiol comienza con una activación rápida (~1 hora) de la quinasa PI3 mediada por ER, y una liberación mejorada del glutamato presináptico. El aumento de glutamato sináptico conduce a un aumento de la activación de los receptores NMDA postsinápticos seguido de la ramificación dendrítica y la construcción y estabilización de las espinas dendríticas (Schwarz et al., 2008). Estos resultados demuestran que la diferenciación sexual del cerebro mediada por estradiol no es un proceso celular autónomo en el que solo las neuronas que contienen ER cambian de morfología en respuesta a la exposición a esteroides. En cambio, un neurotransmisor sirve como un factor de señalización que provoca un cambio morfológico en toda una red de células, lo que sugiere que todas las entradas neuronales a regiones cerebrales sexualmente diferenciadas, como POA y VMN, se consideran e interpretan según el sexo del animal, independientemente de si las señales entrantes son relevantes para el sexo o alguna otra función del POA. Tanto el POA como el VMN cumplen muchas otras funciones, incluido

el comportamiento materno, la regulación de la temperatura y la alimentación, por nombrar algunas (Wright et al., 2010).

Uno de los puntos fuertes de nuestro estudio es que es la primera vez que se analizan los genes mitocondriales en la población con IG. Por otro lado, una de las limitaciones es que el número de sujetos analizados es pequeño. Para que nuestro estudio sea más robusto, sería necesario analizar un mayor número de sujetos, o validar las conclusiones con un nuevo análisis de otra población transgénero con características similares.

En conclusión, nuestros resultados han mostrado que la mitocondria podría desempeñar un papel en la base genética de la IG. Además, nuestros datos continúan apoyando la hipótesis de que la IG es un rasgo complejo multifactorial, que involucra intrincadas interacciones entre esteroides sexuales, receptores de esteroides sexuales, coactivadores y epigenética. Además, ahora las mitocondrias entran en juego como un factor más que podría intervenir en este complejo proceso a través de la acción del glutamato.



## **6. CONCLUSIONES**

---



1. El estudio de las frecuencias alélicas de los polimorfismos situados en la región promotora del gen *ESR1* mostró diferencias estadísticamente significativas para el alelo corto del polimorfismo C2 y el alelo A del polimorfismo C4, en la población de hombres transgénero.
2. El análisis de las frecuencias haplotípicas mostró una asociación estadísticamente significativa con la IG. Así, el haplotipo 3 (T-L-C-A) se encontró sobrerrepresentado en la población de hombres transgénero, mientras que el haplotipo 2 (T-L-C-G) se encontró sobrerrepresentado en la población cisgénero.
3. Estos datos respaldan los resultados obtenidos en investigaciones previas y sugieren que los polimorfismos C1, C2, C3 y C4 podrían estar implicados en la base genética de la IG en la población de hombres transgénero, mediante su influencia en la regulación de la expresión del gen *ESR1*.
4. El estudio de los coactivadores de los receptores de esteroides mostró que los coactivadores NCoA-1, NCoA-2 y p300-CREBBP podrían así mismo considerarse genes candidatos implicados en la base genética de la IG que actuarían de manera cooperativa con el ER $\alpha$  para facilitar la regulación de la expresión del gen *ESR1*.
5. El estudio del ADN mitocondrial mostró diferencias estadísticamente significativas en polimorfismos situados en los genes MT-ND4 y MT-ND5 implicados en la fosforilación oxidativa. Por lo tanto, nuestros resultados señalan que la mitocondria podría desempeñar un papel importante en este complejo proceso de la IG a través de la acción del glutamato.
6. Nuestros datos continúan respaldando la hipótesis de que la IG es un rasgo complejo multifactorial, que involucra intrincadas interacciones entre genes, esteroides, receptores de esteroides, coactivadores y ADN mitocondrial.



## 7. BIBLIOGRAFÍA

---



- Ainsworth, T. A., & Spiegel, J. H. (2010). Quality of life of individuals with and without facial feminization surgery or gender reassignment surgery. *Quality of Life Research*, 19(7), 1019–1024. <https://doi.org/10.1007/s11136-010-9668-7>
- American Psychiatric Association. (1995). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Ed. DSM-IV. Washington, DC. <https://doi.org/10.1176/dsm10.1176/appi.books.9780890420249.dsm-iv-tr>
- American Psychiatric Association. (2000). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Ed. DSM-IV-TR. Washington, DC. <https://doi.org/10.1176/dsm10.1176/appi.books.9780890420249.dsm-iv-tr>.
- American Psychiatric Association. (2013). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Ed. DSM-5. Washington, DC. <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596.893619>.
- Arambula, S. E., & McCarthy, M. M. (2020). Neuroendocrine-Immune Crosstalk Shapes Sex-Specific Brain Development. *Endocrinology*, 161(6), bqaa055. <https://doi.org/10.1210/endo/bqaa055>
- Aranda, G., Fernández-Rebollo, E., Pradas-Juni, M., Hanzu, F. A., Kalko, S. G., Halperin, I., & Mora, M. (2017). Effects of sex steroids on the pattern of methylation and expression of the promoter region of estrogen and androgen receptors in people with gender dysphoria under cross-sex hormone treatment. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 172, 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.05.010>
- Arcelus, J., Bouman, W. P., Van Den Noortgate, W., Claes, L., Witcomb, G., & Fernandez-Aranda, F. (2015). Systematic review and meta-analysis of prevalence studies in transsexualism. *European Psychiatry*, 30(6), 807–815. <https://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2015.04.005>
- Ardila, R., (2003). Calidad de vida: una definición integradora. *Revista Latinoamericana de Psicología*, 35(2):161-164
- Arnold, A. P. (2004). Sex chromosomes and brain gender. *Nature Reviews. Neuroscience*, 5(9), 701–708. <https://doi.org/10.1038/nrn1494>
- Arnold, A. P. (2009). Mouse models for evaluating sex chromosome effects that cause sex differences in non-gonadal tissues. *Journal of Neuroendocrinology*, 21(4), 377–386.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2009.01831.x>

- Arnold, A. P. (2012). The end of gonad-centric sex determination in mammals. *Trends in Genetics : TIG*, 28(2), 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2011.10.004>
- Arnold, A. P., Rissman, E. F., & De Vries, G. J. (2003). Two perspectives on the origin of sex differences in the brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1007, 176–188. <https://doi.org/10.1196/annals.1286.018>
- Auger, A. P., Tetel, M. J., & McCarthy, M. M. (2000). Steroid receptor coactivator-1 (SRC-1) mediates the development of sex-specific brain morphology and behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 97(13), 7551–7555. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.13.7551>.
- Auger, A. P., Perrot-Sinal, T. S., Auger, C. J., Ekas, L. A., Tetel, M. J., & McCarthy, M. M. (2002). Expression of the nuclear receptor coactivator, cAMP response element-binding protein, is sexually dimorphic and modulates sexual differentiation of neonatal rat brain. *Endocrinology*, 143(8), 3009–3016. <https://doi.org/10.1210/endo.143.8.8975>.
- Baker, K., & Beagan, B. (2014). Making assumptions, making space: an anthropological critique of cultural competency and its relevance to queer patients. *Medical anthropology quarterly*, 28(4), 578–598. <https://doi.org/10.1111/maq.12129>
- Bakker, J., De Mees, C., Douhard, Q., Balthazart, J., Gabant, P., Szpirer, J., & Szpirer, C. (2006). Alpha-fetoprotein protects the developing female mouse brain from masculinization and defeminization by estrogens. *Nature Neuroscience*, 9(2), 220–226. <https://doi.org/10.1038/nn1624>
- Bao, A. M., & Swaab, D. F. (2010). Sex differences in the brain, behavior, and neuropsychiatric disorders. *Neuroscientist*, 16(5), 550–565. <https://doi.org/10.1177/1073858410377005>
- Baris, T. Z., Wagner, D. N., Dayan, D. I., Du, X., Blier, P. U., Pichaud, N., Oleksiak, M. F., & Crawford, D. L. (2017). Evolved genetic and phenotypic differences due to mitochondrial-nuclear interactions. *PLoS Genetics*, 13(3), e1006517. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006517>
- Bentz, E. K., Hefler, L. A., Kaufmann, U., Huber, J. C., Kolbus, A., & Tempfer, C. B. (2008). A polymorphism of the CYP17 gene related to sex steroid metabolism is associated with female-to-male but not male-to-female transsexualism. *Fertility and*

- Sterility*, 90(1), 56–59. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.05.056>
- Bentz, E. K., Schneeberger, C., Hefler, L. A., van Trotsenburg, M., Kaufmann, U., Huber, J. C., & Tempfer, C. B. (2007). A common polymorphism of the SRD5A2 gene and transsexualism. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 14(7), 705–709. <https://doi.org/10.1177/1933719107306230>.
- Bergero, M. T., Cano, O. G., Giraldo, A. F., Esteva de Antonio, I., Ortega Aguilar, M. V., Gómez Banovio, M., & Gorneman Schaffer, I. (2004). La transexualidad: asistencia multidisciplinar en el Sistema Público de Salud. *Revista de la Asociación Española de Neuropsiquiatría*, (89),9-20.
- Bramble, M. S., Roach, L., Lipson, A., Vashist, N., Eskin, A., Ngun, T., Gosschalk, J. E., Klein, S., Barseghyan, H., Arboleda, V. A., & Vilain, E. (2016). Sex-Specific Effects of Testosterone on the Sexually Dimorphic Transcriptome and Epigenome of Embryonic Neural Stem/Progenitor Cells. *Scientific Reports*, 6, 36916. <https://doi.org/10.1038/srep36916>
- Brown, T. R. (1996). Provocative aspects of androgen genetics. *The Prostate., Supplement*(6), 9–12. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8630238/>
- Brown, J. A., Sammy, M. J., & Ballinger, S. W. (2020). An evolutionary, or “Mitocentric” perspective on cellular function and disease. *Redox Biology*, 36, 101568. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101568>
- Butler, G. (2020). Gender incongruence. *Paediatr. Child Health (Oxford)*, 30(12), 407–410. <https://doi.org/10.1016/j.paed.2020.09.001>
- Carson-Jurica, M. A., Schrader, W. T., & O’Malley, B. W. (1990). Steroid receptor family: structure and functions. *Endocr. Rev.*, 11(2), 201–220. <https://doi.org/10.1210/edrv-11-2-201>
- Champagne, F. A., Weaver, I. C. G., Diorio, J., Dymov, S., Szyf, M., & Meaney, M. J. (2006). Maternal care associated with methylation of the estrogen receptor-alpha1b promoter and estrogen receptor-alpha expression in the medial preoptic area of female offspring. *Endocrinology*, 147(6), 2909–2915. <https://doi.org/10.1210/en.2005-1119>
- Cisternas, C. D., Garcia-Segura, L. M., & Cambiasso, M. J. (2018). Hormonal and genetic factors interact to control aromatase expression in the developing brain. *Journal of*

*Neuroendocrinology*, 30(2). <https://doi.org/10.1111/jne.12535>

Cortés-Cortés, J., Fernández, R., Teijeiro, N., Gómez-Gil, E., Esteva, I., Almaraz, M. C., Guillamón, A., & Pásaro, E. (2017). Genotypes and Haplotypes of the Estrogen Receptor  $\alpha$  Gene (ESR1) Are Associated With Female-to-Male Gender Dysphoria. *The Journal of Sexual Medicine*, 14(3), 464–472. <https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2016.12.234>

Cortes, L. R., Cisternas, C. D., & Forger, N. G. (2019). Does Gender Leave an Epigenetic Imprint on the Brain? *Frontiers in Neuroscience*, 13, 173. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00173>

D'Andrea, S., Pallotti, F., Senofonte, G., Castellini, C., Paoli, D., Lombardo, F., Lenzi, A., Francavilla, S., Francavilla, F., & Barbonetti, A. (2020). Polymorphic Cytosine-Adenine-Guanine Repeat Length of Androgen Receptor Gene and Gender Incongruence in Trans Women: A Systematic Review and Meta-Analysis of Case-Control Studies. *The Journal of Sexual Medicine*, 17(3), 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2019.12.010>

Darvishi, K., Sharma, S., Bhat, A. K., Rai, E., & Bamezai, R. N. K. (2007). Mitochondrial DNA G10398A polymorphism imparts maternal Haplogroup N a risk for breast and esophageal cancer. *Cancer Letters*, 249(2), 249–255. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2006.09.005>

De Vries, G. J., Rissman, E. F., Simerly, R. B., Yang, L.-Y., Scordalakes, E. M., Auger, C. J., Swain, A., Lovell-Badge, R., Burgoyne, P. S., & Arnold, A. P. (2002). A model system for study of sex chromosome effects on sexually dimorphic neural and behavioral traits. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(20), 9005–9014. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-20-09005.2002>

DiMauro, S., Bonilla, E., & De Vivo, D. C. (1999). Does the patient have a mitochondrial encephalomyopathy? *Journal of Child Neurology*, 14 Suppl 1, S23-35. <https://doi.org/10.1177/0883073899014001051>

DiMauro, S., Hirano, M. (2009). *Pathogenesis and treatment of mitochondrial disorders*, in: Espinós, C., Felipo, V., Palau, F. (Eds.), *Inherited Neuromuscular Diseases: Translation from Pathomechanisms to Therapies*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Springer, Netherlands, pp. 139–170. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-2813-6\\_10](https://doi.org/10.1007/978-90-481-2813-6_10).

Dominguez, J. M., Balfour, M. E., Lee, H. S., Brown, J. L., Davis, B. A., & Coolen, L. M.

- (2007). Mating activates NMDA receptors in the medial preoptic area of male rats. *Behavioral Neuroscience*, 121(5), 1023–1031. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.121.5.1023>
- Dominguez, J. M., Gil, M., & Hull, E. M. (2006). Preoptic glutamate facilitates male sexual behavior. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(6), 1699–1703. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4176-05.2006>
- Dominguez, J. M., & Hull, E. M. (2005). Dopamine, the medial preoptic area, and male sexual behavior. *Physiology & Behavior*, 86(3), 356–368. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.08.006>
- Dujon, B. (2020). Mitochondrial genetics revisited. *Yeast (Chichester, England)*, 37(2), 191–205. <https://doi.org/10.1002/yea.3445>
- Edelmann, M. N., & Auger, A. P. (2011). Epigenetic impact of simulated maternal grooming on estrogen receptor alpha within the developing amygdala. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25(7), 1299–1304. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.02.009>
- Eftekhari Ardebili, M., Janani, L., Khazaei, Z., Moradi, Y., & Baradaran, H. R. (2020). Quality of life in people with transsexuality after surgery: A systematic review and meta-analysis. *Health and Quality of Life Outcomes*, 18(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12955-020-01510-0>
- El-Hattab, A. W., & Scaglia, F. (2016). Mitochondrial cytopathies. *Cell calcium*, 60(3), 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2016.03.003>
- ENSEMBL. The Ensembl project GRCh37. <http://grch37.ensembl.org/index.html>
- Fernández Rodríguez, M., Guerra Mora, P., & Méndez Díaz, M. (2014). La disforia de género en la infancia en las clasificaciones diagnósticas. *Cuadernos de Medicina Psicosomática y Psiquiatría de Enlace*, 110, 25–35.
- Fernández, R., & Burke, S. M. (2022). Editorial: Research in Transgender Healthcare: What Have We Learned and Where Are We Going? *Frontiers in Endocrinology*, 12, 1-2. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.832866>
- Fernández, R., Cortés-Cortés, J., Esteva, I., Gómez-Gil, E., Almaraz, M. C., Lema, E., Rumbo, T., Haro-Mora, J.-J., Roda, E., Guillamón, A., & Pásaro, E. (2015). The CYP17

- MspA1 Polymorphism and the Gender Dysphoria. *The Journal of Sexual Medicine*, 12(6), 1329–1333. <https://doi.org/10.1111/jsm.12895>
- Fernández, R., Cortés-Cortés, J., Gómez-Gil, E., Esteva, I., Almaraz, M., Guillamón, A., Pásaro, E., 2016. The CYP17-MspA1 rs743572 polymorphism is not associated with gender dysphoria. *Genes Genomics* 38, 1145–1150. [doi:http://dx.doi.org/10.1007/s13258-016-0456-9](http://dx.doi.org/10.1007/s13258-016-0456-9)
- Fernández, R., Delgado-Zayas, E., Ramírez, K., Cortés-Cortés, J., Gómez-Gil, E., Esteva, I., Almaraz, M. C., Guillamon, A., & Pásaro, E. (2020a). Analysis of four polymorphisms located at the promoter of the estrogen receptor alpha ESR1 gene in a population with gender incongruence. *Sexual Medicine*, 8(3), 490-500. <https://doi.org/10.1016/j.esxm.2020.04.002>
- Fernández, R., Esteva, I., Gómez-Gil, E., Rumbo, T., Almaraz, M. C., Roda, E., Haro-Mora, J. J., Guillamón, A., & Pásaro, E. (2014a). The (CA)<sub>n</sub> polymorphism of ER $\beta$  gene is associated with FtM transsexualism. *The journal of sexual medicine*, 11(3), 720–728. <https://doi.org/10.1111/jsm.12398>
- Fernández, R., Esteva, I., Gómez-Gil, E., Rumbo, T., Almaraz, M. C., Roda, E., Haro-Mora, J.-J., Guillamón, A., & Pásaro, E. (2014b). Association Study of ER $\beta$ , AR, and CYP19A1 Genes and MtF Transsexualism. *The Journal of Sexual Medicine*, 11(12), 2986–2994. <https://doi.org/10.1111/JSM.12673>
- Fernández, R., Guillamon, A., Cortés-Cortés, J., Gómez-Gil, E., Jácome, A., Esteva, I., Almaraz, M., Mora, M., Aranda, G., & Pásaro, E. (2018). Molecular basis of Gender Dysphoria: androgen and estrogen receptor interaction. *Psychoneuroendocrinology*, 98, 161–167. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.07.032>
- Fernández, R. & Pásaro, E. (2017). [Is Sexual Identity Optional? A Study of The Genetics of Transsexuality]. *Cuadernos de bioética: revista oficial de la Asociacion Espanola de Bioetica y Etica Medica*, 28(94), 343–353.
- Fernández, R., Ramirez, K., Delgado Zayas, E., Gómez Gil, E., Esteva, I., Guillamon, A., & Pásaro, E. (2021). Role of the estrogens and the receptor coactivators in the genetic basis of gender incongruence. In D. W. Wu & D. I. Kostoglou-Athanassiou (Eds.), *Oxytocin and Health*. London. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.96668>

- Fernández, R., Ramírez, K., Gómez-Gil, E., Cortés-Cortés, J., Mora, M., Aranda, G., Zayas, E. D., Esteva, I., Almaraz, M. C., Guillamon, A., & Pásaro, E. (2020b). Gender-affirming hormone therapy modifies the CpG methylation pattern of the ESR1 gene promoter after six months of treatment in transmen. *The Journal of Sexual Medicine*, *17*(9), 1795–1806. <https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2020.05.027>
- Foreman, M., Hare, L., York, K., Balakrishnan, K., Sánchez, F. J., Harte, F., Erasmus, J., Vilain, E., & Harley, V. R. (2019). Genetic Link Between Gender Dysphoria and Sex Hormone Signaling. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *104*(2), 390–396. <https://doi.org/10.1210/jc.2018-01105>
- Forger, N. G. (2018). Past, present and future of epigenetics in brain sexual differentiation. *Journal of Neuroendocrinology*, *30*(2). <https://doi.org/10.1111/jne.12492>
- Forger, N. G. (2016). Epigenetic mechanisms in sexual differentiation of the brain and behaviour. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, *371*(1688), 20150114. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0114>
- Forger, N. G., Strahan, J. A., & Castillo-Ruiz, A. (2016). Cellular and molecular mechanisms of sexual differentiation in the mammalian nervous system. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *40*, 67–86. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2016.01.001>
- Garcia-Falgueras, A., & Swaab, D. F. (2009). Sexual hormones and the Brain: An essential alliance for sexual identity and sexual orientation. *Endocrine Development*, *17*, 22–35. <https://doi.org/10.1159/000262525>
- Gennari, L., De Paola, V., Merlotti, D., Martini, G., & Nuti, R. (2007). Steroid hormone receptor gene polymorphisms and osteoporosis: a pharmacogenomic review. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, *8*(5), 537–553. <https://doi.org/10.1517/14656566.8.5.537>
- Ghahramani, N. M., Ngun, T. C., Chen, P.-Y., Tian, Y., Krishnan, S., Muir, S., Rubbi, L., Arnold, A. P., de Vries, G. J., Forger, N. G., Pellegrini, M., & Vilain, E. (2014). The effects of perinatal testosterone exposure on the DNA methylome of the mouse brain are late-emerging. *Biology of Sex Differences*, *5*, 8. <https://doi.org/10.1186/2042-6410-5-8>
- Gómez-Gil, E. (2019). Disforia de género. In *Manual de sexología clínica* (pp. 400–402). Editorial Panamericana.
- Gómez-Gil, E., Esteva de Antonio, I., Fernández Rodríguez, M., Almaraz Almaraz, M.,

- Hurtado Murillo, F., Gómez Balaguer, M., Asenjo Araque, N., Mora Porta, M., Halperin Rabinovich, I., Fernández García, R., Montejo González, Á. L., & Gidseen, G. (2020). [New care models for transgender people in the Spanish Health System: demands, controversies and reflections.]. *Revista española de salud pública*, *94*, e202011123.
- Gómez-Gil, E., Esteva, I., Almaraz, M. C., Pasaro, E., Segovia, S., & Guillamon, A. (2010). Familiarity of gender identity disorder in non-twin siblings. *Archives of Sexual Behavior*, *39*(2), 546–552. <https://doi.org/10.1007/s10508-009-9524-4>
- Gómez-Gil, E., Esteva, I., Carrasco, R., Almaraz, M.C., Pasaro, E., Salamero, M., & Guillamon, A. (2011). Birth order and ratio of brothers to sisters in Spanish transsexuals. *Archives of Sexual Behavior*, *40*(3), 505–510. <https://doi.org/10.1007/s10508-010-9614-3>
- Gómez-Gil, E., Trilla, A., Salamero, M., Godás, T., & Valdés, M. (2009). Sociodemographic, clinical, and psychiatric characteristics of transsexuals from Spain. *Archives of Sexual Behavior*, *38*(3), 378–392. <https://doi.org/10.1007/s10508-007-9307-8>
- Gómez-Gil, E., Zubiaurre-Elorza, L., Esteva de Antonio, I., Guillamon, A., & Salamero, M. (2014). Determinants of quality of life in Spanish transsexuals attending a gender unit before genital sex reassignment surgery. *Quality of Life Research*, *23*(2), 671–678. <https://doi.org/10.1007/s11136-013-0497-3>
- Gómez-Gil, E., Zubiaurre-Elorza, L., Esteva, I., Guillamon, A., Godás, T., Cruz Almaraz, M., Halperin, I., & Salamero, M. (2012). Hormone-treated transsexuals report less social distress, anxiety and depression. *Psychoneuroendocrinology*, *37*(5), 662–670. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.08.010>
- Gonçalves, V. F. (2019). Mitochondrial Genetics. In A. Urbani & M. Babu (Eds.), *Mitochondria in Health and in Sickness* (pp. 247–255). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8367-0\\_13](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8367-0_13)
- González, M., Cabrera-Socorro, A., Pérez-García, C. G., Fraser, J. D., López, F. J., Alonso, R., & Meyer, G. (2007). Distribution patterns of estrogen receptor alpha and beta in the human cortex and hippocampus during development and adulthood. *The Journal of Comparative Neurology*, *503*(6), 790–802. <https://doi.org/10.1002/cne.21419>
- Goodman, M., Adams, N., Corneil, T., Kreukels, B., Motmans, J., & Coleman, E. (2019).

- Size and Distribution of Transgender and Gender Nonconforming Populations: A Narrative Review. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 48(2), 303–321. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2019.01.001>
- Gorman, G. S., Chinnery, P. F., DiMauro, S., Hirano, M., Koga, Y., McFarland, R., Suomalainen, A., Thorburn, D. R., Zeviani, M., & Turnbull, D. M. (2016). Mitochondrial diseases. *Nature reviews. Disease primers*, 2, 16080. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.80>
- Gross, J. A., Pacis, A., Chen, G. G., Barreiro, L. B., Ernst, C., & Turecki, G. (2015). Characterizing 5-hydroxymethylcytosine in human prefrontal cortex at single base resolution. *BMC Genomics*, 16(1), 672. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1875-8>
- Guillamon, A., Junque, C., & Gómez-Gil, E. (2016). A Review of the Status of Brain Structure Research in Transsexualism. *Archives of Sexual Behavior*, 45(7), 1615–1648. <https://doi.org/10.1007/s10508-016-0768-5>
- Gümüşsoy, S., Hortu, İ., Alp Dal, N., Dönmez, S., & Ergenoğlu, A. M. (2021). Quality of Life and Perceived Social Support Before and After Sex Reassignment Surgery. *Clinical nursing research*, 10547738211040636. Advance online publication. <https://doi.org/10.1177/10547738211040636>
- Gutiérrez, P. (2020). *Las inequidades en salud en el colectivo trans. Universidad de Cantabria. Trabajo Fin de Grado.*
- Guzmán-Parra, J., Sánchez-Álvarez, N., de Diego-Otero, Y., Pérez-Costillas, L., Esteva de Antonio, I., Navais-Barranco, M., Castro-Zamudio, S., & Bergero-Miguel, T. (2016). Sociodemographic Characteristics and Psychological Adjustment Among Transsexuals in Spain. *Archives of Sexual Behavior*, 45(3), 587–596. <https://doi.org/10.1007/s10508-015-0557-6>
- Hahn, A., Kranz, G. S., Küblböck, M., Kaufmann, U., Ganger, S., Hummer, A., Seiger, R., Spies, M., Winkler, D., Kasper, S., Windischberger, C., Swaab, D. F., & Lanzenberger, R. (2015). Structural Connectivity Networks of Transgender People. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 25(10), 3527–3534. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu194>
- Hare, L., Bernard, P., Sánchez, F. J., Baird, P. N., Vilain, E., Kennedy, T., & Harley, V. R. (2009). Androgen Receptor Repeat Length Polymorphism Associated with Male-to-

- Female Transsexualism. *Biological Psychiatry*, 65(1), 93–96. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.08.033>
- Henningsson, S., Westberg, L., Nilsson, S., Lundström, B., Ekselius, L., Bodlund, O., Lindström, E., Hellstrand, M., Rosmond, R., Eriksson, E., & Landén, M. (2005). Sex steroid-related genes and male-to-female transsexualism. *Psychoneuroendocrinology*, 30(7), 657–664. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2005.02.006>
- Herrington, D. M., Howard, T. D., Brosnihan, K. B., McDonnell, D. P., Li, X., Hawkins, G. A., Reboussin, D. M., Xu, J., Zheng, S. L., Meyers, D. A., & Blecker, E. R. (2002). Common estrogen receptor polymorphism augments effects of hormone replacement therapy on E-selectin but not C-reactive protein. *Circulation*, 105(16), 1879–1882. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000016173.98826.88>
- Hines, M. (2010). Sex-related variation in human behavior and the brain. *Trends in Cognitive Sciences*, 14(10), 448–456. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2010.07.005>
- Houštek, J., Hejzlarová, K., Vrbacký, M., Drahota, Z., Landa, V., Zídek, V., Mlejnek, P., Šimáková, M., Šilhavy, J., Mikšík, I., Kazdová, L., Oliyarnyk, O., Kurtz, T., & Pravenec, M. (2012). Nonsynonymous variants in mt-Nd2, mt-Nd4, and mt-Nd5 are linked to effects on oxidative phosphorylation and insulin sensitivity in rat conplastic strains. *Physiological Genomics*, 44(9), 487–494. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00156.2011>
- Hsiao, P. W., Lin, D. L., Nakao, R., & Chang, C. (1999). The linkage of Kennedy's neuron disease to ARA24, the first identified androgen receptor polyglutamine region-associated coactivator. *The Journal of biological chemistry*, 274(29), 20229–20234. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.29.20229>.
- Hurtado-Murillo, F. (2015). Disforia de género en infancia y adolescencia: Guía de práctica clínica. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*, 6, 45–52.
- Ibrahim, C., Haddad, R., & Richa, S. (2016). [Psychiatric comorbidities in transsexualism: Study of a Lebanese transgender population]. *L'Encephale*, 42(6), 517–522. <https://doi.org/10.1016/j.encep.2016.02.011>
- Jayakumar, A. R., & Norenberg, M. D. (2016). Glutamine Synthetase: Role in Neurological Disorders. *Advances in Neurobiology*, 13, 327–350. <https://doi.org/10.1007/978-3-319->

45096-4\_13

- Jensen, E. V, Suzuki, T., Kawashima, T., Stumpf, W. E., Jungblut, P. W., & DeSombre, E. R. (1968). A two-step mechanism for the interaction of estradiol with rat uterus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, *59*(2), 632–638. <https://doi.org/10.1073/pnas.59.2.632>.
- Jiang, P.P., Hartl, D. L., & Lemos, B. (2010). Y not a dead end: epistatic interactions between Y-linked regulatory polymorphisms and genetic background affect global gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, *186*(1), 109–118. <https://doi.org/10.1534/genetics.110.118109>
- Joel, D. (2021). Beyond the binary: Rethinking sex and the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *122*, 165–175. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.11.018>
- Joel, D., Garcia-Falgueras, A., & Swaab, D. (2020). The Complex Relationships between Sex and the Brain. *The Neuroscientist : A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, *26*(2), 156–169. <https://doi.org/10.1177/1073858419867298>
- Joel, D., & McCarthy, M. M. (2017). Incorporating sex as a biological variable in neuropsychiatric research: where are we now and where should we be? *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *42*(2), 379–385. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.79>
- Johnson, A. D., Zhang, Y., Papp, A. C., Pinsonneault, J. K., Lim, J.-E., Saffen, D., Dai, Z., Wang, D., & Sadée, W. (2008). Polymorphisms affecting gene transcription and mRNA processing in pharmacogenetic candidate genes: detection through allelic expression imbalance in human target tissues. *Pharmacogenetics and Genomics*, *18*(9), 781–791. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3283050107>
- Kaniak-Golik, A., & Skoneczna, A. (2015). Mitochondria-nucleus network for genome stability. *Free Radical Biology & Medicine*, *82*, 73–104. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.01.013>
- Katz, P. A., & Boswell, S. (1986). Flexibility and traditionality in children's gender roles. *Genetic, Social, and General Psychology Monographs*, *112*(1), 103–147.
- Kolodkin, M. H., & Auger, A. P. (2011). Sex difference in the expression of DNA methyltransferase 3a in the rat amygdala during development. *Journal of Neuroendocrinology*, *23*(7), 577–583. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02147.x>

- Kranz, G. S., Seiger, R., Kaufmann, U., Hummer, A., Hahn, A., Ganger, S., Tik, M., Windischberger, C., Kasper, S., & Lanzenberger, R. (2017). Effects of sex hormone treatment on white matter microstructure in individuals with gender dysphoria. *NeuroImage*, *150*, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.02.027>
- Kraus, W. L., & Kadonaga, J. T. (1998). p300 and estrogen receptor cooperatively activate transcription via differential enhancement of initiation and reinitiation. *Genes & Development*, *12*(3), 331–342. <https://doi.org/10.1101/gad.12.3.331>
- Kraus, W. L., Manning, E. T., & Kadonaga, J. T. (1999). Biochemical analysis of distinct activation functions in p300 that enhance transcription initiation with chromatin templates. *Molecular and Cellular Biology*, *19*(12), 8123–8135. <https://doi.org/10.1128/MCB.19.12.8123>
- Kreukels, B. P. C., & Guillamon, A. (2016). Neuroimaging studies in people with gender incongruence. *International Review of Psychiatry*, *28*(1), 120–128. <https://doi.org/10.3109/09540261.2015.1113163>
- Kudwa, A. E., Michopoulos, V., Gatewood, J. D., & Rissman, E. F. (2006). Roles of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  in differentiation of mouse sexual behavior. *Neuroscience*, *138*(3), 921–928. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.10.018>
- Kuiper, G. G., Carlsson, B., Grandien, K., Enmark, E., Häggblad, J., Nilsson, S., & Gustafsson, J. A. (1997). Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology*, *138*(3), 863–870. <https://doi.org/10.1210/endo.138.3.4979>
- Kurian, J. R., Olesen, K. M., & Auger, A. P. (2010). Sex differences in epigenetic regulation of the estrogen receptor-alpha promoter within the developing preoptic area. *Endocrinology*, *151*(5), 2297–2305. <https://doi.org/10.1210/en.2009-0649>
- Laurie, C. C., & Stam, L. F. (1994). The effect of an intronic polymorphism on alcohol dehydrogenase expression in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, *138*(2), 379–385. <https://doi.org/10.1093/genetics/138.2.379>
- Lee, S.H., Chung, D.-J., Lee, H.-S., Kim, T.-J., Kim, M.-H., Jeong, H. J., Im, J.-A., Lee, D.-C., & Lee, J.-W. (2011). Mitochondrial DNA copy number in peripheral blood in polycystic ovary syndrome. *Metabolism: Clinical and Experimental*, *60*(12), 1677–

1682. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2011.04.010>
- Lemos, B., Branco, A. T., & Hartl, D. L. (2010). Epigenetic effects of polymorphic Y chromosomes modulate chromatin components, immune response, and sexual conflict. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(36), 15826–15831. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010383107>
- Lephart, E. D. (1996). A review of brain aromatase cytochrome P450. *Brain Research. Brain Research Reviews*, *22*(1), 1–26.
- Li, C., Briggs, M. R., Ahlborn, T. E., Kraemer, F. B., & Liu, J. (2001). Requirement of Sp1 and estrogen receptor  $\alpha$  interaction in  $17\beta$ -estradiol-mediated transcriptional activation of the low density lipoprotein receptor gene expression. *Endocrinology*, *142*(4), 1546–1553. <https://doi.org/10.1210/endo.142.4.8096>
- Liaw, S. H., Kuo, I., & Eisenberg, D. (1995). Discovery of the ammonium substrate site on glutamine synthetase, a third cation binding site. *Protein Science: A Publication of the Protein Society*, *4*(11), 2358–2365. <https://doi.org/10.1002/pro.5560041114>
- Lister, R., Mukamel, E. A., Nery, J. R., Urich, M., Puddifoot, C. A., Johnson, N. D., Lucero, J., Huang, Y., Dwork, A. J., Schultz, M. D., Yu, M., Tonti-Filippini, J., Heyn, H., Hu, S., Wu, J. C., Rao, A., Esteller, M., He, C., Haghghi, F. G., ... Ecker, J. R. (2013). Global epigenomic reconfiguration during mammalian brain development. *Science (New York, N.Y.)*, *341*(6146), 1237905. <https://doi.org/10.1126/science.1237905>
- Liu, H., Yanamandala, M., Lee, T. C., & Kim, J. K. (2014). Mitochondrial p38 $\beta$  and manganese superoxide dismutase interaction mediated by estrogen in cardiomyocytes. *PloS One*, *9*(1), e85272. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085272>
- Lo, S., & Horton, R. (2016). Transgender health: an opportunity for global health equity. *Lancet (London, England)*, *388*(10042), 316–318. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30675-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30675-4)
- Maney, D. L. (2017). Polymorphisms in sex steroid receptors: From gene sequence to behavior. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *47*, 47–65. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2017.07.003>
- Maruyama, H., Toji, H., Harrington, C. R., Sasaki, K., Izumi, Y., Ohnuma, T., Arai, H., Yasuda, M., Tanaka, C., Emson, P. C., Nakamura, S., & Kawakami, H. (2000). Lack of

- an association of estrogen receptor alpha gene polymorphisms and transcriptional activity with Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 57(2), 236–240. <https://doi.org/10.1001/archneur.57.2.236>
- Mathews, D., & Edwards, D. A. (1977). Involvement of the ventromedial and anterior hypothalamic nuclei in the hormonal induction of receptivity in the female rat. *Physiology & Behavior*, 19(2), 319–326. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(77\)90345-6](https://doi.org/10.1016/0031-9384(77)90345-6).
- Matsuda, K. I., Mori, H., Nugent, B. M., Pfaff, D. W., McCarthy, M. M., & Kawata, M. (2011). Histone deacetylation during brain development is essential for permanent masculinization of sexual behavior. *Endocrinology*, 152(7), 2760–2767. <https://doi.org/10.1210/en.2011-0193>
- Matthews, J., & Gustafsson, J.-A. (2003). Estrogen signaling: a subtle balance between ER alpha and ER beta. *Molecular Interventions*, 3(5), 281–292. <https://doi.org/10.1124/mi.3.5.281>
- McCarthy, M. M. (2020). Origins of Sex Differentiation of Brain and Behavior. In S. Wray & S. Blackshaw (Eds.), *Developmental Neuroendocrinology* (pp. 393–412). Springer International Publishing. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-40002-6\\_15](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-40002-6_15).
- McCarthy, M. M. (2008). Estradiol and the developing brain. *Physiological Reviews*, 88(1), 91–124. <https://doi.org/10.1152/physrev.00010.2007>
- McCarthy, M. M. (2009). The two faces of estradiol: Effects on the developing brain. *Neuroscientist*, 15(6), 599–610. <https://doi.org/10.1177/1073858409340924>
- McCarthy M. M. (2016). Multifaceted origins of sex differences in the brain. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 371(1688), 20150106. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0106>
- McCarthy, M. M., & Arnold, A. P. (2011). Reframing sexual differentiation of the brain. *Nature Neuroscience*, 14(6), 677–683. <https://doi.org/10.1038/nn.2834>
- McCarthy, M. M., Herold, K., & Stockman, S. L. (2018). Fast, furious and enduring: Sensitive versus critical periods in sexual differentiation of the brain. *Physiology and Behavior*, 187, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.10.030>
- McCarthy, M. M. (2020). A new view of sexual differentiation of mammalian brain. *Journal of Comparative Physiology. A, Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral*

- Physiology*, 206(3), 369–378. <https://doi.org/10.1007/s00359-019-01376-8>
- McCarthy, M. M., Auger, A. P., Bale, T. L., De Vries, G. J., Dunn, G. A., Forger, N. G., Murray, E. K., Nugent, B. M., Schwarz, J. M., & Wilson, M. E. (2009). The epigenetics of sex differences in the brain. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(41), 12815–12823. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3331-09.2009>
- McCarthy, M. M., & Nugent, B. M. (2015). At the frontier of epigenetics of brain sex differences. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 9, 221. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00221>
- McCarthy, M. M., Vries, G. J. De, & Forger, N. G. (2017). Sexual differentiation of the brain: A fresh look at mode, mechanisms, and meaning. In *Hormones, Brain and Behavior* (pp. 3–32). Elsevier Inc. ISBN: 978-0-12-803608-2
- Mengel-From, J., Svane, A. M., Pertoldi, C., Nygaard Kristensen, T., Loeschcke, V., Skytthe, A., Christensen, K., Lindahl-Jacobsen, R., Hjelmberg, J., & Christiansen, L. (2019). Advanced Parental Age at Conception and Sex Affects Mitochondrial DNA Copy Number in Human and Fruit Flies. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 74(12), 1853–1860. <https://doi.org/10.1093/gerona/glz070>
- Meyer, I.H., & Frost, D.M. (2012). *Minority Stress and the Health of Sexual Minorities*. In Handbook of Psychology and Sexual Orientation. Oxford Scholarship. Patterson Ch.J. and D'Augelli A.R., editors.
- Michels, K. B., Binder, A. M., Dedeurwaerder, S., Epstein, C. B., Grealley, J. M., Gut, I., Houseman, E. A., Izzi, B., Kelsey, K. T., Meissner, A., Milosavljevic, A., Siegmund, K. D., Bock, C., & Irizarry, R. A. (2013). Recommendations for the design and analysis of epigenome-wide association studies. *Nature Methods*, 10(10), 949–955. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2632>
- Molenda-Figueira, H. A., Murphy, S. D., Shea, K. L., Siegal, N. K., Zhao, Y., Chadwick, J. G. J., Denner, L. A., & Tetel, M. J. (2008). Steroid receptor coactivator-1 from brain physically interacts differentially with steroid receptor subtypes. *Endocrinology*, 149(10), 5272–5279. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0048>

- Mong, J. A., Roberts, R. C., Kelly, J. J., & McCarthy, M. M. (2001). Gonadal steroids reduce the density of axospinous synapses in the developing rat arcuate nucleus: an electron microscopy analysis. *The Journal of Comparative Neurology*, *432*(2), 259–267. <https://doi.org/10.1002/cne.1101>
- Mooney, S. D., Klein, T. E., Altman, R. B., Trifiro, M. A., & Gottlieb, B. (2003). A functional analysis of disease-associated mutations in the androgen receptor gene. *Nucleic Acids Research*, *31*(8), e42. <https://doi.org/10.1093/nar/gng042>
- Moore, C. L. (1985). Sex differences in urinary odors produced by young laboratory rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology (Washington, D.C. : 1983)*, *99*(3), 336–341.
- Moore, C. L., & Morelli, G. A. (1979). Mother rats interact differently with male and female offspring. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *93*(4), 677–684. <https://doi.org/10.1037/h0077599>
- Morris, J. A., Jordan, C. L., & Breedlove, S. M. (2004). Sexual differentiation of the vertebrate nervous system. *Nature Neuroscience*, *7*(10), 1034–1039. <https://doi.org/10.1038/nn1325>
- Moslemi, A.R., & Darin, N. (2007). Molecular genetic and clinical aspects of mitochondrial disorders in childhood. *Mitochondrion*, *7*(4), 241–252. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2007.02.002>
- Mosley, M., Weathington, J., Cortes, L. R., Bruggeman, E., Castillo-Ruiz, A., Xue, B., & Forger, N. G. (2017). Neonatal Inhibition of DNA Methylation Alters Cell Phenotype in Sexually Dimorphic Regions of the Mouse Brain. *Endocrinology*, *158*(6), 1838–1848. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00205>
- Mossman, J. A., Tross, J. G., Li, N., Wu, Z., & Rand, D. M. (2016). Mitochondrial-Nuclear Interactions Mediate Sex-Specific Transcriptional Profiles in *Drosophila*. *Genetics*, *204*(2), 613–630. <https://doi.org/10.1534/genetics.116.192328>
- Murray, E. K., Hien, A., de Vries, G. J., & Forger, N. G. (2009). Epigenetic control of sexual differentiation of the bed nucleus of the stria terminalis. *Endocrinology*, *150*(9), 4241–4247. <https://doi.org/10.1210/en.2009-0458>
- Naftolin, F., Ryan, K. J., Davies, I. J., Reddy, V. V, Flores, F., Petro, Z., Kuhn, M., White, R.

- J., Takaoka, Y., & Wolin, L. (1975). The formation of estrogens by central neuroendocrine tissues. *Recent Progress in Hormone Research*, 31, 295–319. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-571131-9.50012-8>
- Naftolin, F., Ryan, K. J., & Petro, Z. (1971). Aromatization of androstenedione by limbic system tissue from human fetuses. *The Journal of Endocrinology*, 51(4), 795–796. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0510795>
- NCBI: The National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- NCBI ClinVar. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
- NCBI dbSNP. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>
- Nguyen, H. B., Loughead, J., Lipner, E., Hantsoo, L., Kornfield, S. L., & Epperson, C. N. (2019). What has sex got to do with it? The role of hormones in the transgender brain. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 44(1), 22–37. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0140-7>
- Nugent, B. M., Wright, C. L., Shetty, A. C., Hodes, G. E., Lenz, K. M., Mahurkar, A., Russo, S. J., Devine, S. E., & McCarthy, M. M. (2015). Brain feminization requires active repression of masculinization via DNA methylation. *Nature Neuroscience*, 18(5), 690–697. <https://doi.org/10.1038/nn.3988>
- Nunnari, J., & Suomalainen, A. (2012). Mitochondria: in sickness and in health. *Cell*, 148(6), 1145–1159. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.035>
- Ocañas, S. R., Ansere, V. A., Tooley, K. B., Hadad, N., Chucair-Elliott, A. J., Stanford, D. R., Rice, S., Wronowski, B., Hoffman, J. M., Austad, S. N., Stout, M. B., & Freeman, W. M. (2021). Differential regulation of mouse hippocampal gene expression sex differences by chromosomal content and gonadal sex. In bioRxiv 2021.09.01.458115; <https://doi.org/10.1101/2021.09.01.458115>
- Osterlund, H. (2000). Healing touch. *Hawaii Medical Journal*, 59(3), 94–95.
- Paulino, D. B., Pastor-Valero, M., & Machin, R. (2021). 'This family rejection harmed my health as well': Intersections between the meanings of family and health for trans people and family members in a trans healthcare service in Brazil. *Global public health*, 1–13
- Multifaceted origins of sex differences in the brain. <https://doi.org/10.1080/17441692.2021.1924222>

- Pfaff, D. W., & Sakuma, Y. (1979a). Deficit in the lordosis reflex of female rats caused by lesions in the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *The Journal of Physiology*, 288, 203–210.
- Pfaff, D. W., & Sakuma, Y. (1979b). Facilitation of the lordosis reflex of female rats from the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *The Journal of Physiology*, 288, 189–202.
- Phoenix, C. H. (2009). Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the Tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Hormones and Behavior*, 55(5), 566. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2009.01.004>
- Ponglikitmongkol, M., Green, S., & Chambon, P. (1988). Genomic organization of the human oestrogen receptor gene. *The EMBO Journal*, 7(11), 3385–3388.
- Poyton, R. O., & McEwen, J. E. (1996). Crosstalk between nuclear and mitochondrial genomes. *Annual Review of Biochemistry*, 65, 563–607. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.65.070196.003023>
- Prieto, M., & Fernandez, R. (2018). *Análisis del polimorfismo rs9478245 en una población con Disforia de Género*. Universidad de A Coruña. Trabajo fin de Máster. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.15839.15527>
- Ramírez-Bello, J., & Jiménez-Morales, M. (2017). [Functional implications of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in protein-coding and non-coding RNA genes in multifactorial diseases]. *Gaceta medica de Mexico*, 153(2), 238–250.
- Ramírez, K., Fernández, R., Delgado-Zayas, E., Gómez-Gil, E., Esteva, I., Guillamon, A., & Pásaro, E. (2021). Implications of the Estrogen Receptor Coactivators SRC1 and SRC2 in the Biological Basis of Gender Incongruence. *Sexual Medicine*, 9(3), 100368. <https://doi.org/10.1016/j.esxm.2021.100368>
- Ramirez, K., Fernández, R., Collet, S., Kiyar, M., Delgado-Zayas, E., Gómez-Gil, E., Van Den Eynde, T., T'Sjoen, G., Guillamon, A., Mueller, S. C., & Pásaro, E. (2021). Epigenetics Is Implicated in the Basis of Gender Incongruence: An Epigenome-Wide Association Analysis. *Frontiers in Neuroscience*, 15, 701017. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.701017>
- Roselli, C. E. (2018). Neurobiology of gender identity and sexual orientation. *Journal of Neuroendocrinology*, 30(7), e12562. <https://doi.org/10.1111/jne.12562>

- Safe, S. (2001). Transcriptional activation of genes by 17 $\beta$ -estradiol through estrogen receptor-Sp1 interactions. *Vitamins and Hormones*, 62, 231–252. [https://doi.org/10.1016/s0083-6729\(01\)62006-5](https://doi.org/10.1016/s0083-6729(01)62006-5)
- Sánchez, F. J., & Vilain, E. (2010). Genes and brain sex differences. In *Progress in Brain Research* (Vol. 186, Issue C). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53630-3.00005-1>
- Sasaki, S., Ozaki, K., Yamagata, S., Takahashi, Y., Shikishima, C., Kornacki, T., Nonaka, K., & Ando, J. (2016). Genetic and Environmental Influences on Traits of Gender Identity Disorder: A Study of Japanese Twins Across Developmental Stages. *Archives of Sexual Behavior*, 45(7), 1681–1695. <https://doi.org/10.1007/s10508-016-0821-4>
- Schwarz, J. M., Liang, S.-L., Thompson, S. M., & McCarthy, M. M. (2008). Estradiol induces hypothalamic dendritic spines by enhancing glutamate release: a mechanism for organizational sex differences. *Neuron*, 58(4), 584–598. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.03.008>
- Schwarz, J. M., & McCarthy, M. M. (2008a). Steroid-induced sexual differentiation of the developing brain: Multiple pathways, one goal. *Journal of Neurochemistry*, 105(5), 1561–1572. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05384.x>
- Schwarz, J. M., & McCarthy, M. M. (2008b). The role of neonatal NMDA receptor activation in defeminization and masculinization of sex behavior in the rat. *Hormones and Behavior*, 54(5), 662–668. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2008.07.004>
- Schwarz, J. M., Nugent, B. M., & McCarthy, M. M. (2010). Developmental and hormone-induced epigenetic changes to estrogen and progesterone receptor genes in brain are dynamic across the life span. *Endocrinology*, 151(10), 4871–4881. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0142>
- Sheehan, D. V, Lecrubier, Y., Sheehan, K. H., Amorim, P., Janavs, J., Weiller, E., Hergueta, T., Baker, R., & Dunbar, G. C. (1998). The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.). the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 59 Suppl 2, 22–57.
- Shen, E. Y., Ahern, T. H., Cheung, I., Straubhaar, J., Dincer, A., Houston, I., de Vries, G. J.,

- Akbarian, S., & Forger, N. G. (2015). Epigenetics and sex differences in the brain: A genome-wide comparison of histone-3 lysine-4 trimethylation (H3K4me3) in male and female mice. *Experimental Neurology*, 268, 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.08.006>
- Sinclair, A. H., Berta, P., Palmer, M. S., Hawkins, J. R., Griffiths, B. L., Smith, M. J., Foster, J. W., Frischauf, A. M., Lovell-Badge, R., & Goodfellow, P. N. (1990). A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*, 346(6281), 240–244. <https://doi.org/10.1038/346240a0>
- Smith, E. S., Junger, J., Derntl, B., & Habel, U. (2015). The transsexual brain - A review of findings on the neural basis of transsexualism. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 59, 251–266. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.09.008>
- Smith, J. M. (1978). *The Evolution of Sex*. New York : Cambridge University Press, 1978. 222 p. ISBN: 0521293022
- Solé, X., Guinó, E., Valls, J., Iniesta, R., & Moreno, V. (2006). SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 22(15), 1928–1929. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>
- Soriguer, F., Gutiérrez-Repiso, C., Rubio-Martín, E., García-Fuentes, E., Almaraz, M. C., Colomo, N., Esteva de Antonio, I., de Adana, M. S. R., Chaves, F. J., Morcillo, S., Valdés, S., & Rojo-Martínez, G. (2013). Metabolically healthy but obese, a matter of time? Findings from the prospective Pizarra study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 98(6), 2318–2325. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-4253>
- Spiers, H., Hannon, E., Schalkwyk, L. C., Bray, N. J., & Mill, J. (2017). 5-hydroxymethylcytosine is highly dynamic across human fetal brain development. *BMC Genomics*, 18(1), 738. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4091-x>
- Spiers, H., Hannon, E., Schalkwyk, L. C., Smith, R., Wong, C. C. Y., O'Donovan, M. C., Bray, N. J., & Mill, J. (2015). Methylomic trajectories across human fetal brain development. *Genome Research*, 25(3), 338–352. <https://doi.org/10.1101/gr.180273.114>
- Stram, D. O. (2017). Multi-SNP Haplotype Analysis Methods for Association Analysis. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1666, 485–504. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7274-6\\_24](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7274-6_24)

- Suárez, I., Bodega, G., & Fernández, B. (2002). Glutamine synthetase in brain: effect of ammonia. *Neurochemistry International*, 41(2–3), 123–142. [https://doi.org/10.1016/s0197-0186\(02\)00033-5](https://doi.org/10.1016/s0197-0186(02)00033-5)
- Swaab, D. F. (2004). Sexual differentiation of the human brain: relevance for gender identity, transsexualism and sexual orientation. *Gynecological Endocrinology: The Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 19(6), 301–312. <https://doi.org/10.1080/09513590400018231>
- Swaab, D. F., & Hofman, M. A. (1984). Sexual differentiation of the human brain. A historical perspective. *Progress in Brain Research*, 61, 361–374. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)64447-7](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)64447-7)
- Swaab, D. F., & Garcia-Falgueras, A. (2009). *Sexual differentiation of the human brain in relation to gender identity and sexual orientation*. 24(16), 17–28.
- Swift-Gallant, A., & Monks, D. A. (2017). Androgenic mechanisms of sexual differentiation of the nervous system and behavior. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 46, 32–45. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2017.04.003>
- Tenbaum, S., & Baniahmad, A. (1997). Nuclear receptors: Structure, function and involvement in disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 29(12), 1325–1341. [https://doi.org/10.1016/s1357-2725\(97\)00087-3](https://doi.org/10.1016/s1357-2725(97)00087-3).
- Todd, B. J., Schwarz, J. M., Mong, J. A., & McCarthy, M. M. (2007). Glutamate AMPA/kainate receptors, not GABA(A) receptors, mediate estradiol-induced sex differences in the hypothalamus. *Developmental Neurobiology*, 67(3), 304–315. <https://doi.org/10.1002/dneu.20337>
- Toppari, J., & Skakkebjæk, N. E. (1998). Sexual differentiation and environmental endocrine disrupters. *Baillieres. Clin. Endocrinol. Metab.*, 12(1), 143–156. [https://doi.org/10.1016/s0950-351x\(98\)80529-6](https://doi.org/10.1016/s0950-351x(98)80529-6).
- Toran-Allerand, C. D. (1984). Gonadal Hormones and Brain Development: Implications for the Genesis of Sexual Differentiation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 435(1), 101–112. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1984.tb13743.x>
- Tower, J. (2015). Mitochondrial maintenance failure in aging and role of sexual dimorphism. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 576, 17–31.

<https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.10.008>

Ujike, H., Otani, K., Nakatsuka, M., Ishii, K., Sasaki, A., Oishi, T., Sato, T., Okahisa, Y., Matsumoto, Y., Namba, Y., Kimata, Y., & Kuroda, S. (2009). Association study of gender identity disorder and sex hormone-related genes. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 33(7), 1241–1244. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.07.008>

van Meurs, J. B., Schuit, S. C., Weel, A. E., van der Klift, M., Bergink, A. P., Arp, P. P., Colin, E. M., Fang, Y., Hofman, A., van Duijn, C. M., van Leeuwen, J. P., Pols, H. A., & Uitterlinden, A. G. (2003). Association of 5' estrogen receptor alpha gene polymorphisms with bone mineral density, vertebral bone area and fracture risk. *Human molecular genetics*, 12(14), 1745–1754. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddg176>

Walters, M. R. (1985). Steroid hormone receptors and the nucleus. *Endocr. Rev.*, 6(4), 512–543. <https://doi.org/10.1210/edrv-6-4-512>.

Weickert, C. S., Miranda-Angulo, A. L., Wong, J., Perlman, W. R., Ward, S. E., Radhakrishna, V., Straub, R. E., Weinberger, D. R., & Kleinman, J. E. (2008). Variants in the estrogen receptor alpha gene and its mRNA contribute to risk for schizophrenia. *Human Molecular Genetics*, 17(15), 2293–2309. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn130>

Wolff, J. N., & Gemmell, N. J. (2013). Mitochondria, maternal inheritance, and asymmetric fitness: why males die younger. *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 35(2), 93–99. <https://doi.org/10.1002/bies.201200141>

World Health Organization. (1993). The ICD-10. Classification of Mental and Behavioural Disorders: Diagnostic Criteria for Research. (W. H. Organization., Ed.). Geneva.

World Health Organization. (2018). The ICD-11. Classification of Mental and Behavioural Disorders: Diagnostic Criteria for Research. (W. H. Organization., Ed.). Geneva.

Wright, C. L., Schwarz, J. S., Dean, S. L., & McCarthy, M. M. (2010). Cellular mechanisms of estradiol-mediated sexual differentiation of the brain. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 21(9), 553–561. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2010.05.004>

Xu, H., Wang, F., Liu, Y., Yu, Y., Gelernter, J., & Zhang, H. (2014). Sex-biased methylome and transcriptome in human prefrontal cortex. *Human Molecular Genetics*, 23(5), 1260–1270. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt516>

- Xu, J., Deng, X., Watkins, R., & Disteche, C. M. (2008). Sex-specific differences in expression of histone demethylases Utx and Uty in mouse brain and neurons. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(17), 4521–4527. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5382-07.2008>
- Yang, F., Moss, L. G., & Phillips, G. N. J. (1996). The molecular structure of green fluorescent protein. *Nature Biotechnology*, 14(10), 1246–1251. <https://doi.org/10.1038/nbt1096-1246>
- Yang, X., Wang, L., Gu, Y., Song, W., Hao, C., Zhou, J., Zhang, Q., & Zhao, Q. (2016). A cross-sectional study of associations between casual partner, friend discrimination, social support and anxiety symptoms among Chinese transgender women. *Journal of Affective Disorders*, 203, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.05.051>
- Yang, X., Wang, L., Hao, C., Gu, Y., Song, W., Wang, J., Chang, M. M., & Zhao, Q. (2015). Sex Partnership and Self-Efficacy Influence Depression in Chinese Transgender Women: A Cross-Sectional Study. *PloS One*, 10(9), e0136975. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136975>
- Yi, P., Wang, Z., Feng, Q., Pintilie, G. D., Foulds, C. E., Lanz, R. B., Ludtke, S. J., Schmid, M. F., Chiu, W., & O'Malley, B. W. (2015). Structure of a biologically active estrogen receptor-coactivator complex on DNA. *Molecular Cell*, 57(6), 1047–1058. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.01.025>
- Yore, M. A., Im, D., Webb, L. K., Zhao, Y., Chadwick, J. G. J., Molenda-Figueira, H. A., Haidacher, S. J., Denner, L., & Tetel, M. J. (2010). Steroid receptor coactivator-2 expression in brain and physical associations with steroid receptors. *Neuroscience*, 169(3), 1017–1028. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.05.053>



## 8. ANEXOS

---



## 8.1. Glosario

**Alelos:** Formas experimentalmente distinguibles de un gen o marcador genético. A estas formas alternativas también se las conoce como variantes alélicas.

**Autosoma:** Cualquier cromosoma de la célula que no es un cromosoma sexual.

**Cromosoma sexual:** En mamíferos son los cromosomas X e Y.

**Desequilibrio de ligamiento:** Se denomina desequilibrio del ligamiento o LD por sus siglas en inglés (*Linkage Disequilibrium*) a la propiedad de algunos genes de no segregar de forma independiente, esto es, poseen una frecuencia de recombinación menor del 50 %. Esto suele deberse a que los dos loci implicados se encuentran en el mismo cromosoma, lo que imposibilita su transferencia a la progenie de manera aleatoria.

**Fenotipo:** Es la descripción del aspecto observable de un individuo con respecto a una característica determinada. No obstante, individuos con genotipos diferentes pueden desplegar el mismo fenotipo.

**Gameto:** Células haploides especializadas (óvulos y espermatozoides) cuya función es fusionarse con un gameto del sexo opuesto para formar un huevo (cigoto).

**Gen:** Segmento de ADN que se transcribe [normalmente incluye un marco abierto de lectura (*open reading frame*) y está asociado a secuencias reguladoras (ej.: promotores)].

**Genoma:** La información genética total de una célula u organela. En los eucariotas, el término "genoma" se refiere normalmente al ADN nuclear más que al ADN de las mitocondrias o de los cloroplastos.

**Genotipo:** Es la descripción de la información genética portada por un organismo. En el caso más simple, el genotipo se refiere a la información encontrada en un locus, por ejemplo, A/A, A/a, o a/a.

**Haplotipo:** Conjunto de alelos de loci estrechamente ligados sobre una región cromosómica que se heredan (generalmente) como una unidad.

**Heterocigoto:** Aquellos individuos que producen dos tipos de gametos con respecto, como mínimo, a un gen (A/a).

**Homocigoto:** Aquellos individuos que producen sólo un tipo de gametos con respecto a uno o más genes (A/A).

**Ligamiento genético (linkage):** La propiedad que tienen dos genes que no se heredan (segregan) en forma independiente. Los genes ligados se encuentran en el mismo cromosoma.

**Locus/loci:** Del latín "lugar". Localización de un gen o grupo de genes en un cromosoma. Segmento de ADN genómico que no se encuentra subdividido por un evento de recombinación en un experimento dado. De esta forma, más de un gen o marcador pueden ocupar un locus. Loci es el plural de locus.

**Marcador:** Cualquier secuencia contigua de ADN genómico que sea de interés para los genetistas, ya sea codificante o no. Algunos genes pueden ser marcadores, pero no todos los marcadores son genes.

**Polimorfismo:** Un gen o marcador es polimórfico cuando encontramos múltiples formas (alelos) en más del 1% de los miembros de una población.

**Sexo natal = sexo biológico:** Sexo definido en el momento del nacimiento, refiriéndose exclusivamente al cariotipo, pudiendo ser hombre (46,XY) o mujer (46,XY).

**SNP:** *Single nucleotide polymorphism* o polimorfismo de nucleótido único es un tipo de polimorfismo que produce una variación en un solo par de bases.

**STR:** *Short tandem repeat* son secuencias de ADN en las que un fragmento (cuyo tamaño va desde dos hasta seis pares de bases) se repite de manera consecutiva. La variación en el número de repeticiones, y no la secuencia repetida, crea diferentes alelos.

## 8.2. Tablas de resultados

Tablas de las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos mitocondriales con significación estadística y análisis de su interacción con la covariable “sexo”.

**Tabla 23.**

*Análisis del polimorfismo Afix-79504644*

<b>Análisis del polimorfismo Afix-79504644 (n=187)</b>						
<b>Afix-79504644 Frecuencias alélicas</b>						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
G	188	0,5	74	0,39	114	0,61
A	186	0,5	114	0,61	72	0,39
<b>Afix-79504644 Frecuencias genotípicas</b>						
Genotipos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	93	0,5	57	0,61	36	0,39
G/G	94	0,5	37	0,39	57	0,61
<b>Afix-79504644 Estudio de asociación con la IG (n=187, ajustado por sexo)</b>						
Genotipos	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
G/G	37 (39,4%)	57 (61,3%)	1	0,003	256,1	265,8
A/A	57 (60,6%)	36 (38,7%)	0,41 (0,23-0,74)			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Interacción cruzada Afix-79504644 y sexo (n=187, análisis crudo)</b>						
Genotipos	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
G/G	22	21	1	15	36	2,51 (1,08-5,88)
A/A	28	25	0,94 (0,42-2,09)	29	11	0,40 (0,16-0,99)
<b>P de interacción: 0,0038</b>						
<b>Sexo within Afix-79504644 (n=187, análisis crudo)</b>						
Genotipos		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
G/G	mujeres	22	21	1		
	hombres	15	36	2,51 (1,08-5,88)		
A/A	mujeres	28	25	1		
	hombres	29	11	0,42 (0,18-1,02)		
<b>Test de interacción: 0,0038</b>						
<b>Afix-79504644 within sexo (n=187, análisis crudo)</b>						
mujeres	Genotipos	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	G/G	22	21	1		
	A/A	28	25	0,94 (0,42-2,09)		
hombres	Genotipos	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	G/G	15	36	1		
	A/A	29	11	0,16 (0,06-0,40)		
<b>Test de interacción: 0,0038</b>						

**Tabla 24.**

*Análisis del polimorfismo Affx-52321592*

<b>Análisis del polimorfismo Affx-52321592 (n=188)</b>						
<b>Affx-52321592 Frecuencias alélicas (n=188)</b>						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
G	362	0,96	188	1	174	0,93
A	14	0,04	0	0	14	0,07
<b>Affx-52321592 Frecuencias genotípicas (n=188)</b>						
Genotipos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	7	0,04	0	0	7	0,07
G/G	181	0,96	94	1	87	0,93
<b>Affx-52321592 (n=188)</b>						
Genotipos	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
G/G	94 (100%)	87 (92,5%)	1	0,0015	256,4	266,1
A/A	0 (0%)	7 (7,5%)	NA (0,00-NA)			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Interacción cruzada Affx-52321592 y sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
Genotipos	Población cis	mujeres		Población cis	hombres	
		Población trans	OR (95% CI)		Población trans	OR (95% CI)
G/G	50	43	1	44	44	1,16 (0,65-2,08)
A/A	0	4	---	0	3	---
<b>P de interacción: 1</b>						
<b>Sexo within Affx-52321592 (n=188, análisis crudo)</b>						
G/G	mujeres	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		50	43	1		
		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
hombres		44	44	1,16 (0,65-2,08)		
A/A	mujeres	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		0	4	1		
		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
hombres		0	3	1		
<b>Test de interacción: 1</b>						
<b>Affx-52321592 within sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
mujeres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		50	43	1		
		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
A/A		0	4	---		
hombres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		44	44	1		
		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
A/A		0	3	---		
<b>Test de interacción: 1</b>						

Tabla 25.

## Análisis del polimorfismo Affx-34461959

Análisis del polimorfismo Affx-34461959 (n=188)						
Affx-34461959 Frecuencias alélicas(n=188)						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
G	216	0,57	92	0,49	124	0,66
A	160	0,43	96	0,51	64	0,34
Affx-34461959 Frecuencias genotípicas(n=188)						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	80	0,43	48	0,51	32	0,34
G/G	108	0,57	46	0,49	62	0,66
Affx-34461959 (n=188)						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
G/G	46 (48,9%)	62 (66%)	1	0,019	260,9	270,6
A/A	48 (51,1%)	32 (34%)	<b>0,50 (0,28-0,90)</b>			
Análisis de interacción con la covariable sexo						
Affx-34461959 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
G/G	28	25	1	18	37	<b>2,30 (1,06-5,02)</b>
A/A	22	22	1,12 (0,50-2,49)	26	10	0,43 (0,17-1,07)
<b>P de interacción: 0,0035</b>						
Sexo within Affx-34461959 (n=188, análisis crudo)						
G/G		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		mujeres	28	25	1	
	hombres	18	37	<b>2,30 (1,06-5,02)</b>		
A/A		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		mujeres	22	22	1	
	hombres	26	10	<b>0,38 (0,15-0,98)</b>		
<b>Test de interacción: 0,0035</b>						
Affx-34461959 within sexo (n=188, análisis crudo)						
mujeres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		28	25	1		
	A/A	22	22	1,12 (0,50-2,49)		
hombres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		18	37	1		
	A/A	26	10	<b>0,19 (0,07-0,47)</b>		
<b>Test de interacción: 0,0035</b>						

**Tabla 26.**

*Análisis del polimorfismo Affx-79381661*

<b>Análisis del polimorfismo Affx-79381661 (n= 188)</b>						
<b>Affx-79381661 Frecuencias alélicas(n=188)</b>						
	<b>Todos los sujetos</b>		<b>Población cis</b>		<b>Población trans</b>	
<b>Alelos</b>	<b>Nº individuos</b>	<b>Proporción</b>	<b>Nº individuos</b>	<b>Proporción</b>	<b>Nº individuos</b>	<b>Proporción</b>
A	356	0,95	184	0,98	172	0,91
G	20	0,05	4	0,02	16	0,09
<b>Affx-79381661 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
	<b>Todos los sujetos</b>		<b>Población cis</b>		<b>Población trans</b>	
<b>Genotipo</b>	<b>Nº individuos</b>	<b>Proporción</b>	<b>Nº individuos</b>	<b>Proporción</b>	<b>Nº individuos</b>	<b>Proporción</b>
A/A	178	0,95	92	0,98	86	0,91
G/G	10	0,05	2	0,02	8	0,09
<b>Affx-79381661 (n=188)</b>						
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>	<b>AIC</b>	<b>BIC</b>
A/A	92 (97,9%)	86 (91,5%)	1	0,044	262,4	272,1
G/G	2 (2,1%)	8 (8,5%)	4,28 (0,88-20,71)			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Affx-79381661 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)</b>						
	<b>mujeres</b>			<b>hombres</b>		
	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>
A/A	48	44	1	44	42	1,04 (0,58-1,88)
G/G	2	3	1,64 (0,26-10,26)	0	5	---
<b>P de interacción: 0,078</b>						
<b>Sexo within Affx-79381661 (n=188, análisis crudo)</b>						
		<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>		
A/A	<b>mujeres</b>	48	44	1		
	<b>hombres</b>	44	42	1,04 (0,58-1,88)		
G/G	<b>mujeres</b>	2	3	1		
	<b>hombres</b>	0	5	---		
<b>Test de interacción: 0,078</b>						
<b>Affx-79381661 within sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
		<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>		
<b>mujeres</b>	A/A	48	44	1		
	G/G	2	3	1,64 (0,26-10,26)		
<b>hombres</b>	A/A	44	42	1		
	G/G	0	5	---		
<b>Test de interacción: 0,078</b>						

Tabla 27.

## Análisis del polimorfismo Afx-92047845

Análisis del polimorfismo Afx-92047845 (n=188)						
Afx-92047845 Frecuencias alélicas(n=188)						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
G	370	0,98	182	0,97	188	1
A	6	0,02	6	0,03	0	0
Afx-92047845 Frecuencias genotípicas(n=188)						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	3	0,02	3	0,03	0	0
G/G	185	0,98	91	0,97	94	1
Afx-92047845 (n=188)						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
G/G	91 (96,8%)	94 (100%)	1	0,044	262,4	272,1
A/A	3 (3,2%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)			
Análisis de interacción con la covariable sexo						
Afx-92047845 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
G/G	47	47	1	44	47	1,07 (0,60-1,90)
A/A	3	0	0	0	0	---
P de interacción: NA						
Sexo within Afx-92047845 (n=188, análisis crudo)						
G/G		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		mujeres	47	47	1	
	hombres	44	47	1,07 (0,60-1,90)		
A/A		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		mujeres	3	0	1	
	hombres	0	0	---		
Test de interacción: NA						
Afx-92047845 within sexo (n=188, análisis crudo)						
mujeres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		47	47	1		
	A/A	3	0	0		
hombres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		44	47	1		
	A/A	0	0	---		
Test de interacción: NA						

**Tabla 28.**

*Análisis del polimorfismo Affx-89025744*

<b>Análisis del polimorfismo Affx-89025744 (n=188)</b>						
<b>Affx-89025744 Frecuencias alélicas(n=188)</b>						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A	362	0,96	188	1	174	0,93
G	14	0,04	0	0	14	0,07
<b>Affx-89025744 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	181	0,96	94	1	87	0,93
G/G	7	0,04	0	0	7	0,07
<b>Affx-89025744 (n=188)</b>						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
A/A	94 (100%)	87 (92,5%)	1	0,0018	256,6	266,4
G/G	0 (0%)	7 (7,5%)	NA (0,00-NA)			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Affx-89025744 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)</b>						
	mujeres			Población cis	hombres	
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		Población cis	Población trans
A/A	50	46	1	44	41	1,01 (0,56-1,82)
G/G	0	1	---	0	6	---
<b>P de interacción: 1</b>						
<b>Sexo within Affx-89025744 (n=188, análisis crudo)</b>						
A/A		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		mujeres	50	46	1	
	hombres	44	41	1,01 (0,56-1,82)		
G/G		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		mujeres	0	1	1	
	hombres	0	6	1		
<b>Test de interacción: 1</b>						
<b>Affx-89025744 within sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
mujeres	A/A	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	G/G	0	1	---		
hombres	A/A	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	G/G	0	6	---		
<b>Test de interacción: 1</b>						

Tabla 29.

## Análisis del polimorfismo Afix-79381669

Análisis del polimorfismo Afix-79381669 (n=186)						
Afix-79381669 Frecuencias alélicas(n=186)						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
G	366	0,98	188	1	178	0,97
A	6	0,02	0	0	6	0,03
Afix-79381669 Frecuencias genotípicas(n=188)						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	3	0,02	0	0	3	0,03
G/G	183	0,98	94	1	89	0,97
NA	2	---	0	---	2	---
Afix-79381669 (n=186)						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
G/G	94 (100%)	89 (96,7%)	1	0,041	259,6	269,2
A/A	0 (0%)	3 (3,3%)	NA (0,00-NA)			
Análisis de interacción con la covariable sexo						
Afix-79381669 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=186, análisis crudo)						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
G/G	50	47	1	44	42	1,02 (0,57-1,82)
A/A	0	0	---	0	3	---
P de interacción: NA						
Sexo within Afix-79381669 (n=186, análisis crudo)						
G/G		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	50	47	1		
hombres	44	42	1,02 (0,57-1,82)			
A/A		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	0	0	1		
hombres	0	3	---			
Test de interacción: NA						
Afix-79381669 within sexo (n=186, análisis crudo)						
mujeres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	A/A	0	0	---		
hombres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	A/A	0	3	---		
Test de interacción: NA						

**Tabla 30.**

*Análisis del polimorfismo Afx-34462083*

<b>Análisis del polimorfismo Afx-34462083 (n=188)</b>						
<b>Afx-34462083 Frecuencias alélicas(n=188)</b>						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C	366	0,97	188	1	178	0,95
T	10	0,03	0	0	10	0,05
<b>Afx-34462083 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C/C	183	0,97	94	1	89	0,95
T/T	5	0,03	0	0	5	0,05
<b>Afx-34462083 (n=188)</b>						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
C/C	94 (100%)	89 (94,7%)	1	<b>0,0085</b>	259,5	269,2
T/T	0 (0%)	5 (5,3%)	NA (0,00-NA)			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Afx-34462083 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)</b>						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
C/C	50	46	1	44	43	1,06 (0,59-1,90)
T/T	0	1	---	0	4	---
<b>P de interacción: 1</b>						
<b>Sexo within Afx-34462083 (n=188, análisis crudo)</b>						
C/C		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	50	46	1		
hombres	44	43	1,06 (0,59-1,90)			
T/T		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	0	1	1		
hombres	0	4	1			
<b>Test de interacción: 1</b>						
<b>Afx-34462083 within sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
mujeres	C/C	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	T/T	0	1	---		
hombres	C/C	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	T/T	0	4	---		
<b>Test de interacción: 1</b>						

Tabla 31.

Análisis del polimorfismo Afx-89025691

Análisis del polimorfismo Afx-89025691 (n=188)						
Afx-89025691 Frecuencias alélicas(n=188)						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C	366	0,97	188	1	178	0,95
A	10	0,03	0	0	10	0,05
Afx-89025691 Frecuencias genotípicas(n=188)						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	5	0,03	0	0	5	0,05
C/C	183	0,97	94	1	89	0,95
Afx-89025691 (n=188)						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
C/C	94 (100%)	89 (94,7%)	1	0,0085	259,5	269,2
A/A	0 (0%)	5 (5,3%)	NA (0,00-NA)			
Análisis de interacción con la covariable sexo						
Afx-89025691 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
C/C	50	46	1	44	43	1,06 (0,59-1,90)
A/A	0	1	---	0	4	---
P de interacción: 1						
Sexo within Afx-89025691 (n=188, análisis crudo)						
C/C		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	50	46	1		
hombres		44	43	1,06 (0,59-1,90)		
A/A		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	0	1	1		
hombres		0	4	1		
Test de interacción: 1						
Afx-89025691 within sexo (n=188, análisis crudo)						
mujeres	C/C	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	A/A	0	1	---		
hombres	C/C	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	A/A	0	4	---		
Test de interacción: 1						

**Tabla 32.**

*Análisis del polimorfismo Affx-34462190*

<b>Análisis del polimorfismo Affx-34462190 (n=188)</b>						
<b>Affx-34462190 Frecuencias alélicas(n=188)</b>						
Todos los sujetos			Población cis		Población trans	
Alelos	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
T	216	0,57	92	0,49	124	0,66
C	160	0,43	96	0,51	64	0,34
<b>Affx-34462190 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
Todos los sujetos			Población cis		Población trans	
Genotipo	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C/C	80	0,43	48	0,51	32	0,34
T/T	108	0,57	46	0,49	62	0,66
<b>Affx-34462190 (n=188)</b>						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
T/T	46 (48,9%)	62 (66%)	1	<b>0,019</b>	260,9	270,6
C/C	48 (51,1%)	32 (34%)	<b>0,50 (0,28-0,90)</b>			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Affx-34462190 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)</b>						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
T/T	28	25	1	18	37	<b>2,30 (1,06-5,02)</b>
C/C	22	22	1,12 (0,50-2,49)	26	10	0,43 (0,17-1,07)
<b>P de interacción: 0,0035</b>						
<b>Sexo within Affx-34462190 (n=188, análisis crudo)</b>						
T/T	Población cis			Población trans		
	mujeres	28	25	1	18	37
C/C	Población cis			Población trans		
	mujeres	22	22	1	26	10
C/C	Población cis			Población trans		
	mujeres	22	22	1	26	10
T/T	Población cis			Población trans		
	mujeres	28	25	1	18	37
C/C	Población cis			Población trans		
	mujeres	22	22	1	26	10
T/T	Población cis			Población trans		
	hombres	18	37	1	26	10
C/C	Población cis			Población trans		
	hombres	26	10	<b>0,19 (0,07-0,47)</b>	26	10
<b>Test de interacción: 0,0035</b>						
<b>Affx-34462190 within sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
mujeres	Población cis			Población trans		
	T/T	28	25	1	18	37
hombres	Población cis			Población trans		
	T/T	18	37	1	26	10
C/C	Población cis			Población trans		
	hombres	26	10	<b>0,19 (0,07-0,47)</b>	26	10
<b>Test de interacción: 0,0035</b>						

Tabla 33.

Análisis del polimorfismo Affx-79443447

Análisis del polimorfismo Affx-79443447 (n=187)						
Affx-79443447 Frecuencias alélicas(n=187)						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C	368	0,98	180	0,97	188	1
T	6	0,02	6	0,03	0	0
Affx-79443447 Frecuencias genotípicas(n=188)						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C/C	184	0,98	90	0,97	94	1
T/T	3	0,02	3	0,03	0	0
NA	1 ---		1 ---		0 ---	
Affx-79443447 (n=187)						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
C/C	90 (96,8%)	94 (100%)	1	0,037	260,6	270,3
T/T	3 (3,2%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)			
Análisis de interacción con la covariable sexo						
Affx-79443447 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=187, análisis crudo)						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
C/C	49	47	1	41	47	1,20 (0,67-2,13)
T/T	1	0	0	2	0	0
<b>P de interacción: 1</b>						
Sexo within Affx-79443447 (n=187, análisis crudo)						
C/C		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	49	47	1		
hombres		41	47	1,20 (0,67-2,13)		
T/T		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	1	0	1		
hombres		2	0	1		
<b>Test de interacción: 1</b>						
Affx-79443447 within sexo (n=187, análisis crudo)						
mujeres	C/C	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		49	47	1		
	T/T	1	0	0		
hombres	C/C	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		41	47	1		
	T/T	2	0	0		
<b>Test de interacción: 1</b>						

**Tabla 34.**

*Análisis del polimorfismo Affx-89025749*

<b>Análisis del polimorfismo Affx-89025749 (n=188)</b>						
<b>Affx-89025749 Frecuencias alélicas(n=188)</b>						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
G	370	0,98	188	1	182	0,97
A	6	0,02	0	0	6	0,03
<b>Affx-89025749 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	3	0,02	0	0	3	0,03
G/G	185	0,98	94	1	91	0,97
<b>Affx-89025749 (n=188)</b>						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
G/G	94 (100%)	91 (96,8%)	1	<b>0,042</b>	262,3	272
A/A	0 (0%)	3 (3,2%)	NA (0,00-NA)			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Affx-89025749 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)</b>						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
G/G	50	46	1	44	45	1,11 (0,62-1,98)
A/A	0	1	---	0	2	---
<b>P de interacción: 1</b>						
<b>Sexo within Affx-89025749 (n=188, análisis crudo)</b>						
G/G		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	50	46	1		
hombres		44	45	1,11 (0,62-1,98)		
A/A		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	0	1	1		
hombres		0	2	1		
<b>Test de interacción: 1</b>						
<b>Affx-89025749 within sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
mujeres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		50	46	1		
	A/A	0	1	---		
hombres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		44	45	1		
	A/A	0	2	---		
<b>Test de interacción: 1</b>						

Tabla 35.

## Análisis del polimorfismo Affx-79381684

Análisis del polimorfismo Affx-79381684 (n=188)						
Affx-79381684 Frecuencias alélicas(n=188)						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
T	356	0,95	184	0,98	172	0,91
C	20	0,05	4	0,02	16	0,09
Affx-79381684 Frecuencias genotípicas(n=188)						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C/C	10	0,05	2	0,02	8	0,09
T/T	178	0,95	92	0,98	86	0,91
Affx-79381684 (n=188)						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
T/T	92 (97,9%)	86 (91,5%)	1	0,044	262,4	272,1
C/C	2 (2,1%)	8 (8,5%)	4,28 (0,88-20,71)			
Análisis de interacción con la covariable sexo						
Affx-79381684 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
T/T	48	44	1	44	42	1,04 (0,58-1,88)
C/C	2	3	1,64 (0,26-10,26)	0	5	---
P de interacción: 0,078						
Sexo within Affx-79381684 (n=188, análisis crudo)						
T/T		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		mujeres	48	44	1	
	hombres	44	42	1,04 (0,58-1,88)		
C/C		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		mujeres	2	3	1	
	hombres	0	5	---		
Test de interacción: 0,078						
Affx-79381684 within sexo (n=188, análisis crudo)						
mujeres	T/T	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		48	44	1		
	C/C	2	3	1,64 (0,26-10,26)		
hombres	T/T	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		44	42	1		
	C/C	0	5	---		
Test de interacción: 0,078						

**Tabla 36.**

*Análisis del polimorfismo Affx-79381690*

<b>Análisis del polimorfismo Affx-79381690 (n=187)</b>						
<b>Affx-79381690 Frecuencias alélicas(n=187)</b>						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A	294	0,79	166	0,89	128	0,68
G	80	0,21	20	0,11	60	0,32
<b>Affx-79381690 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	147	0,79	83	0,89	64	0,68
G/G	40	0,21	10	0,11	30	0,32
NA	1 ---		1 ---		0 ---	
<b>Affx-79381690 (n=187)</b>						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
A/A	83 (89,2%)	64 (68,1%)	1	3,00E-04	252,2	261,9
G/G	10 (10,8%)	30 (31,9%)	<b>3,95 (1,78-8,78)</b>			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Affx-79381690 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=187, análisis crudo)</b>						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
A/A	44	38	1	39	26	0,77 (0,40-1,49)
G/G	5	9	2,08 (0,64-6,76)	5	21	<b>4,86 (1,67-14,14)</b>
<b>P de interacción: 0,18</b>						
<b>Sexo within Affx-79381690 (n=187, análisis crudo)</b>						
A/A		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	44	38	1		
hombres		39	26	0,77 (0,40-1,49)		
G/G		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	5	9	1		
hombres		5	21	2,33 (0,54-10,10)		
<b>Test de interacción: 0,18</b>						
<b>Affx-79381690 within sexo (n=187, análisis crudo)</b>						
mujeres	A/A	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	G/G	5	9	2,08 (0,64-6,76)		
hombres	A/A	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	G/G	5	21	<b>6,30 (2,11-18,82)</b>		
<b>Test de interacción: 0,18</b>						

Tabla 37.

## Análisis del polimorfismo Afx-89025669

Análisis del polimorfismo Afx-89025669 (n=188)						
Afx-89025669 Frecuencias alélicas(n=188)						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C	346	0,92	184	0,98	162	0,86
T	30	0,08	4	0,02	26	0,14
Afx-89025669 Frecuencias genotípicas(n=188)						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C/C	173	0,92	92	0,98	81	0,86
T/T	15	0,08	2	0,02	13	0,14
Afx-89025669 (n=188)						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
C/C	92 (97,9%)	81 (86,2%)	1	0,002	256,9	266,6
T/T	2 (2,1%)	13 (13,8%)	<b>7,38 (1,60-33,98)</b>			
Análisis de interacción con la covariable sexo						
Afx-89025669 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
C/C	49	44	1	43	37	0,96 (0,53-1,74)
T/T	1	3	3,34 (0,34-33,31)	1	10	<b>11,14 (1,37-90,50)</b>
P de interacción: 0,44						
Sexo within Afx-89025669 (n=188, análisis crudo)						
C/C	mujeres		hombres		OR (95% CI)	
	Población cis	Población trans	Población cis	Población trans		
	49	44	43	37	0,96 (0,53-1,74)	
T/T	mujeres		hombres		OR (95% CI)	
	Población cis	Población trans	Población cis	Población trans		
	1	3	1	10	3,33 (0,16-70,89)	
Test de interacción: 0,44						
Afx-89025669 within sexo (n=188, análisis crudo)						
mujeres	C/C		T/T		OR (95% CI)	
	Población cis	Población trans	Población cis	Población trans		
	49	44	1	3	3,34 (0,34-33,31)	
hombres	C/C		T/T		OR (95% CI)	
	Población cis	Población trans	Población cis	Población trans		
	43	37	1	10	<b>11,62 (1,42-95,07)</b>	
Test de interacción: 0,44						

**Tabla 38.**

*Análisis del polimorfismo Affx-79381693*

<b>Análisis del polimorfismo Affx-79381693 (n=188)</b>						
<b>Affx-79381693 Frecuencias alélicas(n=188)</b>						
Todos los sujetos			Población cis		Población trans	
Alelos	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
T	334	0,89	180	0,96	154	0,82
C	42	0,11	8	0,04	34	0,18
<b>Affx-79381693 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
Todos los sujetos			Población cis		Población trans	
Genotipo	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C/C	21	0,11	4	0,04	17	0,18
T/T	167	0,89	90	0,96	77	0,82
<b>Affx-79381693 (n=188)</b>						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
T/T	90 (95,7%)	77 (81,9%)	1	0,0021	256,9	266,7
C/C	4 (4,3%)	17 (18,1%)	<b>4,99 (1,59-15,62)</b>			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Affx-79381693 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)</b>						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
T/T	48	43	1	42	34	0,90 (0,49-1,67)
C/C	2	4	2,23 (0,39-12,80)	2	13	<b>7,26 (1,55-34,00)</b>
<b>P de interacción: 0,29</b>						
<b>Sexo within Affx-79381693 (n=188, análisis crudo)</b>						
T/T	mujeres		Población cis	Población trans	OR (95% CI)	
			48	43	1	
C/C	hombres		Población cis	Población trans	OR (95% CI)	
			42	34	0,90 (0,49-1,67)	
T/T	mujeres		Población cis	Población trans	OR (95% CI)	
			2	4	1	
C/C	hombres		Población cis	Población trans	OR (95% CI)	
			2	13	3,25 (0,34-31,08)	
<b>Test de interacción: 0,29</b>						
<b>Affx-79381693 within sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
mujeres	T/T	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		48	43	1		
hombres	C/C	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		2	4	2,23 (0,39-12,80)		
T/T	Población cis	Población trans	OR (95% CI)			
	42	34	1			
C/C	Población cis	Población trans	OR (95% CI)			
	2	13	<b>8,03 (1,69-38,05)</b>			
<b>Test de interacción: 0,29</b>						

Tabla 39.

## Análisis del polimorfismo Afx-34461653

Análisis del polimorfismo Afx-34461653 (n=187)						
Afx-34461653 Frecuencias alélicas(n=187)						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
G	342	0,91	184	0,99	158	0,84
A	32	0,09	2	0,01	30	0,16
Afx-34461653 Frecuencias genotípicas(n=188)						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	16	0,09	1	0,01	15	0,16
G/G	171	0,91	92	0,99	79	0,84
NA	1	---	1	---	0	---
Afx-34461653 (n=187)						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
G/G	92 (98,9%)	79 (84%)	1		249,4	259,1
A/A	1 (1,1%)	15 (16%)	<b>17,33 (2,24-134,20)</b>	<b>1,00E-04</b>		
Análisis de interacción con la covariable sexo						
Afx-34461653 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=187, análisis crudo)						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
G/G	49	41	1	43	38	1,06 (0,58-1,93)
A/A	1	6	7,17 (0,83-62,01)	0	9	---
<b>P de interacción: 0,2</b>						
Sexo within Afx-34461653 (n=187, análisis crudo)						
		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
G/G	mujeres	49	41	1		
	hombres	43	38	1,06 (0,58-1,93)		
A/A		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
A/A	mujeres	1	6	1		
	hombres	0	9	---		
<b>Test de interacción: 0,2</b>						
Afx-34461653 within sexo (n=187, análisis crudo)						
		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
mujeres	G/G	49	41	1		
	A/A	1	6	7,17 (0,83-62,01)		
hombres		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
hombres	G/G	43	38	1		
	A/A	0	9	---		
<b>Test de interacción: 0,2</b>						

**Tabla 40.**

*Análisis del polimorfismo Affx-79381700*

<b>Análisis del polimorfismo Affx-79381700 (n=188)</b>						
<b>Affx-79381700 Frecuencias alélicas(n=188)</b>						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C	306	0,81	166	0,88	140	0,74
T	70	0,19	22	0,12	48	0,26
<b>Affx-79381700 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C/C	153	0,81	83	0,88	70	0,74
T/T	35	0,19	11	0,12	24	0,26
<b>Affx-79381700 (n=188)</b>						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
C/C	83 (88,3%)	70 (74,5%)	1	0,016	260,6	270,3
T/T	11 (11,7%)	24 (25,5%)	<b>2,58 (1,17-5,69)</b>			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Affx-79381700 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)</b>						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
C/C	44	41	1	39	29	0,80 (0,42-1,52)
T/T	6	6	1,07 (0,32-3,60)	5	18	<b>3,86 (1,31-11,36)</b>
<b>P de interacción: 0,068</b>						
<b>Sexo within Affx-79381700 (n=188, análisis crudo)</b>						
C/C	mujeres		Población cis	Población trans	OR (95% CI)	
			44	41	1	
hombres			39	29	0,80 (0,42-1,52)	
	T/T	mujeres		Población cis	Población trans	OR (95% CI)
			6	6	1	
			5	18	3,60 (0,80-16,20)	
<b>Test de interacción: 0,068</b>						
<b>Affx-79381700 within sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
mujeres	C/C	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		44	41	1		
	T/T	6	6	1,07 (0,32-3,60)		
hombres	C/C	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		39	29	1		
	T/T	5	18	<b>4,84 (1,61-14,56)</b>		
<b>Test de interacción: 0,068</b>						

Tabla 41.

## Análisis del polimorfismo Afx-79381702

Análisis del polimorfismo Afx-79381702 (n=188)						
Afx-79381702 Frecuencias alélicas(n=188)						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A	362	0,96	188	1	174	0,93
G	14	0,04	0	0	14	0,07
Afx-79381702 Frecuencias genotípicas(n=188)						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	181	0,96	94	1	87	0,93
G/G	7	0,04	0	0	7	0,07
Afx-79381702 (n=188)						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
A/A	94 (100%)	87 (92,5%)	1	0,0018	256,6	266,4
G/G	0 (0%)	7 (7,5%)	NA (0,00-NA)			
Análisis de interacción con la covariable sexo						
Afx-79381702 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
A/A	50	46	1	44	41	1,01 (0,56-1,82)
G/G	0	1	---	0	6	---
P de interacción: 1						
Sexo within Afx-79381702 (n=188, análisis crudo)						
A/A		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	50	46	1		
hombres		44	41	1,01 (0,56-1,82)		
G/G		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	0	1	1		
hombres		0	6	1		
Test de interacción: 1						
Afx-79381702 within sexo (n=188, análisis crudo)						
mujeres	A/A	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	G/G	0	1	---		
hombres	A/A	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	G/G	0	6	---		
Test de interacción: 1						

**Tabla 42.**

*Análisis del polimorfismo Afx-89025746*

<b>Análisis del polimorfismo Afx-89025746 (n=188)</b>						
<b>Afx-89025746 Frecuencias alélicas(n=188)</b>						
Todos los sujetos			Población cis		Población trans	
Alelos	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C	356	0,95	184	0,98	172	0,91
T	20	0,05	4	0,02	16	0,09
<b>Afx-89025746 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
Todos los sujetos			Población cis		Población trans	
Genotipo	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C/C	178	0,95	92	0,98	86	0,91
T/T	10	0,05	2	0,02	8	0,09
<b>Afx-89025746 (n=188)</b>						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
C/C	92 (97,9%)	86 (91,5%)	1	<b>0,044</b>	262,4	272,1
T/T	2 (2,1%)	8 (8,5%)	4,28 (0,88-20,71)			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Afx-89025746 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)</b>						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
C/C	48	44	1	44	42	1,04 (0,58-1,88)
T/T	2	3	1,64 (0,26-10,26)	0	5	---
<b>P de interacción: 0,078</b>						
<b>Sexo within Afx-89025746 (n=188, análisis crudo)</b>						
C/C	mujeres		Población cis	Población trans	OR (95% CI)	
			48	44	1	
hombres			44	42	1,04 (0,58-1,88)	
	T/T	mujeres		Población cis	Población trans	OR (95% CI)
			2	3	1	
hombres			0	5	---	
	<b>Test de interacción: 0,078</b>					
<b>Afx-89025746 within sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
mujeres	C/C	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
			48	44	1	
	T/T		2	3	1,64 (0,26-10,26)	
hombres	C/C	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
			44	42	1	
	T/T		0	5	---	
<b>Test de interacción: 0,078</b>						

Tabla 43.

## Análisis del polimorfismo Afx-86496743

Análisis del polimorfismo Afx-86496743 (n=188)						
Afx-86496743 Frecuencias alélicas(n=188)						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
T	362	0,96	188	1	174	0,93
C	14	0,04	0	0	14	0,07
Afx-86496743 Frecuencias genotípicas(n=188)						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
C/C	7	0,04	0	0	7	0,07
T/T	181	0,96	94	1	87	0,93
Afx-86496743 (n=188)						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
T/T	94 (100%)	87 (92,5%)	1	0,0018	256,6	266,4
C/C	0 (0%)	7 (7,5%)	NA (0,00-NA)			
Análisis de interacción con la covariable sexo						
Afx-86496743 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
T/T	50	46	1	44	41	1,01 (0,56-1,82)
C/C	0	1	---	0	6	---
P de interacción: 1						
Sexo within Afx-86496743 (n=188, análisis crudo)						
T/T		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	50	46	1		
hombres		44	41	1,01 (0,56-1,82)		
C/C		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	0	1	1		
hombres		0	6	1		
Test de interacción: 1						
Afx-86496743 within sexo (n=188, análisis crudo)						
mujeres	T/T	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		50	46	1		
C/C		0	1	---		
hombres	T/T	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		44	41	1		
C/C		0	6	---		
Test de interacción: 1						

**Tabla 44.**

*Análisis del polimorfismo Afix-34461803*

<b>Análisis del polimorfismo Afix-34461803 (n=186)</b>						
<b>Afix-34461803 Frecuencias alélicas(n=186)</b>						
	<b>Todos los sujetos</b>		<b>Población cis</b>		<b>Población trans</b>	
<b>Alelos</b>	<b>Nº individuos</b>	<b>Proporción</b>	<b>Nº individuos</b>	<b>Proporción</b>	<b>Nº individuos</b>	<b>Proporción</b>
T	342	0,92	178	0,97	164	0,87
C	30	0,08	6	0,03	24	0,13
<b>Afix-34461803 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
	<b>Todos los sujetos</b>		<b>Población cis</b>		<b>Población trans</b>	
<b>Genotipo</b>	<b>Nº individuos</b>	<b>Proporción</b>	<b>Nº individuos</b>	<b>Proporción</b>	<b>Nº individuos</b>	<b>Proporción</b>
C/C	15	0,08	3	0,03	12	0,13
T/T	171	0,92	89	0,97	82	0,87
NA	2 ---		2 ---		0 ---	
<b>Afix-34461803 (n=186)</b>						
<b>Genotipo</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>	<b>AIC</b>	<b>BIC</b>
T/T	89 (96,7%)	82 (87,2%)	1			
C/C	3 (3,3%)	12 (12,8%)	<b>4,36 (1,19-16,01)</b>	<b>0,014</b>	257,6	267,2
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Afix-34461803 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=186, análisis crudo)</b>						
	<b>mujeres</b>			<b>hombres</b>		
	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>
T/T	46	42	1	43	40	1,02 (0,56-1,86)
C/C	3	5	1,83 (0,41-8,11)	0	7	---
<b>P de interacción: 0,04</b>						
<b>Sexo within Afix-34461803 (n=186, análisis crudo)</b>						
		<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>		
T/T	mujeres	46	42	1		
	hombres	43	40	1,02 (0,56-1,86)		
C/C	mujeres	3	5	1		
	hombres	0	7	---		
<b>Test de interacción: 0,04</b>						
<b>Afix-34461803 within sexo (n=186, análisis crudo)</b>						
		<b>Población cis</b>	<b>Población trans</b>	<b>OR (95% CI)</b>		
mujeres	T/T	46	42	1		
	C/C	3	5	1,83 (0,41-8,11)		
hombres	T/T	43	40	1		
	C/C	0	7	---		
<b>Test de interacción: 0,04</b>						

Tabla 45.

## Análisis del polimorfismo Affx-79381709

<b>Análisis del polimorfismo Affx-79381709 (n=188)</b>						
<b>Affx-79381709 Frecuencias alélicas(n=188)</b>						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
G	344	0,91	182	0,97	162	0,86
A	32	0,09	6	0,03	26	0,14
<b>Affx-79381709 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	16	0,09	3	0,03	13	0,14
G/G	172	0,91	91	0,97	81	0,86
<b>Affx-79381709 (n=188)</b>						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
G/G	91 (96,8%)	81 (86,2%)	1	0,0076	259,3	269
A/A	3 (3,2%)	13 (13,8%)	<b>4,86 (1,32-17,87)</b>			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Affx-79381709 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)</b>						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
G/G	49	44	1	42	37	0,98 (0,54-1,79)
A/A	1	3	3,34 (0,34-33,31)	2	10	<b>5,57 (1,16-26,81)</b>
<b>P de interacción: 0,71</b>						
<b>Sexo within Affx-79381709 (n=188, análisis crudo)</b>						
G/G		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	49	44	1		
hombres	42	37	0,98 (0,54-1,79)			
A/A		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	1	3	1		
hombres	2	10	1,67 (0,11-25,43)			
<b>Test de interacción: 0,71</b>						
<b>Affx-79381709 within sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
mujeres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		49	44	1		
	A/A	1	3	3,34 (0,34-33,31)		
hombres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		42	37	1		
	A/A	2	10	<b>5,68 (1,17-27,59)</b>		
<b>Test de interacción: 0,71</b>						

**Tabla 46.**

*Análisis del polimorfismo Affx-79381711*

<b>Análisis del polimorfismo Affx-79381711 (n=188)</b>						
<b>Affx-79381711 Frecuencias alélicas(n=188)</b>						
Todos los sujetos			Población cis		Población trans	
Alelos	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
G	336	0,89	180	0,96	156	0,83
A	40	0,11	8	0,04	32	0,17
<b>Affx-79381711 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
Todos los sujetos			Población cis		Población trans	
Genotipo	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	20	0,11	4	0,04	16	0,17
G/G	168	0,89	90	0,96	78	0,83
<b>Affx-79381711 (n=188)</b>						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
G/G	90 (95,7%)	78 (83%)	1	0,0038	258	267,8
A/A	4 (4,3%)	16 (17%)	<b>4,59 (1,46-14,37)</b>			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Affx-79381711 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)</b>						
mujeres			hombres			
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
G/G	47	43	1	43	35	0,89 (0,48-1,63)
A/A	3	4	1,46 (0,31-6,89)	1	12	<b>13,12 (1,64-105,15)</b>
<b>P de interacción: 0,06</b>						
<b>Sexo within Affx-79381711 (n=188, análisis crudo)</b>						
		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
G/G	mujeres	47	43	1		
	hombres	43	35	0,89 (0,48-1,63)		
A/A	mujeres	3	4	1		
	hombres	1	12	9,00 (0,72-113,02)		
<b>Test de interacción: 0,06</b>						
<b>Affx-79381711 within sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
mujeres	G/G	47	43	1		
	A/A	3	4	1,46 (0,31-6,89)		
hombres	G/G	43	35	1		
	A/A	1	12	<b>14,74 (1,83-118,99)</b>		
<b>Test de interacción: 0,06</b>						

Tabla 47.

## Análisis del polimorfismo Affx-79381717

Análisis del polimorfismo Affx-79381717 (n=188)						
Affx-79381717 Frecuencias alélicas(n=188)						
Todos los sujetos			Población cis		Población trans	
Alelos	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
G	368	0,98	188	1	180	0,96
A	8	0,02	0	0	8	0,04
Affx-79381717 Frecuencias genotípicas(n=188)						
Todos los sujetos			Población cis		Población trans	
Genotipo	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	4	0,02	0	0	4	0,04
G/G	184	0,98	94	1	90	0,96
Affx-79381717 (n=188)						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
G/G	94 (100%)	90 (95,7%)	1	0,018	260,8	270,5
A/A	0 (0%)	4 (4,3%)	NA (0,00-NA)			
Análisis de interacción con la covariable sexo						
Affx-79381717 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
G/G	50	45	1	44	45	1,14 (0,64-2,03)
A/A	0	2	---	0	2	---
P de interacción: 1						
Sexo within Affx-79381717 (n=188, análisis crudo)						
G/G	mujeres		Población cis	Población trans	OR (95% CI)	
			50	45	1	
hombres			44	45	1,14 (0,64-2,03)	
	A/A	mujeres		Población cis	Población trans	OR (95% CI)
			0	2	1	
			0	2	1	
Test de interacción: 1						
Affx-79381717 within sexo (n=188, análisis crudo)						
mujeres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		50	45	1		
	A/A	0	2	---		
hombres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		44	45	1		
	A/A	0	2	---		
Test de interacción: 1						

**Tabla 48.**

*Análisis del polimorfismo Afx-34461862*

<b>Análisis del polimorfismo Afx-34461862 (n=188)</b>						
<b>Afx-34461862 Frecuencias alélicas(n=188)</b>						
Alelos	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
G	370	0,98	182	0,97	188	1
A	6	0,02	6	0,03	0	0
<b>Afx-34461862 Frecuencias genotípicas(n=188)</b>						
Genotipo	Todos los sujetos		Población cis		Población trans	
	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción	Nº individuos	Proporción
A/A	3	0,02	3	0,03	0	0
G/G	185	0,98	91	0,97	94	1
<b>Afx-34461862 (n=188)</b>						
Genotipo	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
G/G	91 (96,8%)	94 (100%)	1	<b>0,042</b>	262,3	272
A/A	3 (3,2%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)			
<b>Análisis de interacción con la covariable sexo</b>						
<b>Afx-34461862 y sexo, tabla de interacción cruzada (n=188, análisis crudo)</b>						
	mujeres			hombres		
	Población cis	Población trans	OR (95% CI)	Población cis	Población trans	OR (95% CI)
G/G	48	47	1	43	47	1,12 (0,63-1,99)
A/A	2	0	0	1	0	0
<b>P de interacción: 1</b>						
<b>Sexo within Afx-34461862 (n=188, análisis crudo)</b>						
G/G		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	48	47	1		
hombres	43	47	1,12 (0,63-1,99)			
A/A		Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
	mujeres	2	0	1		
hombres	1	0	1			
<b>Test de interacción: 1</b>						
<b>Afx-34461862 within sexo (n=188, análisis crudo)</b>						
mujeres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		48	47	1		
	A/A	2	0	0		
hombres	G/G	Población cis	Población trans	OR (95% CI)		
		43	47	1		
	A/A	1	0	0		
<b>Test de interacción: 1</b>						

### **8.3. Artículos publicados**

## INTERSEX

# Analysis of Four Polymorphisms Located at the Promoter of the Estrogen Receptor Alpha *ESR1* Gene in a Population With Gender Incongruence



Rosa Fernández, PhD,<sup>1,2</sup> Enrique Delgado-Zayas,<sup>1,2</sup> Karla Ramírez,<sup>1,2</sup> Joselyn Cortés-Cortés, PhD,<sup>1,2</sup> Esther Gómez-Gil, MD,<sup>3</sup> Isabel Esteve, MD,<sup>4</sup> Mari Cruz Almaraz, MD,<sup>4</sup> Antonio Guillamon, MD,<sup>5</sup> and Eduardo Pásaro, PhD<sup>1,2</sup>

## ABSTRACT

**Introduction:** Gender incongruence defines a state in which individuals feel discrepancy between the sex assigned at birth and their gender. Some of these people make a social transition from male to female (trans women) or from female to male (trans men). By contrast, the word cisgender describes a person whose gender identity is consistent with their sex assigned at birth.

**Aim:** To analyze the implication of the estrogen receptor  $\alpha$  gene (*ESR1*) in the genetic basis of gender incongruence.

**Main Outcome Measures:** Polymorphisms rs9478245, rs3138774, rs2234693, rs9340799.

**Method:** We carried out the analysis of 4 polymorphisms located at the promoter of the *ESR1* gene (C1 = rs9478245, C2 = rs3138774, C3 = rs2234693, and C4 = rs9340799) in a population of 273 trans women, 226 trans men, and 537 cis gender controls. For SNP polymorphisms, the allele and genotype frequencies were analyzed by  $\chi^2$  test. The strength of the SNP associations with gender incongruence was measured by binary logistic regression. For the STR polymorphism, the mean number of repeats were analyzed by the Mann–Whitney *U* test. Measurement of linkage disequilibrium and haplotype frequencies were also performed.

**Results:** The C2 median repeats were shorter in the trans men population. Genotypes S/S and S/L for the C2 polymorphism were overrepresented in the trans men group ( $P = .012$  and  $P = .003$  respectively). We also found overtransmission of the A/A genotype (C4) in the trans men population ( $P = .017$ ), while the A/G genotype (C4) was subrepresented ( $P = .009$ ). The analyzed polymorphisms were in linkage disequilibrium. In the trans men population, the T(C1)-L(C2)-C(C3)-A(C4) haplotype was overrepresented ( $P = .019$ ) while the T(C1)-L(C2)-C(C3)-G(C4) was subrepresented ( $P = .005$ ).

**Conclusion:** The *ESR1* is associated with gender incongruence in the trans men population. **Fernández R, Delgado-Zayas E, Ramírez K, et al. Analysis of Four Polymorphisms Located at the Promoter of the Estrogen Receptor Alpha *ESR1* Gene in a Population With Gender Incongruence. Sex Med 2020;8:490–500.**

Copyright © 2020, The Authors. Published by Elsevier Inc. on behalf of the International Society for Sexual Medicine. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Key Words:** Gender incongruence; transgender; rs9478245; rs3138774; rs2234693; rs9340799

Received December 30, 2019. Accepted April 5, 2020.

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas (CICA), Departamento de Psicología. Universidade da Coruña (UDC), Campus de Elviña, A Coruña, Spain;

<sup>2</sup>Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña (INIBIC), CHUAC, SER-GAS, A Coruña, Spain;

<sup>3</sup>Unidad de Identidad de Género, Instituto de Neurociencias, Hospital Clínic, I.D.I.B.A.P.S, Barcelona, Spain;

<sup>4</sup>Servicio de Endocrinología y Nutrición, Unidad de Identidad de Género del Hospital Regional Universitario de Málaga, Málaga, Spain;

<sup>5</sup>Departamento de Psicobiología, Universidad Nacional de Educación a Distancia, Madrid, Spain

Copyright © 2020, The Authors. Published by Elsevier Inc. on behalf of the International Society for Sexual Medicine. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

<https://doi.org/10.1016/j.esxm.2020.04.002>

## INTRODUCTION

Gender identities are classified into “transgender” and “cisgender” umbrellas.<sup>1</sup> Transgender is an adjective used to describe a diverse group of individuals whose gender identity is different (in varying degrees) from their sex assigned at birth. Cisgender is used to refer to a gender identity that matches a person’s sex assigned at birth.

When an individual applies for transgender health care, he or she may receive a diagnosis based on fulfillment of DSM (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) or ICD (International Classification of Diseases) criteria. Gender incongruence<sup>2</sup> or gender dysphoria<sup>3</sup> criteria defines a condition in which individuals experience a discrepancy between the sex assigned at birth and the gender they identify with. Both terms are more dimensional (less binary) than the previous versions, and therefore, the diagnosis is applicable to a larger group of individuals. Moreover, gender incongruence has been removed from the chapter of Mental and Behavioral Disorders and moved to a new section (Conditions Related to Sexual and Gender Health). Nevertheless, the individuals diagnosed with gender incongruence represent a subsample of the total spectrum of transgender people.<sup>4</sup>

Genetic studies on transgender populations are often based on individuals whose “experienced gender” is more binary, that is, their identification is with “the opposite sex,” “preferred sex,” or “the other sex” (terms currently used in the ICD-10<sup>5</sup> and DSM-4-TR<sup>6</sup>). Many of these people make a social transition from male to female (trans women) or from female to male (trans men), through cross-sex hormonal treatment and subsequent physical adaptation through surgery.<sup>7</sup>

The origin of gender incongruence seems to be multifactorial. It might be associated with neurodevelopmental processes of the brain.<sup>8–10</sup> A genetic component may also be involved because siblings of transgender individuals are more likely to be transgender, compared with the general population.<sup>11,12</sup> Most genetic studies that analyze the genetic component of gender formation examine the implication of genetic polymorphisms related to the androgen receptor AR,<sup>13–18</sup> the aromatase CYP19A1,<sup>13–18</sup> the estrogen receptors ER ( $\alpha$  and  $\beta$ ),<sup>13–19</sup> as well as haplotypes and the interaction effects (epistasis) between polymorphisms.<sup>20</sup>

Estrogen is produced in many regions of the brain including the hippocampus, the cortex, the cerebellum, the hypothalamus, and the amygdala.<sup>21</sup> The actions of estradiol in the developing brain are generally permanent and range from the establishment of sexual differences (cerebral dimorphism) to generalized trophic and neuroprotective effects.<sup>22</sup> For this reason, given the importance of estrogens in brain dimorphism, and based on our previous genetic studies,<sup>16,18–20,23,24</sup> we analyzed 4 polymorphisms at/or flanking the promoter of the estrogen receptor alpha *ESR1* gene (Table 1), that encodes the estrogen receptor alpha (ER $\alpha$ ), an estrogen-activated transcription factor with a 4-fold higher affinity for estrogens than ER beta (ER $\beta$ ).<sup>25</sup>

## METHODS AND MATERIALS

### Participants

The initial population was 323 trans women, 235 trans men, and 252 cis women and 285 cis men controls, recruited through the Gender Units of the Clínic Hospital of Barcelona (Spain) and the Regional Universitario Hospital of Málaga (previously Carlos Haya Hospital) (Spain) since 2010.

To obtain a homogeneous sample, avoiding stratification, we applied the following criteria: The inclusion criteria for the transgender groups were as follows: (1) presenting gender incongruence according to the ICD-11, (2) gender identification with the other gender (male or female), (3) presenting early-life onset of gender nonconformity before or at puberty, (4) being sexually attracted to persons with the same biological sex, (5) having no sexual development disorder, (6) being aged between 18 and 47 years old at enrollment.

At the time of recruitment, transgender people met diagnostic criteria according to ICD-10<sup>5</sup> and DSM-4-TR<sup>6</sup> as assessed by means of several interviews by experienced psychiatrists and psychologists of both teams. To avoid stigmatization of mental disorders, diagnosis was relabeled to gender incongruence.<sup>2</sup> In the current sample, changes do not interfere with the interpretation of our results because transgender participants explicitly reported feelings of belonging to the other gender and communicated the desire for hormonal and surgical gender affirmation treatment.

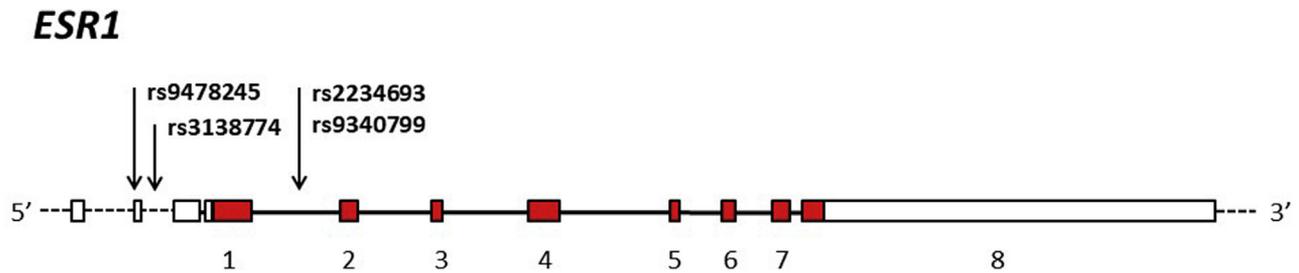
Early-life onset was established by interviews evaluating whether the gender incongruence was present in childhood (before puberty). Sexual orientation in trans women and trans men was recognized by asking which partner (a man, a woman, both or neither) they would prefer or feel attraction to, if they were completely free to choose and their body did not interfere. Trans women and trans men underwent endocrinological hormonal assessment to rule out hormonal and sexual development disorders. Clinical and sociodemographic characteristics from a similar transsexual Spanish population attended to at the same reference unit have been described in detail elsewhere.<sup>26</sup>

The DNA samples of the cisgender group were recruited from the biobanc generated for the Pizarra study,<sup>27</sup> in which all participants signed the informed consent for donation of the samples to the biobanc of the Regional Universitario Hospital of Málaga for medical research studies. In the Pizarra study, individuals were excluded if they had been hospitalized for any reason in the 4 weeks before the evaluation, if they were pregnant, or had a severe medical or psychiatric disorder. In addition, cisgender participants were asked about any existing acute or chronic medical conditions, and if they identified themselves as woman, man, or other nonbinary identities. Our inclusion criteria for cis gender subjects were as follows: (1) age between 18 and 47 years old at enrollment; (2) identification as male or female.

**Table 1.** Description of polymorphisms and PCR conditions to amplify the polymorphic regions

Polymorphism	Alias	Gene	Chromosome	Regulation by Ensembl	Polymorphism type	DNA variation	Digestion enzyme	Global 1000 Genomes frequency	European 1000 Genomes frequency	Our study frequency	Genotypes resulting	Primers
rs9478245	C1	<i>ESR1</i>	6q25.1-q25.2	Promoter 5 prime UTR variant	SNP	T/C	<i>BsrDI</i>	C = 0.12	C = 0.02	C = 0.02	C/C C/T T/T	5'-TTCTCCTTTCCCCTGTTCC-3' 5'-AGACCCCCAGTATTGCAG-TG-3'
rs3138774	C2	"	"	Promoter	STR	(TA) <sub>n</sub>	-	-	-	-	S/S S/L L/L	5-GACGCATGATATACTTCACC-3' 3'FAM 5-GCAGAATCAAATATCCA-GATG-3'
rs2234693	C3	"	"	Intron promoter_flanking_region	SNP	T/C	<i>PvuII</i>	C = 0.45	C = 0.42	C = 0.43	C/C C/T T/T	5'-GATATCCAGGGTTATGTGGCA-3' 5'-AGGTGTTGCCTATTAT-ATTAACCTTGA-3'
rs9340799	C4	"	"	Intron promoter_flanking_region	SNP	A/G	<i>XbaI</i>	G = 0.28	G = 0.31	G = 0.35	G/G A/G A/A	5'-GATATCCAGGGTTATG-TGGCA-3' 5'-AGGTGTTGCCTATTATATT-AACCTTGA-3'

SNP = single-nucleotide polymorphism; STR = short tandem repeat.



**Figure 1.** Adaptation of approximate positions of the analyzed polymorphisms in the *ESR1* gene. Boxes indicate exons, and lines indicate introns. Exon numbering is based on the primary transcripts as annotated in Ensembl (genome database project <https://www.ensembl.org/index.html>). The dotted lines and unnumbered exons indicate introns and exons of alternative transcripts. The arrows indicate the approximate positions of polymorphisms. Each polymorphism is labeled with the reference number (rs) assigned by NCBI (National Center for Biotechnology Information). Modified from Maney.<sup>50</sup>

The exclusion criteria for all groups were: (1) presence of neurological or psychiatric disorders, (2) presence of hormonal disorders, (3) history of alcohol and/or drug abuse, (4) hospitalization for any reason in the 4 weeks before the evaluation, (5) having a severe medical or psychiatric disorder, (6) chromosome aneuploidy, inversions, and/or translocations.

To rule out the presence of psychiatric disorders and substance abuse within all transgender participants, the Mini-International Neuropsychiatric Interview<sup>28</sup> was administered.

Applying the first 5 criteria, we excluded 39 trans women and 1 trans man. We also excluded individuals with chromosome aneuploidy, inversions, and translocations (11 trans women and 8 trans men).<sup>29</sup> The final sample was made up of an extremely carefully chosen population of 273 trans women, 226 trans men, 252 cis women, and 285 cis men.

The study obtained the approval of the Ethics Committees of the Clínic Hospital, the Regional Universitario Hospital of Málaga and Universidad Nacional de Educación a Distancia (Madrid). All participants in the study signed an informed consent protocol beforehand.

## Molecular Analysis

Genomic DNA was extracted from EDTA blood samples using the DNeasy Blood & Tissue Kit from Qiagen (Madrid, Spain). The analyzed polymorphisms were 3 single nucleotide polymorphisms (SNPs) C1 = rs9478245, C3 = rs2234693, and C4 = rs9340799; and one short tandem repeat polymorphism (STR): C2 = rs3138. According to the Ensembl database ([www.ensembl.org/](http://www.ensembl.org/)), C1 and C2 polymorphisms are located in the *ESR1* promoter, while C3 and C4 are located in the promoter flanking region (Table 1).

For SNPs (C1, C3, and C4), genotyping was performed by the overnight digestion of the PCR products with the corresponding digestion enzyme: *BsrDI* (Thermo Scientific, Madrid, Spain), *PvuII* (BioLabs, Madrid, Spain) or *XbaI* (Roche, Madrid, Spain), respectively. The digestion products were visualized in a 6% polyacrylamide electrophoresis gel (GE Healthcare, Madrid, Spain). The genotypes resulting from *BsrDI* and *PvuII* digestion

were C/C, C/T, and T/T. And for *XbaI* were G/G, A/G, and A/A (Table 1).

For STR polymorphism (C2), genotyping was performed by automated capillary electrophoresis (3130 XL Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Madrid, Spain), and allele length was determined by the GeneMapper-5 program (2012 Applied Biosystems, Madrid, Spain).

## Statistical Analyses

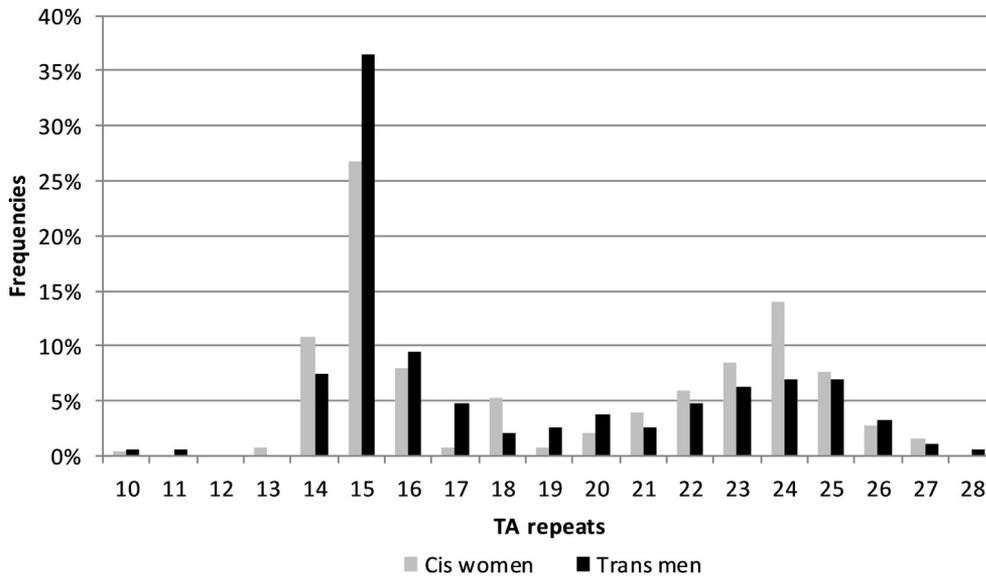
The analyses were conducted by chromosomal sex, in 2 independent populations: individuals assigned as females at birth and individuals assigned as males at birth, using SPSS 23.0 (IBM Corp, Armonk, NY, USA), considering significant a *P* value lower than 0.05.

For SNP polymorphisms (C1, C3, and C4), the allele and genotype frequencies were analyzed by  $\chi^2$  test. The strength of the associations with gender incongruence was measured by binary logistic regression, estimating the odds ratio (OR) for each genotype combination.

For STR polymorphism (C2), the mean number of repeats was analyzed by the Mann–Whitney *U* test. Subsequently, it was necessary to transform the C2 polymorphism into a dichotomous variable, short (S) vs long (L) alleles, taking as a cutoff the median obtained in the corresponding control group, resulting in the genotypes S/S (short-short), L/L (long-long), and S/L (short-long).

The 4 polymorphisms analyzed are located in the same chromosome, very close to each other (Table 1; Figure 1), and tend to be inherited together with a very high degree of correlation called linkage disequilibrium being observed. In addition, given that haplotypes may themselves be causal variants,<sup>30</sup> we were also interested in the simultaneous analysis of multiple loci (haplotypes).

Measurement of linkage disequilibrium, designated as *D'* and *r*<sup>2</sup>, and subsequent measurement of haplotype frequencies were performed using the free online software SNPstats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>),<sup>31</sup> using logistic regression models to determine the strength of the associations. The false



**Figure 2.** The allele frequency of TA repeats for the C2 polymorphism in trans men and control cis women.

positives were controlled with the Bonferroni correction. In all analyses, a missing value for any response, polymorphism, or covariate was cause for exclusion of that individual from the analysis.

### RESULTS

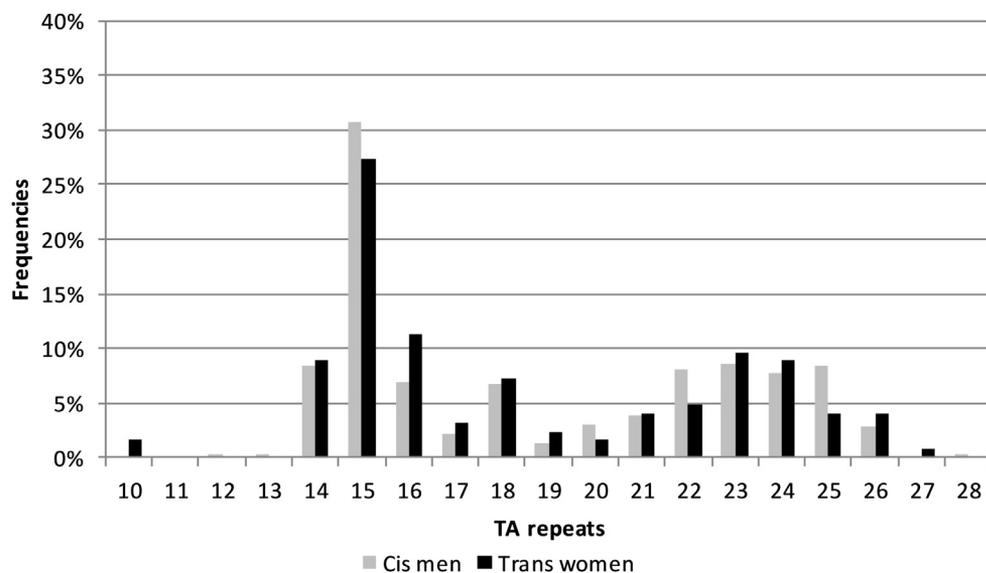
The final sample was made up of a highly homogeneous population of 273 trans women, 226 trans men, 252 cis women, and 285 cis men, after applying inclusion and exclusion criteria (39 trans women and 1 trans man were excluded), and excluding individuals with chromosome aneuploidy, inversions, and translocations (11 trans women and 8 trans men).

The polymorphisms were in Hardy-Weinberg equilibrium. The C2 allele distribution was consistently bimodal in all groups

(Figures 2 and 3), with 2 peaks around 15 and 24 repeats. The number of repeats ranged from 10 to 28. When the mean number of repeats was analyzed by the Mann–Whitney *U* test, a difference was identified in the trans men population, having a significantly shorter median (16 repeats) with respect to cis women controls (18 repeats) ( $Z = -2.035, P = .042$ ). The mean number of repeats between trans women (17 repeats) and cis men controls (18 repeats) was not significant ( $Z = -0.610, P = .542$ ).

### Analysis of the Allele and Genotype Frequencies by $\chi^2$

We found significant differences in the distribution of the allele frequencies in the trans men vs cis women groups. We found over transmission of the C2 allele S and the C4 allele A in



**Figure 3.** The allele frequency of TA repeats for the C2 polymorphism trans women and control cis men.

**Table 2.** C2 polymorphism association analysis with gender incongruence, in different models of inheritance

C2 association with transsexualism							
Model	Genotype	Cis groups (%)	Trans groups (%)	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
Codominant	S/S	22.4	31.8	1.00 (reference)	–	572.3	588.8
	S/L	52	49.4	0.67 (0.42–1.06)	.07		
	L/L	25.7	18.8	0.52 (0.30–0.93)	.023*		
Dominant	S/S	22.4	31.8	1.00 (reference)	–	571.1	583.5
	S/L-L/L	77.6	68.2	0.62 (0.40–0.96)	.035*		
Recessive	S/S-S/L	74.3	81.2	1.00 (reference)	–	573.2	585.5
	L/L	25.7	18.8	0.68 (0.42–1.11)	.12		
Overdominant	S/S-L/L	48	50.6	1.00 (reference)	–	575.3	587.7
	S/L	52	49.4	0.89 (0.60–1.33)	.57		
Log-additive	–	–	–	0.72 (0.54–0.96)	.023*	570.4	582.8

OR = odds’ ratio; AIC = Akaike’s information criterion; BIC = Bayesian information criterion.  
 The risk for each genotype is compared with regards to the reference category (1.00 reference).  
 \*Statistically significant ( $P \leq .05$ ).

the trans men population ( $\chi^2 = 5.175$ ;  $P = .023$  and  $\chi^2 = 4.952$ ;  $P = .026$ , respectively).

(OR<1) for the somatically female population [OR = 0.35 (0.16-0.77);  $P = .009$ ] with respect to the A/A genotype.

**Association Analysis of Each Polymorphism With Gender Incongruence**

We found significant differences in the analysis of the strength of the association with gender incongruence. The odds ratio (OR) analysis for the C2 and C4 polymorphisms showed significant differences for multiple patterns of inheritance (Tables 2 and 3). Genotypes S/S and S/L for C2 (Table 4) were genetic risk factors (OR>1) for the somatically female population [OR = 2.62 (1.23-5.58);  $P = .012$  and OR = 2.32 (1.32-4.06);  $P = .003$ , respectively]. With respect to the C4 polymorphism (Table 5), the A/G genotype showed a genetic protective effect

**Haplotype Analysis**

The T allele for C1 was linked to the short (S) allele for C2, to the T allele for C3 and to the A allele for C4 (haplotype 1: T-S-T-A) (Table 6). However, the C allele for C1 was linked to the long (L) allele for C2, to the C allele for C3 and to the G allele for C4 (haplotype 6: C-L-C-G) (Table 6). The more frequent haplotypes were T-S-T-A (46.5%) and T-L-C-G (31.12%), while the haplotypes C-S-T-A and C-L-C-A (Table 6) were not present.

Haplotype interaction analysis with covariate “sex” (Table 7) showed that the haplotype 2: T-L-C-G represents a genetic protective factor [OR = 0.54 (0.35-0.83);  $P = .005$ ] for individuals assigned as females at birth, and it is overrepresented in

**Table 3.** C4 polymorphism association analysis with gender incongruence in cis women and trans men, in different models of inheritance

C4 association with transsexualism							
Model	Genotype	Cis women (%)	Trans men (%)	OR (95% CI)	P	AIC	BIC
Codominant	A/A	31.7	55.2	1.00 (reference)	–	174.2	182.8
	A/G	53.3	32.8	0.35 (0.16–0.77)	.024*		
	G/G	15	11.9	0.46 (0.15–1.37)	.169		
Dominant	A/A	31.7	55.2	1.00 (reference)	–	172.5	178.1
	A/G-G/G	68.3	44.8	0.38 (0.18–0.78)	.007* <sup>†</sup>		
Recessive	A/A-A/G	85	88.1	1.00 (reference)	–	179.4	185.1
	G/G	15	11.9	0.77 (0.28–2.14)	.61		
Overdominant	A/A-G/G	46.7	67.2	1.00 (reference)	–	174.2	179.9
	A/G	53.3	32.8	0.43 (0.21–0.88)	.019*		
Log-additive	–	–	–	0.57 (0.34–0.96)	.03*	175	180.6

OR = odds’ ratio; AIC = Akaike’s information criterion; BIC = Bayesian information criterion.  
 The risk for each genotype is compared with regards to the reference category (1.00 reference).  
 \*Statistically significant ( $P \leq .05$ ).  
<sup>†</sup>Significant after the Bonferroni correction ( $P < .05/4 = 0.0125$ ).

**Table 4.** Interaction analysis of the C2 polymorphism with covariate “sex”

Sex within polymorphism C2		Cis groups (%)	Trans groups (%)	OR (95% CI)	P
S/S	XY	8.95	3.93	<b>1.00 (reference)</b>	–
	XX	5.90	6.77	2.62 (1.23–5.58)	.012* <sup>†</sup>
S/L	XY	20.31	6.33	<b>1.00 (reference)</b>	–
	XX	14.19	10.26	2.32 (1.32–4.06)	.003* <sup>†</sup>
L/L	XY	9.83	3.06	<b>1.00 (reference)</b>	–
	XX	7.21	3.28	1.46 (0.62–3.44)	.393
Polymorphism C2 within sex		Cis groups (%)	Trans groups (%)	OR (95% CI)	P
XY	S/S	8.95	3.93	<b>1.00 (reference)</b>	–
	S/L	20.31	6.33	0.71 (0.36–1.42)	.333
	L/L	9.83	3.06	0.71 (0.31–1.60)	.421
XX	S/S	5.90	6.77	<b>1.00 (reference)</b>	–
	S/L	14.19	10.26	0.63 (0.33–1.19)	.158
	L/L	7.21	3.28	0.40 (0.18–0.88)	.023*

The risk for each genotype is compared with regards to the reference category (1.00 reference).

\*Statistically significant ( $P \leq .05$ ).

<sup>†</sup>Significant after the Bonferroni correction ( $P < .05/4 = 0.0125$ ).

the cis women population; while haplotype 3: T-L-C-A is overrepresented in individuals assigned as females at birth [OR = 6.35 (1.35-29.96);  $P = .019$ ] vs individuals assigned as males.

## DISCUSSION

We detected an association between the estrogen receptor  $\alpha$  gene *ESRI* promoter and gender incongruence, in the trans men population. Allele S (C2) and allele A (C4) were overrepresented and significantly associated with gender incongruence in our trans men population. Data from the C4 polymorphism corroborate our previous publication.<sup>19,20</sup>

Furthermore, haplotypes are also associated with gender incongruence. The haplotype 3: T-L-C-A was overrepresented in the trans men population, while the haplotype 2: T-L-C-G was overrepresented in cis populations. A theoretical analysis model of the *ESRI* promoter<sup>32</sup> predicted that the C1 (C) and C2 (L) minor alleles disrupted the transcription factor binding site for the sex-determining region on the Y chromosome, Sry-related HMG box-5 (SOX5), and the nerve growth factor-induced protein C (NGF1C), respectively. In addition, the C allele for C3 was predicted to remove the transcription factor binding sites for activating enhancer binding protein 4 (AP-4) in the sense strand, and the zinc finger protein ZNF238 (RP58) in the antisense strand.<sup>32</sup> Furthermore, C2 and C3 are located in a

**Table 5.** Interaction analysis of the C4 polymorphism with covariate “sex”

Sex within C4 polymorphism		Cis groups (%)	Trans groups (%)	OR (95% CI)	P
A/A	XY	52.27	37.25	<b>1.00 (reference)</b>	–
	XX	31.67	55.22	2.36 (1.04–5.36)	.039*
A/G	XY	36.36	45.10	<b>1.00 (reference)</b>	–
	XX	53.33	32.84	0.48 (0.21–1.11)	.084
G/G	XY	11.36	17.65	<b>1.00 (reference)</b>	–
	XX	15	11.94	0.49 (0.12-2.11)	.335
Polymorphism C4 within sex		Cis groups (%)	Trans groups (%)	OR (95% CI)	P
XY	A/A	52.27	37.25	<b>1.00 (reference)</b>	–
	A/G	36.36	45.10	1.74 (0.72–4.20)	.220
	G/G	11.36	17.65	2.18 (0.62–7.61)	.225
XX	A/A	31.67	55.22	<b>1.00 (reference)</b>	–
	A/G	53.33	32.84	0.35 (0.16–0.77)	.009* <sup>†</sup>
	G/G	15	11.94	0.46 (0.15–1.37)	.17

The risk for each genotype is compared with regards to the reference category (1.00 reference).

\*Statistically significant ( $P \leq .05$ ).

<sup>†</sup>Significant after the Bonferroni correction ( $P < .05/4 = 0.0125$ ).

**Table 6.** Haplotype frequencies estimation

Haplotypes					Total	Cis groups	Trans groups	Cumulative frequency
C1	C2	C3	C4					
1	T	S	T	A	0.465	0.444	0.492	0.465
2	T	L	C	G	0.311	0.327	0.286	0.776
3	T	L	C	A	0.086	0.070	0.099	0.862
4	T	L	T	A	0.065	0.084	0.045	0.926
5	T	S	T	G	0.020	0.015	0.024	0.947
6	C	L	C	G	0.017	0.019	0.020	0.964
7	T	S	C	A	0.016	0.024	0.008	0.980
8	T	S	C	G	0.012	0.016	0.015	0.992
9	C	S	C	G	0.008	0	0.011	1
10	C	S	T	A	0	0	0	1
11	C	L	C	A	0	0	0	1

highly conserved region across species,<sup>32</sup> and according to Mooney, this enhances the possible implication of these 2 polymorphisms in the genetic basis (genetic vulnerability) of transgender incongruence.<sup>33,34</sup>

Taking into account these considerations of the biological importance of these polymorphisms,<sup>35</sup> our results suggest that

C2 might be a functional polymorphism influencing *ESR1* expression regulation. However, these predictions need to be confirmed by transcription factor binding experiments.

In addition, C3 and C4 polymorphisms are located in the first intron of the *ESR1* gene and have a demonstrated significant effect on the level of protein synthesis.<sup>36</sup> Herrington et al<sup>37</sup> noted

**Table 7.** Haplotype and sex cross-classification interactions

Haplotypes					Population with XY karyotype			Population with XX karyotype	
C1	C2	C3	C4	Frequency	OR (95% CI)	<i>P</i>	OR (95% CI)	<i>P</i>	
1	T	S	T	A	0.468	1.00 (reference)	–	1.00 (reference)	–
2	T	L	C	G	0.306	1.01 (0.67–1.54)	.966	0.54 (0.35–0.83)	.005* <sup>†</sup>
3	T	L	C	A	0.083	0.61 (0.22–1.69)	.347	2.53 (0.74–8.63)	.139
4	T	L	T	A	0.066	0.35 (0.07–1.83)	.209	0.43 (0.15–1.21)	.113
5	T	S	T	G	0.021	2.20 (0.39–12.50)	.379	–	–
6	C	L	C	G	0.019	–	–	0.37 (0.07–1.82)	.234
7	T	S	C	A	0.016	1.11 (0.13–9.64)	.931	–	–
8	T	S	C	G	0.014	–	–	0.66 (0.07–6.49)	.732
rare				0.006	–	–	–	–	

Haplotypes					Population with XY karyotype		Population with XX karyotype	
C1	C2	C3	C4	Frequency	OR reference	OR (95% CI)	<i>P</i>	
1	T	S	T	A	0.468	1.00 (reference)	1.52 (0.83–2.80)	.178
2	T	L	C	G	0.306	1.00 (reference)	0.81 (0.48–1.37)	.439
3	T	L	C	A	0.083	1.00 (reference)	6.35 (1.35–29.96)	.019*
4	T	L	T	A	0.066	1.00 (reference)	1.90 (0.33–11.02)	.482
5	T	S	T	G	0.021	1.00 (reference)	–	–
6	C	L	C	G	0.019	1.00 (reference)	–	–
7	T	S	C	A	0.016	1.00 (reference)	–	–
8	T	S	C	G	0.014	1.00 (reference)	–	–
rare				0.006	1.00 (reference)	–	–	

The risk for each haplotype is compared with regards to the reference category (1.00 reference).

\*Statistically significant (*P* < .05).

<sup>†</sup>Significant after the Bonferroni correction (*P* < .05/4 = 0.0125).

that the T/C variation for C3 results in a potential binding site for transcription factors that could enhance in vitro transcription. Thus, in some settings, the presence of the allele C (C3) might amplify *ESR1* transcription. Maruyama et al<sup>38</sup> also detected a small but significant enhancing activity that differed between haplotypes: enhancer activity by allele G (C4) was higher than the activity by allele A. Tangentially, pharmacogenetic studies on osteoporosis have suggested that women with haplotype C(C3)-G(C4) have a greater sensitivity to estrogen treatment than other women.<sup>39</sup>

In summary, data from cell-based assays, gene expression studies, and the fact that SNPs located in or near promoters have functional implications in gene expression<sup>40,41</sup> suggest that these polymorphisms might be functional SNPs influencing *ESR1* expression regulation. And thus, haplotypes T-L-C-A and T-L-C-G could be involved in the genetic vulnerability of gender incongruence in the trans men population.

In humans, the *ESR1* and *ESR2* genes encode the estrogen receptors ER $\alpha$  and ER $\beta$ , respectively, members of a family of nuclear receptor transcription factors, which are activated by estrogens. The 2 ERs exhibit different brain tissue distribution, exhibit different estrogen-binding affinities,<sup>25</sup> and also have distinct transcriptional properties.<sup>42</sup> Once bound by estrogens, the ER undergoes a dimerization (homodimer ER $\alpha$ - $\alpha$ , homodimer ER $\beta$ - $\beta$ , or heterodimer ER $\alpha$ - $\beta$ ), allowing the receptor to interact with a greater or lesser affinity with specific DNA sequences located in or near promoter regions of target genes<sup>43,44</sup> and thereby modulate a transcription cascade process.<sup>42,45</sup> This capacity to directly regulate protein synthesis contributes to the potent and enduring effects of steroids on the developing brain.<sup>22</sup>

Estrogen is an important regulator of brain differentiation, and the ERs have a key function in sexual differentiation of brain and behavior.<sup>46</sup> In addition, ER  $\alpha$  and  $\beta$  are found in both the developing<sup>47</sup> and adult human brain.<sup>48</sup>

If all these factors are taken into consideration, we could lead to suppose that *ESR1* promoter sequence variations (haplotypes) could modulate gene transcription, which, in turn, could modify important characteristics of the ER $\alpha$  receptor, modifying the receptor response to circulating estrogens during a prenatal “critical period”, when the brain is sensitive to the organizational effects of testosterone and its metabolite estradiol.<sup>22</sup>

And because steroid hormones are among the most powerful and lasting signaling molecules in the body<sup>22</sup> and, in addition, a small variation in the receptor sensitivity could imply different effects on different brain tissues,<sup>49</sup> one might hypothesize that a small variation in the *ESR1* promoter sequence could implicate a great change in the brain.

One of the limitations of our work is that the analyzed sample is small and represents only a part of the trans population. As this sample was obtained from the population that attended the reference units requesting hormonal treatment, only a sample of

trans people with dysphoria is analyzed in this paper. This makes our sample very homogeneous, as required for genetic analysis, but at the same time, it is only representative of a section of the global trans reality.<sup>4</sup>

In conclusion, our results have shown that the promoter of the *ESR1* gene is a candidate for increasing the list of potential “susceptibility” genes for gender incongruence. Furthermore, our data continue to support the hypothesis that gender incongruence is a multifactorial complex trait, involving intricate interactions among steroids, steroids receptors, and multiple genes and polymorphisms. Exploration of estrogen receptors by methylation studies and also by microarray technology seems to be an interesting future focus in the study of sexual differentiation of the brain.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to everyone who contributed to the study and to the trans and cis individuals who participated in particular.

**Corresponding Author:** Rosa Fernández, PhD, Departamento de Psicología, Universidade da Coruña (UDC), Campus de Elviña, 15071 A Coruña, Spain. Tel: 981 16 70 00; Fax: 981 16 71 53; E-mail: [rosa.fernandez@udc.es](mailto:rosa.fernandez@udc.es)

*Conflict of Interest:* None.

*Funding:* This work was supported by grants: ED431B 019/02 (EP), PGC2018-094919-B-C21 (AG), PGC2018-094919-B-C22 (RF), and FPU 15/02558 (JCC).

## STATEMENT OF AUTHORSHIP

### Category 1

#### (a) Conception and Design

Rosa Fernández; Eduardo Pásaro

#### (b) Acquisition of Data

Enrique Delgado-Zayas; Karla Ramírez; Joselyn Cortés-Cortés

#### (c) Analysis and Interpretation of Data

Rosa Fernández; Eduardo Pásaro; Enrique Delgado-Zayas

### Category 2

#### (a) Drafting the Article

Rosa Fernández; Eduardo Pásaro; Enrique Delgado-Zayas; Karla Ramírez; Joselyn Cortés-Cortés; Esther Gómez-Gil; Antonio Guillamon; Isabel Esteva; Mari Cruz Almaraz

#### (b) Revising It for Intellectual Content

Rosa Fernández; Eduardo Pásaro; Esther Gómez-Gil; Antonio Guillamon

### Category 3

#### (a) Final Approval of the Completed Article

Rosa Fernández; Enrique Delgado-Zayas; Karla Ramírez; Joselyn Cortés-Cortés; Esther Gómez-Gil; Isabel Esteva; Mari Cruz Almaraz; Antonio Guillamon; Eduardo Pásaro

## REFERENCES

- Polderman TJC, Kreukels BPC, Irwig MS, et al. International gender Diversity Genomics Consortium. The biological Contributions to gender identity and gender Diversity: bringing data to the table. *Behav Genet* 2018;48:95-108.
- World Health Organization. The ICD-11. International classification of Diseases for Mortality and Morbidity Statistics Eleventh revision; Available at: <https://icd.who.int/browse11/l-m/en>. Accessed May 6, 2020.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders. 5th ed. Washington, DC: DSM-5; 2013.
- FRA – European Union Agency for Fundamental Rights. Being Trans in the European Union. Comparative analysis of EU LGBT survey data. Austria: Publications Office of the European Union; 2014.
- World Health Organization. The ICD-10. Classification of mental and Behavioural disorders. Geneva: Diagnostic Criteria for Research; 1993.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders. 4th ed. Washington, DC: DSM-IV-TR; 2000.
- Gómez-Gil E. Disforia de género. In: Manual de Sexología Clínica, Editorial Médica Panamericana; 2019. p. 400-402.
- Guillamón A, Junqué C, Gómez-Gil E. A review of the status of brain structure research in transsexualism. *Arch Sex Behav* 2016;45:1615-1648.
- Uribe C, Junque C, Gómez-Gil E, et al. Brain network interactions in transgender individuals with gender incongruence. *Neuroimage* 2020;211:116613.
- Nguyen HB, Loughhead J, Lipner E, et al. What has sex got to do with it? The role of hormones in the transgender brain. *Neuropsychopharmacology* 2019;44:22-37.
- Gómez-Gil E, Esteva I, Almaraz MC, et al. Familiality of gender identity disorder in non-twin siblings. *Arch Sex Behav* 2010;39:546-552.
- Gülgöz S, Glazier JJ, Enright EA, et al. Similarity in transgender and cisgender children's gender development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2019;116:24480-24485.
- Henningsson S, Westberg L, Nilsson S, et al. Sex steroid-related genes and male-to-female transsexualism. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30:657-664.
- Hare L, Bernard P, Sánchez FJJ, et al. Androgen receptor repeat length polymorphism associated with male-to-female transsexualism. *Biol Psychiatry* 2009;65:93-96.
- Ujike H, Otani K, Nakatsuka M, et al. Association study of gender identity disorder and sex hormone-related genes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009;33:1241-1244.
- Fernández R, Esteva I, Gómez-Gil E, et al. The (CA)<sub>n</sub> polymorphism of ER $\beta$  gene is associated with FtM transsexualism. *J Sex Med* 2014;11:720-728.
- Foreman M, Hare L, York K, et al. Genetic Link between gender dysphoria and sex hormone signaling. *J Clin Endocrinol Metab* 2019;104:390-396.
- Fernández R, Esteva I, Gómez-Gil E, et al. Association study of ER $\beta$ , AR, and CYP19A1 genes and MtF transsexualism. *J Sex Med* 2014;11:2986-2994.
- Cortés-Cortés J, Fernández R, Teijeiro N, et al. Genotypes and haplotypes of the estrogen receptor  $\alpha$  gene (ESR1) are associated with female-to-male gender dysphoria. *J Sex Med* 2017;14:464-472.
- Fernández R, Guillamón A, Cortés-Cortés J, et al. Molecular basis of Gender Dysphoria: androgen and estrogen receptor interaction. *Psychoneuroendocrinology* 2018;98:161-167.
- Cui J, Shen Y, Li R. Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. *Trends Mol Med* 2013;19:197-209.
- McCarthy MM. The two faces of estradiol: effects on the developing brain. *Neuroscientist* 2009;15:599-610.
- Fernández R, Cortés-Cortés J, Gómez-Gil E, et al. The CYP17-MspA1 rs743572 polymorphism is not associated with gender dysphoria. *Genes Genomics* 2016;38:1145-1150.
- Fernández R, Cortés-Cortés J, Esteva I, et al. The CYP17 MspA1 polymorphism and the gender dysphoria. *J Sex Med* 2015;12:1329-1333.
- Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, et al. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology* 1997;138:863-870.
- Gómez-Gil E, Trilla A, Salamero M, et al. Sociodemographic, clinical, and psychiatric characteristics of transsexuals from Spain. *Arch Sex Behav* 2009;38:378-392.
- Soriguer F, Gutiérrez-Repiso C, Rubio-Martín E, García-Fuentes E, Almaraz MC, Colomo N, de Antonio Isabel Esteva, de Adana MSR, Chaves FJ, Morcillo S, Valdés S, Rojo-Martínez G. Metabolically healthy but obese, a matter of time? Findings from the prospective Pizarra study. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:2318-2325.
- Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, et al. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry* 1998;59(Suppl 20):22-33; quiz 34-57.
- Fernández R, Guillamón A, Gómez-Gil E, et al. Analyses of karyotype by G-banding and high-resolution microarrays in a gender dysphoria population. *Genes Genomics* 2018;40:465-473.
- Stram D. Multi-SNP haplotype Analysis methods for association analysis. In: Humana press., In: Stat. Hum. Genet. Methods Mol. Biol. 1666, New York, NY. New York, NY: Humana Press; 2017. p. 485-504.
- Solé X, Guinó E, Valls J, et al. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* 2006;22:1928-1929.
- Weickert CS, Miranda-Angulo AL, Wong J, et al. Variants in the estrogen receptor alpha gene and its mRNA contribute to risk for schizophrenia. *Hum Mol Genet* 2008;17:2293-2309.
- Mooney S, Klein T, Altman R, et al. A functional analysis of disease-associated mutations in the androgen receptor gene. *Nucleic Acids Res* 2003;31:e42.

34. Mooney S. Bioinformatics approaches and resources for single nucleotide polymorphism functional analysis. *Brief Bioinform* 2005;6:44-56.
35. Alexander Arguello P, Addington A, Borja S, et al. From genetics to biology: advancing mental health research in the Genomics ERA. *Mol Psychiatry* 2019;24:1576-1582.
36. Laurie CC, Stam LF. The effect of an intronic polymorphism on alcohol dehydrogenase expression in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 1994;138:379-385.
37. Herrington DM, Howard TD, Brosnihan KB, et al. Common estrogen receptor polymorphism Augments effects of hormone Replacement Therapy on E-Selectin but not C-Reactive protein. *Circulation* 2002;105:1879-1882.
38. Maruyama H, Toji H, Harrington CR, et al. Lack of an association of estrogen receptor alpha gene polymorphisms and transcriptional activity with Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2000;57:236-240.
39. Gennari L, De Paola V, Merlotti D, et al. Steroid hormone receptor gene polymorphisms and osteoporosis: a pharmacogenomic review. *Expert Opin Pharmacother* 2007;8:537-553.
40. Ramírez-Bello J, Jiménez-Morales M. Functional implications of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in protein-coding and non-coding RNA genes in multifactorial diseases. *Gac Med Mex* 2017;153:238-250.
41. Johnson AD, Zhang Y, Papp AC, et al. Polymorphisms affecting gene transcription and mRNA processing in pharmacogenetic candidate genes: detection through allelic expression imbalance in human target tissues. *Pharmacogenet Genomics* 2008;18:781-791.
42. Matthews J, Gustafsson J. Estrogen signaling: a subtle balance between ER alpha and ER beta. *Mol Interv* 2003;3:281-292.
43. Li C, Briggs MR, Ahlborn TE, et al. Requirement of Sp1 and estrogen receptor alpha interaction in 17beta-estradiol-mediated transcriptional activation of the low density lipoprotein receptor gene expression. *Endocrinology* 2001;142:1546-1553.
44. Safe S. Transcriptional activation of genes by 17 beta-estradiol through estrogen receptor-Sp1 interactions. *Vitam Horm* 2001;62:231-252.
45. Ponglikitmongkol M, Green S, Chambon P. Genomic organization of the human oestrogen receptor gene. *EMBO J* 1988;7:3385-3388.
46. McCarthy M. Estradiol and the developing brain. *Physiol Rev* 2008;88:91-124.
47. González M, Cabrera-Socorro A, Pérez-García CG, et al. Distribution patterns of estrogen receptor alpha and beta in the human cortex and hippocampus during development and adulthood. *J Comp Neurol* 2007;503:790-802.
48. Österlund MK, Gustafsson J-Å, Keller E, et al. Estrogen receptor beta (ERbeta) messenger ribonucleic acid (mRNA) expression within the human forebrain: distinct distribution pattern to ERalpha mRNA. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3840-3846.
49. Schwarz JM, McCarthy MM. Steroid-induced sexual differentiation of the developing brain: multiple pathways, one goal. *J Neurochem* 2008;105:1561-1572.
50. Maney DL. Polymorphisms in sex steroid receptors: from gene sequence to behavior. *Front Endocrinol* 2017;47:47-65.

## BASIC SCIENCE

## Implications of the Estrogen Receptor Coactivators SRC1 and SRC2 in the Biological Basis of Gender Incongruence



Karla del Valle Ramírez, Pre-doc,<sup>1,2</sup> Rosa Fernández, PhD,<sup>1,2</sup> Enrique Delgado-Zayas, Pre-doc,<sup>1,2</sup> Esther Gómez-Gil, MD,<sup>3</sup> Isabel Esteva, MD,<sup>4</sup> Antonio Guillamon, MD,<sup>5</sup> and Eduardo Pásaro, PhD<sup>1,2</sup>

## ABSTRACT

**Introduction:** Brain sexual differentiation results from the effects of sex steroids on the developing brain. The presumptive route for brain masculinization is the direct induction of gene expression via activation of the estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  and the androgen receptor through their binding to ligands and to coactivators, regulating the transcription of multiple genes in a cascade effect.

**Aim:** To analyze the implication of the estrogen receptor coactivators SRC-1, SRC-2, and SRC-3 in the genetic basis of gender incongruence.

**Main Outcome Measures:** Analysis of 157 polymorphisms located at the estrogen receptor coactivators SRC-1, SRC-2, and SRC-3, in 94 transgender versus 94 cisgender individuals.

**Method:** Using SNPStats software, the allele and genotype frequencies were analyzed by  $\chi^2$ , the strength of the association was measured by binary logistic regression, estimating the odds ratio for each genotype. Measurements of linkage disequilibrium and haplotype frequencies were also performed.

**Results:** We found significant differences at level  $P < .05$  in 8 polymorphisms that correspond to 5.09% of the total. Three were located in SRC-1 and 5 in SRC-2. The odds ratio analysis showed significant differences at level  $P < .05$  for multiple patterns of inheritance. The polymorphisms analyzed were in linkage disequilibrium. The SRC-1 haplotypes CGA and CGG (global haplotype association  $P < .009$ ) and the SRC-2 haplotypes GGTA and GGTA (global haplotype association  $P < .005$ ) were overrepresented in the transgender population.

**Conclusion:** The coactivators SRC-1 and SRC-2 could be considered as candidates for increasing the list of potential genes for gender incongruence. **Ramírez KDV, Fernández R, Delgado-Zayas E, et al. Implications of the Estrogen Receptor Coactivators SRC1 and SRC2 in the Biological Basis of Gender Incongruence. Sex Med 2021;9:100368.**

Copyright © 2021 The Authors. Published by Elsevier Inc. on behalf of the International Society for Sexual Medicine. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Key Words:** Estrogens; Estrogen Coactivators; Gender Dysphoria; Gender Incongruence; SRC-1; SRC-2; SRC-3

Received December 23, 2020. Accepted March 30, 2021.

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas (CICA), Departamento de Psicología. Universidade da Coruña (UDC), Coruña, Spain;

<sup>2</sup>Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña (INIBIC), Coruña, Spain;

<sup>3</sup>Unidad de Identidad de Género, Instituto de Neurociencias, Hospital Clínic, Barcelona, Spain;

<sup>4</sup>Servicio de Endocrinología y Nutrición, Unidad de Identidad de Género del Hospital Regional Universitario de Málaga, Spain;

<sup>5</sup>Departamento de Psicobiología, Universidad Nacional de Educación a Distancia, Madrid, Spain

Copyright © 2021 The Authors. Published by Elsevier Inc. on behalf of the International Society for Sexual Medicine. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

<https://doi.org/10.1016/j.esxm.2021.100368>

Sex Med 2021;9:100368

## INTRODUCTION

The term gender identity refers to a person's innermost sense of their own gender,<sup>1,2</sup> while sex refers to the biological sex characteristics, based on chromosomal, hormonal, physical, and anatomical characteristics. For clarity in this work, sex will be used interchangeably with natal sex, biological sex, and sex assigned at birth.

Gender identities are classified into "cisgender" and "transgender" umbrellas. Cisgender is used to refer to a gender identity that matches a person's natal sex, while transgender refers to a gender identity that differs from the sex assigned at birth. Gender Incongruence (GI) in the International Classification of Diseases ICD-11<sup>3</sup> and Gender Dysphoria (GD) in the Diagnostic and

Statistical Manual of Mental Disorders DSM-5<sup>4</sup> are characterized by a marked incongruence between one's experienced gender and the sex assigned at birth. In order to meet criteria for the diagnosis of GD, the condition must also be associated with clinically significant distress or impairment in social, occupational, or other important areas of functioning.<sup>3</sup>

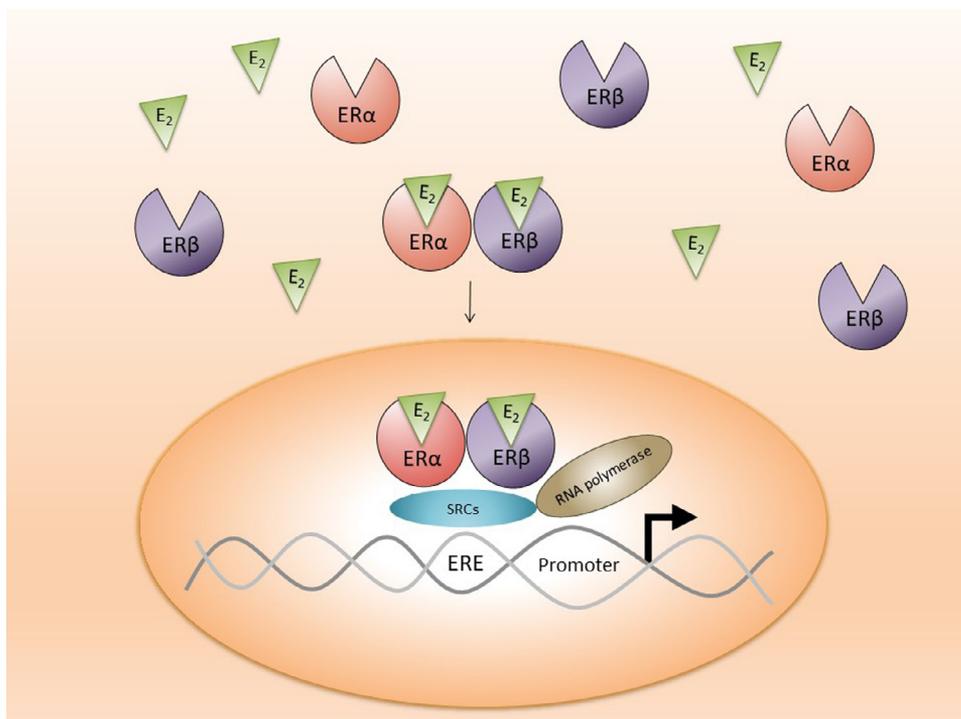
The origin of GI<sup>3</sup> appears to be multifactorial. It might be associated with neurodevelopmental processes of the brain<sup>5,6</sup> under the influence of testosterone converted into estradiol in the brain by the action of the aromatase, during a critical period of development. Thus, in mammals, sex differences in the adult brain are established very early in development, when the brain is very immature.<sup>7</sup> In the case of having inherited the SRY gene, during embryogenesis, testosterone secreted by the testes enters the brain and is converted to estradiol by the aromatase.<sup>8</sup> Then, the estradiol acts in the brain by binding to intracellular estrogen receptors located predominantly in neurons, masculinizing specific brain regions.

But a genetic component may also be involved in GI since siblings of transgender individuals are more likely to be transgender, compared with the general population.<sup>9</sup> Most genetic studies that investigate the genetic component of gender incongruence analyze the implication of polymorphisms related to the estrogen receptors (ERs)  $\alpha$  and  $\beta$ , the androgen receptor AR or the aromatase CYP19A1,<sup>10–17</sup> as well as the interaction effects (epistasis) between them<sup>18</sup> or the effect of epigenetics.<sup>19,20</sup> This gene

selection is based on the fact that sex hormone receptors belong to the nuclear receptor superfamily of ligand activated transcriptional factors. In the case of the AR, their ligand is androgen<sup>21</sup> while for the ER is estrogen, 17 $\beta$ -Estradiol ( $E_2$ ) in particular.<sup>22</sup>  $E_2$  exerts a wide variety of effects on growth, development, the function of reproductive systems and regulation in the central nervous system.<sup>22,23</sup> The mechanism of action of the two isoforms ER $\alpha$  and ER $\beta$  consists of binding with the  $E_2$  ligand to obtain the receptor's dimerization (Figure 1), originating the necessary conformational changes in the ligand binding domain (LBD)<sup>24</sup> and coupling with the estrogen response elements (EREs)<sup>24</sup> in the genes that are regulated by  $E_2$ . On the other hand, this conformational change in the LBD allows coactivators and other coregulating proteins to be recruited. This step is critical for the transcriptional regulation of genes induced by  $E_2$ <sup>25</sup> (Figure 1).

Among the coactivating proteins are the steroid receptor coactivators (SRCs)<sup>26</sup> that consist of three related members: SRC-1, SRC-2, and SRC-3. The role of SRCs in ER-mediated gene expression was demonstrated by the discovery of increased amplification of the AIB1 gene in ER-positive breast and ovarian cancer cells<sup>27</sup> and partial resistance to  $E_2$ <sup>28,29</sup> is evident in knockout mice SRC-1.

Estrogen is produced in many regions of the brain including the hippocampus, the cortex, the cerebellum, the hypothalamus, and the amygdala.<sup>30</sup> The actions of estradiol in the developing brain are generally permanent and range from the establishment



**Figure 1.** Molecular mechanisms of action of ERs. Hormone 17 $\beta$ -Estradiol ( $E_2$ ) binds to the nuclear receptor (ER $\alpha$  or ER $\beta$ ), and after dimerization and translocation to the nucleus, the nuclear receptor complex binds to a specific sequence of DNA known as an estrogen response element (ERE). The nuclear receptor DNA complex in turn recruits the SRCs coactivators that activate the transcription of gene targets.

of sexual differences (cerebral dimorphism), to generalized trophic and neuroprotective effects.<sup>31</sup>

Given the importance of estrogens in brain dimorphism, and the critical role of the coactivators in the transcriptional regulation of genes induced by E<sub>2</sub>, and based on previous genetic studies,<sup>10–17</sup> in the present research we analyzed 157 polymorphisms located at SRC-1, SRC-2 and SRC-3 coactivators in a transgender versus a cisgender population. We postulated that variation at the DNA level at the steroid receptor coactivators (SRC-1, SRC-2, and/or SRC-3) could affect the function of the E<sub>2</sub>-ER complex, and consequently could also modify the transcription of the genes regulated by E<sub>2</sub>.

## METHODS AND MATERIALS

### Participants

We analyzed 94 transgender individuals (47 transmen and 47 transwomen) versus 94 cis gender individuals (44 cismen and 50 ciswomen). The transgender population was recruited and diagnosed through the Gender Unit of the Clínic Hospital of Barcelona (Spain) at the moment of starting gender-affirming hormonal treatment. All transgender participants identified with the other gender (male or female) and were erotically attracted to persons with the same anatomical sex. All of them presented an early onset of gender nonconformity, before or at puberty, and showed a marked intensity of gender dysphoria. Sexual orientation was established by asking which partner (a man, a woman, both or neither) they would prefer or feel attraction to if they were completely free to choose and their body did not interfere.

The inclusion criteria were: presenting gender incongruence according to ICD-11<sup>3</sup> and having no disorder of sexual development. The exclusion criteria for all participants were DSD (differences in sex development), neurological and hormonal disorder, major medical condition and history of alcohol and/or drug abuse. To rule out the presence of psychiatric disorders and substance abuse in all participants, the Mini-International Neuropsychiatric Interview<sup>32</sup> was administered.

The cisgender population was selected from a country census (Pizarra, Málaga, Spain) matched by geographic origin, race, and sex. The main characteristics of the Pizarra census were described in a previous study.<sup>33</sup>

Written informed consent was obtained from the transgender group after full explanation of the procedures. The DNA samples of the cisgender group were recruited from the biobank generated for the Pizarra study, in which all participants signed informed consent for donation of the samples to the biobank of the Hospital Regional Universitario de Málaga for medical research studies. The study was approved by the UNED Ethics Committee.

### DNA Analysis

Genomic DNA was extracted from EDTA blood samples using the DNeasy Blood & Tissue Kit from Qiagen (Madrid,

Spain) according to the manufacturer's protocol. The analyzed polymorphisms were single nucleotide polymorphisms (SNPs) located, according to the Ensembl database ([www.ensembl.org/](http://www.ensembl.org/)), in the steroid receptor coactivators SRC-1, SRC-2, and SRC-3. Genotyping was performed by the array Axiom Spanish BioBank (Affymetrix). Statistical analyses were performed using the free online software SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>).

### Statistical Analyses

The analyses were conducted by chromosomal sex, in 2 independent populations: individuals assigned as females at birth and individuals assigned as males at birth, considering significant a *P* value lower than .05.

The allele and genotype frequencies were analyzed by  $\chi^2$  test. The strength of the associations with gender incongruence was measured by binary logistic regression, estimating the odds ratio (OR) for each genotype.

Polymorphisms located very close to each other in the same chromosome tend to be inherited together with a high degree of correlation. This correlation, called linkage disequilibrium, was also analyzed. Moreover, we were also interested in the simultaneous analysis of multiple loci (haplotypes), given that they may themselves be causal variants.<sup>34</sup>

Measurement of linkage disequilibrium, designated as *D'* and *r*<sup>2</sup>, and subsequent measurement of haplotype frequencies were performed using the free online software SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>)<sup>35</sup> using logistic regression models to determine the strength of the associations. In all analyses, a missing value for any response, polymorphism, or covariate was cause for exclusion of that individual from the analysis. Any false positives were controlled with the Bonferroni correction ( $P < .05/157 = .0003$ ). A post-hoc power analysis showed a 67.8% power, with the following study parameters: incidence group (1) 45.74%, incidence group (2) 28.72%. Subjects, group (1): 94. Subjects group (2): 94. Alpha = 0.05.

## RESULTS

### Analysis of Allele and Genotype Frequencies

We analyzed 157 SNPs distributed in the coactivators SRC-1 (63 SNPs), SRC-2 (64 SNPs), and SRC-3 (30 SNPs) (Table 1) in 94 transgender individuals (47 transmen and 47 transwomen) versus 94 cis gender individuals (44 cismen and 50 ciswomen). All the polymorphisms were in Hardy-Weinberg equilibrium. The prevalence rates for all analyzed polymorphisms were similar to those found in the global 1000 genomes and the European 1000 genomes <http://www.1000genomes.org>.

When we compared the distribution of the allele frequencies, we found significant differences in 8 SNPs that correspond to 5.09% of the analyzed polymorphisms: three located in SRC-1 (polymorphisms 1, 2, and 3) and five in SRC-2 (polymorphisms

**Table 1.** Description of the analyzed SRCs

Gene	Chromosome	Location	Function	Analyzed SNPs	SNPs with significant differences
SRC-1	2	24491254-24770702	The protein encoded by this gene acts as a transcriptional coactivator for steroid and nuclear hormone receptors.	63	3
SRC-2	8	70109770-70405390	The encoded protein acts as an intermediary factor for the ligand-dependent activity of nuclear receptors, which regulate their target genes upon binding of cognate response elements.	64	5
SRC-3	20	47501887-47656872	The protein encoded by this gene is a nuclear receptor coactivator that interacts with nuclear hormone receptors to enhance their transcriptional activator functions	30	0
<b>Total SNPs</b>				157	8
<b>%</b>				100	5.09

This table shows the main characteristic of the SRCs analyzed: the gene name, the chromosome location, the main function of the protein, the number of SNPs analyzed and the number of the polymorphisms (SNPs) that showed statistical significance  $P < .05$ .

4 to 8) (Table 1). The description of the statistically significant polymorphisms is in Tables 1 and 2.

### Association Analysis of Each Polymorphism With Gender Incongruence

We found significant differences in the analysis of the strength of the association with gender incongruence. The odds ratio (OR) analysis for the P1 to P8 polymorphisms showed significant differences for multiple patterns of inheritance (Table 3):

P1 polymorphism: The genotype T/T was overrepresented in the cis population (OR > 2.13;  $P < .034$  for the dominant model).

P2 polymorphism: The genotype T/T was overrepresented in the cis population (OR > 2.12;  $P < .014$ ).

P3 polymorphism: The genotype A/A was overrepresented in the cis population (OR > 2.19;  $P < .008$  for the dominant model).

P4 polymorphism: The genotype G/G was overrepresented in the cis population (OR > 2.58;  $P < .033$  for the log-additive model).

P5 polymorphism: The G/G genotype was overrepresented in the trans population while the A/G genotype was overrepresented in the cis population (OR > 0.48;  $P < .003$  for the codominant model).

P6 polymorphism: The T/T genotype was overrepresented in the trans population while the T/G and G/G were overrepresented in the cis population (OR > 0.42;  $P < .007$  for the dominant model).

P7 polymorphism: The A/A genotype was overrepresented in the trans population (OR > 2.42;  $P < .024$  recessive model).

P8 polymorphism: The genotype A/A was overrepresented in the cis population (OR > 4.83;  $P < .007$  dominant model; OR > 4.64;  $P < .006$  log-additive model).

### Polymorphism Interaction Analysis With Covariate Sex

When we analyzed the interaction with the covariate sex, only P2 showed significant differences in both trans populations (women and men) (Table 4). The genotype T/G was more

**Table 2.** Description of the SNPs with significant differences

Gene	Polymorphism	Alias	DNA variation	Regulation by Ensembl	Our study frequency	Global 1000 genomes frequency	European 1000 genomes frequency
SRC-1	rs10495747	P1	T/C	Intron Variant	C= 0.11	C=0.1330	C=0.1153
	rs2584940	P2	T/G	Regulatory Region Variant/ Intron Variant	G= 0.38	G=0.4605	G=0.4125
	rs6756785	P3	A/G	Intergenic Variant/ 500B Downstream Variant	G=0.32	G=0.2115	G=0.2883
SRC-2	rs76968380	P4	G/A	Intergenic Variant	A=0.06	A=0.1138	A=0.0646
	rs34406737	P5	G/A	Intergenic Variant	A=0.15	A=0.1300	A=0.1262
	rs1963250	P6	G/T	Intergenic Variant	T=0.57	T=0.5691	T=0.5368
	rs10755950	P7	G/A	Intergenic Variant	A=0.42	A=0.5655	A=0.4483
	rs56055423	P8	A/G	Intergenic Variant	G=0.05	G=0.0132	G=0.0457

This table shows the main characteristic of the polymorphisms that showed statistical significance: the gene name, the polymorphism name, the alias used in this work, the DNA variation, the gene location of the polymorphisms, and the frequencies of the polymorphisms in our study versus the Global 1000 genomes and the European 1000 genomes databases.

**Table 3.** Polymorphism association analysis with gender incongruence, in different models of inheritance (n = 188, crude analysis)

Model	Genotype	Cis groups (%)	Trans groups (%)	OR	P	AIC	BIC
<b>P1 polymorphism (rs10495747)</b>							
Codominant	T/T	79 (84%)	67 (71.3%)	<b>1.00 (reference)</b>	.07	263.1	276
	T/C	15 (16%)	26 (27.7%)	2.05 (1.00–4.19)			
	C/C	0 (0%)	1 (1.1%)	NA (0.00–NA)			
Dominant	T/T	79 (84%)	67 (71.3%)	<b>1.00 (reference)</b>	.034*	261.9	271.7
Recessive	T/C-C/C	15 (16%)	27 (28.7%)	2.13 (1.05–4.33)	.25	265.1	274.8
	T/T-T/C	94 (100%)	93 (98.9%)	<b>1.00 (reference)</b>			
Overdominant	C/C	0 (0%)	1 (1.1%)	NA (0.00–NA)	.05*	262.6	272.3
	T/T-C/C	79 (84%)	68 (72.3%)	<b>1.00 (reference)</b>			
Log-additive	—	—	—	2.02 (0.99–4.13)	.027*	261.5	271.3
<b>P2 polymorphism (rs2584940)</b>							
Codominant	T/T	43 (45.7%)	27 (28.7%)	<b>1.00 (reference)</b>	.039*	261.9	274.9
	T/G	42 (44.7%)	52 (55.3%)	2.00 (1.06–3.76)			
	G/G	9 (9.6%)	15 (16%)	2.72 (1.04–7.10)			
Dominant	T/T	43 (45.7%)	27 (28.7%)	<b>1.00 (reference)</b>	.014*	260.4	270.1
Recessive	T/G-G/G	51 (54.3%)	67 (71.3%)	2.12 (1.16–3.89)	.18	264.6	274.3
	T/T-T/G	85 (90.4%)	79 (84%)	<b>1.00 (reference)</b>			
Overdominant	G/G	9 (9.6%)	15 (16%)	1.82 (0.75–4.39)	.14	264.3	274
	T/T-G/G	52 (55.3%)	42 (44.7%)	<b>1.00 (reference)</b>			
Log-additive	—	—	—	1.54 (0.87–2.74)	.013*	260.3	270
<b>P3 polymorphism (rs6756785)</b>							
Codominant	A/A	50 (53.2%)	32 (34%)	<b>1.00 (reference)</b>	.03*	261.4	274.4
	A/G	38 (40.4%)	54 (57.5%)	2.21 (1.20–4.06)			
	G/G	6 (6.4%)	8 (8.5%)	2.09 (0.66–6.60)			
Dominant	A/A	50 (53.2%)	32 (34%)	<b>1.00 (reference)</b>	.008*	259.4	269.2
Recessive	A/G-G/G	44 (46.8%)	62 (66%)	2.19 (1.22–3.95)	.57	266.1	275.8
	A/A-A/G	88 (93.6%)	86 (91.5%)	<b>1.00 (reference)</b>			
Overdominant	G/G	6 (6.4%)	8 (8.5%)	1.38 (0.46–4.14)	.02*	261	270.8
	A/A-G/G	56 (59.6%)	40 (42.5%)	<b>1.00 (reference)</b>			
Log-additive	—	—	—	1.98 (1.11–3.54)	.018*	260.8	270.5
<b>P4 polymorphism (rs76968380)</b>							
Codominant	G/G	88 (93.6%)	80 (85.1%)	<b>1.00 (reference)</b>	.073	263.2	276.1
	A/G	6 (6.4%)	12 (12.8%)	2.22 (0.79–6.19)			
	A/A	0 (0%)	2 (2.1%)	NA (0.00–NA)			
Dominant	G/G	88 (93.6%)	80 (85.1%)	<b>1.00 (reference)</b>	.054	262.7	272.4

(continued)

Table 3. Continued

Model	Genotype	Cis groups (%)	Trans groups (%)	OR	P	AIC	BIC
Recessive	A/G-A/A	6 (6.4%)	14 (14.9%)	2.58 (0.95–7.05)	.095	263.6	273.3
	G/G-A/G	94 (100%)	92 (97.9%)	1.00 (reference)			
	A/A	0 (0%)	2 (2.1%)	NA (0.00–NA)			
Overdominant	G/G-A/A	88 (93.6%)	82 (87.2%)	1.00 (reference)	.13	264.1	273.9
	A/G	6 (6.4%)	12 (12.8%)	2.16 (0.77–6.03)			
Log-additive	—	—	—	2.58 (1.01–6.60)	.033*	261.9	271.6
P5 polymorphism (rs34406737)							
Codominant	G/G	63 (67%)	72 (76.6%)	1.00 (reference)	.003*	256.9	269.9
	A/G	31 (33%)	17 (18.1%)	0.48 (0.24–0.95)			
	A/A	0 (0%)	5 (5.3%)	NA (0.00–NA)			
Dominant	G/G	63 (67%)	72 (76.6%)	1.00 (reference)	.15	264.4	274.1
	A/G-A/A	31 (33%)	22 (23.4%)	0.63 (0.33–1.19)			
Recessive	G/G-A/G	94 (100%)	89 (94.7%)	1.00 (reference)	.008*	259.4	269.1
	A/A	0 (0%)	5 (5.3%)	NA (0.00–NA)			
Overdominant	G/G-A/A	63 (67%)	77 (81.9%)	1.00 (reference)	.02*	261	270.7
	A/G	31 (33%)	17 (18.1%)	0.45 (0.23–0.89)			
Log-additive	—	—	—	0.86 (0.49–1.49)	.58	266.1	275.8
P6 polymorphism (rs1963250)							
Codominant	T/T	20 (21.3%)	37 (39.4%)	1.00 (reference)	.016*	260.2	273.1
	T/G	54 (57.5%)	46 (48.9%)	0.46 (0.24–0.91)			
	G/G	20 (21.3%)	11 (11.7%)	0.30 (0.12–0.75)			
Dominant	T/T	20 (21.3%)	37 (39.4%)	1.00 (reference)	.007*	259.2	268.9
	T/G-G/G	74 (78.7%)	57 (60.6%)	0.42 (0.22–0.80)			
Recessive	T/T-T/G	74 (78.7%)	83 (88.3%)	1.00 (reference)	.079	263.3	273.1
	G/G	20 (21.3%)	11 (11.7%)	0.49 (0.22–1.10)			
Overdominant	T/T-G/G	40 (42.5%)	48 (51.1%)	1.00 (reference)	.25	265.1	274.8
	T/G	54 (57.5%)	46 (48.9%)	0.71 (0.40–1.27)			
Log-additive	—	—	—	0.53 (0.34–0.83)	.005*	258.5	268.2
P7 polymorphism (rs10755950)							
Codominant	G/G	33 (35.1%)	31 (33%)	1.00 (reference)	.068	263.1	276
	A/G	50 (53.2%)	40 (42.5%)	0.85 (0.44–1.61)			
	A/A	11 (11.7%)	23 (24.5%)	2.19 (0.91–5.27)			
Dominant	G/G	33 (35.1%)	31 (33%)	1.00 (reference)	.79	266.4	276.1
	A/G-A/A	61 (64.9%)	63 (67%)	1.08 (0.59–1.99)			
Recessive	G/G-A/G	83 (88.3%)	71 (75.5%)	1.00 (reference)	.024*	261.3	271
	A/A	11 (11.7%)	23 (24.5%)	2.42 (1.10–5.33)			
Overdominant	G/G-A/A	44 (46.8%)	54 (57.5%)	1.00 (reference)	.14	264.3	274
	A/G	50 (53.2%)	40 (42.5%)	0.65 (0.36–1.15)			

(continued)

**Table 3.** Continued

Model	Genotype	Cis groups (%)	Trans groups (%)	OR	P	AIC	BIC
Log-additive	—	—	—	1.34 (0.89–2.03)	.16	264.4	274.2
<b>P8 polymorphism (rs56055423)</b>							
Codominant	A/A	91 (96.8%)	81 (86.2%)	<b>1.00 (reference)</b>	<b>.023*</b>	260.8	273.8
	A/G	3 (3.2%)	12 (12.8%)	4.44 (1.20–16.44)			
	G/G	0 (0%)	1 (1.1%)	NA (0.00-NA)			
Dominant	A/A	91 (96.8%)	81 (86.2%)	<b>1.00 (reference)</b>	<b>.007*</b>	259.3	269
	A/G-G/G	3 (3.2%)	13 (13.8%)	4.83 (1.32–17.67)			
Recessive	A/A-A/G	94 (100%)	93 (98.9%)	<b>1.00 (reference)</b>	.23	265	274.7
	G/G	0 (0%)	1 (1.1%)	NA (0.00-NA)			
Overdominant	A/A-G/G	91 (96.8%)	82 (87.2%)	<b>1.00 (reference)</b>	<b>.014*</b>	260.4	270.1
	A/G	3 (3.2%)	12 (12.8%)	4.41 (1.19–16.33)			
Log-additive	—	—	—	4.64 (1.30–16.56)	<b>.006*</b>	259	268.7

Association analysis between polymorphisms and gender incongruence. The table shows the estimation of the OR (odds ratio) for each genotype with respect to the reference genotype (1.00 (reference)) in different inheritance models (codominant, dominant, recessive, overdominant and log-additive. AIC = Akaike's information criterion; BIC = Bayesian information criterion; OR = odds ratio. \*Statistically significant ( $P < .05$ ).

frequent in trans people with female natal sex than in the cis female population ( $OR > 2.76$ ;  $P < .029$ ) while the genotype G/G was more frequent in trans people with male natal sex than in the cis male population ( $OR > 8.0$ ;  $P < .016$ ).

The other polymorphisms (P3, P5, P6, and P8) showed significant differences in the distribution of the genotypes only in the population with male natal sex (Table 4), while the P5 showed the significant difference only in the female natal sex.

### Haplotype Analysis

For polymorphisms located in SRC-1 (Table 5), the T allele for P1 was linked to the T allele for P2, and to the A allele for P3 (haplotype 1: T-T-A) with a total frequency of 0.45 (Table 5). However, the C allele for P1 was linked to the G allele for P2 and to the A allele for P3 (haplotype 5: C-G-A) ( $OR > 2.62$ ;  $P < .05$ ) or to the G allele for P3 (haplotype 7: C-G-G) ( $P < .0001$ ) (Table 5), with a global haplotype association  $P < 0.009$ .

For polymorphisms located in SRC-2 (Table 6), the significant haplotypes were haplotype 2: (G-G-T-A-A) ( $OR > 2.49$ ;  $P < .02$ ), and the haplotype 8: (G-G-T-A-G) ( $OR > 12.86$ ;  $P < .028$ ) (Table 6), with a global haplotype association  $P < .005$ .

### DISCUSSION

The estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ , in addition to hormonal receptors, are also transcription factors that, when exposed to their ligand, dimerize and form complexes, binding to coactivator proteins<sup>36</sup> (Figure 1), modifying the transcription of multiple target genes in cascade mode<sup>37</sup> and, ultimately, the neuronal function. Therefore, coactivators are proteins that influence the ability of the transcription factors to activate or inhibit expression of multiple genes.<sup>26</sup> Some coactivators for sex steroids receptors are SRC-1, SRC-2, and SRC-3.<sup>23</sup> Given the intimate relationship between sex steroids and brain dimorphism, and sex steroids and gene transcription, it seems clear that we can postulate the implication of the DNA coactivators in the process of brain dimorphism.

In our study, we analyzed the allele and genotype frequencies, the association with gender incongruence, the interactions with the covariate sex, and the linkage disequilibrium of 157 polymorphisms located at the coactivators SRC-1, SRC-2, and SRC-3 in a population of 94 transgender individuals versus 94 cis gender individuals. We found significant differences in eight polymorphisms located in SRC-1 and SRC-2. Furthermore, only P2 (rs2584940) in SRC-1 showed significant differences in the interaction analysis with covariate "sex". When the analysis was carried out in separate populations according to their natal sex, we found that polymorphisms P2 and P5 were statistically significant for female natal sex populations, while P2, P3, P6, and P8 were statistically significant for male natal sex populations (Table 4). The SRC-1 haplotypes C-G-A and C-G-G and the

**Table 4.** P2, P3, P5, P6 and P8 interaction analysis with covariate sex. The table shows the ORs (odds ratios) for the P2, P3, P5, P6 and P8 polymorphism interactions with the covariable sex. First comparing assigned female at birth (cisgender vs. transgender individuals), and assigned male at birth (cisgender vs. transgender individuals), the comparisons of the “covariate sex within each polymorphism”, and finally each “polymorphism within the covariate sex”.

P2 and covariate sex cross-classification interaction table (n = 188, crude analysis)

Genotypes	Female				Male			
	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P
T/T	22	11	1	—	21	16	1.52 (0.58-4.03)	.404
T/G	21	29	2.76 (1.10–6.90)	.029*	21	23	2.19 (0.86-5.58)	.100
G/G	7	7	2.00 (0.56–7.15)	.289	2	8	8.00 (1.45-44.24)	.016*
Interaction P-value: 0.23								
Sex within P2 (n = 188, crude analysis)								
Genotypes	Sex	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P			
T/T	female	22	11	1	—			
	male	21	16	1.52 (0.58–4.03)	.404			
T/G	female	21	29	1	—			
	male	21	23	0.79 (0.35–1.79)	.583			
G/G	female	7	7	1	—			
	male	2	8	4.00 (0.62–25.96)	.146			
Test for interaction in the trend: 0.76								
P2 within sex (n = 188, crude analysis)								
Sex	Genotypes	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P			
female	T/T	22	11	1	—			
	T/G	21	29	2.76 (1.10–6.90)	.029*			
	G/G	7	7	2.00 (0.56–7.15)	.289			
male	T/T	21	16	1	—			
	T/G	21	23	1.44 (0.60–3.46)	.422			
	G/G	2	8	5.25 (0.98–28.18)	.052			
Test for interaction in the trend: 0.23								

P3 and sex cross-classification interaction table (n = 188, crude analysis)

Genotypes	Female				Male			
	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P
A/A	27	17	1	—	23	15	1.04 (0.43–2.52)	.936
A/G	19	26	2.17 (0.93–5.07)	.072	19	28	2.34 (1.01–5.43)	.046*
G/G	4	4	1.59 (0.35–7.21)	.559	2	4	3.18 (0.52–19.27)	.211

(continued)

Table 4. Continued

P3 and sex cross-classification interaction table (n = 188, crude analysis)

Genotypes	Female				Male			
	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P
Test for interaction in the trend: 0.64								
Sex within P3 (n = 188, crude analysis)								
Genotypes	Sex	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P			
A/A	female	27	17	1	—			
	male	23	15	1.04 (0.43–2.52)	.936			
A/G	female	19	26	1	—			
	male	19	28	1.08 (0.47–2.47)	.865			
G/G	female	4	4	1	—			
	male	2	4	2.00 (0.22–17.89)	.547			
Test for interaction in the trend: 0.64								
P3 within sex (n = 188, crude analysis)								
Sex	Genotypes	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P			
female	A/A	27	17	1	—			
	A/G	19	26	2.17 (0.93–5.07)	.072			
	G/G	4	4	1.59 (0.35–7.21)	.559			
male	A/A	23	15	1	—			
	A/G	19	28	2.26 (0.94–5.41)	.067			
	G/G	2	4	3.07 (0.50–18.89)	.228			
Test for interaction in the trend: 0.86								

P5 and sex cross-classification interaction table (n=188, crude analysis)

Genotypes	Female				Male			
	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P
G/G	29	38	1	—	34	34	0.76 (0.39–1.50)	.432
A/G	21	7	0.25 (0.10–0.68)	.004*	10	10	0.76 (0.28–2.08)	.603
A/A	0	2	—	—	0	3	—	—
Interaction P-value: 0.15								
Sex within P5 (n = 188, crude analysis)								
Genotypes	Sex	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P			
G/G	female	29	38	1	—			

(continued)

Table 4. Continued

P5 and sex cross-classification interaction table (n=188, crude analysis)

Genotypes	Female				Male			
	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	<i>P</i>	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	<i>P</i>
male		34	34	0.76 (0.39–1.50)	.432			
A/G	female	21	7	1	—			
	male	10	10	3.00 (0.88–10.21)	.078			
A/A	female	0	2	1	—			
	male	0	3	1	—			
Test for interaction in the trend: 0.044*								
P5 within sex (n = 188, crude analysis)								
Sex	Genotypes	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	<i>P</i>			
female	G/G	29	38	1	—			
	A/G	21	7	0.25 (0.10–0.68)	.004*			
	A/A	0	2	—	—			
male	G/G	34	34	1	—			
	A/G	10	10	1.00 (0.37–2.71)	1			
	A/A	0	3	—	—			
Test for interaction in the trend: 0.15								

P6 and sex cross-classification interaction table (n=188, crude analysis)

Genotypes	Female				Male			
	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	<i>P</i>	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	<i>P</i>
T/T	10	15	1	—	10	22	1.47 (0.49–4.38)	.500
T/G	31	23	0.49 (0.19–1.30)	.146	23	23	0.67 (0.25–1.79)	.433
G/G	9	9	0.67 (0.20–2.26)	.528	11	2	0.12 (0.02–0.67)	.017*
Interaction <i>P</i> -value: .074								
Sex within P6 (n = 188, crude analysis)								
Genotypes	Sex	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	<i>P</i>			
T/T	female	10	15	1	—			
	male	10	22	1.47 (0.49–4.38)	.500			
T/G	female	31	23	1	—			
	male	23	23	1.35 (0.61–2.97)	.466			

(continued)

Table 4. Continued

P6 and sex cross-classification interaction table (n=188, crude analysis)

Genotypes	Female				Male			
	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P
G/G	female	9	9	1	—			
	male	11	2	0.18 (0.03–1.06)	.058			
Test for interaction in the trend: 0.072								
P6 within sex (n = 188, crude analysis)								
Sex	Genotypes	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P			
female	T/T	10	15	1	—			
	T/G	31	23	0.49 (0.19–1.30)	.146			
	G/G	9	9	0.67 (0.20–2.26)	.528			
male	T/T	10	22	1	—			
	T/G	23	23	0.45 (0.18–1.17)	.094			
	G/G	11	2	0.08 (0.02–0.44)	.001*			
Test for interaction in the trend: 0.074								

P8 and sex cross-classification interaction table (n = 188, crude analysis)

Genotypes	Female				Male			
	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P
A/A	49	43	1	—	42	38	1.03 (0.57–1.88)	.929
A/G	1	3	3.42 (0.34–34.10)	.299	2	9	5.13 (1.05–25.05)	.042*
G/G	0	1	—	—	0	0	—	—
Interaction P-value: .8								
Sex within P8 (n = 188, crude analysis)								
Genotypes	Sex	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	P			
A/A	female	49	43	1	—			
	male	42	38	1.03 (0.57–1.88)	.929			
A/G	female	1	3	1	—			
	male	2	9	1.50 (0.10–23.07)	.782			
G/G	female	0	1	1	—			
	male	0	0	—	—			
Test for interaction in the trend: 0.89								

(continued)

Table 4. Continued

P8 and sex cross-classification interaction table (n = 188, crude analysis)

Genotypes	Female			Male		
	Cis population	Trans population	OR (95% CI)	Cis population	Trans population	OR (95% CI)
<b>P8 within sex (n = 188, crude analysis)</b>						
<b>Sex</b>	<b>Cis population</b>	<b>Trans population</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>	<b>Trans population</b>	<b>P</b>
female	49	43	1	—	—	—
A/A	1	3	3.42 (0.34–34.10)	.299	—	—
A/G	0	1	—	—	—	—
G/G	42	38	1	—	—	—
male	2	9	4.97 (1.01–24.48)	.048*	—	—
A/G	0	0	—	—	—	—
G/G	<b>Test for interaction in the trend: .8</b>					

\*Statistically significant (P &lt; .05).

SRC-2 haplotypes G-G-T-A-A and G-G-T-A-G were more frequent in the trans population and showed statistical significance.

Based on experiments in rodents, it is believed that male sexual differentiation of the brain is caused by androgens, after conversion to estrogens by the aromatase. Moreover, observations in human subjects show that the direct effects of testosterone on the developing fetal brain and also during puberty, are of great importance for the development of male gender identity.<sup>38</sup> However, in the analysis that our group carried out on androgen coactivators (NCOA-4), we did not find any significant differences (data not shown).

Our data are in concordance with recent work that showed that the nuclear receptor coactivators, SRC-1 and SRC-2, are essential for efficient ER transcriptional activity in brain.<sup>39</sup> Furthermore, SRC-1 and SRC-2 are distributed in several specific areas of the brain in different proportions, such as the hypothalamus and the hippocampus, showing at the same time, differences in the binding preference to ER  $\alpha$  or  $\beta$  subtypes when located in different brain regions.<sup>39,40</sup> For example, SRC-1 from the hippocampus interacts equally with ER $\alpha$  and ER $\beta$ , while SRC-1 obtained from hypothalamus interacts more with ER $\alpha$  than with ER $\beta$ . On the other hand, SRC-2 interacts with ER $\alpha$  in the hippocampus but, in contrast, did not interact with ER $\beta$  under any ligand condition.

These differential interactions of SRC-1 and SRC-2 with the ER subtypes suggest that these brain regions have distinct expression patterns of coregulators. Understanding how nuclear receptor coactivators' function with various steroid receptors is critical to understanding how the hormones act in different brain regions.

Moreover, our results are also in concordance with the study of the functional significance of the nuclear receptor coactivator SRC-1 in the developing brain.<sup>41</sup> The authors, Auger et al, investigated the consequence of reducing SRC-1 protein during sexual differentiation of the brain, and reported that reducing this protein interferes with the defeminizing actions of estrogen in neonatal rat brains. Their data indicated that SRC-1 expression is critically involved in the hormone-dependent development of normal male reproductive behavior and brain morphology.

Consequently, our data are in agreement with the results of Auger et al,<sup>41</sup> since the polymorphic analysis of this coactivator showed significant differences when allelic and genotypic frequencies were analyzed. Furthermore, the P2 polymorphism, located in SRC-1, also showed statistically significant interactions with the covariate "sex."

One of the limitations of our study is that the sample analyzed is small and not all P values pass the Bonferroni correction. To make our study more robust, it would be necessary to analyze a larger sample, or validate the conclusions with a new analysis from another trans population.

In conclusion, our results have shown that the coactivators, SRC-1 and SRC-2 could be considered as candidates for increasing the list of potential "susceptibility" genes for gender incongruence. Furthermore, our data continue to support the hypothesis that gender incongruence is a multifactorial complex trait, involving intricate

**Table 5.** Haplotype analysis for polymorphisms located in SRC-1 (P1, P2 and P3 polymorphisms)

Haplotype frequencies estimation and haplotype association with response (n = 188, adjusted by sex)										
Haplotypes	P1	P2	P3	Total	Cis population	Trans population	Cumulative frequency	OR (95% CI)	P-value	
1	T	T	A	0.4501	0.5201	0.377	0.4501	<b>1.00 (reference)</b>	—	
2	T	T	G	0.1495	0.134	0.1699	0.5996	2.25 (0.99–5.13)	.054	
3	T	G	G	0.147	0.1319	0.1601	0.7466	1.73 (0.81–3.71)	.16	
4	T	G	A	0.139	0.1341	0.144	0.8856	1.80 (0.81–3.97)	.15	
5	C	G	A	0.069	0.0531	0.0897	0.9546	2.62 (1.00–6.83)	.05*	
6	C	T	A	0.0228	0.0267	0.0169	0.9774	1.39 (0.23–8.34)	.72	
7	C	G	G	0.0226	0	0.0423	1	379142884.10 (379142883.16–379142885.04)	<.0001* <sup>†</sup>	
Global haplotype association P-value: .009*										

The risk for each haplotype is compared with regards to the reference category (1.00 reference); OR = Odds ratio.

\*Statistically significant (P < .05).

<sup>†</sup>Statistically significant after Bonferroni correction (P < .05/157 = .0003).

**Table 6.** Haplotype analysis for polymorphisms located in SRC-2 (P4, P5, P6, P7 and P8 polymorphisms)

Haplotype frequencies estimation and haplotype association with response (n = 188, adjusted by sex)											
Haplotypes	P4	P5	P6	P7	P8	Total	Cis population	Trans population	Cumulative frequency	OR (95% CI)	P-value
1	G	G	G	G	A	0.2546	0.3239	0.1963	0.2546	<b>1.00 (reference)</b>	—
2	G	G	T	A	A	0.2206	0.2142	0.236	0.4752	2.49 (1.16–5.34)	.02*
3	G	G	T	G	A	0.2022	0.1721	0.2303	0.6773	2.00 (0.93–4.31)	.079
4	G	G	G	A	A	0.0891	0.0861	0.0793	0.7664	1.05 (0.38–2.88)	.92
5	G	A	G	G	A	0.0474	0.0656	0.0235	0.8138	0.55 (0.11–2.89)	.48
6	G	A	T	A	A	0.0419	0.0474	0.0423	0.8557	1.11 (0.24–5.24)	.89
7	G	A	T	G	A	0.041	0.0393	0.0426	0.8967	3.00 (0.10–86.09)	.52
8	G	G	T	A	G	0.0217	0	0.036	0.9184	12.86 (1.34–123.38)	.028*
9	A	G	T	G	A	0.0173	0.0085	0.0228	0.9357	5.62 (0.56–56.71)	.15
10	A	G	G	G	A	0.0165	0.0077	0.0205	0.9522	3.53 (0.40–31.50)	.26
11	G	A	T	A	G	0.0138	0.0028	0.0189	0.9659	2.68 (0.27–26.20)	.4
12	A	G	T	A	A	0.0108	0.0158	0.0093	0.9767	0.00 (-Inf–Inf)	1
rare	*	*	*	*	*				1	2688767424666564139 4185292538194458249 58476503371363684397 8752.00 (268876742466 22846799367197037120 806603076791371544336 569204736.00 - 26887674 246708435989003388039 268109896092738695882 937118752768.00)	<.0001* <sup>†</sup>
Global haplotype association P-value: .005*											

The risk for each haplotype is compared with regards to the reference category (1.00 reference); OR = Odds ratio.

\*Statistically significant (P < .05).

<sup>†</sup>Statistically significant after Bonferroni correction (P < .05/157 = .0003).

interactions among sex steroids, sex steroids receptors, coactivators, and multiple other genes and polymorphisms.

**ACKNOWLEDGMENT**

We are grateful to everyone who contributed to the study, and to the trans and cis individuals who participated in particular.

**Corresponding Author:** Rosa Fernández PhD, Centro de Investigaciones Científicas Avanzadas (CICA), Departamento de Psicología, Universidade da Coruña (UDC), Campus de Elviña, 15071 A Coruña, Spain.; E-mail: [rosa.fernandez@udc.es](mailto:rosa.fernandez@udc.es)

*Conflict of Interest:* The authors report no conflicts of interest.

**Funding:** This work was supported by grants: ED431B 019/02 (EP), PGC2018-094919-B-C21 (AG), PGC2018-094919-B-C22 (RF and EP).

## STATEMENT OF AUTHORSHIP

Category 1: a) Conception and Design: Rosa Fernández and Eduardo Pávaro, b) Acquisition of Data: Enrique Delgado-Zayas, Karla Ramírez, c) Resources: Esther Gómez Gil, Isabel Esteva, d) Analysis and Interpretation of Data: Rosa Fernández and Eduardo Pávaro; Category 2: a) Drafting the Article: Karla del Valle Ramírez, Rosa Fernández, Eduardo Pávaro, Antonio Guillamon, Enrique Delgado-Zayas, Esther Gómez-Gil, Isabel Esteva. b) Revising It for Intellectual Content: Rosa Fernández, Eduardo Pávaro, Esther Gómez Gil and Antonio Guillamon; Category 3: a) Final Approval of the Completed Article: Rosa Fernández, Enrique Delgado-Zayas, Karla Ramírez, Esther Gómez-Gil, Isabel Esteva, Antonio Guillamón, Eduardo Pávaro.

## REFERENCES

- Human Rights Campaign. Glossary of terms. <http://www.hrc.org/resources/glossary-of-terms>. n.d.
- Gómez-Gil E. Disforia de género. *Man Sexol Clín Editorial Méd Panamericana*; 2019, p. 400–2.
- World Health Organization. The ICD-11. International classification of diseases for mortality and morbidity statistics eleventh revision. 2018. <https://doi.org/https://icd.who.int/>.
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 5th ed. Washington, DC: DSM-5; 2013.
- Guillamón A, Junqué C, Gómez-Gil E. A review of the status of brain structure research in transsexualism. *Arch Sex Behav* 2016;45:1615–1648 <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1007/s10508-016-0768-5>.
- Nguyen HB, Loughhead J, Lipner E, et al. What has sex got to do with it? The role of hormones in the transgender brain. *Neuropsychopharmacology* 2019;44:22–37 <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0140-7>.
- McCarthy MM. A new view of sexual differentiation of mammalian brain. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 2019 <https://doi.org/10.1007/s00359-019-01376-8>.
- Balthazart J, Ball GF. New insights into the regulation and function of brain estrogen synthase (aromatase). *Trends Neurosci* 1998;21:243–249.
- Gómez-Gil E, Esteva I, Almaraz MC, et al. Familiarity of gender identity disorder in non-twin siblings. *Arch Sex Behav* 2010;39:546–552 <https://doi.org/10.1007/s10508-009-9524-4>.
- Henningson S, Westberg L, Nilsson S, et al. Sex steroid-related genes and male-to-female transsexualism. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30:657–664 <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2005.02.006>.
- Hare L, Bernard P, Sánchez FJJ, et al. Androgen receptor repeat length polymorphism associated with male-to-female transsexualism. *Biol Psychiatry* 2009;65:93–96 <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.08.033>.
- Ujike H, Otani K, Nakatsuka M, et al. Association study of gender identity disorder and sex hormone-related genes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009;33:1241–1244 <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.07.008>.
- Fernández R, Esteva I, Gómez-Gil E, et al. The (CA)<sub>n</sub> polymorphism of ER $\beta$  gene is associated with FtM transsexualism. *J Sex Med* 2014;11:720–728 <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1111/jsm.12398>.
- Foreman M, Hare L, York K, et al. Genetic link between gender dysphoria and sex hormone signaling. *J Clin Endocrinol Metab* 2019;104:390–396 <https://doi.org/10.1210/je.2018-01105>.
- Fernández R, Esteva I, Gómez-Gil E, et al. Association study of ER $\beta$ , AR, and CYP19A1 genes and MtF transsexualism. *J Sex Med* 2014;11:2986–2994 <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1111/jsm.12673>.
- Cortés-Cortés J, Fernández R, Teijeiro N, et al. Genotypes and haplotypes of the estrogen receptor  $\alpha$  gene (ESR1) are associated with female-to-male gender dysphoria. *J Sex Med* 2017;14:464–472 <https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2016.12.234>.
- Fernández R, Delgado-Zayas E, Ramírez K, et al. Analysis of four polymorphisms located at the promoter of the estrogen receptor alpha ESR1 gene in a population with gender incongruence. *Sex Med* 2020;8:490–500 <https://doi.org/10.1016/j.esxm.2020.04.002>.
- Fernández R, Guillamón A, Cortés-Cortés J, et al. Molecular basis of gender dysphoria: Androgen and estrogen receptor interaction. *Psychoneuroendocrinology* 2018;98:161–167 <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.07.032>.
- Fernández R, Ramírez K, Gómez-Gil E, et al. Gender-affirming hormone therapy modifies the CpG methylation pattern of the ESR1 gene promoter after six months of treatment in transmen. *J Sex Med* 2020;17:1795–1806 <https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2020.05.027>.
- Aranda G, Fernández-Rebollo E, Pradas-Juni M, et al. Effects of sex steroids on the pattern of methylation and expression of the promoter region of estrogen and androgen receptors in people with gender dysphoria under cross-sex hormone treatment. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2017;172:20–28 <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.05.010>.
- Wählin-Jacobsen S, Flanagan JN, Pedersen AT, et al. Androgen receptor polymorphism and female sexual function and desire. *J Sex Med* 2018;15:1537–1546 <https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2018.09.013>.
- Métivier R, Penot G, Hübner MR, et al. Estrogen receptor-alpha directs ordered, cyclical, and combinatorial recruitment of cofactors on a natural target promoter. *Cell* 2003;115:751–763 [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00934-6](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00934-6).
- Klinge CM. Estrogen receptor interaction with co-activators and co-repressors. *Steroids* 2000;65:227–251 [https://doi.org/10.1016/s0039-128x\(99\)00107-5](https://doi.org/10.1016/s0039-128x(99)00107-5).

24. Nilsson S, Mäkelä S, Treuter E, et al. Mechanisms of estrogen action. *Physiol Rev* 2001;81:1535–1565 <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.4.1535>.
25. Kenna NJMC, Lanz RB, Malley BWO. Nuclear receptor coregulators: Cellular and molecular biology. *Endocr Rev* 2015;20:321–344 <https://doi.org/10.1210/edrv.20.3.0366>.
26. Eyster KM. The estrogen receptors : An overview from different perspectives. *Methods Mol Biol* 2016;1366:1–10 <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3127-9>.
27. Xu J, Qiu Y, DeMayo FJ, et al. Partial hormone resistance in mice with disruption of the steroid receptor coactivator-1 (SRC-1) gene. *Science* 1998;279:1922–1925 <https://doi.org/10.1126/science.279.5358.1922>.
28. Sanyal A, Kearns ANNE, Sibonga JD, et al. Effects of loss of steroid receptor coactivator-1 on the skeletal response to estrogen in mice. *Endocrinology* 2004;145:913–921 <https://doi.org/10.1210/en.2003-1089>.
29. Mödder U, Sanyal A, Xu J, et al. The skeletal response to estrogen is impaired in female but not in male steroid receptor coactivator (SRC)-1 knock out mice. *Bone* 2008;42:414–421 <https://doi.org/10.1016/j.bone.2007.10.017>.
30. Cui J, Shen Y, Li R. Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. *Trends Mol Med* 2013;19:197–209 <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.12.007>.
31. McCarthy MM. The two faces of estradiol: effects on the developing brain. *Neuroscientist* 2009;15:599–610 <https://doi.org/10.1177/1073858409340924>.
32. Sheehan D V, Lecrubier Y, Sheehan KH, et al. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): The development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry* 1998;59 (Suppl 20):22–33 quiz 34–57.
33. Soriguer F, Gutiérrez-Repiso C, Rubio-Martín E, et al. Metabolically healthy but obese, a matter of time? Findings from the prospective Pizarra study. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:2318–2325 <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1210/jc.2012-4253>.
34. Stram D. Multi-SNP haplotype analysis methods for association analysis In: Humana Press, editor *Stat. Hum. Genet. Methods Mol. Biol* 2017:485–504 1666, New York, NY: Humana Press, New York, NY [https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7274-6\\_24](https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7274-6_24).
35. Solé X, Guinó E, Valls J, et al. SNPStats: A web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* 2006;22:1928–1929 <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>.
36. Smith CL, O'Malley BW. Coregulator function: A key to understanding tissue specificity of selective receptor modulators. *Endocr Rev* 2004;25:45–71 <https://doi.org/10.1210/er.2003-0023>.
37. Boese AC, Kim SC, Yin K, et al. Sex differences in vascular physiology and pathophysiology : Estrogen and androgen signaling in health and disease. *Am J Physiol Hear Circ Physiol* 2017;313:H524–H545 <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00217.2016>.
38. Swaab DF. Sexual differentiation of the human brain: relevance for gender identity, transsexualism and sexual orientation. *Gynecol Endocrinol* 2004;19:301–312.
39. Yore MA, Im D, Webb LK, et al. Steroid receptor coactivator-2 expression in brain and physical associations with steroid receptors. *Neuroscience* 2010;169:1017–1028 <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.05.053>.
40. Molenda-Figueira HA, Murphy SD, Shea KL, et al. Steroid receptor coactivator-1 from brain physically interacts differentially with steroid receptor subtypes. *Endocrinology* 2008;149:5272–5279 <https://doi.org/10.1210/en.2008-0048>.
41. Auger AP, Tetel MJ, McCarthy MM. Steroid receptor coactivator-1 (SRC-1) mediates the development of sex-specific brain morphology and behavior. *Proc Natl Acad Sci* 2002;97:7551–7555 <https://doi.org/10.1073/pnas.97.13.7551>.