

# Estudio citogenético y molecular en personas con conducta transexual

Autora: M<sup>a</sup> Teresa Rumbo Naya

---

Tesis doctoral UDC / 2015

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

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

Departamento de Psicología. Área Psicobiología

Programa de doctorado Promoción de la salud



UNIVERSIDADE DA CORUÑA



Los directores de la Tesis Doctoral titulada *Estudio citogenético y molecular en personas con conducta transexual* realizada por la Licenciada en Psicología María Teresa Rumbo Naya, acreditan que cumple los requisitos para optar al grado de Doctor por la Universidad de A Coruña.

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

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

A Coruña, 28 de mayo de 2015



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. La investigación fue financiada a través del Proyecto **PSI2010-15115**: “Estudio de los polimorfismos de los genes *AR*, *ERβ* y *CYP19*, y de reordenaciones en los cromosomas X e Y, en dos poblaciones de personas con trastorno de identidad de género”. Entidad financiadora: MEC. Fondos FEDER. PSI2010-15115.

Los resultados de esta investigación fueron publicados como **artículos científicos** en *The Journal of Sexual Medicine*. JCR. Factor de Impacto: 3.15:

The (CA)<sub>n</sub> polymorphism of *ERbeta* gene is associated with FtM Transsexualism. *J Sex Med*. 2014 Mar;11(3):720-8. doi: **10.1111/jsm.12398**.

Association study of *ERβ*, *AR*, and *CYP19A1* genes and MtF Transsexualism. *J Sex Med*. 2014 Dec;11(12):2986-94. doi: **10.1111/jsm.12673**.

The *CYP17 MspA1* polymorphism and gender dysphoria. *J Sex Med*. 2015 Apr. doi: **10.1111/jsm.12895**.

Como **capítulo de libro**:

The genetics of transsexualism en *Gender Identity: Disorders, Developmental Perspectives and Social Implications* (2014). Nova Science Publishers, Inc. Hauppauge, NY USA. ISBN: 978-1-63321-488-0

Y como comunicaciones en los **congresos**:

*The 19th International Chromosome Conference* (2013) Ancona. Genomic arrays in a population of transsexuals and implication of the genes *ERβ*, *AR*, and *CYP19A1* in the etiology of transsexualism.

*The 20th International Chromosome Conference* (2014) Londres. A cytogenetic and molecular study of transsexualism.

*The I International Congress of Psychobiology* (2015) Oviedo. Genetic vulnerability of transsexualism.



## *Dedicatoria*

*Ao meu fillo, por me ter dado tanto en tan pouco tempo,  
Ao meu compañeiro, por ser ese ombro en que me apoiar, e  
Aos meus pais, por teren feito todo e máis algunha cousa, para eu  
poder percorrer este camiño.*





## *Agradecementos*

Desde o inicio desta tese de doutoramento até o presente, houbo moitas persoas no meu camiño sen as que, se callar, este proxecto non se tería materializado. Gostaría de mostrar a miña máis sincera gratitude:

Aos doutores *Rosa Fernández e Eduardo Pásaro*. A eles agradezo térenme dado a chave que abre a porta do mundo da investigación, o seu tempo, paciencia e dedicación.

Ao doutor *Antonio Guillamón* pola súa inestimábel colaboración na discusión dos datos e polos seus contributos ao traballo.

A *Esther Gómez-Gil* da Unidade de Identidade de Xénero, Hospital Clinic, Barcelona, pola súa cooperación neste proxecto a través do xeneroso fornecemento da mostra, e da súa inestimábel colaboración ao longo de toda a investigación.

A *Isabel Esteva, Mari Cruz Almaraz, Juan Jesús Haro*, da Unidade de Transexualidade e Identidade de Xénero, do Hospital Carlos Haya, Málaga, pola súa importantísima e altruísta axuda, materializada na mostra facilitada.

Aos doutores *Mar Mallo e Francesc Solé*, do Instituto de Investigación contra a Leucemia Josep Carreras, agradézolles a súa axuda na análise dos datos do xenotipo. Pola súa amabilidade, xenerosidade e a súa paciencia.

A miña compañeira de laboratorio *Joselyn Cortés*, pola súa xenerosidade. Deséxoches o mellor neste percorrido que agora comeza na Universidade.



<b>RESUMO .....</b>	<b>12</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>13</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>14</b>
<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>15</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>17</b>
1.1. Concepto de transexualidad.....	19
1.2. Inicio de la transexualidad.....	20
1.3. Orientación sexual en la población transexual. Tipología de Blanchard.....	21
1.4. Estudio sociodemográfico de la transexualidad en España .....	22
1.5. Estimación de la prevalencia, incidencia y razón de sexos de la transexualidad .....	32
1.6. Diferenciación sexual del cerebro en humanos .....	34
1.6.1. <i>Hormonas sexuales y desarrollo del cerebro humano</i> .....	36
1.7. Estudio de la transexualidad en cerebros humanos .....	37
1.7.1. <i>Fenotipo cerebral en hombres y mujeres transexuales</i> .....	41
1.8. Vulnerabilidad genética de la transexualidad .....	42
1.8.1. <i>El gen ER</i> .....	45
1.8.2. <i>El gen AR</i> .....	47
1.8.3. <i>El gen CYP19A1</i> .....	51
1.8.4. <i>El gen CYP17A1</i> .....	53
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>57</b>
<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>61</b>
PRIMER ESTUDIO: A cytogenetic analysis of the karyotype in a transsexual population..	63
SEGUNDO ESTUDIO: The (CA) <sub>n</sub> Polymorphism of <i>ERβ</i> Gene is Associated with FtM Transsexualism .....	69
TERCER ESTUDIO: Association Study of <i>ERβ</i> , <i>AR</i> , and <i>CYP19A1</i> Genes and MtF Transsexualism .....	87
CUARTO ESTUDIO: The genetics of transsexualism .....	105
QUINTO ESTUDIO: The <i>CYP17 MspA1</i> polymorphism and the gender dysphoria .....	135
<b>4. DISCUSIÓN.....</b>	<b>159</b>
4.1. Análisis citogenético del cariotipo en la población transexual.....	161
4.2. Análisis de los polimorfismos de los genes <i>ERβ</i> , <i>AR</i> y <i>CYP19A1</i> en la población FtM	166
4.3. Análisis de los polimorfismos de los genes <i>ERβ</i> , <i>AR</i> y <i>CYP19A1</i> en la población MtF	170
4.4. Análisis del polimorfismo <i>CYP17 MspA1</i> (rs743572) en la población transexual .....	172
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>175</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>179</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>206</b>

## RESUMO

A transexualidade é unha desorde da identidade de xénero con etiología multifactorial onde están implicados tanto factores do neurodesenvolvemento coma xenéticos. Nesta investigación analizouse a vulnerabilidade xenética da transexualidade nun grupo de transexuais FtM (*female to male*) e MtF (*male to female*), a través do estudo citoxenético do cariotipo e da análise molecular de catro rexións polimórficas dos xenes *ERβ*, *AR*, *CYP19A1* e *CYP17A1* nunha poboación de 715 transexuais e 844 controis.

*Resultados:* Non foi encontrada unha alteración cariotípica específica da transexualidade, mais a prevalencia da aneuploidía foi 4,5 veces superior na poboación transexual (2,4%) que na poboación xeral (0,53%) ( $p = 1E-06$ ). A síndrome de Klinefelter mostrou unha prevalencia significativamente maior que a esperada ( $p = 0,022031$ ). Canto á análise molecular, o número de repeticións do polimorfismo *ERβ* foi significativamente maior en FtM que no grupo control feminino ( $p = 0,002$ ) e a probabilidade de desenvolvemento da transexualidade foi maior nos individuos FtM homocigotos para o alelo longo (LL) (odds ratio: 2,001 [1,15-3,46]). A respecto do polimorfismo *CYP17 MspA1*, foi achada unha distribución alélica dependente do sexo FtM>MtF ( $p = 0,041$ ), ao contrario do que na poboación control, o que indica unha asociación entre este polimorfismo e a transexualidade.

## RESUMEN

La transexualidad es un desorden de la identidad de género con etiología multifactorial en donde están implicados tanto factores del neurodesarrollo como genéticos. En esta investigación se analizó la vulnerabilidad genética de la transexualidad en un grupo de transexuales FtM (*female to male*) y MtF (*male to female*) mediante el estudio del cariotipo y el análisis de cuatro regiones polimórficas de los genes *ERβ*, *AR*, *CYP19A1* y *CYP17A1* en una población de 715 transexuales y 844 controles.

*Resultados:* No se encontró una alteración cariotípica específica de la transexualidad, aunque la aneuploidía fue 4,5 veces mayor en la población transexual (2,4%) que en la población general (0,53%) ( $p = 1E-06$ ). La prevalencia del síndrome de Klinefelter fue significativamente mayor que la esperada ( $p = 0,022031$ ). El polimorfismo del *ERβ* fue significativamente más largo en FtM que en el grupo control femenino ( $p = 0,002$ ). La probabilidad de desarrollo de la transexualidad fue mayor en los individuos FtM homocigotos LL (odds ratio: 2,001 [1,15-3,46]). El polimorfismo *CYP17 MspA1* mostró una distribución alélica dependiente del sexo en la población transexual FtM>MtF ( $p = 0,041$ ), al contrario que la población control, lo que indica una asociación entre este polimorfismo y la transexualidad.

## ABSTRACT

Transsexualism is a gender identity disorder with a multifactorial etiology. Both neurodevelopmental and genetic factors seem to be implicated. The aim of this study was to investigate the possible influence of genetic factors on the etiology of FtM (female to male) and MtF (male to female) transsexualism by analysing the karyotypes and performing the molecular analysis of four polymorphisms on genes *ERβ*, *AR*, *CYP19A1* and *CYP17A1*. We carried out the analysis in 715 transsexuals and 844 controls.

*Results:* No karyotype aberration has been linked to transsexualism but aneuploidy prevalence (2.4%) appears to be higher than in the general population (0.53%) ( $p = 1E-06$ ). The prevalence of Klinefelter syndrome is also significantly higher ( $p = 0.022031$ ) than in the general population. FtMs differed from control females with respect to *ERβ* ( $p = 0.002$ ). Repeats in *ERβ* were significantly higher in FtMs than in female controls, and the likelihood of developing transsexualism was higher in the subjects (LL) (odds ratio: 2.001 [1.15-3.46]). Regarding *CYP17 MspA1*, the allelic frequencies differed significantly between FtMs and MtFs ( $p = 0.041$ ) but were not sex-dependent in the control population. The data support the association between this polymorphism and transsexualism.

## ABREVIATURAS

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico, molécula base de la herencia.

**Alelo:** Cualquier variante de un gen que ocurre en una localización concreta de un cromosoma.

**Ar:** Receptor de andrógenos; nomenclatura para animales.

**Ar:** Gen del receptor de andrógenos; nomenclatura para animales.

**AR:** Receptor de andrógenos; nomenclatura para humanos.

**AR:** Gen del receptor de andrógenos; nomenclatura para humanos. Localización citogenética Xq12.

**ARN:** Ácido ribonucleico.

**cDNA o ADNc:** *Complementary DNA*/ADN complementario. Molécula de ADN complementaria a una molécula de ARN mensajero.

**CYP17A1:** Gen del citocromo P450, familia 17, subfamilia A, polipéptido 1. Localización citogenética 10q24.32.

**CYP19A1:** Gen de la aromatasa. Citocromo P450, familia 19, subfamilia A, polipéptido 1. Localización citogenética 15q21.2.

**ERβ:** Gen del receptor de estrógenos beta. Localización citogenética 14q23.2.

**Factor de transcripción:** Proteína que participa en la regulación de la transcripción del ADN, pero que no forma parte de la ARN polimerasa. Los factores de transcripción pueden actuar reconociendo y uniéndose a secuencias concretas de ADN, uniéndose a otros factores, o uniéndose directamente a la ARN polimerasa.

**FISH:** Técnica de hibridación *in situ* fluorescente (*Fluorescence in situ hybridization*).

**FtM:** Transexual mujer a hombre (del inglés *female to male*).

**Gen:** Unidad de herencia formada por una secuencia de ADN, que se localiza en un área concreta de un cromosoma y que determina una característica particular en un organismo.

**L:** Alelo largo.

**LL:** Genotipo homocigoto con dos copias del alelo largo (largo/largo).

**MtF:** Transexual hombre a mujer (del inglés *male to female*).

**mRNA:** *Messenger Ribonucleic Acid* / ácido ribonucleico mensajero

**Ratones *knock-in*:** Método de ingeniería genética que involucra la introducción de un cDNA en el genoma de otro organismo. Por tanto, un ratón *knock-in* es aquel al que se le ha sustituido una secuencia génica por otra diferente o modificada. Esta técnica es básicamente lo opuesto de un *knock-out*.

**Ratones *knock-out*:** Ratón modificado por ingeniería genética para que uno o más de sus genes estén inactivados. Su propósito es comprender el papel de un gen que ha sido secuenciado pero del que se desconoce su función, o se conoce de forma incompleta. Inactivando el gen y estudiando las diferencias que presenta el ratón afectado, los investigadores pueden inferir la probable función de ese gen.

**PCR:** Técnica de la reacción en cadena de la enzima *Taq* polimerasa (*polimerase chain reaction*). Es una manera simple y esencial de hacer copias de ADN de pequeño tamaño, aprovechando la capacidad que tienen las polimerasas de replicar el ADN.

**S:** Alelo corto.

**SL:** Genotipo heterocigoto, con un alelo corto y otro largo (corto/largo).

**SS:** Genotipo homocigoto con dos alelos cortos (corto/corto).

**SNP:** *Single nucleotide polymorphism*, polimorfismo del ADN de un solo nucleótido. Es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base en la secuencia del genoma. Una de estas variaciones debe darse al menos en un 1% de la población para ser considerada un SNP. Si no se llega al 1% se considera una mutación puntual.

Los SNP constituyen hasta el 90% de todas las variaciones genómicas humanas, y pueden afectar a la respuesta de los individuos a enfermedades, bacterias, virus, productos químicos, fármacos, etc. Cualquier tipo de SNP puede estar relacionado con una enfermedad o trastorno, o tener asociado un fenotipo observable

**VNTR:** Polimorfismo en el ADN por variación en el número de repeticiones en tándem (*Variable Number Tandem Repeats*). Son secuencias cortas repetidas en tándem. En todos los genomas, y muy especialmente en el humano, existen secuencias cortas que se repiten en tándem y están sometidas a una alta tasa de variabilidad. La longitud de estas unidades básicas de repetición oscila entre 1 nucleótido y 2 kilobases (Fowler et al., 1988).



# 1. INTRODUCCIÓN

---



### 1.1. Concepto de transexualidad

La transexualidad, transexualismo, disforia, trastorno de la identidad sexual o trastorno de la identidad de género, son términos sinónimos y puede definirse, en términos generales, como una forma extrema de malestar o disforia con el sexo genético. La primera definición del término fue acuñada por Benjamín en 1954, endocrinólogo alemán, quien describe la transexualidad como la asociación entre la normalidad biológica y la convicción de pertenecer al otro sexo, y en consecuencia, con el deseo de cambio de sexo (Benjamin, 1954).

La transexualidad se manifiesta típicamente por una identificación intensa y persistente con el otro sexo, con un sentimiento profundo de inadecuación con el sexo asignado y por un deseo permanente de vestir, vivir y ser tratado como miembro del otro sexo, lo cual provoca un profundo malestar psicológico y alteraciones significativas en el área social, ocupacional y en otros aspectos importantes de la vida diaria (Gómez-Gil y Peri Nogués, 2002). Las personas transexuales consideran que han nacido en un sexo equivocado. La mayoría, refieren el inicio de los síntomas desde la primera infancia y solicitan cirugía de reasignación de sexo (Becker y Kavoussi, 1996). El diagnóstico se establece generalmente cuando además se descarta una enfermedad intersexual (Benjamin, 1966; Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 2000; World Health Organization (WHO), 1993), aunque existen excepciones en casos particulares de cromosomopatías o hipogonadismos (The Harry Benjamin International Gender Dysphoria Association (HBIGDA), 2001).

La persona transexual **FtM**, del inglés *female to male*, es genética y anatómicamente mujer, pero muestra actitudes, conductas y aficiones típicamente masculinas. Estas personas manifiestan un intenso deseo de adoptar el papel social masculino, ser aceptados como tal y de adquirir un aspecto físico de varón.

La persona transexual **MtF**, del inglés *male to female*, sabe que es genética y anatómicamente varón, pero se siente mujer. Por ello realizará todos los esfuerzos para que su cuerpo se adecúe a esta identidad. Estas personas presentan una preocupación persistente por ocultar sus características sexuales primarias y secundarias, y en su mayoría solicitan tratamiento hormonal y quirúrgico para cambiar de sexo (Gómez-Gil y Esteva de Antonio, 2006).

## 1.2. Inicio de la transexualidad

La transexualidad puede aparecer en diferentes momentos del ciclo vital. Una antigua categorización (Person y Ovesey, 1974a; 1974b), con la finalidad de diferenciar según la edad de aparición, clasificó la transexualidad en *primaria* y *secundaria*:

El *transexualismo primario* incluye a aquellas personas que presentan alteraciones en la identidad de género desde la infancia. Estas personas explican que se han sentido del otro sexo “desde siempre”, “desde la niñez”, o “desde que tenían uso de razón”. Esta forma de presentación es la más frecuente y tiene un buen tratamiento de reasignación sexual, pues si la identificación con el otro sexo persiste al final de la adolescencia, el riesgo de remisión es prácticamente nulo. En las series de pacientes evaluados en nuestro país, más del 90% de los pacientes que son visitados en las unidades de cambio de género de Andalucía y Barcelona se incluyen en esta categoría (Bergero et al., 2001; Esteva de Antonio et al., 2001a; Gómez-Gil et al., 2003; 2005).

En el denominado *transexualismo secundario* se incluyen aquellas personas en las que la identificación con el otro sexo aparece más tardíamente y de manera más gradual. Este grupo de inicio más tardío puede fluctuar más en el grado de identificación con el otro sexo y mostrar mayor ambivalencia en cuanto a la cirugía de reasignación: en el caso de hombres biológicos, una mayor probabilidad de sentir atracción por las mujeres, y una menor probabilidad de satisfacción después de la cirugía de reasignación. Dentro de este grupo se ha observado mayor frecuencia de remisiones espontáneas (Bergero et al., 2001; Gómez-Gil y Peri Nogués, 2002; Gómez-Gil et al., 2005).

Aunque en la gran mayoría de los casos la identificación con el otro sexo ya está presente en la primera infancia, la edad media de solicitud de demanda de cambio de sexo suele encontrarse entre los 20 y los 25 años, tanto en estudios europeos como asiáticos (Bergero et al., 2001; Gómez-Gil et al., 2003; Landen et al., 1998; Tsoi, 1993; van Kesteren et al., 1997).

### **1.3. Orientación sexual en la población transexual. Tipología de Blanchard**

Aquellos individuos con constitución cromosómica 46,XY, que han nacido con morfología masculina, y que posteriormente desarrollan el sentimiento o certeza de sentirse mujeres, o parcialmente mujeres (Bolin, 1998) constituyen una población heterogénea, y por este motivo han existido varios intentos de clasificación en subgrupos (Bullough y Bullough, 1997; Cole et al., 2000). Una aproximación se encuentra en el trabajo pionero de Hirschfeld (Hirschfeld, 1910; 1923) y el de Ellis (Ellis, 1936), quienes realizaron una clasificación teniendo en cuenta la orientación sexual.

La tipología de Blanchard, también conocida como teoría de la *autoginefilia de Blanchard* (BAT), es una tipología psicológica del grupo de transexuales MtF, creada por Ray Blanchard (Blanchard, 1985; 1989a; 1989b; 1991) a partir de los estudios de Kurt Freund (Freund et al., 1974; 1982). Blanchard divide la población MtF en dos subgrupos: *transexuales homosexuales* y *transexuales no homosexuales*:

Los *transexuales MtF homosexuales* se sienten atraídos por hombres heterosexuales, no transexuales, y desean poseer mediante la cirugía un cuerpo femenino para atraerlos.

Los *transexuales MtF no homosexuales* encuentran sexualmente excitante la idea de tener un cuerpo femenino (*autoginefilia*). Dentro de este grupo, a su vez se puede distinguir entre heterosexuales, bisexuales, asexuales o *analloeróticos* (no se sienten atraídos por otra gente).

Kurt Freund fue el primero que distinguió entre estos dos tipos de transexualidad MtF, afirmando que los transexuales homosexuales eran cualitativamente diferentes de los llamados varones heterosexuales con disforia de género (Freund et al., 1982).

Hay que señalar que esta tipología sugiere distinciones entre los diferentes tipos de transexuales MtF, pero no especula sobre las causas de la transexualidad. Los partidarios de esta teoría afirman que hay diferencias importantes entre los dos grupos, relacionadas con la sexualidad, la edad de transición, el origen étnico, el fetichismo y el grado de identificación con el nuevo sexo. Las críticas provienen de autores que dicen que en esta tipología, la identidad de género se reduce a una mera cuestión de atracción (Bockting, 2005; Lawrence, 2010; 2011; 2014; Moser, 2010; Nuttbrock

et al., 2010; 2011; Veale, 2014; Wiederman et al., 2005). La asociación mundial de profesionales para la Salud Transgénero (WPATH) no admite actualmente esta teoría, señalando la necesidad de más y profunda investigación (Gijs y Carroll, 2010; Knudson et al., 2011).

#### **1.4. Estudio sociodemográfico de la transexualidad en España**

Son múltiples los trabajos epidemiológicos y clínicos sobre la transexualidad que se han publicado en todo el mundo, poniendo de manifiesto las diferencias en la razón de sexos, las características sociodemográficas y clínicas, y la comorbilidad psiquiátrica (Tabla 1).

En general estos estudios indican que la población FtM tiene ocupaciones más estables, está mejor ajustada socialmente y presenta menos psicopatologías que la población MtF (Tabla 1), sin embargo, hace unos años, no era tan abundante dicha información en España (Basterra et al., 2012; Bergero et al., 2001; Esteva de Antonio et al., 2001a; Giraldo et al., 2001; Gómez-Gil et al., 2005; 2009).

Andalucía fue la primera comunidad autónoma que creó una Unidad de trastornos de identidad de género, que se inauguró en 1999. En esta comunidad autónoma, el sistema de salud pública ofrece una cobertura total del tratamiento médico y quirúrgico. En Cataluña, el Hospital Clínic de Barcelona proporciona terapia psiquiátrica, psicológica y endocrinológica especializada. Desde 1990, la inmensa mayoría de solicitudes de cambio de sexo de esta región se han redirigido a este Hospital (Gómez-Gil et al., 2005; 2009). En mayo de 2006 el Hospital Clínic de Barcelona fue oficialmente acreditado como unidad de referencia.

En España la proporción MtF:FtM fue establecida entre 2,1:1 (Bergero et al., 2001) y 2,6:1 (Gómez-Gil et al., 2005) datos similares a los aportados por otros países como Bélgica (2,4:1) (De Cuyper et al., 2007), Países Bajos (2,5:1) (Bakker et al., 1993), y la mayoría de países europeos, EE.UU. y Singapur (2–3:1).

Según el estudio de Gómez-Gil et al., (2009), en España no existen diferencias en cuanto al nivel educativo entre ambos grupos de transexuales MtF y FtM. Sin embargo, según un reciente estudio (Guzmán-Parra et al., 2015) sobre datos sociodemográficos de la transexualidad en Andalucía, la población MtF presentaba más frecuentemente niveles educativos más bajos.

**Tabla 1**

*Sumario de los principales estudios sobre transexualidad según países (Gómez-Gil et al., 2009) actualizada hasta la actualidad.*

<b>Estudio</b>	<b>Método</b>	<b>Resultados encontrados</b>
<b>ALEMANIA</b>		
(Kockott y Fahrner, 1988)	Entrevista personal y seguimiento de 37 MtF y 21 FtM.	Ratio MtF:FtM 1,8:1 Edad media cuando solicitaron cirugía de reasignación de sexo: MtF (24,9 años) y FtM (32,1 años). Relaciones de pareja: FtM presentaban relaciones más duraderas (10/37) que MtF (12/21). Previo matrimonio con el sexo opuesto: Similar en ambos casos MtF (33%) y FtM (24%)
(Weitze y Osburg, 1996)	Análisis de 1422 decisiones judiciales relativas a solicitudes de reconocimiento legal de cambio de sexo.	Ratio MtF: FtM 2,3:1 Edad media cuando solicitaron el cambio de sexo: MtF (34 años) y FtM (30 años)
(Garrels et al., 2000)	Análisis de 1.758 transexuales diagnosticados entre 1964 y 1998 en Alemania	Ratio MtF: FtM 2:1 (desde 1970 al 1994) y 1,2:1 (desde el 1994 al 1998)
<b>AUSTRALIA</b>		
(Ross et al., 1981)	Cuestionarios enviados a todos los psiquiatras en Australia preguntando por el número de transexuales vistos en la consulta en los últimos dos años (272 transexuales)	Ratio MtF: FtM 6,1:1
<b>BÉLGICA</b>		
(De Cuypere et al., 1995)	Evaluación psicológica y psiquiátrica de 65 solicitudes en una clínica de identidad de género. Treinta y cinco fueron diagnosticados de transexualidad (22 MtF y 13 FtM)	Ratio MtF: FtM 1,7:1 Solicitud de cambio de género antes de los 30 años: FtM (84,6%) y MtF (31,8%) Educación más baja en MtF (68,2%) que en FtM (38,3%), aunque no significativo Estaban empleados o eran estudiantes: FtM (84,6%) y MtF (54,5%) Relaciones de pareja más estables en FtM (53,8%) que en MtF (27,3%) Matrimonio previo con el otro sexo: MtF (45%) y FtM (0%) Tratamiento psiquiátrico previo: MtF (45,1%) y FtM (28,5%) Previo abuso del alcohol y/o drogas: MtF (50%) y FtM (61,5%)

(De Cuyper et al., 2007)

Cuestionario demográfico completado por 412 transexuales que se habían sometido a cirugía de reasignación

Ratio MtF: FtM 2,43:1

Edad cuando se sometieron a la operación de reasignación de sexo: MtF (32,7 años) y FtM (28,5 años)

Educación: La mayoría habían cursado los primeros años de educación secundaria (98%) o los últimos años de secundaria (65%). Sólo el 19% tenían estudios universitarios, no existiendo diferencias entre sexos.

Empleo: un mayor porcentaje de MtF (52%) estaban desempleados frente a FtM (35%)

Relaciones de pareja: 40% presentaban relaciones (matrimonio o vida en pareja) en la primera consulta.

Matrimonio previo con el sexo opuesto: más en MtF (19%) que en FtM (4%).

## CANADÁ

(Blanchard et al., 1987)

Análisis de 136 hombres y 73 mujeres con problemas de disforia de género, después de excluir 12 casos

Ratio MtF: FtM 1,7:1

Sin diagnóstico de transexualidad: ocho de 136 (5,8%)

Relaciones de pareja: 46,2% de hombres y 49,3% de mujeres habían mantenido relaciones con una pareja del mismo sexo biológico.

Orientación sexual: más hombres (73/136) presentaban preferencia sexual por el sexo biológico opuesto, que las mujeres (1/73).

Con anterioridad al tratamiento hormonal 45,6% de los hombres y 8,3% de las mujeres habían tomado hormonas.

## DINAMARCA

(Sorensen y Hertoft, 1982)

Análisis de 29 MtF y 8 FtM transexuales con reasignación de sexo

Ratio MtF: FtM 3,6:1

Orientación sexual: la mayoría de los MtF se sentían sexualmente atraídos por los hombres, pero un tercio tenían experiencias heterosexuales, sobre todo relaciones ocasionales.

Más MtF presentaban preferencia sexual por el sexo contrario que las FtM. Alrededor del 17% nunca habían mantenido relaciones sexuales.

## ESPAÑA

(Bergero et al., 2001)

(Esteva de Antonio et al., 2001b)

Entrevista y cuestionario a 100 transexuales (71 MtF y 29 FtM)

Ratio MtF: FtM 2,1:1

Sin diagnóstico de transexualidad 14%

Edad media de solicitud de cirugía de reasignación de sexo: 29,8 años

Comienzo de tratamiento hormonal sin prescripción médica 56%

Educación: 58,8% tenían un nivel educativo bajo. Empleo: 55,9%



		Relaciones de pareja 21,5% vivían con una pareja en el momento del estudio Tratamiento psiquiátrico previo 25,6% Evaluación psicológica previa 53,5%
(Gómez-Gil et al., 2005)	Estimación epidemiológica de la transexualidad en Cataluña	Ratio MtF: FtM 2,6:1 Prevalencia en Cataluña 1:21.031 hombres y 1:48.096 mujeres Incidencia anual en Cataluña 0,73/100.000/año
(Gómez-Gil et al., 2009)	Estudio sociodemográfico, clínico y psiquiátrico a partir de 252 solicitudes de reasignación de sexo, a través de entrevista clínica estandarizada y entrevista neuropsiquiátrica	Ratio MtF: FtM 2,2:1 La mayoría (MtF y FtM) tenían un trabajo de bajo nivel, vivían con sus padres y generalmente con tendencia sexual orientada al mismo sexo. El diagnóstico psiquiátrico más frecuente fue desajuste emocional y fobia social en ambos grupos. Abuso de alcohol y otras sustancias, en el grupo MtF. MtF eran mayores que FtM cuando solicitaron la reasignación de sexo, pero no difieren en edad cuando comienzan el tratamiento hormonal. Pocos MtF tenían un trabajo de alta cualificación La mayoría no eran de origen español
(Basterra et al., 2012)	Estudio epidemiológico de 35 sujetos (25 MtF y 10 FtM) que acudieron a la Unidad Navarra de Transexuales e Intersexos (UNATI) entre los años 2011-2012.	Ratio MtF:FtM 2,5:1. Edad media de solicitud de cirugía de reasignación 37,3 años Formación académica: -2,9% no completó los estudios primarios -5,9% completó los estudios de primer grado -76,5% completó estudios de segundo grado -14,7% completó estudios de tercer grado  En la actualidad, el 51,4% de los sujetos realizan una actividad laboral remunerada, un 20% se encuentran en paro o nunca han realizado una actividad laboral, un 8,6% realizan trabajos marginales, un 5,7% son estudiantes y un 14,3% trabajan en un centro especial de empleo o están incapacitados laboralmente.
(Guzmán-Parra et al., 2015)	Estudio sociodemográfico y clínico a partir de 197 transexuales (101MtF y 96 FtM) que visitaron la Unidad de Identidad Transexual y de Género TGIU del Hospital Carlos Haya de Málaga, entre los años 2011 y 2012.	En general la población MtF presenta más dificultades de ajuste e integración social que la población FtM. Orientación sexual mayormente homosexual tanto entre la población MtF (82,3) como la FtM (89.9). La población FtM (31,3) presentaba pareja o relación estable, con más frecuencia que el grupo MtF (17,8). Un alto porcentaje de personas del grupo MtF practicaba la prostitución (11,9). 48,4% de la muestra había recibido psicoterapia en algún momento previo a la visita

## ESTADOS UNIDOS

(Hirschfeld, 1910)

Estudio de 435 individuos disfóricos (318 hombres y 117 mujeres) para evaluar diagnóstico según DSM-IV

a la unidad, no existiendo diferencia entre MtF y FtM.

Un alto porcentaje presentaba intentos suicidas en comparación con la población no transexual. Siendo más frecuente entre el grupo FtM.

Entre la población transexual (MtF y FtM) los niveles de depresión y la presencia de dificultades en la integración social, son más elevados que en la población general.

La edad media de solicitud de reasignación de sexo fue mayor en MtF (33 años) que en FtM (30 años)

Educación: sin diferencias estadísticas entre MtF y FtM.

Empleo: no diferencias estadísticas entre MtF y FtM.

Enfermedades psiquiátricas: Depresión fue el diagnóstico más frecuente, desorden bipolar y esquizofrenia.

Enfermedades mentales previas: solo 9% indicaron tratamiento anterior por alteraciones psiquiátricas o abuso de sustancias

La historia de abuso de sustancias fue similar en MtF (29%) y FtM (26%)

(Dixen et al., 1984)

Entrevistas y cuestionarios a 479 hombres y 285 mujeres solicitantes de cirugía de reasignación de sexo

Edad media de solicitud de cirugía de reasignación: MtF (29 años) y FtM (27,3 años)

Empleo: 63,5% de MtF y 75,4% de FtM estaban empleados. El 24, 4% de MtF y 10,8% de FtM recibían ayudas benéficas. 16,9% de MtF trabajaban como prostitutas.

Relaciones de pareja: menos MtF (28,8%) vivían con sus parejas que FtM (46,2%). Menos MtF (30,7%) presentaban actualmente pareja del mismo sexo que FtM (63,5%)

Matrimonio previo con sexo opuesto: más frecuente en MtF (21%) que en FtM (11,4%)

Orientación sexual: más MtF (10%) tenían relaciones con el sexo biológico opuesto que FtM (2%)

(Lawrence, 2005)

Estudio de 232 MtF mediante cuestionario antes y después de la reasignación de sexo

Edad media del estudio 44 años (en un rango de edad entre 18–70 años)

Orientación sexual: antes de la operación de reasignación de sexo 54% de MtF se sentían principalmente atraídos por mujeres y 9% predominantemente por hombres. Después de la operación estos porcentajes fueron 25% y 34% respectivamente.

## HOLANDA

(Verschoor y Poortinga, 1988)

Entrevistas a 168 hombres y 55 mujeres que solicitaron cirugía de reasignación de sexo y que llevan al menos tres meses en tratamiento hormonal

Ratio MtF: FtM 3,38:1

Realización de la cirugía de reasignación de sexo antes de la edad de 30 años: 51,2% de MtF y 72,7% de FtM

Empleo: más FtM (74,5%) estaban empleados o eran estudiantes que MtF (57,6%)

		<p>Relaciones de pareja estables: FtM (48,0%) y MtF (21,1%)</p> <p>Matrimonio previo con el sexo opuesto: MtF más (27,5%) que FtM</p> <p>Orientación sexual: más MtF (23,7%) tienen exclusivamente relaciones sexuales con el sexo biológico opuesto que FtM (2,4%)</p> <p>Prevalencia de abuso de alcohol y drogas: MtF (11,3%) y FtM (3,8%)</p>
(Bakker et al., 1993)	Estudio epidemiológico de 713 transexuales de origen Holandés.	<p>Ratio MtF:FtM 2,5:1</p> <p>Origen extranjero 6,9%</p>
(van Kesteren et al., 1996)	Registros médicos de 1.285 pacientes con alteraciones de género o disforia (1975-1992)	<p>Ratio MtF:FtM 3:1</p> <p>No diagnóstico de transexualidad en 6% de varones y 4% de mujeres</p> <p>Edad media cuando solicitaron la cirugía de reasignación de sexo: FtM entre los 20 y los 25 años, y MtF entre los 25 y los 30 años.</p> <p>Origen extranjero: (12,3%)</p>
(Cohen-Kettenis y van Goozen, 1997)	Seguimiento de 22 adolescentes transexuales (7 MtF y 15 FtM) que se sometieron a cirugía de reasignación	<p>Empleo: 43% eran estudiantes, 36% tenían empleo y 21% estaban desempleados</p> <p>Forma de vida: (79%) eran independientes, 14% vivían con su pareja y 7% con sus padres.</p> <p>Vida de pareja: 36% con una relación estable.</p>
(Smith et al., 2005a)	Encuesta sobre las preferencias sexuales de 187 transexuales sometidos a cirugía de reasignación de sexo	<p>Edad media para someterse a la operación: MtF (28,3 años en MtF homosexuales y 36,8 en MtF no homosexuales). En FtM (24,4 años en FtM homosexuales y 23,8 en FtM no homosexuales)</p> <p>Previo matrimonio con pareja del otro sexo: menos FtM (14,9%) estaban o habían estado casados, que MtF (33%)</p> <p>Orientación sexual: de un total de 187 transexuales, 113 (61 MtF y 52 FtM) presentaban una preferencia sexual por el mismo sexo biológico y 74 (52 MtF y 22 FtM) por el otro sexo biológico.</p>
<b>IRAN</b>		
(Hedjazi et al., 2013)	Estudio sociodemográfico de 44 transexuales (17 MtF y 27 FtM) solicitantes de cirugía de cambio de sexo 2005-2010	<p>Ratio MtF:FtM 1:1,6</p> <p>Edad media 27.6 ± 2.9 años</p> <p>La mayoría con estudios superiores (77,3%), viven en ciudades (81,8%), estaban empleados (56,9%), y eran solteros (93,1%).</p>
<b>IRLANDA DEL NORTE</b>		
(O'Gorman, 1982)	Estudio retrospectivo epidemiológico y clínico de 28 transexuales (21 varones y 7 mujeres)	<p>Ratio MtF:FtM 3:1</p> <p>Edad media cuando solicitan cirugía de reasignación de sexo: MtF (26,7 años) y FtM (24,5 años).</p>

Empleo: 15 MtF y 3 FtM estaban empleados.

Previo matrimonio con una pareja del otro sexo: 7 MtF y 2 FtM.

Historial de enfermedades psiquiátricas: 11 MtF y 3 FtM presentan un historial de enfermedades psiquiátricas que incluye episodios psicóticos, trastornos agudos transitorios, anorexia nerviosa y depresión.

Orientación sexual: 8 MtF y 4 FtM habían tenido experiencias sexuales con miembros del mismo sexo biológico. El 13% de MtF nunca habían tenido actividad sexual.

## NORUEGA

(Haraldsen y Dahl, 2000)

Estudio epidemiológico y psiquiátrico de 86 personas transexuales a través de entrevistas

Ratio MtF:FtM 1,1:1

Historial de enfermedades psiquiátricas: las enfermedades psiquiátricas más prevalentes fueron la depresión (17,4%), ansiedad (18,6%), abuso de sustancias (16,2%). Otras son distimia (4,7%), bipolaridad (2,3%), desórdenes de la alimentación (1,2%)

## NUEVA ZELANDA

(Veale, 2008)

Información obtenida a partir de la información existente en la Oficina de pasaportes de Nueva Zelanda. Revisión de expedientes.

Ratio MtF:FtM 6:1

Prevalencia de la transexualidad 1:6364.

Prevalencia MtF 1:3639

Prevalencia FtM 1:2271

## POLONIA

(Godlewski, 1988)

Análisis de diagnósticos de transexualidad en 716 pacientes que requieren tratamiento sexológico

Ratio MtF: FtM 1:5,5

(Herman-Jeglinska et al., 2002)

Evaluación psicológica y del rol sexual de 29 MtF y 103 FtM solicitantes de terapia hormonal o cirugía de reasignación de sexo. Clasificación según tipología transexual primaria *versus* secundaria

Ratio MtF: FtM 1:5,42

Edad media de cirugía de reasignación de sexo: MtF secundarios (35,9 años), MtF primarios (21,8 años), FtM secundarios (24,8 años) y FtM primarios (23,1 años)

Educación: en general los MtF secundarios alcanzaban niveles educativos más altos que los otros grupos.

Matrimonio previo con pareja del sexo opuesto: en el caso de transexualidad primaria ninguno había estado casado previamente, mientras que en la transexualidad secundaria el 54% de MtF y 19% FtM sí lo habían estado.

## REINO UNIDO

(Burns et al., 1990)

Características clínicas de 77 transexuales y 29 no transexuales que visitan una clínica de identidad de género

Ratio MtF: FtM 3,1:1

Edad media de solicitud de cirugía de reasignación de sexo 32,6 años

## SERBIA

(Duisin et al., 2009)

Perfil de 30 transexuales (18 MtF y 12 FtM) al aplicar cirugía de reasignación de sexo

No diagnóstico de transexualidad 27,35%

Orientación sexual: MtF (45%) eran heterosexuales FtM (13%)

Ratio MtF:FtM 1,5:1

Edad media de solicitud de cirugía de reasignación de sexo 25,23.

Estudios de secundaria (66,66%), formación universitaria (3,33%), formación elemental 13,3% .

Empleo: 40% empleados, 40% desempleados, 20% estudiantes.

(Vujovic et al., 2009)

Perfil de 147 transexuales (71 MtF y 76 FtM) consultados entre los periodos 1987 y 2006.

Ratio MtF:FtM 1:1

Caucásicos en su totalidad.

Edad de la primera consulta:

-58,9% MtF y 48,2% FtM tenían entre 18–25 años

-19% MtF y 24% FtM tenían más de 31 años

-1% MtF y 2% FtM superaban los 40 años

Educación secundaria (79% MtF y 69% FtM), y 8% FTM, en comparación con 3,6% MTF, finalizaron los estudios universitarios)

Después de la cirugía de reasignación de sexo, el 16,6% MtF y el 16,4% FtM se casaron con una pareja del sexo opuesto al sexo reasignado.

Mientras que los transexuales FTM tendían a permanecer con la misma pareja, los MTF eran más propensos a cambiar de pareja.

Después de la cirugía de reasignación de sexo, se sienten más atractivos y seguros para vivir una vida de pareja.

## SINGAPUR

(Tsoi, 1992)

Perfil de 320 MtF y 130 FtM al aplicar cirugía de reasignación de sexo

Edad media de cirugía: MtF eran un año más jóvenes (23,5 años) que FtM (24,9 años)

Educación: más FtM (23%) tenía una educación superior que los MtF (16%)

Empleo: MtF ocupaban puestos de menor categoría que FtM. Más MtF (8%) estaban desempleados frente a FtM (2%). Historia de prostitución en 38% de MtF

Previo matrimonio con pareja del otro sexo: ninguno había estado previamente casado

Orientación sexual: dentro del grupo sexualmente activo (87% del total), todos eran homosexuales (mirar si se refiere a la tipología de Blanchard)

## SUECIA

(Bodlund et al., 1993)	Evaluación de los trastornos del Eje I utilizando entrevistas clínicas en 19 transexuales (9 MtF y 10 FtM)	Empleo 65% estaban trabajando o estudiando. Comorbilidad : 5 con trastornos de adaptación, 2 con desórdenes de ansiedad, 2 con historial de abuso de alcohol y 1 síndrome delirante
(Landen et al., 1998)	Estudio retrospectivo y transversal de 233 archivos de transexuales (134 FtM y 99 MtF) que solicitaron cirugía de reasignación en Suecia durante el período 1972-1992	Edad de solicitud de cirugía de reasignación: MtF (32,2 años) y FtM (29,3 años) Educación: no diferencias Empleo: 69,8% de MtF y 62,5% de FtM estaban empleados Previo matrimonio con una pareja del sexo opuesto: más frecuente en MtF (23,1%) que en FtM (6,1%) Orientación sexual: más MtF eran bisexuales (10,7%) o se sentían atraídos por el sexo opuesto (9,1%) que en FtM (0% y 1,1%, respectivamente) Desórdenes psiquiátricos: Trastornos del estado del ánimo MtF (12,7%) y FtM (7,1%), desórdenes psicóticos similares en ambos grupos: MtF (2,2%) y FtM (4,1%) Previo abuso de alcohol y/o drogas: similar en MtF (11,9%) y FtM (18,2%) Tratamiento psiquiátrico previo similar en MtF (38,8%) y FtM (35,4%)
(Olsson y Moller, 2003)	Estudio epidemiológico y psiquiátrico de 402 transexuales solicitantes de cirugía de reasignación de sexo en Suecia desde el año 1965	Ratio MtF: FtM 1,2:1 para el periodo 1965–1985, 1,8:1 para el periodo 1986–2002 Edad media de solicitud de cirugía de reasignación: MtF eran mayores hace dos décadas (32,2 y 36,6 años) que FtM (29,3 y 30 años)
(Dhejne et al., 2014)	Información a partir de 767 solicitudes de cirugía de reasignación de sexo en un periodo de 50 años (1960–2010)	Ratio MtF:FtM 1,66:1 La incidencia aumentó significativamente de 0,16 a 0,42/100.000/año (FtM) y 0,23 a 0,73/100.000/año (MtF). El incremento más pronunciado se produjo después del 2000.

## SUIZA

(Hepp et al., 2005)	Entrevistas clínicas a 20 MtF y 11 FtM	Enfermedades psiquiátricas: 8 mostraban desórdenes de ansiedad, 4 trastornos del estado de ánimo, 3 desórdenes relacionados, 3 desórdenes somatomorfos, 2 desórdenes psicóticos y uno alteraciones de la alimentación.
---------------------	--	--

## YUGOSLAVIA

(Rakic et al., 1996)	Estudio de 22 MtF y 10 FtM a través de cuestionario estandarizado, después de la operación de reasignación de sexo	Edad media cuando solicitaron operación de reasignación de sexo: MtF (24 años) y FtM (27 años). Empleo: similar en MtF (32%) y FtM (40%) antes de la operación. Relaciones de pareja: 27% de MtF y 40% de FtM tenían pareja antes de la operación.
----------------------	--	--

---

Con frecuencia, la situación laboral de la población transexual, sobre todo en el grupo MtF, suele ser inestable y baja, tanto en la población transexual catalana (Gómez-Gil et al., 2009) como en la andaluza (Bergero et al., 2001; Guzmán-Parra et al., 2015) siendo un reflejo de la exclusión social que sufre este colectivo (Gómez-Gil et al., 2009; Guzmán-Parra et al., 2015).

La frecuencia de desempleo entre la población transexual español es similar a la descrita en otros países como Suecia (Landen et al., 1998) y más baja que la de Bélgica (De Cuypere et al., 2007), destacando el bajo apoyo de bienestar social que obtiene el grupo español, en comparación con otros países (Gómez-Gil et al., 2009).

Varios estudios señalan que los individuos del grupo FtM se encuentran sin pareja en el momento del diagnóstico, o presentan relaciones estables con parejas del mismo sexo biológico, con más frecuencia que los miembros del grupo MtF (De Cuypere et al., 1995; Dixen et al., 1984; Kockott y Fahrner, 1988; Verschoor y Poortinga, 1988). En España en el momento del estudio, un elevado porcentaje de los sujetos vivía con sus padres (Gómez-Gil et al., 2009; Guzmán-Parra et al., 2015). La frecuencia de matrimonio antes de la reasignación de sexo es menor en nuestro país que en Bélgica (De Cuypere et al., 2007), Alemania (Kockott y Fahrner, 1988), Países Bajos (Verschoor y Poortinga, 1988), Polonia (Herman-Jeglinska et al., 2002), Suecia (Bodlund et al., 1993; Landen et al., 1998), y los EE.UU. (Dixen et al., 1984).

Antes de la reasignación de sexo, y una vez comenzado el tratamiento hormonal, la mitad de la población transexual percibe su vida sexual como “pobre” o “muy pobre” y se muestra “insatisfecho” o “muy insatisfecho” con ello. Aunque por otra parte, recibir tratamiento hormonal, sobre todo en aquellos que tienen pareja, mejora la percepción de su vida sexual (Bartolucci et al., 2015). El tratamiento hormonal de cambio de sexo, la presencia de un soporte familiar, tener trabajo o estar realizando estudios, está relacionado con una percepción más positiva (Gómez-Gil et al., 2014).

En concordancia con el estudio realizado por Tsoi (1992), en nuestro país, la orientación sexual de la población transexual es principalmente hacia el mismo sexo biológico, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Gómez-Gil et al., 2009; Guzmán-Parra et al., 2015).

Con respecto a la comorbilidad psiquiátrica, es frecuente entre la población transexual los *trastornos de la adaptación* con síntomas depresivos, ansiosos o fóbicos, así como ideación suicida

como consecuencia del profundo malestar que genera el trastorno, de las dificultades con que habitualmente se encuentran para conseguir la reasignación sexual y de las repercusiones en los ámbitos social, familiar y de pareja, secundarios al frecuente rechazo social (Otero Camprubí y Gómez Gil, 2005; Guzmán-Parra et al., 2015). Sin embargo, una vez realizada la cirugía de reasignación de sexo, los niveles de ansiedad, depresión y distrés social disminuyen (Gómez-Gil et al., 2012).

Los trastornos por consumo de sustancias también son elevados, principalmente en transexuales MtF en situaciones de marginación social o abocados a la prostitución (Otero Camprubí y Gómez Gil, 2005). La prevalencia de otros trastornos psiquiátricos primarios tales como la esquizofrenia, la depresión o el trastorno bipolar es similar a la de la población general (Gómez-Gil et al., 2009; Otero Camprubí y Gómez Gil, 2005).

## **1.5. Estimación de la prevalencia, incidencia y razón de sexos de la transexualidad**

Los estudios epidemiológicos sobre la transexualidad son en general escasos (Landen et al., 1996b; Michel et al., 2001). Los primeros estudios de la década de 1960 aportaron cifras de prevalencia de 1/100.000 hombres y 1/400.000 mujeres (Gómez-Gil et al., 2005; Landen et al., 1996a; 1996b). Estudios posteriores encontraron prevalencias progresivamente más elevadas y estudios europeos recientes la estiman en 1/11.900 varones y 1/30.400 mujeres (Bakker et al., 1993; Eklund et al., 1988; Gómez-Gil et al., 2005; Hoenig y Kenna, 1974; Pauly, 1968; Ross et al., 1981; Tsoi, 1988; van Kesteren et al., 1996; Walinder, 1968; Weitze y Osburg, 1996). Estos estudios encuentran en su mayoría una razón de sexos de dos a tres veces superior para los transexuales MtF (Bakker et al., 1993; Eklund et al., 1988; Gómez-Gil et al., 2005; Hoenig y Kenna, 1974; Tsoi, 1988; van Kesteren et al., 1996; Walinder, 1968; Weitze y Osburg, 1996) (Tabla 1). Actualmente no existe una explicación para esta discrepancia en la proporción de sexos.

Hace tan solo quince años, en España existían escasos datos epidemiológicos sobre la transexualidad (Gómez Balaguer et al., 2003; Gómez-Gil et al., 2005; 2009). A ello contribuyó principalmente la ausencia de una financiación pública del tratamiento integral de reasignación del sexo por el sistema sanitario español hasta 1999. En ese año el Parlamento Andaluz aprobó la prestación integral dentro del Servicio Andaluz de Salud para los pacientes transexuales (Bergero



et al., 2001; Esteva de Antonio et al., 2001b) y desde entonces la demanda de reasignación sexual aumentó progresivamente, tanto en dicha comunidad autónoma como en el resto del país (Esteva de Antonio et al., 2001a).

En el año 2005 la primera Unidad de Trastornos de la Identidad de Género en Andalucía (Hospital Carlos Haya de Málaga) registró 448 pacientes atendidos en los seis primeros años de funcionamiento de la unidad (288 varones y 160 mujeres; razón de sexos: 1,6), de los cuales 417 fueron confirmados en el diagnóstico (Esteva de Antonio et al., 2006; Gómez-Gil et al., 2005). Otros equipos médicos del estado español también aportaron datos de demanda, aunque no se trata de unidades centralizadas, lo cual dificulta el posterior cálculo de prevalencia e incidencia en la población. En la comunidad autónoma de Madrid, los datos de demanda aportados desde una unidad de endocrinología en el período comprendido entre 1992 y 2004, fueron de 402 pacientes (Becerra, 2003; Gómez-Gil et al., 2005; Moraga, 2004).

A finales de 2004 la unidad del Hospital Clínic de Barcelona aportó una tasa de prevalencia de la transexualidad en Cataluña estimada en 1:21.641 varones y 1:48.096 mujeres (Gómez-Gil et al., 2005). Estos datos son aproximadamente la mitad de la prevalencia que muestran otros países como Holanda (1/11.900 varones y 1/30.400 mujeres), Alemania (1/14.400 varones y 1/33.200 mujeres) o la comunidad autónoma de Andalucía (1/9.685 varones y 1/15.456 mujeres), y una octava parte de la aportada en Singapur (1/2.900 varones y 1/8.300).

La razón de sexos en los diversos estudios europeos y asiáticos, muestra una leve predominancia del grupo MtF. En Suecia (Walinder, 1971; Weitze y Osburg, 1996) Inglaterra (Person y Ovesey, 1974a; 1974b) y Gales (Hoenig y Kenna, 1974) esta razón se ha encontrado igualada entre ambos grupos. Sólo dos estudios polacos, con escasa muestra, encuentran esta relación a la inversa (Godlewski, 1988; Herman-Jeglinska et al., 2002). En el grupo de Cataluña persiste una predominancia de 2,5-2,6 (Gómez-Gil et al., 2005; 2009; Peri, 2006) para el grupo de transexuales MtF. Este dato es similar al observado en Holanda (2,5:1) (Landen et al., 1996b), en otras comunidades de España (2,4:1) (Bergero et al., 2001), y cercanos (2-3:1) a los datos obtenidos en la mayoría de países europeos, EE.UU. y Singapur (Garrels et al., 2000; Olsson y Moller, 2003). Datos más recientes de Alemania, Bélgica y Canadá muestra una menor predominancia (1,2-1,7:1) para el grupo MtF (Garrels et al., 2000).

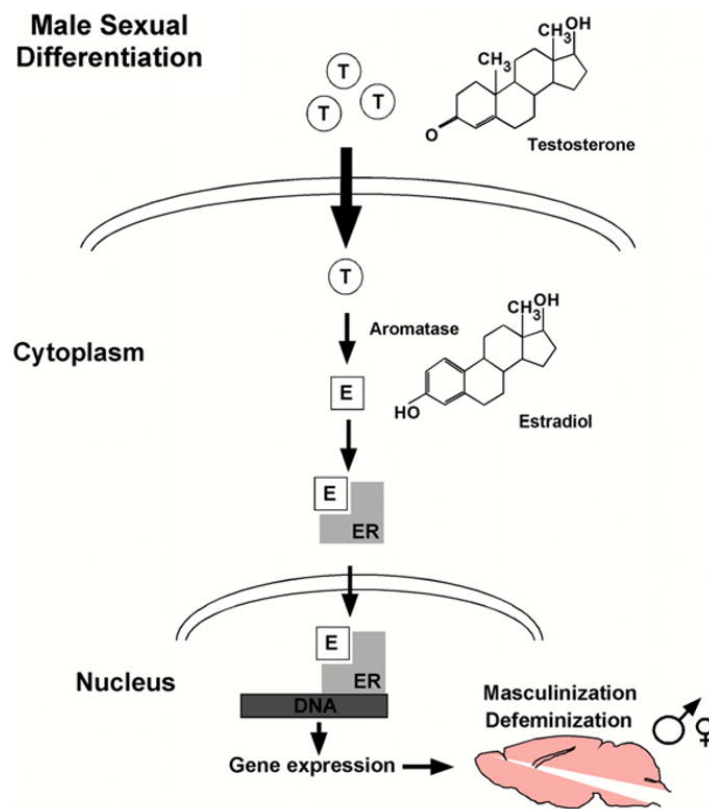
## 1.6. Diferenciación sexual del cerebro en humanos

Se cree que en humanos, el proceso de diferenciación sexual del cerebro produce cambios permanentes en estructuras cerebrales, y en sus funciones, a través de la interacción de las neuronas en desarrollo con el ambiente, entendiéndose éste en un sentido amplio (Swaab y García-Falgueras, 2009). El entorno de una neurona en desarrollo está formado por las hormonas circulantes del propio feto, así como las hormonas, nutrientes, medicación y otras sustancias químicas de la madre, que atraviesan la placenta y entran en la circulación fetal. Todos estos factores pueden tener un efecto duradero en la diferenciación sexual del cerebro durante la etapa fetal (García-Falgueras et al., 2011; Swaab, 2007; 2008; Swaab y García-Falgueras, 2009).

Los testículos y los ovarios se desarrollan en la sexta semana de embarazo. Esto ocurre bajo la influencia de una cascada de genes, iniciándose este proceso, en mamíferos, a partir del gen *SRY* (gen determinante del sexo en el cromosoma Y). La producción de testosterona por los testículos del feto será necesaria para la diferenciación sexual completa de los órganos sexuales masculinos, entre las semanas 6 y 12 del embarazo. Mientras que el desarrollo de los órganos sexuales femeninos en el útero se basa principalmente en la ausencia de andrógenos (García-Falgueras y Swaab, 2010; Savic et al., 2010; Swaab, 2008; Swaab y García-Falgueras, 2009).

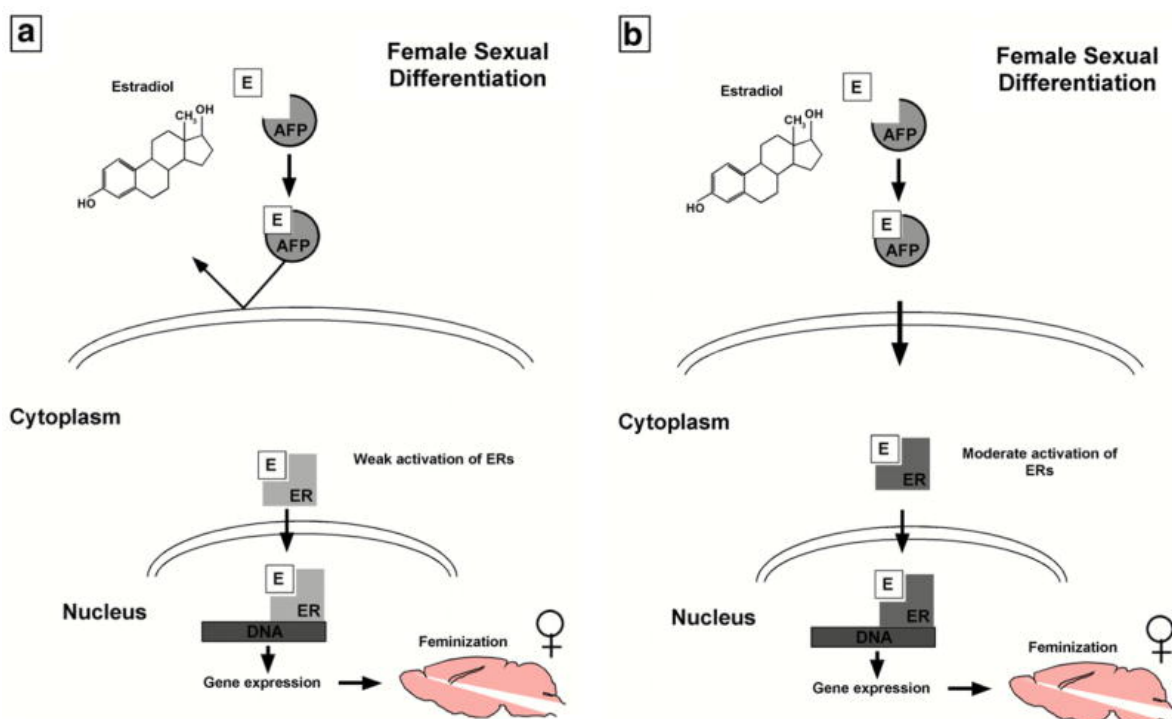
Una vez que la diferenciación de los órganos sexuales se ha llevado a cabo (6<sup>a</sup> semana de gestación), tiene lugar la diferenciación sexual del cerebro (segunda mitad del embarazo), bajo la influencia de las hormonas sexuales. Los cambios que tienen lugar en la etapa fetal serán permanentes y tendrán efectos organizadores (García-Falgueras y Swaab, 2010; Savic et al., 2010; Swaab, 2008; Swaab et al., 2003; Swaab y García-Falgueras, 2009) que se activarán más tarde, durante la pubertad. Estos conceptos constituyen el paradigma de la diferenciación sexual del cerebro (Phoenix et al., 1959).

A su vez, el cerebro del feto está protegido de los estrógenos de la madre a través de la  $\alpha$ -fetoproteína, que es una proteína plasmática producida por el feto que se une fuertemente a los estrógenos, pero no a la testosterona (Bakker et al., 2006; Bakker y Baum, 2008) (Figura 1).



**Figura 1:** *Diferenciación sexual del cerebro.* En roedores macho, la testosterona (T) secretada por los testículos, penetra en el cerebro en donde será aromatizada a estradiol (E), se unirá a su receptor y promoverá la expresión génica que masculinizará y defeminizará los sistemas neuronales correspondientes (Bakker y Baum, 2008).

Los estrógenos no solamente llegan al cerebro a través de la circulación: el propio cerebro fetal también es capaz de producir estrógenos. En humanos la testosterona no sólo tiene un efecto directo sobre el cerebro masculino, sino que la testosterona, una vez convertida en estrógenos por la enzima aromatasa, puede actuar también en el desarrollo de las neuronas (Figura 2). En ratas, la formación de estradiol en el cerebro, por la aromatización de la testosterona, es el mecanismo más importante en la masculinización del cerebro (Gorski, 1984), pero en humanos no determina la identidad sexual ni la orientación sexual (Swaab y García-Falgueras, 2009).



**Figura 2:** Dos hipótesis sobre el papel de la  $\alpha$ -fetoproteína, una proteína plasmática fetal que se une a los estrógenos con gran afinidad: (a) La  $\alpha$ -fetoproteína presenta una gran afinidad por los estrógenos, impide su entrada en la célula, y protege al cerebro fetal de los estrógenos maternos (hipótesis propuesta por McEwen et al., (1975)). (b) La  $\alpha$ -fetoproteína podría permitir el paso de los estrógenos en áreas cerebrales específicas para producir la feminización cerebral (hipótesis propuesta por Toran-Allerand (1984)).

### 1.6.1. Hormonas sexuales y desarrollo del cerebro humano

Durante el desarrollo fetal humano, el cerebro se ve influido por las hormonas sexuales: la testosterona, los estrógenos y la progesterona (Swaab, 2003; Swaab y García-Falgueras, 2009). Desde las primeras etapas del desarrollo del cerebro fetal, muchas neuronas a lo largo de todo el sistema nervioso ya tienen receptores para estas hormonas (Chung, 2003).

Durante el desarrollo hay tres períodos durante los cuales los niveles de testosterona se incrementan en el varón. Durante la etapa fetal se producen dos picos de testosterona entre las semanas 12 y 18 de gestación (Finegan et al., 1989) y entre las semanas 34-41, pudiendo ser el nivel de testosterona hasta diez veces más alto en los varones que en las niñas (de Zegher et al., 1992). El tercer pico de testosterona tiene lugar durante los tres primeros meses después del nacimiento.

Al final del embarazo, cuando el nivel de  $\alpha$ -fetoproteína disminuye, el feto está más expuesto a los estrógenos de la placenta, provocando una inhibición del eje gonadal hipotálamo-hipofisario. La pérdida de esta inhibición, una vez que nace el niño, provoca un pico de testosterona en los varones y un pico de estrógenos en las niñas (Quigley, 2002). Estos picos de testosterona, fetal y neonatal, se cree que fijan el desarrollo de estructuras y circuitos cerebrales para el resto de la vida del niño (Swaab y García-Falgueras, 2009). Más tarde, los cambios hormonales que ocurren durante la pubertad, activarán los circuitos y los patrones de comportamiento que se construyeron durante el desarrollo fetal, en una dirección masculinizada y desfeminizada para los cerebros masculinos o en una dirección feminizada y desmasculinizada para los cerebros femeninos (Swaab y García-Falgueras, 2009).

Las diferencias en la estructura del cerebro que resultan de la interacción entre las hormonas y las células del cerebro en desarrollo, se cree que son la base de las diferencias sexuales en un amplio espectro de comportamientos, tales como el rol de género (comportarse como un hombre o una mujer en la sociedad), la identidad de género (la convicción de pertenecer al género masculino o femenino), la orientación sexual (heterosexualidad, homosexualidad o bisexualidad), y las diferencias de sexo en relación con la cognición, agresividad, comportamiento, organización del lenguaje, etc. (Swaab y García-Falgueras, 2009).

Como la diferenciación sexual de los genitales tiene lugar mucho antes en el desarrollo (6ª semana de gestación) que la diferenciación sexual del cerebro, (comienza en la segunda mitad del embarazo), estos dos procesos pueden verse influenciados de forma independiente uno del otro. En raros casos, esto puede dar lugar a la transexualidad, es decir, personas con genotipo 46,XY y órganos sexuales masculinos pero con cerebros feminizados y que por lo tanto se sienten mujeres, o vice-versa, personas con genotipo 46,XX y órganos sexuales femeninos pero con cerebros masculinizados, y que por lo tanto se sienten varones (Swaab y García-Falgueras, 2009). También implica que en el raro caso de presencia de genitales ambiguos en el momento del nacimiento, el grado de masculinización de los genitales no siempre refleja el grado de masculinización cerebral (Swaab, 2004; 2007; 2008; Swaab y García-Falgueras, 2009).

### **1.7. Estudio de la transexualidad en cerebros humanos**

Cada vez existen más evidencias que apoyan la realidad de un dimorfismo cerebral sexual y que la transexualidad es consecuencia de un desarrollo cerebral sexualmente atípico (Swaab, 2004; 2007;

2008; Swaab y García-Falgueras, 2009; Zhou et al., 1995).

El dimorfismo sexual podría ser el resultado de los efectos de las hormonas sexuales, de determinados genes, de factores ambientales, o bien una combinación de los tres (Savic, 2012). Según los estudios con animales, las diferencias sexuales cerebrales están relacionadas con los niveles de andrógenos prenatales y post-puberales (Giedd et al., 1996; 2006; Rezaie et al., 2009; Steinman et al., 2009; van Rijn et al., 2008). Pero la teoría de los andrógenos, como única explicación, ha sido cuestionada por estudios de expresión genética (Sun et al., 2005).

Que determinados genes también pueden estar implicados en el desarrollo del dimorfismo cerebral se concluye a partir de los estudios de aneuploidía en humanos. Así, los hombres con síndrome de Klinefelter (hombres 47,XXY), muestran atrofia del hemisferio izquierdo en las regiones del procesamiento del lenguaje, y las mujeres con síndrome de Turner (mujeres 45,X) muestran atrofia del lóbulo parietal derecho en las regiones de procesamiento viso-espacial (Baron-Cohen, 2004; Lentini et al., 2013; Savic y Arver, 2014). Los sujetos con aneuploidía del cromosoma X también muestran cambios en la lateralización funcional durante las tareas de lenguaje, una activación reducida de la circunvolución temporal superior izquierda y la circunvolución supramarginal (van Rijn et al., 2008). Un estudio más reciente realizado en sujetos con síndrome de Turner y Klinefelter sugiere que el número de cromosomas sexuales influye en el desarrollo de la asimetría cerebral de una manera diferenciada a lo largo del eje antero-posterior (Rezaie et al., 2009).

De una manera general, se ha demostrado que los hombres en el núcleo supraquiasmático (NSQ) tienen mayor número de receptores de andrógenos AR que las mujeres, mientras que los receptores de estrógenos ER $\beta$  son más numerosos en las mujeres que en los hombres (Fernández-Guasti et al., 2000). Este núcleo es esférico en hombres y oblongo en mujeres (Swaab et al., 1985), existiendo una diferencia clara en términos de volumen y número de células entre hombres heterosexuales y hombres homosexuales (Swaab y Hofman, 1990). Así, Swaab y colaboradores encontraron que tanto el volumen como el número de neuronas es el doble en el NSQ de homosexuales en comparación con el de heterosexuales (Swaab et al., 1990). Además la neuroquímica de este núcleo también difiere entre homosexuales y heterosexuales, ya que los homosexuales presentan el doble de neuronas inmunoreactivas a la vasopresina que los heterosexuales (Swaab et al., 1990).

En el hipotálamo, el área preóptica (APO) fue el primer núcleo descrito como sexualmente dimórfico. Presenta el doble de tamaño y número de células en los hombres que en las mujeres, y es uno de los ejemplos más claros de dimorfismo en humanos (Gorski et al., 1978; Swaab et al.,

1985). Originalmente se le denominó “núcleo sexualmente dimórfico del área preóptica” (SDN-POA). En ratas, el área se conoce como la porción medial del área preóptica, y en humanos como el núcleo intersticial del hipotálamo anterior-1 (INAH-1) (Allen et al., 1989). Complementariamente al INAH-1 se han descrito INAH-2, INAH-3 y INAH-4 como regiones dimórficas. Sin embargo, debido a la proximidad anatómica de estas “islas” de neuronas, se duda de que en realidad representen grupos neuronales anatómica y funcionalmente independientes.

En el caso del INAH-1, se ha determinado que en los hombres existen dos veces más células que en las mujeres. Al nacer, tanto los niños como las niñas poseen el mismo número de células que se incrementará exponencialmente hasta los 4-5 años de edad. En el caso de las niñas mueren en la pubertad un gran porcentaje de células. Por tanto, el dimorfismo sexual del área preóptica en humanos no ocurre hasta la pubertad (Swaab y Hofman, 1988).

El equipo de Allen halló ese mismo patrón en INAH-2 e INAH-3 (Allen et al., 1989). En 1991 LeVay publicó los resultados de un estudio de la estructura cerebral de 41 cadáveres, encontrando ese mismo patrón (LeVay, 1991). Además, el INAH-3 era más pequeño en los hombres homosexuales que en los hombres heterosexuales, y más pequeño en las mujeres que en los hombres heterosexuales. Aún se debate la validez de estos resultados ya que algunas muestras de tejido nervioso provenían de pacientes con SIDA y el número de casos de SIDA no estaba igualmente representado en los diferentes grupos experimentales. En todo caso, este trabajo constituyó el primer acercamiento para relacionar una estructura cerebral humana con una conducta sexual. Posteriormente, Byne y colaboradores (Byne et al., 2000; 2001) confirmaron el dimorfismo sexual en el INAH-3, pero al contrario que LeVay, no encontraron ninguna diferencia en los hombres homosexuales respecto a los heterosexuales.

Tal y como habían descrito Allen y Gorski, en la especie humana el núcleo de la estría terminal presenta dimorfismo sexual al encontrar que la región posteromedial tiene más volumen en los hombres que en las mujeres (Allen y Gorski, 1990). Hines y colaboradores encontraron que era un 97% más grande en hombres (Hines et al., 1992).

Zhou y colaboradores en un estudio de cerebros de transexuales MtF, demostraron que el volumen de la parte central del núcleo basal de la estría terminal (BSTc) de los individuos MtF era significativamente más pequeño que el de hombres hetero y homosexuales, de manera que los transexuales MtF presentaban esta estructura cerebral con características similares a los cerebros femeninos (Zhou et al., 1995). Concretamente, los resultados mostraron que el volumen del BSTc

en hombres heterosexuales era un 44% mayor que en mujeres heterosexuales; no difería en hombres heterosexuales y homosexuales, y era un 62% mayor en hombres homosexuales que en mujeres heterosexuales. En los varones transexuales (MtF) tenía un volumen un 52% menor que el de los hombres controles, y el 46% del de los hombres homosexuales. El dato no era significativo entre transexuales y mujeres (Zhou et al., 1995).

Kruijver y colaboradores en un estudio sobre 42 cerebros humanos obtuvieron resultados que refuerzan los del grupo de Zhou (Kruijver et al., 2000). En ellos se evidenció la correlación entre el BSTc y la transexualidad. Encontraron que el BSTc era mayor en varones que en mujeres, confirmando otros trabajos anteriores (Allen y Gorski, 1990; Hines et al., 1992) además el BSTc de los transexuales MtF era equivalente al de las mujeres control, y el de los transexuales FtM al de los varones control. Los cerebros de los transexuales con manifestaciones tardías y con manifestaciones tempranas (transexualismo primario o secundario) no presentaron diferencias, por lo que se estima que esta región cerebral no está relacionada con la edad a la que se hace evidente la condición transexual, y que este dimorfismo no se ve influenciado por el tratamiento hormonal durante la etapa adulta.

García-Falgueras y Swaab, utilizando los cerebros de 11 hombres y mujeres transexuales, 14 hombres control, 11 mujeres control y 5 hombres castrados por cáncer de próstata, estudiaron las diferencias en el INAH-3, encontrando que su volumen era 1,9 veces mayor en los hombres control que en las mujeres, con 2,3 veces el número de células (García-Falgueras y Swaab, 2008). El volumen y número de neuronas de los hombres y mujeres transexuales fue similar al de las mujeres control, sin encontrar diferencias en INAH-3 entre antes y después de la menopausia, tanto en el volumen como en el número de neuronas, lo que indica que la feminización de INAH-3 de hombres y mujeres transexuales no es debido al tratamiento con estrógenos en la edad adulta, proponiendo que la inversión de sexo en la INAH-3 en personas transexuales es, al menos en parte, un marcador de la transexualidad y que la estructura del INAH-3, el BSTc y SDN-POA pueden ser parte de una red compleja que participen en el establecimiento de diversos aspectos de la conducta sexual.

El neurotransmisor más abundante en estos circuitos dimórficos es el ácido gama-amino-butírico (GABA). La transmisión GABAérgica es predominante en el APO (Jarry et al., 1991; Ondo et al., 1982) en el NVM (Makara et al., 1975; Ogawa et al., 1991), en el NSQ (Decavel y Van den Pol, 1990; Wagner et al., 1997), en el BNST (Wisden et al., 1992) y en la amígdala (Nitecka y Ben-Ari, 1987; Nitecka y Frotscher, 1989). En términos de conducta sexual se ha demostrado que tanto los



niveles de GABA en el cerebro (McCarthy, 1995) como el número de receptores de GABA, son susceptibles a las hormonas sexuales (Herbison y Fenelon, 1995). La transmisión de GABA en el NVM del hipotálamo es necesaria para la expresión de lordosis en hembras (McCarthy et al., 1990; 1995). Se ha demostrado que los receptores de GABA tienen función dimórfica en el NVM; las corrientes de GABA son más rápidas en el NVM de hembras que en el de machos (Smith et al., 1996). También existe dimorfismo sexual en cuanto a la susceptibilidad de los receptores de GABA a moléculas de la familia de las benzodiazepinas, reduciendo la eficacia de GABA en el APO de ratas machos pero sin efectos fisiológicos en el APO de ratas hembras (Nett et al., 1999). Otros trabajos han demostrado la participación de los receptores del GABA en la diferenciación sexual del cerebro, constituyendo una vía de acción de los neuroesteroides (Rodríguez-Zafra et al., 1993; Segovia y Guillamón, 1996; Segovia et al., 1991).

Todo ello indica que en la especie humana, al igual que en el resto de mamíferos, existen morfologías y fisiologías cerebrales sexodimórficas, y que en algunas áreas el dimorfismo está relacionado con la conducta sexual. La alteración de estos patrones afecta a las características neurofisiológicas y como consecuencia a la conducta. Esto nos permite suponer que una de las causas de la transexualidad puede ser debida a una alteración de la diferenciación sexual del cerebro durante el desarrollo embrionario que hace que el cerebro del feto se impregne hormonalmente (acción organizadora) con una sexualidad distinta a la genital por lo que la transexualidad sería una condición independiente de la acción hormonal durante la edad adulta (Migeon y Wisniewski, 1998).

### ***1.7.1. Fenotipo cerebral en hombres y mujeres transexuales***

El fenotipo cerebral en transexuales ha sido descrito ampliamente, antes (Luders et al., 2009; 2012; Rametti et al., 2011a; 2011b; Savic y Arver, 2011; Zubiaurre-Elorza et al., 2013) y después del tratamiento hormonal de cambio de sexo (Zubiaurre-Elorza et al., 2014). Las personas FtM no tratadas hormonalmente presentan un grosor cortical (CTh) similar al grupo control de mujeres y mayor que el de varones, en las cortezas parietal y temporal. Respecto a las estructuras subcorticales, los sujetos FtM presentan un putamen derecho mayor que el de las mujeres control, pero no difieren del grupo control de varones (Zubiaurre-Elorza et al., 2013). A su vez los MtFs no tratados hormonalmente presenta un CTh que no difiere del grupo control femenino y es mayor que el del grupo control de varones en las regiones orbitofrontal, insular y occipital medial. Un mayor volumen en estas áreas refleja un CTh feminizado (Zubiaurre-Elorza et al., 2013; 2014). También

se ha demostrado que los transexuales MtF presentan mayor CTh que los varones control (Luders et al., 2012). En general, los análisis de volumen cortical parecen apuntar todos en la misma dirección (Savic y Arver, 2011) e implican generalmente el hemisferio derecho tanto en el grupo FtM como en el MtF (Rametti et al., 2011a; Zubiaurre-Elorza et al., 2013).

Por otro lado, después del tratamiento con testosterona, se ha demostrado un incremento de la CTh en los FtMs dependiente de los niveles de testosterona. El tratamiento con estrógenos y anti andrógenos en los MtFs está asociado a la disminución del CTh que consecuentemente induce un aumento del sistema ventricular (Zubiaurre-Elorza et al., 2014).

## **1.8. Vulnerabilidad genética de la transexualidad**

La existencia de una vulnerabilidad genética de la transexualidad gana apoyos a partir de los estudios de gemelos, los estudios de hermanos transexuales y los estudios de familias con más de un miembro transexual (Coolidge et al., 2002; Green, 2000a; 2000b; Green y Keverne, 2000; Heylens et al., 2012). Hasta el momento el análisis de esta posible base genética de la transexualidad ha consistido en el estudio molecular de ciertos polimorfismos genéticos presentes en el gen del receptor de andrógenos *AR*, el gen del receptor de estrógenos *ERβ*, el gen de la aromatasa *CYP19A1* (Hare et al., 2009; Henningson et al., 2005; Ujike et al., 2009) y el gen *CYP17A1* (Bentz et al., 2008).

Como ya hemos señalado, la diferenciación sexual del cerebro en mamíferos se encuentra influenciada por las hormonas sexuales y otras hormonas circulantes (Zuloaga et al., 2008). Así la exposición a la testosterona en las primeras etapas de la vida, masculiniza el cerebro en desarrollo, ocasionando cambios permanentes en el comportamiento, en una gran variedad de modelos animales (Morris et al., 2004).

Tradicionalmente se creía que la masculinización del cerebro de los roedores dependía de los receptores de estrógenos (ERs) y no del receptor de andrógenos (AR). De acuerdo con la hipótesis de la aromatización, la testosterona circulante de los testículos se convertía localmente en el cerebro, por la aromatasa, en estrógenos, activando de esta manera los receptores de estrógenos para masculinizar el cerebro (Naftolin et al., 1975). Sin embargo, un emergente cuerpo de evidencias indican que la hipótesis de la aromatización no puede explicar enteramente las diferencias en la morfología cerebral debidas al sexo, y que los andrógenos también juegan un

papel muy importante en la masculinización a edades tempranas del cerebro, a través de la activación de los receptores de andrógenos (Morris et al., 2004; Sato et al., 2004; Zuloaga et al., 2008).

En primates, incluyendo el hombre, la masculinización del cerebro se realiza por la vía de los andrógenos, actuando directamente sobre los receptores de andrógenos (Zuloaga et al., 2008). Las personas con insensibilidad completa a los andrógenos (CAIS) muestran un comportamiento femenino y morfología femeninas. Estas personas con síndrome de insensibilidad completa a los andrógenos tienen un cariotipo 46,XY y desarrollan testículos que permanecen en la cavidad abdominal sin descender. A pesar de producir niveles de testosterona entre normales y altos, estas personas presentan ARs no funcionales y son fenotípicamente mujeres (Imperato-McGinley et al., 1982). Su conducta femenina sugiere que los receptores AR son necesarios para la masculinización del cerebro humano. Por el contrario, los hombres con mutaciones disfuncionales de la aromatasa, *CYP19A1*, presentan un fenotipo masculino normal, a pesar de estar ausente la aromatización en su cerebro y en otros tejidos (Grumbach y Auchus, 1999).

Teniendo en consideración estas dos premisas, el comportamiento y morfología femenina de los individuos con CAIS y el comportamiento masculino de los individuos con aromatasa disfuncional, se puede concluir que la estimulación de los receptores de estrógenos y andrógenos parece jugar un papel importante en la masculinización del cerebro humano (Zuloaga et al., 2008).

Se han identificado dos subtipos de receptores de estrógenos, ER $\alpha$  y ER $\beta$  (Enmark y Gustafsson, 1999). La expresión del subtipo  $\beta$  es claramente mayor en determinadas regiones cerebrales (Osterlund y Hurd, 2001). Los ratones macho que no presentan un receptor ER $\beta$  funcional, muestran un cerebro y un comportamiento desfeminizado (Kudwa et al., 2005). El receptor de estrógenos  $\alpha$  está involucrado en la masculinización, mientras que el  $\beta$  tiene un papel fundamental en la desfeminización del comportamiento sexual (Kudwa et al., 2005).

Por otra parte, los estudios en animales han demostrado que la exposición prenatal a testosterona juega un papel primordial en la diferenciación sexual del sistema nervioso y de la conducta (Hines, 2006). La testosterona se une y activa los receptores de andrógenos (AR) y se convierte en estrógenos por el citocromo P450 aromatasa (*CYP19A1*) en el cerebro, y en consecuencia activa los receptores de estrógenos ER $\alpha$  y ER $\beta$ . Puede causar masculinización directamente por la activación del AR o indirectamente por la activación del ER (Kudwa et al., 2006; Sato et al., 2004).

El citocromo P450 aromatasas, *CYP19A1*, que es necesario para la conversión de andrógenos a estrógenos, juega también un papel importante en la diferenciación sexual del cerebro. En los seres humanos, el gen *CYP19A1* se expresa en múltiples áreas del cerebro, en particular en el neocórtex temporal y frontal, el hipocampo y el hipotálamo (Hayes et al., 2000; Stoffel-Wagner et al., 1999). Se cree que las diferencias en los niveles de estrógenos debidas al sexo, como resultado de la aromatización de los andrógenos, pueden explicar el dimorfismo sexual encontrado en el hipotálamo (Gorski, 1991).

Por tanto, los genes que codifican para el receptor de estrógenos (*ER*), el receptor de andrógenos (*AR*), y la aromatasas (*CYP19A1*), son genes candidatos razonables que pudieran estar implicados en la vulnerabilidad genética de la transexualidad. Estos tres genes contienen regiones polimórficas, bien en exones o bien en intrones, que pueden ser examinados mediante técnicas moleculares de análisis de ADN.

Los estudios previos realizados hasta el momento muestran resultados discordantes. Así, Henningsson y colaboradores en un análisis genético de 29 transexuales MtF procedentes del norte de Europa, encontraron diferencias significativas en el polimorfismo del gen *ERβ* pero no en los otros dos polimorfismos analizados, *AR* y *CYP19A1* (Henningsson et al., 2005). Hare y colaboradores en una población de 112 MtF de Australia y Los Ángeles (California) y 258 varones control también de Australia y Los Ángeles (California), encontraron una asociación entre el polimorfismo analizado del gen *AR* y la transexualidad, en el grupo MtF (Hare et al., 2009). Finalmente, Ujike y colaboradores en una población japonesa de 168 FtM y 74 MtF no encontraron ninguna asociación entre los polimorfismos analizados (*AR*, *ERα*, *ERβ*, *CYP19A1*, rs2008112, rs508653, V660L, H770H, rs572698 and PROGINS) y la transexualidad MtF o FtM (Ujike et al., 2009).

Posteriormente, en 2008, Bentz y colaboradores ampliaron la lista de genes implicados en la vulnerabilidad genética de la transexualidad con el gen *CYP17A1*, en un estudio de 102 MtF y 49 FtM caucásicos del norte de Europa. Los autores encontraron que ser portador del alelo mutado C (también denominado A2) estaba asociado a la transexualidad en el grupo FtM, pero no en el MtF. Bentz y colaboradores examinaron los modelos genéticos dominante, recesivo y de dosis génica, y los tres modelos confirmaban la asociación entre el alelo A2 y la transexualidad en el grupo FtM, pero no en el grupo MtF (Bentz et al., 2008).

### ***1.8.1. El gen ER***

#### GEN DEL RECEPTOR DE ESTRÓGENOS

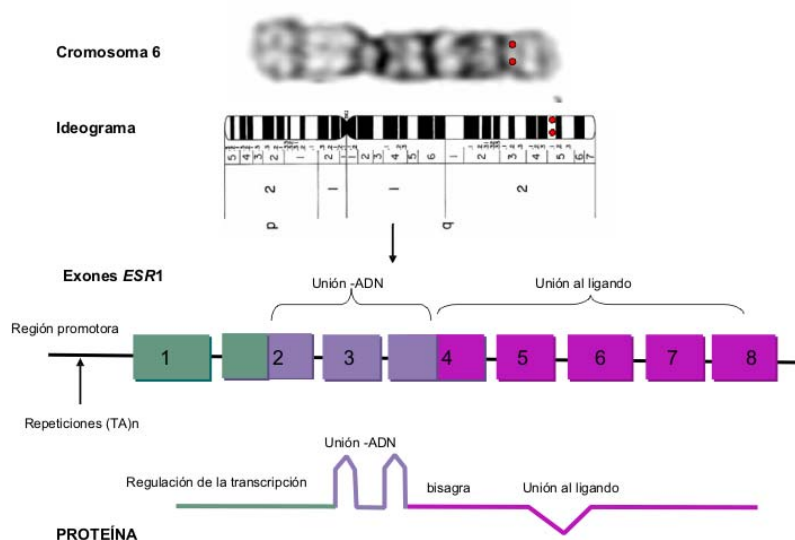
Los receptores de estrógenos tipo alfa o tipo 1 (ER $\alpha$  o ER1) y el beta o tipo 2 (ER $\beta$  o ER2) pertenecen a la superfamilia de los receptores nucleares (Beato y Klug, 2000; Evans, 1988) y están distribuidos de forma distinta en casi todos los tejidos del organismo, coincidiendo en algunos de ellos (Enmark y Gustafsson, 1999).

Por otra parte, los estrógenos parecen favorecer una mayor plasticidad en la morfología neuronal que tiene lugar a diferentes niveles estructurales, como la elongación de las neuritas en el desarrollo de neuronas dopaminérgicas (Topalli y Etgen, 2004) y aumento en la densidad de espinas dendríticas en neuronas de hipocampo adultas (Gould et al., 1990; Li et al., 2004; McEwen et al., 1999; Woolley y McEwen, 1993).

Aunque ER $\alpha$  y ER $\beta$  se comportan como reguladores de la transcripción (Couse y Korach, 1999; Klinge, 2000), se están describiendo continuamente nuevas funciones asociadas a la señalización rápida de los receptores, es decir, a la activación de rutas intracelulares de una manera independiente de expresión génica. La variedad de las respuestas que son capaces de inducir depende además del tipo de tejido (Varea Abbad, 2009).

Los trabajos que en la actualidad relacionan de una manera independiente las variantes genéticas ER $\alpha$  y ER $\beta$ , junto a las observaciones de los estudios de interacción, confirman el relevante papel que juegan ambos receptores en las enfermedades relacionadas con los estrógenos. Lo cual es lógico si pensamos que los niveles estrogénicos siguen un proceso de regulación muy fino, de manera que una pequeña alteración en cualquiera de sus receptores podría modificar el proceso de señalización y dar lugar a un fallo en su función metabólica (Varea Abbad, 2009).

El gen *ER $\alpha$*  se localiza en el brazo corto del cromosoma 6, en la región 6q25.1 (Figura 3). Está formado por 8 exones y 7 intrones, y en su estructura se han descrito varios lugares sobre los que se asientan distintos polimorfismos, los más importantes en las regiones promotoras, las que determinan el inicio de su transcripción. La mayoría de los estudios se han dirigido a tres polimorfismos: el *PvuII* (T397C), el *XbaI* (C351G) del intrón 1, y el VNTR (TA)<sub>n</sub> en la región promotora del gen (Figura 3).

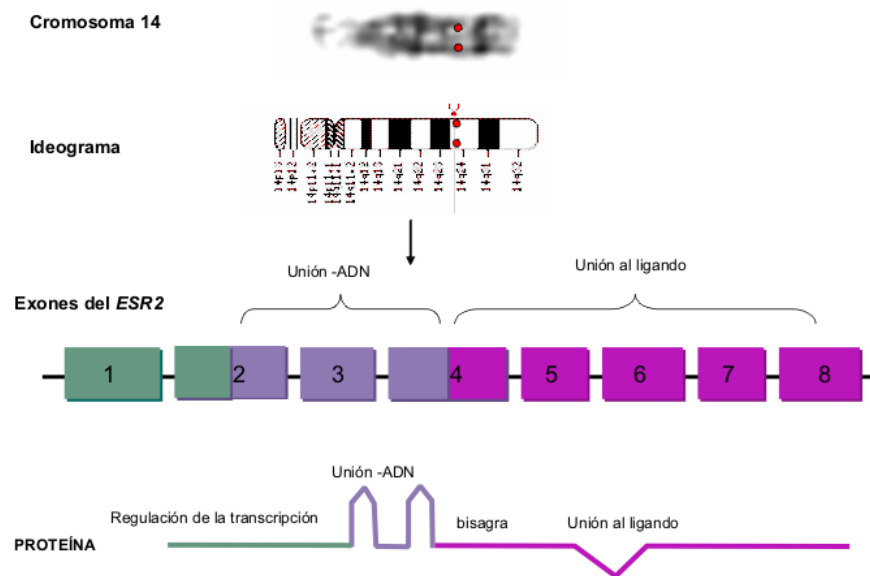


**Figura 3.** Esquema del gen *ERα*, la proteína y su localización en el cromosoma 6.

El gen *ERβ* en humanos se localiza en el cromosoma 14, en la región 14q23.2. Tiene 8 exones y su secuencia genómica comprende alrededor de 61,2 Kb (Figura 4). El primer polimorfismo en *ERβ* no fue caracterizado hasta 1998 en la población japonesa y consiste en una repetición dinucleótida (CA)<sub>n</sub> altamente polimórfica en el intrón 5 (IVS5-3919) (Tsukamoto et al., 1998) que ha sido ya asociado a la transexualidad MtF (Henningson et al., 2005), a alteraciones en la densidad ósea (Ogawa et al., 2000; Scariano et al., 2004) y al nivel de andrógenos en mujeres (Westberg et al., 2001).

Es importante destacar que en el cerebro los ER se encuentran en un gran número de áreas (Shughrue et al., 1997). Además de ser abundantes en hipotálamo, en donde regulan la liberación de hormonas principalmente relacionadas con funciones reproductoras, su expresión es elevada en cerebelo, hipocampo o corteza (González et al., 2007).

La expresión del subtipo  $\beta$  es mayor que la expresión del subtipo  $\alpha$  en diferentes áreas cerebrales (Osterlund y Hurd, 2001) y que ratones desprovistos de receptores *ERβ* muestran un desarrollo anormal del sistema nervioso central (Wang et al., 2001). El receptor *ERβ* se ha asociado también con procesos de guía neuronal en la generación de las diferentes capas que conforman la corteza cerebral (Wang et al., 2003).



**Figura 4.** Esquema del gen *ERβ*, la proteína y su localización en el cromosoma 14.

La expresión de *ERα* y *ERβ* se mantiene en el adulto aunque se han descrito variaciones en los niveles relativos de ambas isoformas en función del momento del desarrollo y de la región del SNC.

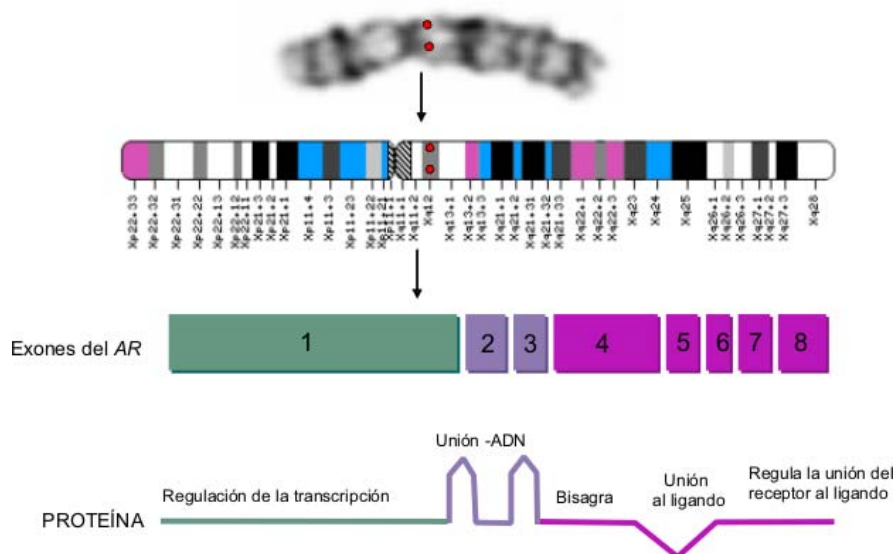
### 1.8.2. El gen *AR*

#### GEN DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS

La acción de los andrógenos, principalmente testosterona y 5-alfadihidrotestosterona, DHT, está mediada por el receptor de andrógenos (Brinkmann, 2011; Dehm y Tindall, 2007; Gelmann, 2002; Matsumoto et al., 2005; Xing et al., 2001; Zhu y Kyprianou, 2008). En humanos, el AR es un importante receptor de hormonas esteroideas que juega un papel crítico en la diferenciación sexual masculina, en el desarrollo y mantenimiento de los caracteres sexuales secundarios masculinos y el inicio y mantenimiento de la espermatogénesis (Eisermann et al., 2013; Holdcraft y Braun, 2004) Además está ampliamente distribuido por todo el cuerpo y también en el SNC (Westberg et al., 2009).

Este receptor es un factor de transcripción activado por ligando, que se activa mediante la unión de cualquiera de las hormonas androgénicas, testosterona o dihidrotestosterona (Roy et al., 1999). En humanos, el AR es una proteína de 110 kDa de 919 amino ácidos, codificada por el gen AR que se localiza en Xq11-12 (Brown et al., 1989) (Figura 5).

Este receptor proteico es un miembro de la familia de receptores nucleares (Zhou et al., 1994) que modulan una gran variedad de procesos desde la embriogénesis hasta la vida adulta (Avila et al., 2001). El AR funciona como un factor de transcripción dependiente de ligando que regula la expresión de una gran variedad de genes diana, que son muy importantes en el desarrollo de la pubertad y de la fertilidad del varón (Collins et al., 2003). La forma no ligada del AR es una proteína citoplasmática que se traslada al núcleo, y es en el núcleo, en unión con otros factores de transcripción y coactivadores, donde el AR regula la transcripción de genes diana que interactúan específicamente en múltiples procesos transcripcionales y post-transcripcionales (Hughes y Evans, 1987).



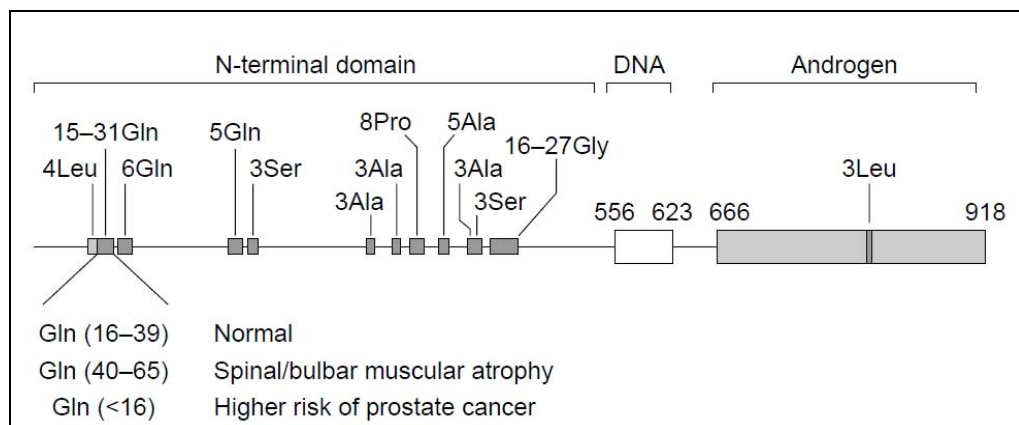
**Figura 5.** Esquema del gen AR, la proteína AR, y su localización en el cromosoma X.

El gen AR posee 8 exones (Chang et al., 1988; Lubahn et al., 1988) y numerosos dominios estructurales de funciones específicas del AR (Roy et al., 2001). Hasta la fecha se han descrito aproximadamente unas 1.000 mutaciones, la mayoría de ellas localizadas en los exones 5 y 7 (Eisermann et al., 2013) y relacionadas con la insensibilidad a los andrógenos (Brinkmann, 2001; Eisermann et al., 2013). Estas mutaciones pueden causar distintas anomalías fenotípicas del



desarrollo sexual masculino desde fenotipo femenino hasta des-virilización o infertilidad masculina (McPhaul et al., 1993; White et al., 1995).

En el exón 1, este gen presenta dos regiones altamente polimórficas (Choong y Wilson, 1998). Una región polimórfica (CAG)<sub>n</sub> que codifica un tramo de poliglutaminas, y otra región (GGC)<sub>n</sub> que codifica un tramo de poliglicinas (Chang et al., 1988; Lubahn et al., 1988; Tilley et al., 1989) (Figura 6). El número de repeticiones en hombres sanos varía entre 7–36 y 8–21 respectivamente (Choong y Wilson, 1998; Ferlin et al., 2004; 2005). Un número de repeticiones anormalmente alto (38-81 repeticiones) (Choong y Wilson, 1998) se relaciona con la atrofia muscular espinal y bulbar (SBMA) o enfermedad de Kennedy (La Spada et al., 1991; Nance, 1997). El número de repeticiones también está asociado a la raza. Así en EE.UU. la media del número de repeticiones se diferencia significativamente entre poblaciones Afro-Americanas (media: 20,11), Caucásicas (22,0) y Asio-americanas (22,4) (Coetzee y Ross, 1994).



**Figura 6.** Esquema de la estructura del AR humano, con los dominios N-terminal, dominio de unión al ADN y dominio de unión a los andrógenos. Se indica la posición y los diferentes tamaños de la región polimórfica (CAG)<sub>n</sub> que codifica un tramo de poliglutaminas y su relación con la atrofia muscular espinal y bulbar (SBMA) o enfermedad de Kennedy y el cáncer de próstata. De (Hiipakka y Liao, 1998).

El tamaño del microsatélite (CAG)<sub>n</sub> está inversamente relacionado con la actividad del gen AR como factor de transcripción (Choong et al., 1996; Irvine et al., 2000), de tal manera que un tamaño relativamente largo del microsatélite, dentro de un rango normal, origina una baja actividad del receptor de andrógenos y ha sido asociado con un bajo riesgo de padecer cáncer de próstata y un alto riesgo de infertilidad (Yong et al., 2000a; 2000b; 2000c). De manera inversa, un tamaño corto

del microsatélite incrementa la actividad del AR, permitiendo responder a bajas concentraciones de andrógenos (Choong et al., 1996; Irvine et al., 2000; Wang et al., 2004).

Desde que se descubrió la relación inversa entre el número de repeticiones CAG y la actividad del receptor de andrógenos, numerosos grupos han estudiado su hipotética implicación en enfermedades como cáncer, infertilidad masculina, densidad mineral de los huesos, Alzheimer, hipertensión, etc., y en diferentes rasgos de la personalidad (Edwards et al., 1999; Lehmann et al., 2003; Nielsen et al., 2010; Rajender et al., 2007; Westberg et al., 2009). Aunque en algunos casos, como el cáncer de próstata, los datos pueden ser contradictorios (Lindstrom et al., 2010; Price et al., 2010), se ha confirmado que tanto los niveles de estradiol como de testosterona se encuentran elevados en los varones con un mayor número de repeticiones (Huhtaniemi et al., 2009; Lindstrom et al., 2010).

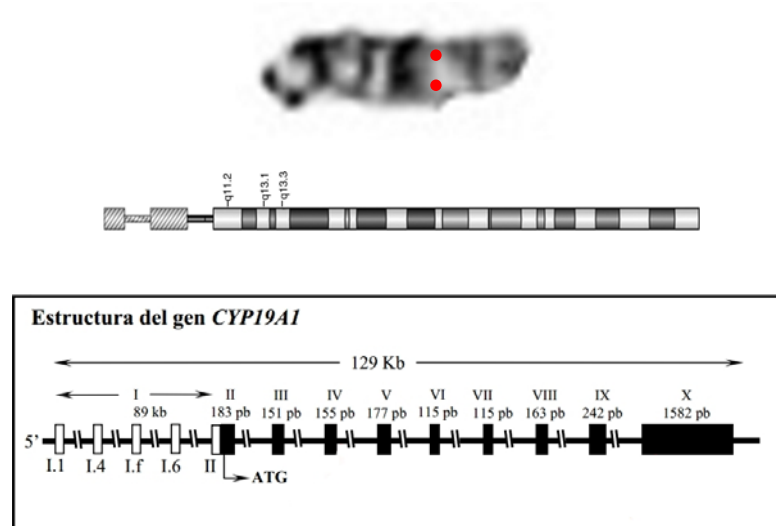
Diversos estudios (Crabbe et al., 2007; Krithivas et al., 1999), aunque no todos (Alevizaki et al., 2003; Van Pottelbergh et al., 2001; Walsh et al., 2005; Zitzmann et al., 2001), han demostrado que el número de repeticiones CAG se correlaciona directamente con los niveles séricos de testosterona, lo que indica que una actividad del AR más débil puede ser compensada con mayores niveles de andrógenos. Además, algunos (Alevizaki et al., 2003; Crabbe et al., 2007), pero no todos los estudios (Van Pottelbergh et al., 2001; Zitzmann et al., 2001) han documentado un aumento simultáneo en los niveles de estrógenos. Estos resultados discrepantes son, al menos en parte, debidos al pequeño tamaño de la muestra analizada, y también a diferencias poblacionales (Huhtaniemi et al., 2009).

Respecto a la transexualidad, la testosterona influye en la estructura y función del cerebro, tanto durante el desarrollo como en el individuo adulto, y es un factor clave para la diferenciación sexual de este órgano (Pfaff, 1966; Rubinow y Schmidt, 1996). Dada esta influencia, es razonable suponer que la testosterona puede estar implicada en la vulnerabilidad genética de la transexualidad. El primero en investigar este polimorfismo en un grupo de transexuales MtF fue el grupo de Henningsson (Henningsson et al., 2005). Posteriormente su investigación fue replicada en 2009 por Hare et al., (2009) y Ujike et al., (2009). En las investigaciones de los equipos de Hare y Henningsson se analizaron transexuales MtF mientras que la investigación de Ujike y colaboradores, la población analizada estaba constituida tanto por FtM como MtF.

### 1.8.3. El gen *CYP19A1*

#### AROMATASA

El citocromo P450 aromatasa es un complejo enzimático formado por dos proteínas: la NADPH-citocromo P450 reductasa y el citocromo P450 aromatasa. La P450 aromatasa está codificada por un único gen, el *CYP19A1*, localizado en el cromosoma 15q21.1 (Simpson et al., 1994); presenta diez exones, y origina una única proteína de 55 kDa (Chow et al., 2009) (Figura 7). Los genes de ambos componentes esenciales del complejo enzimático se encuentran altamente conservados entre mamíferos y vertebrados (Conley y Hinshelwood, 2001).



**Figura 7.** Esquema del gen *CYP19A1* y su localización en el cromosoma 14

En la mayoría de los vertebrados la expresión de la enzima aromatasa ocurre en gónadas y en cerebro. Sin embargo, en humanos, y en algunos primates superiores, la expresión de la P450Aro es más amplia, incluyendo placenta, gónadas, tejido adiposo, hueso, músculo liso vascular, cerebro y varios tejidos fetales incluyendo hígado, piel, intestino, testículo y ovario (Simpson et al., 1994). En los seres humanos, el gen *CYP19A1* se expresa además en múltiples áreas del cerebro, en particular el neocórtex temporal y frontal, el hipocampo, el hipotálamo y la amígdala (Hayes et al., 2000; Stoffel-Wagner et al., 1999).

Se han descrito 12 familias con deficiencia completa de la enzima P450Aro (Maffei et al., 2004) y dos familias con déficit parcial como consecuencia de mutaciones en el gen *CYP19A1* (Lin et al., 2007). Las alteraciones moleculares del gen *CYP19A1* descritas en asociación con una deficiencia completa de actividad de la enzima P450Aro, han contribuido al conocimiento de la relevancia de esta enzima durante la embriogénesis y vida postnatal en humanos.

El gen *CYP19A1* fue estudiado en relación con la transexualidad en el grupo MtF por primera vez en 2005 (Henningsson et al., 2005) encontrando relación con los genes *AR* y *ER*, pero no con *CYP19A1*. Posteriormente este estudio fue replicado por Hare y colaboradores (2009) y Ujike y colaboradores (2009). El polimorfismo que estudiaron los tres grupos de investigación fue el polimorfismo tetranucleótido (TTTA)<sub>n</sub> localizado en el cuarto intrón (Polymeropoulos et al., 1991) que comienza en el nucleótido 682 del gen *CYP19A1*.

Hay razones para creer que la longitud de las repeticiones (micro o minisatélite) influye en la transcripción y la traducción de un gen, también cuando la repetición se sitúa en un intrón (Comings, 1998). De hecho, estudios recientes han demostrado la relación entre variaciones en esta región polimórfica de la aromatasa y el cáncer de mama (Dunning et al., 1999) el cáncer endometrial (Berstein et al., 2001), la calidad del semen (Lazaros et al., 2012), etc.

Una de las teorías más influyentes sobre la ontogenia de la orientación sexual implica la acción de hormonas sexuales en el cerebro durante la gestación (Ellis y Ames, 1987; Swaab, 2004; 2007; 2008). Esta teoría se basa en la investigación con animales que señala que en muchas especies, el cerebro masculino se diferencia sexualmente bajo la influencia de las hormonas secretadas por los testículos fetales (Wilson et al., 1981). La presencia de andrógenos durante un período crítico masculiniza el cerebro y modula ya en la etapa fetal, la diferenciación sexual del comportamiento (Goy y McEwen, 1980). La masculinización del comportamiento en algunas especies depende de la aromatización de los andrógenos en estrógenos (Beyer et al., 1976; Hutchison, 1997; Lephart, 1996; Pinckard et al., 2000).

La actividad de la enzima aromatasa en la masculinización cerebral se ha observado en numerosas especies. Así está especialmente bien descrito, por ejemplo, en la codorniz japonesa (Balthazart et al., 1992), en los pinzones cebra (Adkins-Regan et al., 1997), en ratas (Arai, 1972; Luttge y Whalen, 1970) y carneros (Pinckard et al., 2000). En concreto en mamíferos la aromatización fetal de andrógenos a estrógenos juega un papel crítico en la masculinización del cerebro (Pilgrim y Reisert, 1992). En los seres humanos, el gen *CYP19A1* se expresa en múltiples áreas del cerebro, en

particular el neocórtex temporal y frontal, el hipocampo y el hipotálamo (Hayes et al., 2000; Stoffel-Wagner et al., 1999). Se cree que las diferencias entre sexos de los niveles de estrógenos como resultado de la aromatización de andrógenos puede explicar los dimorfismos sexuales que se encuentran en el hipotálamo (Gorski, 1991).

La enzima aromatasa es un factor limitante de la velocidad en la conversión de andrógenos a estrógenos, por tanto, es un gen candidato potencial implicado en la orientación sexual adulta (DuPree et al., 2004). Estudios con ratones *knockout* corroboran el papel de los estrógenos en el comportamiento sexual masculino. Los ratones deficientes en aromatasa, presentan una alteración grave de la conducta sexual (Bakker et al., 2002; Fisher et al., 1998; Honda et al., 1998).

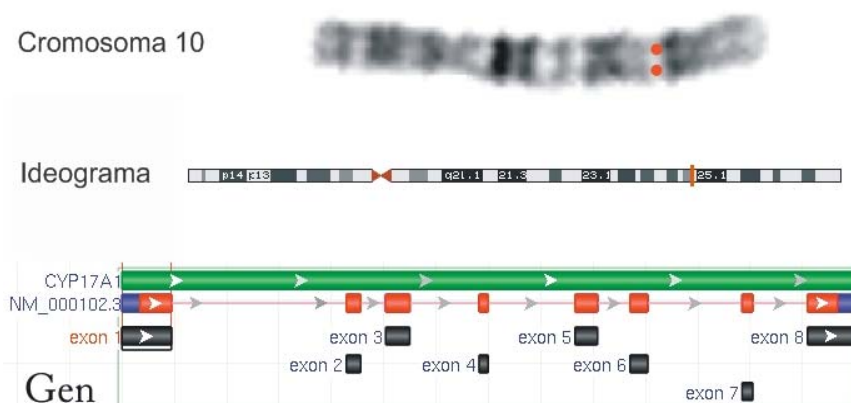
### ***1.8.4. El gen CYP17A1***

El gen *CYP17A1* codifica la enzima P450c17, también conocida como esteroide 17-alfa-monooxigenasa, que se encarga de catalizar dos reacciones enzimáticas: la 17 $\alpha$ -hidroxilación de la progesterona y pregnenolona, y la segmentación de la unión del carbono 17-20 a partir de la 17,20 liasa para producir dehidroepiandrosterona y androstenediona en la glándula suprarrenal y en gónadas. Estas funciones permiten a las glándulas suprarrenales y a las gónadas sintetizar glucocorticoides 17-alfa-hidroxilados (a través de la actividad 17 $\alpha$ -hidroxilasa) y esteroides sexuales (a través de la actividad de 17,20-liasa) (Chung et al., 1987; Kagimoto et al., 1988; Van Den Akker et al., 2002).

En 1987 se aislaron varios ADNc adrenales humanos correspondientes al gen *CYP17A1* (Chung et al., 1987). Este gen contiene 8 exones y se expresa tanto en la corteza adrenal como en las gónadas, pero no en la placenta ni en las células de la granulosa (Picado-Leonard y Miller, 1987). Kagimoto y colaboradores informaron de la estructura de exones del gen, así como de las secuencias en los límites exón/intrón en el sitio de iniciación de la transcripción (Kagimoto et al., 1988) (Figura 8).

En la actualidad, y desde la clonación del gen *CYP17A1*, se han descrito aproximadamente 50 mutaciones diferentes (Costa-Santos et al., 2004; Ergun-Longmire et al., 2006; Kagimoto et al., 1988; 1989). Este gen se localiza en el brazo largo del cromosoma 10 (Sparkes et al., 1991) concretamente en 10q24.32, según la técnica de Hibridación *in situ* fluorescente (Fan et al., 1992).

Se describieron catorce familias en las que el síndrome de ovario poliquístico (PCO) y el patrón de calvicie masculina prematura (MPB) segregaban de forma autosómica dominante (Carey et al., 1993). Al año siguiente, a partir del estudio de 81 individuos caucásicos afectados pertenecientes a esas catorce familias, se identificó la mutación puntual T>C (alelos A1 y A2, respectivamente) en la región promotora 5' del gen *CYP17A1*, en la posición 5.139 (Carey et al., 1994). Esta mutación generaba un aumento en la expresión del gen y provocaba altos niveles de estradiol, progesterona y testosterona, en plasma y suero (Feigelson et al., 1998). Dentro de las catorce familias con PCO, los miembros con ovarios poliquísticos o calvicie de patrón masculino, presentaban una asociación significativa con la presencia del alelo A2.



**Figura 8.** Esquema del gen *CYP17A1* y su localización en 10q24.32

Este polimorfismo de un solo nucleótido, también llamado rs743572, crea una caja CCACC adicional en la región promotora que se cree que causa un aumento de la expresión de dicho gen (Feigelson et al., 1998). Además, el cambio de base T (timina) por C (citosina) crea un lugar de reconocimiento para la enzima de restricción *MspA1* lo que proporciona un método sencillo de análisis.

El descubrimiento de que el gen *CYP17A1* es polimórfico originó numerosas investigaciones sobre el papel de estas variaciones en la etiología de múltiples enfermedades y condiciones (susceptibilidad en el cáncer de mama, en el cáncer de próstata, endometriosis, acné severo, etc.) en las que los estrógenos y andrógenos juegan un papel importante (Sharp et al., 2004).

En 2008, Bentz y colaboradores incluyeron el gen *CYP17A1* en la lista de posibles genes implicados en la vulnerabilidad genética de la transexualidad (Bentz et al., 2008). El trabajo fue realizado en una población caucásica transexual del norte de Europa (Austria) formada por 102 MtF y 49 FtM, encontrando que el alelo A2 estaba asociado a la transexualidad en la población FtM, pero no en la MtF. Encontraron además que la distribución de las frecuencias alélicas para el polimorfismo *CYP17 MspA1* era dependiente del sexo tanto en el grupo transexual como control, a pesar de que el gen *CYP17A1* se localiza en el cromosoma 10, no en el cromosoma X, por lo que se podría esperar que hombres y mujeres presentasen una distribución alélica no dependiente del sexo (Denschlag et al., 2006; Young et al., 1999).





## **2.OBJETIVOS**

---



## OBJETIVOS

---

El objetivo general de esta investigación fue analizar la vulnerabilidad genética de la transexualidad en un grupo de transexuales FtM (*female to male*) y MtF (*male to female*) residentes en España. Para ello se realizó el estudio citogenético del cariotipo y el análisis molecular de cuatro regiones polimórficas: la repeticiones (CA)<sub>n</sub> en el intrón 5 del gen *ERβ*, las repeticiones (CAG)<sub>n</sub> en el exón 1 del gen *AR*, las repeticiones (TTTA)<sub>n</sub> en el intrón 4 del gen *CYP19A1* y el polimorfismo *CYP17 MspA1* (rs743572) en el gen *CYP17A1*.

La frecuencia de estos polimorfismos en la población general es más elevada que la de la transexualidad, por tanto el objetivo de este estudio no es revelar la causa primera de la transexualidad, sino aclarar si estos polimorfismos genéticos están o no involucrados en la base genética de la transexualidad. Para ello se plantearon los siguientes objetivos:

### **PRIMER ESTUDIO:**

*Objetivo general:* Determinar si existe una alteración citogenética específica de la transexualidad.

*Objetivos específicos:*

1. Analizar mediante bandas G el cariotipo de una población transexual FtM y MtF, residente en España.
2. Contrastar la prevalencia de la aneuploidía en la población transexual residente en España con la prevalencia de la aneuploidía en la población general
3. Contrastar nuestros resultados con los obtenidos en las principales investigaciones realizadas hasta el momento

### **SEGUNDO ESTUDIO:**

*Objetivo general:* Analizar la implicación de los polimorfismos de los genes *ERβ*, *AR* y *CYP19A1*, en la vulnerabilidad genética de la transexualidad en el grupo FtM.

*Objetivos específicos:*

1. Analizar las frecuencias alélicas y genotípicas de los tres polimorfismos (*ERβ*, *AR* y *CYP19A1*) en la población FtM y control femenina.
2. Comparar los resultados obtenidos con las principales investigaciones realizadas hasta el momento.

### **TERCER ESTUDIO:**

*Objetivo general:* Analizar la implicación de los polimorfismos de los genes *ERβ*, *AR* y *CYP19A1*, en la vulnerabilidad genética de la transexualidad en el grupo MtF.

*Objetivos específicos:*

1. Analizar las frecuencias alélicas y genotípicas de los tres polimorfismos (*ERβ*, *AR* y *CYP19A1*) en la población MtF y control masculina.
2. Comparar los resultados obtenidos con las principales investigaciones realizadas hasta el momento

### **CUARTO ESTUDIO:**

*Objetivo general:* Analizar conjuntamente los polimorfismos de los genes *ERβ*, *AR* y *CYP19A1*, en la población transexual.

*Objetivos específicos:*

1. Analizar de un modo global los resultados obtenidos en ambos grupos de transexuales.
2. Comparar los resultados obtenidos con las principales investigaciones realizadas hasta el momento

### **QUINTO ESTUDIO:**

*Objetivo general:* Analizar la implicación del polimorfismo *CYP17 MspA1* (rs743572) en la vulnerabilidad genética de la transexualidad.

*Objetivos específicos:*

1. Analizar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo *CYP17 MspA1* en la población transexual (FtM y MtF) respecto a los grupos control (femenino y masculino).
2. Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo *CYP17 MspA1* en la población general española y en la población general mundial, a través de la base de datos *1000 Genomes*.
3. Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo *CYP17 MspA1* en la población general mundial, según sexo, país y etnia, a través de una búsqueda bibliográfica en Medline.
4. Contrastar los resultados obtenidos respecto a las principales investigaciones realizadas hasta el momento.

## 3. RESULTADOS

---



**PRIMER ESTUDIO:**

**A cytogenetic analysis of the karyotype in a transsexual population**

**Brief Communication**

(Manuscript submitted to *J Sex Med*)

Rosa Fernández<sup>1</sup>, Teresa Rumbo<sup>1</sup>, Joselyn Cortés-Cortés<sup>1</sup>, Isabel Esteva<sup>2</sup>, Esther Gómez-Gil<sup>3</sup>, Mari Cruz Almaraz<sup>2</sup>, Juan-Jesús Haro-Mora<sup>2</sup>, Ester Roda<sup>3</sup>, Antonio Guillamón<sup>4</sup>, Eduardo Pásaro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Psicología, Área Psicobiología, UDC. A Coruña, Spain.

<sup>2</sup> Unidad de Transexualidad e Identidad de Género, Hospital Carlos Haya, Málaga, Spain.

<sup>3</sup> Unidad de Identidad de Género, Hospital Clinic, Barcelona, Spain.

<sup>4</sup> Departamento de Psicobiología, UNED, Madrid, Spain

**Keywords:** Chromosomal abnormalities, karyotype, Klinefelter syndrome, transsexualism

**Running title:** A cytogenetic analysis of transsexualism

## Brief Communication

### ABSTRACT

*Introduction.* Transsexualism is an extreme form of gender identity disorder (GID), characterized by the conviction of having been born in the wrong body. Male-to-female (MtF) and female-to-male (FtM) transsexuals are characterized by persistent other-sex identification and uneasiness with their assigned gender.

*Aim.* To investigate the possible influence of karyotype on the etiology of transsexualism.

*Methods.* We carried out a cytogenetic analysis of the karyotype in 442 MtF and 273 FtM using G-banding.

*Results.* Nine MtFs (2.04%) and eight FtMs (2.93%) showed some alteration of the karyotype (small pericentromeric inversions, translocations or Klinefelter syndrome), but we were unable to find any karyotype alteration specific to transsexualism. In accordance with previous publications, our data show a slightly higher incidence of chromosomal abnormalities in the transsexual population (2.4%) than in the general population (0.53%) ( $P = 1E-06$ ). The prevalence of Klinefelter syndrome among MtFs (0.68%) is significantly higher than in the general population ( $P = 0.022031$ ). Finally, the percentage of abnormal karyotypes found in MtF (2.04%) is lower than in the FtM (2.93%), but the difference was not significant ( $P = 0.460194$ ).

*Conclusions.* The analysis did not allow us to identify any karyotype alteration specific to transsexualism but our data do confirm that aneuploidy is significantly more frequent than in the general population. The prevalence of Klinefelter syndrome is significantly higher than expected.

**Keywords:** Chromosomal abnormalities, karyotype, Klinefelter syndrome, transsexualism

**Running title:** A cytogenetic analysis of transsexualism



## **Introduction**

Transsexualism is the most extreme form of gender dysphoria, which means that an individual with an apparently normal sexual differentiation has the unalterable conviction that he or she is a member of the opposite sex. The diagnosis is based on formal psychiatric classification criteria. However, the biology of transsexualism remains blurred.

## **Method**

### **Subjects**

The subjects comprised 442 male-to-female (MtF) and 273 female-to-male (FtM). Subjects were selected through both the Andalusian Gender Identity Unit (Carlos Haya Hospital of Málaga) and the Gender Identity Unit of Catalonia (Clínic Hospital of Barcelona).

The diagnoses were made using the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition, revised text) [1] and the International Classification of Diseases-10 [2]. We excluded patients with major psychiatric illnesses such as schizophrenia or bipolar disorders. All patients received medical examinations by an endocrinologist to rule out any anomaly of the external genitalia and internal sex organs.

The study was initiated after obtaining approval from the Ethics Committees of the University of A Coruña, Clínic Hospital (Barcelona), and Carlos Haya Hospital (Málaga). We drafted a protocol and obtained written, informed consent from each of the participants in the study

### **Cytogenetic Analyses**

Chromosomes were obtained according to standard techniques from peripheral blood and treated with trypsin to obtain G-banding [3, 4].

### **Data Analysis**

Data were analyzed using SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Fisher's exact test was used to compare the prevalence of karyotypes. Statistical significance was interpreted as  $P < 0.050$ .

## Results

Seven hundred and fifteen karyotypes were determined (Table 1). The ratio of MtF vs. FtM was 1.62. In 97.62% we found normal karyotypes. There were 433 MtF with a 46,XY karyotype and 265 FtM with a 46,XX karyotype. The prevalence of karyotype aberrations was 2.04% among MtF, and 2.93% among FtM. Table 1 shows all detected karyotypes.

**Table 1**

*Analysis of the karyotype in MtF and FtM populations*

<b>Karyotype</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Karyotype available	715	100%
Unremarkable karyotype	698	97.62%
47,XXY	3	0.42%
46,XY,Yqh-	2	0.28%
inv(12)(p11;q21)	2	0.28%
inv(9)(p11;q12)	5	0.70%
inv(2)(p11;q13)	3	0.42%
45,XY,t(13q;14q)	1	0.14%
45,XY,t(9;22)/46,XY	1	0.14%
<b>Total</b>	<b>17</b>	<b>2.38%</b>

Three MtF were confirmed with Klinefelter syndrome. Two karyotypes had a deletion of the Y-heterochromatic region. Ten pericentromeric inversions were also found: Two pericentromeric inversions of chromosome 12, five pericentromeric inversions of chromosome 9 and three pericentromeric inversions of chromosome 2. There were two Robertsonian translocations: one between chromosomes 13 and 14, and one between chromosomes 9 and 22.

## Discussion

We report a cytogenetic analysis of the karyotype from the largest transsexual group to date. A frequency of 2.4% of karyotype abnormalities was found. The frequency of chromosomal aberrations reported in the general population is significantly lower ( $P = 1E-06$ ): Maeda et al., [5] found a prevalence of 0.53% in a series of 14,835 live-born infants.

Interestingly, the prevalence that was found in the current study appears to be quite similar to those previously reported [6-9]. Bearman reported a frequency of 2.5% of altered karyotypes in a

population of 400 transsexual people. Inoubli et al., reported a frequency of 2.04% for karyotype abnormalities in a population of 368 transsexuals. Auer et al., found an overall chromosomal abnormality rate of 1.5% (2.9% in the FtM and 0.6% in the MtF group) in a population of 270 subjects (165 MtF/105 FtM). Kevan et al., found one Klinefelter syndrome with mosaicism in a population of 52 transsexual individuals, whereas Hengstschläger et al., observed one balanced translocation in a group of 61 transsexuals.

In our study, three MtF individuals were diagnosed with Klinefelter syndrome, corresponding to a prevalence of 0.68% among MtFs, so the prevalence is significantly higher than expected from that the general population ( $P = 0.022031$ ). Maeda et al., [5] reported eight diagnoses of Klinefelter syndrome in their study, reflecting a frequency of 0.12% in the general population. The implications of this are not understood.

Finally, the percentage of abnormal karyotypes found in MtF (2.04%) seemed lower than in the FtMs (2.93%), but the difference was not significant ( $P = 0.460194$ ).

### **Conclusions**

No cytogenetic alteration can be linked to transsexualism, but the prevalence occurs at statistically higher rates than in the general population. The principal studies of transsexualism report the same level, but the cause is unknown. The prevalence of Klinefelter syndrome among MtFs is also significantly higher than in the general population.

Our data show that karyotyping gives only very limited information in the transsexual population. Accumulating evidence indicates a genetic, but not cytogenetic, basis for transsexualism, and genes may be linked to vulnerability, rather than be deterministic.

## References

- 1 American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4th edition. Washington, DC: DSM-IV-TR; 2000.
- 2 World Health Organization (WHO). The ICD-10. Classification of mental and behavioural disorders. Geneva: Diagnostic Criteria for Research; 1993.
- 3 Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960;20:613–6.
- 4 Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 1971;2:971–2.
- 5 Maeda T, Ohno M, Matsunobu A, Yoshihara K, Yabe N. A cytogenetic survey of 14,835 consecutive liveborns. *Jinrui Idengaku Zasshi* 1991;36(1):117-129.
- 6 Inoubli A, De Cuypere G, Rubens R, Heylens G, Elaut E, Van Caenegem E, Menten B, T'Sjoen G. Karyotyping, is it worthwhile in transsexualism? *J Sex Med* 2011;8(2):475-478.
- 7 Kevan R, Wylie DS. A Consecutive Series of 52 Transsexual People Presenting for Assessment and Chromosomal Analysis at a Gender Identity Clinic. *Int J Transgend* 2008;10(3-4):147-148.
- 8 Hengstschlager M, van Trotsenburg M, Repa C, Marton E, Huber JC, Bernaschek G. Sex chromosome aberrations and transsexualism. *Fertil Steril* 2003;79(3):639-640.
- 9 Bearman G. Karyotyping and genetics in the transgendered population. In: Ettner R, Monstrey S, Eyler AE, eds. *Principles of transgender medicine and surgery*. New York: Haworth Press. 2007.

**SEGUNDO ESTUDIO:**

**The (CA)<sub>n</sub> Polymorphism of *ERβ* Gene is Associated with FtM Transsexualism**

Rosa Fernández<sup>1</sup>, Isabel Esteva<sup>2</sup>, Esther Gómez-Gil<sup>3</sup>, Teresa Rumbo<sup>1</sup>, Mari Cruz Almaraz<sup>2</sup>, Ester Roda<sup>3</sup>, Juan-Jesús Haro-Mora<sup>2</sup>, Antonio Guillamón<sup>4</sup>, Eduardo Pásaro<sup>1</sup>

*(J Sex Med. 2014 Mar;11(3):720-8. doi: 10.1111/jsm.12398. Epub 2013 Nov 26)*

<sup>1</sup> Departamento de Psicología, Área Psicobiología, UDC. A Coruña, Spain.

<sup>2</sup> Unidad de Transexualidad e Identidad de Género, Hospital Carlos Haya, Málaga, Spain.

<sup>3</sup> Unidad de Identidad de Género, Hospital Clinic, Barcelona, Spain.

<sup>4</sup> Departamento de Psicobiología, UNED, Madrid, Spain

**Keywords:** Androgen Receptor; Aromatase; Estrogen Receptor; Gender Identity Disorder; Genetic Causes of Gender Identity Disorder; Transsexualism

**Running title:** Genetic Association Study of Female-to-Male Transsexualism

## ABSTRACT

*Introduction.* Transsexualism is a gender identity disorder with a multifactorial etiology. Neurodevelopmental processes and genetic factors seem to be implicated.

*Aim.* The aim of this study was to investigate the possible influence of the sex hormone-related genes *ERβ* (estrogen receptor β), *AR* (androgen receptor), and *CYP19A1* (aromatase) in the etiology of female-to-male (FtM) transsexualism.

*Methods.* In 273 FtMs and 371 control females, we carried out a molecular analysis of three variable regions: the CA repeats in intron 5 of *ERβ*; the CAG repeats in exon 1 of *AR*, and the TTTA repeats in intron 4 of *CYP19A1*.

*Main Outcome Measures.* We investigated the possible influence of genotype on transsexualism by performing a molecular analysis of the variable regions of genes *ERβ*, *AR*, and *CYP19A1* in 644 individuals (FtMs and control females).

*Results.* FtMs differed significantly from control group with respect to the median repeat length polymorphism *ERβ* ( $p = 0.002$ ) but not with respect to the length of the other two studied polymorphisms. The repeat numbers in *ERβ* were significantly higher in FtMs than in control group, and the likelihood of developing transsexualism was higher (odds ratio: 2.001 [1.15–3.46]) in the subjects with the genotype homozygous for long alleles.

*Conclusions.* There is an association between the *ERβ* gene and FtM transsexualism. Our data support the finding that *ERβ* function is directly proportional to the size of the analyzed polymorphism, so a greater number of repeats implies greater transcription activation, possibly by increasing the function of the complex hormone *ERβ* receptor and thereby encouraging less feminization or a defeminization of the female brain and behavior.

## Introduction

Female-to-male (FtM) transsexualism is characterized by persistent male identification and uneasiness with their assigned gender [1]. It is not possible to identify a single cause for transsexualism; rather, its origin seems to be multifactorial [2–5]. Recently, several studies have suggested that transsexualism might be associated with neurodevelopmental processes of the brain [6–11], while others imply the involvement of genetic factors [12–16].

Postmortem brain studies have shown that the volume and the number of neurons of the central part of the bed nucleus of the stria terminalis and the third interstitial nucleus of the anterior hypothalamus (INAH3) are feminized in male-to female transsexuals (MtFs) [6,17]. A similar pattern was reported in the INAH3 of FtMs [18].

Recently, the gray and white matter regions of the brain of FtMs were studied before and after crosssex hormonal treatment. The white matter microstructure pattern in untreated FtMs was closer to males than to females; before testosterone treatment, they presented a female phenotype with a masculine and/or defeminized profile in brain bundles that are related to complex cognitive function [19]. Only these bundles respond to androgenization, and they do so in the way that males respond [20]. In relation to the gray matter, untreated FtMs showed evidence of subcortical gray matter masculinization; they presented a masculinization of their right putamen. However, their cortical thickness did not differ from control females but it was greater than in males in the parietal and frontal cortices [7]. Luders et al., [10] analyzed magnetic resonance imaging (MRI) data of 24 MtFs not yet treated with cross-sex hormones to determine whether gray matter volumes in MtFs more closely resemble people who share their biological sex or people who share their gender identity. The results revealed that regional gray matter variation in MtFs is more similar to the pattern found in men than in women.

However, MtFs show a significantly larger volumen of regional gray matter in the right putamen compared with men. These findings provide new evidence that transsexualism is associated with a distinct cerebral pattern, which supports the assumption that brain anatomy plays a role in gender identity [10].

The involvement of genetic factors in transsexualism has come mainly from familial studies [21,22], familial cases of twins being concordant for transsexualism [12,23], and from molecular genetic studies of certain polymorphisms of androgen and estrogen system genes [13–15,24,25].

The androgen receptor (AR) is implicated in the differentiation of the cortical cortex. The possession of an allele with a smaller number of CAG repeats confers more efficient functioning of the receptor and is associated with “masculinization” of the cortex in adolescence [26].

For the estrogen receptor (ER), two subtypes, the alpha ER $\alpha$  and beta ER $\beta$ , have been identified [27]. Expression of the beta subtype is clearly higher in several brain regions [28], and male mice lacking functional ER $\beta$  have an incompletely defeminized brain and behavior [29]. ER $\alpha$  is primarily involved in masculinization, while ER $\beta$  has a major role in defeminization of sexual behaviors [29].

Moreover, animal studies have clearly demonstrated that prenatal exposure to testosterone plays a primary role in neural and behavioral sexual differentiation [30]. Testosterone binds to and activates ARs and is converted to estrogen by aromatase (CYP19A1) in the brain, and consequently activates the central ER $\alpha$  and ER $\beta$ . It may cause masculinization directly by activation of AR or indirectly by activation of ERs [31,32]. Hence, the genes coding for the ER $\beta$ , AR, and CYP19A1 are reasonable candidates in the quest for genes that may influence the likelihood of developing transsexualism.

Previous studies analyzing these genes have found discordant results [13–15]. In a work with 29 FtMs, Henningsson et al., found that FtMs differed from controls with respect to the median length of the ER $\beta$  repeat polymorphism but not with respect to the length of the other two studied polymorphisms.

Hare et al., in 112 MtFs, have found a significant association between longer *AR* gene polymorphisms and transsexualism. Finally, Ujike et al., in a study performed on 168 FtMs and 74 MtFs, found no significant differences.

The aim of our study was to investigate the possible influence of the sex hormone-related genes *ER $\beta$* , *AR*, and *CYP19A1* in the etiology of transsexualism by performing a molecular analysis of the variable regions of these genes in 273 FtMs and 371 control females.



## Method

### Subjects

The subjects comprised 273 FtMs and 371 age and geographical origin-matched control females. The selection of FtMs was conducted through both the Andalusian Gender Identity Unit (Carlos Haya Hospital of Málaga) and the Gender Identity Units of Catalonia (Clínic Hospital of Barcelona).

The diagnoses were made using the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition, text revised) (American Psychiatric Association, 2000) and the International Classification of Diseases-10 criteria [33–35]. We excluded patients with major psychiatric illnesses such as schizophrenia or bipolar disorders. All patients received medical examinations by an endocrinologist to rule out the anomaly of the external genitalia and internal sex organs.

All participants were characterized by early onset gender nonconformity (before puberty), erotic attraction to females, right-handedness in writing, and good physical health. Participants had no endocrine, neurological, or major psychiatric comorbidity.

Sociodemographic, clinical, and psychiatric data that included any family background of transsexuality were completed for all patients as part of similar standard clinical assessments at both clinics [36–38].

The control group consisted of a random group of individuals from a Spanish population, previously used in metabolic and genetic studies, age and sex adjusted with the FtM group [39,40]. They were free of any neurological, systemic, or psychiatric illness, as verified by a detailed interview. An inclusion criterion for all participants was to be free of psychotropic medication and/or illegal drug use. The study only included heterosexual controls.

The study was initiated after obtaining approval from the Ethics Committees of the University of A Coruña, Clínic Hospital (Barcelona), and Carlos Haya Hospital (Málaga). We drafted a protocol and obtained written, informed consent from each of the participants in the study.

## Genetic Analysis

### *Cytogenetic Analyses*

Peripheral blood samples were extracted for cytological and molecular analyses. Chromosomes were prepared according to standard techniques from peripheral blood, [41] and the preparations were treated with trypsin to obtain G-banding [42]. Patients with chromosomal aberrations like translocations, inversions, or Chromosome number aberration were discarded.

### *Genotype Assessment by High-Density (HD) Array*

Genomic DNA was extracted using the DNeasy Blood & Tissue Kit from Qiagen (Madrid, Spain). The genome-wide DNA copy number analyses were performed with CytoScan™ HD Array (Affymetrix, Madrid, Spain) in accordance with the manufacturer's instructions.

### *Molecular Analyses*

The polymorphic regions were amplified by polymerase chain reaction following the protocol outlined in Table 1. All genotyping was performed in a blinded fashion, and in triplicate in case of failure reactions. Finally, the fragments were analyzed by automated capillary electrophoresis 3130 XL Genetic Analyzer from Applied Biosystems (Madrid, Spain).

**Table 1**

*Description of the polymorphic regions analyzed*

Gene	Position	Tandem repeat	Primers	Conditions of amplification
<i>ERβ</i>	14q22–24	CA intrón 5	5'-AACAAAATGTTGAATGAGTGGG-3' 5'-GGTAAACCATGGTCTGTACC-3' FAM	35 cycles: 92°C 40 seconds 57°C 40 seconds 72°C 40 seconds 72°C 10 minutes
<i>AR</i>	Xq11–12	CAG exon 1	5'-GTTCTCATCCAGGACCAGGTA-3' 5'-GTGCGCGAAGTGATCCAGA-3' HEX	35 cycles: 92°C 1 minute 56°C 1 minute 72°C 1 minute 72°C 10 minutes
<i>CYP19A1</i>	15q21	TTTA intron 4	5'-TTACAGTGAGCCAAGGTCGT-3' 5'-GCAGGTACTTAGTTAGCTAC-3' NED	35 cycles: 92°C 1 minute 58°C 1 minute 72°C 1 minute 72°C 10 minutes

### Statistical Analysis

Independent samples were analyzed by taking the medians of Mann–Whitney U and chi-square tests, using the median length of the two alleles, short (S) and long (L). To calculate the cutoff point to differentiate between S and L alleles, we took into account the median of the polymorphisms of individual genes.

Analyses were performed using SPSS 17.0 software (SPSS, Chicago, IL, USA). A  $p$  value  $\leq 0.05$  was considered significant. Interactions between the three polymorphisms were evaluated using a binary logistic regression model.

### Results

The analysis by HD arrays allowed us to examine the karyotype at the molecular level. Eleven patients from the FtM group were excluded for small pericentromeric inversions or translocations. We were unable to find any karyotype alteration specific to the FtM transsexualism because genetic variants found in the FtM group also appeared in control females, and therefore are not considered variations with clinical significance.

With respect to the analysis of polymorphisms, the FtM group showed 16 alleles for *ERβ* (Figure 1A), in a range of repeats between 19–35 (>90% alleles have 22 to 30 CA repeats); 19 different alleles for the *AR* gene (Figure 1B), the number of repeats extending between 7 and 28 (>90% alleles have 16–24 CAG repeats); and 11 alleles for the *CYP19A1* gene (Figure 1C) and 4–15 repeats with a characteristic “U” distribution.

In the control female group, the molecular analysis showed 14 alleles for the *ERβ* gene extending between 18 and 30 repeats (Figure 1A), the *AR* gene showed 15 alleles between 12 and 26 repeats (Figure 1B), and the gene *CYP19A1* showed 10 alleles between 4 and 14 repeats (Figure 1C) with the same characteristic “U” distribution. The percentages of each allele are shown in Figure 1.

Significant differences were found only in the *ERβ* gene when we compared the number of repeats in both populations, with a higher value in the FtM group. The  $p$  value obtained in the Mann–Whitney U-test was 0.002 (Table 2).

To calculate the allele frequencies, we differentiated between S and L alleles, taking into account the median of the polymorphisms for individual genes. So for the *ERβ* gene, the difference between S and L alleles remained at 26 repeats, for the *AR* gene at 19 repeats, and for *CYP19A1* at 8 repeats (Table 3). After this separation, no significant differences were found in the distribution of L and S alleles for *AR* or *CYP19A1*, but they were significant for the *ERβ* gene ( $p = 0.001$  for the chi-square test) (Table 3). The odds ratio (OR) data for the allele frequency show significant values for the L allele vs. the S: OR = 1.508 with confidence intervals at 95% (1.777–1.911).

In a second step, the lengths of the three polymorphisms were subclassified to obtain genotype frequencies. The genotypes were determined as SS, LL, and heterozygous SL (Table 4). The data showed a significant association between the phenotype and the *ERβ* gene,  $p = 0.001$ , for the chi-square test. For all other variables, no significant association was established (Table 4).

The OR data indicate a significant association only for the genotype LL vs. SS: OR = 2.001 with confidence intervals at 95% (1.154–3.464), establishing that the probability of the FtM transsexualism is greater for the genotype LL compared with SS.

Finally, we applied a binary logistic regression model. The three variables and all the possible interactions among them were included in the model. We used the Wald statistic to evaluate the significance of the model coefficients (Table 5).

The model fits the data based on the values of  $-2LL$  (701.761) and Cox-Snell  $R^2$  (0.095) and Nagelkerke (0.129). None of these interactions were statistically significant.

## Discussion

We investigated the possible influence of the sex hormone-related genes *ERβ*, *AR*, and *CYP19A1* on the etiology of FtM transsexualism by performing a molecular analysis of the variable regions (CA repeats in *ERβ*, CAG repeats in *AR*, and TTTA repeats in *CYP19A1*) in 273 FtMs and 371 control females. To the best of our knowledge, this is the largest group of FtMs analyzed so far.

We grouped the data into S and L alleles according to the median repeat length polymorphism, obtaining the individual's genotype (SS, SL, or LL) for the three genes. FtMs differed from the control group with respect to the median length of the *ERβ* polymorphism but not with respect to the length of the other two studied genes. Considering the data for categorical variables of S and L

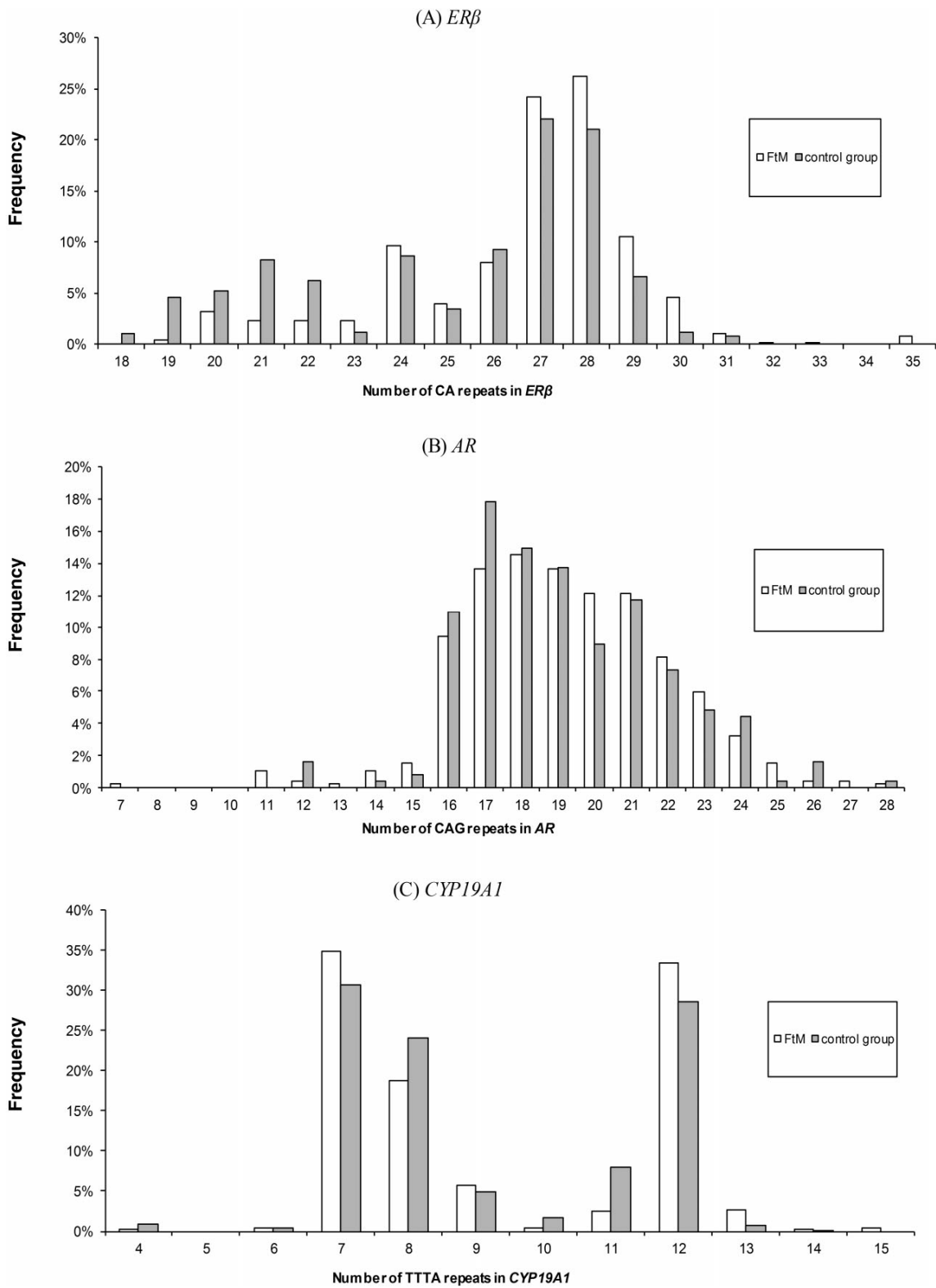
alleles, and the genotypes SS, SL, and LL, we found significant  $p$  values for *ERβ* gene and genotype frequencies but not for *AR* and *CYP19A1* genes. A greater number of CA repeats corresponds to greater probabilities of FtM transsexualism.

Our data complement the previous study on transsexualism from Ujike et al., [17] who examined the same three polymorphisms (*ERβ*, *AR*, and *CYP19A1*) in a transsexual population. These authors did not find any association between the three polymorphisms and transsexualism nor any interactions between the genetic variables. Moreover, there are another two works addressing the molecular analysis of transsexualism: Hare et al., [13] and Henningsson et al., [15]. Both are similar studies but in an MtF population.

To the best of our knowledge, this is the first time that a technique of genotype assessment by HD arrays has been applied to research transsexualism. This allowed us to perform an exhaustive analysis of any type of small chromosomal alteration. So using this new advanced technique of molecular karyotyping and looking for the homogeneity of the sample analyzed, we excluded any chromosome alteration that may be disturbing the results. Moreover, following the same assumption of homogeneity, all subjects (FtMs and control group) were of Spanish origin.

In the case of the *AR* and *CYP19A1* genes, we did not find any relationship between the genes and FtM transsexualism. However, in the case of exon 5 of the *ERβ* gene, and contrary to that described by Ujike et al., [14], we found a direct relationship between the length of the variable region and FtM transsexualism, so the greater the number of repeats, the greater the susceptibility to transsexualism.

Although there are numerous studies showing the inverse relationship between the length of the *AR* gene and the activity of the hormone-receptor complex [43–45], there are no data indicating that this same inverse relationship exists in the case of *ERβ*. Some works bear on this possibility; Kudwa et al., [31] found that male mice lacking functional *Erβ*, when treated with the appropriate hormonal priming, display significantly more female-like sexual receptivity than littermates. Yet, lack of functional *ERβ* receptors does not impair normal expression of adult masculine sexual behavior.



**Figure 1:** Distribution of allele frequency. FtM = female-to-male

RESULTADOS

**Table 2**

*Dates of the median data of tandem repeats of ERβ, AR, and CYP19A1 in FtM and control groups*

Gene	Group	N	Mean of tandem repeats	SD	Mann–Whitney U-test	p value
ERβ	Control group	371	25.56	1.90	31918	0.002 <sup>a</sup>
	FtM group	238	26.83	1.86		
AR	Control group	365	19.27	1.88	40992	0.402 <sup>b</sup>
	FtM group	236	19.45	2.19		
CYP19A1	Control group	371	9.33	1.56	42524	0.160 <sup>b</sup>
	FtM group	245	9.51	2.24		

<sup>a</sup>Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$

<sup>b</sup>Nonsignificant differences with respect to control group;  $p > 0.05$

FtM = female-to-male; SD = standard deviation

**Table 3**

*Data of the allele frequencies for ERβ, AR, and CYP19A1 after division into short and long alleles*

Gene	Allele	Frequencies FtM group	Frequencies Control group	Chi-square test	p value
ERβ	Short (<26)	150 (31.51%)	303 (40.84%)	9.759	0.001a
	Long (≥26)	326 (68.49%)	439 (59.16%)		
Total		476 (100%)	742 (100%)		
AR	Short (<19)	253 (53.6%)	374 (44.38%)	1.618	0.203b
	Long (≥19)	219 (46.4%)	376 (55.62%)		
Total		472 (100%)	730 (100%)		
CYP19A1	Short (≤ 8)	285 (52.2%)	416 (56.06%)	0.53	0.466b
	Long (>8)	205 (41.8%)	326 (43.94%)		
Total		490 (100%)	742 (100%)		

<sup>a</sup>Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$

<sup>b</sup>Nonsignificant differences with respect to control group;  $p > 0.05$

FtM = female-to-male

**Table 4**

*Frequencies of the genotypes for ERβ, AR, and CYP19A1 after division into SS, SL, and LL genotypes*

Gene	Genotype	Frequencies FtM group	Frequencies Control group	Chi-square test	p value
ERβ	SS	24 (10.08%)	51 (13.75%)	13.086	0.001 <sup>a</sup>
	SL	102 (42.86%)	201 (54.18%)		
	LL	112 (47.11%)	119 (32.08%)		
Total		238 (100%)	371 (100%)		
AR	SS	73 (30.9%)	101 (26.93%)	1.497	0.473 <sup>b</sup>
	SL	107 (45.3%)	172 (45.87%)		
	LL	56 (23.7%)	102 (27.20%)		
Total		236 (100%)	365 (100%)		
CYP19A1	SS	79 (32.2%)	113 (30.46%)	0.656	0.720 <sup>b</sup>
	SL	127 (51.8%)	190 (51.21%)		
	LL	39 (15.09%)	68 (18.33%)		
Total		245 (100%)	371 (100%)		

<sup>a</sup>Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$

<sup>b</sup>Nonsignificant differences with respect to control group;  $p > 0.05$

FtM = female-to-male; L = long alleles; S = short alleles

**Table 5**

*Binary logistic regression analyses of gene–gene interactions for susceptibility to FtM transsexualism*

Gene	df	Wald	p value
ERβ	1	11.626	0.001 <sup>a</sup>
AR	1	3.223	0.073 <sup>b</sup>
CYP19A1	1	1.337	0.248 <sup>b</sup>
AR by ERβ	2	0.716	0.397 <sup>b</sup>
AR by CYP19A1	2	0.296	0.586 <sup>b</sup>
CYP19A1 by ERβ	2	0.076	0.783 <sup>b</sup>
AR by CYP19A1 by ERβ	3	0.523	0.470 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Significant;  $p \leq 0.05$

<sup>b</sup>Not significant;  $p > 0.05$

FtM = female-to-male



They found no evidence showing that masculinization is deficient in ER $\beta$ KO males (rats genetically modified without the Er $\beta$  gene); however, they propose that the defeminization process is incomplete in ER $\beta$ KO males. Our data, like previous studies [29,46], support the finding that a functioning ER $\beta$  receptor is directly proportional to the size of the analyzed polymorphism, so a greater number of repeats implies greater transcription activation, therefore, an increase in ER $\beta$  receptor function, and finally, an increase in defeminization in females. Thus, one could propose that the greater efficiency of the estrogen-receptor complex by a high number of repeats would lead to a reduction in feminization, favoring a defeminization process [47]. Defeminization of the corticospinal tract has been described in FtMs [19].

Westberg et al., [46] found that women with relatively few CA repeats of the *ER $\beta$*  gene displayed higher testosterone levels and lower sex steroid hormone-binding globulin levels than those with many CA repeats. The apparent association between a short CA repeat region of the *ER $\beta$*  gene and high levels of testosterone suggests that this variant of the gene leads to a less active receptor [48]. Needless to say, a detailed discussion of the possible mechanisms underlying the apparent association between the *ER $\beta$*  gene polymorphism studied and the hormonal activity must await further clarification of the influence of this polymorphism on receptor function.

The present study has several strengths. To the best of our knowledge, this is the first time that a technique of HD arrays has been applied to research transsexualism. This technique allows us to exclude any chromosome alterations that may be disturbing the results. Furthermore, this study has one of the largest sample sizes analyzed so far.

This study also has some limitations. First, because the subjects were of Spanish origin, the results cannot be generalized to all populations. That could be the reason for the differences between our results and those of Ujike et al., [14]. Second, similar to the work of Ujike et al., [14] and in contrast to that indicated by Hare et al., [13] and Henningsson et al., [15], when we applied the binary logistic regression model, none of the interactions were statistically significant. And finally, the study was performed only in FtMs. Therefore, similar studies on MtF transsexuals in the same population are needed.

## Conclusions

Our data support the association between the *ERβ* gene and FtM transsexualism. The higher number of CA repeats implies greater transcription activation, and therefore, also lower feminization or a greater defeminization. Thus, the susceptibility to transsexualism was higher in the subjects with genotype homozygous LL.

## Acknowledgments

This work was supported by grant PSI2010-15115 (EP) and PSI2011-24496 (AG). We are grateful to the patients and control subjects who voluntarily participated in the study.

## References

- 1 American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4th edition. Washington, DC: DSM-IV-TR; 2000.
- 2 Gooren L. The biology of human psychosexual differentiation. *Horm Behav* 2006;50:589–601.
- 3 Kockett GFE. Transsexuals who have not undergone surgery: A follow-up study. *Arch Sex Behav* 1987;16:511–22.
- 4 Bakker A, van Kesteren PJ, Gooren LJ, Bezemer PD. The prevalence of transsexualism in The Netherlands. *Acta Psychiatr Scand* 1993;87:237–8.
- 5 Landen M, Walinder J, Lundstrom B. Prevalence, incidence and sex ratio of transsexualism. *Acta Psychiatr Scand* 1996;93:221–3.
- 6 Kruijver FP, Zhou JN, Pool CW, Hofman MA, Gooren LJ, Swaab DF. Male-to-female transsexuals have female neuron numbers in a limbic nucleus. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2034–41.
- 7 Zubiaurre-Elorza L, Junqué C, Gómez-Gil E, Segovia S, Carrillo B, Rametti G, Guillamón A. Cortical thickness in untreated transsexuals. *Cereb Cortex* 2012. doi: 10.1093/cercor/bhs267.
- 8 Zhou JN, Hofman MA, Swaab DF. VIP neurons in the human SCN in relation to sex, age, and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1995;16:571–6.
- 9 Luders E, Sanchez FJ, Tosun D, Shattuck DW, Gaser C, Vilain E, Toga AW. Increased cortical thickness in male-to female transsexualism. *J Behav Brain Sci* 2012;2:357–62.

- 10 Luders E, Sanchez FJ, Gaser C, Toga AW, Narr KL, Hamilton LS, Vilain E. Regional gray matter variation in male-to-female transsexualism. *Neuroimage* 2009;46:904–7.
- 11 Bocklandt S, Vilain E. Sex differences in brain and behavior: Hormones versus genes. *Adv Genet* 2007;59:245–66.
- 12 Heylens G, De Cuypere G, Zucker KJ, Schelfaut C, Elaut E, Vanden Bossche H, De Baere E, T’Sjoen G. Gender identity disorder in twins: A review of the case report literature. *J Sex Med* 2012;9:751–7.
- 13 Hare L, Bernard P, Sanchez FJ, Baird PN, Vilain E, Kennedy T, Harley VR. Androgen receptor repeat length polymorphism associated with male-to-female transsexualism. *Biol Psychiatry* 2009;65:93–6.
- 14 Ujike H, Otani K, Nakatsuka M, Ishii K, Sasaki A, Oishi T, Sato T, Okahisa Y, Matsumoto Y, Namba Y, Kimata Y, Kuroda S. Association study of gender identity disorder and sex hormone-related genes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009;33:1241–4.
- 15 Henningsson S, Westberg L, Nilsson S, Lundstrom B, Ekselius L, Bodlund O, Lindstrom E, Hellstrand M, Rosmond R, Eriksson E, Landen M. Sex steroid-related genes and male-to-female transsexualism. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30:657–64.
- 16 Inoubli A, De Cuypere G, Rubens R, Heylens G, Elaut E, Van Caenegem E, Menten B, T’Sjoen G. Karyotyping, is it worthwhile in transsexualism? *J Sex Med* 2011;8: 475–8.
- 17 Zhou JN, Hofman MA, Gooren LJ, Swaab DF. A sex difference in the human brain and its relation to transsexuality. *Nature* 1995;378:68–70.
- 18 García-Falgueras A, Swaab DF. A sex difference in the hypothalamic uncinate nucleus: Relationship to gender identity. *Brain* 2008;131(Pt 12):3132–46.
- 19 Rametti G, Carrillo B, Gómez-Gil E, Junqué C, Segovia S, Gómez A, Guillamón A. White matter microstructure in female to male transsexuals before cross-sex hormonal treatment. A diffusion tensor imaging study. *J Psychiatr Res* 2011;45:199–204.
- 20 Rametti G, Carrillo B, Gómez-Gil E, Junqué C, Zubiaurre-Elorza L, Segovia S, Gómez A, Karadi K, Guillamón A. Effects of androgenization on the white matter microstructure of female-to-male transsexuals. A diffusion tensor imaging study. *Psychoneuroendocrinology* 2012;37:1261–9.
- 21 Green R. Birth order and ratio of brothers to sisters in transsexuals. *Psychol Med* 2000;30:789–95.

- 22 Green R, Keverne EB. The disparate maternal aunt-uncle ratio in male transsexuals: An explanation invoking genomic imprinting. *J Theor Biol* 2000;202:55–63.
- 23 Gómez-Gil E, Esteva I, Almaraz MC, Pasaro E, Segovia S, Guillamón A. Familiality of gender identity disorder in non twin siblings. *Arch Sex Behav* 2010;39:546–52.
- 24 Sosa M, Jodar E, Arbelo E, Dominguez C, Saavedra P, Torres A, Salido E, Liminana JM, Gómez De Tejada MJ, Hernandez D. Serum lipids and estrogen receptor gene polymorphisms in male-to-female transsexuals: Effects of estrogen treatment. *Eur J Intern Med* 2004;15:231–7.
- 25 Bentz EK, Hefler LA, Kaufmann U, Huber JC, Kolbus A, Tempfer CB. A polymorphism of the CYP17 gene related to sex steroid metabolism is associated with female-to-male but not male-to-female transsexualism. *Fertil Steril* 2008;90:56–9.
- 26 Raznahan A, Lee Y, Stidd R, Long R, Greenstein D, Clasen L, Addington A, Gogtay N, Rapoport JL, Giedd JN. Longitudinally mapping the influence of sex and androgen signaling on the dynamics of human cortical maturation in adolescence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:16988–93.
- 27 Enmark E, Gustafsson JA. Oestrogen receptors—An overview. *J Intern Med* 1999;246:133–8.
- 28 Osterlund MK, Hurd YL. Estrogen receptors in the human forebrain and the relation to neuropsychiatric disorders. *Prog Neurobiol* 2001;64:251–67.
- 29 Kudwa AE, Bodo C, Gustafsson JA, Rissman EF. A previously uncharacterized role for estrogen receptor beta: Defeminization of male brain and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:4608–12.
- 30 Hines M. Prenatal testosterone and gender-related behaviour. *Eur J Endocrinol* 2006;155(suppl 1):115–21.
- 31 Kudwa AE, Michopoulos V, Gatewood JD, Rissman EF. Roles of estrogen receptors alpha and beta in differentiation of mouse sexual behavior. *Neuroscience* 2006;138:921–8.
- 32 Sato T, Matsumoto T, Kawano H, Watanabe T, Uematsu Y, Sekine K, Fukuda T, Aihara K, Krust A, Yamada T, Nakamichi Y, Yamamoto Y, Nakamura T, Yoshimura K, Yoshizawa T, Metzger D, Chambon P, Kato S. Brain masculinization requires androgen receptor function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:1673–8.

- 33 Paap MC, Kreukels BP, Cohen-Kettenis PT, Richter-Appelt H, de Cuypere G, Haraldsen IR. Assessing the utility of diagnostic criteria: A multisite study on gender identity disorder. *J Sex Med* 2011;8:180–90.
- 34 World Health Organization (WHO). The ICD-10. Classification of Mental and Behavioural Disorders. Diagnostic Criteria for Research, Geneva. 1993.
- 35 Gómez-Gil E, Esteva de Antonio I. Ser transexual. 2<sup>nd</sup> edition. Barcelona, Spain: Editorial Glosa; 2006.
- 36 Esteva de Antonio I, Bergero Miguel T, Giraldo Ansio F, Cano Oncala G, Ruíz de Adana M, Crespillo Gómez C, Soriguer Escofet F. Unidad de trastornos de identidad de género en Andalucía. Experiencia del primer año de funcionamiento [Gender identity disorder unit in Ansalusia. The experience of the first year]. *Endocrinología y Nutrición* 2001;49:71–4.
- 37 Bergero MT, Cano OG, Esteva de Antonio I, Giraldo F, Gornemann SI, Álvarez OP. Evaluación diagnóstica y seguimiento psicológico en la Unidad de Trastornos de Identidad de Género de Andalucía (Málaga). *Cir Plast Iberlatinamer* 2001;27:263–72.
- 38 Gómez-Gil E, Trilla A, Salamero M, Godas T, Valdes M. Sociodemographic, clinical, and psychiatric characteristics of transsexuals from Spain. *Arch Sex Behav* 2009;38:378–92.
- 39 Fernandez-Real JM, Corella D, Goumidi L, Mercader JM, Valdes S, Rojo Martinez G, Ortega F, Martinez-Larrad MT, Gómez-Zumaquero JM, Salas-Salvado J, Martinez Gonzalez MA, Covas MI, Botas P, Delgado E, Cottel D, Ferrieres J, Amouyel P, Ricart W, Ros E, Meirhaeghe A, Serrano-Rios M, Soriguer F, Estruch R. Thyroid hormone receptor alpha gene variants increase the risk of developing obesity and show genediet interactions. *Int J Obes (Lond)* 2013;37:1499–505.
- 40 Soriguer F, Gutierrez-Repiso C, Rubio-Martin E, García-Fuentes E, Almaraz MC, Colomo N, Esteva de Antonio I, de Adana MS, Chaves FJ, Morcillo S, Valdes S, Rojo-Martinez G. Metabolically healthy but obese, a matter of time? Findings from the prospective pizarra study. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:2318–25.
- 41 Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960;20:613–6.
- 42 Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 1971;2:971–2.

- 43 Chamberlain NL, Driver ED, Miesfeld RL. The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucleic Acids Res* 1994;22:3181–6.
- 44 Kazemi-Esfarjani P, Trifiro MA, Pinsky L. Evidence for a repressive function of the long polyglutamine tract in the human androgen receptor: Possible pathogenetic relevance for the (CAG)<sub>n</sub>-expanded neuronopathies. *Hum Mol Genet* 1995;4:523–7.
- 45 Tut TG, Ghadessy FJ, Trifiro MA, Pinsky L, Yong EL. Long polyglutamine tracts in the androgen receptor are associated with reduced trans-activation, impaired sperm production, and male infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3777–82.
- 46 Westberg L, Baghaei F, Rosmond R, Hellstrand M, Landen M, Jansson M, Holm G, Bjorntorp P, Eriksson E. Polymorphisms of the androgen receptor gene and the estrogen receptor beta gene are associated with androgen levels in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:2562–8.
- 47 Even MD, Laughlin MH, Krause GF, vom Saal FS. Differences in blood flow to uterine segments and placentae in relation to sex, intrauterine location and side in pregnant rats. *J Reprod Fertil* 1994;102:245–52.
- 48 Hsiao PW, Lin DL, Nakao R, Chang C. The linkage of Kennedy's neuron disease to ARA24, the first identified androgen receptor polyglutamine region-associated coactivator. *J Biol Chem* 1999;274:20229–34.

**TERCER ESTUDIO:**

**Association Study of *ERβ*, *AR*, and *CYP19A1* Genes and MtF Transsexualism**

Rosa Fernández<sup>1</sup>, Isabel Esteva<sup>2</sup>, Esther Gómez-Gil<sup>3</sup>, Teresa Rumbo<sup>1</sup>, Mari Cruz Almaraz<sup>2</sup>, Ester Roda<sup>3</sup>, Juan-Jesús Haro-Mora<sup>2</sup>, Antonio Guillamón<sup>4</sup>, Eduardo Pásaro<sup>1</sup>

**(*J Sex Med.* 2014 Dec;11(12):2986-94. doi: 10.1111/jsm.12673. Epub 2014 Aug 15)**

<sup>1</sup> Departamento de Psicología, Área Psicobiología, UDC. A Coruña, Spain.

<sup>2</sup> Unidad de Transexualidad e Identidad de Género, Hospital Carlos Haya, Málaga, Spain.

<sup>3</sup> Unidad de Identidad de Género, Hospital Clinic, Barcelona, Spain.

<sup>4</sup> Departamento de Psicobiología, UNED, Madrid, Spain

**Keywords:** Androgen Receptor; Aromatase; Estrogen Receptor; Gender Dysphoria; Male-to-Female Transsexuals; Transsexualism

**Running title:** Genetic Association Study of Male-to-Female Transsexualism

## ABSTRACT

*Introduction.* The etiology of male-to-female (MtF) transsexualism is unknown. Both genetic and neurological factors may play an important role.

*Aim.* To investigate the possible influence of the genetic factor on the etiology of MtF transsexualism.

*Methods.* We carried out a cytogenetic and molecular analysis in 442 MtFs and 473 healthy, age- and geographical origin-matched XY control males. The karyotype was investigated by G-banding and by high-density array in the transsexual group. The molecular analysis involved three tandem variable regions of genes estrogen receptor  $\beta$  (*ER $\beta$* ) (CA tandem repeats in intron 5), androgen receptor (*AR*) (CAG tandem repeats in exon 1), and *CYP19A1* (TTTA tandem repeats in intron 4). The allele and genotype frequencies, after division into short and long alleles, were obtained.

*Main Outcome Measures.* We investigated the association between genotype and transsexualism by performing a molecular analysis of three variable regions of genes *ER $\beta$* , *AR*, and *CYP19A1* in 915 individuals (442 MtFs and 473 control males).

*Results.* Most MtFs showed an unremarkable 46,XY karyotype (97.96%). No specific chromosome aberration was associated with MtF transsexualism, and prevalence of aneuploidy (2.04%) was slightly higher than in the general population. Molecular analyses showed no significant difference in allelic or genotypic distribution of the genes examined between MtFs and controls. Moreover, molecular findings presented no evidence of an association between the sex hormone-related genes (*ER $\beta$* , *AR*, and *CYP19A1*) and MtF transsexualism.

*Conclusions.* The study suggests that the analysis of karyotype provides limited information in these subjects. Variable regions analyzed from *ER $\beta$* , *AR*, and *CYP19A1* are not associated with MtF transsexualism. Nevertheless, this does not exclude other polymorphic regions not analyzed



## Introduction

Gender identity disorders (GIDs) are characterized by persistent cross-gender identification and discomfort with the individual's assigned gender (American Psychiatric Association) [1]. The Disorders are manifested by cross dressing and a search for hormonal and surgical sex reassignment to the desired anatomical sex. Transsexualism is an extreme form of GID.

It is not possible to identify a single cause for transsexualism. Biological studies have shown that it is associated with neurodevelopmental processes of the brain [2–6], while others imply the involvement of genetic factors [7–10]. Furthermore, different psychological theories have also been proposed [11].

Sexual differentiation of the brain in mammals is significantly influenced by sex hormones and other circulating hormones [12], such as androgens, estrogens, and enzymes for the conversion of androgens to estrogens. The androgen receptor (AR) is implicated in the differentiation of the cortex. The possession of an allele with a smaller number of repeats confers more efficient functioning of the receptor and is associated with “masculinization” of the cortex in adolescence [13].

For the estrogen receptor (ER), two subtypes, the alpha ER $\alpha$  and beta ER $\beta$ , have been identified [14]. Expression of the beta subtype is clearly higher in several brain regions [15], and male mice lacking functional ER $\beta$  have an incompletely defeminized brain and behavior [16].

Moreover, animal studies have clearly demonstrated that prenatal exposure to testosterone plays a primary role in neural and behavioral sexual differentiation [17]. Testosterone binds to and activates ARs and is converted to estrogen by aromatase (CYP19A1) in the brain and consequently activates the central ER $\alpha$  and ER $\beta$ . It may cause masculinization directly by activation of AR or indirectly by activation of ERs [18,19].

Aromatase cytochrome P450 (CYP19A1), which is necessary for the conversion of androgens to estrogens, plays an important role in the sexual differentiation of the brain. In humans, the gene *CYP19A1* is expressed in multiple areas of the brain, notably the temporal and frontal neocortex, the hippocampus, and the hypothalamus [20,21]. It is believed that sex differences in estrogen levels as a result of aromatization of androgen may explain the sexual dimorphisms found in the hypothalamus [22].

Hence, these three genes *ERβ*, *AR*, and *CYP19A1* are strong candidates in the quest for genes that may influence the likelihood of developing gender dysphoria.

Previous studies on these genes show discordant results [7–10]. Henningsson et al., [9], in a genetic study of transsexualism in a population consisting of 29 male-to-female (MtF) transsexuals from Sweden, found significant differences when they examined the *ERβ* gene but not with respect to two other studied polymorphisms (*AR* and *CYP19A1*).

Hare et al., [7], in a population consisting of 112 MtFs from Australia and Los Angeles (California) and 258 control nontranssexual males from Australia, found a significant association between longer *AR* gene polymorphisms and MtF. Moreover, Ujike et al., [8], in a Japanese population of 168 FtMs and 74 MtFs, found no significant differences in allelic or genotypic distributions of any gene examined (*AR*, *ERα*, *ERβ*, *CYP19A1*, and six polymorphisms: rs2008112, rs508653, V660L, H770H, rs572698, and PROGINS) between MtFs and control males or between FtMs and control females. Finally, our team previously analyzed the same genes in 273 FtMs and found that there is an association between *ERβ* and FtM. Our data support the finding that *ERβ* function is directly proportional to the size of the analyzed polymorphism; so, a greater number of repeats implies greater transcription activation, possibly by increasing the function of the complex hormone *ERβ* receptor and thereby encouraging less feminization or a defeminization of the female brain and behavior [10].

The aim of our study was to investigate the possible association of the karyotype and the sex hormone-related genes *ERβ*, *AR*, and *CYP19A1* with MtF transsexualism by performing a molecular analysis of the variable regions of these genes in 442 MtFs and 473 control males.

## Methods

### Subjects

The subjects comprised 442 MtFs and 473 age and geographical origin-matched control males. The selection of MtFs was conducted through both the Andalusian Gender Identity Unit (Carlos Haya Hospital of Málaga, Spain) and the Gender Identity Units of Catalonia (Clínica Hospital of Barcelona, Spain).

## RESULTADOS

The diagnoses were made using the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV (American Psychiatric Association) [1] and the International Classification of Diseases, tenth edition [23]. All patients received medical examinations by an endocrinologist to rule out the anomaly of the external genitalia and internal sex organs. Participants had no endocrine, neurological, or major psychiatric comorbidity.

Sociodemographic, clinical, and psychiatric data that included any family background of transsexuality were collected for all patients as part of similar standard clinical assessments at both clinics [24–26]. Subjects included in the sample presented early-onset of gender dysphoria and were attracted to subjects of their natal sex. The exclusion criteria were as follows: head trauma, neurological disorder, major medical condition, and history of alcohol and/drug abuse.

The control group consisted of a random group of individuals from a Spanish population, previously used in metabolic and genetic studies, age and sex adjusted with the MtF group [27,28]. They were free of any neurological, systemic, or psychiatric illness, as verified by a detailed interview. The study only included heterosexual controls.

**Table 1**

*Altered karyotypes found in MtF group that were excluded from the study*

<b>Karyotype</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Karyotype available	442	100
Unremarkable karyotype	433	97.96
47,XXY	2	0.45
46,XY,Yqh-	2	0.45
46,XY inv(12)(p11;q21)	1	0.23
46,XY inv(9)(p11;q12)	1	0.23
46,XY inv(2)(p11;q13)	1	0.23
45,XY,t(13q;14q)	1	0.23
45,XY,t(9;22)/46,XY	1	0.23

MtF = male-to-female

The study was initiated after obtaining approval from the Ethics Committees of the University of A Coruña, Clínic Hospital (Barcelona), and Carlos Haya Hospital (Málaga). We drafted a protocol and obtained written, informed consent from each of the participants in the study.

## **Genetic Analysis**

### ***Cytogenetic Analyses***

Peripheral blood samples were extracted for cytological and molecular analyses. Chromosomes were prepared according to standard techniques from peripheral blood [29], and the preparations were treated with trypsin to obtain G-banding [30]. Patients with chromosomal aberrations like translocations, inversions, or Chromosome number aberration were discarded (Table 1).

### ***Genotype Assessment by High-Density Array***

Genomic DNA was extracted using the DNeasy Blood & Tissue Kit from Qiagen (Madrid, Spain). The genome-wide DNA copy number analyses were performed in the MtF population with CytoScan™ high-density (HD) array (Affymetrix, Madrid, Spain) in accordance with the manufacturer's instructions.

### ***Molecular Analyses***

The polymorphic regions were amplified by polymerase chain reaction following the protocol outlined in Table 2. All genotyping was performed in a blinded fashion and in triplicate in case of failure reactions. Finally, the fragments were analyzed by automated capillary electrophoresis 3130 XL Genetic Analyzer from Applied Biosystems (Madrid, Spain). In case of *CYP19A1* gene, the TCT insert has been specifically removed from the fragment.

## **Statistical Analysis**

Independent samples were analyzed by taking the medians of Mann–Whitney U- and chi-squared tests using the median length of the two alleles: short (S) and long (L). To calculate the cutoff point to differentiate between S and L alleles, we took into account the median of the polymorphisms of individual genes from control group.

Analyses were performed using SPSS 17.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A *p* value  $\leq$  0.05 was considered significant. Interactions between the three polymorphisms were evaluated using a binary logistic regression model.

## Results

The analysis by HD arrays allowed us to examine the karyotype at molecular level in the MtF population. Nine patients (2.04%) were excluded for diverse karyotype alterations described in Table 1. We were unable to find any karyotypic alteration specific to transsexualism.

With respect to the analysis of polymorphisms, the MtF group showed 15 alleles for *ERβ* (Figure 1A) in a range of repetitions between 19 and 35 (>85.57% alleles have 24–29 CA repeats); 21 different alleles for the *AR* gene (Figure 1B), the number of repetitions extending between 6 and 29 (almost 80% alleles have 16–22 CAG repeats); and eight alleles for the *CYP19A1* gene (Figure 1C) and 4–23 repetitions with a characteristic “U” distribution (>87% alleles have 7–8 or 12 TTTA repeats).

In the control group, the molecular analysis showed 15 alleles for the *ERβ* gene extending between 18 and 32 repetitions (Figure 1A) (>88% alleles have 24–29 CA repeats); the *AR* gene showed 13 alleles between 12 and 33 repetitions (>86% alleles have 16–21 CAG repeats) (Figure 1B); and the gene *CYP19A1* showed seven alleles between 7 and 14 repetitions (Figure 1C) with the same characteristic “U” distribution (86% alleles have seven to eight or 12 TTTA repeats). The percentages of each allele are shown in Figure 1.

Significant differences were found only in the *CYP19A1* gene when we compared the mean number of repeats in both populations, with a higher value in the control group. The *p* value obtained in the Mann–Whitney U-test, the mean and the median of tandem repeats, and the standard deviation are described in Table 3.

To calculate the allele frequencies (Table 4), we differentiate between S and L alleles, taking into account the median of the polymorphisms for individual genes obtained in the control group. So, for the *ERβ* gene, the difference between S and L alleles remained at 27 repeats, for the *AR* gene at 19 repeats, and for *CYP19A1* at eight repeats (Table 4). After this separation, no significant differences were found in the distribution of S and L alleles between MtFs and control groups. In a second step, the lengths of the three polymorphisms were subclassified to obtain genotype frequencies (Table 5). The genotypes were determined as SS, LL, and heterozygous SL for the genes *ERβ* and *CYP19A1*, and S or L for the gene *AR*. For all variables, no significant association was established between MtFs and controls (Table 5).

Finally, we applied a binary logistic regression model. The three variables and all the possible interactions among them were included in the model. We used the Wald statistic to evaluate the significance of the model coefficients (Table 6). None of these interactions were statistically significant.

## Discussion

We investigated the possible association between genotype and MtF transsexualism by performing an analysis of the karyotype and a molecular study of three variable regions: (CA)<sub>n</sub> tandem repeats in intron 5 of *ERβ*, (CAG)<sub>n</sub> tandem repeats in exon 1 of *AR*, and (TTTA)<sub>n</sub> tandem repeats in intron 4 of *CYP19A1* in 915 individuals (442 MtFs and 473 control males). To the best of our knowledge, this is the largest group of MtFs analyzed so far.

In accordance with previous data of aneuploidy in transsexual populations presented by Inoubli et al., [34], Auer et al., [35], Wylie and Steward [36], Hengstschlager et al., [37], or Bearman [38], our data show a low incidence of chromosomal abnormalities in the transsexual population (2.04%) but slightly higher than in the general population (0.53%) [39]. Maeda et al., [39] found 93 karyotype aberrations (52 in males, 41 in females) corresponding to a prevalence of 0.63% in a series of 14,835 liveborn infants [39]. This frequency is 0.53% if infants with an abnormal karyotype who did not survive more than 8 months are excluded (six males and nine females).

The analysis by HD arrays did not allow us to find any karyotypic alteration specific to transsexualism, which is in accordance with earlier reports based on the analysis of the karyotype from G bands. However, the prevalence in the current study was very similar to that previously reported [34–38]. Inoubli et al., [34], in a retrospective study of 368 transsexual individuals, found a normal karyotype in 97.55%. Prevalence of abnormal karyotypes was 3.19% among MtFs and 0.85% among FtMs. Auer et al., [35], in a retrospective study of the Barr body and the karyotype in 270 transsexual individuals (165 MtF/105 FtM), presented a prevalence of chromosomal abnormality in both groups of 1.5% (2.9% in the FtM and 0.6% in the MtF groups). Wylie and Steward [36] found only one abnormal karyotype 46,XY/47,XYY in a population of 52 FtMs and MtFs. Hengstschlager et al., [37], in an extensive cytogenetic and molecular analysis in a transsexual population of 30 MtFs and 31 FtMs, could not detect any chromosomal aberrations with the exception of one balanced translocation 46,XY,t(6;17)(p21.3;q23). Bearman [38] reported 2.5% variant karyotypes in about 400 transsexual persons.

Our case series, analyzing the greatest number of karyotypes of MtFs in the literature, confirms that genetic aberrations detectable at the Chromosome level are not significantly associated with gender dysphoria.

To investigate the possible influence of the sex hormone-related genes on the etiology of MtF transsexualism, we grouped the data into S and L alleles obtaining the individual's genotype SS, SL, or LL for the *ERβ* and *CYP19A1* genes, or S or L for the *AR*. Significant differences were found in the *CYP19A1* gene when we compared the mean number of repeats (Table 3); however, when the variable is categorized as short/long (considering the median obtained in the control group as the cut point), no significant differences were found, neither when comparing alleles nor comparing genotypes (Tables 4 and 5). Neither appears significant when we apply other statistical data (Table 6).

Our data complement the previous study on transsexualism from Ujike et al., [8] who examined the same three polymorphisms in a transsexual Japanese population (MtF and FtM). The authors had analyzed the largest MtF population (74 MtF and 168 FtM) until now since the sample analyzed in the present work surpasses that of Ujike et al., [8] In accordance with our study, these authors did not find any association between the three polymorphisms and transsexualism nor did they find any interactions between the genetic variables.

Moreover, there are two other works addressing the molecular analysis of transsexualism: Henningson et al., [9], and Hare et al., [7]. Henningson et al., [9], in a population of 29 Swedish MtFs, found significant differences when they examined the *ERβ* gene. They found that CA repeats in *ERβ* were significantly higher in MtFs than controls. Furthermore, a logistic regression analysis also indicated significant associations of the three genes with MtF. However, because the *p* values were marginal and the patient number was quite small, the possibility of a type I error cannot be fully excluded.

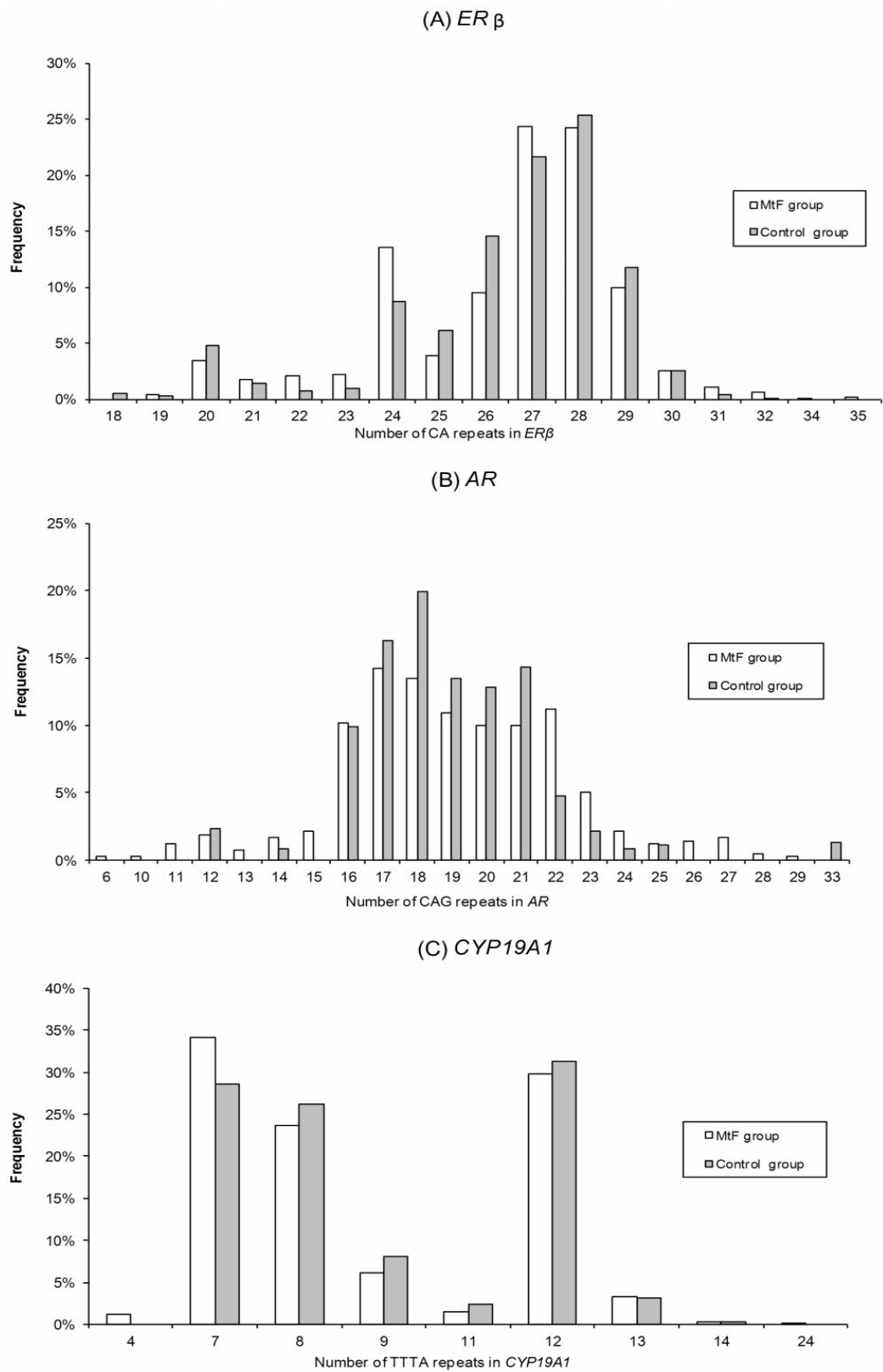
**Table 2***Description of the polymorphic regions analyzed*

<b>Gene</b>	<b>Description</b>	<b>Position</b>	<b>Tandem repeat</b>	<b>Primers</b>	<b>Conditions of amplification</b>
<i>ERβ</i>	Tsukamoto et al., [31]	14q22-24	(CA)n intron 5	5'-AACAAAATGTTGAATGAGTGGG-3' 5'-GGTAAACCATGGTCTGTACC-3' FAM	35 cycles: 92°C 40 seconds 57°C 40 seconds 72°C 40 seconds 72°C 10 minutes
<i>AR</i>	Sleddens et al., [32]	Xq11-12	(CAG)n exon 1	5'-GTTTCCTCATCCAGGACCAGGTA-3' 5'-GTGCGCGAAGTGATCCAGA-3' HEX	35 cycles: 92°C 1 minutes 56°C 1 minutes 72°C 1 minutes 72°C 10 minutes
<i>CYP19A1</i>	Polymeropoulos et al., [33]	15q21.1	(TTTA)n intron 4	5'-TTACAGTGAGCCAAGGTCGT-3' 5'-GCAGGTACTIONTAGTTAGCTAC-3' NED	35 cycles: 92°C 1 minutes 58°C 1 minutes 72°C 1 minutes 72°C 10 minutes

AR = Androgen receptor; ERβ = Estrogen receptor β; CYP19A1= aromatase



## RESULTADOS



**Figure 1:** Distribution of allele frequency for (A) *ERβ*, (B) *AR* and (C) *CYP19A1* genes. MtF = male-to-female

**Table 3**

*Dates of the median and mean data of tandem repeats of ER $\beta$ , AR, and CYP19A1 in MtF and control groups*

Gene	Group	N	Mean of tandem repeats	SD	Median of tandem repeats	Mann–Whitney U-test	p value
ER $\beta$	Control group	471	26.49	2.40	27	379964.5	0.342†
	MtF group	414	26.41	2.51	27		
AR	Control group	467	18.90	2.77	19	93499.0	0.226†
	MtF group	420	19.05	3.21	19		
CYP19A1	Control group	472	9.29	2.19	8	379771.5	0.022*
	MtF group	428	9.11	2.34	8		

\*Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$

†Non significant differences with respect to control group;  $p > 0.05$

AR = androgen receptor; ER $\beta$  = estrogen receptor  $\beta$ ; MtF = male-to-female; SD = standard deviation

**Table 4**

*Data of the allele frequencies for ER $\beta$ , AR, and CYP19A1 after division into short and long alleles*

Gene	Allele	Frequencies FtM group	Frequencies Control group	Chi-square test	p value
ER $\beta$	Short (<27)	311 (37.56)	359 (38.12)	0.057	0.8443*
	Long ( $\geq 27$ )	517 (62.44)	583 (61.88)		
Total		828 (100)	942 (100)		
AR	Short (<19)	194 (46.19)	230 (49.25)	0.832	0.381*
	Long ( $\geq 19$ )	226 (53.81)	237 (50.75)		
Total		420 (100)	467 (100)		
CYP19A1	Short ( $\leq 8$ )	504 (58.88)	517 (54.77)	3.091	0.079*
	Long (>8)	352 (41.12)	427 (45.23)		
Total		856 (100)	944 (100)		

\*Non significant differences with respect to control group;  $p > 0.05$

AR = androgen receptor; ER $\beta$  = estrogen receptor  $\beta$ ; MtF = male-to-female

RESULTADOS

**Table 5**

*Frequencies of the genotypes for ERβ, AR, and CYP19A1 after division into SS, SL, and LL genotypes*

Gene	Genotype	Frequencies FtM group	Frequencies Control group	Chi-square test	p value
ERβ	SS	48 (11.59)	55 (11.68)	0.101	0.001 <sup>a</sup>
	SL	215 (51.93)	249 (52.87)		
	LL	151 (36.47)	167 (35.46)		
Total		414 (100)	471 (100)		
AR	S	194 (46.19)	230 (49.25)	0.836	0.473 <sup>b</sup>
	L	226 (53.81)	237 (50.75)		
Total		420 (100)	467 (100)		
CYP19A1	SS	149 (34.81)	145 (30.72)	3.143	0.720 <sup>b</sup>
	SL	206 (48.13)	227 (48.09)		
	LL	73 (17.06)	100 (21.19)		
Total		428 (100)	472 (100)		

\*Non significant differences with respect to control group;  $p > 0.05$

AR = androgen receptor; ERβ = estrogen receptor β; L = long allele; MtF = male-to-female; S = short allele

**Table 6**

*Binary logistic regression analyses of gene–gene interactions for susceptibility to MtF transsexualism*

Gene	df	Wald	p value
ERβ	1	−0.538	0.591*
AR	1	0.638	0.523*
CYP19A1	1	−1.432	0.152*
AR by ERβ	2	−0.047	0.962*
AR by CYP19A1	2	0.172	0.864*
CYP19A1 by ERβ	2	1.244	0.214*
AR by CYP19A1 by ERβ	3	0.685	0.493*

\*Non significant;  $p > 0.05$

AR = androgen receptor; df = degrees of freedom; ERβ = estrogen receptor β; MtF = male-to-female

In 2009, Hare et al., [7] tried to replicate the findings in a larger sample consisting of 112 MtFs from Australia and Los Angeles (California) and 258 control nontranssexual males from Australia and found significantly longer repeats of *AR* in subjects than in controls but not of *ERβ* or *CYP19A1*. However, the *p* value was significant ( $p = 0.04$ ), but they compared different populations (Australia and Los Angeles, USA). To the best of our knowledge, little is known about the distribution of these repeats among different human populations. Sasaki et al., [40] examined the polyglycine and polyglutamine repeats in the *AR* gene in Japanese and Caucasians, and they found different distribution in both populations. For this reason, we suggest that there might be differences between two populations in this polymorphism.

The number in our Spanish MtF sample was 442 MtFs, the largest MtF population analyzed so far, and it showed no significant association of MtF with *AR*, *ERβ*, or *CYP19A1*. Significant differences ( $p = 0.022$ ) were found in the *CYP19A1* gene when we compared the mean number of repeats (Table 3), but this significance disappears ( $p = 0.079$  and  $p = 0.205$ ) when calculating allele and genotype frequencies (Tables 4 and 5).

Aromatase cytochrome P450 (*CYP19A1*) is necessary for the conversion of androgens to estrogens, and it plays an important role in the sexual differentiation of the brain [41]. Thus, the variation in the gene for this subunit of the aromatase enzyme complex could be implicated in MtF transsexualism.

The present study has several strengths. To the best of our knowledge, this is the first time that a technique of HD array is applied to research transsexualism. This technique allows us to exclude any chromosome alterations that may be disturbing the results. Furthermore, this study has one of the largest sample sizes of MtFs analyzed.

However, there were some limitations in the present study. First, there are other variable regions and other genes that could be analyzed and that could complement our study. A second limitation, common to all human genetic studies, is that we were limited by the DNA sequence variability present in the particular population we studied.

Thus, our results suggest that aromatase could play a role in the development of MtF transsexualism, whereas variations in genes *AR* and *ERβ* may not be implicated in MtF transsexualism.

## Conclusions

The data complement our previous study on FtM transsexualism [10] and the investigation of Ujike et al., [8] who examined the same three polymorphisms ( $ER\beta$ ,  $AR$ , and  $CYP19A1$ ) in a transsexual population. According to our results, we can conclude that, in accordance with Ujike et al., [8], there is no apparent relationship between the  $AR$  or  $ER\beta$  and MtF transsexualism and that aromatase could play a role in the development of MtF transsexualism. More studies, including replication in other populations, and analysis of other polymorphisms, both for the genes studied here and other sex steroidogenesis, should be undertaken.

## Acknowledgments

This work was supported by grant PSI2010-15115 (EP) and PSI2011-24496 (AG). We are grateful to the patients and control subjects who voluntarily participated in the study.

## References

- 1 American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-IV-TR). 4th edition. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000.
- 2 Zubiaurre-Elorza L, Junqué C, Gómez-Gil E, Segovia S, Carrillo B, Rametti G, Guillamón A. Cortical thickness in untreated transsexuals. *Cereb Cortex* 2013;23:2855–62.
- 3 Luders E, Sanchez FJ, Tosun D, Shattuck DW, Gaser C, Vilain E, Toga AW. Increased cortical thickness in male to-female transsexualism. *J Behav Brain Sci* 2012;2:357–62.
- 4 Luders E, Sanchez FJ, Gaser C, Toga AW, Narr KL, Hamilton LS, Vilain E. Regional gray matter variation in male-to-female transsexualism. *Neuroimage* 2009;46:904–7.
- 5 Kruijver FP, Zhou JN, Pool CW, Hofman MA, Gooren LJ, Swaab DF. Male-to-female transsexuals have female neuron numbers in a limbic nucleus. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2034–41.
- 6 Zhou JN, Hofman MA, Gooren LJ, Swaab DF. A sex difference in the human brain and its relation to transsexuality. *Nature* 1995;378:68–70.

- 7 Hare L, Bernard P, Sánchez FJ, Baird PN, Vilain E, Kennedy T, Harley VR. Androgen receptor repeat length polymorphism associated with male-to-female transsexualism. *Biol Psychiatry* 2009;65:93–6.
- 8 Ujike H, Otani K, Nakatsuka M, Ishii K, Sasaki A, Oishi T, Sato T, Okahisa Y, Matsumoto Y, Namba Y, Kimata Y, Kuroda S. Association study of gender identity disorder and sex hormone-related genes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009;33:1241–4.
- 9 Henningsson S, Westberg L, Nilsson S, Lundstrom B, Ekselius L, Bodlund O, Lindstrom E, Hellstrand M, Rosmond R, Eriksson E, Landen M. Sex steroid-related genes and male-to-female transsexualism. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30:657–64.
- 10 Fernández R, Esteva I, Gómez-Gil E, Rumbo T, Almaraz MC, Roda E, Haro-Mora JJ, Guillamón A, Pásaro E. The (CA)<sub>n</sub> polymorphism of ERbeta gene is associated with FtM transsexualism. *J Sex Med* 2014;11:720–8.
- 11 Michel A, Mormont C, Legros JJ. A psycho-endocrinological overview of transsexualism. *Eur J Endocrinol* 2001;145:365–76.
- 12 Baba T, Endo T, Honnma H, Kitajima Y, Hayashi T, Ikeda H, Masumori N, Kamiya H, Moriwaka O, Saito T. Association between polycystic ovary syndrome and female-to-male transsexuality. *Hum Reprod* 2007;22:1011–6.
- 13 Raznahan A, Lee Y, Stidd R, Long R, Greenstein D, Clasen L, Addington A, Gogtay N, Rapoport JL, Giedd JN. Longitudinally mapping the influence of sex and androgen signaling on the dynamics of human cortical maturation in adolescence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:16988–93.
- 14 Enmark E, Gustafsson JA. Oestrogen receptors—An overview. *J Intern Med* 1999;246:133–8.
- 15 Osterlund MK, Hurd YL. Estrogen receptors in the human forebrain and the relation to neuropsychiatric disorders. *Prog Neurobiol* 2001;64:251–67.
- 16 Kudwa AE, Bodo C, Gustafsson JA, Rissman EF. A previously uncharacterized role for estrogen receptor beta: Defeminization of male brain and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:4608–12.
- 17 Hines M. Prenatal testosterone and gender-related behaviour. *Eur J Endocrinol* 2006;155(1 suppl):115–21.
- 18 Kudwa AE, Michopoulos V, Gatewood JD, Rissman EF. Roles of estrogen receptors alpha and beta in differentiation of mouse sexual behavior. *Neuroscience* 2006;138:921–8.

- 19 Sato T, Matsumoto T, Kawano H, Watanabe T, Uematsu Y, Sekine K, Fukuda T, Aihara K, Krust A, Yamada T, Nakamichi Y, Yamamoto Y, Nakamura T, Yoshimura K, Yoshizawa T, Metzger D, Chambon P, Kato S. Brain masculinization requires androgen receptor function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:1673–8.
- 20 Hayes FJ, Seminara SB, Decruz S, Boepple PA, Crowley WF Jr. Aromatase inhibition in the human male reveals a hypothalamic site of estrogen feedback. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3027–35.
- 21 Stoffel-Wagner B, Watzka M, Schramm J, Bidlingmaier F, Klingmuller D. Expression of CYP19 (aromatase) mRNA in different areas of the human brain. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999;70:237–41.
- 22 Gorski RA. Sexual differentiation of the endocrine brain and its control. In: Motta M, ed. *Brain endocrinology*. New York: Raven; 1991:71–104.
- 23 World Health Organization (WHO). *The ICD-10. Classification of mental and behavioural disorders*. Geneva: Diagnostic Criteria for Research; 1993.
- 24 Esteva de Antonio I, Giraldo F, Bergero de Miguel T, Cano Oncala G, Crespillo Gómez C, Ruiz de Adana S. Evaluación endocrinológica y tratamiento hormonal de la transexualidad en la Unidad de Trastornos de Identidad de Género en Andalucía (Málaga). *Cir Plast Iberolatinamer* 2001;27:273–80.
- 25 Esteva de Antonio I, Gómez-Gil E. Coordination of healthcare for transsexual persons: A multidisciplinary approach. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2013;20:585–91.
- 26 Gómez-Gil E, Trilla A, Salamero M, Godas T, Valdés M. Sociodemographic, clinical, and psychiatric characteristics of transsexuals from Spain. *Arch Sex Behav* 2009;38:378–92.
- 27 Fernandez-Real JM, Corella D, Goumidi L, Mercader JM, Valdes S, Rojo Martinez G, Ortega F, Martinez-Larrad MT, Gómez-Zumaquero JM, Salas-Salvado J, Martinez Gonzalez MA, Covas MI, Botas P, Delgado E, Cotel D, Ferrieres J, Amouyel P, Ricart W, Ros E, Meirhaeghe A, Serrano-Rios M, Soriguer F, Estruch R. Thyroid hormone receptor alpha gene variants increase the risk of developing obesity and show genediet interactions. *Int J Obes (Lond)* 2013;37:1499–505.
- 28 Soriguer F, Gutierrez-Repiso C, Rubio-Martin E, García- Fuentes E, Almaraz MC, Colomo N, Esteva de Antonio I, de Adana MS, Chaves FJ, Morcillo S, Valdes S, Rojo-Martinez G. Metabolically healthy but obese, a matter of time? Findings from the prospective Pizarra study. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:2318–25.

- 29 Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960; 20:613–6.
- 30 Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 1971;2:971–2.
- 31 Tsukamoto K, Inoue S, Hosoi T, Orimo H, Emi M. Isolation and radiation hybrid mapping of dinucleotide repeat polymorphism at the human estrogen receptor beta locus. *J Hum Genet* 1998;43:73–4.
- 32 Sleddens HF, Oostra BA, Brinkmann AO, Trapman J. Trinucleotide repeat polymorphism in the androgen receptor gene (AR). *Nucleic Acids Res* 1992;20:1427.
- 33 Polymeropoulos MH, Xiao H, Rath DS, Merrill CR. Tetranucleotide repeat polymorphism at the human aromatase cytochrome P-450 gene (CYP19). *Nucleic Acids Res* 1991;19:195.
- 34 Inoubli A, De Cuypere G, Rubens R, Heylens G, Elaut E, Van Caenegem E, Menten B, T'Sjoen G. Karyotyping, is it worthwhile in transsexualism? *J Sex Med* 2011;8:475–8.
- 35 Auer MK, Fuss J, Stalla GK, Athanasoulia AP. Twenty years of endocrinologic treatment in transsexualism: Analyzing the role of chromosomal analysis and hormonal profiling in the diagnostic work-up. *Fertil Steril* 2013;100:1103–10.
- 36 Wylie KR, Steward D. A consecutive series of 52 transsexual people presenting for assessment and chromosomal analysis at a gender identity clinic. *Int J Transgend* 2008;10:147–8.
- 37 Hengstschlager M, van Trotsenburg M, Repa C, Marton E, Huber JC, Bernaschek G. Sex chromosome aberrations and transsexualism. *Fertil Steril* 2003;79:639–40.
- 38 Bearman G. Karyotyping and genetics in the transgendered population. In: Ettner R, Monstrey S, Eyler AE, eds. *Principles of transgender medicine and surgery*. New York: Haworth Press.; 2007:261–80.
- 39 Maeda T, Ohno M, Matsunobu A, Yoshihara K, Yabe N. A cytogenetic survey of 14,835 consecutive liveborns. *Jinrui Idengaku Zasshi* 1991;36:117–29.
- 40 Sasaki M, Kaneuchi M, Sakuragi N, Fujimoto S, Carroll PR, Dahiya R. The polyglycine and polyglutamine repeats in the androgen receptor gene in Japanese and Caucasian populations. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;312:1244–7.
- 41 DuPree MG, Mustanski BS, Bocklandt S, Nievergelt C, Hamer DH. A candidate gene study of CYP19 (aromatase) and male sexual orientation. *Behav Genet* 2004;34:243–50.



## **CUARTO ESTUDIO:**

### **The genetics of transsexualism**

Rosa Fernández<sup>1</sup>, Isabel Esteva<sup>2</sup>, Esther Gómez-Gil<sup>3</sup>, Teresa Rumbo<sup>1</sup>, Mari Cruz Almaraz<sup>2</sup>, Ester Roda<sup>3</sup>, Juan-Jesús Haro-Mora<sup>2</sup>, Antonio Guillamón<sup>4</sup>, Eduardo Pásaro<sup>1</sup>

**In: *Gender Identity: Disorders, Developmental Perspectives and Social Implications*. Editors: Beverly L. Miller. ISBN: 978-1-63321-488-0**

<sup>1</sup> Departamento de Psicología, Área Psicobiología, UDC. A Coruña, Spain.

<sup>2</sup> Unidad de Transexualidad e Identidad de Género, Hospital Carlos Haya, Málaga, Spain.

<sup>3</sup> Unidad de Identidad de Género, Hospital Clinic, Barcelona, Spain.

<sup>4</sup> Departamento de Psicobiología, UNED, Madrid, Spain

**Running title:** Are the Genes *ERβ*, *AR* or *CYP19A1* Associated with Transsexualism?

## ABSTRACT

Transsexualism is a gender identity disorder with a multifactorial etiology. Neurodevelopmental processes and genetic factors seem to be implicated.

The aim of this study was to investigate the association between the genotype and female-to-male (FtM) and male-to-female (MtF) transsexualism by performing a karyotype and molecular analysis of three variable regions of the genes *ERβ* (estrogen receptor β), *AR* (androgen receptor) and *CYP19A1* (aromatase).

*Methods:* We carried out a cytogenetic and molecular analysis in 273 FtMs, 442 MtFs, 371 control females and 473 control males. The control groups were healthy, age- and geographical origin-matched. The karyotype was investigated by G-banding and by high-density (HD) array in the transsexual group. The molecular analysis involved three tandem variable regions of genes *ERβ* (CA repeats in intron 5), *AR* (CAG repeats in exon 1) and *CYP19A1* (TTTA repeats in intron 4). The allele and genotype frequencies, after division into short (S) and long (L) alleles, were obtained.

*Results:* No karyotype aberration has been linked to transsexualism (FtM or MtF), and prevalence of aneuploidy (3%) appears to be slightly higher than in the general population (0.53%). Concerning the molecular study, FtMs differed significantly from control females with respect to the median repeat length polymorphism *ERβ* ( $p = 0.002$ ) but not to the length of the other two studied polymorphisms. The repeat numbers in *ERβ* were significantly higher in FtMs than in the female control group, and the likelihood of developing transsexualism was higher (odds ratio: 2.001 [1.15–3.46]) in the subjects with the genotype homozygous for long alleles.

No significant difference in allelic or genotypic distribution of any gene examined was found between MtFs and control males. Moreover, molecular findings presented no evidence of an association between the sex hormone-related genes (*ERβ*, *AR*, and *CYP19A1*) and MtF transsexualism.

## Introduction

As sexual differentiation of the genitals takes places in the first two months of pregnancy, and sexual differentiation of the brain starts during the second half of pregnancy (Bao and Swaab, 2011), these two processes may be influenced independently of each other, resulting in gender dysphoria or transsexualism. If this is the case, one might expect to find, in transsexuals, male sexual organs and female brain structures, or vice versa. This also means that in the case of an ambiguous gender at birth, the degree of masculinization of the genitals may not reflect the same degree of masculinization of the brain (Swaab, 2007).

Transsexuality is characterized by a conviction of having been born in the wrong body. Male-to-female (MtF) and female-to-male (FtM) transsexuals are characterized by persistent other-sex identification and uneasiness with their assigned gender (American Psychiatric Association, 2000). The prevalence of transsexuality is 1:10,000 for MtF and 1:30,000 for FtM (Swaab, 2007).

It is not possible to identify a single cause for transsexualism, rather its origin seems to be multifactorial (Kockett and Fahrner, 1987; Bakker et al., 1993; Landen et al., 1996; Gooren, 2006). Important works have shown that it is associated with neurodevelopmental processes of the brain (Zhou et al., 1995; Kruijver et al., 2000; Bocklandt and Vilain, 2007; Luders et al., 2009; Luders et al., 2012; Zubiaurre-Elorza et al., 2013; Zubiaurre-Elorza et al., 2014) while others imply the involvement of genetic factors (Henningsson et al., 2005; Ujike et al., 2009; Hare et al., 2009; Fernández et al., 2013; Fernández et al., 2014).

One of the lines of research on biological determinants of transsexualism is based on sexual dimorphic brain nuclei. In humans several hypothalamic nuclei have been reported to be sexually dimorphic with respect to size and/or shape: Postmortem brain studies have shown that the volume and the number of neurons of the central part of the bed nucleus of the stria terminalis (BSTc) and the third interstitial nucleus of the anterior hypothalamus (INAH3) are feminized in MtF transsexuals (Zhou et al., 1995; Kruijver et al., 2000). A similar pattern was reported in the INAH3 of FtMs (García-Falgueras and Swaab, 2008).

Recently, the gray and white matter regions of the brain of FtMs were studied before and after cross-sex hormonal treatment. The white matter microstructure pattern in untreated FtMs was closer to males than to females; before testosterone treatment they presented a female phenotype with a masculine and/or defeminized profile in brain bundles that are related to complex cognitive

function (Rametti et al., 2011). Only these bundles respond to androgenization and they do so in the way that males respond (Rametti et al., 2012). In relation to the gray matter, untreated FtMs showed evidence of subcortical gray matter masculinization; they presented a masculinization of their right putamen. However, their cortical thickness (CTh) did not differ from control females but it was greater than in males in the parietal and frontal cortices (Zubiaurre-Elorza et al., 2014).

Luders et al., (2009) analyzed magnetic resonance imaging (MRI) data of 24 MtFs not yet treated with cross-sex hormones to determine whether gray matter volumes in MtFs more closely resemble people who share their biological sex, or people who share their gender identity. The results revealed that regional gray matter variation in MtFs is more similar to the pattern found in men than in women. However, MtFs show a significantly larger volume of regional gray matter in the right putamen compared to men. These findings provide new evidence that transsexualism is associated with a distinct cerebral pattern, which supports the assumption that brain anatomy plays a role in gender identity (Luders et al., 2009).

Rametti et al., (2011) conducted a microstructure analysis of white matter by DTI (diffusion tensor imaging) in 18 MtF, finding that MtF transsexuals differed from both male and female controls bilaterally in the superior longitudinal fasciculus, the right anterior cingulum, the right forceps minor, and the right corticospinal tract. These findings reveal that the white matter microstructure pattern in untreated MtF transsexuals falls halfway between the pattern of male and female controls. Some fasciculi do not complete the masculinization process in MtF transsexuals during brain development.

The idea of genetic factor involvement in transsexualism has come mainly from familial studies (Green and Keverne, 2000; Green, 2000), familial cases of twins being concordant for transsexualism (Gómez-Gil et al., 2010; Heylens et al., 2012), and from molecular genetic studies of certain polymorphisms of androgen and estrogen system genes (Sosa et al., 2004; Henningson et al., 2005; Bentz et al., 2008; Hare et al., 2009; Ujike et al., 2009; Fernández et al., 2013; Fernández et al., 2014).

But sexual differentiation of the brain in mammals is significantly influenced by sex hormones and other circulating hormones (Baba et al., 2007). The androgen receptor gene (*AR*) is implicated in the differentiation of the cortical cortex. The possession of an allele with a smaller number of CAG repeats confers more efficient functioning of the receptor and is associated with “masculinization” of the cortex in adolescence (Raznahan et al., 2010).

For the estrogen receptor gene (ER), two subtypes, the alpha ER $\alpha$  and beta ER $\beta$ , have been identified (Enmark and Gustafsson, 1999). Expression of the beta subtype is clearly higher in several brain regions (Osterlund and Hurd, 2001) and male mice lacking functional ER $\beta$  have an incompletely defeminized brain and behavior (Kudwa et al., 2005). Estrogen receptor  $\alpha$  is primarily involved in masculinization, while estrogen receptor  $\beta$  has a major role in defeminization of sexual behaviors (Kudwa et al., 2005).

Moreover, animal studies have clearly demonstrated that prenatal exposure to testosterone plays a primary role in neural and behavioral sexual differentiation (Hines, 2006). Testosterone binds to and activates androgen receptors (ARs) and is converted to estrogen by aromatase cytochrome P450 (CYP19A1) in the brain and consequently activates the central estrogen receptors ER $\alpha$  and ER $\beta$ . It may cause masculinization directly by activation of AR or indirectly by activation of ERs (Sato et al., 2004; Kudwa et al., 2006).

Aromatase cytochrome P450, which is necessary for the conversion of androgens to estrogens, plays an important role in the sexual differentiation of the brain. In humans, the gene *CYP19A1* is expressed in multiple areas of the brain, notably the temporal and frontal neocortex, the hippocampus, and the hypothalamus (Stoffel-Wagner et al., 1999; Hayes et al., 2000). It is believed that sex differences in estrogen levels as a result of aromatization of androgen may explain the sexual dimorphisms found in the hypothalamus (Gorski, 1991).

Hence, the genes coding for the ER $\beta$ , AR and *CYP19A1* are reasonable candidates in the quest for genes that may influence the likelihood of developing transsexualism.

Previous studies analyzing these genes have presented discordant results. Henningson et al., (2005) in a genetic study of transsexualism in a population consisting of 29 MtFs from Sweden found significant differences when they examined the ER $\beta$  gene but not with respect to the other two studied polymorphisms (AR and *CYP19A1*). Hare et al., (2009) in a population consisting of 112 MtFs from Australia and Los Angeles (California) and 258 control non-transsexual males from Australia found a significant association between longer AR gene polymorphisms and MtF. Finally, Ujike et al., (2009) in a Japanese population of 168 FtMs and 74 MtFs found no significant differences in allelic or genotypic distribution of any gene examined (AR, ER $\alpha$ , ER $\beta$ , *CYP19A1*, and six polymorphisms: rs2008112, rs508653, V660L, H770H, rs572698 and PROGINS) between MtFs and control males or between FtMs and control females.

The aim of our study was to investigate the possible association of the karyotype and the sex hormone-related genes *ERβ*, *AR*, and *CYP19A1* with FtM and MtF transsexualism by performing a molecular analysis of the variable regions of these genes in 273 FtMs, 442 MtFs, 371 control females and 473 control males.

## Method

### Subjects

The subjects comprised 273 FtMs, 442 MtFs, 371 control females and 473 control males. The control groups were age- and geographical origin-matched females and males. The selection of FtMs and MtFs was conducted through both the Andalusian Gender Identity Unit (Carlos Haya Hospital of Málaga, Spain) and the Gender Identity Units of Catalonia (Clínica Hospital of Barcelona, Spain).

The diagnoses were made using the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) (American Psychiatric Association, 2000) and the International Classification of Diseases, tenth edition (ICD-10) (World Health Organization (WHO), 1993). All patients received medical examinations by an endocrinologist to rule out the anomaly of the external genitalia and internal sex organs. Participants had no endocrine, neurological or major psychiatric comorbidity.

Sociodemographic, clinical, and psychiatric data that included any family background of transsexuality were completed for all patients as part of similar standard clinical assessments at both clinics (Esteve de Antonio et al., 2001; Bergero et al., 2001; Gómez-Gil et al., 2009).

The control groups (XX and XY) consisted of a random group of individuals from a Spanish population, previously used in metabolic and genetic studies (Soriguer et al., 2013; Fernandez-Real et al., 2013), age and sex adjusted with the FtM and MtF groups. They were free of any neurological, systemic, or psychiatric illness, as verified by a detailed interview. The study only included heterosexual controls without karyotype alterations.

The study was initiated after obtaining approval from the Ethics Committees of the University of A Coruña, Clínica Hospital (Barcelona), and Carlos Haya Hospital (Málaga). We drafted a protocol and obtained written, informed consent from each of the participants in the study.

## **Genetic Analysis**

### ***Cytogenetic Analyses***

Peripheral blood samples were extracted for cytological and molecular analyses. Chromosomes were prepared according to standard techniques from peripheral blood (Moorhead et al., 1960) and the preparations were treated with trypsin to obtain G-banding (Seabright, 1971). Patients with chromosomal aberrations like translocations, inversions or chromosome number aberration were discarded.

### ***Genotype Assessment by High-Density (HD) Array***

Genomic DNA was extracted using the DNeasy Blood & Tissue Kit from Qiagen (Madrid, Spain). The genome-wide DNA copy number analyses were performed with CytoScan™ HD Array (Affymetrix, Madrid, Spain) in accordance with the manufacturer's instructions.

### ***Molecular Analyses***

The polymorphic regions were amplified by polymerase chain reaction (PCR) following the protocol outlined in Table 1. All genotyping was performed in a blinded fashion, and in triplicate in case of failure reactions. Finally, the fragments were analyzed by automated capillary electrophoresis 3130 XL Genetic Analyzer from Applied Biosystems (Madrid, Spain).

## **Statistical Analysis**

Independent samples were analyzed by taking the medians of Mann-Whitney U and chi-square tests, using the median length of the alleles. To calculate the cutoff point to differentiate between S and L alleles, we took into account the median of the polymorphisms of individual genes from control groups.

Analyses were performed using SPSS 17.0 software (SPSS, Chicago, IL, USA). A  $p$  value  $\leq 0.05$  was considered significant. Interactions between the three polymorphisms were evaluated using a binary logistic regression model.

## Results

### FtM Group

The analysis by HD array allowed us to examine the karyotype at the molecular level. Eleven patients from the FtM group were excluded for small autosomic pericentromeric inversions or translocations. We were unable to find any karyotypic alteration specific to transsexualism since genetic variants found in the FtM group have not clinical significance.

With respect to the analysis of polymorphisms, the FtM group (Table 2) showed 16 alleles for *ERβ*, in a range of repeats between 19-35 (>85% alleles have 24 to 30 CA repeats); nineteen different alleles for the *AR* gene, the number of repeats extending between 7 and 28 (>90% alleles have 16-24 CAG repeats); and 11 alleles for the *CYP19A1* gene with a characteristic “U” distribution.

In the control female group the molecular analysis showed 14 alleles for the *ERβ* gene extending between 18 and 31 repeats; the *AR* gene showed 16 alleles between 12 and 28 repeats and the gene *CYP19A1* showed 10 alleles between 4 and 14 repeats with the same characteristic “U” distribution.

Significant differences were found only in the *ERβ* gene when we compared the number of repeats in both populations, with a higher value in the FtM group. The *p* value obtained in the Mann-Whitney U-test was 0.002 (Table 3).

To calculate the allele frequencies, we differentiated between short and long alleles, taking into account the median of the polymorphisms for individual genes from control group. So, for the *ERβ* gene the difference between short and long alleles remained at 26 repeats, for the *AR* gene at 19 repeats and for *CYP19A1* at 8 repeats (Table 4). After this separation no significant differences were found in the distribution of long and short alleles for *AR* or *CYP19A1* but they were significant for the *ERβ* gene ( $p = 0.001$  for the chi-square test) (Table 4). The odds ratio (OR) data for the allele frequency show significant values for the L allele vs. the S: OR = 1.508 with confidence intervals at 95% (1.777–1.911).

In a second step, the lengths of the three polymorphisms were subclassified to obtain genotype frequencies. The genotypes were determined as SS, LL and heterozygous SL (Table 5). The data



show a significant association between phenotype and the *ERβ* gene,  $p = 0.001$  for the chi-square test. For all other variables no significant association was established (Table 5).

The OR data indicate a significant association only for the genotype LL versus SS: OR = 2.001 with confidence intervals at 95% (1.154 – 3.464) establishing that the probability of FtM transsexualism is greater for the genotype LL compared to SS.

Finally, we applied a binary logistic regression model. The three variables and all the possible interactions between them were included. We used the Wald statistic to evaluate the significance of coefficients (Table 6). The model fits the data based on the values of -2LL (701.761) and Cox-Snell R<sup>2</sup> (0.095) and Nagelkerke (0.129). None of these interactions were statistically significant.

### **MtF Group**

The analysis by HD array allowed us to examine the karyotype at molecular level in the MtF population. Nine patients (2.04%) were excluded for diverse karyotype alterations described in Table 7. The aneuploidies found included two Klinefelter syndrome (47,XXY), two deletions of the terminal Yq arm (46,XY,Yqh-), three inversions (46,XY inv(12)(p11;q21); 46,XY inv(9)(p11;q12); 46,XY inv(2)(p11;q13)); two Robertsonian translocations (45,XY,t(13q;14q); 45,XY,t(9;22)/46XY). We were unable to find any karyotypic alteration specific to transsexualism.

With respect to the analysis of polymorphisms, the MtF group showed 16 alleles for *ERβ* (Table 8), in a range of repetitions between 19-35 (>85% alleles have 24 to 29 CA repeats); 21 different alleles for the *AR* gene, in a range between 6 and 29 repetitions (almost 80% alleles have 16-22 CAG repeats); and 8 alleles for the *CYP19A1* gene in a range between 4-23 repetitions with a characteristic “U” distribution (>87% alleles have 7-8 or 12 TTTA repeats).

In the male control group, the molecular analysis showed 13 alleles for the *ERβ* gene extending between 19 and 31 repetitions (Table 8) (>88% alleles have 24 to 29 CA repeats); the *AR* gene showed 12 alleles between 12 and 25 repetitions (>86% alleles have 16-21 CAG repeats) and the gene *CYP19A1* showed 7 alleles between 7 and 14 repetitions with the same characteristic “U” distribution (86% alleles have 7-8 or 12 TTTA repeats).

Significant differences were found only in the *CYP19A1* gene when we compared the number of repeats in both populations (Table 9), but this significance disappears when calculating allele and genotype frequencies (Tables 10 and 11).

To calculate the allele frequencies we differentiate between S and L alleles, taking into account the median of the polymorphisms from control group. So, for the *ERβ* gene the difference between S and L alleles remained at 27 repeats, for the *AR* gene at 19 repeats and for *CYP19A1* at 8 repeats (Table 10). After this separation no significant differences were found in the distribution of S and L alleles for the genes.

In a second step, the lengths of the three polymorphisms were subclassified to obtain genotype frequencies (Table 11). The genotypes were determined as SS, LL, and heterozygous SL for the genes *ERβ* and *CYP19A1*, and S or L for the gene *AR*. For all variables no significant association was established. The odds ratio data indicate no significant differences (Table 12).

Finally, we applied a binary logistic regression model. The three variables and all the possible interactions among them were included in the model. We used the Wald statistic to evaluate the significance of the model coefficients (Table 13). None of these interactions were statistically significant.

## Discussion

We investigated the possible influence of the sex hormone-related genes *ERβ*, *AR*, and *CYP19A1* on the etiology of FtM and MtF transsexualism by performing a molecular analysis of the variable regions (the CA repeats in intron 5 of *ERβ*, the CAG repeats in exon 1 of *AR*, and the TTTA repeats in intron 4 of *CYP19A1*) in 273 FtMs, 442 MtFs, 371 control females and 473 control males. To the best of our knowledge, this is the largest group of transsexuals analyzed so far.

In accordance with previous data of aneuploidy in transsexual populations (Hengstschlager et al., 2003; Bearman G, 2007; Wylie and Steward, 2008; Inoubli et al., 2011; Auer et al., 2013), our data show a low incidence of chromosomal abnormalities in the transsexual population (3%) but slightly higher than in the general population (0.53%) (Maeda et al., 1991). Maeda et al., (1991) found 93 karyotype aberrations (52 in males, 41 in females) corresponding to a prevalence of 0.63% in a series of 14,835 liveborn infants.

The analysis by HD array showed no karyotypic alteration specific to transsexualism, which is in accordance with earlier reports based in the analysis of the karyotype from G bands. But, interestingly, the prevalence that was found in the current study was very similar to the previously reported ones (Hengstschlager et al., 2003; Bearman G. 2007; Wylie and Steward, 2008; Inoubli et al., 2011; Auer et al., 2013). Inoubli et al., (2011) in a retrospective study of 368 transsexual individuals found a normal karyotype in 97.55%. Prevalence of abnormal karyotypes was 3.19% among MtFs, and 0.85% among FtMs. Auer et al., (2013) in a retrospective study of the Barr body and the karyotype in 270 transsexual individuals (165 MtF/105 FtM) reported that the prevalence of chromosomal abnormality in both groups was 1.5% (2.9% in the FtM and 0.6% in the MtF group). Wylie and Steward, (2008) found only one abnormal karyotype 47,XYY/46,XY in a population of 52 transsexual individuals. Hengstschlager et al., (2003) in an extensive cytogenetic and molecular analysis in a transsexual population of 30 MtFs and 31 FtMs could not detect any chromosomal aberrations with the exception of one balanced translocation 46,XY,t(6;17)(p21.3;q23). Bearman (2007) reported 2.5% variant karyotypes in about 400 transsexuals.

Our case series is the largest number of analyses of karyotypes from FtM and MtF reported in the literature, and it confirms that genetic aberrations detectable at the chromosome level are not significantly associated with transsexualism.

To the best of our knowledge, this is the first time that a technique of genotype assessment by HD array has been applied to research transsexualism. This allowed us to perform an exhaustive analysis of any type of small chromosomal alteration. So using this new advanced technique of molecular karyotyping and looking for the homogeneity of the sample analyzed, we excluded any chromosome alteration that may be disturbing the results.

With regard to the molecular study, to investigate the possible influence of the sex hormone-related genes on the etiology of transsexualism, we grouped the data into S and L alleles according to the median repeat length polymorphism obtained from control groups, obtaining the individual's genotype (SS, SL or LL) for the genes *ERβ*, *CYP19A1* and *AR* only in females, and (S or L) for the gene *AR* in males.

FtMs differed from the female control group with respect to the median length of the *ERβ* polymorphism but not with respect to the length of the other two studied genes. Considering the data for categorical variables of S and L alleles, and the genotypes SS, SL, and LL, we found

significant *p* values for *ERβ* gene and genotype frequencies but not for *AR* and *CYP19A1* genes. A greater number of CA repeats corresponds to greater probabilities of FtM transsexualism.

In the case of the *AR* and *CYP19A1* genes, we did not find any relationship between the genes and FtM transsexualism. However, in the case of exon 5 of the *ERβ* gene, and contrary to that described by Ujike et al., (2009), we found a direct relationship between the length of the variable region and FtM transsexualism, so the greater the number of repeats, the greater the susceptibility to transsexualism.

Although there are numerous studies showing the inverse relationship between the length of the *AR* gene and the activity of the hormone-receptor complex (Chamberlain et al., 1994; Kazemi-Esfarjani et al., 1995; Tut et al., 1997), there are no data indicating that this same inverse relationship exists in the case of *ERβ*. Some works bear on this possibility; Kudwa et al., (2006) found that male mice lacking functional *Erβ*, when treated with the appropriate hormonal priming, display significantly more female-like sexual receptivity than littermates. Yet, lack of functional *ERβ* receptors does not impair normal expression of adult masculine sexual behavior.

They found no evidence showing that masculinization is deficient in *ERβ*KO males (rats genetically modified without the *Erβ* gene); however, they propose that the defeminization process is incomplete in *ERβ*KO males. Our data, like previous studies (Westberg et al., 2001; Kudwa et al., 2005), support the finding that a functioning *ERβ* receptor is directly proportional to the size of the analyzed polymorphism, so a greater number of repeats implies greater transcription activation, therefore, an increase in *ERβ* receptor function, and finally, an increase in defeminization in females. Thus, one could propose that the greater efficiency of the estrogen-receptor complex by a high number of repeats would lead to a reduction in feminization, favoring a defeminization process (Even et al., 1994). Defeminization of the corticospinal tract has been described in FtMs (Rametti et al., 2011).

Westberg et al., (2001) found that women with relatively few CA repeats of the *ERβ* gene displayed higher testosterone levels and lower sex steroid hormone-binding globulin levels than those with many CA repeats. The apparent association between a short CA repeat region of the *ERβ* gene and high levels of testosterone suggests that this variant of the gene leads to a less active receptor (Hsiao et al., 1999). Needless to say, a detailed discussion of the possible mechanisms underlying the apparent association between the *ERβ* gene polymorphism studied and the hormonal activity must await further clarification of the influence of this polymorphism on receptor function.

With regard to the molecular study, MtFs did not differ from the male control group with respect to the median length of none of the polymorphisms. Considering the data for categorical variables of S and L alleles, and the genotypes, we did not find any significant values for *ERβ*, *AR* or *CYP19A1* genes.

Our data complement a previous study on transsexualism from Ujike et al., (2009), who examined the same three polymorphisms in a transsexual Japanese population (MtF and FtM). These authors analyzed so far the largest MtF population (74 MtF and 168 FtM), although the sample analyzed by us in this paper surpasses that analyzed by Ujike et al., In accordance with our study, these authors did not find any association either between the three polymorphisms and MtF transsexualism nor any interactions between the genetic variables.

Moreover, there are another two works addressing the molecular analysis of transsexualism: Henningsson et al., (2005) in a population of 29 Swedish MtFs, found significant differences when they examined the *ERβ* gene. They found that CA repeats in *ERβ* were significantly higher in MtFs than in controls. Furthermore, a logistic regression analysis also indicated significant associations of the three genes with MtF. However, because the *p* values were marginal and the patient number was quite small, the possibility of a type I error cannot be fully excluded.

In 2009, Hare et al., tried to replicate the findings in a larger sample consisting of 112 MtFs from Australia and Los Angeles (California) and 258 non-transsexual control males from Australia, and found significantly longer repeats of *AR* in patients than in controls, but not of *ERβ* or *CYP19A1*. However, the *p* value was again marginal (*p* = 0.04), and they compared different populations (Australian and Los Angeles (USA)). There might be differences between the two populations in this polymorphism that could be altering the statistics data (Sasaki et al., 2003). To the best of our knowledge, little is known about the distribution of these repeats among different human populations.

The number in our Spanish MtF sample was 442 MtFs, the largest MtF population analyzed so far, and it showed no significant association of MtF with *AR*, *ERβ* or *CYP19A1*. Significant differences (*p* = 0.022) were found only in the *CYP19A1* gene when we compared the number of repeats in both populations, but this significance disappears (*p* = 0.079 and *p* = 0.205) when calculating allele and genotype frequencies (Tables 11-13).

Aromatase cytochrome P450 (CYP19A1) is necessary for the conversion of androgens to estrogens, and it plays an important role in the sexual differentiation of the brain, but it has been previously demonstrated that variation in the gene for this subunit of the aromatase enzyme complex is not likely to be a major factor in male sexual orientation (DuPree et al., 2004).

The present study has several strengths. To the best of our knowledge, this is the first time that a technique of HD Array is applied to research transsexualism. This technique allows us to exclude any chromosome alterations that may be disturbing the results. Furthermore, this study has one of the largest sample sizes of MtFs analyzed.

However, there were some limitations in the present study. First, there are other variable regions and other genes that could be analyzed and that could complement our study. A second limitation, common to all human genetic studies, is that we were limited by the DNA sequence variability present in the particular population we studied.

Thus, our results do not suggest that *AR*, *ERβ* and aromatase per se play a role in the development of MtF transsexualism, and that naturally occurring variations in genes *AR*, *ERβ* and *CYP19A1* may not play a major role in MtF transsexualism.

## Conclusions

1. Our data reveals that genetic aberrations detectable at the chromosome level are not significantly associated with transsexualism. The analysis of the karyotype only provides very limited information in the transsexual population.
2. Our data confirm a low incidence of chromosomal abnormalities in the transsexual population (3%) but higher than in the general population (0.53%).
3. Our data support the association between the *ERβ* gene and FtM transsexualism. The higher number of CA repeats implies greater transcription activation, and therefore, also lower feminization or a greater defeminization. Thus, the susceptibility to transsexualism was higher in the subjects with genotype homozygous LL (long/long alleles).
4. MtF transsexualism is not influenced by the regions analyzed.

## **Acknowledgments**

This work was supported by grants PSI2010-15115 (EP) and PSI2011-24496 (AG). We are grateful to the patients and control subjects who voluntarily participated in the study.

All authors contributed to and have approved the final manuscript. The authors declare no conflict of interest.

**Table 1***Description of the polymorphic regions analyzed*

<i>Gene</i>	<i>Description</i>	<i>Position</i>	<i>Tandem repeat</i>	<i>Primers</i>	<i>Cycles and temperatures</i>
<b>ERβ</b>	(Tsukamoto et al., 1998)	14q22–24	(CA)n intron 5	5'-AACAAAATGTTGAATGAGTGGG-3' 5'-GGTAAACCATGGTCTGTACC-3' FAM	35 cycles: 92 °C 40 sec 57 °C 40 sec 72 °C 40 sec 72 °C 10 min
<b>AR</b>	(Sleddens et al., 1992)	Xq11-12	(CAG)n exon 1	5'-GTTCTCATCCAGGACCAGGTA-3' 5'-GTGCGCGAAGTGATCCAGA-3' HEX	35 cycles: 92 °C 1 min 56 °C 1 min 72 °C 1 min 72 °C 10min
<b>CYP19A1</b>	(Polymeropoulos et al., 1991)	15q21.1	(TTTA)n intron 4	5'-TTACAGTGAGCCAAGGTCGT-3' 5'-GCAGGTACTTAGTTAGCTAC-3' NED	35 cycles: 92 °C 1 min 58 °C 1 min 72 °C 1 min 72 °C 10 min



**Table 2**

*The alleles identified in this study. The table lists the frequencies of the alleles in XX controls and FtM for the ER $\beta$ , AR and CYP19A1 genes*

<b>ER<math>\beta</math> repeat</b>	<b>Frequency</b>	<b>Frequency</b>	<b>AR repeat</b>	<b>Frequency</b>	<b>Frequency</b>	<b>CYP19A1</b>	<b>Frequency</b>	<b>Frequency</b>
<b>18</b>	1.01%	0.00%	<b>7</b>	0.00%	0.21%	<b>4</b>	0.81%	0.20%
<b>19</b>	4.66%	0.42%	<b>8</b>	0.00%	0.00%	<b>5</b>	0.00%	0.00%
<b>20</b>	5.26%	3.15%	<b>9</b>	0.00%	0.00%	<b>6</b>	0.40%	0.41%
<b>21</b>	8.30%	2.31%	<b>10</b>	0.00%	0.00%	<b>7</b>	30.73%	34.90%
<b>22</b>	6.28%	2.31%	<b>11</b>	0.00%	1.07%	<b>8</b>	24.12%	18.78%
<b>23</b>	1.21%	2.31%	<b>12</b>	1.62%	0.43%	<b>9</b>	4.99%	5.71%
<b>24</b>	8.70%	9.66%	<b>13</b>	0.00%	0.21%	<b>10</b>	1.62%	0.41%
<b>25</b>	3.44%	3.99%	<b>14</b>	0.40%	1.07%	<b>11</b>	7.95%	2.45%
<b>26</b>	9.31%	7.98%	<b>15</b>	0.81%	1.50%	<b>12</b>	28.57%	33.47%
<b>27</b>	22.06%	24.16%	<b>16</b>	10.93%	9.40%	<b>13</b>	0.67%	2.65%
<b>28</b>	21.05%	26.26%	<b>17</b>	17.81%	13.68%	<b>14</b>	0.13%	0.20%
<b>29</b>	6.68%	10.50%	<b>18</b>	14.98%	14.53%	<b>15</b>	0.00%	0.41%
<b>30</b>	1.21%	4.62%	<b>19</b>	13.77%	13.68%			
<b>31</b>	0.81%	1.05%	<b>20</b>	8.91%	12.18%			
<b>32</b>	0.00%	0.21%	<b>21</b>	11.74%	12.18%			
<b>33</b>	0.00%	0.21%	<b>22</b>	7.29%	8.12%			
<b>34</b>	0.00%	0.00%	<b>23</b>	4.86%	5.98%			
<b>35</b>	0.00%	0.84%	<b>24</b>	4.45%	3.21%			
			<b>25</b>	0.40%	1.50%			
			<b>26</b>	1.62%	0.43%			
			<b>27</b>	0.00%	0.43%			
			<b>28</b>	0.40%	0.21%			

**Table 3**

*Median data of tandem repeats of ERβ, AR, and CYP19A1 in FtM and XX control group*

<i>Gene</i>	<i>Group</i>	<i>N</i>	<i>Mean of tandem repeats</i>	<i>SD</i>	<i>Mann-Whitney U-test</i>	<i>p value</i>
<i>ERβ</i>	Control group	371	25.56	1.90	31918	0.002 <sup>a</sup>
	FtM group	238	26.83	1.86		
<i>AR</i>	Control group	365	19.27	1.88	40992	0.402 <sup>b</sup>
	FtM group	236	19.45	2.19		
<i>CYP19A1</i>	Control group	371	9.33	1.56	42524	0.160 <sup>b</sup>
	FtM group	245	9.51	2.24		

<sup>a</sup> Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$ .

<sup>b</sup> Nonsignificant differences with respect to control group;  $p > 0.05$ .

FtM = female-to-male; SD = standard deviation.

**Table 4**

*Data of the allele frequencies for ERβ, AR, and CYP19A1 after division into short and long alleles*

<i>Gene</i>	<i>Allele</i>	<i>Frequencies FtM group</i>	<i>Frequencies Control group</i>	<i>Chi-square test</i>	<i>p value</i>
<i>ERβ</i>	Short (<26)	150 (31.51%)	303 (40.84%)	9.759	0.001 <sup>a</sup>
	Long (≥26)	326 (68.49%)	439 (59.16%)		
<i>AR</i>	Short (<19)	476 (100%)	742 (100%)	1.618	0.203 <sup>b</sup>
	Long (≥19)	253 (53.6%)	374 (44.38%)		
<i>CYP19A1</i>	Short (<8)	219 (46.4%)	376 (55.62%)	0.53	0.466 <sup>b</sup>
	Long (≥8)	472 (100%)	730 (100%)		
		285 (52.2%)	416 (56.06%)		
		205 (41.8%)	326 (43.94%)		
		490 (100%)	742 (100%)		

<sup>a</sup> Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$ .

<sup>b</sup> Nonsignificant differences with respect to control group;  $p > 0.05$ .

FtM = female-to-male.

RESULTADOS

**Table 5**

*Frequencies of the genotypes for ERβ, AR, and CYP19A1 after division into SS, SL, and LL genotypes*

<i>Gene</i>	<i>Genotype</i>	<i>Frequencies FtM group</i>	<i>Frequencies Control group</i>	<i>Chi-square test</i>	<i>p value</i>
<i>ERβ</i>	SS	24 (10.08%)	51 (13.75%)	13.086	0.001 <sup>a</sup>
	SL	102 (42.86%)	201 (54.18%)		
	LL	112 (47.11%)	119 (32.08%)		
		238 (100%)	371 (100%)		
<i>AR</i>	SS	73 (30.9%)	101 (26.93%)	1.497	0.473 <sup>b</sup>
	SL	107 (45.3%)	172 (45.87%)		
	LL	56 (23.7%)	102 (27.20%)		
		236 (100%)	365 (100%)		
<i>CYP19A1</i>	SS	79 (32.2%)	113 (30.46%)	0.656	0.720 <sup>b</sup>
	SL	127 (51.8%)	190 (51.21%)		
	LL	39 (15.09%)	68 (18.33%)		
		245 (100%)	371 (100%)		

<sup>a</sup> Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$ .

<sup>b</sup> Nonsignificant differences with respect to control group;  $p > 0.05$ .

FtM = female-to-male; L = long allele; S = short allele.

**Table 6**

*Binary logistic regression analyses of gene–gene interactions for susceptibility to FtM Transsexualism*

<i>Gene</i>	<i>df</i>	<i>Wald</i>	<i>p value</i>
<i>ERβ</i>	1	11.626	0.001 <sup>a</sup>
<i>AR</i>	1	3.223	0.073 <sup>b</sup>
<i>CYP19A1</i>	1	1.337	0.248 <sup>b</sup>
<i>AR by ERβ</i>	2	0.716	0.397 <sup>b</sup>
<i>AR by CYP19A1</i>	2	0.296	0.586 <sup>b</sup>
<i>CYP19A1 by ERβ</i>	2	0.076	0.783 <sup>b</sup>
<i>AR by CYP19A1 by ERβ</i>	3	0.523	0.470 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$ .

<sup>b</sup> Nonsignificant differences with respect to control group;  $p > 0.05$ .

FtM = female-to-male.

df = degrees of freedom

**Table 7***Altered karyotypes found in MtF group that were excluded from the study*

<b><i>Karyotype</i></b>	<b><i>N</i></b>	<b><i>%</i></b>
Karyotype available	442	100%
Unremarkable karyotype	433	97.96%
47,XXY	2	0.45%
46,XY,Yqh-	2	0.45%
46,XY inv(12)(p11;q21)	1	0.23%
46,XY inv(9)(p11;q12)	1	0.23%
46,XY inv(2)(p11;q13)	1	0.23%
45,XY,t(13q;14q)	1	0.23%
45XY,t(9;22)/46XY	1	0.23%

**Table 8**

*The alleles identified in this study. The table lists the frequencies of the alleles in male control group and MtF for the ER $\beta$ , AR and CYP19A1 genes*

<i>ER<math>\beta</math> repeat length</i>	<i>Frequency control group</i>	<i>Frequency MtF</i>	<i>AR repeat length</i>	<i>Frequency control group</i>	<i>Frequency MtF</i>	<i>CYP19A1 repeat length</i>	<i>Frequency control group</i>	<i>Frequency MtF</i>
<b>18</b>	0.00%	0.00%	<b>6</b>	0.00%	0.23%	<b>4</b>	0.00%	1.16%
<b>19</b>	0.36%	0.36%	<b>7</b>	0.00%	0.00%	<b>5</b>	0.00%	0.00%
<b>20</b>	4.63%	3.45%	<b>8</b>	0.00%	0.00%	<b>6</b>	0.00%	0.00%
<b>21</b>	1.42%	2.86%	<b>9</b>	0.00%	0.00%	<b>7</b>	26.92%	33.87%
<b>22</b>	1.07%	2.14%	<b>10</b>	0.00%	0.23%	<b>8</b>	27.27%	23.35%
<b>23</b>	1.07%	2.14%	<b>11</b>	0.00%	1.17%	<b>9</b>	8.04%	6.24%
<b>24</b>	8.54%	13.45%	<b>12</b>	2.14%	1.87%	<b>10</b>	0.00%	0.00%
<b>25</b>	6.05%	3.81%	<b>13</b>	0.00%	0.70%	<b>11</b>	2.45%	1.50%
<b>26</b>	14.59%	9.52%	<b>14</b>	0.71%	1.64%	<b>12</b>	31.82%	30.40%
<b>27</b>	22.42%	23.93%	<b>15</b>	0.00%	2.11%	<b>13</b>	3.15%	3.24%
<b>28</b>	25.98%	23.57%	<b>16</b>	9.29%	10.07%	<b>14</b>	0.35%	0.23%
<b>29</b>	11.39%	10.24%	<b>17</b>	17.14%	14.05%	<b>15</b>	0.00%	0.00%
<b>30</b>	2.14%	2.50%	<b>18</b>	21.43%	14.05%			
<b>31</b>	0.36%	1.07%	<b>19</b>	12.14%	11.01%			
<b>32</b>	0.00%	0.60%	<b>20</b>	15.00%	10.07%			
<b>33</b>	0.00%	0.00%	<b>21</b>	12.86%	10.07%			
<b>34</b>	0.00%	0.12%	<b>22</b>	4.29%	11.24%			
<b>35</b>	0.00%	0.24%	<b>23</b>	2.14%	4.92%			
			<b>24</b>	1.43%	2.11%			
			<b>25</b>	1.43%	1.17%			
			<b>26</b>	0.00%	1.41%			
			<b>27</b>	0.00%	1.17%			
			<b>28</b>	0.00%	0.47%			
			<b>29</b>	0.00%	0.23%			

**Table 9**

*Dates of the median data of tandem repeats of ER $\beta$ , AR and CYP19A1 in MtF and male control group*

<i>Gene</i>	<i>Group</i>	<i>N</i>	<i>Mean of tandem repeats</i>	<i>SD</i>	<i>Mann-Whitney U-test</i>	<i>p value</i>
<i>ER<math>\beta</math></i>	Control group	471	26.49	2.40	379964.5	0.342 <sup>b</sup>
	MtF group	414	26.41	2.51		
<i>AR</i>	Control group	467	18.90	2.77	93499.0	0.226 <sup>b</sup>
	MtF group	420	19.05	3.21		
<i>CYP19A1</i>	Control group	472	9.29	2.19	379771.5	0.022 <sup>a</sup>
	MtF group	428	9.11	2.34		

<sup>a</sup> Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$ .

<sup>b</sup> Nonsignificant differences with respect to control group;  $p > 0.05$ .

MtF = male-to-female; SD = standard deviation.

**Table 10***Data of the allele frequencies for ERβ, AR and CYP19A1 after division into short and long alleles*

<i>Gene</i>	<i>Allele</i>	<i>Frequencies MtF group</i>	<i>Frequencies Control group</i>	<i>Chi-square test</i>	<i>p value</i>
<i>ERβ</i>	Short (<27)	311 (37.56%)	359 (38.12%)	0.057	0.8443 <sup>b</sup>
	Long (≥27)	517 (62.44%)	583 (61.88%)		
		828 (100%)	942 (100%)		
<i>AR</i>	Short (<19)	194 (46.19%)	230 (49.25%)	0.832	0.381 <sup>b</sup>
	Long (≥19)	226 (53.81%)	237 (50.75%)		
		420 (100%)	467 (100%)		
<i>CYP19A1</i>	Short (≤ 8)	504 (58.88%)	517 (54.77%)	3.091	0.079 <sup>b</sup>
	Long (>8)	352 (41.12%)	427 (45.23%)		
		856 (100%)	944 (100%)		

<sup>a</sup> Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$ .<sup>b</sup> Nonsignificant differences with respect to control group;  $p > 0.05$ .

MtF = male-to-female.

**Table 11***Frequencies of the genotypes for ERβ, AR and CYP19A1 after division into SS, SL and LL*

<i>Gene</i>	<i>Genotype</i>	<i>Frequencies MtF group</i>	<i>Frequencies Control group</i>	<i>Chi-square test</i>	<i>p value</i>
<i>ERβ</i>	SS	48 (11.59%)	55 (11.68%)	0.101	0.9479 <sup>b</sup>
	SL	215 (51.93%)	249 (52.87%)		
	LL	151 (36.47%)	167 (35.46%)		
		414 (100%)	471 (100%)		
<i>AR</i>	S	194 (46.19%)	230 (49.25%)	0.836	0.3818 <sup>b</sup>
	L	226 (53.81%)	237 (50.75%)		
		420 (100%)	467 (100%)		
<i>CYP19A1</i>	SS	149 (34.81%)	145 (30.72%)	3.143	0.205 <sup>b</sup>
	SL	206 (48.13%)	227 (48.09%)		
	LL	73 (17.06%)	100 (21.19%)		
		428 (100%)	472 (100%)		

<sup>a</sup> Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$ .<sup>b</sup> Nonsignificant differences with respect to control group;  $p > 0.05$ .

MtF = male-to-female; L = long allele; S = short allele.

**Table 12***The Odds Ratio values*

<i>Gene</i>	<i>Odds Ratio</i>	<i>p value</i>
<i>ERβ OR Long /Short (L/S)</i>	1.0237 (0.8444 to 1.2410)	0.8118 <sup>b</sup>
<i>AR OR Long /Short (L/S)</i>	1.1305 (0.8682 to 1.4722)	0.3624 <sup>b</sup>
<i>CYP19A1 OR Long /Short (L/S)</i>	0.8456 (0.7014 to 1.0195)	0.0788 <sup>b</sup>
<i>ERβ OR Long-Long /Short-Short (LL/SS)</i>	1.0361 (0.6637 to 1.6173)	0.8761 <sup>b</sup>
<i>AR OR Long-Long /Short-Short (LL/SS)</i>	1.1305 (0.8682 to 1.4722)	0.3624 <sup>b</sup>
<i>CYP19A1 OR Long-Long /Short-Short (LL/SS)</i>	0.7104 (0.4865 to 1.0373)	0.0767 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$ .<sup>b</sup> Nonsignificant differences with respect to control group;  $p > 0.05$ .**Table 13***Binary logistic regression analyses of gene-gene interactions for susceptibility to MtF transsexualism*

<i>Gene</i>	<i>df</i>	<i>Wald</i>	<i>p value</i>
<i>ERβ</i>	1	-0.538	0.591 <sup>b</sup>
<i>AR</i>	1	0.638	0.523 <sup>b</sup>
<i>CYP19A1</i>	1	-1.432	0.152 <sup>b</sup>
<i>AR by ERβ</i>	2	-0.047	0.962 <sup>b</sup>
<i>AR by CYP19A1</i>	2	0.172	0.864 <sup>b</sup>
<i>CYP19A1 by ERβ</i>	2	1.244	0.214 <sup>b</sup>
<i>AR by CYP19A1 by ERβ</i>	3	-0.685	0.493 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Significant differences with respect to control group;  $p \leq 0.05$ .<sup>b</sup> Nonsignificant differences with respect to control group;  $p > 0.05$ .

MtF = male-to-female.

df = degrees of freedom.



---

## References

- American Psychiatric Association (2000) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th ed. DSM-IV-TR, Washington, DC.
- Auer, M.K., Fuss, J., Stalla, G.K., and Athanasoulia, A.P. (2013) Twenty years of endocrinologic treatment in transsexualism: analyzing the role of chromosomal analysis and hormonal profiling in the diagnostic work-up. *Fertil. Steril.* 100(4):1103-10.
- Baba, T., Endo, T., Honnma, H., Kitajima, Y., Hayashi, T., Ikeda, H., Masumori, N., Kamiya, H., Moriwaka, O., and Saito, T. (2007) Association between polycystic ovary syndrome and female-to-male transsexuality. *Hum. Reprod.* 22(4):1011-6.
- Bakker, A., van Kesteren, P.J., Gooren, L.J., and Bezemer, P.D. (1993) The prevalence of transsexualism in The Netherlands. *Acta Psychiatr. Scand.* 87(4):237-238.
- Bao, A.M. and Swaab, D.F. (2011) Sexual differentiation of the human brain: relation to gender identity, sexual orientation and neuropsychiatric disorders. *Front Neuroendocrinol.* 32(2):214-26.
- Bearman G. (2007) Karyotyping and genetics in the transgendered population. In: Ettner R, Monstrey S, Eyler AE, eds. *Principles of transgender medicine and surgery*. New York: Haworth Press.
- Bentz, E.K., Hefler, L.A., Kaufmann, U., Huber, J.C., Kolbus, A., and 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. *Fertil. Steril.* 90(1):56-59.
- Bergero, M.T., Cano, O.G., Esteva de Antonio, I., Giraldo, F., Gornemann, S.I., and Álvarez, O.P. (2001) Evaluación diagnóstica y seguimiento psicológico en la Unidad de Trastornos de Identidad de Género de Andalucía (Málaga). *Cir. Plast. Iberlatinamer.* 27:263-272.
- Bocklandt, S. and Vilain, E. (2007) Sex differences in brain and behavior: hormones versus genes. *Adv. Genet.* 59:245-66.
- Chamberlain, N.L., Driver, E.D., and Miesfeld, R.L. (1994) The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucleic Acids Res.* 22(15):3181-3186.
- DuPree, M.G., Mustanski, B.S., Bocklandt, S., Nievergelt, C., and Hamer, D.H. (2004) A candidate gene study of CYP19 (aromatase) and male sexual orientation. *Behav. Genet.* 34(3):243-50.
- Enmark, E. and Gustafsson, J.A. (1999) Oestrogen receptors - an overview. *J. Intern. Med.* 246(2):133-138.

- Esteva de Antonio, I., Bergero Miguel, T., Giraldo Ansio, F., Cano Oncala, G., Ruyz de Adana, S., Crespillo Gómez, C., and Soriguer Escofet, F. (2001) Unidad de trastornos de identidad de género en Andalucía. Experiencia del primer año de funcionamiento [Gender identity disorder unit in Andalusia. The experience of the first year]. *Endocrinología y Nutrición* 49:71–74.
- Even, M.D., Laughlin, M.H., Krause, G.F., and vom Saal, F.S. (1994) Differences in blood flow to uterine segments and placentae in relation to sex, intrauterine location and side in pregnant rats. *J. Reprod. Fertil.* 102(1):245-252.
- Fernandez-Real, J.M., Corella, D., Goumidi, L., Mercader, J.M., Valdes, S., Rojo Martinez, G., Ortega, F., Martinez-Larrad, M.T., Gómez-Zumaquero, J.M., Salas-Salvado, J., Martinez Gonzalez, M.A., Covas, M.I., Botas, P., Delgado, E., Cottel, D., Ferrieres, J., Amouyel, P., Ricart, W., Ros, E., Meirhaeghe, A., Serrano-Rios, M., Soriguer, F., and Estruch, R. (2013) Thyroid hormone receptor alpha gene variants increase the risk of developing obesity and show gene-diet interactions. *Int. J. Obes. (Lond)* 37:1499-1505.
- Fernández, R., Esteva, I., Gómez-Gil, E., Rumbo, T., Almaraz, M.C., Roda, E., Haro-Mora, J.J., Guillamón, A., and Pásaro, E. (2013) The (CA)<sub>n</sub> Polymorphism of ERbeta Gene is Associated with FtM Transsexualism. *J. Sex Med.* 11:720-28.
- Fernández, R., Esteva, I., Gómez-Gil, E., Rumbo, T., Almaraz, M.C., Roda, E., Haro-Mora, J.J., Guillamón, A., and Pásaro, E. (2014): The genes ERβ, AR and CYP19A1 are not associated with MtF transsexual individuals. *J. Sex Med.* In press.
- García-Falgueras, A. and Swaab, D.F. (2008) A sex difference in the hypothalamic uncinate nucleus: relationship to gender identity. *Brain* 131(Pt 12):3132-3146.
- Gooren, L. (2006) The biology of human psychosexual differentiation. *Horm Behav* 50(4):589-601.
- Gorski RA (1991) Sexual differentiation of the endocrine brain and its control. In M. Motta (ed.), *Brain Endocrinology*. New York: Raven.
- Green, R. (2000) Birth order and ratio of brothers to sisters in transsexuals. *Psychol Med.* 30(4):789-95.
- Green, R. and Keverne, E.B. (2000) The disparate maternal aunt-uncle ratio in male transsexuals: an explanation invoking genomic imprinting. *J. Theor. Biol.* 202(1):55-63.
- Gómez-Gil, E., Esteva, I., Almaraz, M.C., Pasaro, E., Segovia, S., and Guillamón, A. (2010) Familiarity of gender identity disorder in non-twin siblings. *Arch. Sex Behav.* 39(2):546-52.
- Gómez-Gil, E., Trilla, A., Salamero, M., Godas, T., and Valdés, M. (2009) Sociodemographic, clinical, and psychiatric characteristics of transsexuals from Spain. *Arch. Sex Behav.* 38(3):378-392.

- Hare, L., Bernard, P., Sánchez, F.J., Baird, P.N., Vilain, E., Kennedy, T., and Harley, V.R. (2009) Androgen receptor repeat length polymorphism associated with male-to-female transsexualism. *Biol. Psychiatry* 65(1):93-96.
- Hayes, F.J., Seminara, S.B., Decruz, S., Boepple, P.A., and Crowley, W.F. Jr (2000) Aromatase inhibition in the human male reveals a hypothalamic site of estrogen feedback. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85(9):3027-35.
- Hengstschlager, M., van Trotsenburg, M., Repa, C., Marton, E., Huber, J.C., and Bernaschek, G. (2003) Sex chromosome aberrations and transsexualism. *Fertil. Steril.* 79(3):639-40.
- Henningsson, S., Westberg, L., Nilsson, S., Lundstrom, B., Ekselius, L., Bodlund, O., Lindstrom, E., Hellstrand, M., Rosmond, R., Eriksson, E., and Landen, M. (2005) Sex steroid-related genes and male-to-female transsexualism. *Psychoneuroendocrinology* 30(7):657-664.
- Heylens, G., De Cuypere, G., Zucker, K.J., Schelfaut, C., Elaut, E., Vanden Bossche, H., De Baere, E., and T'Sjoen, G. (2012) Gender identity disorder in twins: a review of the case report literature. *J. Sex Med.* 9(3):751-7.
- Hines, M. (2006) Prenatal testosterone and gender-related behaviour. *Eur. J. Endocrinol.* 155 (Suppl 1):115-121.
- Hsiao, P.W., Lin, D.L., Nakao, R., and Chang, C. (1999) The linkage of Kennedy's neuron disease to ARA24, the first identified androgen receptor polyglutamine region-associated coactivator. *J. Biol. Chem.* 274(29):20229-20234.
- Inoubli, A., De Cuypere, G., Rubens, R., Heylens, G., Elaut, E., Van Caenegem, E., Menten, B., and T'Sjoen, G. (2011) Karyotyping, is it worthwhile in transsexualism? *J Sex Med.* 8(2):475-8.
- Kazemi-Esfarjani, P., Trifiro, M.A., and Pinsky, L. (1995) Evidence for a repressive function of the long polyglutamine tract in the human androgen receptor: possible pathogenetic relevance for the (CAG)<sub>n</sub>-expanded neuropathies. *Hum. Mol. Genet.* 4(4):523-527.
- Kockett, G. and Fahrner, E.M. (1987) Transsexuals who have not undergone surgery: A follow up study. *Arch. Sex Behav.* 16:511-22.
- Kruijver, F.P., Zhou, J.N., Pool, C.W., Hofman, M.A., Gooren, L.J., and Swaab, D.F. (2000) Male-to-female transsexuals have female neuron numbers in a limbic nucleus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85(5):2034-2041.
- Kudwa, A.E., Bodo, C., Gustafsson, J.A., and Rissman, E.F. (2005) A previously uncharacterized role for estrogen receptor beta: defeminization of male brain and behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 102(12):4608-4612.

- Kudwa, A.E., Michopoulos, V., Gatewood, J.D., and Rissman, E.F. (2006) Roles of estrogen receptors alpha and beta in differentiation of mouse sexual behavior. *Neuroscience* 138(3):921-928.
- Landen, M., Walinder, J., and Lundstrom, B. (1996) Incidence and sex ratio of transsexualism in Sweden. *Acta Psychiatr. Scand.* 93(4):261-263.
- Luders, E., Sanchez, F.J., Gaser, C., Toga, A.W., Narr, K.L., Hamilton, L.S., and Vilain, E. (2009) Regional gray matter variation in male-to-female transsexualism. *Neuroimage* 46(4):904-7.
- Luders, E., Sanchez, F.J., Tosun, D., Shattuck, D.W., Gaser, C., Vilain, E., and Toga, A.W. (2012) Increased Cortical Thickness in Male-to-Female Transsexualism. *J. Behav. Brain. Sci.* 2(3):357-362.
- Maeda, T., Ohno, M., Matsunobu, A., Yoshihara, K., and Yabe, N. (1991) A cytogenetic survey of 14,835 consecutive liveborns. *Jinrui Idengaku Zasshi* 36(1):117-29.
- Moorhead, P.S., Nowell, P.C., Mellman, W.J., Battips, D.M., and Hungerford, D.A. (1960) Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell Res.* 20:613-616.
- Osterlund, M.K. and Hurd, Y.L. (2001) Estrogen receptors in the human forebrain and the relation to neuropsychiatric disorders. *Prog. Neurobiol.* 64(3):251-267.
- Polymeropoulos, M.H., Xiao, H., Rath, D.S., and Merrill, C.R. (1991) Tetranucleotide repeat polymorphism at the human aromatase cytochrome P-450 gene (CYP19). *Nucleic Acids Res.* 19(1):195.
- Rametti, G., Carrillo, B., Gómez-Gil, E., Junqué, C., Zubiarre-Elorza, L., Segovia, S., Gómez, A., and Guillamón, A. (2011) The microstructure of white matter in male to female transsexuals before cross-sex hormonal treatment. A DTI study. *J. Psychiatr. Res.* 45(7):949-54.
- Rametti, G., Carrillo, B., Gómez-Gil, E., Junqué, C., Zubiaurre-Elorza, L., Segovia, S., Gómez, A., Karadi, K., and Guillamón, A. (2012) Effects of androgenization on the white matter microstructure of female-to-male transsexuals. A diffusion tensor imaging study. *Psychoneuroendocrinology* 37(8):1261-9.
- Rametti, G., Carrillo, B., Gómez-Gil, E., Junqué, C., Segovia, S., Gómez, A., and Guillamón, A. (2011) White matter microstructure in female to male transsexuals before cross-sex hormonal treatment. A diffusion tensor imaging study. *J. Psychiatr. Res.* 45(2):199-204.
- Raznahan, A., Lee, Y., Stidd, R., Long, R., Greenstein, D., Clasen, L., Addington, A., Gogtay, N., Rapoport, J.L., and Giedd, J.N. (2010) Longitudinally mapping the influence of sex and androgen signaling on the dynamics of human cortical maturation in adolescence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 107(39):16988-93.

- Sasaki, M., Kaneuchi, M., Sakuragi, N., Fujimoto, S., Carroll, P.R., and Dahiya, R. (2003) The polyglycine and polyglutamine repeats in the androgen receptor gene in Japanese and Caucasian populations. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 312(4):1244-7.
- Sato, T., Matsumoto, T., Kawano, H., Watanabe, T., Uematsu, Y., Sekine, K., Fukuda, T., Aihara, K., Krust, A., Yamada, T., Nakamichi, Y., Yamamoto, Y., Nakamura, T., Yoshimura, K., Yoshizawa, T., Metzger, D., Chambon, P., and Kato, S. (2004) Brain masculinization requires androgen receptor function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 101(6):1673-1678.
- Seabright, M. (1971) A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 2(7731):971-972.
- Sleddens, H.F., Oostra, B.A., Brinkmann, A.O., and Trapman, J. (1992) Trinucleotide repeat polymorphism in the androgen receptor gene (AR). *Nucleic Acids Res.* 20(6):1427.
- Soriguer, F., Gutierrez-Repiso, C., Rubio-Martin, E., García-Fuentes, E., Almaraz, M.C., Colomo, N., Esteva de Antonio, I., de Adana, M.S., Chaves, F.J., Morcillo, S., Valdes, S., and Rojo-Martinez, G. (2013) Metabolically healthy but obese, a matter of time? Findings from the prospective pizarra study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98(6):2318-25.
- Sosa, M., Jodar, E., Arbelo, E., Dominguez, C., Saavedra, P., Torres, A., Salido, E., Liminana, J.M., Gómez De Tejada, M.J., and Hernandez, D. (2004) Serum lipids and estrogen receptor gene polymorphisms in male-to-female transsexuals: effects of estrogen treatment. *Eur. J. Intern. Med.* 15(4):231-237.
- Stoffel-Wagner, B., Watzka, M., Schramm, J., Bidlingmaier, F., and Klingmüller, D. (1999) Expression of CYP19 (aromatase) mRNA in different areas of the human brain. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 70(4-6):237-41.
- Swaab, D.F. (2007) Sexual differentiation of the brain and behavior. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 21(3):431-44.
- Tsukamoto, K., Inoue, S., Hosoi, T., Orimo, H., and Emi, M. (1998) Isolation and radiation hybrid mapping of dinucleotide repeat polymorphism at the human estrogen receptor beta locus. *J. Hum. Genet.* 43(1):73-74.
- Tut, T.G., Ghadessy, F.J., Trifiro, M.A., Pinsky, L., and Yong, E.L. (1997) Long polyglutamine tracts in the androgen receptor are associated with reduced trans-activation, impaired sperm production, and male infertility. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82(11):3777-3782.
- Ujike, H., Otani, K., Nakatsuka, M., Ishii, K., Sasaki, A., Oishi, T., Sato, T., Okahisa, Y., Matsumoto, Y., Namba, Y., Kimata, Y., and Kuroda, S. (2009) Association study of gender identity disorder and sex hormone-related genes. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 33(7):1241-1244.

- Westberg, L., Baghaei, F., Rosmond, R., Hellstrand, M., Landen, M., Jansson, M., Holm, G., Bjornthorp, P., and Eriksson, E. (2001) Polymorphisms of the androgen receptor gene and the estrogen receptor beta gene are associated with androgen levels in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86(6):2562-2568.
- World Health Organization (WHO) (1993) *The ICD-10. Classification of Mental and Behavioural Disorders. Diagnostic Criteria for Research*, Geneva.
- Wylie KR, Steward D (2008) A Consecutive Series of 52 Transsexual People Presenting for Assessment and Chromosomal Analysis at a Gender Identity Clinic. *International Journal of Transgenderism* 10:147-148.
- Zhou, J.N., Hofman, M.A., Gooren, L.J., and Swaab, D.F. (1995) A sex difference in the human brain and its relation to transsexuality. *Nature* 378(6552):68-70.
- Zubiaurre-Elorza, L., Junqué, C., Gómez-Gil, E., and Guillamón, A. (2014) Effects of Cross-Sex Hormone Treatment on Cortical Thickness in Transsexual Individuals. *J. Sex Med.* 11(5):1248-61.
- Zubiaurre-Elorza, L., Junqué, C., Gómez-Gil, E., Segovia, S., Carrillo, B., Rametti, G., and Guillamón, A. (2013) Cortical thickness in untreated transsexuals. *Cereb. Cortex* 23(12):2855-62.

## QUINTO ESTUDIO:

### **The *CYP17 MspA1* polymorphism and the gender dysphoria**

#### **Brief Communication**

Rosa Fernández PhD1, Joselyn Cortés-Cortés PhD1, Isabel Esteva PhD2, Esther Gómez-Gil MD3, Mari Cruz Almaraz PhD2, Estefanía Lema PhD1, Teresa Rumbo PhD1, Juan-Jesús Haro-Mora PhD2, Ester Roda PhD3, Antonio Guillamón MD4, Eduardo Pásaro PhD1\*

(*J Sex Med.* 2015. doi: 10.1111/jsm.12895. Epub 2015 Apr 29)

1 Departamento de Psicología, Área Psicobiología, Universidade da Coruña. A Coruña, Spain.

2 Unidad de Transexualidad e Identidad de Género, Hospital Carlos Haya, Málaga, Spain

3 Unidad de Identidad de Género, Hospital Clinic, Barcelona, Spain.

4 Departamento de Psicobiología, UNED, Madrid, Spain

**Keywords:** *CYP17A1* gene; *CYP17 MspA1* polymorphism; Female-to-Male; Gender Dysphoria; Male-to-Female; rs743572; Transsexualism

**Running title:** *CYP17A1* and Transsexualism

## Brief Communication

### ABSTRACT

*Introduction:* The A2 allele of the *CYP17 MspA1* polymorphism has been linked to higher levels of serum testosterone, progesterone and estradiol.

*Aim:* To determine whether the *CYP17 MspA1* polymorphism is associated with transsexualism.

*Methods:* We analyzed 151 male-to-female (MtF), 142 female-to-male (FtM), 167 control male and 168 control female individuals. Fragments that included the mutation were amplified by PCR and digested with *MspA1*.

Our data were compared with the allele/genotype frequencies provided by the *1000 Genomes* Data Base, and contrasted with a MEDLINE search of the *CYP17 MspA1* polymorphism in the literature.

*Main Outcome Measures:* We investigated the association between transsexualism and the *CYP17 MspA1* polymorphism.

*Results:* A2 frequency was higher in the FtM (0.45) than the female control (0.38) and male control (0.39) groups, or the MtF group (0.36). This FtM>MtF pattern reached statistical significance ( $p = 0.041$ ), although allele frequencies were not gender-specific in the general population ( $p = 0.887$ ). This observation was concurred with the *1000 Genomes* Data Base and the MEDLINE search.

*Conclusion:* Our data confirm a sex-dependent allele distribution of the *CYP17 MspA1* polymorphism in the transsexual population, FtM>MtF, suggestive of a hypothetical A2 involvement in transsexualism since the allele frequencies in the general population seem to be clearly related to geographic origin and ethnic background, but not sex.



## Introduction

Transsexualism is an extreme form of gender identity disorder (GID) characterized by persistent cross-gender identification and discomfort with the biological gender [1]. A single cause for transsexualism cannot be identified but some biological studies have associated it with cerebral neurodevelopmental processes [2], and others implicate a genetic vulnerability [3,4].

In 2008, Bentz et al., [5] expanded the list of genes involved in transsexualism vulnerability to include the gene *CYP17A1*. They found that carrying the mutated allele (A2) is significantly associated with FtM but not MtF transsexualism. Therefore, the aim of this study was to determine whether the polymorphism *CYP17 MspA1* is associated with transsexualism in a Spanish population.

## Method

### Subjects

We analyzed 151 MtF, 142 FtM, 167 control males and 168 control females, all of Caucasian Hispanic origin. The selection was conducted through the Andalusian Gender Identity Unit (Carlos Haya Hospital of Málaga, Spain). Diagnosis was made using the DSM-IV [1] and the ICD-10 [6]. Participants had no endocrine, neurological or major psychiatric comorbidity.

The control group consisted of a random group of women and men from a Spanish population, geographically and sex-adjusted with the transsexual group. They had no chromosomal, neurological, systemic, or psychiatric illnesses.

### Genetic Analysis

Genomic DNA was extracted from peripheral blood. *CYP17A1* was amplified following the Carey et al., specifications [7]. The amplification product was digested over-night with the *MspA1* enzyme (New England Biolabs, Madrid, Spain), and visualized in a 6% polyacrylamide non-denaturing electrophoresis gel (GE Healthcare, Barcelona, Spain).

## **MEDLINE search**

To ascertain the CYP17-A2 frequency in the general population, a MEDLINE search of the literature was conducted using the terms: “CYP17 Polymorphism”, “cytochrome P450c17” and “polymorphism rs743572”. The search was limited to human studies published in English until July 2014. A total of 1444 titles and abstracts were revised for inclusion.

The inclusion criteria were: (i) case–control studies; (ii) Investigations with a healthy control group without mixed sex or ethnicity; (iii) Control group allele or genotype frequencies were provided; (iv) The control group had an N higher than 100.

The subject of the investigations was not taken into account (prostate cancer, endometriosis, cataract, polycystic ovarian syndrome, etc.) When the same control group was used in several publications, only the most recent and largest study was included in the analysis.

A total of 1125 articles were discarded. 319 were selected for revision and 78 articles finally included. The A2 frequency in these 78 articles was obtained only from control groups.

## **Statistical Analysis**

The allele/genotype frequencies were analyzed using *Chi-square* Test. The odds ratio (OR) was used to measure the strength of the association between genotypes and transsexualism. All statistical analyses were performed using SPSS 17.0 software (SPSS, Chicago, IL, USA). Significance was set at  $P < 0.05$

## **Results**

All groups showed Hardy-Weinberg equilibrium. The A2 frequency was higher in FtMs (0.45) than in female controls (0.38), and lower in MtFs (0.36), than male controls (0.39). There were significant differences only between FtM and MtF ( $p = 0.041$ ). The Odds Ratio (OR) indicated no significant differences in the three genetic models of heredability examined: dominant, recessive, and gene-dosage.

We also compared our frequencies with the only publication in the literature about this polymorphism and transsexualism [5], and with the frequencies from other countries and continents

provided by the *1000 Genomes* Data Base and a MEDLINE search for the *CYP17 MspAI* polymorphism.

When comparing our data with Bentz's [5] we found that the transsexual groups and the male control groups did not differ significantly in either study. However, the differences were statistically significant when we compared allele ( $p = 0.015665$ ) and genotype ( $p = 0.021004$ ) frequencies between the two female control groups (Austrian vs. Spanish).

Allele frequencies provided by the *1000 Genomes* Data Base and MEDLINE showed ethnic and geographic-specific but not sex-dependent distribution (Fig.1). In Asian men, the A2 frequency varied from 0.61 in Shanghai or Taiwan to 0.31 in India (*Chi-square*: 44.54;  $p = 0$ ). And in Asian women, A2 varied from 0.60 in Taiwan to 0.15 in India (*Chi-square*: 151.145;  $p = 0$ ). In Europe the data were homogenous between countries (Fig. 1) without significant differences. The allele frequencies in our control Spanish groups were similar to those found in the MEDLINE search and the *1000 Genomes* Data Base, and significantly different from the Austrian group ( $p = 0.015665$ ) [5].

When we compared A2 frequency between sexes, we only found significant differences in two countries: Japan ( $p = 0.028808$ ), and Austria ( $p = 0.0000138$ ). However, none of the MEDLINE studies found statistically significant differences in allele frequencies between sexes except for the Austrian group [5].

## Discussion

Based on the hypothesis proposed by Bentz et al., (2008) associating the CYP17-A2 allele with FtM transsexualism, we analyzed a Caucasian Spanish transsexual population. We did not find a sex-dependent allele distribution for *CYP17 MspAI* in the general population, although allele frequencies were gender-specific in transsexual groups: FtM>MtF. Furthermore, A2 frequency was higher in FtMs than in control females, and lower in MtFs than in control men.

Contrary to Bentz, we did not find a sex-dependent allele distribution of *CYP17 MspAI* in the general population, so we consulted the *1000 Genomes* Data Base, and also tested the allele frequencies in the general population by a MEDLINE search.

According to the *1000 Genomes* Data Base and MEDLINE, A2 frequency varies between countries, continents and ethnicity, but not between sexes. Furthermore, since the *CYP17A1* gene is encoded on chromosome 10, men and women can be expected to have the same allele distribution [8,9].

In conclusion, our data confirm a sex-dependent allele distribution of the *CYP17 MspA1* polymorphism in the transsexual population, FtM>MtF, that might suggest a hypothetical involvement of A2 in the genetic basis of transsexualism since allele frequencies in the general population seem to be clearly related to geographic origin and ethnic background, but not sex.

## Acknowledgements

This work was supported by grant PSI2010-15115 (EP) and PSI2011-24496 (AG). We are grateful to the patients and controls who participated in the study. We are also grateful to all people who contributed to this work.

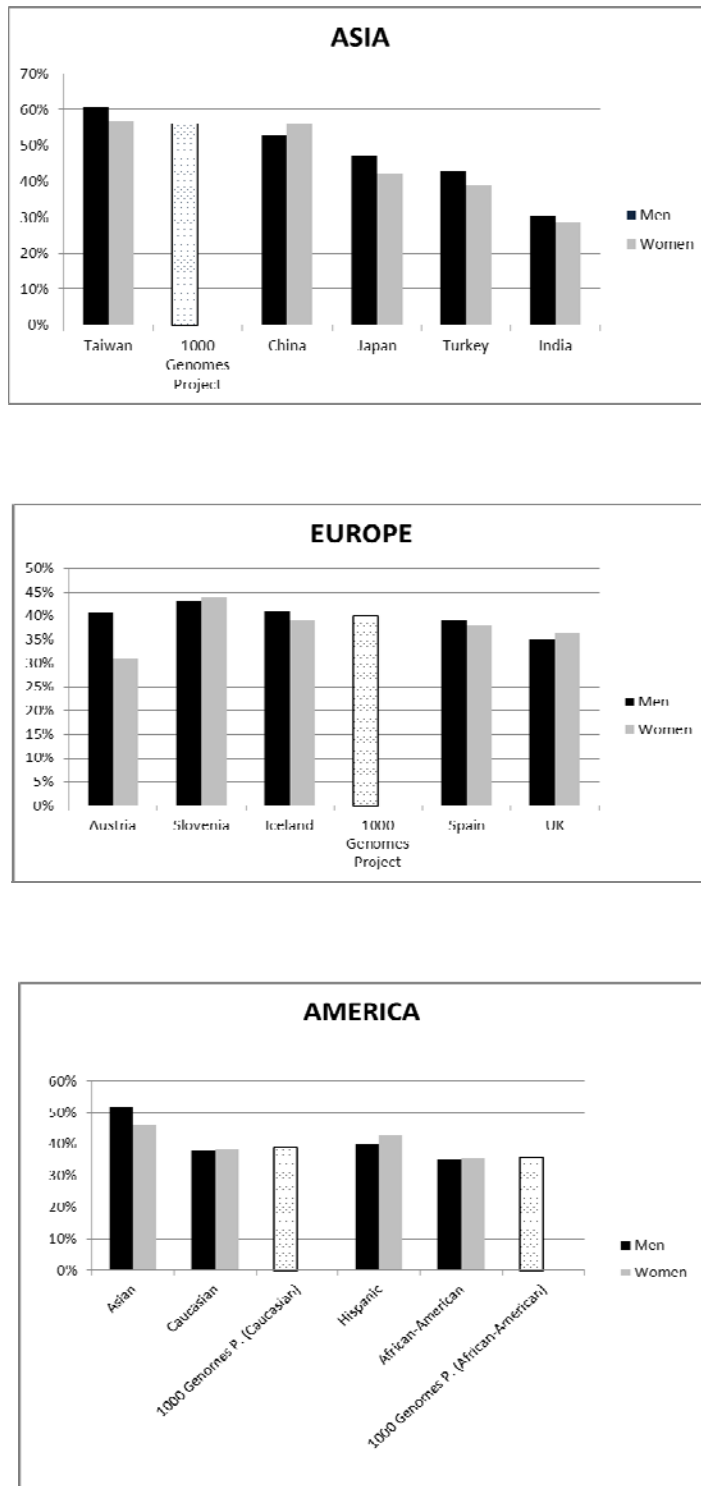
## References

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th ed. DSM-IV-TR, Washington, DC. 2000.
2. Zhou JN, Hofman MA, Gooren LJ, Swaab DF. A sex difference in the human brain and its relation to transsexuality. *Nature* 1995;378(6552):68-70.
3. Henningsson S , Westberg L, Nilsson S, Lundstrom B, Ekselius L, Bodlund O, Lindstrom E, Hellstrand M, Rosmond R, Eriksson E, Landen M. Sex steroid-related genes and male-to-female transsexualism. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30(7): 657-664.
4. Hare L, Bernard P, Sánchez FJ, Baird PN, Vilain E, Kennedy T, Harley VR. Androgen receptor repeat length polymorphism associated with male-to-female transsexualism. *Biol Psychiatry* 2009;65(1):93-96.
5. Bentz EK, Heffler LA, Kaufmann U, Huber JC, Kolbus A, Tempfer CB. A polymorphism of the CYP17 gene related to sex steroid metabolism is associated with female-to-male but not male-to-female transsexualism. *Fertil Steril* 2008;90(1):56-59.
6. World Health Organization (WHO). The ICD-10. Classification of Mental and Behavioural Disorders. Diagnostic Criteria for Research, Geneva. 1993.

## RESULTADOS

---

7. Carey AH, Waterworth D, Patel K, White D, Little J, Novelli P , Franks S, Williamson R. Polycystic ovaries and premature male pattern baldness are associated with one allele of the steroid metabolism gene CYP17. *Hum Mol Genet* 1994;3(10):1873-1876.
8. Young IE, Kurian KM, Annink C, Kunkler IH, Anderson VA, Cohen BB, Hooper ML, Wyllie AH, Steel CM. A polymorphism in the CYP17 gene is associated with male breast cancer. *Br J Cancer* 1999;81(1):141-3.
9. Denschlag D, Bentz EK, Hefler L, Pietrowski D, Zeillinger R, Tempfer C, Tong D. Genotype distribution of estrogen receptor-alpha, catechol-O-methyltransferase, and cytochrome P450 17 gene polymorphisms in Caucasian women with uterine leiomyomas. *Fertil Steril* 2006;85(2):462-7.



**Fig. 1:** Data from the MEDLINE-analysis. Allele frequencies of *CYP17 MspAI* polymorphism comparing sex, nationality and ethnicity

**Supplementary material of the manuscript ID JSM-12-2014-778.R1**

**MEDLINE search:** Allele and genotype frequencies of *CYP17 MspA1* polymorphism comparing sex, nationality and ethnicity. Sorted by A2 allele frequency

Country	Study group	Genotypes			Allele		N	Ethnicity
		A1/A1	A1/A2	A2/A2	A1	A2		
<b>ASIA (men)</b>								
Shanghai	(Madigan et al., 2003)	0.17	0.44	0.39	0.39	0.61	274	Asian
Taiwan	(Yu et al., 2001)	0.16	0.47	0.38	0.39	0.61	238	Asian
China	(Yang et al., 2006)	0.16	0.50	0.34	0.41	0.59	202	Asian
<b>Asian Median</b>	<b>1000 Genomes Project</b>	0.21	0.47	0.32	0.44	0.56	286	
Japan	(Habuchi et al., 2000)	0.25	0.47	0.28	0.49	0.51	131	Asian
Japan	(Matsumoto et al., 2008)*	0.25	0.56	0.19	0.53	0.47	308	Asian
China	(He et al., 2006)*				0.53	0.47	132	Asian
Japan	(Yamada et al., 2001)	0.26	0.60	0.15	0.55	0.45	200	Asian
Japan	(Kakinuma et al., 2004)	0.33	0.45	0.22	0.55	0.45	164	Asian
Turkey	(Onen et al., 2007)	0.32	0.49	0.19	0.57	0.43	105	Turkish
Iran	(Karimpur-Zahmatkesh et al., 2013)	0.40	0.48	0.12	0.64	0.36	128	Iranian
India	(Rai et al., 2014)*	0.47	0.43	0.10	0.69	0.31	72	Indian
India	(Sobti et al., 2009)	0.45	0.55	0.50	0.70	0.30	170	Indian
<b>ASIA (women)</b>								
Taiwan	(Hsieh et al., 2004)	0.17	0.45	0.38	0.40	0.60	128	Asian
China	(Lim et al., 2012)	0.17	0.47	0.36	0.40	0.60	963	Asian
Singapore	(Wu et al., 2003)	0.16	0.50	0.34	0.41	0.59	671	Asian
China	(Sakoda et al., 2008)	0.16	0.50	0.34	0.41	0.59	877	Asian
Taiwan	(Juo et al., 2006)	0.19	0.46	0.35	0.42	0.58	304	Asian
Korea	(Shin et al., 2005)	0.21	0.45	0.34	0.43	0.57	337	Asian
China	(Zhang et al., 2009)	0.18	0.53	0.29	0.44	0.56	390	Asian
<b>Asian Median</b>	<b>1000 Genomes Project</b>	0.21	0.47	0.32	0.44	0.56	286	
Taiwan	(Huang et al., 1999)	0.22	0.50	0.28	0.47	0.53	126	Asian
China	(Han et al., 2005)	0.23	0.55	0.22	0.51	0.49	427	Asian
India	(Chakraborty et al., 2007)	0.27	0.52	0.21	0.53	0.47	212	Indian
Japan	(Iwasaki et al., 2010)	0.31	0.47	0.22	0.55	0.45	388	Asian
Japan	(Hamajima et al., 2000)	0.27	0.57	0.16	0.55	0.45	166	Asian
Japan	(Matsumoto et al., 2008)*	0.28	0.55	0.16	0.56	0.44	287	Asian
Japan	(Tsujino et al., 2006)	0.32	0.50	0.18	0.57	0.43	179	Asian
Japan	(Sata et al., 2006)	0.30	0.54	0.16	0.57	0.43	412	Asian

Thailand	(Sangrajrang et al., 2009)	0.34	0.47	0.19	0.58	0.42	488	Asian
Japan	(Kado et al., 2002)	0.36	0.49	0.15	0.60	0.40	177	Asian
India	(Rai et al., 2014)*	0.36	0.51	0.13	0.61	0.39	156	Indian
Japan	(Gorai et al., 2003)	0.40	0.47	0.12	0.64	0.36	250	Asian
Turkey	(Yazici et al., 2006)	0.39	0.52	0.09	0.65	0.35	103	Turkish
India	(Samson et al., 2009)	0.44	0.45	0.11	0.67	0.33	500	Indian
India	(Syamala et al., 2010)	0.47	0.42	0.11	0.68	0.32	367	Indian
India	(Syamala et al., 2010)	0.55	0.38	0.06	0.74	0.26	249	Indian
India	(Chattopadhyay et al., 2014)	0.72	0.26	0.02	0.85	0.15	360	Indian
India	(Chacko et al., 2004)	0.82	0.16	0.02	0.90	0.10	140	Indian
<b>EUROPE (men)</b>								
Austria	(Denschlag et al., 2006)	0.29	0.50	0.21	0.54	0.46	139	Caucasian
Sweden	(Wadelius et al., 1999)	0.29	0.55	0.16	0.56	0.44	160	Caucasian
Slovenia	(Letonja et al., 2005)*	0.30	0.53	0.17	0.57	0.43	100	Caucasian
France	(Cussenot et al., 2007)	0.34	0.51	0.15	0.59	0.41	777	Caucasian
Iceland	(Gudmundsdottir et al., 2003)*	0.33	0.52	0.15	0.59	0.41	309	Caucasian
Sweden	(Lindstrom et al., 2006)	0.37	0.48	0.16	0.60	0.40	725	Caucasian
Slovakia	(Sivonova et al., 2012)	0.37	0.46	0.17	0.60	0.40	256	Caucasian
Austria	(Bentz et al., 2008)*	0.37	0.46	0.17	0.60	0.40	756	Caucasian
<b>European Median</b>	<b>1000 Genomes Project</b>	0.36	0.48	0.16	0.60	0.40	379	
Spain	This investigation	0.37	0.49	0.14	0.61	0.39	167	Caucasian
Austria	(Gsur et al., 2000)	0.37	0.53	0.10	0.64	0.36	126	Caucasian
UK	(Allen et al., 2001)	0.43	0.44	0.13	0.65	0.35	622	Caucasian
<b>EUROPE (women)</b>								
Greece	(Litridis et al., 2011)	0.32	0.47	0.21	0.55	0.45	134	Caucasian
Slovenia	(Letonja et al., 2005)*	0.35	0.41	0.24	0.56	0.44	101	Caucasian
Poland	(Gaudet et al., 2008)	0.34	0.47	0.19	0.58	0.42	1022	Caucasian
Germany	(MARIE-GENICA., 2010)	0.33	0.49	0.17	0.58	0.42	5487	Caucasian
Poland	(Szczepanska et al., 2013)	0.35	0.48	0.17	0.59	0.41	197	Caucasian
Germany/Austria	(Hefler et al., 2004)	0.36	0.47	0.17	0.59	0.41	1698	Caucasian
Germany	(Verla-Tebit et al., 2005)	0.36	0.47	0.17	0.59	0.41	904	Caucasian
<b>European Median</b>	<b>1000 Genomes Project</b>	0.36	0.48	0.16	0.60	0.40	379	
Iceland	(Gudmundsdottir et al., 2003)*	0.39	0.44	0.17	0.61	0.39	395	Caucasian
Spain	This investigation	0.36	0.52	0.12	0.62	0.38	168	Caucasian
UK	(Dunning et al., 1998)	0.39	0.47	0.14	0.62	0.38	591	Caucasian
UK	(Delpisheh et al., 2008)	0.36	0.53	0.11	0.63	0.37	176	Caucasian
UK	(Forrest et al., 2005)***	0.39	0.49	0.12	0.63	0.37	188	Caucasian
Netherlands	(Kok et al., 2005)	0.43	0.42	0.15	0.64	0.36	341	Caucasian
Finland	(Mitrunen et al., 2000)	0.42	0.46	0.12	0.65	0.35	480	Caucasian
Italy	(Antognelli et al., 2009)	0.42	0.46	0.12	0.65	0.35	544	Caucasian



UK	(Somner et al., 2004)	0.41	0.53	0.06	0.68	0.33	100	Caucasian
Austria	(Bentz et al., 2008)*	0.47	0.43	0.10	0.69	0.31	915	Caucasian
<b>AMERICA (men)</b>								
<i>Asian</i>								
USA	(Lunn et al., 1999)**	0.24	0.49	0.27	0.48	0.52	110	
<i>Caucasian</i>								
USA	(Stanford et al., 2002)	0.36	0.49	0.15	0.60	0.40	523	Caucasian
USA	(Beuten et al., 2009)**				0.60	0.40	843	Caucasian
<b>USA Caucasian Median</b>	<b>1000 Genomes Project</b>	0.37	0.48	0.15	0.61	0.39	4300	Caucasian
USA	(Haiman et al., 2001)	0.39	0.45	0.16	0.61	0.39	782	Caucasian
USA	(Lunn et al., 1999)**	0.41	0.42	0.17	0.62	0.38	115	Caucasian
USA	(Skibola et al., 2005)*	0.42	0.48	0.09	0.67	0.33	408	Caucasian
<i>Hispanic</i>								
USA	(Beuten et al., 2009)**				0.60	0.40	514	
<i>African-American</i>								
USA	(Sarma et al., 2008)	0.33	0.57	0.10	0.61	0.39	322	African-American
USA	(Beuten et al., 2009)**				0.63	0.37	209	African-American
<b>USA African Median</b>	<b>1000 Genomes Project</b>	0.41	0.45	0.13	0.64	0.36	2202	African-American
USA	(Lunn et al., 1999)**	0.44	0.40	0.16	0.64	0.36	115	African-American
USA	(Kittles et al., 2001)	0.50	0.41	0.09	0.71	0.29	111	African-American
<b>AMERICA (women)</b>								
<i>Asian</i>								
USA	(Feigelson et al., 1999)**	0.29	0.49	0.22	0.54	0.46	138	
<i>Caucasian</i>								
USA	(Hirata et al., 2008)	0.33	0.43	0.24	0.55	0.45	165	Caucasian
USA	(Weston et al., 1998)	0.33	0.50	0.17	0.58	0.42	148	Caucasian
USA	(Helzlsouer et al., 1998)	0.33	0.51	0.16	0.58	0.42	113	Caucasian
USA	(Kahsar-Miller et al., 2004)	0.31	0.58	0.11	0.60	0.40	161	Caucasian
<b>USA Caucasian Median</b>	<b>1000 Genomes Project</b>	0.37	0.48	0.15	0.61	0.39	4300	Caucasian
USA	(Haiman et al., 2002)**	0.36	0.52	0.12	0.62	0.38	244	Caucasian
USA	(Cote et al., 2009)**	0.39	0.47	0.14	0.62	0.38	406	Caucasian
USA	(Skibola et al., 2005)*	0.39	0.48	0.13	0.63	0.37	349	Caucasian
USA	(Feigelson et al., 1999)**	0.37	0.52	0.11	0.63	0.37	132	Caucasian
Canada	(Cribb et al., 2011)	0.44	0.42	0.14	0.65	0.35	621	Caucasian
USA	(McCann et al., 2002)	0.51	0.38	0.12	0.69	0.31	188	Caucasian
<i>Hispanic</i>								
USA	(Feigelson et al., 1999)**	0.32	0.50	0.18	0.57	0.43	222	

<b>African-American</b>									
USA	(Haiman et al., 2002)**	0.38	0.51	0.12	0.63	0.37		152	African-American
USA	(Feigelson et al., 1999)**	0.41	0.43	0.16	0.63	0.37		257	African-American
<b>USA African Median</b>	<b>1000 Genomes Project</b>	0.41	0.45	0.13	0.64	0.36		2202	African-American
USA	(Cote et al., 2009)**	0.41	0.51	0.07	0.67	0.33		121	African-American
<b>SOUTH AMERICA (men)</b>									
Brazil	(dos Santos et al., 2002)	0.41	0.50	0.09	0.66	0.34		128	Caucasian
<b>SOUTH AMERICA (women)</b>									
Brazil	(Pinotti et al., 2012)	0.38	0.46	0.16	0.61	0.39		149	Caucasian
<b>AFRICA (men)</b>									
Tunisia	(Souiden et al., 2011)	0.44	0.45	0.11	0.66	0.34		125	Tunisian
<b>African Median</b>	<b>1000 Genomes Project</b>	0.46	0.41	0.12	0.67	0.33		246	African
<b>OCEANIA (women)</b>									
Australia	(Spurdle et al., 2000)	0.38	0.47	0.15	0.62	0.38		298	Caucasian
<i>N Total</i>								43842	

\* *The authors compare men and women separately*

\*\* *The authors compare different ethnicities separately*

\*\*\* *Only B control group*

RESULTADOS

**Table 1**

*Genotype and allele frequencies in all groups (N/%)*

Genotype/Allele	FtM	MtF	Control female	Control male
A1/A1	45 (0.32)	59 (0.39)	60 (0.36)	62 (0.37)
A1/A2	67 (0.47)	75 (0.50)	88 (0.52)	81 (0.49)
A2/A2	30 (0.21)	17 (0.11)	20 (0.12)	24 (0.14)
A1	157 (0.55)	193 (0.64)	208 (0.62)	205 (0.61)
A2	127 (0.45)	109 (0.36)	128 (0.38)	129 (0.39)

**Table 2**

*Assessment of statistical differences between the examined groups*

Groups	Frequencies	Chi-square	Df	P
<b>The present investigation</b>				
Female vs. male control groups	Genotype	0.683	2	0.710703 <sup>b</sup>
	Allele	0.02	1	0.887537 <sup>b</sup>
FtM vs. female control group	Genotype	4.841	2	0.088877 <sup>b</sup>
	Allele	2.788	1	0.094972 <sup>b</sup>
MtF vs. male control group	Genotype	0.697	2	0.705745 <sup>b</sup>
	Allele	0.434	1	0.510032 <sup>b</sup>
FtM vs. MtF	Genotype	5.66	2	0.059012 <sup>b</sup>
	Allele	4.176	1	0.04 <sup>a</sup>
<b>Present investigation vs. Austrian group [Bentz <i>et al.</i>, 2008]</b>				
Spanish FtM vs. Austrian FtM	Genotype	0.02	2	0.990049 <sup>b</sup>
	Allele	0.001	1	0.974772 <sup>b</sup>
Spanish MtF vs. Austrian MtF	Genotype	1.181	2	0.554050 <sup>b</sup>
	Allele	0.157	1	0.691933 <sup>b</sup>
Spanish female control group vs. Austrian female control group	Genotype	7.726	2	0.021004 <sup>a</sup>
	Allele	5.84	1	0.015665 <sup>a</sup>
Spanish male control group vs. Austrian male control group	Genotype	0.558	2	0.756539 <sup>b</sup>
	Allele	0.2	1	0.654720 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Significant differences;  $P \leq 0.05$

<sup>b</sup>Nonsignificant differences;  $P > 0.05$

Df = Degree of freedom

**Table 3**

*Assessment of statistical differences between the allele and genotype frequencies in men and women from the same country and ethnicity*

Country	Men			Women			Chi-square	Df	P
	A1	A2	N	A1	A2	N			
<b>ASIA</b>									
Taiwan	93	145	238	240	318	558	0.906	1	0.341177 <sup>b</sup>
China	270	338	608	1169	1488	2657	0.019	1	0.890366 <sup>b</sup>
Japan	426	377	803	1073	786	1859	4.779	1	0.028808 <sup>a</sup>
Turkey	60	45	105	67	36	103	1.054	1	0.304587 <sup>b</sup>
India	168	74	242	1411	573	1984	0.225	1	0.635256 <sup>b</sup>
Iran	82	46	128	0	0	0	-	-	-
Singapore	0	0	0	275	396	671	-	-	-
Korea	0	0	0	145	192	337	-	-	-
Thailand	0	0	0	283	205	488	-	-	-
<b>EUROPE</b>									
Sweden	513	372	885	241	154	395	0.925	1	0.336165 <sup>b</sup>
Slovenia	57	43	100	57	44	101	0.004	1	0.949570 <sup>b</sup>
Iceland	182	127	309	241	154	395	0.241	1	0.623484 <sup>b</sup>
Austria	606	415	1021	631	284	915	18.896	1	0.000014 <sup>a</sup>
UK	81	45	126	675	382	1058	0.009	1	0.924419 <sup>b</sup>
France	458	319	777	0	0	0	-	-	-
Slovakia	154	102	256	0	0	0	-	-	-
Greece	0	0	0	74	60	134	-	-	-
Poland	0	0	0	713	506	1219	-	-	-
Germany	0	0	0	4746	3343	8089	-	-	-
Netherlands	0	0	0	218	123	341	-	-	-
Finland	0	0	0	312	168	480	-	-	-
Italy	0	0	0	354	190	544	-	-	-
<b>USA</b>									
Asian	53	57	110	75	63	138	0.701	1	0.402447 <sup>b</sup>
Caucasian	1656	1015	2671	1554	973	2527	0.119	1	0.730121 <sup>b</sup>
Hispanic	308	206	514	127	95	222	0.367	1	0.544644 <sup>b</sup>
African	490	267	757	549	316	865	0.227	1	0.633757 <sup>b</sup>
<b>SOUTH AMERICA</b>									
Brazil	84	44	128	91	58	149	0.433	1	0.510520 <sup>b</sup>
<b>N Total</b>	<b>Men 9,778</b>			<b>Women 26,229</b>					

<sup>a</sup>Significant differences;  $P \leq 0.05$

<sup>b</sup>Nonsignificant differences;  $P > 0.05$

Df = Degree of freedom

RESULTADOS

**Table 4**

*Assessment of statistical differences between the allele and genotype frequencies in men and women from the same publication*

Country	Author	Men	Women	Chi-square	Df	P
<b>Japan</b>	(Matsumoto <i>et al.</i> , 2008)					
	A1/A1	77	81			
	A1/A2	174	159			
	A2/A2	57	47	0.999	2	0.606834 <sup>b</sup>
	A1	328	321			
	A2	288	253	0.754	1	0.385212 <sup>b</sup>
<b>India</b>	(Rai <i>et al.</i> , 2014)					
	A1/A1	34	56			
	A1/A2	31	79			
	A2/A2	7	21	2.749	2	0.252966 <sup>b</sup>
	A1	98	189			
	A2	44	119	2.142	1	0.143314 <sup>b</sup>
<b>Slovenia</b>	(Letonja <i>et al.</i> , 2005)					
	A1/A1	30	36			
	A1/A2	53	41			
	A2/A2	17	24	3.268	2	0.195147 <sup>b</sup>
	A1	113	113			
	A2	87	89	0	1	1 <sup>b</sup>
<b>Iceland</b>	(Gudmundsdottir <i>et al.</i> , 2003)					
	A1/A1	103	156			
	A1/A2	160	173			
	A2/A2	46	66	4.486	2	0.106139 <sup>b</sup>
	A1	366	485			
	A2	252	305	0.595	1	0.440492 <sup>b</sup>
<b>Austria</b>	(Bentz <i>et al.</i> , 2008)					
	A1/A1	278	432			
	A1/A2	352	389			
	A2/A2	126	92	26.015	2	0.00000224 <sup>a</sup>
	A1	908	1253			
	A2	604	573	26.219	1	0,00000030 <sup>a</sup>
<b>USA</b>	(Skibola <i>et al.</i> , 2005)					
	A1/A1	173	135			
	A1/A2	197	169			
	A2/A2	38	45	2.84	2	0.241714 <sup>b</sup>
	A1	543	439			
	A2	273	259	2.042	1	0.153008 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Significant differences;  $P \leq 0.05$

<sup>b</sup>Nonsignificant differences;  $P > 0.05$

Df = Degree of freedom

## **MEDLINE search references**

- Allen NE, Forrest MS, Key TJ. The association between polymorphisms in the CYP17 and 5 $\alpha$ -reductase (SRD5A2) genes and serum androgen concentrations in men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10(3):185-9.
- Antognelli C, Del Buono C, Ludovini V, Gori S, Talesa VN, Crino L, Barberini F, Rulli A. CYP17, GSTP1, PON1 and GLO1 gene polymorphisms as risk factors for breast cancer: an Italian case-control study. *BMC Cancer* 2009;9:115.
- Bentz EK, Hefler LA, Kaufmann U, Huber JC, Kolbus A, Tempfer CB. A polymorphism of the CYP17 gene related to sex steroid metabolism is associated with female-to-male but not male-to-female transsexualism. *Fertil Steril* 2008;90(1):56-9.
- Beuten J, Gelfond JA, Franke JL, Weldon KS, Crandall AC, Johnson-Pais TL, Thompson IM, Leach RJ. Single and multigenic analysis of the association between variants in 12 steroid hormone metabolism genes and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18(6):1869-80.
- Chacko P, Rajan B, Mathew BS, Joseph T, Pillai MR. CYP17 and SULT1A1 gene polymorphisms in Indian breast cancer. *Breast Cancer* 2004;11(4):380-8.
- Chakraborty A, Murthy NS, Chintamani C, Bhatnagar D, Mohil RS, Sharma PC, Saxena S. CYP17 gene polymorphism and its association with high-risk north Indian breast cancer patients. *J Hum Genet* 2007;52(2):159-65.
- Chattopadhyay S, Siddiqui S, Akhtar MS, Najm MZ, Deo SV, Shukla NK, Husain SA. Genetic polymorphisms of ESR1, ESR2, CYP17A1, and CYP19A1 and the risk of breast cancer: a case control study from North India. *Tumour Biol* 2014;35(5):4517-27.
- Cote ML, Yoo W, Wenzlaff AS, Prysak GM, Santer SK, Claeys GB, Van Dyke AL, Land SJ, Schwartz AG. Tobacco and estrogen metabolic polymorphisms and risk of non-small cell lung cancer in women. *Carcinogenesis* 2009;30(4):626-35.
- Cribb AE, Joy Knight M, Guernsey J, Dryer D, Hender K, Shawwa A, Tesch M, Saleh TM. CYP17, catechol-o-methyltransferase, and glutathione transferase M1 genetic polymorphisms, lifestyle factors, and breast cancer risk in women on Prince Edward Island. *Breast J* 2011;17(1):24-31.
- Cussenot O, Azzouzi AR, Nicolaiew N, Fromont G, Mangin P, Cormier L, Fournier G, Valeri A, Larre S, Thibault F, Giordanella JP, Pouchard M, Zheng Y, Hamdy FC, Cox A, Cancel-

- Tassin G. Combination of polymorphisms from genes related to estrogen metabolism and risk of prostate cancers: the hidden face of estrogens. *J Clin Oncol* 2007;25(24):3596-602.
- Delpisheh A, Topping J, Reyad M, Tang A, Brabin BJ. Prenatal alcohol exposure, CYP17 gene polymorphisms and fetal growth restriction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008;138(1):49-53.
- Denschlag D, Bentz EK, Hefler L, Pietrowski D, Zeillinger R, Tempfer C, Tong D. Genotype distribution of estrogen receptor-alpha, catechol-O-methyltransferase, and cytochrome P450 17 gene polymorphisms in Caucasian women with uterine leiomyomas. *Fertil Steril* 2006;85(2):462-7.
- dos Santos A, Ribeiro ML, Mesquita JC, Carvalho-Salles AB, Hackel C. No association of the 5' promoter region polymorphism of CYP17 gene with prostate cancer risk. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2002;5(1):28-31.
- Dunning AM, Healey CS, Pharoah PD, Foster NA, Lipscombe JM, Redman KL, Easton DF, Day NE, Ponder BA. No association between a polymorphism in the steroid metabolism gene CYP17 and risk of breast cancer. *Br J Cancer* 1998;77(11):2045-7.
- Feigelson HS, McKean-Cowdin R, Pike MC, Coetzee GA, Kolonel LN, Nomura AM, Le Marchand L, Henderson BE. Cytochrome P450c17alpha gene (CYP17) polymorphism predicts use of hormone replacement therapy. *Cancer Res* 1999;59(16):3908-10.
- Forrest MS, Edwards SM, Houlston R, Kote-Jarai Z, Key T, Allen N, Knowles MA, Turner F, Arden-Jones A, Murkin A, Williams S, Oram R, Bishop DT, Eeles RA. Association between hormonal genetic polymorphisms and early-onset prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2005;8(1):95-102.
- Gaudet M, Lacey JV Jr, Lissowska J, Peplonska B, Brinton LA, Chanock S, García-Closas M. Genetic variation in CYP17 and endometrial cancer risk. *Hum Genet* 2008;123(2):155-62.
- Gorai I, Tanaka K, Inada M, Morinaga H, Uchiyama Y, Kikuchi R, Chaki O, Hirahara F. Estrogen-metabolizing gene polymorphisms, but not estrogen receptor-alpha gene polymorphisms, are associated with the onset of menarche in healthy postmenopausal Japanese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(2):799-803.
- Gsur A, Bernhofer G, Hinteregger S, Haidinger G, Schatzl G, Madersbacher S, Marberger M, Vutuc C, Micksche M. A polymorphism in the CYP17 gene is associated with prostate cancer risk. *Int J Cancer* 2000;87(3):434-7.
- Gudmundsdottir K, Thorlacius S, Jonasson JG, Sigfusson BF, Tryggvadottir L, Eyfjord JE. CYP17

promoter polymorphism and breast cancer risk in males and females in relation to BRCA2 status. *Br J Cancer* 2003;88(6):933-6.

Habuchi T, Liqing Z, Suzuki T, Sasaki R, Tsuchiya N, Tachiki H, Shimoda N, Satoh S, Sato K, Kakehi Y, Kamoto T, Ogawa O, Kato T. Increased risk of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia associated with a CYP17 gene polymorphism with a gene dosage effect. *Cancer Res* 2000;60(20):5710-3.

Haiman CA, Bernstein L, Berg D, Ingles SA, Salane M, Ursin G. Genetic determinants of mammographic density. *Breast Cancer Res* 2002;4(3):R5.

Haiman CA, Stampfer MJ, Giovannucci E, Ma J, Decalo NE, Kantoff PW, Hunter DJ. The relationship between a polymorphism in CYP17 with plasma hormone levels and prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10(7):743-8.

Hamajima N, Iwata H, Obata Y, Matsuo K, Mizutani M, Iwase T, Miura S, Okuma K, Ohashi K, Tajima K. No association of the 5' promoter region polymorphism of CYP17 with breast cancer risk in Japan. *Jpn J Cancer Res* 2000;91(9):880-5.

Han DF, Zhou X, Hu MB, Xie W, Mao ZF, Chen DE, Liu F, Zheng F. Polymorphisms of estrogen-metabolizing genes and breast cancer risk: a multigenic study. *Chin Med J (Engl)* 2005;118(18):1507-16.

He L, Yang Z, Yu H, Cheng B, Tang W, Dong Y, Xiao C. The relationship between CYP17 - 34T/C polymorphism and acne in Chinese subjects revealed by sequencing. *Dermatology* 2006;212(4):338-42.

Hefler LA, Tempfer CB, Grimm C, Lebrecht A, Ulbrich E, Heinze G, Leodolter S, Schneeberger C, Mueller MW, Muendlein A, Koelbl H. Estrogen-metabolizing gene polymorphisms in the assessment of breast carcinoma risk and fibroadenoma risk in Caucasian women. *Cancer* 2004;101(2):264-9.

Helzlsouer KJ, Huang HY, Strickland PT, Hoffman S, Alberg AJ, Comstock GW, Bell DA. Association between CYP17 polymorphisms and the development of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7(10):945-9.

Hirata H, Hinoda Y, Okayama N, Suehiro Y, Kawamoto K, Kikuno N, Rabban JT, Chen LM, Dahiya R. CYP1A1, SULT1A1, and SULT1E1 polymorphisms are risk factors for endometrial cancer susceptibility. *Cancer* 2008;112(9):1964-73.

Hsieh YY, Chang CC, Tsai FJ, Lin CC, Tsai CH. Cytochrome P450c17alpha 5'-untranslated region \*T/C polymorphism in endometriosis. *J Genet* 2004;83(2): 189-92.



- Huang CS, Chern HD, Chang KJ, Cheng CW, Hsu SM, Shen CY. Breast cancer risk associated with genotype polymorphism of the estrogen-metabolizing genes CYP17, CYP1A1, and COMT: a multigenic study on cancer susceptibility. *Cancer Res* 1999;59(19):4870-5.
- Iwasaki M, Hamada GS, Nishimoto IN, Netto MM, Motola J Jr, Laginha FM, Kasuga Y, Yokoyama S, Onuma H, Nishimura H, Kusama R, Kobayashi M, Ishihara J, Yamamoto S, Hanaoka T, Tsugane S. Dietary isoflavone intake, polymorphisms in the CYP17, CYP19, 17beta-HSD1, and SHBG genes, and risk of breast cancer in case-control studies in Japanese, Japanese Brazilians, & non-Japanese Brazilians. *Nutr Cancer* 2010;62(4):466-75.
- Juo SH, Wang TN, Lee JN, Wu MT, Long CY, Tsai EM. CYP17, CYP1A1 and COMT polymorphisms and the risk of adenomyosis and endometriosis in Taiwanese women. *Hum Reprod* 2006;21(6):1498-502.
- Kado N, Kitawaki J, Obayashi H, Ishihara H, Koshiha H, Kusuki I, Tsukamoto K, Hasegawa G, Nakamura N, Yoshikawa T, Honjo H. Association of the CYP17 gene and CYP19 gene polymorphisms with risk of endometriosis in Japanese women. *Hum Reprod* 2002;17(4):897-902.
- Kahsar-Miller M, Boots LR, Bartolucci A, Azziz R. Role of a CYP17 polymorphism in the regulation of circulating dehydroepiandrosterone sulfate levels in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004;82(4):973-5.
- Kakinuma H, Tsuchiya N, Habuchi T, Ohyama C, Matsuura S, Wang L, Nakamura A, Kato T. Serum sex steroid hormone levels and polymorphisms of CYP17 and SRD5A2: implication for prostate cancer risk. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2004;7(4):333-7.
- Karimpur-Zahmatkesh A, Farzaneh F, Pouresmaeili F, Hosseini J, Azarghashb E, Yaghoobi M. A2 allele polymorphism of the CYP17 gene and prostate cancer risk in an iranian population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013;14(2):1049-52.
- Kittles RA, Panguluri RK, Chen W, Massac A, Ahaghotu C, Jackson A, Ukoli F, Adams-Campbell L, Isaacs W, Dunston GM. Cyp17 promoter variant associated with prostate cancer aggressiveness in African Americans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10(9):943-7.
- Kok HS, Onland-Moret NC, van Asselt KM, van Gils CH, van der Schouw YT, Grobbee DE, Peeters PH. No association of estrogen receptor alpha and cytochrome P450c17alpha polymorphisms with age at menopause in a Dutch cohort. *Hum Reprod* 2005;20(2):536-42.
- Letonja M, Peterlin B, Bregar D, Petrovic D. Are the T/C polymorphism of the CYP17 gene and the tetranucleotide repeat (TTTA) polymorphism of the CYP19 gene genetic markers for

premature coronary artery disease in Caucasians? *Folia Biol* 2005;51(3):76-81.

Lim WY, Chen Y, Chuah KL, Eng P, Leong SS, Lim E, Lim TK, Ng A, Poh WT, Tee A, Teh M, Salim A, Seow A. Female reproductive factors, gene polymorphisms in the estrogen metabolism pathway, and risk of lung cancer in Chinese women. *Am J Epidemiol* 2012;175(6):492-503.

Lindstrom S, Zheng SL, Wiklund F, Jonsson BA, Adami HO, Balter KA, Brookes AJ, Sun J, Chang BL, Liu W, Li G, Isaacs WB, Adolfsson J, Gronberg H, Xu J. Systematic replication study of reported genetic associations in prostate cancer: Strong support for genetic variation in the androgen pathway. *Prostate* 2006;66(16):1729-43.

Litridis I, Kapnoulas N, Natisvili T, Agiannitopoulos K, Peraki O, Ntostis P, Pantos K, Lamnissou K. Genetic variation in the CYP17 gene and recurrent spontaneous abortions. *Arch Gynecol Obstet* 2011;283(2):289-93.

Lunn R, Bell D, Mohler J, Taylor J. Prostate cancer risk and polymorphism in 17 hydroxylase (CYP17) and steroid reductase (SRD5A2). *Carcinogenesis* 1999;20(9):1727-31.

Madigan MP, Gao YT, Deng J, Pfeiffer RM, Chang BL, Zheng S, Meyers DA, Stanczyk FZ, Xu J, Hsing AW. CYP17 polymorphisms in relation to risks of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia: a population-based study in China. *Int J Cancer* 2003;107(2):271-5.

MARIE-GENICA Consortium on Genetic Susceptibility for Menopausal Hormone Therapy Related Breast Cancer Risk. Postmenopausal estrogen monotherapy-associated breast cancer risk is modified by CYP17A1\_-34\_T>C polymorphism. *Breast Cancer Res Treat* 2010;120(3):737-44.

Matsumoto Y, Suzuki A, Shibuya N, Oshino S, Kamata M, Goto K, Otani K. Association study of the cytochrome P450 17 gene polymorphism with personality traits in healthy subjects. *Behav Brain Res* 2008;194(1):21-4.

McCann SE, Moysich KB, Freudenheim JL, Ambrosone CB, Shields PG. The risk of breast cancer associated with dietary lignans differs by CYP17 genotype in women. *J Nutr* 2002;132(10):3036-41.

Mitrunen K, Jourenkova N, Kataja V, Eskelinen M, Kosma VM, Benhamou S, Vainio H, Uusitupa M, Hirvonen A. Steroid metabolism gene CYP17 polymorphism and the development of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(12):1343-8.

Onen IH, Ekmekci A, Eroglu M, Polat F, Biri H. The association of 5alpha-reductase II (SRD5A2) and 17 hydroxylase (CYP17) gene polymorphisms with prostate cancer patients in the

- Turkish population. *DNA Cell Biol* 2007;26(2):100-7.
- Pinotti SC, da Silva ID, Carvalho CV, Nazario AC. MspA1 polymorphism of the CYP17 gene in breast cysts. *Gynecol Endocrinol* 2012;28(6):443-6.
- Rai R, Sharma KL, Misra S, Kumar A, Mittal B. CYP17 polymorphism (rs743572) is associated with increased risk of gallbladder cancer in tobacco users. *Tumour Biol* 2014;35(7):6531-7.
- Sakoda LC, Blackston C, Doherty JA, Ray RM, Lin MG, Stalsberg H, Gao DL, Feng Z, Thomas DB, Chen C. Polymorphisms in steroid hormone biosynthesis genes and risk of breast cancer and fibrocystic breast conditions in Chinese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17(5):1066-73.
- Samson M, Rama R, Swaminathan R, Sridevi V, Nancy KN, Rajkumar T. CYP17 (T34C), CYP19 (Trp39Arg), and FGFR2 (C906T) polymorphisms and the risk of breast cancer in south Indian women. *Asian Pac J Cancer Prev* 2009;10(1):111-4.
- Sangrajrang S, Sato Y, Sakamoto H, Ohnami S, Laird NM, Khuhaprema T, Brennan P, Boffetta P, Yoshida T. Genetic polymorphisms of estrogen metabolizing enzyme and breast cancer risk in Thai women. *Int J Cancer* 2009;125(4):837-43.
- Sarma AV, Dunn RL, Lange LA, Ray A, Wang Y, Lange EM, Cooney KA. Genetic polymorphisms in CYP17, CYP3A4, CYP19A1, SRD5A2, IGF-1, and IGFBP-3 and prostate cancer risk in African-American men: the Flint Men's Health Study. *Prostate* 2008;68(3):296-305.
- Sata F, Yamada H, Suzuki K, Saijo Y, Yamada T, Minakami H, Kishi R. Functional maternal catechol-O-methyltransferase polymorphism and fetal growth restriction. *Pharmacogenet Genomics* 2006;16(11):775-81.
- Shin MH, Lee KM, Yang JH, Nam SJ, Kim JW, Yoo KY, Park SK, Noh DY, Ahn SH, Kim B, Kang D. Genetic polymorphism of CYP17 and breast cancer risk in Korean women. *Exp Mol Med* 2005;37(1):11-7.
- Sivonova M, Dobrota D, Dusenka R, Waczulikova I, Slezak P, Matakova T, Mahmoodova S, Mistuna D, Kliment J. Effect of CYP17 and PSA polymorphisms on prostate cancer risk and circulating PSA levels in the Slovak population. *Mol Biol Rep* 2012;39(8):7871-80.
- Skibola CF, Lightfoot T, Agana L, Smith A, Rollinson S, Kao A, Adamson P, Morgan GJ, Smith MT, Roman E. Polymorphisms in cytochrome P450 17A1 and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2005;129(5):618-21.

- Sobti RC, Gupta L, Thakur H, Seth A, Singh SK, Kaur P. CYP17 gene polymorphism and its association in north Indian prostate cancer patients. *Anticancer Res* 2009;29(5):1659-63.
- Somner J, McLellan S, Cheung J, Mak YT, Frost ML, Knapp KM, Wierzbicki AS, Wheeler M, Fogelman I, Ralston SH, Hampson GN. Polymorphisms in the P450 c17 (17-hydroxylase/17,20-Lyase) and P450 c19 (aromatase) genes: association with serum sex steroid concentrations and bone mineral density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(1):344-51.
- Souiden Y, Mahdouani M, Chaieb K, Elkamel R, Mahdouani K. CYP17 gene polymorphism and prostate cancer susceptibility in a Tunisian population. *Cancer Epidemiol* 2011;35(5):480-4.
- Spurdle AB, Chen X, Abbazadegan M, Martin N, Khoo SK, Hurst T, Ward B, Webb PM, Chenevix-Trench G. CYP17 promotor polymorphism and ovarian cancer risk. *Int J Cancer* 2000;86(3):436-9.
- Stanford JL, Noonan EA, Iwasaki L, Kolb S, Chadwick RB, Feng Z, Ostrander EA. A polymorphism in the CYP17 gene and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11(3):243-7.
- Surekha D, Sailaja K, Rao DN, Padma T, Raghunadharao D, Vishnupriya S. Association of a CYP17 gene polymorphism with development of breast cancer in India. *Asian Pac J Cancer Prev* 2010;11(6):1653-7.
- Syamala VS, Syamala V, Sheeja VR, Kuttan R, Balakrishnan R, Ankathil R. Possible risk modification by polymorphisms of estrogen metabolizing genes in familial breast cancer susceptibility in an Indian population. *Cancer Invest* 2010; 28(3):304-11.
- Szczepanska M, Wirstlein P, Skrzypczak J, Jagodzinski PP. Polymorphic variants of CYP17 and CYP19A and risk of infertility in endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2013;92(10):1188-93.
- Tsujino T, Ohara N, Yoshida S, Kennedy S, Takemura N, Deguchi M, Maruo T. The CYP17 MspA1 polymorphism is not associated with an increased risk of uterine leiomyomas in a Japanese population. *Gynecol Endocrinol* 2006;22(2):87-91.
- Verla-Tebit E, Wang-Gohrke S, Chang-Claude J. CYP17 5'-UTR MspA1 polymorphism and the risk of premenopausal breast cancer in a German population-based case-control study. *Breast Cancer Res* 2005;7(4):R455-64.
- Wadelius M, Andersson AO, Johansson JE, Wadelius C, Rane E. Prostate cancer associated with CYP17 genotype. *Pharmacogenetics* 1999;9(5):635-9.

- Weston A, Pan CF, Bleiweiss IJ, Ksieski HB, Roy N, Maloney N, Wolff MS. CYP17 genotype and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7(10):941-4.
- Wu AH, Seow A, Arakawa K, Van Den Berg D, Lee HP, Yu MC. HSD17B1 and CYP17 polymorphisms and breast cancer risk among Chinese women in Singapore. *Int J Cancer* 2003;104(4):450-7.
- Yamada Y, Watanabe M, Murata M, Yamanaka M, Kubota Y, Ito H, Katoh T, Kawamura J, Yatani R, Shiraishi T. Impact of genetic polymorphisms of 17-hydroxylase cytochrome P-450 (CYP17) and steroid 5alpha-reductase type II (SRD5A2) genes on prostate-cancer risk among the Japanese population. *Int J Cancer* 2001;92(5):683-6.
- Yang J, Wu HF, Zhang W, Gu M, Hua LX, Sui YG, Zhang ZD, Zhou JW, Wang XR, Zou C, Qian LX. Polymorphisms of metabolic enzyme genes, living habits and prostate cancer susceptibility. *Front Biosci* 2006;11:2052-60.
- Yazici H, Tigli H, Kadehçi Z, Kucucuk S, Saip P, Issever H, Ozcelik H, Dalay N. Are CYP17 genotypes a biomarker for ovarian cancer in patients with cancer history in their family? *Oncol Res* 2006;16(1):43-7.
- Yu MW, Yang YC, Yang SY, Cheng SW, Liaw YF, Lin SM, Chen CJ. Hormonal markers and hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma risk: a nested case-control study among men. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(21):1644-51.
- Zhang L, Gu L, Qian B, Hao X, Zhang W, Wei Q, Chen K. Association of genetic polymorphisms of ER-alpha and the estradiol-synthesizing enzyme genes CYP17 and CYP19 with breast cancer risk in Chinese women. *Breast Cancer Res Treat* 2009;114(2):327-38.



## 4. DISCUSIÓN

---





En esta investigación se estudió la vulnerabilidad genética de la transexualidad mediante el análisis citogenético del cariotipo y el análisis molecular de cuatro regiones polimórficas: las repeticiones (CA)<sub>n</sub> en el intrón 5 del gen *ERβ*; las repeticiones (CAG)<sub>n</sub> en el exón 1 del gen *AR*, las repeticiones (TTTA)<sub>n</sub> en el intrón 4 del gen *CYP19A1* y el SNP rs743572 del gen *CYP17A1*, en un grupo de 715 transexuales (273 FtM, 442 MtF) y 844 controles no transexuales (371 mujeres y 473 varones), residentes en España.

Los individuos que formaron parte de este estudio, tanto transexuales como controles, fueron seleccionados por las Unidades de Transexualidad e Identidad de Género de los Hospitales Carlos Haya de Málaga y Clinic de Barcelona. El diagnóstico fue hecho según los criterios del manual DSM-IV-TR (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 2000) y del ICD-10 (World Health Organization (WHO), 1993).

Los resultados obtenidos en esta investigación fueron publicados en la revista *The Journal of Sexual Medicine* agrupados según el polimorfismo y el sexo genético.

#### **4.1. Análisis citogenético del cariotipo en la población transexual**

El análisis citogenético del cariotipo en la población transexual, en concordancia con los principales estudios de aneuploidía realizados hasta el momento (Auer et al., 2013; Bearman, 2007; Hengstschlager et al., 2003; Inoubli et al., 2011; Wylie y Steward, 2008), mostró que un alto porcentaje de la población transexual (97,62%) presenta un cariotipo normal 46,XX o 46,XY. Por tanto, no se puede hablar de una alteración citogenética específica de la transexualidad, sin embargo, la prevalencia de la aneuploidía en la población transexual (2,4%) fue estadísticamente superior a la establecida en la población general (0,53%) ( $p = 1E-06$ ) (Maeda et al., 1991). Se desconoce la razón de esta elevada prevalencia de la aneuploidía, que es 4,5 veces superior en la población transexual respecto la población general.

A día de hoy, nadie ha podido determinar una alteración cromosómica específica de la transexualidad, pero los principales estudios señalan una elevada prevalencia de la aneuploidía, entorno al 2,4%. Bearman, en un estudio de 400 transexuales encontró una prevalencia del 2,5% (Bearman, 2007) (Tabla 2). Mientras que Inoubli y colaboradores en un estudio retrospectivo de 368 transexuales, encontraron una prevalencia del 2,45% (3,19% en el grupo MtF y 0,85% en el grupo FtM) (Inoubli et al., 2011).

Las prevalencias encontradas por Wylie y Steward (2008), Hengstschlager et al., (2003), Auer et al., (2013) y Vujovic et al., (2009) difieren notablemente respecto a estos datos, pero es necesario indicar que el tamaño de la muestra analizada por estos autores fue a veces muy pequeño (Tabla 2). Por otro lado, la técnica del corpúsculo de Barr utilizada por Auer y colaboradores (2013) determina exclusivamente el número de cromosomas X inactivos en las células (Barr y Bertram, 1949; Barr, 1959), no siendo aplicable en el estudio de otro tipo de alteraciones cromosómicas. Por tanto, el dato de prevalencia proporcionado por Auer estima por lo bajo el número de alteraciones cromosómicas en la población transexual al haber sido descartadas del análisis las aneuploidías autosómicas, las alteraciones estructurales del cromosoma X y cualquier anomalía que pudiera estar presente en el cromosoma Y.

Kevan y Wylie encontraron un individuo con síndrome de Klinefelter en mosaico, en una población de 52 transexuales (Kevan y Wylie, 2008), mientras que Hengstschlager y colaboradores en su estudio citogenético y nuclear de una población de 30 MtF y 31 FtM, no encontraron ninguna alteración cromosómica, a excepción de la translocación 46,XY,t(6;17)(p21.3;q23) (Hengstschlager et al., 2003). Como ya hemos comentado anteriormente, el número de sujetos analizados en estos trabajos es bajo.

Pero el dato más desconcertante corresponde al estudio de 147 transexuales (71 MtF/76 FtM) de Vujovic y colaboradores, determinando una prevalencia de la aneuploidía del 0% (Vujovic et al., 2009). Lamentablemente en este trabajo los autores no especifican el tipo de técnica utilizada, ni el origen de las células empleadas.

En nuestra muestra se analizaron 715 cariotipos, 442 de MtF y 273 de FtM. Tres individuos presentaban síndrome de Klinefelter (47,XXY), lo que corresponde a una prevalencia del 0,68% entre la población MtF, siendo una prevalencia significativamente mayor que la esperada en la población general ( $p = 0,022031$ ). Maeda y colaboradores encontraron ocho individuos 47,XXY en su estudio de aneuploidía en la población general, lo que corresponde al 0,12% (Maeda et al., 1991).

Por otro lado, la frecuencia de la aneuploidía en el grupo MtF (2,04%) fue más baja que la definida en el grupo FtM (2,93%), pero estas diferencias no fueron significativas ( $p = 0,460194$ ).

**Tabla 2**

*Resumen de los resultados citogenéticos de los principales estudios sobre aneuploidía en la población transexual*

<b>Publicación</b>	<b>Tipo de investigación</b>	<b>Técnica empleada</b>	<b>Procedencia</b>	<b>N</b>	<b>Prevalencia de la aneuploidía</b>
(Bearman, 2007)	Estudio retrospectivo	Cultivo de linfocitos y bandas G	Australia	400	2,5%
(Inoubli et al., 2011)	Estudio retrospectivo	Cultivo de linfocitos y bandas G	Bélgica	368	2,45%
(Wylie y Steward, 2008)	Citogenético	No se especifica	Reino Unido	52	1,92%
(Hengstschlager et al., 2003)	Citogenético	Cultivo de linfocitos, bandas G y FISH	Viena, Austria	61	1,64%
(Auer et al., 2013)	Estudio retrospectivo	Cultivo de linfocitos y bandas G o corpúsculo de Barr	Alemania	270	1,5%
(Vujovic et al., 2009)	No se especifica	No se especifica	Serbia	147	0%

La relación de sexos MtF: FtM corresponde a 1,62:1, más baja que la indicada por Gómez-Gil et al., (2006) para España. Como se puede ver en la Tabla 3, en prácticamente todos los países se mantiene una superioridad numérica del grupo MtF, que oscila entre el 6,1:1 de Australia (Ross et al., 1981) y el 1,2 de Alemania (Garrels et al., 2000). Solo dos estudios, Godlewski (1988) y Vujovic et al., (2009) proporcionan datos con una superioridad numérica del grupo FtM frente al MtF. El trabajo de Godlewski (1988) aporta una relación del 1:5,5 a partir del estudio de 20 transexuales. Vujovic y colaboradores a partir del estudio de 147 transexuales, nos aporta un dato quizás influido por las recientes guerras y cambios políticos de ese país, que oscila notablemente con los años (Tabla 3).

Finalmente se podría concluir, a partir de nuestros datos y de los principales estudios sobre aneuploidía realizados hasta el momento, que a fecha de hoy no se ha encontrado una alteración citogenética directamente implicada en la transexualidad, pero sin embargo la prevalencia de la aneuploidía es notablemente mayor en la población transexual que en la población general ( $p = 1E-06$ ). Se desconoce la causa. El síndrome de Klinefelter muestra también una prevalencia significativamente mayor que la esperada en la población general ( $p = 0,022031$ ).

Por otro lado, nuestros datos indican que la información que proporciona el cariotipo en la población transexual es muy limitada, y que la base genética de la transexualidad debe jugar un papel ligado a la vulnerabilidad genética, no al determinismo genético. Parece pues más indicado que los futuros estudios sobre genética de la transexualidad se orienten a la investigación molecular y/o epigenética.

Creemos que las recientes evidencias abalan la hipótesis de una base genética de la transexualidad: (1) Que la transexualidad sea un hecho universal. (2) La preponderancia del grupo MtF respecto al FtM en diferentes países y culturas. (3) El incremento de la aneuploidía en la población transexual frente a la población general.

Todos estos datos abalan la existencia de una base genética de la transexualidad, que implicaría una vulnerabilidad personal, más que un determinismo genético, independiente del contexto social, cultural o creencias religiosas.

## DISCUSIÓN

**Tabla 3**

*Relación de sexos MtF: FtM en la población transexual, según los principales estudios sobre transexualidad*

Estudio	País	Relación de sexos MtF: FtM
(Ross et al., 1981)	Australia	6,1:1
(Benjamin, 1966)	USA	6:1
(Veale, 2008)	Nueva Zelanda	6:1
(Pauly, 1968)	USA	4:1
(Wilson et al., 1999)	Escocia	4:1
(Sorensen y Hertoft, 1982)	Dinamarca	3,6:1
(Dulko y Imielinski, 2004)	Polonia	3,4:1
(O'Gorman, 1982)	Irlanda del norte	3:1
(Eklund et al., 1988)	Países Bajos	3:1
(Tsoi, 1988)	Singapur	3:1
(van Kesteren et al., 1996)	Países Bajos	3:1
(Vujovic et al., 2009)	República de Serbia	(antes de 1990) 3:1
(Hoening y Kenna, 1974)	Inglaterra y Gales	2,9:1
(Sorensen y Hertoft, 1980)	Dinamarca	2,8:1
(Gómez-Gil et al., 2005)	España	2,6:1
(Walinder, 1968)	Suecia	2,5:1
(Bakker et al., 1993)	Países Bajos	2,5:1
(Kreukels et al., 2012)	Bélgica	2,5:1
(De Cuyper et al., 2007)	Bélgica	2,43:1
(Kreukels et al., 2012)	Países Bajos	2,34:1
(Weitze y Osburg, 1996)	Alemania	2,3:1
(Gómez-Gil et al., 2009)	España	2,24:1
(Garrels et al., 2000)	Alemania	1,9:1
(Olsson y Moller, 2003)	Suecia	1,9:1
(Dixen et al., 1984)	USA	1,7:1
(Blanchard et al., 1987)	Canadá	1,7:1
(De Cuyper et al., 1995)	Bélgica	1,7:1
(Smith et al., 2005b)	Países Bajos	1,5:1
(Meyer zu Hoberge, 2009)	Alemania	1,5:1
(Landen et al., 1996b)	Suecia	1,4:1
(Walinder, 1971)	Suecia	1:1
(Pimenoff, 1993)	Finlandia	1:1
(Vujovic et al., 2009)	República de Serbia	(después de 2003) 1:1
(Kreukels et al., 2012)	Noruega	1:1,12
(Kreukels et al., 2012)	Alemania	1:1,33
(Baba et al., 2007)	Japón	1:2
(Herman-Jeglinska et al., 2002)	Polonia	1:5,4
(Godlewski, 1988)	Polonia	1;5,5

## 4.2. Análisis de los polimorfismos de los genes *ERβ*, *AR* y *CYP19A1* en la población FtM

Cuando se analizaron las frecuencias alélicas de los polimorfismos de los genes *ERβ*, *AR* y *CYP19A1* en la población FtM y en el grupo control de mujeres (Estudio 2) se encontró que según las medias, el grupo FtM presentaba un polimorfismo del *ERβ* más largo que el grupo control de mujeres (grupo control = 25,56 repeticiones; grupo FtM = 26,83 repeticiones; *U de Mann-Whitney* = 31,918;  $p = 0,002$ ). Respecto a los otros dos polimorfismos analizados, las diferencias entre las medias no fueron significativas.

Para analizar las frecuencias genotípicas y alélicas de los tres polimorfismos, se siguieron los análisis propuestos por el grupo de Henningsson y colaboradores (2005), y posteriormente aplicados por Hare et al., (2009) y Ujike et al., (2009). Primeramente el número de repeticiones se agrupó en alelos cortos (S) o alelos largos (L) según el punto de corte originado por la mediana obtenida en el grupo control (*ERβ* = 25,56; *AR* = 19,27 y *CYP19A1* = 9,33). De esta forma se obtuvieron las frecuencias alélicas (S o L) y genotípicas (SS, LL, SL) para los tres polimorfismos.

El análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas mostró nuevamente diferencias estadísticamente significativas para el polimorfismo del gen *ERβ* ( $p = 0,001$ ), pero no para los otros dos polimorfismos. Según nuestros resultados, un mayor número de repeticiones CA implica una mayor probabilidad de transexualidad en el grupo FtM. Según el Test de *Odds ratio* la probabilidad de desarrollo de transexualidad es mayor en presencia de dos copias del alelo largo, es decir en presencia de un genotipo homocigoto LL (odds ratio: 2,001 [1,15–3,46]).

Nuestros resultados complementan el único trabajo sobre genética de la transexualidad en el grupo FtM realizado hasta la fecha (Ujike et al., 2009). Los otros dos trabajos sobre genética de la transexualidad publicados hasta el momento, Henningsson et al., (2005) y Hare et al., (2009), se realizaron exclusivamente en una población transexual MtF.

El grupo de Ujike, en una población de 168 FtMs, no encontró ninguna relación entre las variables analizadas y la transexualidad. Así, nuestros datos, con una N mayor, corroboran los resultados obtenidos por el grupo de Ujike referentes a los polimorfismos *AR* y *CYP19A1*, pero no así para el *ERβ* (Tabla 4). En el caso del intrón 5 del gen *ERβ* encontramos una relación estadísticamente significativa entre el alelo largo (L) y la transexualidad, originándose una mayor susceptibilidad o

mayor probabilidad de desarrollo de transexualidad en la población FtM con dos copias del alelo largo es decir, en presencia del genotipo homocigoto LL.

Aunque existen numerosos estudios que muestran la relación inversa entre la longitud de la región variable del gen *AR* y la actividad del complejo hormona-receptor (Chamberlain et al., 1994; Kazemi-Esfarjani et al., 1995; Tut et al., 1997), no hay datos que indiquen que esta misma relación inversa exista en el caso del gen *ERβ*. Algunos trabajos investigan esta posibilidad, así Kudwa y colaboradores (Kudwa et al., 2006) encontraron que los ratones macho que habían perdido el gen *Erβ*, cuando eran tratados con el apropiado tratamiento hormonal, mostraban una conducta sexual femenina más intensa que sus hermanas de camada. Sin embargo, la pérdida de receptores *Erβ* no impedía una expresión de la conducta sexual masculina. Los autores no encontraron evidencias de una conducta sexual masculina alterada en los machos *ERβ*KO (ratas genéticamente modificadas sin el gen *Erβ*), pero sin embargo los autores proponen que el proceso de desfeminización es incompleto en estos machos *Erβ*KO (Kudwa y Rissman, 2003; Kudwa et al., 2005).

Nuestros datos, así como otros estudios (Kudwa et al., 2005; Westberg et al., 2001) abalan el hecho de que un receptor *ERβ* eficiente es directamente proporcional al tamaño del polimorfismo analizado, de tal manera que un mayor número de repeticiones implicaría una mayor activación de la transcripción, y de esta manera, un incremento en la función del receptor *ERβ* y un incremento en la desfeminización de la conducta. Por tanto, podríamos suponer que una mayor eficiencia del complejo estrógeno-receptor por un alto número de repeticiones, podría favorecer el proceso de desfeminización (Even et al., 1994). El proceso de desfeminización del tracto cortico espinal ha sido ya descrito en FtMs (Rametti et al., 2011a).

Por otro lado, Westberg y colaboradores (2001) encontraron que las mujeres con un menor número de repeticiones CA en el polimorfismo de gen *ERβ* presentaban niveles más altos de testosterona y más bajos niveles de globulinas unidas a hormonas esteroideas (SHBG) que aquellas que presentaban un mayor número de repeticiones CA (Westberg et al., 2001). La asociación entre un número menor de repeticiones CA del gen *ERβ* y altos niveles de testosterona estaría abalando también que una cadena más corta originaría un receptor menos activo (Hsiao et al., 1999). Por supuesto, sin duda, es necesaria una investigación detallada de los posibles mecanismos que subyacen a la asociación entre el polimorfismo del gen *ERβ* y la actividad hormonal.

**Tabla 4**

Resultados de los principales estudios sobre genética de la transexualidad. Todos los trabajos se refieren a los polimorfismos de los genes *ERβ*, *AR* y *CYP19A1*

	Henningsson et al., (2004)	Hare et al., (2009)	Ujike et al., (2009)	Fernández et al., (2014)	Fernández et al., (2014)
<b>Población analizada</b>	29 MtF 229 Hombres control	112 MtF 258 Hombres control	168 FtM 74 MtF 169 Mujeres control 106 Hombres control	273 FtM 371 Mujeres control	442 MtF 473 Hombres control
<b>Características de la población</b>	MtF y controles caucásicos con la misma procedencia geográfica (Suecia).  Ni el grupo control ni el transexual fueron seleccionados según la orientación sexual.	MtF y controles son de diferente procedencia geográfica.  Poblaciones caucásicas provenientes de Australia y Los Ángeles. Se desconoce en qué proporción.  Ningún grupo fue seleccionado según la orientación sexual.	Toda la muestra fue seleccionada según edad y etnia (asiática de Japón).  Ni el grupo control ni el transexual fueron seleccionados según la orientación sexual.	Ambas poblaciones caucásicas, mayoritariamente de origen español.  Grupo control seleccionado según edad, sexo y procedencia geográfica.  Grupo FtM de orientación homosexual, según tipología de Blanchard.	Ambas poblaciones caucásicas, mayoritariamente de origen español.  Grupo control seleccionado según edad, sexo y procedencia geográfica.  Grupo MtF aprox. 90% de orientación homosexual, según tipología de Blanchard.
<b>Resultados</b>	Polimorfismo del <i>ERβ</i> implicado en la transexualidad MtF  El número de repeticiones en <i>ERβ</i> es mayor en el grupo MtF que en el grupo control.	Polimorfismo del <i>AR</i> implicado en la transexualidad MtF  El número de repeticiones en <i>AR</i> es mayor en el grupo control que en el grupo MtF.	Ninguno de los polimorfismos analizados está implicado en la transexualidad FtM o MtF.	Polimorfismo del <i>ERβ</i> implicado en la transexualidad FtM.  El número de repeticiones en <i>ERβ</i> es mayor en el grupo FtM que en el grupo control.	Ninguno de los polimorfismos analizados está implicado en la transexualidad MtF.



<b>Media AR</b>	MtF 18,86 Grupo control 18,61	MtF 19,73 Grupo control 20,36	Mediana grupo control 20-21	FtM 19,45 Grupo control 19,27	MtF 19,05 Grupo control 18,90
<b>Valores mínimo y máximo AR</b>	MtF (13-24) Grupo control (10-31)	MtF (16-36) Grupo control (12-32)	FtM (11-36) Grupo control mujeres (13-29) MtF (17-27) Grupo control varones (10-32)	FtM (7-28) Grupo control (12-26)	MtF (6-29) Grupo control (12-23)
<b>Media ERβ</b>	MtF 26,63 Grupo control 25,81	Mediana grupo control 22	Mediana grupo control 22-23	FtM 26,83 Grupo control 25,56	MtF 26,41 Grupo control 26,49
<b>Valores mínimo y máximo ERβ</b>	MtF (20-31) Grupo control (20-31)	MtF (16-26) Grupo control (14-27)	FTM (16-28) Grupo control mujeres (16-28) MtF (19-28) Grupo control varones (16-18)	FTM (19-35) Grupo control (18-30)	MtF (19-35) Grupo control (18-32)
<b>Media CYP19A1</b>	MtF 9 Grupo control 9,08	Mediana grupo control 7	Mediana grupo control 8-9	Media FtM 9,51 Media control 9,33	Media MtF 9,11 Media control 9,29
<b>Valores mínimo y máximo CYP19A1</b>	MtF (7-12) Grupo control (7-13)	MtF (7-13) Grupo control (7-13)	FTM (7-13) Grupo control mujeres (7-14) MtF (7-13) Grupo control varones (7-14)	FTM (4-15) Grupo control (4-14)	MtF (4-23) Grupo control (7-14)

---

### 4.3. Análisis de los polimorfismos de los genes *ERβ*, *AR* y *CYP19A1* en la población MtF

Cuando se analizó el número de repeticiones de los polimorfismos de los genes *ERβ*, *AR* y *CYP19A1* en el grupo de transexuales MtF y el grupo control de varones (Estudio 3) se encontró que según las medias, el grupo MtF presentaba un polimorfismo del *CYP19A1* más corto que el grupo control de varones (Grupo control = 9,29 repeticiones y grupo MtF = 9,11 repeticiones; *U de Mann-Whitney* = 379771,5) siendo significativamente mayor el número de repeticiones (TTTA) en el grupo control que en el grupo transexual MtF ( $p = 0,022$ ). Respecto a los otros dos polimorfismos analizados (*AR* y *ERβ*), las diferencias entre las medias no fueron significativas.

Para calcular las frecuencias genotípicas y alélicas de las poblaciones estudiadas, al igual que en el estudio anterior, y siguiendo el mismo procedimiento propuesto por el equipo de Henningsson (Henningsson et al., 2005), se tuvo en cuenta la mediana obtenida en el grupo control, pudiendo diferenciar de esta forma entre alelos cortos (S) y largos (L) y entre genotipos homocigotos (SS o LL) y heterocigotos (SL) en el caso de los genes *ERβ* y *CYP19A1*. El gen *AR* se localiza en el cromosoma X por tanto los varones presentan una única copia de este polimorfismo, pudiendo ser S o L. Aquellos pocos casos (tres) en los que se confirmó dos copias del gen *AR*, se pudo demostrar la existencia de dos cromosomas X y un cromosoma Y, originando el cariotipo 47,XXY.

El análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas no mostró diferencias estadísticamente significativas entre transexuales MtF y no transexuales, en ninguno de los polimorfismos analizados. Finalmente, se aplicó un modelo de regresión logística. Las tres variables, así como todas las combinaciones posibles de las tres, fueron incluidas en el modelo. Se usó el *test estadístico de progresión logística Wald* para evaluar la significación del modelo. Ninguna de estas interacciones fue significativa.

Nuestros datos complementan el estudio previo sobre la transexualidad MtF publicado por Ujike y colaboradores (Ujike et al., 2009) quienes examinaron una población transexual Japonesa compuesta por 74 individuos MtF y 168 FtM. De manera análoga al equipo de Ujike, no encontramos ninguna asociación entre estos tres polimorfismos y la transexualidad en el grupo MtF. El único dato estadísticamente significativo lo aporta el polimorfismo *CYP19A1* cuando se compararon las medias mediante la *U de Mann-Whitney*, pero estas diferencias dejaron de ser significativas cuando se analizaron las frecuencias alélicas y genotípicas, o se aplicaron otras

pruebas (*Chi cuadrado*, *OR* y el test de progresión logística), lo que podría hacer dudar sobre la verosimilitud de este dato estadístico. Más bien se podría pensar en un artefacto debido a la distribución de este polimorfismo en forma de U, que hace predominar dos alelos sobre el resto.

Además del estudio del grupo de Ujike, podemos encontrar en la literatura otros dos estudios sobre la base genética de la transexualidad en la población MtF: Henningsson et al., (2005) y Hare et al., (2009). El grupo de Henningsson analizó una población de 29 transexuales MtF del norte de Europa, encontrando diferencias estadísticamente significativas para el gen *ERβ*. Los autores encontraron que el número de repeticiones (CA)<sub>n</sub> era mayor en el grupo MtF que en el grupo control. El análisis de regresión logística también indicó una asociación entre los tres genes y la transexualidad en el grupo MtF. Sin embargo, debido a que la significación fue marginal y el número de pacientes fue pequeño, no se puede descartar un posible artefacto de la muestra.

En 2009, Hare y colaboradores replicó el estudio de Henningsson en una población MtF mayor (112 MtF) provenientes de Australia y Los Ángeles (California) y 258 varones control no transexuales también procedentes de Australia y Los Ángeles, encontrando diferencias significativas en la media de repeticiones del polimorfismo del *AR*, pero no en el *ERβ* ni en el *CYP19A1*. La significación fue nuevamente marginal, ( $p = 0,04$ ), pero el mayor problema del trabajo de Hare y colaboradores fue la mezcla, tanto en el grupo de estudio como en el grupo control, de dos poblaciones originariamente diferentes, (Australia y Los Ángeles, USA), desconociendo el porcentaje de cada una de ellas.

En nuestra opinión se sabe muy poco sobre la diferente distribución de este polimorfismo entre países, sexos o continentes, y en esta investigación se ha añadido un agente extraño al mezclar poblaciones. Así Sasaki y colaboradores (Sasaki et al., 2003) examinaron este polimorfismo en una población Japonesa y otra caucásica, encontrando que ambas poblaciones mostraban distribuciones alélicas diferentes. Por esta razón, ya que podrían existir diferencias entre estas dos poblaciones, creemos que esta replicación de la investigación fue inexacta.

Nuestra investigación constó de 442 individuos MtF, que sepamos la mayor muestra de transexuales hasta la fecha. La investigación no mostró diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los polimorfismos analizados (*AR*, *ERβ*, o *CYP19A1*). Cuando se analizaron las medias, se encontró una diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0,022$ ) para el polimorfismo del *CYP19A1* pero esta significación no se mantuvo cuando se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas.

La aromatasa es necesaria para la conversión de los andrógenos en estrógenos, y juega una papel importante en la diferenciación sexual del cerebro (DuPree et al., 2004), por este motivo inicialmente se pensó que este polimorfismo podría estar implicado en la transexualidad, pero los datos no han corroborado nuestra hipótesis inicial, y las relaciones previamente encontradas por Henningsson et al., (2005) y Hare et al., (2009) no fueron replicadas.

#### **4.4. Análisis del polimorfismo *CYP17 MspA1* (rs743572) en la población transexual**

Basándonos en la hipótesis de Bentz et al., (2008) según la cual el alelo A2 del polimorfismo genético *CYP17 MspA1* (rs743572) estaría relacionado con la transexualidad exclusivamente en el grupo FtM, se analizó una muestra de 628 individuos caucásicos residentes en España (151 transexuales MtF, 142 transexuales FtM, 167 varones control y 168 mujeres control) (Estudio 5).

Primeramente se procedió al análisis de las frecuencias alélicas en la población control, determinando que no existe una distribución alélica dependiente del sexo en la población general ( $p = 0,887537$ ). Tanto hombres como mujeres presentan frecuencias alélicas similares. Contrariamente, la población transexual sí mostró una distribución alélica dependiente del sexo. La frecuencia del alelo A2 fue más alta en el grupo FtM (0,45) que en el grupo control masculino (0,39), el control femenino (0,38) y que el grupo MtF (0,36), siendo la diferencia con este último grupo estadísticamente significativa ( $p = 0,04$ ).

Las frecuencias alélicas obtenidas en nuestro estudio fueron muy similares a las obtenidas por el equipo de Bentz (Bentz et al., 2008) tanto para el grupo de transexuales como para el grupo control masculino, pero discreparon notablemente respecto a las frecuencias alélicas del grupo control de mujeres ( $p = 0,015665$ ). El equipo de Bentz encontró que en la población Austríaca el polimorfismo *CYP17 MspA1* (rs743572) presentaba unas frecuencias alélicas claramente definidas según el sexo.

Debido a que la única discrepancia de nuestros datos con el trabajo de Bentz et al., (2008) se debe a la población control, en concreto a las frecuencias alélicas del grupo control de mujeres, y no a la población transexual, y para clarificar si realmente el polimorfismo *CYP17 MspA1* es sexo dependiente en la población general, se consultó la base de datos *1000 Genomes* (Abecasis et al.,

2010; Mills et al., 2011) que aporta las frecuencias alélicas a nivel mundial, distribuidas según países. Además, como la base de datos *1000 Genomes* tampoco proporciona las frecuencias alélicas de este polimorfismo teniendo en cuenta el sexo, a excepción de aquellos polimorfismos presentes en el cromosoma X, se realizó una búsqueda bibliográfica del polimorfismo *CYP17 MspAI* (rs743572) en la base de datos MEDLINE, teniendo en cuenta el sexo, la etnia y el país de origen de la población, con las siguientes estrategias de búsqueda:

- Base de datos empleada: PubMed MEDLINE
- Términos de búsqueda empleados: “CYP17 Polymorphism”, “cytochrome P450c17”, “rs743572”.
- Fecha de publicación de los estudios: Hasta la fecha de realización de la búsqueda, 1-07-2014.
- Idioma: Inglés.

### ***Criterios de inclusión:***

- Investigaciones “caso-control”
- Grupo control formado a partir de la población general y sana.
- Grupo control sin mezcla de etnias, nacionalidades ni sexos.
- Grupo control con frecuencias alélicas o genotípicas.

### ***Criterios de exclusión:***

- Investigaciones sin grupo control.
- Investigaciones sin descripción, o una descripción incompleta, del grupo control.
- Investigaciones con mezcla de sexos, etnias o nacionalidades en el grupo control.
- Investigaciones que no mencionen el sexo, la etnia o el origen geográfico del grupo control.
- Investigaciones con un grupo control definido como “mayoritariamente” o “mezcla”.
- Se descartaron los estudios con un grupo control con una N inferior a 100.
- Cuando el mismo grupo control fue utilizado en varias publicaciones, sólo se incluyó la publicación más reciente, con un grupo control mayor y mejor detallado.

Se analizaron los títulos y resúmenes de 1.440 artículos. Se excluyeron los artículos claramente irrelevantes, o que no cumplían alguno de los criterios, seleccionando 319 artículos. El texto completo de los 319 artículos fue examinado minuciosamente por dos autores. Finalmente se incluyeron 78 artículos de diversas temáticas.

Las frecuencias alélicas y genotípicas fueron obtenidas exclusivamente a partir de los grupos control de los 78 artículos examinados. Cuando los autores no proporcionaron las frecuencias

alélicas, éstas se obtuvieron a partir de las frecuencias genotípicas. El tema de estudio no se tuvo en consideración (ejemplo: cáncer de próstata, endometriosis, cataratas, síndrome de ovario poliquístico, tabaquismo, etc.) porque el objetivo de la búsqueda bibliográfica era determinar las frecuencias alélicas del polimorfismo *CYP17 MspAI* en la población general sana.

De acuerdo con las bases de datos consultadas, *1000 Genomes* y MEDLINE, las frecuencias alélicas del polimorfismo *CYP17 MspAI* varían según el origen geográfico de las poblaciones, y la etnia, pero no dependen del sexo. No se encontró ningún artículo, a excepción de Bentz y colaboradores (2008), que indicase unas frecuencias alélicas del *CYP17 MspAI* dependientes del sexo. Este dato se apoya en el hecho de que el gen *CYP17A1* se encuentra en el cromosoma 10, no en el cromosoma X, por lo que no se espera que hombres y mujeres presenten una distribución alélica dependiente del sexo en este polimorfismo (Denschlag et al., 2006; Young et al., 1999).

Por tanto, ni nuestros datos, ni las bases de datos consultadas, corroboraron el dato aportado por Bentz et al., (2008) según los cuales el polimorfismo *CYP17 MspAI* es dependiente del sexo en la población general. Sin embargo, para el resto de grupos analizados, sí encontramos unas frecuencias alélicas similares a las encontradas por el equipo de Bentz, así como una frecuencia alélica mayor en FtM que en MtF.

La presencia del alelo A2, que corresponde al cambio T>C en la posición 5.139 del gen *CYP17A1*, parece incrementar, según diferentes autores, la expresión del gen *CYP17A1* (Feigelson et al., 1998), de tal forma que en la población FtM con dos copias del alelo A2, se podría esperar unos niveles más altos de testosterona que en las mujeres no transexuales; y contrariamente, en la población MtF menores niveles que en la población no transexual. Pero la transexualidad es una condición compleja, en la cual se supone la implicación de múltiples genes que interactúan en una cierta vulnerabilidad, con otros factores hormonales, psicológicos y factores del neurodesarrollo para producir el fenotipo.

En conclusión, nuestros datos muestran una distribución alélica dependiente del sexo en la población transexual con un patrón FtM>MtF que no se aprecia en la población general. Ello sugiere una hipotética implicación de este polimorfismo en la base genética de la transexualidad, aunque habría que tener en cuenta también otros genes que pudieran estar implicados en el proceso, como previamente se ha demostrado con el gen *ERβ* en la población FtM, así como otros polimorfismos no analizados hasta el momento.

## **5. CONCLUSIONES**

---





## CONCLUSIONES

---

1. Nuestros datos confirman una prevalencia de la aneuploidía 4,5 veces mayor en la población transexual (2,4%) que en la población general (0,53%) ( $p = 1E-06$ ). Se desconoce la razón de esta elevada prevalencia, al mismo tiempo que se confirman los resultados de los principales estudios citogenéticos en la población transexual realizados hasta el momento.
2. El análisis del cariotipo confirma que no existe una alteración cromosómica directamente implicada en la vulnerabilidad genética de la transexualidad.
3. Nuestros datos indican que la información que proporciona el cariotipo en la población transexual es muy limitada y que la base genética de la transexualidad debe jugar un papel ligado a la vulnerabilidad genética, no al determinismo genético. Parece pues más indicado que los futuros estudios sobre genética de la transexualidad se orienten a la investigación molecular y/o epigenética.
4. La prevalencia del síndrome de Klinefelter en la población transexual MtF es 5,6 veces más alta en el grupo de transexuales (0,68%) que en la población general (0,12%) ( $p = 0,022031$ ). Se desconoce la razón de esta elevada prevalencia.
5. Los datos moleculares abalan la asociación entre el polimorfismo del gen *ERβ* y la transexualidad en el grupo FtM, pero no en el grupo MtF.
6. Nuestros datos apoyan una función del receptor *ERβ* directamente proporcional al tamaño del polimorfismo, de tal forma que un mayor número de repeticiones implicaría una mayor activación de la transcripción, posiblemente por un incremento de la función del complejo hormona receptor, y así induciendo una menor feminización del cerebro femenino.
7. No existe una relación entre los polimorfismos analizados de los genes *ERβ*, *AR* y *CYP19A1* y la transexualidad en el grupo MtF.
8. En cuanto al polimorfismo *CYP17 MspA1* se encontró una distribución alélica dependiente del sexo FtM>MtF en la población transexual, aunque la distribución alélica en la población general no es dependiente del sexo. Nuestros datos indican por tanto una implicación del polimorfismo *CYP17 MspA1* en la transexualidad.



## 6. BIBLIOGRAFÍA

---



- Abecasis, G.R., Altshuler, D., Auton, A., Brooks, L.D., Durbin, R.M., Gibbs, R.A... y McVean, G.A. (2010). A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature*, 467(7319), 1061-1073. doi: 10.1038/nature09534.
- Adkins-Regan, E., Mansukhani, V., Thompson, R. y Yang, S. (1997). Organizational actions of sex hormones on sexual partner preference. *Brain Res Bull*, 44(4),497-502. doi: 10.1016/S0361-9230(97)00231-1.
- Alevizaki, M., Cimponeriu, A.T., Garofallaki, M., Sarika, H.L., Alevizaki, C.C., Papamichael, C... y Mavrikakis, M. (2003). The androgen receptor gene CAG polymorphism is associated with the severity of coronary artery disease in men. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 59(6),749-755. doi: 10.1046/j.1365-2265.2003.01917.x.
- Allen, L.S. y Gorski, R.A. (1990). Sex difference in the bed nucleus of the stria terminalis of the human brain. *J Comp Neurol*, 302(4), 697-706. doi: 10.1002/cne.903020402.
- Allen, L.S., Hines, M., Shryne, J.E. y Gorski, R.A. (1989). Two sexually dimorphic cell groups in the human brain. *J Neurosci*, 9(2), 497-506. <http://www.jneurosci.org/content/9/2/497.long>
- Arai, Y. (1972). Effect of 5 -dihydrotestosterone on differentiation of masculine pattern of the brain in the rat. *Endocrinol Jpn*, 19(4), 389-393. doi:10.1507/endocrj1954.19.389.
- Auer, M.K., Fuss, J., Stalla, G.K. y Athanasoulia, A.P. (2013). Twenty years of endocrinologic treatment in transsexualism: analyzing the role of chromosomal analysis and hormonal profiling in the diagnostic work-up. *Fertil Steril*, 100(4),1103-1110. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.05.047.
- Avila, D.M., Zoppi, S. y McPhaul, M.J. (2001). The androgen receptor (AR) in syndromes of androgen insensitivity and in prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 76(1-5),135-142. doi: 10.1016/S0960-0760(00)00158-8.
- Baba, T., Endo, T., Honnma, H., Kitajima, Y., Hayashi, T., Ikeda, H... y Saito, T. (2007). Association between polycystic ovary syndrome and female-to-male transsexuality. *Hum Reprod*, 22(4), 1011-1016. doi: 10.1093/humrep/del474.
- Bakker, A., van Kesteren, P.J., Gooren, L.J. y Bezemer, P.D. (1993). The prevalence of transsexualism in The Netherlands. *Acta Psychiatr Scand*, 87(4), 237-238. doi: 10.1111/j.1600-0447.1993.tb03364.x.
- Bakker, J. y Baum, M.J. (2008). Role for estradiol in female-typical brain and behavioral sexual differentiation. *Front Neuroendocrinol*, 29(1), 1-16. doi: 10.1016/j.yfrne.2007.06.001.
- Bakker, J., De Mees, C., Douhard, Q., Balthazart, J., Gabant, P., Szpirer, J... y Szpirer, C. (2006). Alpha-fetoprotein protects the developing female mouse brain from masculinization and defeminization by estrogens. *Nat Neurosci*, 9(2), 220-226. doi:10.1038/mn1624.
- Bakker, J., Honda, S., Harada, N. y Balthazart, J. (2002). Sexual partner preference requires a functional aromatase (cyp19) gene in male mice. *Horm Behav*, 42(2), 158-171. doi:10.1006/hbeh.2002.1805.
- Balthazart, J., Foidart, A., Surlemont, C., Harada, N. y Naftolin, F. (1992). Neuroanatomical specificity in the autoregulation of aromatase-immunoreactive neurons by androgens and estrogens: an immunocytochemical study. *Brain Res*, 574(1-2), 280-290. doi: 10.1016/0006-8993(92)90828-W.
- Baron-Cohen, S. (2004). The cognitive neuroscience of autism. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 75(7), 945-

948. doi:10.1136/jnnp.2003.018713.
- Barr, M.L. (1959). Sex chromatin and phenotype in man. *Science*, 130(3377), 679-685. doi: 10.1126/science.130.3377.679.
- Barr, M.L. y Bertram, E.G. (1949). A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature*, 163(4148), 676. doi: 10.1038/163676a0.
- Bartolucci, C., Gómez-Gil, E., Salamero, M., Esteva, I., Guillamón, A., Zubiaurre, L... y Montejo, A.L. (2015). Sexual quality of life in gender-dysphoric adults before genital sex reassignment surgery. *J Sex Med*, 12(1), 180-188. doi: 10.1111/jsm.12758.
- Basterra, V., Ruiz, R., Toni, M., Rebole, A., Perez de Mendiola, Y. y Forga, L. (2012). [Descriptive study of transsexuality in Navarre]. *An Sist Sanit Navar*, 35(3), 455-460. <http://recyt.fecyt.es/index.php/ASSN/article/view/16140/11184>
- Bearman, G. (2007). Karyotyping and genetics in the transgendered population. En: Ettner R, Monstrey S, Eyler AE, (Ed.), *Principles of transgender medicine and surgery*. New York: Haworth Press. [http://samples.sainsburysebooks.co.uk/9781136765674\\_sample\\_819948.pdf](http://samples.sainsburysebooks.co.uk/9781136765674_sample_819948.pdf)
- Beato, M. y Klug, J. (2000). Steroid hormone receptors: an update. *Hum Reprod Update*, 6(3), 225-236. doi: 10.1093/humupd/6.3.225.
- Becerra, A. (2003). *Gender dysphoria in Spain: ten years of experience in 278 cases*. 18th International Symposium of the Harry Benjamin International Gender Dysphoria Association. Belgium.
- Becker, J.V. y Kavoussi, R.J. (1996). Trastornos sexuales y de la identidad sexual. En: Hales, R.E., Yudofsky, S.C., Talbott JA. (Ed.). *Tratado de Psiquiatría*. (2<sup>a</sup> ed.). Barcelona: Ancora. doi: 10.1516/RQAT-VGJ3-Y1XQ-DW37.
- Benjamin, H. (1954). Transsexualism and transvestism as psychosomatic and somatopsychic syndromes. *Am J Psychother*, 8(2), 219-230. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=13148376>
- Benjamin, H. (1966). *The transsexual phenomenon*. New York. The Julian Press, Inc. Publishers. doi: 10.1111/j.2164-0947.1967.tb02273.x.
- Bentz, E.K., Hefler, L.A., Kaufmann, U., Huber, J.C., Kolbus, A. y 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. *Fertil Steril*, 90(1), 56-59. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.05.056.
- Bergero, M.T., Cano, O.G., Esteva de Antonio, I., Giraldo, F., Gornemann, S.I. y Álvarez, O.P. (2001). Evaluación diagnóstica y seguimiento psicológico en la Unidad de Trastornos de Identidad de Género de Andalucía (Málaga). *Cir Plast Iberlatinamer*, 27, 263-272. ISSN: 0376-7892.
- Berstein, L.M., Imyanitov, E.N., Suspitsin, E.N., Grigoriev, M.Y., Sokolov, E.P., Togo, A... y Gamajunova, V.B. (2001). CYP19 gene polymorphism in endometrial cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol*, 127(2), 135-138. doi: 10.1007/s004320000200.
- Beyer, C., Morali, G., Naftolin, F., Larsson, K. y Perez-Palacios. (1976). Effect of some antiestrogens and aromatase inhibitors on androgen induced sexual behavior in castrated male rats. *Horm Behav*, 7(3), 353-363. doi: 10.1016/0018-506X(76)90040-4.

- Blanchard, R. (1985). Typology of male-to-female transsexualism. *Arch Sex Behav*, 14(3), 247-261. doi: 10.1007/bf01542107.
- Blanchard, R. (1989a). The classification and labeling of nonhomosexual gender dysphorias. *Arch Sex Behav*, 18(4), 315-334. doi: 10.1007/BF01541951.
- Blanchard, R. (1989b). The concept of autogynephilia and the typology of male gender dysphoria. *J Nerv Ment Dis.*, 177(10), 616-623. doi: 10.1097/00005053-198910000-00004.
- Blanchard, R. (1991). Clinical observations and systematic studies of autogynephilia. *J Sex Marital Ther*, 17(4), 235-251. doi: 10.1080/00926239108404348.
- Blanchard, R., Clemmensen, L.H. y Steiner, B.W. (1987). Heterosexual and homosexual gender dysphoria. *Arch Sex Behav*, 16(2), 139-152. doi: 10.1007/BF01542067.
- Bockting, W.O. (2005). Biological reductionism meets gender diversity in human exuality. [Review of the book *The man who would be queen*]. *J Sex Research*, 42(3), 267-270. doi: 10.1080/00224490509552281.
- Bodlund, O., Kullgren, G., Sundbom, E. y Hojerback, T. (1993). Personality traits and disorders among transsexuals. *Acta Psychiatr Scand*, 88(5), 322-327. doi: 10.1111/j.1600-0447.1993.tb03467.x.
- Bolin, A. (1998). Transcending and transgendering: Male-to-female transsexuals, dichotomy and diversity. En: Denny, D., (Ed.). *Current concepts in transgender identity*. New York: Garland 63-96. ISBN: 978-0815317937. <http://dallasdenny.com/Writing/2014/02/16/current-concepts-in-transgender-identity-1998/>
- Brinkmann, A.O. (2001). Molecular basis of androgen insensitivity. *Mol Cell Endocrinol*, 179(1-2), 105-109. doi: 10.1016/S0303-7207(01)00466-X.
- Brinkmann, A.O. (2011). Molecular mechanisms of androgen action--a historical perspective. *Methods Mol Biol*, 776, 3-24. doi: 10.1007/978-1-61779-243-4\_1.
- Brown, C.J., Goss, S.J., Lubahn, D.B., Joseph, D.R., Wilson, E.M., French, F.S...y Willard, H.F. (1989). Androgen receptor locus on the human X chromosome: regional localization to Xq11-12 and description of a DNA polymorphism. *Am J Hum Genet*, 44(2), 264-269. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1715398/>
- Bullough, B. y Bullough, V. (1997). Are transvestites necessarily heterosexual? *Arch Sex Behav*, 26(1), 1-12. doi: 10.1023/A:1024589618410.
- Burns, A., Farrell, M. y Brown, J.C. (1990). Clinical features of patients attending a gender-identity clinic. *Br J Psychiatry*, 157, 265-268. doi: 10.1192/bjp.157.2.265.
- Byne, W., Lasco, M.S., Kemether, E., Shinwari, A., Edgar, M.A., Morgello, S... y Tobet, S. (2000). The interstitial nuclei of the human anterior hypothalamus: an investigation of sexual variation in volume and cell size, number and density. *Brain Res*, 856(1-2), 254-258. doi: 10.1016/S0006-8993(99)02458-0.
- Byne, W., Tobet, S., Mattiace, L.A., Lasco, M.S., Kemether, E., Edgar, M.A... y Jones, L.B. (2001). The interstitial nuclei of the human anterior hypothalamus: an investigation of variation with sex, sexual orientation, and HIV status. *Horm Behav*, 40(2), 86-92. doi:10.1006/hbeh.2001.1680.

- Carey, A.H., Chan, K.L., Short, F., White, D., Williamson, R. y Franks, S. (1993). Evidence for a single gene effect causing polycystic ovaries and male pattern baldness. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 38(6), 653-658. doi: 10.1097/00006254-199311000-00020.
- Carey, A.H., Waterworth, D., Patel, K., White, D., Little, J., Novelli, P... y Williamson, R. (1994). Polycystic ovaries and premature male pattern baldness are associated with one allele of the steroid metabolism gene CYP17. *Hum Mol Genet*, 3(10), 1873-1876. doi: 10.1093/hmg/3.10.1873.
- Chamberlain, N.L., Driver, E.D. y Miesfeld, R.L. (1994). The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucleic Acids Res*, 22(15), 3181-3186. doi: 10.1093/nar/22.15.3181.
- Chang, C.S., Kokontis, J. y Liao, S.T. (1988). Molecular cloning of human and rat complementary DNA encoding androgen receptors. *Science*, 240(4850), 324-326. doi:10.1126/science.3353726.
- Choong, C.S., Kempainen, J.A., Zhou, Z.X. y Wilson, E.M. (1996). Reduced androgen receptor gene expression with first exon CAG repeat expansion. *Mol Endocrinol*, 10(12), 1527-1535. <http://dx.doi.org/10.1210/mend.10.12.8961263>
- Choong, C.S. y Wilson, E.M. (1998). Trinucleotide repeats in the human androgen receptor: a molecular basis for disease. *J Mol Endocrinol*, 21(3), 235-257. doi: 10.1677/jme.0.0210235.
- Chow, J.D., Simpson, E.R. y Boon, W.C. (2009). Alternative 5'-untranslated first exons of the mouse Cyp19A1 (aromatase) gene. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 115(3-5), 115-125. doi: 10.1016/j.jsbmb.2009.03.010.
- Chung, B.C., Picado-Leonard, J., Haniu, M., Bienkowski, M., Hall, P.F., Shively, J.E... y Miller, W.L. (1987). Cytochrome P450c17 (steroid 17 alpha-hydroxylase/17,20 lyase): cloning of human adrenal and testis cDNAs indicates the same gene is expressed in both tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 84(2), 407-411. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC304216/>
- Chung, W.C.J. (2003). *Sexual differentiation of the human and rodent forebrain: gonadal steroid receptors and apoptosis in the bed nucleus of the stria terminalis and medial preoptic nucleus* (Tesis doctoral). The Netherlands Institute for Neuroscience, University of Amsterdam. <http://dare.uva.nl/record/1/212022>
- Coetzee, G.A. y Ross, R.K. (1994). Prostate cancer and the androgen receptor. *J Natl Cancer Inst*, 86(11), 872-873. doi: 10.1093/jnci/86.11.872.
- Cohen-Kettenis, P.T. y van Goozen, S.H. (1997). Sex reassignment of adolescent transsexuals: a follow-up study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 36(2), 263-271. doi: 10.1097/00004583-199702000-00017.
- Cole, S., Eyler, D. y Samons, S. (2000). Issues of transgender. En: Szuchman, L.; Muscarella, F., (Ed.). *Psychological perspectives on human sexuality*. New York: John Wiley 149-168. ISBN: 978-0471244059. <http://eu.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-0471244058.html>
- Collins, L.L., Lee, H.J., Chen, Y.T., Chang, M., Hsu, H.Y., Yeh, S y Chang, C. (2003). The androgen receptor in spermatogenesis. *Cytogenet Genome Res*, 103(3-4), 299-301. doi: 10.1159/000076816
- Comings, D.E. (1998). Polygenic inheritance and micro/minisatellites. *Mol Psychiatry*, 3(1), 21-31. doi:



- 10.1590/S0102-09352013000600004.
- Conley, A. y Hinshelwood, M. (2001). Mammalian aromatases. *Reproduction*, 121(5), 685-695. doi: 10.1530/reprod/121.5.685.
- Coolidge, F.L., Thede, L.L. y Young, S.E. (2002). The heritability of gender identity disorder in a child and adolescent twin sample. *Behav Genet*, 32(4), 251-257. doi: 10.1023/A:1019724712983.
- Costa-Santos, M., Kater, C.E., Dias, E.P. y Auchus, R.J. (2004). Two intronic mutations cause 17-hydroxylase deficiency by disrupting splice acceptor sites: direct demonstration of aberrant splicing and absent enzyme activity by expression of the entire CYP17 gene in HEK-293 cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(1), 43-48. doi: 10.1371/journal.pone.0025492.
- Couse, J.F. y Korach, K.S. (1999). Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocr Rev*, 20(3), 358-417. doi: 10.1210/er.20.3.358.
- Crabbe, P., Bogaert, V., De Bacquer, D., Goemaere, S., Zmierzczak, H. y Kaufman, J.M. (2007). Part of the interindividual variation in serum testosterone levels in healthy men reflects differences in androgen sensitivity and feedback set point: contribution of the androgen receptor polyglutamine tract polymorphism. *J Clin Endocrinol Metab*, 92(9), 3604-3610. doi: 10.1210/er.20.3.358.
- De Cuypere, G., Janes, C. y Rubens, R. (1995). Psychosocial functioning of transsexuals in Belgium. *Acta Psychiatr Scand*, 91(3), 180-184. doi: 10.1111/j.1600-0447.1995.tb09763.x.
- De Cuypere, G., Van Hemelrijck, M., Michel, A., Carael, B., Heylens, G., Rubens, R... y Monstrey, S. (2007). Prevalence and demography of transsexualism in Belgium. *Eur Psychiatry*, 22(3), 137-141. doi:10.1016/j.eurpsy.2006.10.002.
- De Zegher, F., Devlieger, H. y Veldhuis, J.D. (1992). Pulsatile and sexually dimorphic secretion of luteinizing hormone in the human infant on the day of birth. *Pediatr Res.*, 32(5), 605-607. doi: 10.1203/00006450-199211000-00025.
- Decavel, C. y Van den Pol, A.N. (1990). GABA: a dominant neurotransmitter in the hypothalamus. *J Comp Neurol*, 302(4), 1019-1037. doi: 10.1002/cne.903020423.
- Dehm, S.M. y Tindall, D.J. (2007). Androgen receptor structural and functional elements: role and regulation in prostate cancer. *Mol Endocrinol*, 21(12), 2855-2863. doi: <http://dx.doi.org/10.1210/me.2007-0223>
- Denschlag, D., Bentz, E.K., Hefler, L., Pietrowski, D., Zeillinger, R., Tempfer, C... y Tong, D. (2006). Genotype distribution of estrogen receptor-alpha, catechol-O-methyltransferase, and cytochrome P450 17 gene polymorphisms in Caucasian women with uterine leiomyomas. *Fertil Steril*, 85(2), 462-467. doi:10.1016/j.fertnstert.2005.07.1308.
- Dhejne, C., Oberg, K., Arver, S. y Landen, M. (2014). An analysis of all applications for sex reassignment surgery in Sweden, 1960-2010: prevalence, incidence, and regrets. *Arch Sex Behav*, 43(8), 1535-1545. doi: 10.1007/s10508-014-0300-8.
- Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th ed. DSM-IV-TR. (2000). Washington, DC: American Psychiatric Association. doi: 10.1093/OBO/9780199828340-0022.
- Dixen, J.M., Maddever, H., Van Maasdam, J. y Edwards, P.W. (1984). Psychosocial characteristics of applicants evaluated for surgical gender reassignment. *Arch Sex Behav*, 13(3), 269-276. doi:

10.1007/BF01541653.

- Duisin, D., Nikolic-Balkoski, G. y Batinic, B. (2009). Sociodemographic profile of transsexual patients. *Psychiatr Danub*, 21(2), 220-223. doi: 10.1080/15532730802175148.
- Dulko, S. y Imielinski, C. (2004). The epidemiology of transsexualism in Poland. *Journal of Psychosomatic Research*, 56(2004), 637. doi:10.1016/j.jpsychores.2004.04.245.
- Dunning, A.M., Healey, C.S., Pharoah, P.D., Teare, M.D., Ponder, B.A. y Easton, D.F. (1999). A systematic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 8(10), 843-854. <http://cebp.aacrjournals.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=10548311>
- DuPree, M.G., Mustanski, B.S., Bocklandt, S., Nievergelt, C. y Hamer, D.H. (2004). A candidate gene study of CYP19 (aromatase) and male sexual orientation. *Behav Genet*, 34(3), 243-250. doi: 10.1023/B:BEGE.0000017870.77610.52.
- Edwards, S.M., Badzioch, M.D., Minter, R., Hamoudi, R., Collins, N., Ardern-Jones, A... y Eeles, R.A. (1999). Androgen receptor polymorphisms: association with prostate cancer risk, relapse and overall survival. *Int J Cancer*, 84(5), 458-465. doi: 10.1002/(SICI)1097-0215(19991022)84:5<458::AID-IJC2>3.0.CO;2-Y.
- Eisermann, K., Wang, D., Jing, Y., Pascal, L.E. y Wang, Z. (2013). Androgen receptor gene mutation, rearrangement, polymorphism. *Transl Androl Urol*, 2(3), 137-147. doi: 10.3978/j.issn.2223-4683.2013.09.15.
- Eklund, P.L., Gooren, L.J. y Bezemer, P.D. (1988). Prevalence of transsexualism in The Netherlands. *Br J Psychiatry*, 152, 638-640. doi: 10.1192/bjp.152.5.638.
- Ellis, H. (1936). *Studies in the psychology of sex*. New York: Random House. ISBN: 978-1147358988.
- Ellis, L. y Ames, M.A. (1987). Neurohormonal functioning and sexual orientation: a theory of homosexuality-heterosexuality. *Psychol Bull*, 101(2), 233-258. doi: 10.1037/0033-2909.101.2.233.
- Enmark, E. y Gustafsson, J.A. (1999). Oestrogen receptors - an overview. *J Intern Med*, 246(2), 133-138. doi: 10.1046/j.1365-2796.1999.00545.x.
- Ergun-Longmire, B., Auchus, R., Papari-Zareei, M., Tansil, S., Wilson, R.C. y New, M.I. (2006). Two novel mutations found in a patient with 17alpha-hydroxylase enzyme deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 91(10), 4179-4182. doi: 10.3109/09513591003632068.
- Esteva de Antonio, I., Bergero Miguel, T., Giraldo Ansio, F., Cano Oncala, G., Ruyz de Adana, S., Crespillo Gómez, C...y Soriguer Escofet, F. (2001a). Unidad de trastornos de identidad de género en Andalucía. Experiencia del primer año de funcionamiento [Gender identity disorder unit in Andalusia. The experience of the first year]. *Endocrinol Nutr*, 49, 71-74. <http://www.elsevier.es/es-revista-endocrinologia-nutricion-12-numeros-antiores-anio-2001>
- Esteva de Antonio, I., Giraldo, F., Bergero de Miguel, T., Cano Oncala, G., Crespillo Gómez, C. y Ruiz de Adana, S. (2001b). Evaluación endocrinológica y tratamiento hormonal de la transexualidad en la Unidad de Trastornos de Identidad de Género en Andalucía (Málaga). *Cir. Plást. Iberolatinoam*, 27, 273-280. ISSN: 0376-7892
- Esteva de Antonio, I., Gonzalo, M., Yahyaoui, R., Domínguez, M., Bergero, T. y Giraldo, F. (2006).

- Epidemiología de la transexualidad en Andalucía: especial atención al grupo de adolescentes. *C. Med.Psicosom*, 78: 65-70. ISSN: 1695-4238.
- Evans, R.M. (1988). The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, 240(4854), 889-895. doi:10.1126/science.3283939.
- Even, M.D., Laughlin, M.H., Krause, G.F. y vom Saal, F.S. (1994). Differences in blood flow to uterine segments and placentae in relation to sex, intrauterine location and side in pregnant rats. *J Reprod Fertil*, 102(1), 245-252. doi: 10.1093/humrep/den038.
- Fan, Y.S., Sasi, R., Lee, C., Winter, J.S., Waterman, M.R. y Lin, C.C. (1992). Localization of the human CYP17 gene (cytochrome P450 (17 alpha)) to 10q24.3 by fluorescence in situ hybridization and simultaneous chromosome banding. *Genomics*, 14(4), 1110-1111. doi: 10.1007/s11154-008-9102-4.
- Feigelson, H.S., Shames, L.S., Pike, M.C., Coetzee, G.A., Stanczyk, F.Z. y Henderson, B.E. (1998). Cytochrome P450c17alpha gene (CYP17) polymorphism is associated with serum estrogen and progesterone concentrations. *Cancer Res*, 58(4), 585-587. <http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=9485002>
- Ferlin, A., Bartoloni, L., Rizzo, G., Roverato, A., Garolla, A. y Foresta, C. (2004). Androgen receptor gene CAG and GGC repeat lengths in idiopathic male infertility. *Mol Hum Reprod*, 10(6), 417-421. doi: 10.1093/molehr/gah054.
- Ferlin, A., Garolla, A., Bettella, A., Bartoloni, L., Vinanzi, C., Roverato, A... y Foresta, C. (2005). Androgen receptor gene CAG and GGC repeat lengths in cryptorchidism. *Eur J Endocrinol*, 152(3), 419-425. doi: 10.1530/eje.1.01860.
- Fernández-Guasti, A., Kruijver, F.P., Fodor, M. y Swaab, D.F. (2000). Sex differences in the distribution of androgen receptors in the human hypothalamus. *J Comp Neurol*, 425(3), 422-435. doi: 10.1002/1096-9861(20000925)425:3<422::AID-CNE7>3.0.CO;2-H.
- Finegan, J.A., Bartleman, B. y Wong, P.Y. (1989). A window for the study of prenatal sex hormone influences on postnatal development. *J Genet Psychol.*, 150(1), 101-112. doi:10.1080/00221325.1989.9914580.
- Fisher, C.R., Graves, K.H., Parlow, A.F. y Simpson, E.R. (1998). Characterization of mice deficient in aromatase (ArKO) because of targeted disruption of the cyp19 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(12), 6965-6970. doi: 10.1073/pnas.95.12.6965.
- Fowler, J.C., Burgoyne, L.A., Scott, A.C. y Harding, H.W. (1988). Repetitive deoxyribonucleic acid (DNA) and human genome variation--a concise review relevant to forensic biology. *J Forensic Sci*, 33(5), 1111-1126. ISSN: 1556-4029.
- Freund, K., Langevin, R., Zajac, Y., Steiner, B. y Zajac, A. (1974). The trans-sexual syndrome in homosexual males. *J Nerv Ment Dis*, 158(2), 145-153. ISSN: 0022-3018. <http://journals.lww.com/jonmd/toc/1974/02000>
- Freund, K., Steiner, B.W. y Chan, S. (1982). Two types of cross-gender identity. *Arch Sex Behav.*, 11(1), 49-63. doi: 10.1007/BF01541365.
- García-Falgueras, A., Ligtenberg, L., Kruijver, F.P. y Swaab, D.F. (2011). Galanin neurons in the

- intermediate nucleus (InM) of the human hypothalamus in relation to sex, age, and gender identity. *J Comp Neurol*, 519(15), 3061-3084. doi: 10.1002/cne.22666.
- García-Falgueras, A. y Swaab, D.F. (2008). A sex difference in the hypothalamic uncinate nucleus: relationship to gender identity. *Brain*, 131(12), 3132-3146. <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awn276>
- García-Falgueras, A. y Swaab, D.F. (2010). Sexual hormones and the brain: an essential alliance for sexual identity and sexual orientation. *Endocr Dev*, 17,22-35. doi: 10.1159/000262525.
- Garrels, L., Kockott, G., Michael, N., Preuss, W., Renter, K., Schmidt, G... y Windgassen, K. (2000). Sex ratio of transsexuals in Germany: the development over three decades. *Acta Psychiatr Scand*, 102(6), 445-448. doi: 10.1034/j.1600-0447.2000.102006445.x.
- Gelmann, E.P. (2002). Molecular biology of the androgen receptor. *J Clin Oncol*, 20(13), 3001-3015. doi: 10.1200/JCO.2002.10.018.
- Giedd, J.N., Clasen, L.S., Lenroot, R., Greenstein, D., Wallace, G.L., Ordaz, S... y Chrousos, G.P. (2006). Puberty-related influences on brain development. *Mol Cell Endocrinol*, 254-255, 154-162. doi: 10.1016/j.mce.2006.04.016.
- Giedd, J.N., Snell, J.W., Lange, N., Rajapakse, J.C., Casey, B.J., Kozuch, P.L... y Chrousos, G.P. (1996). Quantitative magnetic resonance imaging of human brain development: ages 4-18. *Cereb Cortex*, 6(4), 551-560. doi: 10.1002/(SICI)1096-9861(19960304)366:2<223::AID-CNE3>3.0.CO;2-7.
- Gijs, L. y Carroll, R.A. (2010). Should Transvestic Fetishism Be Classified in DSM 5? Recommendations from the WPATH Consensus Process for Revision of the Diagnosis of Transvestic Fetishism. *Int J Transgenderism*, 12(10), 189-197. doi:10.1080/15532739.2010.550766.
- Giraldo, F., Esteva, I. y Bergero, T. (2001). Experiencia quirúrgica del primer año en la única unidad de identidad de género en Andalucía (Málaga, España) [Surgical experience of the first years in the only unit of gender identity disorders in Andalusia (Malaga, Spain)]. *Cir.Plást.Iberolatinoam*, 27, 259-309. ISSN: 0376-7892.
- Godlewski, J. (1988). Transsexualism and anatomic sex ratio reversal in Poland. *Arch Sex Behav*, 17(6), 547-548. doi: 10.1007/BF01542342.
- González, M., Cabrera-Socorro, A., Pérez-García, C.G., Fraser, J.D., López, F.J., Alonso, R... y Meyer, G. (2007). Distribution patterns of estrogen receptor alpha and beta in the human cortex and hippocampus during development and adulthood. *J Comp Neurol*, 503(6), 790-802. doi 10.1002/cne.21419.
- Gorski, R.A. (1984). Critical role for the medial preoptic area in the sexual differentiation of the brain. *Prog Brain Res*, 61,129-146. doi: 10.1016/S0079-6123(08)64432-5.
- Gorski, R.A. (1991). Sexual differentiation of the endocrine brain and its control. In M. Motta (ed.), *Brain Endocrinology*. New York: Raven. DOI: 10.1002/depr.3050010610.
- Gorski, R.A., Gordon, J.H., Shryne, J.E. y Southam, A.M. (1978). Evidence for a morphological sex difference within the medial preoptic area of the rat brain. *Brain Res*, 148(2), 333-346. doi: 10.1016/0006-8993(78)90723-0.
- Gould, E., Woolley, C.S., Frankfurt, M. y McEwen, B.S. (1990). Gonadal steroids regulate dendritic spine

- density in hippocampal pyramidal cells in adulthood. *J Neurosci*, 10(4), 1286-1291. ISSN: 0270-6474. <http://www.jneurosci.org/content/10/4/1286.full.pdf+html>
- Goy, R.W. y McEwen, B.S. (1980). *Sexual Differentiation of the Brain*. Cambridge, MA: MIT Press. ISBN: 9780262572071.
- Green, R. (2000a). Birth order and ratio of brothers to sisters in transsexuals. *Psychol Med*, 30(4), 789-795. ISSN: 0033-2917 [http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FPSM%2FPSM30\\_04%2FS0033291799001932\\_a.pdf&code=e27b0987aca177993a840b894cccd959](http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FPSM%2FPSM30_04%2FS0033291799001932_a.pdf&code=e27b0987aca177993a840b894cccd959)
- Green, R. (2000b). Family cooccurrence of "gender dysphoria": ten sibling or parent-child pairs. *Arch Sex Behav*, 29(5), 499-507. doi: 10.1023/A:1001947920872.
- Green, R. y Keverne, E.B. (2000). The disparate maternal aunt-uncle ratio in male transsexuals: an explanation invoking genomic imprinting. *J Theor Biol*, 202(1), 55-63. doi: 10.1006/jtbi.1999.1039.
- Grumbach, M.M. y Auchus, R.J. (1999). Estrogen: consequences and implications of human mutations in synthesis and action. *J Clin Endocrinol Metab*, 84(12), 4677-4694. doi: 10.1210/jcem.84.12.6290.
- Gómez Balaguer, M., Solá Izquierdo, E., Garzón Pastor, S., García Torres, S., Cubells Cháscales, P. y Hernández Mijares, A. (2003). *Transexualidad. La búsqueda de una identidad*. Madrid: Editorial Díaz de Santos. ISBN: 9788479785673.
- Gómez-Gil, E. (2006). La atención a la transexualidad por la unidad de salud mental del Hospital Clínic de Barcelona en los últimos años. *C. Med. Psicosom*, 78,55-64. ISSN: 1695-4238.
- Gómez-Gil, E. y Esteva de Antonio, I. (2006). *Ser transexual*. (2ed.). Barcelona: Editorial Glosa. ISBN: 84-7429-267-0.
- Gómez-Gil, E. y Peri Nogués, J.M. (2002). [Transexualism: a challenge for the Spanish National Service]. *Med Clin (Barc)*, 118(11), 418-420. doi: 10.1016/S0025-7753(02)72406-8.
- Gómez-Gil, E., Peri Nogués, J.M., Vidal, A., de Pablo, J. y Valdés, M.A. (2003). *A demographic and psychiatric study of 116 applicants for sex reassignment in a Spanish general hospital*. American Psychiatric Association. 156th Annual Meeting. San Francisco.
- Gómez-Gil, E., Trilla García, A., Godás Sieso, T., Halperin Rabinovitch, I., Puig Domingo, M., Vidal Hagemeyer, A... y Peri Nogués, J.M. (2005). Estimación de la prevalencia, incidencia y razón de sexos del transexualismo en Cataluña según la demanda asistencial. *Actas Esp Psiquiatr*, 34(5), 295-302. ISSN: 0213-9111.
- Gómez-Gil, E., Trilla García, A., Salamero, M., Godas, T. y Valdés, M. (2009). Sociodemographic, clinical, and psychiatric characteristics of transsexuals from Spain. *Arch Sex Behav*, 38(3), 378-392. doi: 10.1007/s10508-007-9307-8.
- Gómez-Gil, E., Zubiaurre-Elorza, L., de Antonio, I.E., Guillamón, A. y Salamero, M. (2014). Determinants of quality of life in Spanish transsexuals attending a gender unit before genital sex reassignment surgery. *Qual Life Res*, 23(2), 669-676. doi 10.1007/s11136-013-0497-3.
- Gómez-Gil, E., Zubiaurre-Elorza, L., Esteva, I., Guillamón, A., Godas, T., Cruz Almaraz, M... y Salamero, M. (2012). Hormone-treated transsexuals report less social distress, anxiety and depression.

- Psychoneuroendocrinology*, 37(5), 662-670. doi: 10.1016/j.psyneuen.2011.08.010.
- Guzmán-Parra, J., Sánchez-Álvarez, N., de Diego-Otero, Y., Pérez-Costillas, L., Esteva de Antonio, I., Navais-Barranco, M... y Bergero-Miguel, T. (2015). Sociodemographic Characteristics and Psychological Adjustment Among Transsexuals in Spain. *Arch Sex Behav*. [Epub ahead of print]. doi: 10.1007/s10508-015-0557-6
- Haraldsen, I.R. y Dahl, A.A. (2000). Symptom profiles of gender dysphoric patients of transsexual type compared to patients with personality disorders and healthy adults. *Acta Psychiatr Scand*, 102(4), 276-281. doi: 10.1034/j.1600-0447.2000.102004276.x.
- Hare, L., Bernard, P., Sánchez, F.J., Baird, P.N., Vilain, E., Kennedy, T. y Harley, V.R. (2009). Androgen receptor repeat length polymorphism associated with male-to-female transsexualism. *Biol Psychiatry*, 65(1), 93-96. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.08.033.
- Hayes, F.J., Seminara, S.B., Decruz, S., Boepple, P.A. y Crowley, W.F. Jr. (2000). Aromatase inhibition in the human male reveals a hypothalamic site of estrogen feedback. *J Clin Endocrinol Metab*, 85(9), 3027-3035. doi: 10.1210/jcem.85.9.6795.
- Hedjazi, A., Zarenezhad, M., Hoseinzadeh, A., Hassanzadeh, R. y Hosseini, S.M. (2013). Socio-demographic Characteristics of Transsexuals Referred to the Forensic Medicine Center in Southwest of Iran. *N Am J Med Sci*, 5(3), 224-227. doi: 10.4103/1947-2714.109198.
- Hengstschlager, M., van Trotsenburg, M., Repa, C., Marton, E., Huber, J.C. y Bernaschek, G. (2003). Sex chromosome aberrations and transsexualism. *Fertil Steril*, 79(3), 639-640. doi: 10.1016/S0015-0282(02)04805-7.
- Henningson, S., Westberg, L., Nilsson, S., Lundstrom, B., Ekselius, L., Bodlund, O... y Landen, M. (2005). Sex steroid-related genes and male-to-female transsexualism. *Psychoneuroendocrinology*, 30(7), 657-664. doi: 10.1016/j.psyneuen.2005.02.006.
- Hepp, U., Kraemer, B., Schnyder, U., Miller, N. y Delsignore, A. (2005). Psychiatric comorbidity in gender identity disorder. *J Psychosom Res*, 58(3), 259-261. doi: 10.1111/j.1440-1819.2010.02118.x.
- Herbison, A.E. y Fenelon, V.S. (1995). Estrogen regulation of GABAA receptor subunit mRNA expression in preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis of female rat brain. *J Neurosci*, 15(3 Pt 2), 2328-2337. ISSN: 0270-6474. <http://www.jneurosci.org/content/15/3/2328.full.pdf+html>
- Herman-Jeglinska, A., Grabowska, A. y Dulko, S. (2002). Masculinity, femininity, and transsexualism. *Arch Sex Behav*, 31(6), 527-534. doi: 10.1023/A:1020611416035.
- Heylens, G., De Cuypere, G., Zucker, K.J., Schelfaut, C., Elaut, E., Vanden Bossche, H... y T'Sjoen, G. (2012). Gender identity disorder in twins: a review of the case report literature. *J Sex Med*, 9(3), 751-757. doi: 10.1111/j.1743-6109.2011.02567.x.
- Hiiipakka, R.A. y Liao, S. (1998). Molecular mechanism of androgen action. *Trends Endocrinol Metab*, 9(8), 317-324. doi: 10.1016/S1043-2760(98)00081-2.
- Hines, M. (2006). Prenatal testosterone and gender-related behaviour. *Eur J Endocrinol*, 155 (Suppl 1), 115-121. doi: 10.1530/eje.1.02236.
- Hines, M., Allen, L.S. y Gorski, R.A. (1992). Sex differences in subregions of the medial nucleus of the

- amygdala and the bed nucleus of the stria terminalis of the rat. *Brain Res*, 579(2), 321-326. doi:10.1016/0006-8993(92)90068-K.
- Hirschfeld, M. (1910). *Die Transvestiten*. Berlin, Germany: Medicinischer Verlag (Ed.) Número OCLC: 251011095.
- Hirschfeld, M. (1923). [Die intersexuelle Konstitution]. *Jahrbuch fuer sexuelle Zwischenstufen*, 23, 3-27. No doi.
- Hoening, J. y Kenna, J.C. (1974). The prevalence of transsexualism in England and Wales. *Br J Psychiatry*, 124(579), 181-190. doi: 10.1192/bjp.124.2.181.
- Holdcraft, R.W. y Braun, R.E. (2004). Androgen receptor function is required in Sertoli cells for the terminal differentiation of haploid spermatids. *Development*, 131(2), 459-467. doi: 10.1242/dev.00957.
- Honda, S., Harada, N., Ito, S., Takagi, Y. y Maeda, S. (1998). Disruption of sexual behavior in male aromatase-deficient mice lacking exons 1 and 2 of the cyp19 gene. *Biochem Biophys Res Commun*, 252(2), 445-449. doi:10.1006/bbrc.1998.9672.
- Hsiao, P.W., Lin, D.L., Nakao, R. y Chang, C. (1999). The linkage of Kennedy's neuron disease to ARA24, the first identified androgen receptor polyglutamine region-associated coactivator. *J Biol Chem*, 274(29), 20229-20234. doi: 10.1074/jbc.274.29.20229.
- Hughes, I.A. y Evans, B.A. (1987). Androgen insensitivity in forty-nine patients: classification based on clinical and androgen receptor phenotypes. *Horm Res*, 28(1), 25-29. doi: 10.1159/000180921.
- Huhtaniemi, I.T., Pye, S.R., Limer, K.L., Thomson, W., O'Neill, T.W., Platt, H... y Wu, F.C. (2009). Increased estrogen rather than decreased androgen action is associated with longer androgen receptor CAG repeats. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(1), 277-284. doi: 10.1210/jc.2008-0848.
- Hutchison, J.B. (1997). Gender-specific steroid metabolism in neural differentiation. *Cell Mol Neurobiol*, 17(6), 603-626. doi: 10.1023/A:1022581902880.
- Imperato-McGinley, J., Peterson, R.E., Gautier, T., Cooper, G., Danner, R., Arthur, A... y Shackleton, C. (1982). Hormonal evaluation of a large kindred with complete androgen insensitivity: evidence for secondary 5 alpha-reductase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 54(5), 931-941. doi: 10.1210/jcem-54-5-931.
- Inoubli, A., De Cuyper, G., Rubens, R., Heylens, G., Elaut, E., Van Caenegem, E... y T'Sjoen, G. (2011). Karyotyping, is it worthwhile in transsexualism? *J Sex Med*, 8(2), 475-478. doi: 10.1111/j.1743-6109.2010.02130.x.
- Irvine, R.A., Ma, H., Yu, M.C., Ross, R.K., Stallcup, M.R. y Coetzee, G.A. (2000). Inhibition of p160-mediated coactivation with increasing androgen receptor polyglutamine length. *Hum Mol Genet*, 9(2), 267-274. doi: 10.1093/hmg/9.2.267.
- Jarry, H., Leonhardt, S. y Wuttke, W. (1991). Gamma-aminobutyric acid neurons in the preoptic/anterior hypothalamic area synchronize the phasic activity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator in ovariectomized rats. *Neuroendocrinology*, 53(3), 261-267. doi: 10.1159/000125727.
- Kagimoto, K., Waterman, M.R., Kagimoto, M., Ferreira, P., Simpson, E.R. y Winter, J.S. (1989). Identification of a common molecular basis for combined 17 alpha-hydroxylase/17,20-lyase

- deficiency in two Mennonite families. *Hum Genet*, 82(3), 285-286. doi: 10.1007/BF00291172.
- Kagimoto, M., Winter, J.S., Kagimoto, K., Simpson, E.R. y Waterman, M.R. (1988). Structural characterization of normal and mutant human steroid 17 alpha-hydroxylase genes: molecular basis of one example of combined 17 alpha-hydroxylase/17,20 lyase deficiency. *Mol Endocrinol*, 2(6), 564-570. doi: 10.1210/mend-2-6-564.
- Kazemi-Esfarjani, P., Trifiro, M.A. y Pinsky, L. (1995). Evidence for a repressive function of the long polyglutamine tract in the human androgen receptor: possible pathogenetic relevance for the (CAG)n-expanded neuropathies. *Hum Mol Genet*, 4(4), 523-527. doi: 10.1093/hmg/4.4.523.
- Kevan, R. y Wylie, D. (2008). A Consecutive Series of 52 Transsexual People Presenting for Assessment and Chromosomal Analysis at a Gender Identity Clinic. *Int J Transgend*, 10(3-4), 147-148. doi: 10.1080/15532730802297330.
- Klinge, C.M. (2000). Estrogen receptor interaction with co-activators and co-repressors. *Steroids*, 65(5), 227-251. doi: 10.1016/S0039-128X(99)00107-5.
- Knudson, G., De Cuypere, G. y Bockting, W. (2011). Second Response of the World Professional Association for Transgender Health to the Proposed Revision of the Diagnosis of Transvestic Disorder for DSM 5. *International Journal of Transgenderism*, 13(1), 9-12. doi: 10.1080/15532739.2011.606201.
- Kockott, G. y Fahrner, E.M. (1988). Male-to-female and female-to-male transsexuals: a comparison. *Arch Sex Behav*, 17(6), 539-546. doi: 10.1007/BF01542341.
- Kreukels, B.P., Haraldsen, I.R., De Cuypere, G., Richter-Appelt, H., Gijs, L. y Cohen-Kettenis, P.T. (2012). A European network for the investigation of gender incongruence: the ENIGI initiative. *Eur Psychiatry*, 27(6), 445-450. doi: 10.1016/j.eurpsy.2010.04.009.
- Krithivas, K., Yurgalevitch, S.M., Mohr, B.A., Wilcox, C.J., Batter, S.J., Brown, M... y Kantoff, P.W. (1999). Evidence that the CAG repeat in the androgen receptor gene is associated with the age-related decline in serum androgen levels in men. *J Endocrinol*, 162(1), 137-142. doi: 10.1677/joe.0.1620137.
- Kruijver, F.P., Zhou, J.N., Pool, C.W., Hofman, M.A., Gooren, L.J. y Swaab, D.F. (2000). Male-to-female transsexuals have female neuron numbers in a limbic nucleus. *J Clin Endocrinol Metab*, 85(5), 2034-2041. doi: 10.1210/jcem.85.5.6564.
- Kudwa, A.E., Bodo, C., Gustafsson, J.A. y Rissman, E.F. (2005). A previously uncharacterized role for estrogen receptor beta: defeminization of male brain and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(12), 4608-4612. doi: 10.1073/pnas.0500752102.
- Kudwa, A.E., Michopoulos, V., Gatewood, J.D. y Rissman, E.F. (2006). Roles of estrogen receptors alpha and beta in differentiation of mouse sexual behavior. *Neuroscience*, 138(3), 921-928. doi:10.1016/j.neuroscience.2005.10.018.
- Kudwa, A.E. y Rissman, E.F. (2003). Double oestrogen receptor alpha and beta knockout mice reveal differences in neural oestrogen-mediated progesterin receptor induction and female sexual behaviour. *J Neuroendocrinol.*, 15(10), 978-983. doi: 10.1046/j.1365-2826.2003.01089.x.
- La Spada, A.R., Wilson, E.M., Lubahn, D.B., Harding, A.E. y Fischbeck, K.H. (1991). Androgen receptor



- gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature*, 352(6330), 77-79. doi: 10.1038/352077a0.
- Landen, M., Walinder, J., Hambert, G. y Lundstrom, B. (1998). Factors predictive of regret in sex reassignment. *Acta Psychiatr Scand.*, 97(4), 284-289. doi: 10.1111/j.1600-0447.1998.tb10001.x.
- Landen, M., Walinder, J. y Lundstrom, B. (1996a). Incidence and sex ratio of transsexualism in Sweden. *Acta Psychiatr Scand*, 93(4), 261-263. doi: 10.1111/j.1600-0447.1996.tb10645.x.
- Landen, M., Walinder, J. y Lundstrom, B. (1996b). Prevalence, incidence and sex ratio of transsexualism. *Acta Psychiatr Scand*, 93(4), 221-223. doi: 10.1111/j.1600-0447.1996.tb10638.x.
- Landen, M., Walinder, J. y Lundstrom, B. (1998). Clinical characteristics of a total cohort of female and male applicants for sex reassignment: a descriptive study. *Acta Psychiatr Scand*, 97(3), 189-194. doi: 10.1111/j.1600-0447.1998.tb09986.x.
- Lawrence, A.A. (2005). Sexuality before and after male-to-female sex reassignment surgery. *Arch Sex Behav*, 34 (2), 147-166. doi: 10.1007/s10508-005-1793-y.
- Lawrence, A.A. (2010). A Validation of Blanchard's typology: comment on Nuttbrock et al., (2010). *Arch Sex Behav*. 39(5), 1011-1015. doi: 10.1007/s10508-010-9615-2.
- Lawrence, A.A. (2011). Further validation of Blanchard's typology: a reply to Nuttbrock, Bockting, Rosenblum, Mason, and Hwahng (2010). *Arch Sex Behav*. 40(6), 1089-1091; author reply 1093-1096. doi: 10.1007/s10508-011-9742-4.
- Lawrence, A.A. (2014). Veale's (2014) critique of Blanchard's typology was invalid. *Arch Sex Behav*. 43(8), 1679-1683. doi: 10.1007/s10508-014-0383-2.
- Lazaros, L., Xita, N., Takenaka, A., Sofikitis, N., Makrydimas, G., Stefanos, T... y Georgiou, I. (2012). Semen quality is influenced by androgen receptor and aromatase gene synergism. *Hum Reprod*, 27(12), 3385-3392. doi: 10.1093/humrep/des334.
- Lehmann, D.J., Butler, H.T., Warden, D.R., Combrinck, M., King, E., Nicoll, J.A... y Smith, A.D. (2003). Association of the androgen receptor CAG repeat polymorphism with Alzheimer's disease in men. *Neurosci Lett*, 340(2), 87-90. doi: 10.1016/S0304-3940(03)00069-7.
- Lentini, E., Kasahara, M., Arver, S. y Savic, I. (2013). Sex differences in the human brain and the impact of sex chromosomes and sex hormones. *Cereb Cortex*, 23(10), 2322-2336. doi: 10.1093/cercor/bhs222.
- Lephart, E.D. (1996). A review of brain aromatase cytochrome P450. *Brain Res Brain Res Rev*, 22(1), 1-26. doi: 10.1016/0165-0173(96)00002-1.
- LeVay, S. (1991). A difference in hypothalamic structure between heterosexual and homosexual men. *Science*, 253(5023), 1034-1037. doi: 10.1126/science.1887219.
- Li, C., Brake, W.G., Romeo, R.D., Dunlop, J.C., Gordon, M., Buzescu, R... y McEwen, B.S. (2004). Estrogen alters hippocampal dendritic spine shape and enhances synaptic protein immunoreactivity and spatial memory in female mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(7), 2185-2190. doi: 10.1073/pnas.0307313101.
- Lin, L., Ercan, O., Raza, J., Burren, C.P., Creighton, S.M., Auchus, R.J. y Achermann, J. C. (2007). Variable phenotypes associated with aromatase (CYP19) insufficiency in humans. *J Clin Endocrinol Metab*,

- 92(3), 982-990. doi: 10.1210/jc.2006-1181.
- Lindstrom, S., Ma, J., Altshuler, D., Giovannucci, E., Riboli, E., Albanes, D... y Freedman, M.L. (2010). A large study of androgen receptor germline variants and their relation to sex hormone levels and prostate cancer risk. Results from the National Cancer Institute Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. *J Clin Endocrinol Metab*, 95(9), E121-127. doi: 10.1210/jc.2009-1911.
- Lubahn, D.B., Joseph, D.R., Sullivan, P.M., Willard, H.F., French, F.S. y Wilson, E.M. (1988). Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome. *Science*, 240(4850), 327-330. doi:10.1126/science.3353727.
- Luders, E., Sanchez, F.J., Gaser, C., Toga, A.W., Narr, K.L., Hamilton, L.S... y Vilain, E. (2009). Regional gray matter variation in male-to-female transsexualism. *Neuroimage*, 46(4), 904-907. doi: 10.1016/j.neuroimage.2009.03.048.
- Luders, E., Sanchez, F.J., Tosun, D., Shattuck, D.W., Gaser, C., Vilain, E... y Toga, A.W. (2012). Increased Cortical Thickness in Male-to-Female Transsexualism. *J Behav Brain Sci*, 2(3), 357-362. doi: 10.4236/jbbs.2012.23040.
- Luttge, W.G. y Whalen, R.E. (1970). Regional localization of estrogenic metabolites in the brain of male and female rats. *Steroids*, 15(5), 605-612. doi: 10.1016/S0039-128X(70)80066-6.
- Maeda, T., Ohno, M., Matsunobu, A., Yoshihara, K. y Yabe, N. (1991). A cytogenetic survey of 14,835 consecutive liveborns. *Jinrui Idengaku Zasshi*, 36(1), 117-129. doi:10.1111/j.1399-0004.1980.tb00130.x.
- Maffei, L., Murata, Y., Rochira, V., Tubert, G., Aranda, C., Vazquez, M... y Carani, C. (2004). Dysmetabolic syndrome in a man with a novel mutation of the aromatase gene: effects of testosterone, alendronate, and estradiol treatment. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(1), 61-70. doi: 10.1210/jc.2003-030313.
- Makara, G.B., Rappay, G. y Stark, E. (1975). Autoradiographic localization of 3H-gamma-aminobutyric acid in the medial hypothalamus. *Exp Brain Res*, 22(5), 449-455. doi: 10.1007/BF00237347.
- Matsumoto, T., Takeyama, K., Sato, T. y Kato, S. (2005). Study of androgen receptor functions by genetic models. *J Biochem*, 138(2), 105-110. doi: 10.1093/jb/mvi118.
- McCarthy, M.M. (1995). Frank A. Beach Award. Functional significance of steroid modulation of GABAergic neurotransmission: analysis at the behavioral, cellular, and molecular levels. *Horm Behav*, 29(2), 131-140. doi:10.1006/hbeh.1995.1010.
- McCarthy, M.M., Malik, K.F. y Feder, H.H. (1990). Increased GABAergic transmission in medial hypothalamus facilitates lordosis but has the opposite effect in preoptic area. *Brain Res*, 507(1), 40-44. doi: 10.1016/0006-8993(90)90519-H.
- McEwen, B.S., Plapinger, L., Chaptal, C., Gerlach, J. y Wallach, G. (1975). Role of fetoneonatal estrogen binding proteins in the associations of estrogen with neonatal brain cell nuclear receptors. *Brain Res*, 96(2), 400-406. doi: 10.1016/0006-8993(75)90755-6.
- McEwen, B.S., Tanapat, P. y Weiland, N.G. (1999). Inhibition of dendritic spine induction on hippocampal CA1 pyramidal neurons by a nonsteroidal estrogen antagonist in female rats. *Endocrinology*, 140(3), 1044-1047. <http://dx.doi.org/10.1210/endo.140.3.6570>

- McPhaul, M.J., Marcelli, M., Zoppi, S., Griffin, J.E. y Wilson, J.D. (1993). Genetic basis of endocrine disease. 4. The spectrum of mutations in the androgen receptor gene that causes androgen resistance. *J Clin Endocrinol Metab*, 76(1), 17-23. <http://dx.doi.org/10.1210/jcem.76.1.8421085>
- Meyer zu Hoberge, S. (2009). *Prevalence, incidence and sex ratio of transsexualism in Germany established by counting applications of the German Transsexual Act during the period 1991 until 2000* (Tesis doctoral). Medical Faculty Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel, Germany. [http://macau.uni-kiel.de/receive/dissertation\\_diss\\_00004825.jsessionid=8CA604FB872CE92FB10334580879A740?lang=en](http://macau.uni-kiel.de/receive/dissertation_diss_00004825.jsessionid=8CA604FB872CE92FB10334580879A740?lang=en)
- Michel, A., Mormont, C. y Legros, J.J. (2001). A psycho-endocrinological overview of transsexualism. *Eur J Endocrinol*, 145(4), 365-376. doi: 10.1530/eje.0.1450365.
- Migeon, C.J. y Wisniewski, A.B. (1998). Sexual differentiation: from genes to gender. *Horm Res*, 50(5), 245-251. doi: 10.1159/000023285.
- Mills, R.E., Walter, K., Stewart, C., Handsaker, R.E., Chen, K., Alkan, C... y Korb, J.O. (2011). Mapping copy number variation by population-scale genome sequencing. *Nature*, 470(7332), 59-65. doi: 10.1038/nature09708.
- Moraga, I. (2004). *Programa de atención sociosanitaria de Médicos del Mundo a personas transexuales*. 46 Congreso de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición. Barcelona.
- Morris, J.A., Jordan, C.L. y Breedlove, S.M. (2004). Sexual differentiation of the vertebrate nervous system. *Nat Neurosci*, 7(10), 1034-1039. doi: 10.1038/nn1325.
- Moser, C. (2010). Blanchard's Autogynephilia Theory: a critique. *J Homosex*, 57(6), 790-809. doi: 10.1080/00918369.2010.486241.
- Naftolin, F., Ryan, K.J., Davies, I.J., Petro, Z. y Kuhn, M. (1975). The formation and metabolism of estrogens in brain tissues. *Adv Biosci*, 15, 105-121. ISSN: 0065-3446
- Nance, M.A. (1997). Clinical aspects of CAG repeat diseases. *Brain Pathol*, 7(3), 881-900. doi: 10.1111/j.1750-3639.1997.tb00892.x.
- Nett, S.T., Jorge-Rivera, J.C., Myers, M., Clark, A.S. y Henderson, L.P. (1999). Properties and sex-specific differences of GABAA receptors in neurons expressing gamma1 subunit mRNA in the preoptic area of the rat. *J Neurophysiol*, 81(1), 192-203. doi: 10.1007/s11062-012-9291-z.
- Nielsen, T.L., Hagen, C., Wraae, K., Bathum, L., Larsen, R., Brixen, K. y Andersen, M. (2010). The impact of the CAG repeat polymorphism of the androgen receptor gene on muscle and adipose tissues in 20-29-year-old Danish men: Odense Androgen Study. *Eur J Endocrinol*, 162(4), 795-804. doi: 10.1530/EJE-09-0763.
- Nitecka, L. y Ben-Ari, Y. (1987). Distribution of GABA-like immunoreactivity in the rat amygdaloid complex. *J Comp Neurol*, 266(1), 45-55. doi: 10.1002/cne.902660105.
- Nitecka, L. y Frotscher, M. (1989). Organization and synaptic interconnections of GABAergic and cholinergic elements in the rat amygdaloid nuclei: single- and double-immunolabeling studies. *J Comp Neurol*, 279(3), 470-488. doi: 10.1002/cne.902790311.
- Nuttbrock, L., Bockting, W., Mason, M., Hwahng, S., Rosenblum, A., Macri, M. y Becker, J. (2011). A

- further assessment of Blanchard's typology of homosexual versus non-homosexual or autogynephilic gender dysphoria. *Arch Sex Behav*, 40(2), 247-257. doi: 10.1007/s10508-009-9579-2.
- Nuttbrock, L., Bockting, W., Rosenblum, A., Mason, M. y Hwahng, S. (2010). The limitations of Blanchard's typology: a response to Lawrence (2010). *Arch Sex Behav*. 39(5), 1017-1020. doi: 10.1007/s10508-010-9638-8.
- O'Gorman, E.C. (1982). A retrospective study of epidemiological and clinical aspects of 28 transsexual patients. *Arch Sex Behav*, 11(3), 231-236. doi: 10.1007/BF01544991.
- Ogawa, S., Hosoi, T., Shiraki, M., Orimo, H., Emi, M., Muramatsu, M. y Inoue, S. (2000). Association of estrogen receptor beta gene polymorphism with bone mineral density. *Biochem Biophys Res Commun*, 269(2), 537-541. doi:10.1006/bbrc.2000.2285.
- Ogawa, S., Kow, L.M. y Pfaff, D.W. (1991). Effects of GABA and related agents on the electrical activity of hypothalamic ventromedial nucleus neurons in vitro. *Exp Brain Res*, 85(1), 85-92. doi: 10.1007/BF00229989.
- Olsson, S.E. y Moller, A.R. (2003). On the incidence and sex ratio of transsexualism in Sweden, 1972-2002. *Arch Sex Behav*, 32(4), 381-386. doi: 10.1023/A:1024051201160.
- Ondo, J., Mansky, T. y Wuttke, W. (1982). In vivo GABA release from the medial preoptic area of diestrous and ovariectomized rats. *Exp Brain Res*, 46(1), 69-72. doi: 10.1007/BF00238099.
- Osterlund, M.K. y Hurd, Y.L. (2001). Estrogen receptors in the human forebrain and the relation to neuropsychiatric disorders. *Prog Neurobiol*, 64(3), 251-267. doi:10.1016/S0301-0082(00)00059-9.
- Otero Camprubí, A. y Gómez Gil, E. (2005). Trastornos sexuales. Trastornos de la identidad de género. En: Vallejo Ruiloba J, Leal Cercos C. (Ed.) *Tratado de Psiquiatría. Volumen II*. Barcelona: Ars Médica. 1537-1559. ISBN: 978-8471018717.
- Pauly, I.B. (1968). The current status of the change of sex operation. *J Nerv Ment Dis*, 147(5), 460-471. ISSN: 0022-3018  
[http://journals.lww.com/jonmd/Abstract/1968/11000/THE\\_CURRENT\\_STATUS\\_OF\\_THE\\_CHANGE\\_OF\\_SEX\\_OPERATION\\_3.aspx](http://journals.lww.com/jonmd/Abstract/1968/11000/THE_CURRENT_STATUS_OF_THE_CHANGE_OF_SEX_OPERATION_3.aspx)
- Person, E. y Ovesey, L. (1974a). The transsexual syndrome in males. I. Primary transsexualism. *Am J Psychother*, 28(1), 4-20. ISSN: 0002-9564.
- Person, E. y Ovesey, L. (1974b). The transsexual syndrome in males. II. Secondary transsexualism. *Am J Psychother*, 28(2), 174-193. ISSN: 0002-9564.
- Pfaff, D.W. (1966). Morphological changes in the brains of adult male rats after neonatal castration. *J Endocrinol*, 36(4), 415-416. doi: 10.1677/joe.0.0360415.
- Phoenix, C.H., Goy, R.W., Gerall, A.A. y Young, W.C. (1959). Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology*, 65,369-382. <http://dx.doi.org/10.1210/endo-65-3-369>
- Picado-Leonard, J. y Miller, W.L. (1987). Cloning and sequence of the human gene for P450c17 (steroid 17 alpha-hydroxylase/17,20 lyase): similarity with the gene for P450c21. *DNA*, 6(5), 439-448. doi:10.1089/dna.1987.6.439.

- Pilgrim, C. y Reisert, I. (1992). Differences between male and female brains--developmental mechanisms and implications. *Horm Metab Res*, 24(8), 353-359. doi: 10.1055/s-2007-1003334.
- Pimenoff, V. (1993). [Transsexualism]. *Duodecim.*, 109(5), 368-375. [http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/haku.jsessionid=ACA81A560AAD4D58EBA0FFC3CA6DC755?p\\_p\\_id=Article\\_WAR\\_DL6\\_Articleportlet&p\\_p\\_lifecycle=0&\\_Article\\_WAR\\_DL6\\_Articleportlet\\_hakusana=masennus&\\_Article\\_WAR\\_DL6\\_Articleportlet\\_p\\_frompage=haku&\\_Article\\_WAR\\_DL6\\_Articleportlet\\_viewType=viewArticle&\\_Article\\_WAR\\_DL6\\_Articleportlet\\_tunnus=duo60310](http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/haku.jsessionid=ACA81A560AAD4D58EBA0FFC3CA6DC755?p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&p_p_lifecycle=0&_Article_WAR_DL6_Articleportlet_hakusana=masennus&_Article_WAR_DL6_Articleportlet_p_frompage=haku&_Article_WAR_DL6_Articleportlet_viewType=viewArticle&_Article_WAR_DL6_Articleportlet_tunnus=duo60310)
- Pinckard, K.L., Stellflug, J., Resko, J.A., Roselli, C.E. y Stormshak, F. (2000). Review: brain aromatization and other factors affecting male reproductive behavior with emphasis on the sexual orientation of rams. *Domest Anim Endocrinol*, 18(1), 83-96. doi: 10.1016/S0739-7240(99)00065-X.
- Polymeropoulos, M.H., Xiao, H., Rath, D.S. y Merrill, C.R. (1991). Tetranucleotide repeat polymorphism at the human aromatase cytochrome P-450 gene (CYP19). *Nucleic Acids Res*, 19(1), 195. doi: 10.1093/nar/19.1.195.
- Price, D.K., Chau, C.H., Till, C., Goodman, P.J., Baum, C.E., Ockers, S.B... y Figg, W.D. (2010). Androgen receptor CAG repeat length and association with prostate cancer risk: results from the prostate cancer prevention trial. *J Urol*, 184(6), 2297-2302. doi:10.1016/j.juro.2010.08.005.
- Quigley, C.A. (2002). Editorial: The postnatal gonadotropin and sex steroid surge--insights from the androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.*, 87(1), 24-28. doi: <http://dx.doi.org/10.1210/jcem.87.1.8265>
- Rajender, S., Singh, L. y Thangaraj, K. (2007). Phenotypic heterogeneity of mutations in androgen receptor gene. *Asian J Androl*, 9(2), 147-179. doi: 10.1111/j.1745-7262.2007.00250.x.
- Rakic, Z., Starcevic, V., Maric, J. y Kelin, K. (1996). The outcome of sex reassignment surgery in Belgrade: 32 patients of both sexes. *Arch Sex Behav*, 25 (5), 515-525. doi: 10.1007/BF02437545.
- Rametti, G., Carrillo, B., Gómez-Gil, E., Junqué, C., Segovia, S., Gómez, A. y Guillamon, A. (2011a). White matter microstructure in female to male transsexuals before cross-sex hormonal treatment. A diffusion tensor imaging study. *J Psychiatr Res*, 45(2), 199-204. doi: 10.1016/j.jpsychires.2010.05.006.
- Rametti, G., Carrillo, B., Gómez-Gil, E., Junqué, C., Zubiarre-Elorza, L., Segovia, S... y Guillamon, A. (2011b). The microstructure of white matter in male to female transsexuals before cross-sex hormonal treatment. A DTI study. *J Psychiatr Res*, 45(7), 949-954. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2010.11.007>
- Rezaie, R., Daly, E.M., Cutter, W.J., Murphy, D.G., Robertson, D.M., DeLisi, L.E... y Roberts, N. (2009). The influence of sex chromosome aneuploidy on brain asymmetry. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 150B(1), 74-85. doi: 10.1002/ajmg.b.30772.
- Rodríguez-Zafra, M., De Blas, M.R., Pérez-Laso, C., Calés, J.M., Guillamón, A. y Segovia, S. (1993). Effects of perinatal diazepam exposure on the sexually dimorphic rat locus coeruleus. *Neurotoxicol Teratol*, 15(2), 139-144. doi: 10.1016/0892-0362(93)90072-V.
- Ross, M.W., Walinder, J., Lundstrom, B. y Thuwe, I. (1981). Cross-cultural approaches to transsexualism. A comparison between Sweden and Australia. *Acta Psychiatr Scand*, 63(1), 75-82. doi: 10.1111/j.1600-

0447.1981.tb00652.x.

- Roy, A.K., Lavrovsky, Y., Song, C.S., Chen, S., Jung, M.H., Velu, N.K... y Chatterjee, B. (1999). Regulation of androgen action. *Vitam Horm*, 55,309-352. doi: 10.1016/S0083-6729(08)60938-3.
- Roy, A.K., Tyagi, R.K., Song, C.S., Lavrovsky, Y., Ahn, S.C., Oh, T.S... y Chatterjee, B. (2001). Androgen receptor: structural domains and functional dynamics after ligand-receptor interaction. *Ann N Y Acad Sci*, 949,44-57. doi:10.1111/j.1749-6632.2001.tb04001.x.
- Rubinow, D.R. y Schmidt, P.J. (1996). Androgens, brain, and behavior. *Am J Psychiatry*, 153(8), 974-984. <http://dx.doi.org/10.1176/ajp.153.8.974>
- Sasaki, M., Kaneuchi, M., Sakuragi, N., Fujimoto, S., Carroll, P.R. y Dahiya, R. (2003). The polyglycine and polyglutamine repeats in the androgen receptor gene in Japanese and Caucasian populations. *Biochem Biophys Res Commun*, 312(4), 1244-1247. doi:10.1016/j.bbrc.2003.11.075.
- Sato, T., Matsumoto, T., Kawano, H., Watanabe, T., Uematsu, Y., Sekine, K... y Kato, S. (2004). Brain masculinization requires androgen receptor function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(6), 1673-1678. doi: 10.1073/pnas.0305303101.
- Savic, I. (2012). Advances in research on the neurological and neuropsychiatric phenotype of Klinefelter syndrome. *Curr Opin Neurol*, 25(2), 138-143. doi: 10.1097/WCO.0b013e32835181a0.
- Savic, I. y Arver, S. (2011). Sex dimorphism of the brain in male-to-female transsexuals. *Cereb Cortex*, 21(11), 2525-2533. doi: 10.1093/cercor/bhr032.
- Savic, I. y Arver, S. (2014). Sex differences in cortical thickness and their possible genetic and sex hormonal underpinnings. *Cereb Cortex*, 24(12), 3246-3257. doi: 10.1093/cercor/bht180.
- Savic, I., García-Falgueras, A. y Swaab, D.F. (2010). Sexual differentiation of the human brain in relation to gender identity and sexual orientation. *Prog Brain Res*, 186, 41-62. doi: 10.1016/B978-0-444-53630-3.00004-X.
- Scariano, J.K., Simplicio, S.G., Montoya, G.D., Garry, P.J. y Baumgartner, R.N. (2004). Estrogen receptor beta dinucleotide (CA) repeat polymorphism is significantly associated with bone mineral density in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*, 74(6), 501-508. doi: 10.1007/s00223-003-0170-x.
- Segovia, S. y Guillamón, A. (1996). Searching for sex differences in the vomeronasal pathway. *Horm Behav*, 30(4), 618-626. doi:10.1006/hbeh.1996.0065.
- Segovia, S., Pérez-Laso, C., Rodríguez-Zafra, M., Calés, J.M., Del Abril, A., De Blas, M.R... y Guillamón, A. (1991). Early postnatal diazepam exposure alters sex differences in the rat brain. *Brain Res Bull*, 26(6), 899-907. doi: 10.1016/0361-9230(91)90255-I.
- Sharp, L., Cardy, A.H., Cotton, S.C. y Little, J. (2004). CYP17 gene polymorphisms: prevalence and associations with hormone levels and related factors. a HuGE review. *Am J Epidemiol*, 160(8), 729-740. doi: 10.1093/aje/kwh287.
- Shughrue, P.J., Lane, M.V. y Merchenthaler, I. (1997). Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 388(4), 507-525. doi: 10.1002/(SICI)1096-9861(19971201)388:4<507::AID-CNE1>3.0.CO;2-6.
- Simpson, E.R., Mahendroo, M.S., Means, G.D., Kilgore, M.W., Hinshelwood, M.M., Graham-Lorence, S... y

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Bulun, S.E. (1994). Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocr Rev*, 15(3), 342-355. <http://dx.doi.org/10.1210/edrv-15-3-342>
- Smith, S.T., Brennan, C., Clark, A.S. y Henderson, L.P. (1996). GABAA receptor-mediated responses in the ventromedial nucleus of the hypothalamus of female and male neonatal rats. *Neuroendocrinology*, 64(2), 103-113. doi: 10.1159/000127105.
- Smith, Y.L., Van Goozen, S.H., Kuiper, A.J. y Cohen-Kettenis, P.T. (2005a). Sex reassignment: outcomes and predictors of treatment for adolescent and adult transsexuals. *Psychol Med*, 35(1), 89-99. doi: 10.1017/S0033291704002776.
- Smith, Y.L., Van Goozen, S.H., Kuiper, A.J. y Cohen-Kettenis, P.T. (2005b). Transsexual subtypes: clinical and theoretical significance. *Psychiatry Res*, 137(3), 151-160. doi: 10.1016/j.psychres.2005.01.008.
- Sorensen, T. y Hertoft, P. (1980). Sex modifying operations on transsexuals in Denmark in the period 1950-1977. *Acta Psychiatr Scand.*, 61(1), 56-66. doi: 10.1111/j.1600-0447.1980.tb00565.x.
- Sorensen, T. y Hertoft, P. (1982). Male and female transsexualism: the Danish experience with 37 patients. *Arch Sex Behav*, 11(2), 133-155. doi: 10.1007/BF01541980.
- Sparkes, R.S., Klisak, I. y Miller, W.L. (1991). Regional mapping of genes encoding human steroidogenic enzymes: P450scc to 15q23-q24, adrenodoxin to 11q22; adrenodoxin reductase to 17q24-q25; and P450c17 to 10q24-q25. *DNA Cell Biol*, 10(5), 359-365. <http://online.liebertpub.com/doi/pdfplus/10.1089/dna.1991.10.359>
- Steinman, K., Ross, J., Lai, S., Reiss, A. y Hoefl, F. (2009). Structural and functional neuroimaging in Klinefelter (47,XXY) syndrome: a review of the literature and preliminary results from a functional magnetic resonance imaging study of language. *Dev Disabil Res Rev*, 15(4), 295-308. doi: 10.1002/ddrr.84.
- Stoffel-Wagner, B., Watzka, M., Schramm, J., Bidlingmaier, F. y Klingmuller, D. (1999). Expression of CYP19 (aromatase) mRNA in different areas of the human brain. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 70(4-6), 237-241. doi: 10.1016/S0960-0760(99)00114-4.
- Sun, T., Patoine, C., Abu-Khalil, A., Visvader, J., Sum, E., Cherry, T.J... y Walsh, C.A. (2005). Early asymmetry of gene transcription in embryonic human left and right cerebral cortex. *Science*, 308(5729), 1794-1798. doi: 10.1126/science.1110324.
- Swaab, D.F. (2003). *The human hypothalamus. Basic and clinical aspects*. En: Aminoff MJ, Boller F, Swaab DF Series eds Handbook of Clinical Neurology. Amsterdam; Elsevier. ISBN: 9780444513571.
- Swaab, D.F. (2004). Sexual differentiation of the human brain: relevance for gender identity, transsexualism and sexual orientation. *Gynecol Endocrinol.*, 19(6), 301-312. doi: 10.1080/09513590400018231.
- Swaab, D.F. (2007). Sexual differentiation of the brain and behavior. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.*, 21(3), 431-444. doi:10.1016/j.beem.2007.04.003.
- Swaab, D.F. (2008). Sexual orientation and its basis in brain structure and function. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 105(30), 10273-10274. doi: 10.1073/pnas.0805542105.
- Swaab, D.F., Chung, W.C., Kruijver, F.P., Hofman, M.A. y Hestiantoro, A. (2003). Sex differences in the hypothalamus in the different stages of human life. *Neurobiol Aging*, 24 Suppl 1, S1-16; discussion

S17-9. doi: 10.1016/S0197-4580(03)00059-9.

Swaab, D.F., Fliers, E. y Partiman, T.S. (1985). The suprachiasmatic nucleus of the human brain in relation to sex, age and senile dementia. *Brain Res*, 342(1), 37-44. doi: 10.1016/0006-8993(85)91350-2.

Swaab, D.F. y García-Falgueras, A. (2009). Sexual differentiation of the human brain in relation to gender identity and sexual orientation. *Funct Neurol.*, 24(1), 17-28. ISSN: 0393-5264. <http://www.functionalneurology.com/common/php/portiere.php?ID=1edbbdfc303deac87943d8c5249c8e80>

Swaab, D.F. y Hofman, M.A. (1988). Sexual differentiation of the human hypothalamus: ontogeny of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area. *Brain Res Dev Brain Res*, 44(2), 314-318. doi: 10.1016/0165-3806(88)90231-3.

Swaab, D.F. y Hofman, M.A. (1990). An enlarged suprachiasmatic nucleus in homosexual men. *Brain Res*, 537(1-2), 141-148. doi: 10.1016/0006-8993(90)90350-K.

Swaab, D.F., Hofman, M.A. y Honnebier, M.B. (1990). Development of vasopressin neurons in the human suprachiasmatic nucleus in relation to birth. *Brain Res Dev Brain Res*, 52(1-2), 289-293. doi: 10.1016/0165-3806(90)90247-V.

The Harry Benjamin International Gender Dysphoria Association (HBIGDA). (2001). The Standards of Care for Gender Identity Disorders (6th version). doi: 10.1300/J056v13n01\_01.

Tilley, W.D., Marcelli, M., Wilson, J.D. y McPhaul, M.J. (1989). Characterization and expression of a cDNA encoding the human androgen receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86(1), 327-331. <http://www.pnas.org/content/86/1/327.long>

Topalli, I. y Etgen, A.M. (2004). Insulin-like growth factor-I receptor and estrogen receptor crosstalk mediates hormone-induced neurite outgrowth in PC12 cells. *Brain Res*, 1030(1), 116-124. doi:10.1016/j.brainres.2004.09.057.

Toran-Allerand, C.D. (1984). On the genesis of sexual differentiation of the general nervous system: morphogenetic consequences of steroidal exposure and possible role of alpha-fetoprotein. *Prog Brain Res*, 61,63-98. doi: 10.1016/S0079-6123(08)64429-5.

Tsoi, W.F. (1988). The prevalence of transsexualism in Singapore. *Acta Psychiatr Scand.*, 78(4), 501-504. doi: 10.1111/j.1600-0447.1988.tb06373.x.

Tsoi, W.F. (1992). Male and female transsexuals: a comparison. *Singapore Med J*, 33(2), 182-185. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1621125>

Tsoi, W.F. (1993). Follow-up study of transsexuals after sex-reassignment surgery. *Singapore Med J*, 34(6), 515-517. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8153713>

Tsukamoto, K., Inoue, S., Hosoi, T., Orimo, H. y Emi, M. (1998). Isolation and radiation hybrid mapping of dinucleotide repeat polymorphism at the human estrogen receptor beta locus. *J Hum Genet*, 43(1), 73-74. doi: 10.1007/s100380050043.

Tut, T.G., Ghadessy, F.J., Trifiro, M.A., Pinsky, L. y Yong, E.L. (1997). Long polyglutamine tracts in the androgen receptor are associated with reduced trans-activation, impaired sperm production, and male infertility. *J Clin Endocrinol Metab*, 82(11), 3777-3782. <http://dx.doi.org/10.1210/jcem.82.11.4385>



- Ujike, H., Otani, K., Nakatsuka, M., Ishii, K., Sasaki, A., Oishi, T... y Kuroda, S. (2009). Association study of gender identity disorder and sex hormone-related genes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 33(7), 1241-1244. doi: 10.1016/j.pnpbp.2009.07.008.
- Van Den Akker, E.L., Koper, J.W., Boehmer, A.L., Themmen, A.P., Verhoef-Post, M., Timmerman, M.A... y De Jong, F.H. (2002). Differential inhibition of 17alpha-hydroxylase and 17,20-lyase activities by three novel missense CYP17 mutations identified in patients with P450c17 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 87(12), 5714-5721. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2001-011880>
- Van Kesteren, P.J., Asscheman, H., Megens, J.A. y Gooren, L.J. (1997). Mortality and morbidity in transsexual subjects treated with cross-sex hormones. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 47(3), 337-342. doi: 10.1046/j.1365-2265.1997.2601068.x.
- Van Kesteren, P.J., Gooren, L.J. y Megens, J.A. (1996). An epidemiological and demographic study of transsexuals in The Netherlands. *Arch Sex Behav*, 25(6), 589-600. doi: 10.1007/BF02437841.
- Van Pottelbergh, I., Lumbroso, S., Goemaere, S., Sultan, C. y Kaufman, J.M. (2001). Lack of influence of the androgen receptor gene CAG-repeat polymorphism on sex steroid status and bone metabolism in elderly men. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 55(5), 659-666. doi: 10.1046/j.1365-2265.2001.01403.x.
- Van Rijn, S., Aleman, A., Swaab, H., Vink, M., Sommer, I. y Kahn, R.S. (2008). Effects of an extra X chromosome on language lateralization: an fMRI study with Klinefelter men (47,XXY). *Schizophr Res*, 101(1-3), 17-25. doi: 10.1016/j.schres.2008.02.001.
- Varea Abbad, O. (2009). *Funciones de los Receptores de Estrógenos en las neuronas primarias: interacción con otras vías intracelulares e implicación en la morfología neuronal* (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Madrid. 2014-02-17T15:35:01Z <http://hdl.handle.net/10486/4125>
- Veale, J.F. (2008). Prevalence of transsexualism among New Zealand passport holders. *Aust N Z J Psychiatry*, 42(10), 887-889. doi: 10.1080/00048670802345490.
- Veale, J.F. (2014). Evidence against a typology: a taxometric analysis of the sexuality of male-to-female transsexuals. *Arch Sex Behav*, 43(6), 1177-1186. doi: 10.1007/s10508-014-0275-5.
- Verschoor, A.M. y Poortinga, J. (1988). Psychosocial differences between Dutch male and female transsexuals. *Arch Sex Behav*, 17(2), 173-178. doi: 10.1007/BF01542666.
- Vujovic, S., Popovic, S., Sbutega-Milosevic, G., Djordjevic, M. y Gooren, L. (2009). Transsexualism in Serbia: a twenty-year follow-up study. *J Sex Med*, 6(4), 1018-1023. doi: 10.1111/j.1743-6109.2008.00799.x.
- Wagner, S., Castel, M., Gainer, H. y Yarom, Y. (1997). GABA in the mammalian suprachiasmatic nucleus and its role in diurnal rhythmicity. *Nature*, 387(6633), 598-603. doi: 10.1038/42468.
- Walinder, J. (1968). Transsexualism: definition, prevalence and sex distribution. *Acta Psychiatr Scand Suppl.*, 203,255-258. doi: 10.1111/j.1600-0447.1968.tb02000.x.
- Walinder, J. (1971). Incidence and sex ratio of transsexualism in Sweden. *Br J Psychiatry*, 119(549), 195-196. doi: 10.1192/bjp.119.549.195.
- Walsh, S., Zmuda, J.M., Cauley, J.A., Shea, P.R., Metter, E.J., Hurley, B.F... y Roth, S.M. (2005). Androgen receptor CAG repeat polymorphism is associated with fat-free mass in men. *J Appl Physiol (1985)*,

- 98(1), 132-137. doi: 10.1152/japplphysiol.00537.2004.
- Wang, L., Andersson, S., Warner, M. y Gustafsson, J.A. (2001). Morphological abnormalities in the brains of estrogen receptor beta knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(5), 2792-2796. doi: 10.1073/pnas.041617498.
- Wang, L., Andersson, S., Warner, M. y Gustafsson, J.A. (2003). Estrogen receptor (ER)beta knockout mice reveal a role for ERbeta in migration of cortical neurons in the developing brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(2), 703-708. doi: 10.1073/pnas.242735799.
- Wang, Q., Udayakumar, T.S., Vasaitis, T.S., Brodie, A.M. y Fondell, J.D. (2004). Mechanistic relationship between androgen receptor polyglutamine tract truncation and androgen-dependent transcriptional hyperactivity in prostate cancer cells. *J Biol Chem*, 279(17), 17319-17328. doi: 10.1074/jbc.M400970200.
- Weitze, C. y Osburg, S. (1996). Transsexualism in Germany: empirical data on epidemiology and application of the German Transsexuals' Act during its first ten years. *Arch Sex Behav*, 25(4), 409-425. doi: 10.1007/BF02437583.
- Westberg, L., Baghaei, F., Rosmond, R., Hellstrand, M., Landen, M., Jansson, M... y Eriksson, E. (2001). Polymorphisms of the androgen receptor gene and the estrogen receptor beta gene are associated with androgen levels in women. *J Clin Endocrinol Metab*, 86(6), 2562-2568. doi: 10.1210/jcem.86.6.7614.
- Westberg, L., Henningson, S., Landen, M., Annerbrink, K., Melke, J., Nilsson, S... y Eriksson, E. (2009). Influence of androgen receptor repeat polymorphisms on personality traits in men. *J Psychiatry Neurosci*, 34(3), 205-213. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2674974/>
- White, D., Leigh, A., Wilson, C., Donaldson, A. y Franks, S. (1995). Gonadotrophin and gonadal steroid response to a single dose of a long-acting agonist of gonadotrophin-releasing hormone in ovulatory and anovulatory women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 42(5), 475-481. doi: 10.1111/j.1365-2265.1995.tb02665.x.
- Wiederman, M.W., Bockting, W.O., Bullough, V.L., Sci, D., Clark, C., Fischer, N.L... y Huppert, M (2005). Biological reductionism meets gender diversity in human exuality. [Review of the book *The man who would be queen*]. *J Sex Research*, 42(3), 267-270. doi: 10.1080/00224490509552281.
- Wilson, J.D., Griffin, J.E., George, F.W. y Leshin, M. (1981). The role of gonadal steroids in sexual differentiation. *Recent Prog Horm Res*, 37, 1-39. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7280356>
- Wilson, P., Sharp, C. y Carr, S. (1999). The prevalence of gender dysphoria in Scotland: a primary care study. *Br J Gen Pract*, 49(449), 991-992. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10824346>
- Wisden, W., Laurie, D.J., Monyer, H. y Seeburg, P.H. (1992). The distribution of 13 GABAA receptor subunit mRNAs in the rat brain. I. Telencephalon, diencephalon, mesencephalon. *J Neurosci*, 12(3), 1040-1062. <http://www.jneurosci.org/content/12/3/1040.long>
- Woolley, C.S. y McEwen, B.S. (1993). Roles of estradiol and progesterone in regulation of hippocampal dendritic spine density during the estrous cycle in the rat. *J Comp Neurol*, 336(2), 293-306. doi: 10.1002/cne.903360210.
- World Health Organization (WHO). (1993). The ICD-10. Classification of Mental and Behavioural

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Disorders. Diagnostic Criteria for Research, Geneva.  
<http://www.who.int/classifications/icd/en/GRNBOOK.pdf>
- Wylie, K.R. y Steward, D. (2008). A Consecutive Series of 52 Transsexual People Presenting for Assessment and Chromosomal Analysis at a Gender Identity Clinic. *International Journal of Transgenderism*, 10(3-4), 147-148. doi: 10.1080/15532730802297330.
- Xing, N., Chen, Y., Mitchell, S.H. y Young, C.Y. (2001). Quercetin inhibits the expression and function of the androgen receptor in LNCaP prostate cancer cells. *Carcinogenesis*, 22(3), 409-414. doi: 10.1093/carcin/22.3.409.
- Yong, E.L., Lim, J., Qi, W., Ong, V. y Mifsud, A. (2000a). Molecular basis of androgen receptor diseases. *Ann Med*, 32(1), 15-22. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10711573>
- Yong, E.L., Lim, J., Wang, Q., Mifsud, A., Ong, Y.C. y Sim, C.K. (2000b). Genetics of male infertility: role of androgen receptor mutations and Y-microdeletions. *Ann Acad Med Singapore*, 29(3), 396-400. [http://www.annals.edu.sg/pdf\\_may00/yong.pdf](http://www.annals.edu.sg/pdf_may00/yong.pdf)
- Yong, E.L., Lim, L.S., Wang, Q., Mifsud, A., Lim, J., Ong, Y.C. y Sim, K. S. (2000c). Androgen receptor polymorphisms and mutations in male infertility. *J Endocrinol Invest*, 23(9), 573-577. <http://link.springer.com/article/10.1007%2F03343778>
- Young, I.E., Kurian, K.M., Annink, C., Kunkler, I.H., Anderson, V.A., Cohen, B.B... y Steel, C.M. (1999). A polymorphism in the CYP17 gene is associated with male breast cancer. *Br J Cancer*, 81(1), 141-143. doi:10.1038/sj.bjc.6690663.
- Zhou, J.N., Hofman, M.A., Gooren, L.J. y Swaab, D.F. (1995). A sex difference in the human brain and its relation to transsexuality. *Nature*, 378(6552), 68-70. doi: 10.1038/378068a0.
- Zhou, Z.X., Wong, C.I., Sar, M. y Wilson, E.M. (1994). The androgen receptor: an overview. *Recent Prog Horm Res*, 49,249-274. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8146426>
- Zhu, M.L. y Kyprianou, N. (2008). Androgen receptor and growth factor signaling cross-talk in prostate cancer cells. *Endocr Relat Cancer*, 15(4), 841-849. doi: 10.1677/ERC-08-0084.
- Zitzmann, M., Brune, M., Kornmann, B., Gromoll, J., von Eckardstein, S., von Eckardstein, A... y Nieschlag, E. (2001). The CAG repeat polymorphism in the AR gene affects high density lipoprotein cholesterol and arterial vasoreactivity. *J Clin Endocrinol Metab*, 86(10), 4867-4873. [http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/jcem.86.10.7889?url\\_ver=Z39.88-2003&rft\\_id=ori:rid:crossref.org&rft\\_dat=cr\\_pub%3dpubmed](http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/jcem.86.10.7889?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%3dpubmed)
- Zubiaurre-Elorza, L., Junqué, C., Gómez-Gil, E. y Guillamón, A. (2014). Effects of cross-sex hormone treatment on cortical thickness in transsexual individuals. *J Sex Med*, 11(5), 1248-1261. doi: 10.1111/jsm.12491.
- Zubiaurre-Elorza, L., Junqué, C., Gómez-Gil, E., Segovia, S., Carrillo, B., Ete, G... y Guillamon, A. (2013). Cortical thickness in untreated transsexuals. *Cereb Cortex*, 23(12), 2855-2862. doi: 10.1093/cercor/bhs267.
- Zuloaga, D.G., Puts, D.A., Jordan, C.L. y Breedlove, S.M. (2008). The role of androgen receptors in the masculinization of brain and behavior: what we've learned from the testicular feminization mutation.

*Horm Behav*, 53(5), 613-626. doi: 10.1016/j.yhbeh.2008.01.013.

## BIBLIOGRAFÍA

---

# 7. ANEXOS

---