



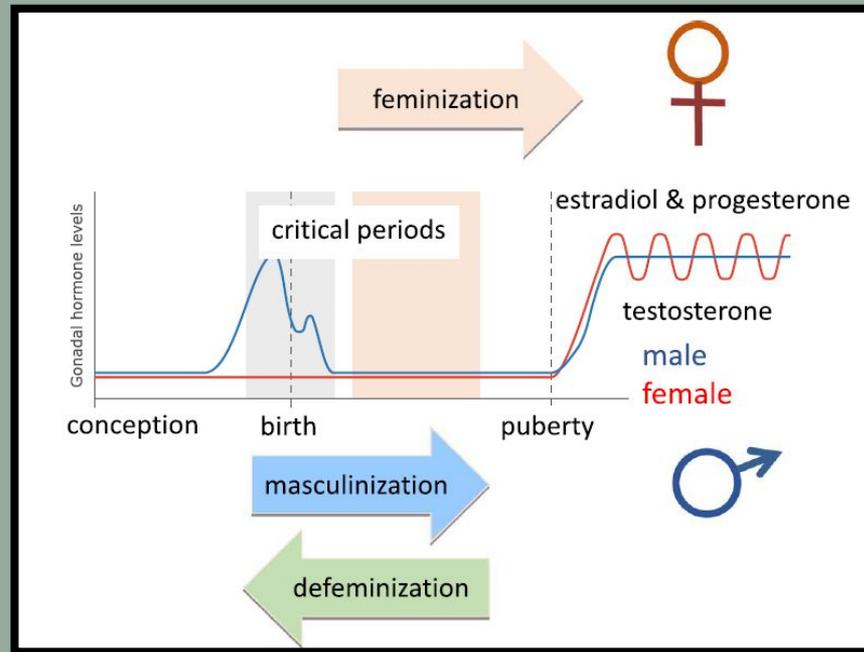
UNIVERSIDADE DA CORUÑA



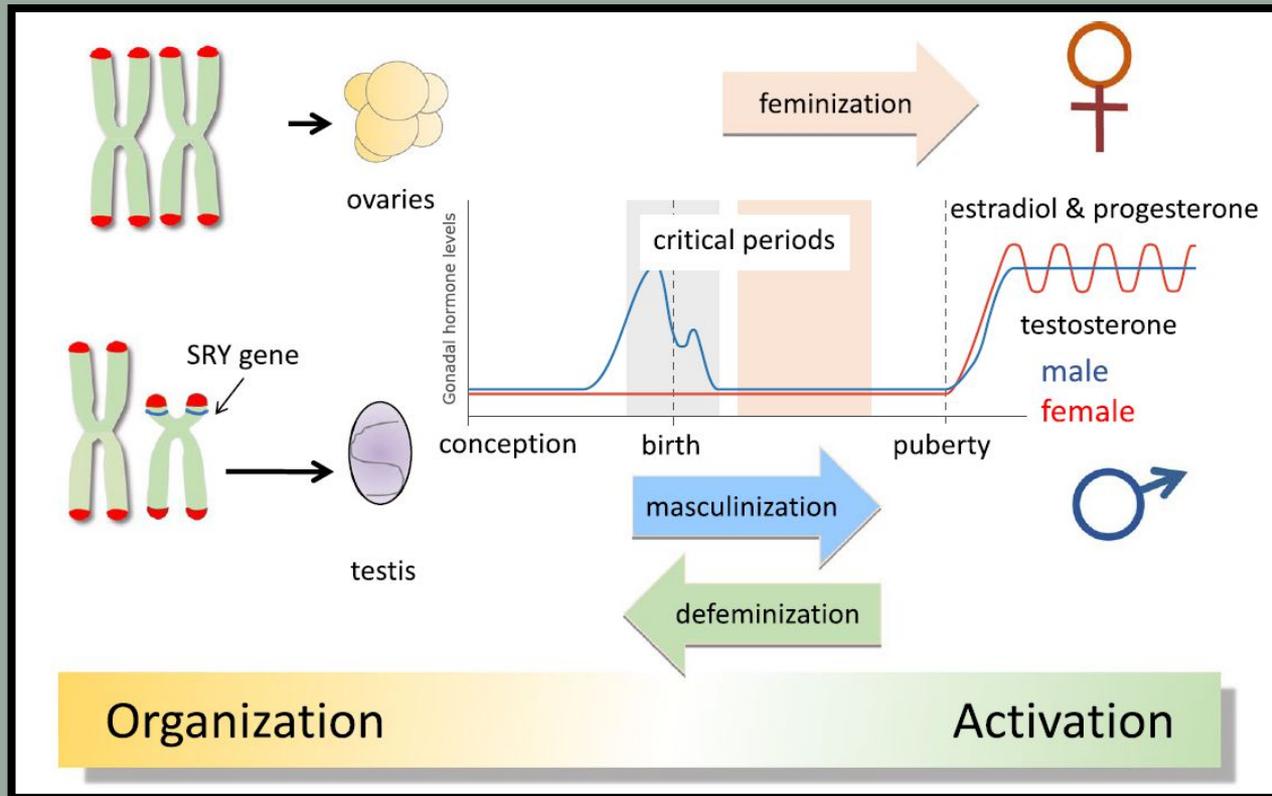
Diferenciación sexual del cerebro en mamíferos: mecanismos genéticos, epigenéticos y hormonales

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

Proceso de diferenciación sexual del cerebro en mamíferos



Proceso de diferenciación sexual del cerebro en mamíferos





46,XY



46,XX

Gónadas indiferenciadas

SRY

Testículos

Ovarios

Aromatasa
CYP19A1

Testosterona

↓↓ Estrógenos

Estrógenos



≠



Masculinización cerebral

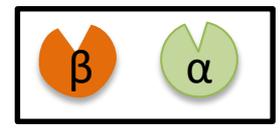
Feminización cerebral

Espacio extracelular

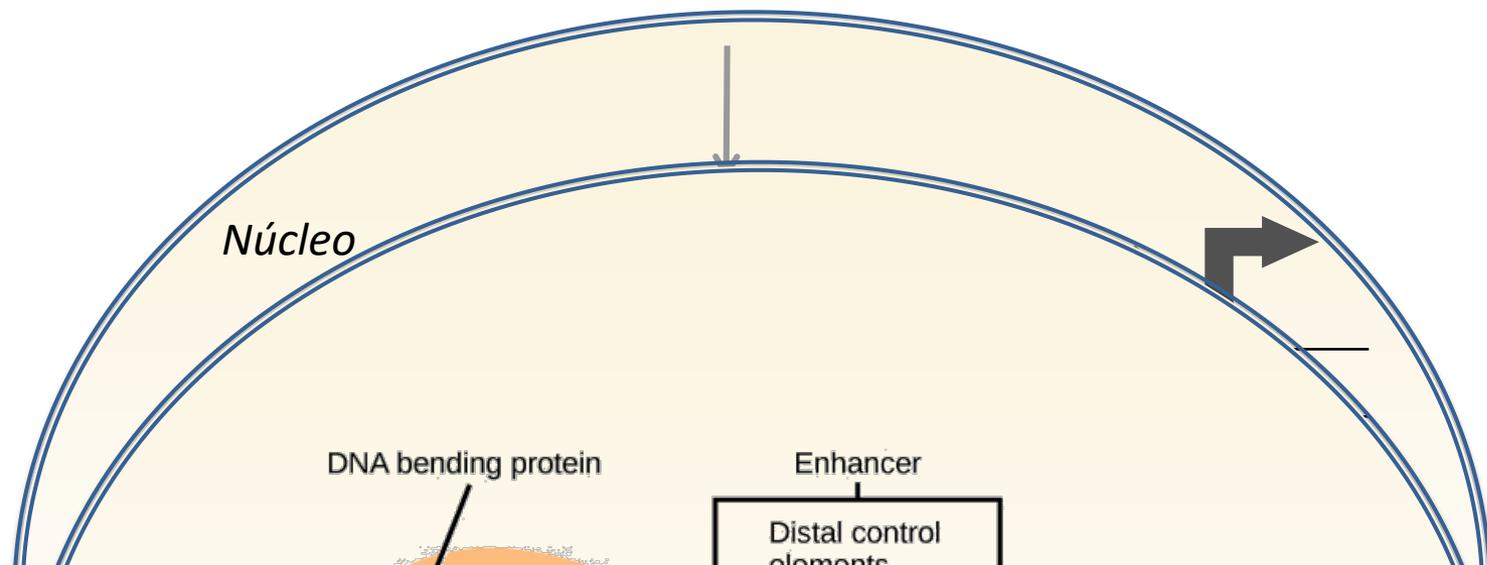
Estrógenos

Citoplasma

Membrana celular



ER

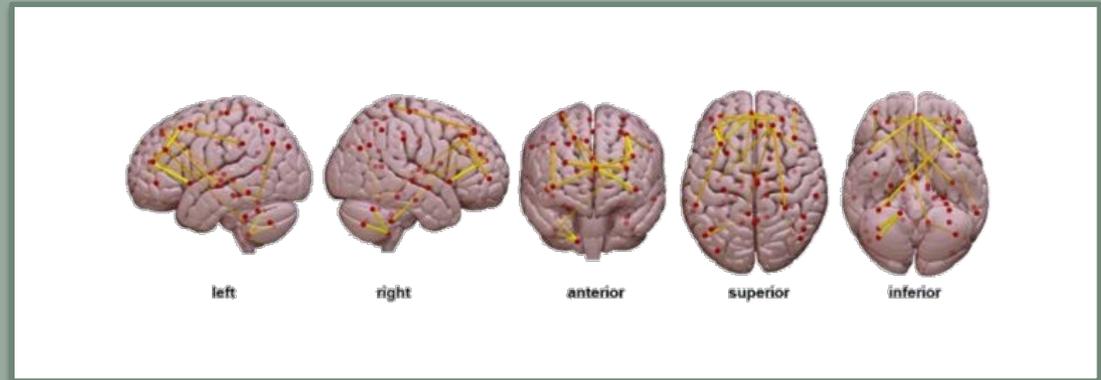


Incongruencia de Género

Población		Genitales	Sexo asignado	Género
Transgénero	Mujeres (MtF)	♂	♂	♀
	Hombres (FtM)	♀	♀	♂
Cisgénero	Mujeres	♀	♀	♀
	Hombres	♂	♂	♂

- **Disforia de género:** incongruencia entre sexo biológico y género.
- **Terapia hormonal y cirugía** para hacer coincidentes sus rasgos físicos y psicológicos con el género.
- La población general, o población cis, no muestra discordancia entre sexo y género.

Origen de la incongruencia de género



Multifactorial:

- Factores neurológicos
- Hormonales: estrógenos, andrógenos
- Genéticos: **AR, ER α y β**
- Epigenéticos: estudio de la metilación del ADN

Objetivo

Análisis del perfil de metilación de la región promotora del gen *ESR1*, en una población transexual española, antes y después de seis meses de tratamiento hormonal

Método



Unidad de Género del Hospital Clínic de Barcelona

Descripción de la muestra

Criterios de inclusión

- Incongruencia de género (ICD-11)
- Early onset

Criterios de exclusión

- Tratamiento hormonal previo
- Desórdenes del desarrollo sexual
- Historial de enfermedades graves
- Consumo de alcohol y/o drogas

Población cis: Biobanco censo PIZARRA
Hospital Regional Universitario de Málaga

Población seleccionada según el origen geográfico, edad y sexo

- **Consentimiento informado**
- Aprobación de los Comités de Ética del Hospital Clínic y el Hospital Regional Universitario

Tratamiento hormonal

- Población transgénero masculina:
 - Administración intramuscular de **ciclopentilpropionato de testosterona** (250 mg cada 21-28 días),
- Población transgénero femenina:
 - Administración de **valerato de estradiol** (2-4 mg/día), asociado a **acetato de ciproterona** (50 mg/día).

***Estudio
molecular***

*MethylCode™ Bisulfite conversion Kit
(Invitrogen)*

ADN

DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen)

Bisulfito



Amplificación



Región III del promotor *ESR1*

Asada et al., 2008

*T&A™ Cloning Vector plasmid
(Yeastern Biotech Co., Ltd),*

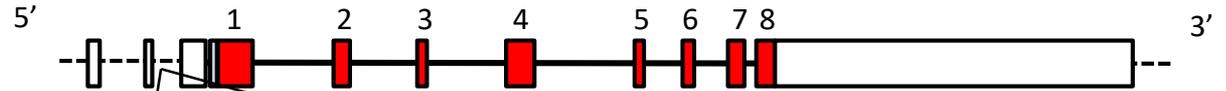
Clonación



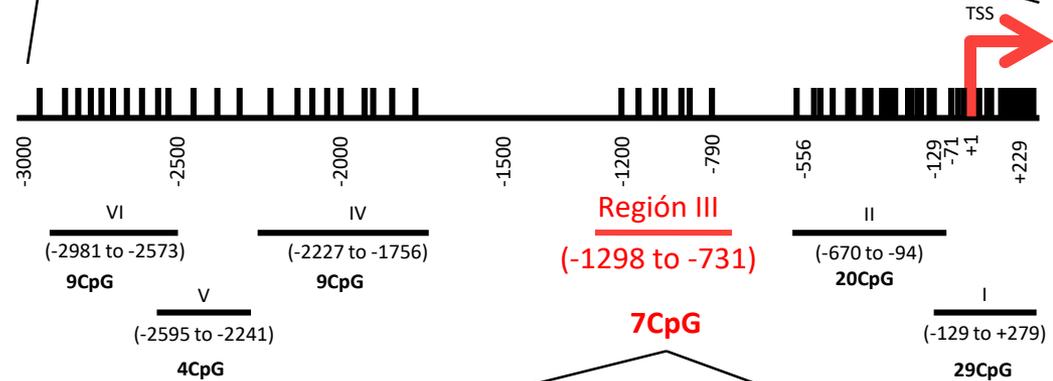
*3130xl Genetic Analyzer
(Applied Biosystems)*

**Secuenciación
671 fragmentos ADN**

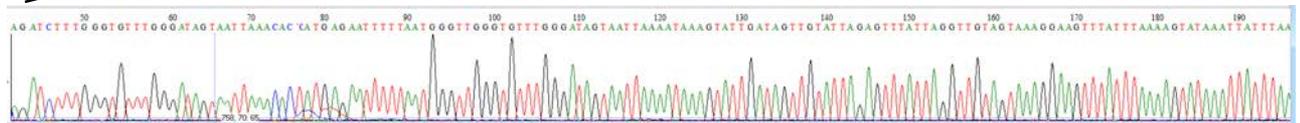
Gen ESR1



**Esquema del promotor del gen ESR1
(Asada et al., 2008)**



**Secuencia de ADN
568 pb**



```

ttgggtgtttgggatagcaattaaaacaaagtattgatagttgtatcagagtctattaggctgcagcaaaggaagtttattcaaaagta
taaactatccaagattatagaCG1catgatatactcacctatTTTTgtctcctaataatgtatatatatatatatatataacac
atatatgtgtgtgtatgtgCG2tgtgcatgtttaactTTtaattcagTtaaaaactTTTTctatttgttttcatctggatatttgattctgc
atatcctagcccaagtgaacCG3agaagatCG4agttgtaggactaaaggatagacatgcagaaatgcatttTaaaaatctgttagct
ggaccagacCG5acaatgtaacataattgcaaagctttggtCG6tgacctgaggttatgtttggatgaaaaggtcacattttatatt
cagtttctgaagtttggttgcataaccaactgtggaaggcatgaacacccatgtgCG7ccctaaccaaaggTTTTctgaatcatcct
tcacatgagaattcctaatgggaccaag
    
```

Método estadístico



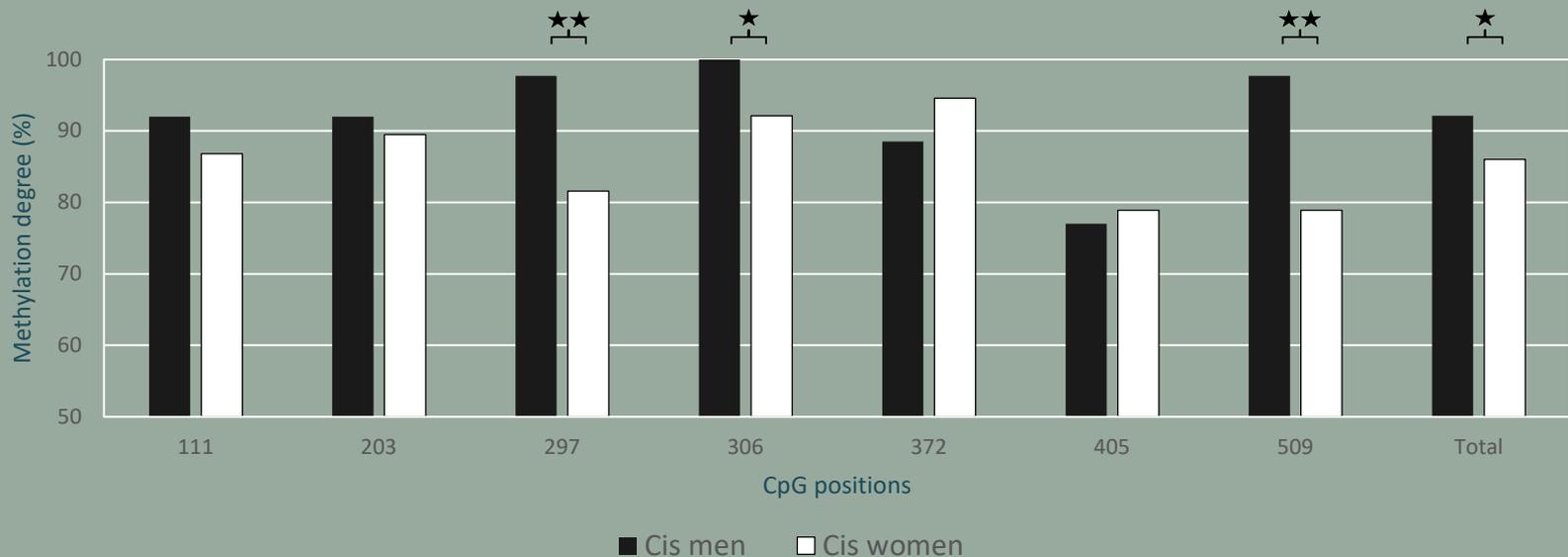
<http://quma.cdb.riken.jp>

- **QUMA**: alinear, visualizar y cuantificar los perfiles de metilación
- Test de Fisher para evaluar las diferencias entre cada posición CpG
- U de Mann-Whitney para comparaciones de grupo
- $P \leq 0.05$ estadísticamente significativo.

Resultados

1. Comparación de las poblaciones cis masculina y femenina

El grado de metilación fue significativamente mayor en varones cis que en mujeres cis en las posiciones 297 ($P \leq 0.003$), 306 ($P \leq 0.026$) y 509 ($P \leq 0.001$) y también a nivel global, se pudo observar que el promotor del gen ESR1 en varones está hipermetilado ($P \leq 0.006$).



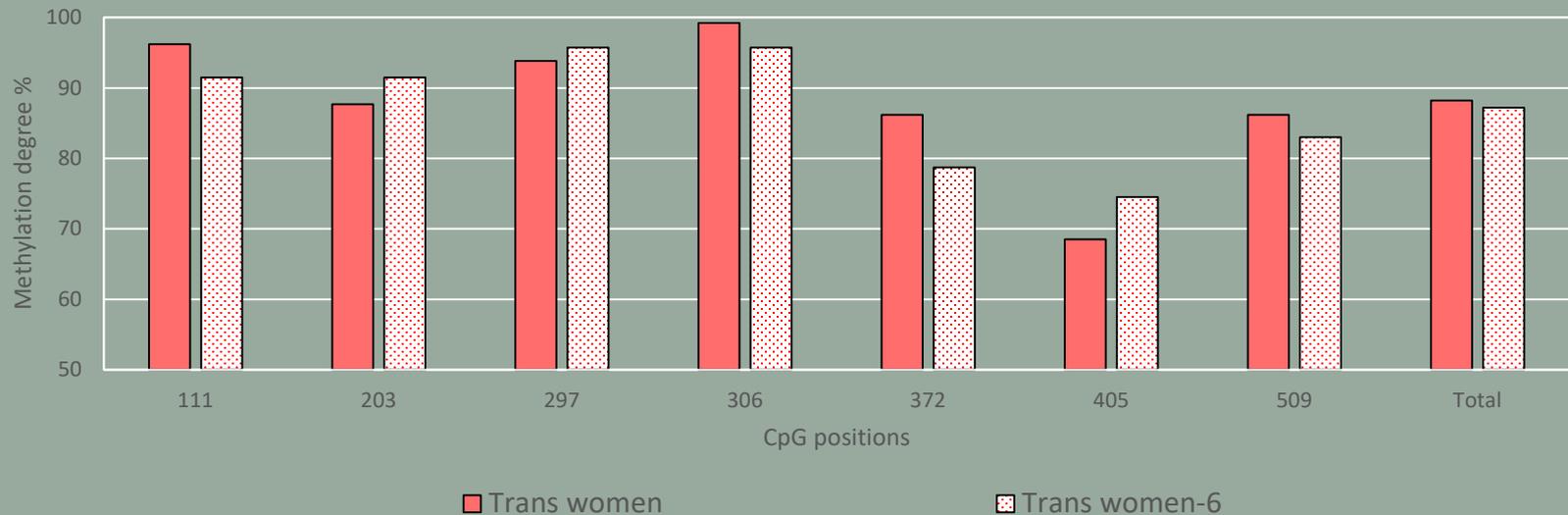
2. Comparación de las poblaciones trans masculina y femenina

El grado de metilación fue significativamente mayor en la población trans de mujeres que en la población trans masculina, a nivel global ($P \leq 0.0107$) y en las posiciones 306 ($P \leq 0.0001$), 372 ($P \leq 0.018$) y 405 ($P \leq 0.015$).



3. Población trans de mujeres, antes *versus* después del tratamiento hormonal

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las posiciones CpG, ni tampoco a nivel global



4. Población trans de varones, antes *versus* después del tratamiento hormonal

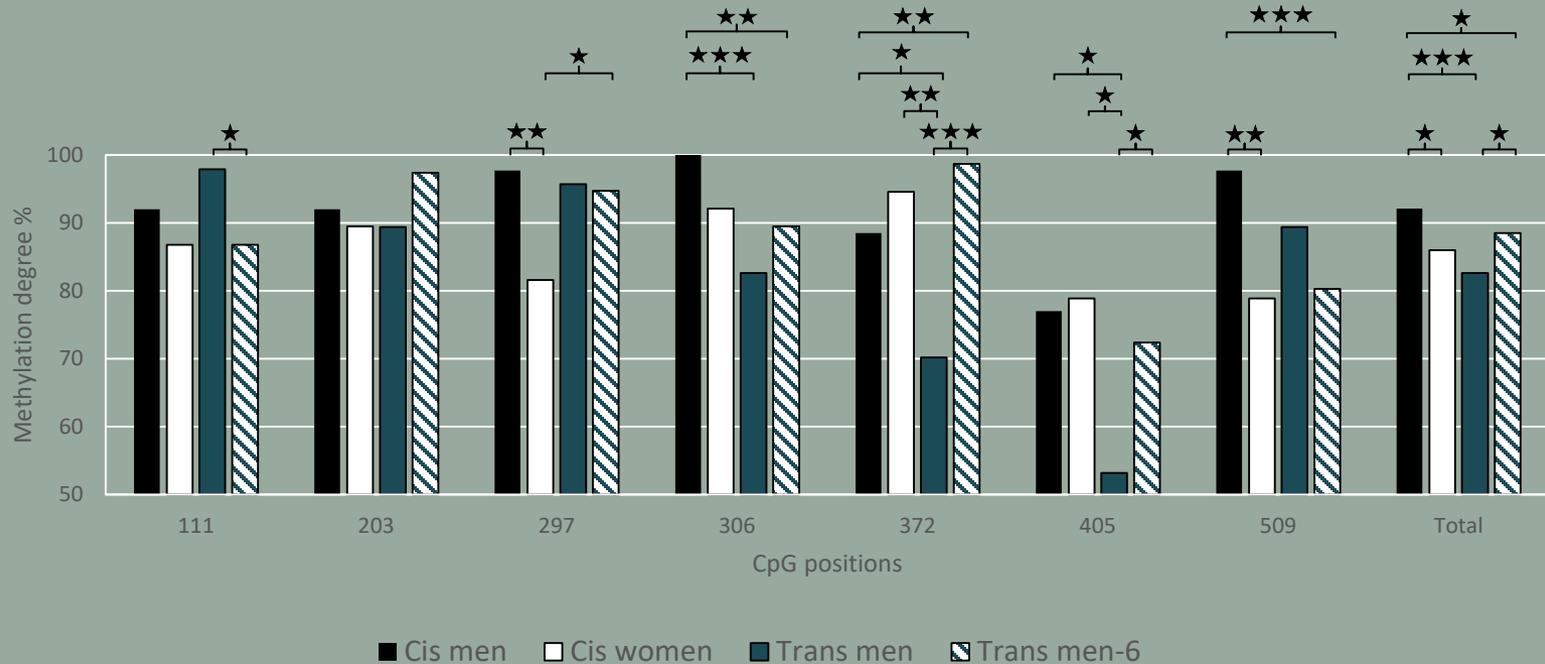
La población trans masculina presentó un incremento significativo de la metilación a nivel global ($P \leq 0.019$) y en las posiciones 372 ($P \leq 0.0001$) y 405 ($P \leq 0.034$). La posición 111 mostró una disminución significativa de la metilación ($P \leq 0.050$).



5. Población trans de mujeres, antes y después del tratamiento hormonal, respecto a la población cis



6. Población trans de varones, antes y después del tratamiento hormonal, respecto a la población cis



Conclusiones

- i. Encontramos un patrón de metilación de la región promotora del gen ESR1 diferente en hombres y en mujeres, tanto en la población cis como en la población trans.
- ii. Antes del tratamiento hormonal las poblaciones trans mostraron un perfil de metilación característico, no coincidente con ninguna de las poblaciones cis.
- iii. En la población trans de varones, el tratamiento hormonal modificó el perfil de metilación, presentando ahora un perfil de metilación más similar a su género, pero que continúa siendo no coincidente con la población cis.
- iv. En la población trans de mujeres, el tratamiento hormonal no produjo diferencias significativas
- v. Nuestros datos implican al ER α en la génesis de la transexualidad, así como en el proceso de masculinización.

Gracias

