

Onderzoek

Hersenonderzoek bij kinderen en adolescenten met genderdysforie – eerste bevindingen

Sarah M. Burke

*Kennis- en Zorgcentrum voor Genderdysforie, VU Medisch Centrum, Amsterdam
Werkgroep Neuro-endocrinologie, Nederlands Herseninstituut, Amsterdam*

Samenvatting

Geslachtsverschillen in hersenfuncties en gedrag ontstaan onder invloed van geslachtshormonen tijdens kritieke ontwikkelingsfasen. Bij mensen met de diagnose Genderdysforie (GD) wordt gedacht dat vooral de vroege, prenatale fase van seksuele differentiatie van de hersenen anders verloopt dan bij mensen zonder GD, wat de discrepantie tussen hun ervaren gender en geboortegeslacht zou kunnen verklaren. GD komt al bij jonge kinderen en adolescenten voor en in de hier beschreven studies stelden we de vraag of kinderen en jongeren met GD een afwijkende seksuele differentiatie van de hersenen hebben ondergaan en of zij, samenhangend hiermee, meer de neurobiologische kenmerken van hun ervaren gender hebben, dan van hun geboortegeslacht/fysieke geslacht. Adolescenten met GD kunnen geslachtshormonen als onderdeel van hun behandeling voorgeschreven krijgen, wat unieke mogelijkheden biedt voor wetenschappelijk onderzoek naar de invloeden van hormonen op de ontwikkeling van lichaam en brein. Met zowel een prospectieve als een cross-sectionele onderzoeksopzet en met verschillende onderzoeksmethodes, zoals het meten van oto-akoestische emissies en functionele magneet resonantie imaging, werden in totaal 201 kinderen en jongeren met GD op verschillende momenten in hun behandeltraject vergeleken met 204 jongens en meisjes zonder GD. Wij vonden duidelijke aanwijzingen dat geslachtshormonen ook na de vroege prenatale ontwikkeling een significante invloed hebben op geslachtsspecifieke eigenschappen van hersenen en gedrag en dat bepaalde gedrags- en herseneigenschappen bij kinderen en jongeren met GD eerder hun ervaren gender, dan hun geboortegeslacht weerspiegelen.

Genderdysforie is het sterke gevoel van onbehagen over het eigen geboorte/biologische geslacht, dat al bij jonge kinderen op kan treden. De DSM-5, een classificatiesysteem voor psychiatrische aandoeningen (American Psychiatric Association, 2013), beschrijft als kerncriterium voor de diagnose Genderdysforie (GD) dat er sprake is van een discrepantie tussen ervaren en bij de geboorte toegewezen gender. Indicatoren hiervan zijn het zich sterk met het andere geslacht identificeren en het uiten van de

sterke wens of de overtuiging van het andere geslacht te (willen) zijn. Mensen met GD kunnen ook een sterke afkeer hebben van het eigen lichaam, specifiek van de geslachtskenmerken. Ze vertonen veelal cross-gender gedrag en voorkeuren, dat wil zeggen gedrag en voorkeuren die over het algemeen eerder passen bij het andere geslacht. Het gevoel in het verkeerde lichaam te zitten en het psychisch lijden dat hiermee vaak samen gaat (zich onder meer uitend in depressie- en angstklachten en gedragsproblematiek), wordt meestal sterker tijdens de puberteit wanneer de secundaire geslachtskenmerken van het ongewenste geslacht zich ontwikkelen. Genderdysforie gaat meestal niet samen met specifieke lichamelijke afwijkingen en tot op heden kan geen eenduidige oorzaak voor het ontwikkelen van deze aandoening worden gevonden.

S.M. Burke, PhD, psycholoog/onderzoeker
Correspondentie: Postbus 7057, 1007 MB Amsterdam. E: s.burke@vumc.nl

Ontvangen: 13 december 2014; Geaccepteerd: 31 januari 2015

Dit artikel is een bewerking van een artikel dat eerder verscheen in nummer 6 van *Neuropraxis* 2014, jaargang 18, getiteld 'Hersenonderzoek bij kinderen en adolescenten met genderdysforie – eerste bevindingen'.

De hier beschreven studies staan in het proefschrift *Coming of Age – Gender Identity, Sex Hormones & the Developing Brain*, verdedigd door Sarah M. Burke op 16 juni 2014 aan de Vrije Universiteit van Amsterdam.

Promotoren: Prof. Dr. Peggy T. Cohen-Kettenis en Prof. Dr. Dick J. Veltman; co-promotor: Dr. Julie Bakker.

Seksuele differentiatie van lichaam en brein

Of een baby als jongen of als meisje geboren wordt, hangt af van zijn/haar genetische opmaak. Een embryo met XY geslachtschromosomen zal zich als jongetje ontwikkelen, twee X chromosomen (XX) coderen voor

een vrouwelijke ontwikkeling. De aanwezigheid van het Y chromosoom initieert dus een mannelijke ontwikkeling. Tijdens de zogenaamde seksuele differentiatie zorgt een specifiek gen op het Y chromosoom, het SRY gen, er voor dat zich onder invloed van testosteron de mannelijke primaire en secundaire geslachtsorganen ontwikkelen (Koopman, Münsterberg, Capel, Vivian, & Lovell-Badge, 1990; Koopman, 1999). De vrouwelijke ontwikkeling verloopt als "default", juist bij afwezigheid van testosteron. Niet alleen het lichaam, ook de hersenen ontwikkelen zich tijdens de prenatale periode onder invloed van geslachtshormonen in de mannelijke of vrouwelijke richting (Bakker et al., 2006). Deze vroege periodes van seksuele differentiatie van zowel het lichaam als het brein worden ook wel organiserende fase genoemd, waarin geslachtshormonen organiserende, dus blijvende, onomkeerbare effecten op het zich ontwikkelende organisme uitoefenen (Phoenix, Goy, Gerall, & Young, 1959; Wallen, 2009). Latere gender-typische (gedrags-) kenmerken worden zo al vroeg als een soort blauwdruk vastgelegd.

Eén hypothese voor het ontstaan van GD is dat al tijdens deze vroege ontwikkeling het geslacht van de hersenen in de richting van het andere geslacht geprogrammeerd wordt, terwijl het lichamelijke geslacht zich in de lijn met de geslachtschromosomen ontwikkelt. Een mogelijke oorzaak zou een afwijkende blootstelling aan geslachtshormonen tijdens de kritieke fase van de seksuele differentiatie van de hersenen kunnen zijn (Swaab, 2007). Het gevolg is dat bijvoorbeeld een meisje (XX chromosomen) met een meisjeslichaam zich eigenlijk een jongen voelt, jongensachtige persoonlijkheids- en gedragseigenschappen heeft, een afkeer van haar borsten en (latere) menarche heeft en juist de mannelijke geslachtsorganen mist. De vroege seksuele differentiatie wordt dus verondersteld niet alleen het fysieke geslacht te bepalen, maar ook mede bepalend te zijn voor de ontwikkeling van genderidentiteit (Bakker, 2009; Kreukels, 2011).

Hormonale interventies bij GD

Het Kennis- en Zorgcentrum voor Genderdysforie van het VU medisch centrum Amsterdam biedt jongeren met GD de mogelijkheid de fysieke ontwikkelingen tijdens de puberteit stil te leggen. Zogenaamde puberteitsremmers, *gonadotropin-releasing hormone analogs*, stoppen de geslachtshormoonproductie en daarmee de verdere ontwikkeling van de secundaire geslachtskenmerken. Jongeren vanaf een leeftijd van 12 jaar die al in de beginfase van de fysieke puberteit zijn (Marshall & Tanner, 1969, 1970) kunnen in aanmerking komen voor een behandeling met puberteitsremmers. Voor- en nadelen van deze methode zijn beschreven in de Vries & Cohen-Kettenis (2012) en in Kreukels & Cohen-Kettenis (2011). Voor de genderdysforie jongere betekent het (reversibel) onderdrukken van de puberteit een grote opluchting en het wegnemen van veel zorgen en stress. Het biedt de jongere de mogelijkheid

in alle rust over mogelijke toekomstige geslachtsaanpassende stappen na te denken. Vanaf 16-jarige leeftijd komen adolescenten met GD in aanmerking voor de *cross-sex* hormoonbehandeling. Terwijl de eigen geslachtshormonen verder onderdrukt blijven door puberteitsremmers, krijgen transmeisjes (geboren/biologische jongens) oestradiol (wat in o.a. borstgroei resulteert) en transjongens (geboren/biologische meisjes) testosteron voorgeschreven (wat o.a. zorgt voor lichaamsbehaarung en een lagere stem). Voor de jongere is dit de eerste, hormonale stap van geslachtsaanpassing. Vanaf 18 jaar zijn geslachtsaanpassende operaties mogelijk (de Vries & Cohen-Kettenis, 2012; Kreukels & Cohen-Kettenis, 2011).

Puberteit – een tweede fase van seksuele differentiatie

De puberteit markeert een tweede fase in het leven waarin geslachtshormonen een belangrijke invloed op het zich ontwikkelende lichaam en ook op de psyche van een jongere uitoefenen. Geslachtshormonen, die vanaf de puberteit geproduceerd worden, induceren de ontwikkeling van de secundaire geslachtskenmerken en versterken ook geslachtsverschillen in hersenstructuur, -functies en gedrag. Deze tijdelijke en deels omkeerbare effecten worden ook wel activerende effecten van geslachtshormonen genoemd. Deze tweede fase van seksuele differentiatie tijdens de adolescentie wordt door sommigen ook als een tweede organiserende fase van hersenontwikkeling gezien (Romeo, 2003; Sisk & Zehr, 2005). Geslachtshormonen oefenen dus een cruciale invloed uit op de hersenontwikkeling tijdens de adolescentie en jongens en meisjes doorlopen dan ook verschillende, puberteit-gerelateerde hersenontwikkelingstrajecten tijdens deze periode (Goddings et al., 2013; Neufang et al., 2009; Peper, Hulshoff Pol, Crone, & van Honk, 2011; Peper et al., 2008).

De veronderstelde afwijkende prenatale seksuele differentiatie van de hersenen die tot GD zou leiden is om voor de hand liggende ethische redenen experimenteel niet te onderzoeken. Ook zijn experimenten waarbij de effecten van hormonen op het menselijk lichaam, gedrag en de hersenen bestudeerd worden maar in beperkte mate toegestaan en kan daarnaast vaak geen goed onderscheid worden gemaakt tussen hormonale effecten, dan wel leeftijds- en ontwikkelingseffecten. Echter, doordat jongeren (en ook volwassenen) met GD geslachtshormonen als onderdeel van hun behandeling voorgeschreven krijgen, biedt dit unieke mogelijkheden voor wetenschappelijk onderzoek naar de invloeden van hormonen op de ontwikkeling van lichaam en brein.

Vraagstelling en onderzoekopzet

Voor beide hier beschreven studies werd toestemming verkregen van de Medisch Ethische Toetsingscommissie van het VU medisch centrum Amsterdam (aanvraag nummer NL31283.029.10).

Magneet resonantie imaging (MRI)

In 2009 werd een MRI onderzoeksproject gestart met als doel de geslachtsspecifieke neurobiologische kenmerken van een grote groep kinderen en jongeren met GD in kaart te brengen. We wilden de hypothese toetsen dat genderdysforie kinderen en jongeren een afwijkende seksuele differentiatie van hun hersenen hebben ondergaan. De overkoepelende onderzoeksvraag was of genderdysforie kinderen en jongeren wat betreft hun hersenfunctie en -structuur de geslachtskenmerken zouden hebben van hun ervaren gender in plaats van die van hun fysieke geslacht.

Een tweede doel was om bij kinderen en jongeren zonder GD, die ook als controlegroepen dienden, vast te stellen welke geslachtsverschillen in hersenfuncties en -structuur al aanwezig zouden zijn bij prepuberale kinderen en welke geslachtsverschillen in de hersenen pas zouden ontstaan onder invloed van geslachtshormonen tijdens de puberteit.

Twee leeftijdsgroepen werden voor deelname gerekruteerd: een groep prepuberale kinderen (tussen de 7 en 11 jaar oud, voordat activerende effecten van geslachtshormonen tijdens de puberteit een rol kunnen spelen) en een groep adolescenten tussen de 15 en 16 jaar oud. Op die manier wilden wij meer te weten komen over het ontstaan van neuronale geslachtsverschillen tijdens de twee cruciale fases van seksuele differentiatie: de pre-/perinatale periode (organiserende fase) en de puberteit (activerende, dan wel 2^{de} organiserende fase). De controle groepen werden via basis- en middelbare scholen in de omgeving Amsterdam geworven en daarnaast werden deelnemers met GD gevraagd hun vrienden en klasgenoten voor deelname uit te nodigen. We vroegen de adolescenten met GD aan het onderzoeksproject deel te nemen kort voor de start met de *cross-sex* hormoonbehandelingen, op het moment dat zij al enige tijd blootgesteld waren geweest aan puberteitsremmers. In een prospectieve onderzoeksopzet werd vervolgens aan alle adolescenten (zowel controles als deelnemers met GD) gevraagd om na ongeveer 1 jaar terug te komen voor een tweede sessie. Dit bood ons de mogelijkheid te onderzoeken welke effecten de hormoonbehandelingen op het functioneren en de ontwikkeling van de hersenen zouden hebben.

Oto-akoestische emissies

In een ander onderzoeksproject werden zogenaamde oto-akoestische emissies (OAEs) gemeten. Deze echo's van het binnenoor, die opgewekt kunnen worden door klik-stimuli aan te bieden, verschillen doorgaans in amplitude tussen mannen en vrouwen. Mannen hebben gemiddeld zwakkere emissies dan vrouwen (McFadden, 1998; Strickland, Burns, & Tubis, 1985). Omdat dit geslachtsverschil in emissiesterkte ook bij pasgeborenen al wordt gevonden (Collet, Gartner, Veuillet, Moulin, & Morgon, 1993), is aan te nemen dat dit verschil al tijdens de vroege seksuele differentiatie ontstaat.

Dieronderzoek en tweelingstudies (McFadden, Pasanen, Raper, Lange, & Wallen, 2006; McFadden, 1993) wijzen er inderdaad op dat het doorgaans aanwezige geslachtsverschil in OAE-amplitude al tijdens de prenatale ontwikkeling onder invloed van testosteron ontstaat. Mannelijke geslachtshormonen hebben dus inhiberende, organiserende effecten op OAEs en lage emissiesterktes horen bij een mannelijke vroege seksuele differentiatie. Het meten van OAEs biedt hierdoor retrospectief de mogelijkheid iets over de relatieve prenatale testosteronblootstelling tijdens de seksuele differentiatie te zeggen. Wij hebben OAEs gemeten om indirect de vraag te beantwoorden of kinderen en jongeren met GD mogelijk prenatiaal aan afwijkende testosteronniveaus blootgesteld zijn geweest.

Methode

Elke deelnemer onderging een ongeveer 1 uur durende sessie, waarbij verschillende MRI-scans werden uitgevoerd. We beschrijven hier twee functionele MRI (fMRI) scans waarbij de deelnemer gevraagd werd een aantal opdrachten of computertaken in de scanner uit te voeren.

fMRI – de mentale rotatie taak

Bij de zogenaamde “mentale rotatie taak” (MRT) (Shepard & Metzler, 1971), een klassieke neuropsychologische taak, werd aan de deelnemer gevraagd aan te geven of twee 3-dimensioneel getekende blokfiguren spiegelbeelden van elkaar zijn of precies dezelfde figuur weergeven. Doorgaans worden bij taken die visueel-ruimtelijk cognitief functioneren meten, en specifiek bij de MRT, geslachtsverschillen gevonden (Linn & Petersen, 1985). Mannen presteren gemiddeld beter dan vrouwen. Tijdens het uitvoeren van de MRT zijn daarnaast geslachtsverschillen in taak-gerelateerde hersenactivatie gevonden (Hugdahl, Thomsen, & Ersland, 2006). De betere taakprestatie en specifieke cognitieve strategie die mannen toepassen tijdens het uitvoeren van de MRT wordt verondersteld zich te ontwikkelen onder invloed van het geslachtshormoon testosteron. In onze studie stelden wij de vraag of 21 adolescente transjongens (geboren meisjes die jongen willen worden) MRT-gerelateerde hersenactivatie hebben die lijkt op die van 20 controlejongens (de rol van ervaren gender) of op die van 21 controlemeisjes (de rol van geboren sekse). Daarnaast onderzochten wij welke invloed de testosteronbehandeling bij de transjongens op hun cognitief functioneren zou hebben. De 21 transjongens hadden op het moment van de eerste sessie gemiddeld gedurende 24 maanden puberteitsremmers gekregen (maandelijks 3.75mg Triptorelin, Decapeptyl-CR® Ferring, Hoofddorp), waarbij de productie van geslachtshormonen (estradiol, testosteron) volledig onderdrukt werd. De tweede sessie vond gemiddeld 10 maanden na de start van hun *cross-sex* hormoonbehandeling plaats. Van de controlegroepen deden 20 meisjes en 16 jongens aan de tweede sessie

Tabel 1. Aantallen en leeftijd deelnemers mentale rotatie taak

	Sessie	Meisjes met GD	Ctrl Meisjes	Ctrl Jongens	F (df)	p-waarde
N	1	21	21	20		
	2	21	20	16		
Leeftijd (gemiddelde, SD)	1	16.1 (0.8)	16.3 (1.0)	15.9 (0.6)	1.5 (2, 60)	0.244
	2	17.0 (0.8)	17.6 (0.8)	17.2 (0.7)	2.4 (2, 54)	0.101
Seksuele oriëntatie		Gynefiel/ homoseksueel	Androfiel/ heteroseksueel	Gynefiel/ heteroseksueel		

GD = Genderdysforie; Ctrl = controle

mee, die tijdens beide sessies blootgesteld werden aan hun endogene geslachtshormonen, zie tabel 1 (Burke et al., in voorbereiding).

Olfactorische fMRI – de geur androstadiënon

Bij een tweede functionele MRI scan kregen deelnemers de geurstof androstadiënon te ruiken. Eerdere experimenten met deze bijzondere geurstof, die voorkomt in zweet en verondersteld wordt een feromoonachtige werking op vrouwen te hebben, lokten bij vrouwen activatie in een specifiek hersengebied uit (de hypothalamus), terwijl bij mannen deze activatie niet werd gevonden (Burke, Veltman, Gerber, Hummel, & Bakker, 2012; Savic, Berglund, Gulyas, & Roland, 2001). Deze olfactorische fMRI-methode biedt hierdoor de mogelijkheid een functioneel geslachtsverschil in de hersenen eenvoudig en objectief te meten.

De geurstimulaties met androstadiënon werden uitgevoerd met behulp van een olfactometer. Deze opstelling van gaswasflessen leidt perslucht door computer-gecontroleerde ventielen. De luchtpufjes met geur bereikten via lange buisjes de neus van de proefpersoon in de MRI-scanner. De proefpersoon kreeg tijdens deze scan geen specifieke opdracht, behalve gedurende 4 minuten door de mond adem te halen.

Wij stelden de vraag of de variabelen genderidentiteit en puberteit het geslachtsverschil in hypothalamusactivatie in reactie op androstadiënon zouden moduleren. Hiervoor testten we eerst of het geslachtsverschil in hypothalamusactivatie al aanwezig was bij twee leeftijdsgroepen: prepuberale kinderen (20 jongens, 19 meisjes) en adolescenten (20 jongens, 21 meisjes) zonder GD. Daarna onderzochten we of de genderdysfore kinderen (19 transmeisjes, 17 transjongens) en adolescenten (17 transmeisjes, 21 transjongens) de hypothalamusreactie van hun ervaren gender of die van hun fysieke geslacht zouden hebben (Burke, Cohen-Kettenis, Veltman, Klink, & Bakker, 2014).

De kinderen (met en zonder GD) waren op moment van hun deelname nog niet in de puberteit (Tanner stadium 1), dit werd gecontroleerd door een kort lichamenlijk onderzoek bij een kinderendocrinoloog. De adolescenten met GD waren allemaal al enige tijd aan de puberteitsremmers en nog niet begonnen met de *cross-sex* hormoonbehandeling.

Oto-akoestische emissies

Om de onderzoeksvraag te beantwoorden of kinderen en jongeren met GD tijdens de vroege organiserende fase aan afwijkende testosteronniveaus blootgesteld zouden zijn geweest, werden bij 47 jonge (tussen de 5 en 16 jaar oud), nog onbehandelde (en deels prepuberale) kinderen met GD OAEs gemeten. Als controlegroepen namen 65 jongens en 62 meisjes zonder GD deel aan het onderzoek (Burke, Menks, Cohen-Kettenis, Klink, & Bakker, 2014).

In een cross-sectionele onderzoeksopzet testten wij vervolgens de hypothese of de hormoonbehandelingen bij adolescenten met GD nog invloed op OAEs uitoefenen en dus of postnatale geslachtshormonen ook activerende effecten op emissiesterktes zouden hebben. Een groep nog onbehandelde adolescenten ($n = 25$) met GD werd vergeleken met 40 genderdysfore adolescenten die op moment van de meting puberteitsremmers kregen, en met 40 genderdysfore jongeren die al met de *cross-sex* hormoonbehandeling begonnen waren (Burke, Menks, Cohen-Kettenis, Klink, & Bakker, in voorbereiding).

Resultaten en Discussie

Mentale rotatie taak

Wij vonden dat de transjongens (geboren meisjes die zich jongen voelen) tijdens de eerste scan, dus voor de start van de testosteronbehandeling, al een meer mannelijk patroon van hersenactivatie vertoonden. Net als de controlejongens ($p = 0.012$), hadden zij significant minder ($p = 0.034$) activatie in frontale hersengebieden (zoals het inferior frontal operculum en de superior frontal gyrus), in vergelijking met de controlemeisjes (Burke, Kreukels, et al., in voorbereiding). Na 10 maanden testosteronbehandeling lieten de transjongens, net zoals de controlejongens, een verhoogde MRT-gerelateerde hersenactivatie zien, vergeleken met de eerdere sessie. Beide groepen hadden tijdens de tweede testsessie significant sterkere activaties in meerdere parietale en frontale hersengebieden dan tijdens de eerste sessie (voor de uitgebreide lijst p-waardes zie Burke, Kreukels, et al., in voorbereiding). Bij de controlemeisjes kon geen verandering tussen de twee metingen gevonden worden. Op basis van deze bevindingen concluderen wij daarom dat geboren meisjes met GD *a priori* een meer mannelijk visueel ruimtelijk cognitief functioneren hebben. Daarnaast vonden wij dat tes-

tosteron, zowel in de vorm van een hormoonsuppletie (transjongens), als tijdens de normale puberteit (controlejongens), aanvullende activerende effecten heeft op mentaal roteren.

Een belangrijke potentiële bias in het onderzoek naar geslachts-typische (hersenen)eigenschappen met transgenders is hun seksuele oriëntatie. Seksuele oriëntatie blijkt namelijk ook een effect op mentaal roteren te hebben. Homoseksuele mannen scoren slechter dan heteroseksuele mannen op de MRT, terwijl lesbische vrouwen juist beter presteren dan heteroseksuele vrouwen (Maylor et al., 2007; Peters, Manning, & Reimers, 2007). Omdat de meerderheid van de transmannen op vrouwen valt (Cerwenka et al., 2014), en dus homoseksueel is (met als referentie het geboortegeslacht), is niet eenduidig te zeggen of de transjongens van ons onderzoek (ook allemaal homoseksueel, zie Tabel 1) in MRT-vaardigheden en bijbehorende hersenactivatie op controlejongens lijken omdat zij hun genderidentiteit delen of omdat zij eenzelfde seksuele voorkeur voor het vrouwelijke geslacht hebben.

Een alternatieve verklaring voor het vergelijkbare visueel-ruimtelijk vermogen van transjongens en controlejongens zou hun gedeelde interesse voor bepaalde hobby's en sportieve activiteiten kunnen zijn. De controlemeisjes zouden minder ervaring met bijv. videogames kunnen hebben, waardoor de gelijkenis tussen controlejongens en transjongens mogelijk eerder trainings- en ervaringseffecten zijn, dan aanwijzingen voor een mannelijke hersendifferentiatie bij de transjongens.

Ondanks deze moeilijk te controleren beperkingen leveren onze bevindingen nieuwe aanwijzingen voor zowel organiserende als ook activerende effecten van testosteron op visueel ruimtelijk cognitief functioneren.

Androstadiënon

In ons olfactorische fMRI-experiment, waarbij deelnemers de geur androstadiënon in de MRI scanner te

ruiken kregen, stelden wij de vraag of de variabelen genderidentiteit en puberteit het geslachtsverschil in hypothalamusactivatie in reactie op androstadiënon zouden moduleren.

Bij 39 prepuberale kinderen en 41 adolescenten zonder GD werd eerst bepaald of het geslachtsverschil in hersenactivatie in beide leeftijdsgroepen gevonden kon worden. Vervolgens werden 36 prepuberale kinderen en 38 adolescenten met GD vergeleken met de controlegroepen. Wij vonden dat de sterkere hypothalamusactivatie (vrouwelijk) al in de prepuberale controlemeisjes meetbaar was. Op basis van deze bevinding concludeerden wij dat dit neuronale geslachtsverschil naar alle waarschijnlijkheid tijdens de vroege seksuele differentiatie ontstaat en niet pas onder invloed van geslachtshormonen tijdens de puberteit, als onderdeel van de seksuele rijping. In de groep adolescenten was de hersenrespons zowel bij de transmeisjes als bij de transjongens conform hun ervaren gender, dus atypisch voor hun fysieke geslacht. Met andere woorden, meisjes met GD vertoonden een jongensachtige hersenreactie, terwijl de jongens met GD juist een meisjesachtige hypothalamusactivatie lieten zien na het ruiken van androstadiënon.

In tegenstelling tot deze vrij duidelijke resultaten in de adolescentie groepen, vonden wij geen aanwijzingen voor een sekse-atypische hersenrespons bij de prepuberale transmeisjes (geboren jongens die zich meisje voelen). Hun neuronale reactie was vergelijkbaar met die van controlejongens (fysiek geslacht). De prepuberale transjongens lieten geen significant meisjesachtige, noch een jongensachtige reactie op de geurstof zien, zie Tabel 2 (Burke, Cohen-Kettenis, et al., 2014).

Een mogelijke verklaring voor de verschillen tussen de twee leeftijdsgroepen met GD ligt in het feit dat de oudere jongens en meisjes met GD al waren begonnen met puberteitsremmende medicatie en vanaf 16-jarige leeftijd allen zouden starten met de *cross-sex* hormoonbehandeling. Hun GD was al duidelijk persistent

Tabel 2. *Hypothalamus activaties voor het contrast 'androstadiënon versus lucht'*

	Groepsvergelijking	FWE p-waarde
Prepuberale kinderen	Ctrl meisjes > Ctrl jongens	0.033
	Ctrl meisjes > Meisjes met GD	Niet sign.
	Meisjes met GD > Ctrl jongens	Niet sign.
	Jongens met GD > Ctrl jongens	Niet sign.
	Ctrl meisjes > Jongens met GD	0.013
Adolescenten	Ctrl meisjes > Ctrl jongens	0.019
	Ctrl meisjes > Meisjes met GD	0.002
	Meisjes met GD > Ctrl jongens	Niet sign.
	Jongens met GD > Ctrl jongens	0.046
	Ctrl meisjes > Jongens met GD	Niet sign.

FWE = family wise error corrected; Ctrl = controle; GD = Genderdysforie

gebleken (een voorwaarde om met de hormoonbehandelingen te mogen starten). De prepuberale, nog onbehandelde groep zou daarentegen heterogener kunnen zijn wat betreft de persistentie van hun genderdysfore gevoelens. Eerdere studies hebben aangetoond dat bij een groot deel van de kinderen de GD tijdens de puberteit overgaat en dat de eerste jaren van de puberteit cruciaal zijn: blijft een jongere die als kind genderdysfoor was dat ook in de adolescentie? (Steensma, Biemond, de Boer, & Cohen-Kettenis, 2011; Steensma, McGuire, Kreukels, Beekman, & Cohen-Kettenis, 2013). Het is goed mogelijk dat een deel van onze genderdysfore prepuberale deelnemers later niet meer genderdysfoor blijkt te zijn, wat onze huidige resultaten zou kunnen hebben vertekenen. Om te onderzoeken of dit het geval is, zullen we de ontwikkeling van onze jonge deelnemers met GD verder volgen.

Oto-akoestische emissies

In ons OAE-onderzoek hebben we het verwachte geslachtsverschil in emissiesterkte in de controlegroepen (65 jongens, 62 meisjes) gerepliceerd, meisjes bleken gemiddeld significant sterkere emissies te hebben dan jongens, zie Tabel 3. Dit geslachtsverschil was echter niet aanwezig in de (nog onbehandelde) 47 jongens en meisjes met GD. Transmeisjes hadden gemiddeld hogere, dus meer meisjesachtige amplitudes. Zij verschilden dan ook niet significant van de controlemeisjes, maar ook niet significant van de controlejongens; hun waardes lagen tussen die van de jongens en meisjes in. De transjongens daarentegen verschilden in emissiesterkte niet van de controlemeisjes, maar wel significant van de controlejongens. Op basis van deze resultaten concludeerden wij voorzichtig dat jongens met GD prenataal aan relatief minder mannelijke geslachtshormonen blootgesteld geweest zouden kunnen zijn dan controlejongens. Voor de meisjes met GD hebben we geen aanwijzingen welke factoren de mogelijk afwijkende seksuele differentiatie en cross-genderidentiteit veroorzaakt hebben (Burke, Menks, et al., 2014).

Met een cross-sectionele onderzoeksopzet maten wij vervolgens OAEs van 3 groepen genderdysfore jongeren, die op verschillende momenten in hun behandeltraject waren (Tabel 4 en 5). Door de emissiesterktes bij nog onbehandelde groepen te vergelijken met groepen die puberteitsremmers of cross-sex hormonen kregen, konden wij eventuele postnatale, activerende

effecten van geslachtshormonen op OAEs onderzoeken.

De inhiberende werking van testosteron op OAEs bleek niet alleen prenataal een rol te spelen; wij vonden dat transjongens die testosteronsuppletie ontvingen significant lagere amplitudes hadden dan onbehandelde transjongens ($p = .027$, $d = 1.09$). Bij zowel de jongens als de meisjes met GD leken de puberteitsremmers ook een inhiberend effect op de emissiesterktes te hebben. Deze effecten waren echter niet statistisch significant. Tegen de intuïtieve aanname in dat de estradiolbehandeling bij de transmeisjes juist tot hogere amplitudes in OAEs zou leiden, bleken ook hun emissiesterktes juist lager in vergelijking met die van de nog onbehandelde transmeisjes ($d = .68$, niet statistisch significant) (Burke, Menks, et al., in voorbereiding).

Op basis van deze bevindingen concludeerden wij dat zowel estradiol als testosteron postnataal een inhiberend effect op OAEs hebben. Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn, dat postnatale variaties in OAEs estradiol-gereguleerd zijn. Testosteron zou dan eerst gearomatiseerd worden naar estradiol, voordat deze hun dempende werking op de emissiesterktes kunnen uitoefenen.

Conclusie

Het doel van de hier beschreven studies was te onderzoeken of kinderen en jongeren met GD een afwijkende seksuele differentiatie van de hersenen hebben ondergaan en of zij, samenhangend hiermee, meer de neurobiologische kenmerken van hun ervaren gender hebben dan van hun geboortegeslacht/fysieke geslacht. Wij vonden inderdaad eerste aanwijzingen voor sekse-atypische neurobiologische kenmerken en daarmee indicaties voor een atypische vroege hersendifferentiatie bij kinderen en jongeren met GD. De bevindingen golden alleen niet altijd in gelijke mate voor de transjongens als voor de transmeisjes. Dit maakt duidelijk dat in de etiologie van GD ontwikkelingsprocessen voor jongens en meisjes verschillend kunnen verlopen.

Naast het (hersenen)onderzoek naar de mogelijke oorzaken van genderdysforie onderzochten wij in onze studies activerende, postnatale effecten van geslachtshormonen op hersenfuncties en gedrag, door de effecten van de hormoonbehandelingen bij jongeren met GD te bestuderen. Met zowel een prospectieve (MRT-studie) als een cross-sectionele (OAE-studie) onderzoeksopzet

Tabel 3. Aantallen en gemiddelde CEOAEs voor elke groep deelnemers

	Totale groep		Linker oor CEOAE		Rechter oor CEOAE		Linker en rechter oor CEOAE		
	leeftijd <i>M (SD)</i>	<i>n</i>	<i>M (SD)</i>	<i>n</i>	<i>M (SD)</i>	<i>n</i>	<i>M (SD)</i>	<i>M (SD)</i>	<i>n</i>
Ctrl jongens	12.0 (3.0)	65	12.8 (3.8)	48	12.2 (3.8)	61	13.4 (3.3)	13.4 (3.5)	44
Ctrl meisjes	11.3 (2.9)	62	13.9 (3.7)	53	14.8 (4.2)	61	14.0 (3.7)	15.1 (3.9)	52
Meisjes met GD	12.1 (2.5)	23	13.1 (4.3)	21	15.2 (4.5)	20	13.2 (4.4)	14.9 (4.6)	18
Jongens met GD	11.0 (1.8)	24	13.1 (4.3)	19	14.0 (3.7)	24	13.1 (4.3)	14.5 (3.8)	19

CEOAEs = click-evoked otoacoustic emissions; Ctrl = controle; GD = Genderdysforie

Tabel 4. Aantallen en gemiddelde CEOAEs voor de drie hormoonbehandelgroepen

			Totale groep		Linker oor CEOAE		Rechter oor CEOAE		Linker en rechter oor CEOAE		
			leeftijd								
			<i>M (SD)</i>	<i>n</i>	<i>M (SD)</i>	<i>n</i>	<i>M (SD)</i>	<i>n</i>	<i>M (SD)</i>	<i>M (SD)</i>	<i>n</i>
Meisjes met GD		Geen behandeling*	13.7 (2.4)	15	13.8 (4.0)	14	15.6 (3.9)	13	13.8 (3.8)	15.4 (4.0)	12
		GnRHa	15.0 (1.6)	26	12.2 (5.5)	25	12.4 (5.6)	26	12.2 (5.5)	12.8 (5.3)	25
		CSH	17.8 (1.1)	21	11.5 (4.0)	20	10.8 (4.9)	21	11.5 (4.0)	10.7 (5.0)	20
Jongens met GD		Geen behandeling*	12.6 (0.9)	10	11.9 (4.4)	6	13.1 (5.0)	10	11.9 (4.4)	14.5 (4.6)	6
		GnRHa	15.2 (1.0)	14	11.8 (4.0)	14	12.4 (4.1)	13	12.2 (3.9)	12.4 (4.0)	13
		CSH	18.1 (0.9)	19	9.3 (3.9)	17	11.4 (2.8)	17	9.7 (3.8)	11.6 (2.9)	15

CEOAEs = click-evoked otoacoustic emissions; GD = Genderdysforie; CSH = cross-sex hormoon behandeling, testosterone bij meisjes met GD, estradiol bij jongens met GD; GnRHa = gonadotropin releasing hormone analogue, puberteitsremmende behandeling; *deze deelnemers zijn deels dezelfde zoals vermeld in tabel 3, maar deze groep is voor een betere vergelijking met de andere twee behandelgroepen gematcht op puberteitsstatus.

Tabel 5. Cohen's *d* effect groottes voor de verschillen in gemiddelde CEOAEs tussen de drie hormoon-behandelgroepen

		Groepsvergelijking	Linker oor CEOAE	Rechter oor CEOAE
Meisjes met GD		Geen behandeling vs. CSH	0.36	1.09
		Geen behandeling vs. GnRHa	0.33	0.64
		GnRHa vs. CSH	0.15	0.31
Jongens met GD		Geen behandeling vs. CSH	0.68	0.47
		Geen behandeling vs. GnRHa	0.03	0.16
		GnRHa vs. CSH	0.66	0.30

CEOAEs = click-evoked otoacoustic emissions; GD = Genderdysforie; CSH = cross-sex hormoon behandeling, testosterone bij meisjes met GD, estradiol bij jongens met GD; GnRHa = gonadotropin releasing hormone analogue, puberteitsremmende behandeling

vonden wij duidelijke aanwijzingen dat geslachtshormonen ook na de vroege prenatale ontwikkeling een significante invloed hebben op geslachtsspecifieke eigenschappen van hersenen en gedrag.

Een aantal vragen blijft voorlopig nog onbeantwoord. Wij hebben bijvoorbeeld nog niet kunnen uitsluiten of de hormonale interventies ook andere gevolgen voor de (hersen)ontwikkeling van deze kinderen zouden kunnen hebben. Ook zijn op dit moment hersenscans nog niet klinisch in te zetten ter ondersteuning van de diagnostiek of als voorspeller van het verloop van de GD in de adolescentie. Nog veel vervolgonderzoek zal nodig zijn om deze prangende, en voor de jongeren en hun ouders zo belangrijke vragen te beantwoorden.

Literatuur

- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders, Fifth Edition (DSM-5)*. Arlington (VA).
- Bakker, J. (2009). De rol van geslachtshormonen bij de seksuele differentiatie van de hersenen en gedrag. *Neuropraxis*, 13(6), 147–152.
- Bakker, J., De Mees, C., Douhard, Q., Balthazart, J., Gabant, P., Szpirer, J., & Szpirer, C. (2006). Alpha-fetoprotein protects the developing female mouse brain from masculinization and defeminization by estrogens. *Nature Neuroscience*, 9(2), 220–6.

- Burke, S. M., Cohen-Kettenis, P. T., Veltman, D. J., Klink, D. T., & Bakker, J. (2014). Hypothalamic response to the chemo-signal androstadienone in gender dysphoric children and adolescents. *Frontiers in Endocrinology*, 5, 60.
- Burke, S. M., Kreukels, B. P. C., Cohen-Kettenis, P. T., Veltman, D. J., Klink, D. T., & Bakker, J. (in preparation). Male-typical visuo-spatial functioning in girls with Gender Dysphoria – organizational and activation effects of testosterone.
- Burke, S. M., Menks, W. M., Cohen-Kettenis, P. T., Klink, D. T., & Bakker, J. (in preparation). Postnatal Effects of Sex Hormones on Click-evoked Otoacoustic Emissions – a study in adolescents with Gender Dysphoria.
- Burke, S. M., Menks, W. M., Cohen-Kettenis, P. T., Klink, D. T., & Bakker, J. (2014). Click-Evoked Otoacoustic Emissions in Children and Adolescents with Gender Identity Disorder. *Archives of Sexual Behavior*.
- Burke, S. M., Veltman, D. J., Gerber, J., Hummel, T., & Bakker, J. (2012). Heterosexual men and women both show a hypothalamic response to the chemo-signal androstadienone. *PLoS ONE*, 7(7), e40993.
- Cerwenka, S., Nieder, T. O., Briken, P., Cohen-Kettenis, P. T., Cuyper, G. De, Haraldsen, I. R. H., ... Richter-Appelt, H. (2014). Intimate Partnerships and Sexual Health in Gender-Dysphoric Individuals Before the Start of Medical Treatment. *International Journal of Sexual Health*, 26(1), 52–65.
- Collet, L., Gartner, M., Veuillet, E., Moulin, A., & Morgon, A. (1993). Evoked and spontaneous otoacoustic emissions - A comparison of neonates and adults. *Brain & Development*, 15(4), 0–3.
- De Vries, A. L. C., & Cohen-Kettenis, P. T. (2012). Clinical management of gender dysphoria in children and adolescents: the dutch approach. *Journal of Homosexuality*, 59(3), 301–20.

- Goddings, A. L., Mills, K. L., Clasen, L. S., Giedd, J. N., Viner, R. M., & Blakemore, S.-J. (2013). The influence of puberty on subcortical brain development. *NeuroImage*.
- Hugdahl, K., Thomsen, T., & Erslund, L. (2006). Sex differences in visuo-spatial processing: an fMRI study of mental rotation. *Neuropsychologia*, 44(9), 1575–83.
- Koopman, P. (1999). Sry and Sox9: mammalian testis-determining genes. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 55(6-7), 839–56.
- Koopman, P., Münsterberg, A., Capel, B., Vivian, N., & Lovell-Badge, R. (1990). Expression of a candidate sex-determining gene during mouse testis differentiation. *Nature*, 348(6300), 450–2.
- Kreukels, B. (2011). Beeldvormend onderzoek naar de effecten van geslachtshormonen op de hersenen: onderzoek bijtransseksuelen. *Neuropraxis*, 15(6), 151–158.
- Kreukels, B. P. C., & Cohen-Kettenis, P. T. (2011). Puberty suppression in gender identity disorder: the Amsterdam experience. *Nature Reviews. Endocrinology*, 7(8), 466–72.
- Linn, M. C., & Petersen, A. C. (1985). Emergence and characterization of sex differences in spatial ability: a meta-analysis. *Child Development*, 56(6), 1479–98.
- Marshall, W. A., & Tanner, J. M. (1969). Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Archives of Disease in Childhood*, 44(235), 291–303.
- Marshall, W. A., & Tanner, J. M. (1970). Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Archives of Disease in Childhood*, 45(239), 13–23.
- Maylor, E. A., Reimers, S., Choi, J., Collaer, M. L., Peters, M., & Silverman, I. (2007). Gender and sexual orientation differences in cognition across adulthood: age is kinder to women than to men regardless of sexual orientation. *Archives of Sexual Behavior*, 36(2), 235–49.
- McFadden, D. (1993). A masculinizing effect on the auditory systems of human females having male co-twins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(24), 11900–4.
- McFadden, D. (1998). Sex differences in the auditory system. *Developmental Neuropsychology*, 14(2-3), 261–298.
- McFadden, D., Pasanen, E. G., Raper, J., Lange, H. S., & Wallen, K. (2006). Sex differences in otoacoustic emissions measured in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Hormones and Behavior*, 50(2), 274–84.
- Neufang, S., Specht, K., Hausmann, M., Güntürkün, O., Herpertz-Dahlmann, B., Fink, G. R., & Konrad, K. (2009). Sex differences and the impact of steroid hormones on the developing human brain. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 19(2), 464–73.
- Peper, J. S., Brouwer, R. M., Schnack, H. G., van Baal, G. C. M., van Leeuwen, M., van den Berg, S. M., ... Hulshoff Pol, H. E. (2008). Cerebral white matter in early puberty is associated with luteinizing hormone concentrations. *Psychoneuroendocrinology*, 33(7), 909–915.
- Peper, J. S., Hulshoff Pol, H. E., Crone, E. A., & van Honk, J. (2011). Sex steroids and brain structure in pubertal boys and girls: a mini-review of neuroimaging studies. *Neuroscience*, 191, 28–37.
- Peters, M., Manning, J. T., & Reimers, S. (2007). The effects of sex, sexual orientation, and digit ratio (2D:4D) on mental rotation performance. *Archives of Sexual Behavior*, 36(2), 251–60.
- Phoenix, C. H., Goy, R. W., Gerall, A. A., & Young, W. C. (1959). Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology*, 65, 369–82.
- Romeo, R. D. (2003). Puberty: a period of both organizational and activational effects of steroid hormones on neurobehavioural development. *Journal of Neuroendocrinology*, 15(12), 1185–92.
- Savic, I., Berglund, H., Gulyas, B., & Roland, P. (2001). Smelling of odorous sex hormone-like compounds causes sex-differentiated hypothalamic activations in humans. *Neuron*, 31(4), 661–8.
- Shepard, R. N., & Metzler, J. (1971). Mental rotation of three-dimensional objects. *Science*, 171(3972), 701–3.
- Sisk, C. L., & Zehr, J. L. (2005). Pubertal hormones organize the adolescent brain and behavior. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 26(3-4), 163–74.
- Steensma, T. D., Biemond, R., de Boer, F., & Cohen-Kettenis, P. T. (2011). Desisting and persisting gender dysphoria after childhood: a qualitative follow-up study. *Clinical Child Psychology and Psychiatry*, 16(4), 499–516.
- Steensma, T. D., McGuire, J. K., Kreukels, B. P. C., Beekman, A. J., & Cohen-Kettenis, P. T. (2013). Factors associated with desistence and persistence of childhood gender dysphoria: a quantitative follow-up study. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 52(6), 582–90.
- Strickland, E. A., Burns, E. M., & Tubis, A. (1985). Incidence of spontaneous otoacoustic emissions in children and infants. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 78(3), 931–5.
- Swaab, D. F. (2007). Sexual differentiation of the brain and behavior. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism*, 21(3), 431–44.
- Wallen, K. (2009). The Organizational Hypothesis: Reflections on the 50th anniversary of the publication of Phoenix, Goy, Gerall, and Young (1959). *Hormones and Behavior*, 55(5), 561–5.

Financiering

Het hier en in het proefschrift beschreven onderzoek werd gefinancierd door een Vernieuwingsimpuls Vici beurs (453-08-003) toegekend door de Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek aan Dr. Julie Bakker.

Summary

Neurobiological studies in children and adolescents with gender dysphoria – preliminary findings

Sex differences in brain function and behavior develop under the influence of sex hormones during two critical developmental phases: the early prenatal phase of sexual differentiation and puberty. Gender dysphoria (GD) is an extreme feeling of incongruence between one's experienced gender and one's natal sex. Although the etiology of GD is far from established, it is hypothesized that atypical levels of sex steroids during the early prenatal period of sexual differentiation of the brain might play a role. The research question of the studies presented here was whether children and adolescents diagnosed with GD might have had a different neuronal sexual differentiation and thus, whether they might show the brain characteristics of the opposite gender. Adolescents with GD may receive sex hormones as part of their treatment, which offers unique research possibilities in order to investigate the contribution of sex hormones on the development of body and brain. Using both, prospective and cross-sectional designs and different methods, such as measuring otoacoustic emissions and functional magnetic resonance imaging, we compared a total of 201 children and adolescents diagnosed with GD with 204 boys and girls without GD. We showed that also after the early prenatal period, during adolescence, sex hormones significantly affect brain functioning and behavior. Moreover, our findings indeed suggest that youth with GD show certain brain sex characteristics that better match and reflect their experienced gender, rather than their natal sex.

Keywords: Gender Dysphoria, sex hormones, brain, puberty

Trefwoorden: Genderdysforie, geslachtshormonen, hersenen, puberteit