



## Investigating Probable Variants and Polymorphisms of Sex-Related Genes *CYP19A1*, *ESR1*, *NR5A1*, *SOX9*, and *SRY* in Male to Female Transgender Individuals

Azadeh Hasanpour<sup>1,2</sup> , MSc, Mahmood Dehghani Ashkezari<sup>1,2\*</sup> , PhD, Farzad Seyed Forootan<sup>3\*</sup> , MD, PhD, Seyed Morteza Seifati<sup>1,2</sup> , PhD

<sup>1</sup> Department of Biology, Ashk.C., Islamic Azad University, Ashkezar, Iran

<sup>2</sup> Medical Biotechnology Research Center, Ashk.C. Islamic Azad University, Ashkezar, Iran

<sup>3</sup> Legal Medicine Research Center, Legal Medicine Organization, Tehran, Iran

\*Correspondence to: Mahmood Dehghani Ashkezari, Email: [mdashkezary@iauashkezar.ac.ir](mailto:mdashkezary@iauashkezar.ac.ir) Farzad Seyed Forootan, Email: [fsforootan@gmail.com](mailto:fsforootan@gmail.com)

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received: May 1, 2026

Accepted: June 9, 2026

Online Published: June 15, 2026

#### Keywords:

Gender dysphoria  
Gender reassignment  
Mutation  
Polymorphism  
Sequencing  
Transgender

### HIGHLIGHTS

1. No direct association was identified between variants in screened gene regions and gender dysphoria.
2. Larger studies incorporating matched controls and comprehensive genomic analyses are warranted.

### ABSTRACT

**Introduction:** Gender is a fundamental factor affecting all aspects of human's life, and existing evidence suggests that genetic factors can play an important role in the occurrence of gender identity disorders. The aim of this study was to identify possible mutations in some genes associated with gender determination in male-to-female transgender individuals in Isfahan, Iran.

**Methods:** In this study, 27 men with normal karyotype (46,XY) who were diagnosed with gender identity disorder were studied. Genomic DNA was extracted from peripheral blood samples of the participants. Then, exons of the *CYP19A1*, *ESR1*, *NR5A1*, *SOX9*, and *SRY* genes, in which the highest mutation rates were reported, were amplified using specific primers. After sequencing, data were analyzed with FinchTV software.

**Results:** Comparison of the obtained sequences with the reference sequence showed no mutations in exon 9 of the *CYP19A1*, exon 1 of the *SOX9*, and the *SRY* genes. In exon 4 of the *ESR1* gene, a substitution mutation c.805C>T was identified in one sample and a non-pathogenic change c.975G>C in 9 samples. Also, a heterozygous mutation c.653C>T was observed in exon 4 of the *NR5A1* gene in one participant. No other significant mutations were found in the other samples.

**Conclusion:** The findings of this study suggest that male-to-female gender identity disorder may not directly related to mutations in the studied regions of genes involved in sex determination. However, due to the limited sample size, larger studies are necessary to confirm these findings. Also, further research is needed to investigate the molecular and genetic mechanisms involved in the occurrence of gender identity.

**How to cite:** Hasanpour A, Dehghani Ashkezari M, Seyed Forootan F, Seifati SM. Investigating probable variants and polymorphisms of sex-related genes *CYP19A1*, *ESR1*, *NR5A1*, *SOX9*, and *SRY* in male to female transgender individuals. Iran J Forensic Med. 2026;32(1):11-23.

بررسی واریانت‌ها و پلی‌مورفیسم‌های احتمالی ژن‌های مرتبط با جنسیت *CYP19A1, ESR1, NR5A1, SOX9* و *SRY* در افراد ترانزجنسیتی مرد به زن

آزاده حسین پور<sup>۲,۱</sup> MSc محمود دهقان، اشکذری<sup>۲,۱</sup> PhD، فرزاد سید فروتن<sup>۳</sup> MD, PhD سید مرتضی سیفتی<sup>۲,۱</sup> PhD

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی، اشکذر، ایران

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی، واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی، اشکذر، ایران

<sup>۳</sup> مرکز تحقیقات پزشکی قانونی، سازمان پزشکی قانونی ایران، تهران، ایران

\*نویسندگان مسئول: محمود دهقان، اشکذری، یست الکترونیک: mdashkezary@iauashkezar.ac.ir  
فرزاد سید فروتن، یست الکترونیک: fsforootan@gmail.com

## اطلاعات مقاله

## چکیده

## تاریخچه مقاله:

در یافت:

14.5/.2/11

بذبح :

14.5/.3/19

انتشار به خط:

14.5/.3/25

### واژگان کلیدی:

## اختلال هویت جنسیتی

## تراجنسیتی

تغییر جنسیت

جهش

بلے، مور، فیسم

تعیین توالی

## نکات ویژه

???????????????? - 1

???????????????? - ۲

**مقدمه:** جنسیت یکی از عوامل بنیادین مؤثر بر تمامی ابعاد زندگی انسان است و شواهد موجود نشان می‌دهد که عوامل ژنتیکی می‌توانند در بروز اختلالات مرتبط با هویت جنسیتی نقش مهمی ایفا کنند. هدف این مطالعه، شناسایی واریانتهای احتمالی در برخی از ژن‌های مرتبط با تعیین جنسیت در افراد تراجنسیتی مرد به زن در اصفهان، ایران بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه، ۲۷ مرد با کاریوتیپ طبیعی (46,XY) که مبتلا به اختلال هویت جنسیتی بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. DNA ژنومی از نمونه‌های خون محیطی شرکت‌کنندگان استخراج شد. سپس اگزون‌هایی از ژن‌های *CYP19A1*، *ESR1*، *NR5A1*، *SOX9* و *SRY* که بیشترین میزان واریانت در آنها گزارش شده بود، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیر و پس از تعیین توالی، با نرم‌افزار FinchTV تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** مقایسه توالی‌های به‌دست‌آمده با توالی مرجع نشان داد که در اکزون ۹ ژن *CYP19A1*، اکزون ۱ ژن *SOX9* و ژن *SRY* هیچ واریانتهی وجود ندارد. در اکزون ۴ ژن *ESR1*، یک تغییر جایگزینی *T>C* 805c در یک نمونه و یک تغییر غیر بیماری‌زا *C>G* 975c در ۹ نمونه شناسایی شد. همچنین، یک جهش هتروزوگوت *T>C* 653c در اکزون ۴ ژن *NR5A1* در یکی از شرکت‌کنندگان مشاهده شد. در سایر نمونه‌ها هیچ واریانته قابل توجه دیگری یافت نشد.

**نتیجه گیری:** یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که اختلال هویت جنسیتی مرد به زن احتمالاً ارتباط مستقیمی با واریانت در نواحی بررسی شده زن‌های مرتبط با تعیین جنسیت ندارد. با این حال، به دلیل محدود بودن حجم نمونه، برای تأیید این یافته‌ها انجام مطالعات گسترده‌تر ضروری است. همچنین، بررسی مکانیسم‌های مولکولی و ژنتیکی مؤثر در شکل‌گیری هویت جنسیتی همچنان نیازمند پژوهش‌های بیشتر است.

## مقدمه

هورمون‌های مترشح از آنها، به ایجاد صفات جنسی ثانویه منجر می‌شود [۱]. در دوران جنینی، حضور تستوسترون نقش مهمی در تکامل مغز با الگوی مذکر دارد و از طریق تأثیر بر تکثیر و تمایز سلول‌های عصبی، مسیر رشد مغز را هدایت می‌کند. در مقابل، در غیاب تستوسترون، مغز در مسیر تکامل مؤنث قرار می‌گیرد. از این‌رو، هویت جنسیتی و گرایش‌های جنسی انسان در طی مراحل رشد مغز و تحت تأثیر عوامل

جنسیت یکی از بنیادی‌ترین ویژگی‌های زیستی انسان است که از بدو تولد بر ابعاد مختلف زندگی فرد تأثیر می‌گذارد. در پستانداران، تعیین جنسیت ژنتیکی در زمان لقاح انجام می‌شود، اما تمایز جنسی جنین در ادامه رشد، با تشکیل بیضه یا تخمدان و آغاز تمایز غدد جنسی آشکار می‌شود. این فرآیند در نهایت، از طریق رشد غدد جنسی و فعالیت

زیستی شکل می‌گیرد [۲].

برآوردها نشان می‌دهد حدود یک درصد از نوزادان با انواعی از اختلالات تکوین جنسی، از جمله ابهام در اندام‌های تناسلی، ناهنجاری‌های دستگاه تناسلی یا وارونگی جنسیتی، متولد می‌شوند. با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در زیست‌شناسی مولکولی، بسیاری از سازوکارهای مولکولی دخیل در این اختلالات هنوز به‌طور کامل شناخته نشده‌اند. یکی از این شرایط، اختلال هویت جنسیتی یا ترنسکشوالیسم است که شیوع آن در مطالعات مختلف بین یک مورد در هر ۲۹۰۰ نفر تا یک مورد در هر ۱۰۰ هزار نفر گزارش شده است. افراد مبتلا، با وجود برخورداری از ژنوتیپ و فنوتیپ متناسب با جنس ثبت‌شده هنگام تولد، احساس تعلق به جنس مقابل دارند و رفتار و هویت جنسیتی آنها با جنسیت زیستی‌شان همخوانی ندارد [۳].

در این افراد، برداشت روان‌شناختی از جنسیت ممکن است با ویژگی‌های آناتومیک و زیستی هنگام تولد تفاوت قابل توجهی داشته باشد. این ناهماهنگی اغلب موجب بروز مشکلات اجتماعی، روانی و عاطفی می‌شود و بسیاری از این افراد با انزوای اجتماعی، انگ‌زدگی و حتی پذیرفته نشدن از سوی خانواده و جامعه روبه‌رو هستند. در نتیجه، برخی از آنان برای دستیابی به هماهنگی میان هویت جنسیتی و ویژگی‌های جسمانی، از روش‌هایی مانند هورمون‌درمانی و جراحی‌های تطبیق جنسیت استفاده می‌کنند [۳].

شواهد موجود حاکی از آن است که عوامل ژنتیکی می‌توانند در بروز اختلالات مرتبط با تمایز و هویت جنسیتی نقش مهمی داشته باشند. از این‌رو، مطالعات مولکولی، به‌ویژه بررسی واریانت‌ها و پلی‌مورفیسم‌های ژنی، می‌توانند در شناخت بهتر این اختلالات مؤثر باشند. پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که واریانت در ژن‌هایی مانند *WNT4*، *SRY*، *SOX9*، *DAX1*، *SF1* با اختلالات

تمایز جنسی و وارونگی جنسیتی ارتباط دارد [۴-۶]. همچنین، تغییر در تعداد نسخه‌های ژنی و میزان بیان ژن‌های *WNT4*، *SOX9*، *DAX1* و نیز می‌تواند در بروز این اختلالات نقش داشته باشد [۴]. در مطالعه‌ای دیگر، ارتباط معناداری میان پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی ژن *CYP17* و افراد تراجنسیتی زن به مرد گزارش شد [۷].

مطالعه‌ای مشابه در سوئد نیز ارتباط معناداری بین تراجنسیتی مرد به زن و پلی‌مورفیسم دی‌نوکلئوتیدی *CA* در ژن گیرنده بتای استروژن ( $ER\beta$ ) نشان داد. با این حال، پژوهشی با حجم نمونه بزرگ‌تر نتوانست این یافته را تأیید کند و در عوض، ارتباط معناداری میان این وضعیت و برخی پلی‌مورفیسم‌های ژن گیرنده آندروژن گزارش کرد [۳]. در مجموع، نتایج مطالعات ژنتیکی انجام‌شده تاکنون یکسان نبوده و نقش دقیق عوامل ژنتیکی در بروز اختلال هویت جنسیتی همچنان به‌طور کامل روشن نشده است [۳].

امروزه هویت جنسیتی به‌عنوان پدیده‌ای پیچیده شناخته می‌شود که احتمالاً حاصل برهم‌کنش عوامل ژنتیکی، هورمونی و محیطی در مسیر تکوین عصبی است با وجود اهمیت این موضوع، مطالعات مولکولی انجام‌شده در ایران درباره زمینه‌های ژنتیکی اختلال هویت جنسیتی محدود بوده و اطلاعات دقیقی درباره فراوانی این اختلال و عوامل مؤثر بر آن در دسترس نیست. از این‌رو، مطالعه حاضر با هدف بررسی واریانت‌های احتمالی در ژن‌های کلیدی مرتبط با تعیین و تمایز جنسیت شامل *WNT4*، *SRY*، *SOX9*، *DAX1*، *ESR1*، *NR5A1* و ارزیابی ارتباط آنها با اختلال هویت جنسیتی در افراد تراجنسیتی مرد به زن در اصفهان انجام شد.

### روش بررسی

این پژوهش به‌صورت یک مطالعه مقطعی انجام شد. جامعه آماری شامل تمامی مردانی بود که در طول سال

با رنگی مجزا نمایش داده شد. علاوه بر این، تحلیل غنی‌سازی عملکردی ژن‌های هاب با استفاده از سرور DisGeNET، Enrichr-KG و بر پایه پایگاه‌های داده، GO و WikiPathways، Human Phenotype Biological Process انجام شد.

### نمونه‌گیری و استخراج DNA

پس از ارائه توضیحات لازم درباره اهداف پژوهش، اخذ رضایت‌نامه آگاهانه کتبی و تکمیل پرسشنامه، از هر یک از شرکت‌کنندگان ( $n=27$ ) مقدار ۵ میلی‌لیتر خون محیطی در لوله‌های Venoject حاوی EDTA جمع‌آوری شد. نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش Boiling و مطابق با روش ارائه‌شده توسط مرادی و همکاران انجام شد [۸]. به‌طور خلاصه، ۰٫۸ میلی‌لیتر خون به یک میکروتیوب منتقل و ۰٫۷ میلی‌لیتر بافر به آن افزوده شد تا حجم نهایی به ۱٫۵ میلی‌لیتر برسد. بافر مورد استفاده شامل ۰٫۳۲ مولار ساکارز (Gibco، آمریکا)، ۱۰ میلی‌مولار Tris-HCl، ۵ میلی‌مولار  $MgCl_2$  و ۰٫۷۵ درصد Triton X-۱۰۰ بود. سپس نمونه‌ها با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و محلول رویی دور ریخته شد. این مرحله دو بار دیگر تکرار شد. در ادامه، ۱۰۰ میکرولیتر NaOH با غلظت ۰٫۰۵ مولار به نمونه‌ها افزوده و به آرامی تکان داده شد. ۳۰ ثانیه ورتکس و به مدت ۲۰ دقیقه در آب جوش قرار داده شد.

در پایان، ۲۰ میکرولیتر Tris-HCl یک مولار به نمونه‌ها اضافه و پس از مخلوط شدن، به مدت ۳۰ ثانیه در سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول رویی حاصل به‌عنوان DNA ژنومی مورد استفاده قرار گرفت.

کیفیت DNA استخراج‌شده با استفاده از الکتروفورز

۱۳۹۹ با تشخیص اختلال هویت جنسیتی (تراجنسیتی مرد به زن) برای طی مراحل قانونی تغییر جنسیت به مرکز پزشکی قانونی اصفهان مراجعه کرده بودند. نمونه‌گیری به روش سرشماری انجام شد و تمامی افراد واجد شرایط وارد مطالعه شدند.

معیار ورود به مطالعه، تأیید تشخیص اختلال هویت جنسیتی توسط روانپزشکان اداره کل پزشکی قانونی اصفهان بود. همچنین، شرکت‌کنندگان باید دارای پرونده پزشکی کامل، تمایل به همکاری در پژوهش و سابقه حداقل دو سال روان‌درمانی و مشاوره تخصصی تحت نظر پزشکی قانونی می‌بودند. علاوه بر این، تنها افرادی با کاریوتایپ طبیعی 46,XY وارد مطالعه شدند. ابتدا به سایر اختلالات روان‌پزشکی به‌عنوان معیار خروج از مطالعه در نظر گرفته شد.

### تحلیل بیوانفورماتیکی و انتخاب ژن‌های هدف

به‌منظور انتخاب ژن‌های کاندیدا، فهرست ژن‌های مرتبط با اختلالات تمایز جنسی ( $CUI: C2930619$ ) از پایگاه داده DisGeNET استخراج شد. سپس ویژگی‌های شبکه برای ۱۰۳ ژن معرفی‌شده در این پایگاه مورد بررسی قرار گرفت. در تحلیل شبکه، سه شاخص مرکزیت شامل درجه (Degree)، مرکزیت بینابینی (Betweenness Centrality) و مرکزیت نزدیکی (Closeness Centrality) محاسبه شد و بر این اساس، ۹۲ ژن هاب به‌عنوان ژن‌های اصلی دخیل در فرآیند تکوین جنسی انتخاب شدند.

از میان ژن‌های هاب، ژن‌های *CYP19A1*، *ESR1*، *NR5A1*، *SOX9* و *SRY* بر اساس مرور منابع علمی و شواهد موجود به‌عنوان ژن‌های هدف انتخاب شدند. همچنین، شبکه تعاملات پروتئین پروتئین با استفاده از نرم‌افزارهای Cytoscape نسخه ۳٫۶٫۰ و Gephi نسخه ۰٫۹٫۲ ترسیم شد. ژن‌ها بر اساس نقش عملکردی در شبکه خوشه‌بندی (Modularization) شدند و هر خوشه

DNA *NR5A1*، *SOX9* و *SRY* با استفاده از ۲۵ نانوگرم DNA ژنومی انجام شد. مواد این PCR با غلظت های ذکر شده در جدول ۱ با هم مخلوط شد و حجم نهایی به ۲۵ میکرولیتر رسید. سپس در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفت تا واکنش PCR انجام شد. اگزون های هدف برای ژن های *CYP19A1*، *ESR1*، *NR5A1* و *SOX9* به ترتیب اگزون های ۹، ۴، ۴ و ۱ بودند، در حالی که ژن *SRY* تنها دارای یک اگزون است. پرایمرهای مورد استفاده بر اساس مطالعه راجندر و همکاران [۹] طراحی و از شرکت سیناکلون، تهران، ایران تهیه شدند. توالی پرایمرها در جدول ۲ ارائه شده است.

شرایط انجام واکنش PCR شامل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ دقیقه، سپس ۳۲ چرخه شامل دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمرها در دمای ذوب اختصاصی ( $T_m$ ) هر پرایمر به مدت ۴۵ ثانیه و طولی سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه بود. در پایان نیز مرحله طولی سازی نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد انجام شد.

پس از تکثیر، ۱۰ میکرولیتر از محصولات PCR به وسیله الکتروفورز روی ژل آگارز ۱،۵ درصد از نظر کیفیت بررسی شد. سپس ۱۵ میکرولیتر از محصولات برای تعیین توالی به شرکت تکاپو زیست ارسال شد. بر اساس گزارش شرکت، داده های تعیین توالی دارای حداقل امتیاز کیفیت Phred  $QV \leq 20$  بودند. داده های حاصل با نرم افزار FinchTV تحلیل شدند و توالی های به دست آمده به روش سنگر با استفاده از ابزار BLASTn در پایگاه داده NCBI با توالی مرجع مقایسه شدند تا واریانت های احتمالی شناسایی شوند.

روی ژل آگارز ۰،۸ درصد و اندازه گیری جذب نوری توسط دستگاه NanoDrop در طول موج ۲۶۰ نانومتر ارزیابی شد. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده، به جز موادی که نام شرکت سازنده آنها در متن ذکر شده است، از شرکت Merck آلمان تهیه شدند.

### واکنش PCR و تعیین توالی

تکثیر اگزون هایی که بیشترین میزان واریانت برای آنها گزارش شده بود، در ژن های *CYP19A1*، *ESR1*،

▼ جدول ۱- غلظت مواد استفاده شده برای واکنش PCR

| مقدار لازم (μl) | مشخصات     | مواد مصرفی         |
|-----------------|------------|--------------------|
| ۲/۵             | ۱۰ X       | PCR Buffer         |
| ۰/۷۵            | ۵۰ mM      | MgCl <sub>2</sub>  |
| ۰/۵             | ۱۰ mM      | dNTPs              |
| ۱               | ۱۰ pmol/μl | Forward primer     |
| ۱               | ۱۰ pmol/μl | Reverse primer     |
| ۱۸              | -          | Distill water      |
| ۰/۲۵            | ۲۵ IU      | Taq DNA Polymerase |
| ۱               | ۲۵ ng      | Template DNA       |
| ۲۵ μl = مجموع   |            |                    |

▼ جدول ۲- غلظت مواد استفاده شده برای واکنش PCR

| طول محصول | $T_m$ | آغازگر                                                                           | نام ژن         |
|-----------|-------|----------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 444bp     | 54 °C | F: 5'-TGTGCATTAGAATTAGAGCC-3<br>R: 5'-AACCAGAGAGGATTAAACAG-3                     | <i>CYP19A1</i> |
| 611bp     | 54 °C | F: 5'-TGAACACTTACCAGCTCACC-3<br>R: 5'-ATGAACACATCTCCTGTAACC-3                    | <i>ESR1</i>    |
| 826bp     | 54 °C | F: 5'-AGCCATGAAAGGGTGTGAGC-3<br>R: 5'-CAAAGGACAGTCGGGCTAAGG-3                    | <i>NR5A1</i>   |
| 719bp     | 54 °C | F: 5'-GGCAGCCGAGGGGAGAGGAG-3<br>R: 5'-CCGCGAGCAGCCCAAGAAGT-3                     | <i>SOX9</i>    |
| 609bp     | 54 °C | F: 5'-CCCGAATTCGACAATGC<br>AATCATATGCTTCTGC-3<br>R: 5'-CTGTAGCGGTCCCCTGTGCGGTG-3 | <i>SRY</i>     |

▼ جدول ۳- خلاصه تمامی واریانت های شناسایی شده

| نام ژن       | اگزون | تغییر مشاهده شده | تغییر پروتئین | زیگوسیتی  | نوع واریانت | تعداد افراد | اثر پیش بینی شده               |
|--------------|-------|------------------|---------------|-----------|-------------|-------------|--------------------------------|
| <i>ESR1</i>  | ۴     | c.805C>T         | p.Arg269Cys   | هتروزیگوت | Missense    | ۱ نفر       | غیر بیماری زا                  |
| <i>ESR1</i>  | ۴     | c.975G>C         | بدون تغییر    | هتروزیگوت | Synonymous  | ۹ نفر       | واریانت خوش خیم                |
| <i>NR5A1</i> | ۴     | c.653C>T         | p.Ser218Phe   | هتروزیگوت | Missense    | ۱ نفر       | واریانت با اهمیت بالینی نامشخص |

## یافته‌ها

همچنین، شبکه حاصل از متن کاوی و تحلیل *in silico* نشان داد که ژن‌های *CYP19A1*، *ESR1*، *NR5A1*، *SOX9* و *SRY* در فرآیند تعیین جنسیت، رشد جنسی و بروز ناهنجاری‌های مرتبط، نقش محوری ایفا می‌کنند (شکل 1C).

این تحلیل بیوانفورماتیکی با هدف فراهم کردن مبنایی برای انتخاب ژن‌های کاندید و شناسایی مسیرهای زیستی مرتبط با رشد و تمایز جنسی انجام شد و برای ارزیابی کمی یا تفسیر عملکردی واریانت‌های شناسایی‌شده در تعیین توالی طراحی نشده بود.

ژن *CYP19A1* در ناحیه ۲۱، ۱۵q قرار دارد و دارای ۱۰ اگزون است که یک mRNA با طول ۴۴۰۳ جفت‌باز را کد می‌کند. اگزون ۹ این ژن تکثیر و تعیین توالی شد.

بر اساس تحلیل بیوانفورماتیکی، ۹۲ ژن هاب مرتبط با اختلالات تکوین جنسی شناسایی شدند. پس از محاسبه پارامترهای شبکه شامل آستانه (Threshold=6)، میانگین طول مسیر (Average Path Length=2.5) و مدولاریتی (Modularity=0.4)، خوشه‌بندی ژن‌های هاب در نرم‌افزار Cytoscape انجام شد و شبکه نهایی تعاملات پروتئین با استفاده از نرم‌افزار Gephi ترسیم شد (شکل 1A).

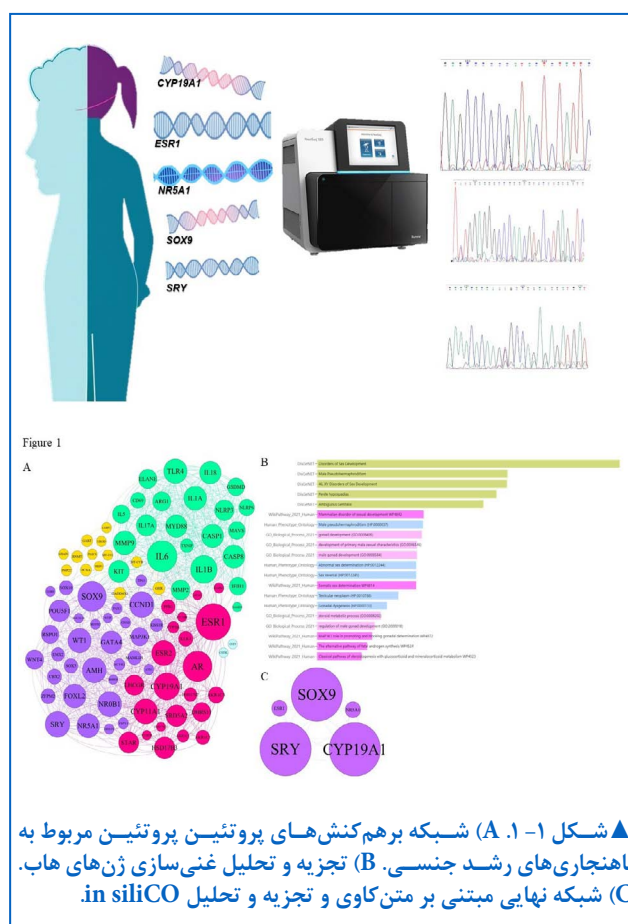
نتایج تحلیل غنی‌سازی نشان داد که ژن‌های هاب عمدتاً در مسیرهای سیگنالینگ و فرآیندهای زیستی مرتبط با اختلالات تکوین جنسی، هرمافرودیسیم کاذب مردانه، تعیین غیرطبیعی جنسیت، واریونگی جنسی و اختلالات متابولیسم استروئیدها نقش دارند (شکل 1B).

Homo sapiens chromosome unknown clone VMRC59-226023, complete sequence  
Sequence ID: AC279460.1 Length: 180636 Number of Matches: 1  
Range 1: 90535 to 90935 GenBankGraphics Next Match Previous Match

Alignment statistics for match #1

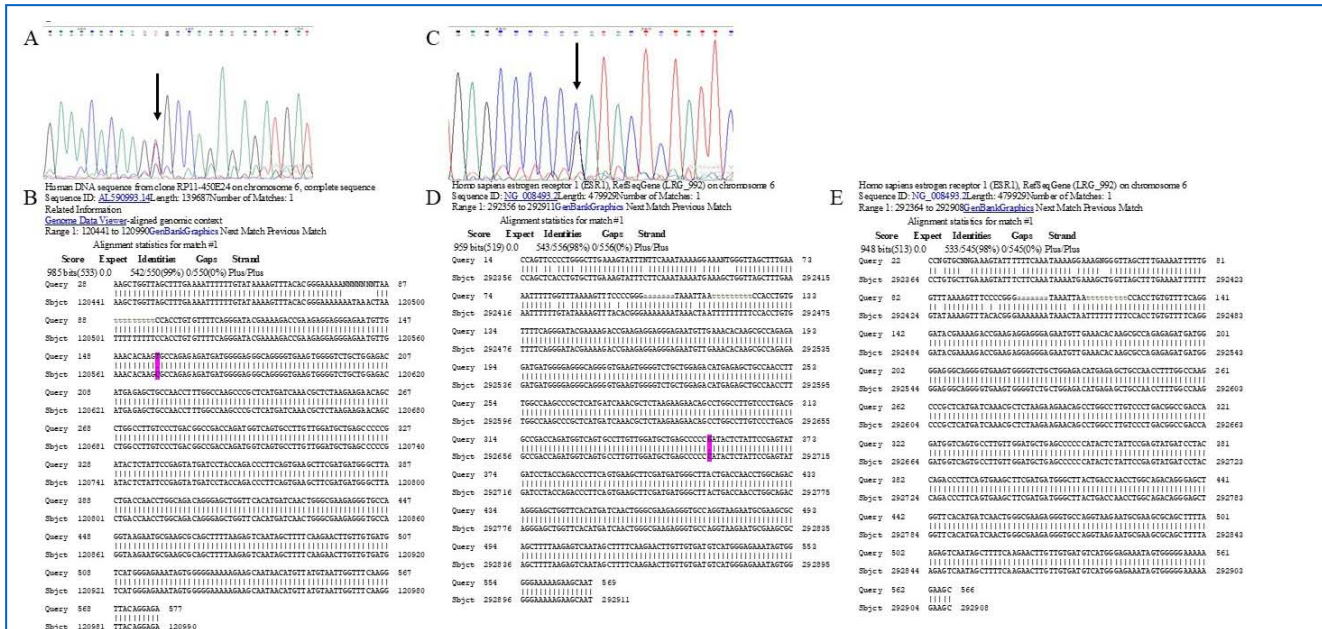
|             | Score                                                       | Expect | Identities   | Gaps      | Strand     |
|-------------|-------------------------------------------------------------|--------|--------------|-----------|------------|
|             | 717 bits(388)                                               | 0.0    | 398/402(99%) | 4/402(0%) | Plus/Minus |
| Query 11    | AAOAGTTCTGTGGAAA---TAGAAGCTTTAATACCAAGCAGATGGAACCTAACATTA   | 67     |              |           |            |
| Sbjct 90935 | AAOAGTTCTGTGGAAAATAAGAGCTTTAATACCAAGCAGATGGAACCTAACATTA     | 90876  |              |           |            |
| Query 68    | CCTCTCTTGTCTCTTTATCTGTTTCCACAGGTGAGAGACATAAAGATTGATGATATA   | 127    |              |           |            |
| Sbjct 90875 | CCTCTCTTGTCTCTTTATCTGTTTCCACAGGTGAGAGACATAAAGATTGATGATATA   | 90816  |              |           |            |
| Query 128   | CAAAAATTAAAGTATGGAAACTTCATTTATGAGAGCATGCGGTACCGCTGTGCTG     | 187    |              |           |            |
| Sbjct 90815 | CAAAAATTAAAGTATGGAAACTTCATTTATGAGAGCATGCGGTACCGCTGTGCTG     | 90756  |              |           |            |
| Query 188   | GACTTGTCATGCGCAAGCCTTAGAAGATGATGTAATCGATGGCTACCGAGTGAAGAAG  | 247    |              |           |            |
| Sbjct 90755 | GACTTGTCATGCGCAAGCCTTAGAAGATGATGTAATCGATGGCTACCGAGTGAAGAAG  | 90696  |              |           |            |
| Query 248   | GGGCAACAACATTATCTGATATTTGGAAGGATGCACAGACTCGAGTTTTTCCCAAAACC | 307    |              |           |            |
| Sbjct 90695 | GGGCAACAACATTATCTGATATTTGGAAGGATGCACAGACTCGAGTTTTTCCCAAAACC | 90636  |              |           |            |
| Query 308   | AATGAATTACTCTTGAAAATTTTGCAGAAGATGTAAGAGCCCTTCCTTAAAACTGAGTG | 367    |              |           |            |
| Sbjct 90635 | AATGAATTACTCTTGAAAATTTTGCAGAAGATGTAAGAGCCCTTCCTTAAAACTGAGTG | 90576  |              |           |            |
| Query 368   | TGOCACCTCTGAAAATGTCAACTGTAAATCCTCCTCTGCTT                   | 409    |              |           |            |
| Sbjct 90575 | TGOCACCTCTGAAAATGTCAACTGTAAATCCTCCTCTGCTT                   | 90535  |              |           |            |

▲ شکل ۲- نتیجه BLAST مربوط به اگزون ۹ ژن *CYP19A1* که از یکی از شرکت‌کنندگان به دست آمده است. هیچ واریانت قابل توجهی در مقایسه با ژن مرجع در ناحیه مورد بررسی یافت نشد.



شده است. همچنین، واریانت  $c.975G>C$  در ۹ نمونه مشاهده شد. این تغییر از نوع هتروزیگوت بوده و تغییری در توالی اسیدآمینه ایجاد نمی‌کند. بنابراین، براساس دستورالعمل‌های ACMG و نرم‌افزارهای پیش‌بینی، به‌عنوان یک پلی مورفیسم شایع در جمعیت ایران شناخته می‌شود (شکل‌های 3C و 3D). نتایج مقایسه توالی این نمونه‌ها در فایل تکمیلی ۱ ارائه شده است. در سایر نمونه‌ها نیز توالی اگزون ۴ با توالی مرجع کاملاً مطابقت داشت و هیچ تغییر قابل توجهی مشاهده نشد (شکل 3E). ژن *NR5A1* در ناحیه 9q33.3 قرار دارد و دارای ۷ اگزون است که یک mRNA با طول ۳۰۷۴ جفت‌باز را کد می‌کند. بررسی اگزون ۴ این ژن نشان داد که یکی از نمونه‌ها دارای واریانت هتروزیگوت  $c.653C>T$  است. این واریانت موجب جایگزینی اسیدآمینه سرین با فنیل‌آلانین در موقعیت ۲۱۸ پروتئین می‌شود (شکل‌های 4A و 4B و

نتایج نشان داد که توالی تمامی نمونه‌ها با توالی مرجع مطابقت دارد و هیچ‌گونه واریانتی در این ناحیه مشاهده نشد. نتایج مقایسه توالی‌ها با توالی مرجع در شکل ۲ ارائه شده است. ژن *ESR1* در ناحیه 6q25.1 قرار دارد و شامل ۸ اگزون است که یک mRNA به طول ۶۳۲۷ جفت‌باز را کد می‌کند. بررسی اگزون ۴ این ژن وجود یک واریانت هتروزیگوت  $c.805C>T$  را در یکی از شرکت‌کنندگان نشان داد که در اسیدآمینه شماره ۲۶۹ موجب جایگزینی آرژنین با سیستئین می‌شود (شکل‌های 3A و 3B و فایل تکمیلی ۱). با فقدان سابقه خانوادگی اختلالات تکوین جنسی، به دلیل در دسترس نبودن نمونه‌های والدین، تعیین الگوی وراثت این واریانت امکان‌پذیر نبود. این واریانت پیش‌تر در پایگاه‌های داده ثبت شده و بر اساس شواهد موجود، به‌عنوان یک واریانت خوش‌خیم طبقه‌بندی



شکل ۳- نتیجه BLAST مربوط به اگزون ۴ ژن *ESR1* (A). پیک‌های توالی AND مربوط به یک جهش جایگزینی در موقعیت  $c.805C>T$  (با فلش مشخص شده است) در یک شرکت‌کننده. (B) نتیجه BLAST مربوط به جهش نقطه‌ای  $c.805C>T$  (با رنگ بنفش مشخص شده است). (C) پیک‌های توالی DNA مربوط به یک تغییر غیر بیماری‌زا در  $c.975G>T$  (با فلش مشخص شده است) که در ۹ نمونه مشاهده شد. (D) نتیجه BLAST مربوط به پلی مورفیسم  $c.975C>T$  (با رنگ بنفش مشخص شده است) که در ۹ نمونه مشاهده شد. (E) نتیجه BLAST مربوط به بقیه نمونه‌ها.



Homo sapiens chromosome Y, GRCh38.p14 Primary Assembly  
Sequence ID: NC\_000024.10 Length: 5722415 Number of Matches: 1  
Related Information  
[Genome Data Viewer](#)-aligned genomic context  
Range 1: 2787016 to 2787561 [GenBankGraphics](#) Next Match Previous Match

Alignment statistics for match #1

| Score          | Expect         | Identities                                                   | Gaps      | Strand     |
|----------------|----------------|--------------------------------------------------------------|-----------|------------|
| 1009 bits(546) | 0.0            | 546/546(100%)                                                | 0/546(0%) | Plus/Minus |
| Query 1        |                | GATGATTACAGTCCAGCTGTGCAAGAGAAATATCCCGCTCTCCGGAGAGCTCTTCTTC   | 60        |            |
| Sbjct 2787561  |                | GATGATTACAGTCCAGCTGTGCAAGAGAAATATCCCGCTCTCCGGAGAGCTCTTCTTC   | 2787502   |            |
| Query 61       |                | CTTTGCACTGAAGCTGTAATCTAAGTATCAGTGTGAACGGGAGAAACAGTAAAGGC     | 120       |            |
| Sbjct 2787501  |                | CTTTGCACTGAAGCTGTAATCTAAGTATCAGTGTGAACGGGAGAAACAGTAAAGGC     | 2787442   |            |
| Query 121      |                | AACGTCAGGATAGAGTGAAGGACCCATGAACGATTCATCGTGTGGTCTCGGATCAG     | 180       |            |
| Sbjct 2787441  |                | AACGTCAGGATAGAGTGAAGGACCCATGAACGATTCATCGTGTGGTCTCGGATCAG     | 2787382   |            |
| Query 181      |                | AGGCGCAAGATGGCTCTAGAGAAATCCAGAAATGCAAACTCAGAGATCAGCAAGCACTG  | 240       |            |
| Sbjct 2787381  |                | AGGCGCAAGATGGCTCTAGAGAAATCCAGAAATGCAAACTCAGAGATCAGCAAGCACTG  | 2787322   |            |
| Query 241      |                | GGATACCAAGTGAAGAAATGCTTACTGAAGCGAAATATGCGCATCTTCCAGGAGGCACAG | 300       |            |
| Sbjct 2787321  |                | GGATACCAAGTGAAGAAATGCTTACTGAAGCGAAATATGCGCATCTTCCAGGAGGCACAG | 2787262   |            |
| Query 301      |                | AAATTACAGGCATGCACAGAGAGAAATACCCGAATTAAGTATCAGACTCGTGGAG      | 360       |            |
| Sbjct 2787261  |                | AAATTACAGGCATGCACAGAGAGAAATACCCGAATTAAGTATCAGACTCGTGGAG      | 2787202   |            |
| Query 361      |                | GCGAAGATGCTGCCGAAGAAATGCGATTTGCTCCCGAGATCCCGCTTCGGTACTCTGC   | 420       |            |
| Sbjct 2787201  |                | GCGAAGATGCTGCCGAAGAAATGCGATTTGCTCCCGAGATCCCGCTTCGGTACTCTGC   | 2787142   |            |
| Query 421      |                | AGCGAAGTGAAGTGAAGAAACAGGTTGTACAGGATGACTGTACGAAGGCCACACATCA   | 480       |            |
| Sbjct 2787141  |                | AGCGAAGTGAAGTGAAGAAACAGGTTGTACAGGATGACTGTACGAAGGCCACACATCA   | 2787082   |            |
| Query 481      |                | AGAATGGAGCACCAAGTACAGGCACTTACCGCCATCAACGAGCCAGCTCACCGCAGCAA  | 540       |            |
| Sbjct 2787081  |                | AGAATGGAGCACCAAGTACAGGCACTTACCGCCATCAACGAGCCAGCTCACCGCAGCAA  | 2787022   |            |
| Query 541      | CGGGAC 546     |                                                              |           |            |
| Sbjct 2787021  | CGGGAC 2787016 |                                                              |           |            |

▲ شکل ۶- نتیجه BLAST ژن SRY که از یکی از شرکت کنندگان به دست آمده است. هیچ جهش قابل توجهی در مقایسه با ژن مرجع در ناحیه مورد بررسی یافت نشد.

Homo sapiens SOX9 promoter region (LOC108021846) on chromosome 17  
Sequence ID: NG\_050876.1 Length: 2607 Number of Matches: 1  
Related Information  
[Gene-associated gene details](#)  
Range 1: 1158 to 1821 [GenBankGraphics](#) Next Match Previous Match

Alignment statistics for match #1

| Score          | Expect    | Identities                                                  | Gaps      | Strand    |
|----------------|-----------|-------------------------------------------------------------|-----------|-----------|
| 1210 bits(655) | 0.0       | 661/664(99%)                                                | 1/664(0%) | Plus/Plus |
| Query 12       |           | CGGGGCTTCTCGCTTT-CCGGCCACAGCCCGCTGCCCCGGGCCCCGGTATGAATCTCC  | 70        |           |
| Sbjct 1158     |           | CGGGGCTTCTCGCTTTCCGGCCACAGCCCGCTGCCCCGGGCCCCGGTATGAATCTCC   | 1217      |           |
| Query 71       |           | TGGACCCCTTCATGAAGATGACCGAGCAGGAGAGAGGGCCCTGTCCGGGCCCCAGCC   | 130       |           |
| Sbjct 1218     |           | TGGACCCCTTCATGAAGATGACCGAGCAGGAGAGAGGGCCCTGTCCGGGCCCCAGCC   | 1277      |           |
| Query 131      |           | CCACCATGTCCGAGGACTCCGGGGCTGCGCTGCCCTGCGGCTCCGGCTCGGACACCG   | 190       |           |
| Sbjct 1278     |           | CCACCATGTCCGAGGACTCCGGGGCTGCGCTGCCCTGCGGCTCCGGCTCGGACACCG   | 1337      |           |
| Query 191      |           | AGACACGCGGCCCCAGGAGAACAGTTCGCCAAGGGGCGAGCCCCGATCGAAGAGAGGA  | 250       |           |
| Sbjct 1338     |           | AGACACGCGGCCCCAGGAGAACAGTTCGCCAAGGGGCGAGCCCCGATCGAAGAGAGGA  | 1397      |           |
| Query 251      |           | GCGAGGAGGACAAAGTTCGCCCTGTGCATCCCGAGGCGGCTCAGCAGGTGCTCAAGGCT | 310       |           |
| Sbjct 1398     |           | GCGAGGAGGACAAAGTTCGCCCTGTGCATCCCGAGGCGGCTCAGCAGGTGCTCAAGGCT | 1457      |           |
| Query 311      |           | ACGACTGGAGCTGTGCGCCATGCGGGTGGCGGTCGCGGTCGAGCAAGAACAGCCCGC   | 370       |           |
| Sbjct 1458     |           | ACGACTGGAGCTGTGCGCCATGCGGGTGGCGGTCGCGGTCGAGCAAGAACAGCCCGC   | 1517      |           |
| Query 371      |           | AAGTCAAGCGGCCCATGAACGCTTCATGGTGTGGGCGCAGGCGGCGCAGGAAGCTCG   | 430       |           |
| Sbjct 1518     |           | AAGTCAAGCGGCCCATGAACGCTTCATGGTGTGGGCGCAGGCGGCGCAGGAAGCTCG   | 1577      |           |
| Query 431      |           | CGGACCACTACCCGCACTTGCACAAACGCGAGCTCAGCAAGCGCTGGGCAAGCTCTGGA | 490       |           |
| Sbjct 1578     |           | CGGACCACTACCCGCACTTGCACAAACGCGAGCTCAGCAAGCGCTGGGCAAGCTCTGGA | 1637      |           |
| Query 491      |           | GGTAGGACCCGGCGGGGGCGGGCGGGCGGGGTGGGCTCGCGCGCTGGGGGCGCTGGT   | 550       |           |
| Sbjct 1638     |           | GGTAGGACCCGGCGGGGGCGGGCGGGCGGGGTGGGCTCGCGCGCTGGGGGCGCTGGT   | 1697      |           |
| Query 551      |           | caagggtGATTTGCCCCGCCCCGCTCCCATCGCCGGGAGTTCCGCTCCGGGAGCCGG   | 610       |           |
| Sbjct 1698     |           | CAGGGCTGATTTGCCCCGCCCCGCTCCCATCGCCGGGAGTTCCGCTCCGGGAGCCGG   | 1757      |           |
| Query 611      |           | CGGGATGGGGTGGGAGTGGGAATGGGGTGAATCTGGCTCAAAGTTTGACAAAGTTCT   | 670       |           |
| Sbjct 1758     |           | CGGGATGGGGTGGGAGTGGGAATGGGGTGAATCTGGCTCAAAGTTTGACAAAGTTCT   | 1817      |           |
| Query 671      | TGGG 674  |                                                             |           |           |
| Sbjct 1818     | TGGG 1821 |                                                             |           |           |

▲ شکل ۵- نتیجه BLAST مربوط به اگزون ۱ ژن SOX9 که از یکی از شرکت کنندگان به دست آمده است. هیچ جهش قابل توجهی در مقایسه با ژن مرجع در ناحیه مورد بررسی مشاهده نشد.

تعیین و تمایز جنسیت به کار گرفته شدند و برای تفسیر عملکردی یا کمی واریانت‌های شناسایی شده طراحی نشده بودند. با توجه به حجم نمونه محدود، رویکرد تعیین توالی هدفمند و نبود آزمون‌های عملکردی، امکان برقراری ارتباط مستقیم میان شاخص‌های شبکه بیوانفورماتیکی و واریانت‌های شناسایی شده وجود نداشت.

جامعه مورد مطالعه شامل ۲۷ فرد مبتلا به اختلال هویت جنسیتی بود که برای طی مراحل قانونی تغییر جنسیت از مرد به زن به سازمان پزشکی قانونی اصفهان مراجعه کرده بودند. تمامی شرکت کنندگان دارای کاربوتیپ طبیعی 46,XY بودند و وضعیت جسمانی آنها

به‌منظور تسهیل تفسیر یافته‌ها، تمامی واریانت‌های شناسایی شده به‌صورت خلاصه در جدول ۳ ارائه شده‌اند.

## بحث

در مطالعه حاضر، اگزون‌هایی از ژن‌های *CYP19A1*، *ESR1*، *NR5A1*، *SOX9* که بیشترین میزان واریانت برای آنها گزارش شده بود، مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین به‌منظور انتخاب ژن‌های هدف، تحلیل شبکه تعاملات پروتئین پروتئین و غنی‌سازی مسیرهای زیستی انجام شد. این تحلیل‌ها صرفاً جنبه توصیفی داشتند و با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مؤثر در

تکوین جنسی معمولاً دارای ناهنجاری‌هایی در ساختمان دستگاه تناسلی، غدد جنسی یا وضعیت هورمونی هستند، در حالی که افراد تراجنسیتی اغلب از نظر ساختار زیستی طبیعی بوده و چالش اصلی آنها ناهماهنگی میان هویت جنسیتی و جنسیت زیستی است [۱۰]. با این حال، شواهد فزاینده‌ای نشان می‌دهد که این وضعیت صرفاً منشأ روان‌شناختی ندارد و عوامل زیستی، به‌ویژه عوامل ژنتیکی و هورمونی، نیز ممکن است در شکل‌گیری آن نقش داشته باشند [۱۱، ۱۲].

افزایش گزارش‌های مربوط به شیوع اختلال هویت جنسیتی در سال‌های اخیر، اهمیت انجام مطالعات مولکولی در این زمینه را دوچندان کرده است [۱۳]. هرچند گزارش‌هایی از بروز این وضعیت در چندین عضو یک خانواده و نیز مطالعات محدودی بر روی دوقلوها منتشر شده، اما نتایج این مطالعات یکسان نبوده و هنوز امکان تفکیک دقیق سهم عوامل ژنتیکی و محیطی فراهم نشده است [۱۲]. همچنین تاکنون شواهد قانع‌کننده‌ای مبنی بر نقش مستقیم محیط اجتماعی پس از تولد در شکل‌گیری هویت جنسیتی ارائه نشده است. از این رو، به نظر می‌رسد روشن شدن سازوکارهای زیستی این پدیده مستلزم انجام پژوهش‌های چندرشته‌ای و جامع باشد.

مطالعه افراد تراجنسیتی یکی از مناسب‌ترین راهکارها برای بررسی مبانی زیستی هویت جنسیتی محسوب می‌شود. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که ناهنجاری‌های کروموزومی، جهش در ژن‌های کلیدی تعیین‌کننده جنسیت و اختلالات هورمونی می‌توانند در برخی موارد با اختلالات هویت یا تمایز جنسیتی مرتبط باشند [۱۰]. ژن‌های اتوزومی متعددی از جمله *WT1*، *NR5A1 (SF1)*، *SOX9*، *WNT4*، *DMRT1*، *DMRT2* و *DAX1* در شبکه تنظیمی تعیین جنسیت نقش دارند، اگرچه سازوکار دقیق تعامل آنها هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است.

از طریق معاینات پزشکی تأیید شد. با وجود گذراندن دوره‌های روان‌درمانی، مشاوره تخصصی و هورمون‌درمانی، همه افراد همچنان متقاضی تغییر جنسیت بودند. سن شرکت‌کنندگان بین ۲۰ تا ۳۸ سال متغیر بود و برخی از آنها پس از انجام فرآیند تطبیق جنسیت، از هویت جنسیتی جدید خود رضایت بالایی گزارش کردند.

نتایج تعیین توالی نشان داد که در اگزون ۹ ژن *CYP19A1*، اگزون ۱ ژن *SOX9* و ژن *SRY* هیچ‌گونه واریانت قابل توجهی در مقایسه با توالی مرجع وجود ندارد. در مقابل، در اگزون ۴ ژن *ESR1* یک واریانت جانشینی c.805C>T در یک نمونه و یک پلی‌مورفیسم c.975G>C در ۹ نمونه شناسایی شد. همچنین، یک واریانت هتروزیگوت c.653C>T در اگزون ۴ ژن *NR5A1* در یکی از شرکت‌کنندگان مشاهده شد. به دلیل در دسترس نبودن نمونه‌های والدین و نبود اطلاعات خانوادگی کافی، تعیین الگوی وراثت این واریانت‌ها امکان‌پذیر نبود.

هویت جنسیتی یکی از ابعاد اساسی هویت انسان است و نقش مهمی در سلامت روان، روابط اجتماعی و کیفیت زندگی افراد دارد. در بیشتر افراد، هویت جنسیتی با جنس تعیین‌شده هنگام تولد هماهنگ است و در طول زندگی پایدار می‌ماند. با این حال، در برخی افراد این هماهنگی وجود ندارد و فرد احساس تعلق به جنسیتی متفاوت از جنس ثبت‌شده هنگام تولد دارد؛ وضعیتی که در منابع علمی با عنوان اختلال هویت جنسیتی یا تراجنسیتی شناخته می‌شود. این افراد معمولاً از نظر ویژگی‌های جسمانی، سطح هورمون‌های جنسی و ترکیب کروموزومی طبیعی هستند، اما نارضایتی عمیقی از جنسیت انتساب‌یافته خود تجربه می‌کنند و تمایل به تطبیق ویژگی‌های جسمانی با هویت جنسیتی خود دارند [۱۰].

تمایز میان اختلال هویت جنسیتی و اختلالات تکوین جنسی (Differences/Disorders of Sex Development) از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. افراد مبتلا به اختلالات

جنسیتی مردانه و مواجهه کمتر با این هورمون‌ها با هویت جنسیتی زنانه ارتباط داشته باشد [۱۶].

گیرنده‌های استروژن شامل دو ایزوفرم اصلی *ESR1* و *ESR2* هستند که الگوی بیان بافتی و عملکردهای متفاوتی دارند. *ESR1* عمدتاً در رحم، پروستات، هیپوفیز، مغز، عضلات اسکلتی و سلول‌های خونی بیان می‌شود، در حالی که *ESR2* در طیف گسترده‌تری از بافت‌ها حضور دارد و در بسیاری از مسیرهای زیستی عملکردی متمایز یا حتی متضاد با *ESR1* دارد [۱۷]. در مطالعه حاضر، پلی مورفیسم c.975G>C در ژن *ESR1* در ۹ شرکت‌کننده مشاهده شد. اگرچه این واریانت بر اساس معیارهای ACMG خوش‌خیم تلقی می‌شود، وجود آن می‌تواند زمینه انجام مطالعات گسترده‌تر بر روی تنوع ژنتیکی این ژن در جمعیت ایرانی را فراهم کند. نتایج ما تا حدی با مطالعه‌ای که چندین پلی مورفیسم ژن *ESR* را در افراد تراجنسیتی مرد به زن گزارش کرده بود، همسو است [۱۸].

#### محدودیت‌های مطالعه

مطالعه حاضر با چند محدودیت مهم همراه بود که باید در تفسیر نتایج مورد توجه قرار گیرد. مهم‌ترین محدودیت، حجم نمونه نسبتاً کوچک (۲۷ نفر) بود که قدرت آماری مطالعه را کاهش داده و امکان انجام تحلیل‌های جامع ارتباط ژنتیکی را محدود کرد. همچنین، جامعه مورد مطالعه تنها شامل افرادی بود که در طول یک سال برای طی مراحل قانونی تغییر جنسیت به اداره کل پزشکی قانونی اصفهان مراجعه کرده بودند. بنابراین، تعمیم نتایج به سایر جمعیت‌ها باید با احتیاط انجام شود. علاوه بر این، به دلیل محدودیت‌های مالی، مطالعه تنها بر اگزون‌هایی از ژن‌های *CYP19A1*، *ESR1*، *SOX9* و *NR5A1* متمرکز بود که بیشترین میزان واریانت برای آنها گزارش شده بود. از این رو، بررسی کامل

در مطالعه حاضر، هیچ تفاوت معناداری در ژن‌های *CYP19A1*، *SOX9* و *SRY* مشاهده نشد. این یافته با نتایج مطالعه Lombardo و همکاران در ایتالیا همخوانی دارد که طبیعی بودن ژن *SRY* را در تمامی افراد تراجنسیتی مرد به زن گزارش کردند و نتیجه گرفتند که اختلال هویت جنسیتی احتمالاً با جهش در ژن‌های اصلی تعیین‌کننده جنسیت ارتباط مستقیمی ندارد [۱۴]. اگرچه Robin در سال ۱۹۹۳ احتمال نقش ژن *SRY* را مطرح کرده بود [۱۰]، اما تاکنون شواهد کافی برای تأیید این فرضیه ارائه نشده است. در مقابل، مطالعات دیگری نشان داده‌اند که جهش‌های *SOX9* می‌توانند در افراد دارای کاریوتیپ 46,XY موجب اختلالات تکوین غدد جنسی شوند [۱۵]، هرچند چنین تغییری در نمونه‌های مطالعه حاضر مشاهده نشد.

در زمینه ژن‌های مرتبط با مسیرهای هورمونی نیز نتایج مطالعات پیشین متفاوت بوده است. برای مثال، بررسی پلی مورفیسم ژن ۵ آلفا ردوکتاز ارتباط معناداری با تراجنسیتی مرد به زن یا زن به مرد نشان نداد، در حالی که پلی مورفیسم ژن *CYP17* در برخی مطالعات با افراد تراجنسیتی زن به مرد ارتباط داشت، اما چنین ارتباطی در افراد مرد به زن مشاهده نشد [۷]. یافته‌های مطالعه حاضر نیز ارتباط مستقیمی میان ژن *CYP19A1* و تراجنسیتی مرد به زن نشان نداد.

هورمون‌های جنسی نیز نقش مهمی در تمایز و رشد مغز دارند. در پستانداران، صفات جنسی ثانویه تحت تأثیر هورمون‌های ترشح‌شده از غدد جنسی شکل می‌گیرند. شواهد موجود نشان می‌دهد که آندروژن‌ها، چه به‌طور مستقیم و چه پس از تبدیل به استروژن، در سازمان‌دهی مغز جنینی نقش دارند. همچنین، مطالعات انجام‌شده بر روی فرزندان مادران مبتلا به برخی اختلالات غدد درون‌ریز نشان داده که مواجهه جنین با سطوح بالاتر آندروژن پیش از تولد ممکن است با شکل‌گیری هویت

ژن‌های مرتبط، تغییرات در نواحی تنظیمی و غیرکدکننده ژنوم، برهم‌کنش‌های ژن ژن، تغییرات اپی‌ژنتیکی و یا اثرات تجمعی چندین ژن (Polygenic Effects) باشند که در رویکرد تعیین توالی هدفمند به‌کاررفته در این مطالعه قابل ارزیابی نبوده‌اند. در مجموع، یافته‌های این پژوهش بر پیچیدگی مبانی ژنتیکی هویت جنسیتی تأکید می‌کنند و ضرورت انجام مطالعات گسترده‌تر با حجم نمونه بیشتر، گروه‌های کنترل مناسب، تعیین توالی کامل ژنوم یا اگزوم، بررسی پروفایل بیان ژن‌های مرتبط با تعیین جنسیت و ارزیابی عملکردی واریانت‌های ژنتیکی را برای روشن‌تر شدن مکانیسم‌های مولکولی این پدیده نشان می‌دهند.

**تشکر و قدردانی:** از مرکز تحقیقات پزشکی قانونی به خاطر فراهم کردن تجهیزات و محیط تحقیقاتی این مطالعه قدردانی می‌کنیم. **تأییدیه اخلاقی:** این مطالعه پس از تأیید کمیته تحقیقات دانشگاه و کمیته اخلاق سازمان پزشکی قانونی با کد اخلاق IR.LMO.REC.1398.040 به تاریخ تصویب ۲۵ اسفند ۱۳۹۸ صورت پذیرفت. با توجه به ماهیت حساس پژوهش و مشارکت افراد تراجنسیتی، تمامی مراحل مطالعه با رعایت اصول اخلاق پژوهش، از جمله احترام به استقلال شرکت‌کنندگان، حفظ محرمانگی اطلاعات و صیانت از سلامت روان آنان انجام شد. مشارکت در پژوهش کاملاً داوطلبانه بود و پیش از نمونه‌گیری، اهداف مطالعه به‌طور کامل برای شرکت‌کنندگان تشریح شد. سپس رضایت‌نامه آگاهانه کتبی از تمامی افراد اخذ شد. تمامی اطلاعات فردی پیش از تجزیه و تحلیل به‌صورت ناشناس کدگذاری شد. انتخاب شرکت‌کنندگان و ارزیابی‌های بالینی توسط سازمان پزشکی قانونی و مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی ملی انجام گرفت و ارزیابی‌های روان‌شناختی نیز توسط متخصصان واجد شرایط صورت گرفت. همچنین، طراحی، اجرای پژوهش و گزارش نتایج با هدف پیشگیری از هرگونه انگ‌زنی و ارائه یافته‌ها در چارچوب علمی، بی‌طرفانه و مبتنی بر شواهد انجام شد.

**تعارض منافع:** نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچگونه تضاد منافی وجود ندارد. تأمین‌کنندگان مالی هیچ نقشی در طراحی مطالعه، جمع‌آوری، تجزیه و تحلیل یا تفسیر داده‌ها، نوشتن رونوشت اولیه یا تصمیم‌گیری برای انتشار نتایج نداشتند. **منابع مالی:** بخشی از این تحقیق توسط اداره کل پزشکی قانونی استان اصفهان، ایران، با شماره قرارداد ۱۷۰۷۶۰ تأمین مالی شده است.

## References

- Windley SP, Wilhelm D. Signaling pathways involved in mammalian sex determination and gonad development. *Sex Dev.* 2016;9(6):297-315. doi: 10.1159/000444065.
- Ratnu VS, Emami MR, Bredy TW. Genetic and epigenetic factors underlying sex differences in the regulation of gene expression in the brain. *J Neurosci Res.* 2017;95(1-2):301-10. doi: 10.1002/jnr.23886.

توالی ژن‌ها، تعیین توالی اگزوم یا ژنوم و همچنین تحلیل الگوی بیان ژن‌های مرتبط، می‌تواند در مطالعات آینده اطلاعات جامع‌تر و دقیق‌تری درباره زمینه‌های ژنتیکی اختلال هویت جنسیتی فراهم کند.

در این مطالعه تنها یک واریانت با اهمیت بالقوه، یعنی c.653C>T در ژن *NR5A1*، شناسایی شد. بررسی خانوادگی و انجام تحلیل شجره‌نامه در خانواده فرد حامل این واریانت می‌توانست اطلاعات ارزشمندی درباره الگوی وراثت و اهمیت بالینی آن ارائه دهد، اما به دلیل در دسترس نبودن والدین و سایر اعضای خانواده، انجام این بررسی امکان‌پذیر نبود.

## نتیجه‌گیری

«هویت جنسیتی» بازتاب درک و احساس درونی فرد از جنسیت خود است و ممکن است همواره با «جنسیت زیستی» او همخوانی نداشته باشد. در مقابل، جنسیت زیستی بر اساس عواملی مانند ترکیب کروموزومی، غدد جنسی و ویژگی‌های آناتومیک تعیین می‌شود. شواهد موجود نشان می‌دهد که شکل‌گیری هویت جنسیتی حاصل تعامل پیچیده عوامل ژنتیکی، هورمونی، عصبی و محیطی است و احتمالاً مجموعه‌ای از فرآیندهای زیستی غیرقابل بازگشت در دوران تکوین جنینی در این فرآیند نقش دارند. با این حال، ارتباط دقیق میان این عوامل زیستی و هویت جنسیتی هنوز به‌طور کامل روشن نشده است. در مطالعه حاضر، هیچ ارتباط مستقیمی میان واریانت‌های شناسایی‌شده در اگزوم‌های بررسی‌شده ژن‌های *SRY* و *CYP19A1*، *ESR1*، *NR5A1*، *SOX9* و اختلال هویت جنسیتی مشاهده نشد. با این وجود، این یافته‌ها نقش عوامل ژنتیکی را در شکل‌گیری هویت جنسیتی رد نمی‌کنند، بلکه نشان می‌دهند که سهم ژنتیک احتمالاً از طریق سازوکارهای پیچیده‌تری اعمال می‌شود. این سازوکارها می‌توانند شامل واریانت‌های سایر

3. Hare L, Bernard P, Sánchez FJ, Baird PN, Vilain E, Kennedy T, et al. Androgen receptor repeat length polymorphism associated with male-to-female transsexualism. *Biol Psychiatry*. 2009;65(1):93-6. doi: [10.1016/j.biopsych.2008.08.033](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.08.033).
4. Gilbert SF. Developmental biology, the stem cell of biological disciplines. *PLoS Biol*. 2017;15(12):e2003691. doi: [10.1371/journal.pbio.2003691](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003691).
5. Domenice S, Correa R, Costa E, Nishi M, Vilain E, Arnhold I, et al. Mutations in the SRY, DAX1, SF1 and WNT4 genes in Brazilian sex-reversed patients. *Braz J Med Biol Res*. 2004;37(1):145-50. doi: [10.1590/S0100-879X2004000100020](https://doi.org/10.1590/S0100-879X2004000100020).
6. Chen L, Ding X, Wei X, Li L. Investigation of mutations in the SRY, SOX9, and DAX1 genes in sex reversal patients from the Sichuan region of China. *Genet Mol Res*. 2014;13(1):1518-26. doi: [10.4238/2014.March.12.4](https://doi.org/10.4238/2014.March.12.4).
7. Bentz E-K, 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. doi: [10.1016/j.fertnstert.2007.05.056](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.05.056).
8. Moradi MT, Yari K, Khodarahmi R. A novel, efficient, fast and inexpensive DNA extraction protocol from whole blood applicable for studying drug-DNA interaction. *J Rep Pharm Sci*. 2014;3(1):80-4. doi: [10.4103/2322-1232.222550](https://doi.org/10.4103/2322-1232.222550).
9. Rajender S, Rajani V, Gupta NJ, Chakravarty B, Singh L, Thangaraj K. SRY-negative 46, XX male with normal genitals, complete masculinization and infertility. *MHR: Basic science of reproductive medicine*. 2006;12(5):341-6. doi: [10.1093/molehr/gal030](https://doi.org/10.1093/molehr/gal030).
10. Terra T, Schafer JL, Pan PM, Costa AB, Caye A, Gadelha A, et al. Mental health conditions in Lesbian, Gay, Bisexual, Transgender, Queer and Asexual youth in Brazil: A call for action. *J Affect Disord*. 2022;298:190-3. doi: [10.1016/j.jad.2021.10.108](https://doi.org/10.1016/j.jad.2021.10.108).
11. Thompson L, Sarovic D, Wilson P, Sæmfjord A, Gillberg C. A PRISMA systematic review of adolescent gender dysphoria literature: 2) mental health. *PLOS Global Public Health*. 2022;2(5):e0000426. doi: [10.1371/journal.pgph.0000426](https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0000426).
12. Karamanis G, Karalexi M, White R, Frisell T, Isaksson J, Skalkidou A, et al. Gender dysphoria in twins: a register-based population study. *Sci Rep*. 2022;12(1):13439. doi: [10.1038/s41598-022-17749-0](https://doi.org/10.1038/s41598-022-17749-0).
13. Arcelus J, Bouman WP, Van Den Noortgate W, Claes L, Witcomb G, Fernandez-Aranda F. Systematic review and meta-analysis of prevalence studies in transsexualism. *Eur Psychiatry*. 2015;30(6):807-15. doi: [10.1016/j.eurpsy.2015.04.005](https://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2015.04.005).
14. Lombardo F, Toselli L, Grasseti D, Paoli D, Masciandaro P, Valentini F, et al. Hormone and genetic study in male to female transsexual patients. *J Endocrinol Invest*. 2013;36(8):550-7.
15. Foster JW, Dominguez-Steglich MA, Guioli S, Kwok C, Weller PA, Stevanović M, et al. Campomelic dysplasia and autosomal sex reversal caused by mutations in an SRY-related gene. *Nature*. 1994;372(6506):525-30. doi: [10.1038/372525a0](https://doi.org/10.1038/372525a0).
16. Goldstein JM, Hale T, Foster SL, Tobet SA, Handa RJ. Sex differences in major depression and comorbidity of cardiometabolic disorders: impact of prenatal stress and immune exposures. *Neuropsychopharmacology*. 2018;44(1):59-70. doi: [10.1038/s41386-018-0146-1](https://doi.org/10.1038/s41386-018-0146-1).
17. Aranda G, Fernández-Rebollo E, Pradas-Juni M, Hanzu FA, Kalko SG, Halperin I, et al. Effects of sex steroids on the pattern of methylation and expression of the promoter region of estrogen and androgen receptors in people with gender dysphoria under cross-sex hormone treatment. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017;172:20-8. doi: [10.1016/j.jsbmb.2017.05.010](https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.05.010).
18. Fernández R, Delgado-Zayas E, Ramírez K, Cortés-Cortés J, Gómez-Gil E, Esteva I, et al. Analysis of four polymorphisms located at the promoter of the estrogen receptor alpha ESR1 gene in a population with gender incongruence. *Sex Med*. 2020;8(3):490-500. doi: [10.1016/j.esxm.2020.04.002](https://doi.org/10.1016/j.esxm.2020.04.002).