



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**CİNSİYET KROMOZOM DÜZENSİZLİKLERİNİN SİTOGENETİK VE  
MOLEKÜLER SİTOGENETİK VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**TEZ TİPİ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SARA KHADEM ANSARI**

**DANIŞMAN  
Doç.Dr. Muhsin ÖZDEMİR**

**2016**



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**CİNSİYET KROMOZOM DÜZENSİZLİKLERİNİN SİTOGENETİK VE  
MOLEKÜLER SİTOGENETİK VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**TEZ TİPİ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SARA KHADEM ANSARI**

**DANIŞMAN  
Doç.Dr. Muhsin ÖZDEMİR**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Sara KHADEM ANSARI' nin Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak hazırladığı “Cinsiyet Kromozom Düzensizliklerinin Sitogenetik ve Moleküler Sitogenetik Verilerinin Değerlendirilmesi” başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek “KABUL” edilmiştir.

26.01.2017

Üye : Prof.Dr. Sevilhan ARTAN

Üye : Doç.Dr. Muhsin ÖZDEMİR (Danışman)

Üye : Doç.Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN

Üye : Doç.Dr. Beyhan DURAK ARAS

Üye : Yrd.Doç.Dr. Oğuz ÇİLİNGİR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 27.01.2017 tarih ve 1168/3340 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ  
Enstitü Müdürü

## Özet

Cinsiyet kromozomlarının anomalileri prenatal ve postnatal tanıda en sık gözlenen kromozom anomalileridir ve insidansı 448 yenidoğanda birdir. Cinsiyet kromozom anomalili bireylerdeki klinik, ilgili anöploidiler ve mozaiklik durumuna göre değişkenlik gösterir ve otozomal anöploidilere göre daha hafif klinik göstermektedir. Cinsiyet gelişme bozuklukları (CGB), kromozomal, gonadal veya anatomik cinsiyet gelişiminin atipik olduğu konjenital durumlardır. Popülasyonda 1000'de bir oranında görülebilmektedir. Genital fenotipin çok geniş bir spektrum göstermesi ve pek çok vakada genotip-fenotip ilişkisinin zayıf olması nedeni ile patolojileri net sınırlar ile ayırmak zor olmuştur. Bu olgu grubunda etyolojinin belirlenmesi için fenotipik bulgular, sitogenetik ve moleküler sitogenetik ile ilişkilendirilerek analiz edilmektedir.

Çalışmamız periferik kandan cinsiyet kromozom düzensizliklerinin sitogenetik ve moleküler sitogenetik verilerinin değerlendirilmesi amacıyla Ocak 2013 ve Aralık 2015 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir. Klinefelter Sendromu, Hipogonadotropik Hipogonadizm, Ambigus Genitalya, Azoospermi, Turner Sendromu, Primer Amenore ve Primer İnfertilite ön tanıları ile kliniğimize yönlendirilmiş 469 olguda kromozom aberasyon sıklığı değerlendirilmiştir.

Retrospektif çalışmamıza dahil edilen 469 olguda, %87 (n=408) normal kromozom kuruluşu ve %13 (n=61) kromozomal anomaliler tespit edilmiştir. Toplam 61 anomalili olgunun %13.11'i (n=8) otozomal anomaliler, %86.89'u (n=53) cinsiyet kromozom anomalilerinden oluşmaktadır. Karyotipleme sonucunda, otozomal anomalilerde en çok translokasyon tipi anomaliler (n=5), cinsiyet kromozom anomalilerinde ise en çok 47,XXY (n=33) kromozom kuruluşu tespit edilmiştir. Periferik kandan elde edilen karyotip analizinde en çok Klinefelter Sendromu olgularında anomali tespit edilmiştir (%50). Takiben Hipogonadotropik Hipogonadizm (%27.27), Ambigus Genitalya (%21.43), Azoospermi (%14.2), Turner Sendromu (%12.33), Primer Amenore (%7.4) ve Primer İnfertilite (%5.13) olgularında kromozomal anomaliler gözlenmiştir.

Sonuçta retrospektif olarak bu olgu gruplarının 3 yıla ait sitogenetik ve moleküler sitogenetik analizlerinin değerlendirilmesi, bölgesel verilerin oluşturulmasında katkı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kromozomal Anomaliler, Cinsiyet Gelişim Bozuklukları, Sitogenetik Analiz, Moleküler Sitogenetik Analiz.

## Summary

Sex chromosome abnormalities are the most common chromosomal abnormalities detected on prenatal diagnosis and at birth with an estimated incidence of 1 in 448 newborns. The clinical severity of sex chromosome anomalies vary according to related aneuploidies and mosaic status and it is less than that associated with autosomal aneuploidy.

Disorders of sex development (DSDs) are congenital conditions in which development of the chromosomal, gonadal, or anatomic sex is atypical and may affect up to 1:1000 individuals in the population. The Genital phenotype has a very wide spectrum and in many cases the genotype-phenotype association is weak and it is difficult to distinguish pathologies with clear limits. In this groups Phenotypic findings are analyzed in relation to cytogenetic and molecular cytogenetics in order to determine etiology. In our study different clinical Characteristics of sexual development were investigated in order to evaluate the cytogenetic and molecular cytogenetic data in patient's peripheral blood, in Eskisehir Osmangazi University Faculty of Medicine Medical Genetics Department. Chromosome aberration frequency was evaluated in 469 cases that were referred with various clinical suspicions of sex chromosomal abnormalities, including Klinefelter Syndrome, Hypogonadotropic Hypogonadism, Ambiguous Genitalia, Azoospermia, Turner Syndrome, Primary Amenorrhea and Primary Infertility.

Karyotype results of the 469 patients revealed %87 with normal chromosome composition (n=408) and %13 with chromosomal abnormalities (n=61). Autosomal abnormalities were detected in 8 cases with a frequency of %13.11, whereas sex chromosome anomalies were identified in 53 cases with a frequency of 86.89%. In autosomal abnormalities the most commonly detected abnormalities were translocations and in sex chromosome abnormalities it was XXY. In sex chromosome abnormalities, the most commonly detected abnormality was in cases with Klinefelter Syndrome (50%). Followed by Hypogonadotropic Hypogonadism (27.27%), Ambiguous Genitale (21.43%), Azoospermia (14.2%), Turner Syndrome (12.33%), Primary Amenorrhea (7.4%) and Primary Infertility (5.13).

In conclusion, retrospective evaluation of cytogenetic and molecular cytogenetic analysis of the referral cases over 3 years contributes to formation of regional data.

Keywords: Chromosomal Anomalies, Disorders of Sex Development, Cytogenetic Analysis, Molecular Cytogenetic Analysis.

# İçindekiler

Özet.....	III
Summary.....	IV
Tablo Dizini.....	IX
Şekil Dizini.....	XII
Simge ve Kısaltmalar Dizini.....	XIII
1- GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2- GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Cinsiyetin Belirlenmesi.....	3
2.2. Bipotansiyel Gonad Gelişimi.....	3
2.2.1. Testis Gelişimi.....	3
2.2.2. Over Gelişimi.....	4
2.3. İnsan Kromozomları.....	6
2.3.1. X Kromozomu.....	6
2.3.2. Y Kromozomu.....	9
2.4. Cinsiyet Gelişim Bozukluklarının Sınıflaması.....	10
2.5. Seks Kromozom Cinsiyet Gelişim Bozuklukları.....	12
2.5.1. Klinefelter Sendromu.....	12
2.5.2. Turner Sendromu.....	13
2.5.3. 45,X/46,XY Cinsiyet Gelişim Bozukluğu.....	14
2.6. 46,XY Cinsiyet Gelişim Bozuklukları.....	15

2.6.1. Gonadal (Testiküler) Gelişim Bozuklukları.....	15
2.6.1.1. Komplet veya Parsiyel Gonadal Disgenezi....	15
2.6.1.2. Testiküler Regresyon Sendromu.....	16
2.6.2. Androjen Duyarsızlık Sendromları.....	16
2.7. 46,XX Cinsiyet Gelişim Bozuklukları.....	19
2.7.1. Gonadal (Over) Gelişim Bozuklukları.....	19
2.7.1.1. 46,XX Gonadal Disgenezi.....	19
2.7.1.2. Ovotestiküler Cinsiyet Gelişim Bozuklukları..	20
2.7.1.3. Testiküler Cinsiyet Gelişme Bozuklukları.....	21
2.8. Ambigus Genitalya.....	21
2.9. Primer Amenore.....	22
2.10. Hipogonadotropik Hipogonadizm.....	24
2.11. Azoospermi.....	25
2.12. İnfertilite.....	26
2.13. Sitogenetik Laboratuvar Teknikleri.....	27
2.14. Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH).....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	30
3.1. Gereç.....	30
3.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri.....	30
3.1.2. Kullanılan Gereçler.....	30
3.1.3. Cam Malzemeleri.....	31
3.1.4. Kimyasal Maddeler.....	31

3.1.5. Periferik Kan Lenfosit Kültür Medyumları ve Solüsyonları.....	31
3.1.6. Kullanılan Problar.....	31
3.2. Yöntem.....	32
3.2.1. Periferik Kan Lenfosit Kültürü.....	32
3.2.2. Moleküler Sitogenetik Analizi.....	33
3.2.2.1. Preparatların Ön Yıkaması.....	33
3.2.2.2. Prob Denatürasyonu.....	33
3.2.2.3. Hibridizasyon.....	34
3.2.2.4. Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar.....	34
3.2.2.5. Hibridize Olan Bölgelerin Görüntülenmesi....	34
3.2.2.6. Preparatların Mikroskopta İncelenmesi.....	34
3.2.2.7. Değerlendirme.....	35
3.2.3. Kullanılan Stok Solüsyonlar.....	35
3.3. İstatistiksel Analiz.....	37
4-BULGULAR.....	38
4.1. Hastaların Sitogenetik Bulguları.....	38
4.1.1. Sitogenetik Bulguların Değerlendirilmesi.....	49
4.2. Hastaların Moleküler Sitogenetik (FISH) Bulguları.....	49
4.2.1. Moleküler Sitogenetik Bulguların Değerlendirilmesi....	49
5- TARTIŞMA.....	53
5.1. Sitogenetik ve Moleküler Sitogenetik Yöntem ile Saptanan Anomalilerin Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması.....	54



6- SONUÇ VE ÖNERİLER.....	65
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	67
EKLER DİZİNİ.....	78
Özgeçmiş.....	79

## Tablo Dizini

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1. Cinsiyet Gelişim Bozukluklarının Karyotipe Göre Sınıflaması.....	11
Tablo 2.2. TS' da Görülen Kromozomal Yapılar.....	13
Tablo 2.3. 46,XX Gonadal Disgeneziye Yol Açan Nedenler.....	19
Tablo 2.4. Hipogonadotropik Hipogonadizm Nedenleri.....	24
Tablo 2.5. İnfertilite ile İlişkili Bazı Genetik Faktörler.....	26
Tablo 2.6. İnfertilite Olgularında Fenotipe Dayanarak, Çeşitli Genetik Testler İçin Öneriler.....	27
Tablo 3.1. Carnoy's Fiksatif Solüsyonu.....	35
Tablo 3.2. KCL Solüsyonu.....	35
Tablo 3.3. Boyamada Kullanılan Solüsyonlar.....	35
Tablo 3.4. Preparatların Ön Yıkama Solüsyonu.....	36
Tablo 3.5. Preparatların Denatürasyon Solüsyonu.....	36
Tablo 3.6. Hibridizasyon Sonrası Solüsyonlar.....	36
Tablo 3.7. Görüntülenme Sistemleri Solüsyonu.....	36
Tablo 4.1. Ocak 2013 ve Aralık 2015 Tarihleri Arasında Çalışmaya Dahil Edilen Hastalar.....	39
Tablo 4.2. Klinik Endikasyonlara Göre Kromozomal Anomalilerin Dağılımı.....	40
Tablo 4.3. Çalışmamıza Dahil Olan Olgularda Tespit Edilmiş Otozomal Anomaliler.....	41

## Tablo Dizini (Devam Ediyor)

Tablo 4.4. Azoospermi Olgularında Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler.....	42
Tablo 4.5. Turner Sendromu Endikasyonunda Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler.....	43
Tablo 4.6. Klinefelter Sendromu Endikasyonunda Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler.....	43
Tablo 4.7. Primer İnfertilite Endikasyonunda Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler.....	44
Tablo 4.8. Ambigus Genitalya Endikasyonunda Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler.....	45
Tablo 4.9. Hipogonadotropik Hipogonadizm Endikasyonunda Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler.....	45
Tablo 4.10. Primer Amenore Endikasyonunda Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler.....	46
Tablo 4.11. Karyotip ve FISH Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	51
Tablo 5.1. Çalışmamızda Azoospermi Olgularında Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması.....	56
Tablo 5.2. Çalışmamızda Turner Sendromu Endikasyonu ile Başvuran Olgularda Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması.....	58
Tablo 5.3. Çalışmamızda Klinefelter Sendromu Endikasyonu ile Başvuran Olgularda Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması.....	59
Tablo 5.4. Çalışmamızda Ambigus Genitalya Endikasyonu ile Başvuran Olgularda Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması.....	60
Tablo 5.5. Çalışmamızda Hipogonadotropik Hipogonadizm Endikasyonu ile Başvuran Olgularda Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması.....	60

## **Tablo Dizini (Devam Ediyor)**

Tablo 5.6.Çalışmamızda Primer İnfertilite Olgularında Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması.....	62
Tablo 5.7. Çalışmamızda Primer Amenoreli Olgularda Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması.....	64

## Şekil Dizini

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Bipotansiyel Gonaddan Testis ve Over Gelişimi.....	6
Şekil 2.2. X Kromozom Merkezi.....	7
Şekil 2.3. X Kromozom İnaktivasyon Kontrol Noktaları.....	8
Şekil 2.4. İnsan X Kromozomu.....	9
Şekil 2.5. İnsan Y Kromozomu Üzerindeki Sekans Sınıfları, Genler ve Palindromlar.....	10
Şekil 2.6. X Kromozomunun Uzun Kolunda İnsan Androjen Reseptör geni.....	17
Şekil 2.7. Hücrede Androjen Etkinin Genel Mekanizması.....	18
Şekil 2.8. Primer Amenoreye Tanısal Yaklaşım.....	23
Şekil 2.9. İnsan Y Kromozomu.....	25
Şekil 4.1. 47,XXY Karyotipi.....	47
Şekil 4.2. 46,XY,t(5;12)(q15;q24.3) Karyotipi.....	47
Şekil 4.3. 46,X,i(X)(q10) Karyotipi.....	48
Şekil 4.4. 46,X,der(X) Karyotipi.....	48
Şekil 4.5. 46,XX, SRY Pozitif FISH Görüntüsü.....	52
Şekil 4.6. 46,XY,t(5;12)(q15;q24.3) FISH Görüntüsü.....	52

## Simge ve Kısaltmalar Dizini

CGB	Cinsiyet Gelişim Bozuklukları
KS	Klinefelter Sendromu
TS	Turner Sendromu
HH	Hipogonadotropik Hipogonadizm
SRX	Sex determining region Y
AR	Androjen Reseptör
ISCN	International System for Human Cytogenetic Nomenclature
FISH	Floresan In situ Hibridizasyon
KCL	Potasyum klorür
NaCl	Sodyum Klorür
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Potasyum dihidrojen Fosfat
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Di-Sodyum Hidrojen Fosfat
PBS	Phosphate buffered saline
SSC	Saline-Sodium Citrate
DAPI	4',6'-diamino-2-fenilindol
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
RPM	Round Per Minute

## 1- GİRİŞ VE AMAÇ

Cinsiyet kromozomlarının anomalileri prenatal ve postnatal tanıda en sık gözlenen kromozom anomalileridir. İnsidansı 448 yenidoğanda birdir. Cinsiyet kromozom anomalili bireylerdeki klinik, ilgili anöploidiler ve mozaiklik durumuna göre değişkenlik gösterir ve otozomal anöploidilere göre daha hafif klinik göstermektedir. Bunun sebebi X kromozom inaktivasyonu ve Y kromozomunun gen içeriğinin az oluşudur (Al-Alawi, Goud, Al-Harasi & Rajab, 2016).

Reproduktif çağıdaki evli çiftlerin %22'inde infertilite çok önemli bir problemdir (Dada, Thilagavathi, Venkatesh, Esteves & Agarwal, 2011). Bu olguların ortalama olarak %30-50'si erkek faktörüne bağlı infertilite olgularıdır. Erkek infertilitesinde kromozomal anomalilerin oranı azospermik erkeklerde %10 ile %23.62 ve oligospermi olgularında %1.10 ile %13.33 oranındadır (Naasse vd., 2015). İnfertil erkeklerde görülen en sık kromozom anomalisi Klinefelter Sendromudur.

Turner Sendromu (45,X), primer amenore şikayeti ile başvuran olgularda en sık gözlenen gonadal yetmezlik sendromudur ve kadınlarda cinsel gelişim sorunlarının en sık nedenidir (%30). İnsidansı 2000 canlı kız yenidoğanda birdir (Hong & Reiss, 2014). 45,X kromozom kuruluşuna sahip embriyoların yalnızca %1'inde canlı doğum gerçekleştiği bildirilmiş olup tüm abortusların %10'unu oluşturmaktadır (Sybert & McCauley, 2004). Turner Sendromunda cinsiyet kromozomlarının yapısal anomalilerine daha çok rastlanır; vakaların en az % 15'inde tam ya da mozaik formda gözlenilebilen X kromozomunun uzun kolunun izokromozomu [i(Xq)] en sık gözlenen kromozomal yeniden düzenlenmedir (Hong & Reiss, 2014).

Cinsiyet gelişme bozuklukları (CGB), kromozomal, gonadal veya anatomik cinsiyet gelişiminin atipik olduğu konjenital durumlardır. Popülasyonda 1000'de bir oranında görülebilmektedir. Oldukça geniş bir spektrumu olan CGB'nun şimdiye kadar değişik sınıflamaları yapılmıştır. Genital fenotipin çok geniş bir spektrum göstermesi ve pek çok vakada genotip-fenotip ilişkisinin zayıf olması nedeni ile patolojilerini net sınırlar ile ayırmak zor olmuştur (Ostrer, 2014). Bu olgu grubunda etyolojinin belirlenmesi için fenotipik bulgular, sitogenetik ve moleküler sitogenetik ile ilişkilendirilerek analiz edilmektedir.

Cinsiyet gelişim bozukluklarının sınıflandırmasında, seks kromozom CGB, 46,XY CGB ve 46,XX CGB üç temel formu kullanılmaktadır. Seks kromozom CGB, sayısal cinsiyet kromozom anomalilerle ilişkilidir ve anormal gonadal gelişmeye yol açmaktadır. Seks kromozom CGB grubunda Turner

sendromu ve varyantları, Klinefelter sendromu ve varyantları ve 45,X/46,XY CGB yer almaktadır (Rey & Grinspon, 2011).

Cinsel gelişim anomali nedenlerinin erken dönemde tespit edilmesi, etkilenen olguların erken dönemde cinsel kimliğinin belirlenmesi ve tedavisinin yönlendirilmesi açısından oldukça önemlidir. Özellikle infertilite, gecikmiş puberte, cinsel belirsizlik ve primer amenore olgu gruplarında kromozomal anomalilerin tespiti bu hastaların tanı ve tedavisinde büyük katkı sağlamaktadır (Al-Alawi vd., 2016).

Sitogenetik analiz verimlilik veya bilinmeyen cinsel sorunları olan bireyleri araştırmak için en yararlı yaklaşımlardan biridir (Jouyan, Dehaghani, Senemar, Shojaee & Mozdarani, 2012). Moleküler sitogenetik teknikler konvansiyonel sitogenetik eksikliklerini tamamlamak için kullanılan tekniklerdir ve Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) en çok uygulanan moleküler sitogenetik tekniklerden biridir. Bu yöntem aracılığıyla 1-3Mb arasında olan yapısal düzensizlikler saptanabilmektedir (Durak, 2005). FISH tekniği ile tanımlanmamış marker kromozomu ve kırık noktaları belirlenmiş translokasyon, inversiyon, insersiyon, mikrodelesyonlar gibi yapısal kromozomal yeniden düzenlenmeler ve sayısal kromozom anomalileri tespit edilebilmektedir (Vogelstein & Kinzler, 2002).

Çalışmamızda Azoospermi, Turner Sendromu, Klinefelter Sendromu, Primer İnfertilite, Ambigus Genitalya, Hipogonadotropik Hipogonadizm ve Primer Amenore ön tanıları ile kliniğimize yönlendirilmiş olgularda kromozom aberasyon sıklığı değerlendirilmiştir. Retrospektif olarak bu olgu gruplarının 3 yıla ait sitogenetik ve moleküler sitogenetik analizlerinin değerlendirilmesi ile bölgesel verilerin oluşturulmasına katkı sağlayacaktır. Bununla beraber olguların sitogenetik, moleküler sitogenetik verileri ve klinik özelliklerinin birlikte değerlendirilmesi ile genotip ve fenotip arasındaki uyum oranı gösterilecektir. Olguların sitogenetik sonuçları "International System for Human Cytogenetic Nomenclature" (ISCN) kurallarına uygun olarak yazılmıştır (ISCN 2013 ve 2016).



## 2- GENEL BİLGİLER

### 2.1. Cinsiyetin Belirlenmesi

Genetik olarak embriyonun cinsiyeti fertilizasyon anında belirlenmiştir, ancak cinse özgü gonadlar ve fenotipin oluşması çok fazla genler ile kontrol edilmektedir. Cinsiyet belirlemedeki ilk aşama bipotansiyel gonadın testis veya over yönünde gelişim sürecidir. Embriyonel dönemin başlarında, ara mezoderm tabakasının üzerinde ürogenital çıkıntı gelişir. Bu çıkıntının kalınlaşmasından sonra bipotansiyel gonad oluşur. Bipotansiyel gonadlardan testis veya over gelişimi için cinsiyet kromozomları gereklidir. Germ hücreleri gonad içine göç eder. Somatik hücrelerin farklılaşması da cinsiyetin belirlenmesine katkıda bulunur. XY embriyoda çölemik epitelden gelen hücreler germ hücrelerini sarar ve testiküler kordonları oluşturur. Sertoli hücrelerine farklılaşır. Ayrıca gonad içinde testosteron yapımının gerçekleştiği steroidojenik hücreler olan leyding hücreleri gelişir. XX embriyoda over stroması içinde steroidojenik hücreler olarak teka hücreleri, overde destek hücreleri olarak görev yapan granuloza hücrelerine farklılaşırlar. Teka hücreleri içinde cins steroidi sentezi başlar, androstenedion yapılır. Bu hormon granuloza hücrelerinde östron ve östradiole dönüşür (Ono & Harley, 2013).

### 2.2. Bipotansiyel Gonad Gelişimi

Ürogenital çıkıntının ve bipotansiyel gonadların gelişiminde çeşitli transkripsiyon faktörleri rol almaktadır. *LHX1* (LIM homeobox gen 1), *EMX2* (Empty spiracles homeobox 2), *IGFR1* (Insulin-like growth factor 1 receptor), *WT1* (Wilms tumor 1), *SF1* (Steroidogenik faktor 1) ve *GATA4* (GATA binding protein 4) bu faktörler arasında yer alır (Quigley & Vilain, 2006).

#### 2.2.1. Testis Gelişimi

Bipotansiyel gonadlar, konsepsiyondan sonra insanlarda 6. haftada, XY embriyoda Y kromozomu üzerinde yer alan ve testis belirleyici faktörü kodlayan *SRY* (Sex determining region Y) geni ile testis yönünde farklılaşmaya başlar. Gonad gelişiminin başında anahtar rolü olan *SRY*'nin ekspresyonu *SF-1*, *WT1*, *GATA4*, *GATA4*'ün kofaktörü olan "zinc finger protein" (*FOG-2/ZFPM2*) ve *CBX2* (chromobox protein homolog 2) tarafından düzenlenmektedir. Testis gelişimi için gonositlerin öncülleri olan germ hücrelerinin yanında, somatik hücrelerin varlığı gereklidir. Sertoli, Leydig hücreleri ve peritubuler miyoid hücreler somatik hücreleri oluşturur. Sertoli hücreleri, germ hücrelerini 7. haftada sarar, peritubuler miyoid hücreler ile etkileşerek bazal membran ve testiküler kord oluşumu başlar (Sekido & Lovell-Badge, 2013).

SRY geni, Y kromozomunun kısa kolunda, psödootozomal bölgede (Yp11.3) yer alır. SRY'nin hedef geni *SOX9*'dur. *SRY* insanlarda *SF1* ile birlikte *TESCO*'ya (testis spesifik *SOX9* arttırıcı çekirdek element) bağlanarak *SOX9* ekspresyonunu arttırmaktadır. (Biason-Lauber, 2010).

*SOX9*, 17. kromozomunun uzun kolunda yer alır (17q24-q25). Bu gen testis gelişiminde anahtar rolü oynar, *SF1* ile birlikte *TESCO*'ya bağlanır ve ekspresyonunu devam ettirir. *FGF9/PGD2* (Prostaglandin D2) üzerinde uyarıcı etkiye sahiptir. *SOX9* gen ekspresyonunun artışı, sertoli hücre oluşumu ve testis farklılaşmasını başlatmaktadır. *SOX9* Aynı zamanda AMH ekspresyonunu arttırır ve over gelişimini sağlayan *RSPO1*, *FOXL2*, *WNT4*, *DAX1* vb. genlerin ekspresyonunu baskılar (Lavery, 2012).

*DAX1 (NROB1)*, X'e bağlı antitestis geni Xp21.3-p21.1 üzerinde yer alır. *DAX1* geni her iki gonadın gelişiminde gerekli bir gendir. Ancak gereken dozlar cinsiyete göre değişkendir. *DAX1* duplikasyonlarında *SF1* genini antagonize eder ve XY bireyde cinsiyet değişimine neden olur (McClelland, Bowles & Koopman, 2012).

*DMRT1* (Doublesex and mab-3 related transcription factor 1), *SF1* genine benzer bir role sahip olduğu düşünülmektedir. Erken dönemde primordial gelişiminde görevi vardır ve daha sonra, testise özgü faktör olarak rol oynar. İnsanlarda *DMRT1*, 2 ve 3 genleri 9p24.3 üzerinde yer alır. İnsanlarda 9p24.3 delesyonu over gelişiminin bozulmasına, hipergonadotropik hipogonadizme neden olur (Eggers & Sinclair, 2012).

*DHH (FGF9)*, peptid olan bir sinyal proteinidir. Sertoli hücrelerini "Patched2" transmembran reseptörlerini aktive ederek uyarır. *DHH* geni 12q13.1 üzerinde yer alır. *SRY* uyarısından sonra sertoli hücre öncüllerinde eksprese edilmeye başlar ve ekspresyonu erişkin dönemde de devam eder. Erkeklerde *DHH/Patched2* germ hücrelerinin mayoz ve mitoz bölünmesini düzenlenmektedir. İnsanlarda, 46,XY bireylerde *DHH* geninde mutasyonlar kısmi veya tam gonadal disgeneziye yol açar (Sekido & Lovell-Badge, 2013).

### **2.2.2.Over Gelişimi**

XX gonadda over gelişimini sağlayan *RSPO1* (R-spondin 1), *WNT4*, *FOXL2* (Fork-headbox protein), *FST* (folistatin) genleri eksprese edilir ve böylece testis gelişimi engellenir. *RSPO1*,  $\beta$ -katenin ileti yolağını, muhtemelen *WNT4*'ün katkısı ile harekete geçirir. *RSPO1* ve *WNT4* arasındaki ilişki tam olarak bilinmemektedir. Overlerde  $\beta$ -katenin yolağı *R-spondin 1*, *WNT4* ile veya her ikisi ile birlikte uyarılmaktadır.  $\beta$ -katenin yolağının aktivasyonu

*SF1*'in *TESCO*'ya bağlanmasını engeller ve böylece erkek yönünde farklılaşma yolağı baskılanır (Tevosian, 2013).

R-spondinler  $\beta$ -katenin aktivatörleridir. İnsan *RSPO1* geni 1. kromozomun kısa kolu (1p34.3) üzerinde yer almaktadır. *RSPO1* ve *WNT4* XX gonadda eksprese edilir ve böylece  $\beta$ -katenin aktivasyonu gerçekleşir. *RSPO1* geni anti-testis etkisi gösterir. İnsanlarda XX gonadda *RSPO1* geninde homozigot mutasyonlar (çerçeve kayması, tam delesyon) testis veya ovotestis gelişimine yol açmaktadır (Ono & Harley, 2013).

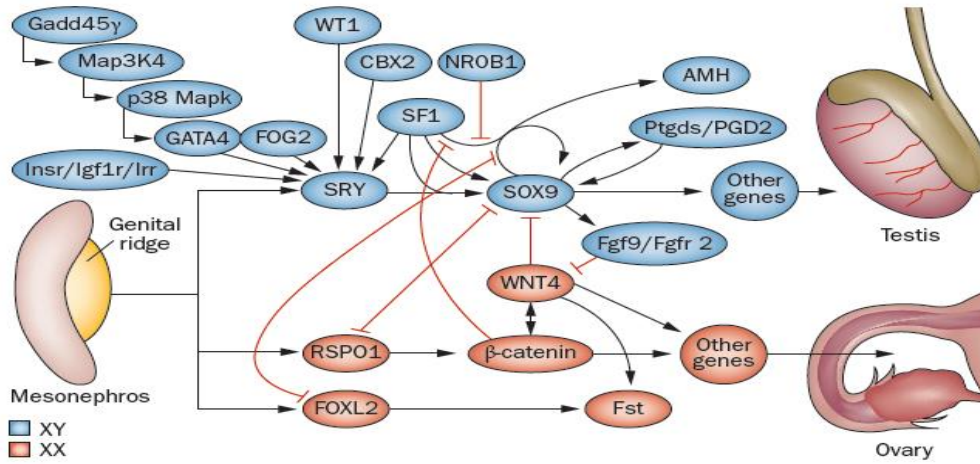
*WNT4* geni insanlarda 1p35-36 üzerinde yer almaktadır. Over farklılaşması yanında her iki cinste başlangıçta müllerian kanalların gelişimini etkiler. *WNT4*'ün over gelişiminde önemli rolünün yanısıra aynı zamanda tam erkek yönünde gelişim için de gereklidir (Biason-Lauber, 2010).

$\beta$ -katenin, normal hücre büyümesinin sağlanmasında birleştirici kavşak proteini olarak rol oynamaktadır. İnsan  $\beta$ -katenini 3p21 üzerinde yer alır ve *CTNNB1* geni tarafından kodlanmaktadır. *WNT1* ve *RSPO1* uyarısı ile ileti yolağı 3 ayrı yoldan uyarılabilmektedir. *Wnt/*  $\beta$ -katenin yolağı en sık kullanılan yoldur. Somatik hücrelerde  $\beta$ -katenin genin aşırı eksprese edildiği XY gonadlarda dişi yönünde farklılaşma başlar ve böylece testiküler kordonları bozulmakta, erkek gelişiminde görev alan *SOX9* ve AMH azalmakta, dişi yönünde gelişmeye yol açan *FOXL2*, *BMP2*, *WNT4* ve *FST* gibi faktörler artmaktadır (Quigley & Vilain, 2010).

*FOXL2* (Forkhead box L2) transkripsiyon faktörüdür, geni insanda 3q23 üzerinde yer almaktadır. *FOXL2* geni, ovarian foliküllerin ve overin gelişimi için gereklidir. İnsanda bu genin fonksiyon kaybında 46,XX gonadal disgenezi geliştiği gösterilmiştir (Tevosian, 2013).

*FST*, TGF- $\beta$  üst ailesi ile ilişkili, tek zincirli glikoliz bir proteindir. Granulosa hücrelerinden salgılamakta ve hücre farklılaşmasını kontrol etmektedir. İnsanda 5q11.2 üzerinde yer alır. *FST*, *WNT4* yolağını kontrol eder, antitestis faktör olarak rol oynar. Oosit yaşamı ve oogenezin sürdürülmesini sağlar, normal over gelişiminde rol almaktadır (Biason-Lauber, 2010).

Bipotansiyel gonaddan testis ve over yönünde farklılaşmada rol alan faktörler Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Bipotansiyel Gonaddan Testis ve Over Gelişimi (Ono & Harley, 2013)

## 2.3. İnsan Kromozomları

Eşey hücreleri hariç vücut oluşumuna katılan tüm hücreler somatik hücreler olarak bilinmektedir. İnsan somatik hücrelerindeki 46 kromozom 23 çift halindedir. Bu 23 çiftin 22 si dişi ve erkeklerde benzer olup otozomal kromozom olarak adlandırılır ve en büyükten en küçüğe doğru sıralanır. Geri kalan çift seks kromozomlarıdır. Dişilerde XX ve erkeklerde XY halindedir. Her kromozom DNA üzerinde linear dizili farklı gen seti taşır. Homolog kromozomlar birbiri ile uyumlu genetik bilgi taşırlar. Bununla birlikte, herhangi bir spesifik lokusta aynı genin özdeşi veya çok az farklı formu olabilir ve allel olarak adlandırılır (Nussbaum, 2005).

### 2.3.1. X Kromozomu

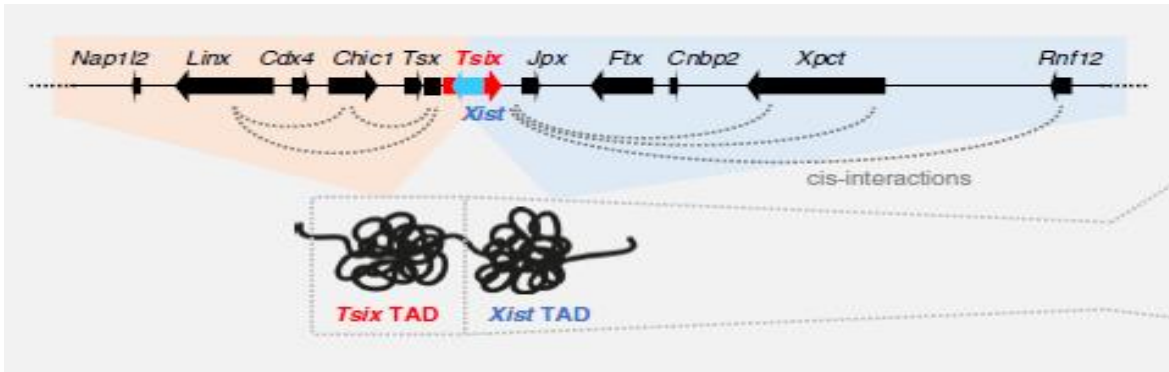
İnsanlarda X kromozomu 153 milyon ve üzeri baz çiftine ve yaklaşık 1529 gene sahiptir (Shabsovich & Tirado, 2014). X kromozomu anöploidileri en sık rastlanan sitogenetik anomaliler arasındadır. İnsan karyotipinin X kromozomu anomalilerine karşı toleransının olması en iyi X kromozom inaktivasyonu ile açıklanabilir. Erkeklerde X'e bağlı genlerin her biri için bir kopya, dişilerde ise iki kopya bulunmasına karşın, erkekteki tek bir allele dişideki bir çift allelin ürün miktarı genellikle birbirine denktir. Bu dozaj telafisine ulaşılması için geçerli mekanizma "Lyon hipotezi" olarak bilinen X inaktivasyonu (Xi) ilkesiyle açıklanabilir.

Dişi memelilerin somatik hücrelerde sadece tek bir X kromozomu translokasyonel olarak aktif haldedir. İkinci X, heterokromatik ve inaktif olup interfaz hücrelerinde cinsiyet kromatini Barr cisimciği olarak görünür.

İnaktivasyon embriyonik yaşamın fertilizasyondan hemen sonra başlayan erken dönemlerinde görülür. Dişi somatik hücrelerinin her birinde inaktif X anneden veya babadan gelen X olabilir. Bir hücrede hangi X'in inaktif olacağı tamamen rastgeledir, ancak bir hücrede bir X kromozomu inaktif olduktan sonra, bu hücreden oluşan tüm hücrelerde aynı X inaktif kalır (Nussbaum, 2005).

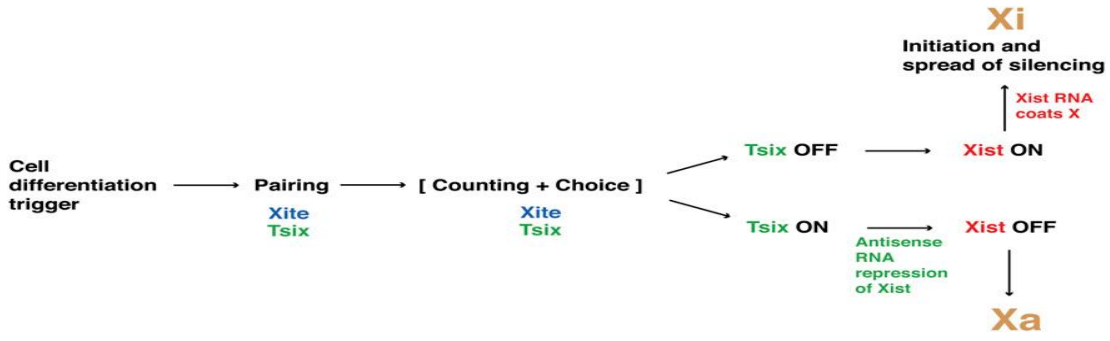
İnaktif X kromozomu üzerindeki çok sayıda genin oluşturduğu promotor bölge, DNA metiltransferaz enziminin sitozine metil grubu eklemesiyle büyük ölçüde modifiye edilir. Bu DNA metilasyonu, CpG dinükleotid alanlarıyla sınırlıdır ve inaktif kromatin oluşumuna katkıda bulunur. Histonları ilgilendiren bu tür ve diğer kromatin modifikasyonları, X inaktivasyonu mekanizmalarının unsurlarından sayılabilir (Nussbaum, 2005).

X kromozomu üzerindeki en önemli genlerden biri Xq13.2'de olduğu *XIST*(Xi-specific transcript) genidir ve embriyogenezde X inaktivasyonundan sorumludur (Shabsovich & Tirado, 2014). *XIST* aktif X kromozomu üzerinde erkek ve dişi hücrelerin her ikisinde transkripsiyonel olarak sessiz iken, sadece inaktif X'ten eksprese olur (Nussbaum,2005). *XIST*'in nasıl etkilendiği tam olarak bilinmiyor fakat yokluğunda X inaktivasyonu gerçekleşmez. *XIST*'in ürünü olan kodlama özelliği olmayan RNA nükleusta inaktif X'e yakın *XIST* RNA/ Barr cisimciği kompleksinin parçası olarak kalır. X inaktivasyon merkezi (Xic), *XIST* ve onun bazı bilinen regülatörlerini içerir. Örneğin *Tsix*, aktivatör *Rnf12* ve diğer pozitif düzenleyiciler (*Jpx*, *Ftx*, *Xpr*)(Galupa & Heard, 2015)(Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. X Kromozom Merkezi (Galupa & Heard, 2015)

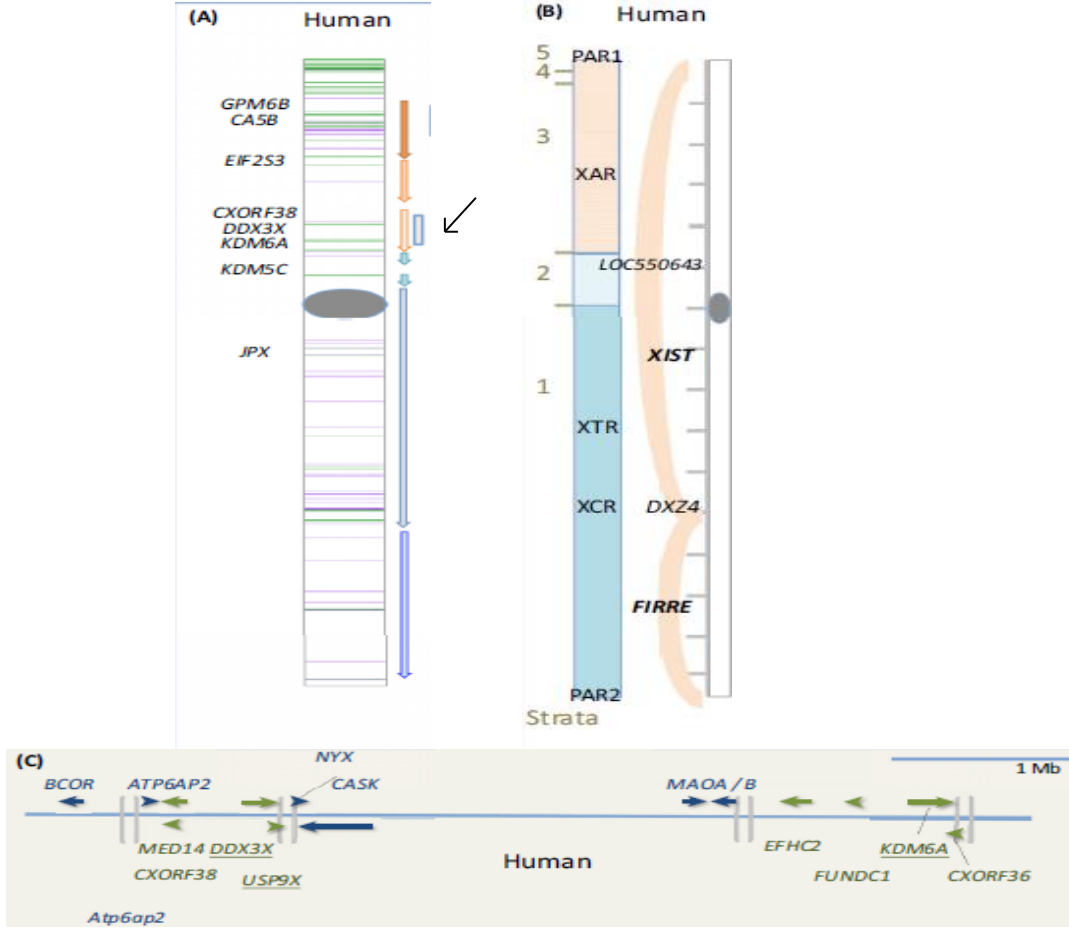
*Tsix* (*XIST* antisense RNA), *XIST*'i baskılar ve böylece *XIST* transkriptlerinin birikmesini engeller. İnaktive olacak olan X kromozomunda *Tsix* baskılanır böylece *XIST*'in baskılaması ortadan kalkar (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. X Kromozom İnaktivasyon Kontrol Noktaları (Lee, 2009)

X inaktivasyonu, kromozomun tümü boyunca olduğu bilinsede, X üzerindeki genlerin tümü inaktivasyona maruz kalmamaktadır (Şekil 2.4.). İnsanda X'e bağlı genlerin yaklaşık yüzde 12 ile 20'si inaktivasyondan kaçarak aktif ve inaktif X kromozomundan eksprese olabileceği gösterilmiştir (Balaton & Brown, 2016). Bu genler X kromozomu üzerinde rastgele dağılmamıştır. Xp üzerindeki genler Xq üzerindikilerden daha fazla inaktivasyondan kaçır. Bu nedenle X kromozomun parsiyel anöploidilerinde, Xp üzerindeki genlerde oluşan dengesizliğin klinik önemi genetik danışma açısından Xq'nun dengesizliğinden daha fazla olabilir.

İnaktivasyondan kurtulan X'e bağlı genler üç sınıfa ayrılır. Bunlardan Biri X'in uzun ve kısa kollarının en ucunda psödotozomal bölgede yer alan genlerdir, bu bölge Y kromozomuyla eşleşen dizilerinden dolayı X ve Y kromozomlarının mayoz bölünme sırasında crossing over ile materyal değişimine olanak tanır. İnaktivasyondan kurtulan X'e bağlı genlerin ikinci bir sınıfı kısa koldaki ve uzun koldaki psödotozomal bölgenin dışında kalır. Y kromozomu üzerinde bu genlerin benzer kopyaları vardır, dolayısıyla hem erkekler hem dişiler bu genlerin iki aktif kopyasını bulundurlar. İnaktivasyondan kurtulan üçüncü sınıf gen, X kromozomun psödotozomal bölgesinin dışında yer alır ve Y üzerinde bir kopya bulundurmazlar (Balaton & Brown, 2016).



Şekil 2.4. İnsan X kromozomu A) İnsan X kromozom inaktivasyonundan kaçan 62 genin (yeşil çizgiler, kaçan gen yoğunluğunu yansıtır) ve 16 değişken (mor çizgiler) kaçan genlerin yerleri B) X kromozomu için önerilen evrimsel tabakalar (XAR, XCR, XTR, PAR1 ve PAR2 gibi) C) Şekil A'da ok'la işaretlenmiş dikdörtgen, X inaktivasyonundan kaçan genler (yeşil) ve diğer genlerin (mavi)yerleri, TAD sınırları ile karşılaştırılmaktadır. (Balaton & Brown, 2016).

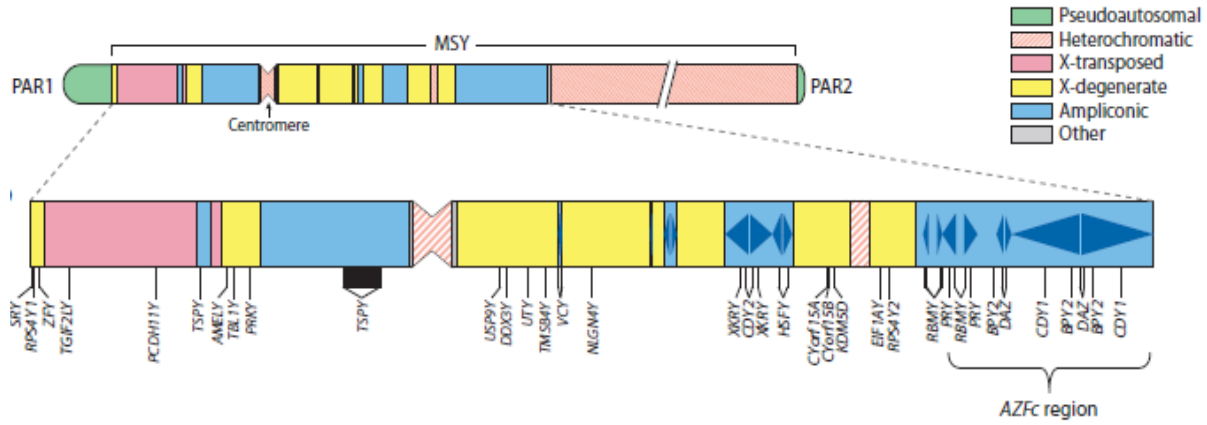
### 2.3.2. Y kromozomu

Memelilerde Y kromozomu, cinsiyet tayini ve normal sperm üretimi için önemli rol oynar. Y kromozomu yaklaşık 59 milyon baz çiftine ve 50-60 gene sahiptir (Shabsovich & Tirado, 2014). İnsan Y kromozomu heterojendir ve 5 farklı diziden oluşur; Psödootozomal, heterokromatik, X-transposed, X-degenerate ve ampliconic bölgeler (Hughes & Rozen, 2012 )(Şekil 2.5.).

Erkek mayozunda, X ve Y kromozomları normal olarak kısa kollarının uçlardaki kısımlarla eşleşir ve bu bölgelerle rekombinasyona uğrar. Eşleşen kısımlar X ve Y kromozomlarının psödootozomal bölgelerini içerir. İnsan MSY'nin (male-specific region of the Y chromosome) önemli bir kısmı, uzun

kolda tek ~40 Mb heterokromatik kütlesi de dahil olmak üzere bir kaç ayrı heterokromatik dizi bloğu içerir.

İnsan MSY ökromatin kısımları X-transposed, X-degenerate ve ampliconic bölgeleri içerir. X-transposed bölgeler sadece iki geni içerirler (Hughes & Rozen, 2012 ). X degenerate ve ampliconic bölgeler, en önemli ökromatin MSY dizi sınıflarını oluştururlar. Ampliconic diziler, çok tekrarlayan, gen açısından yoğun, işlevsel olarak uzmanlaşmış dizilerdir (Hughes & Rozen, 2012). Ampliconic bölgeler; büyük ölçekli delesyonlar, inversiyonlar ve duplikasyonlara son derece yatkındırlar. Bunlardan bazılarının ciddi fenotipik sonuçları bulunmaktadır (klinik olarak düşük sperm sayısı gibi ) (Hughes & Rozen, 2012).



Şekil 2.5. İnsan Y Kromozomu Üzerindeki Sekans Sınıfları, Genler ve Palindromlar (Hughes & Rozen, 2012 )

## 2.4. Cinsiyet Gelişim Bozukluklarının Sınıflaması

"The Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society (LWPEW)" ve "European Society for Pediatric Endocrinology (ESPE)" uzlaşısı grubu tarafından "intersex" tanımı, cinsel gelişim bozuklukları ("disorders of sex differentiation": DSD) başlığı altında değerlendirerek yeni bir sınıflama oluşturulmuştur (Hughes vd., 2006).

Cinsiyet gelişme bozuklukları , kromozomal, gonadal veya anatomik cinsiyet gelişiminin atipik olduğu konjenital durumlardır. Popülasyonda 1000'de bir oranında görülebilmektedir. Genital fenotipin çok geniş bir spektrum göstermesi ve pek çok vakada genotip-fenotip ilişkisinin zayıf olması nedeni ile patolojilerini net sınırlar ile ayırmak zor olmuştur (Ostrer, 2014). Cinsiyet gelişim bozukluklarının yeni sınıflamasında, karyotip ön planda çıkmaktadır (Tablo 2.1).



Tablo 2.1. Cinsiyet Gelişim Bozukluklarının Karyotipe Göre Sınıflaması (Rey & Grinspon, 2011)

<b>Seks Kromozom CGB</b>	<b>46,XY CGB</b>	<b>46,XX CGB</b>
A. 47,XXY (Klinefelter Sendromu ve varyasyonları) B. 45,X (Turner Sendromu ve varyasyonları) C.45,X/46,XY Cinsiyet gelişim bozukluğu (Miks gonadal disgenezi)	A.Gonadal (testiküler) gelişim bozuklukları 1- Komplet veya parsiyel gonadal disgenezi(örn: SRY, SOX9, SF1, WT1 vb. gen defektleri) 2- Ovotestiküler CGB 3-Testis regresyonu	A.Gonadal (over) gelişim bozuklukları 1- Gonadal disgenezi 2- Ovotestiküler CGB 3- Testiküler CGB (örn:SRY+, SOX9 dup, RSP01 gen defektleri)
	B.Androjen Sentezinde veya etkisinde bozukluk 1-Androjen sentez bozuklukları a)LH reseptör mutasyonları b)Smith-Lemli-Opitz sendromu c)Star protein mutasyonu d)20,22desmolaz eksikliği(CYP11A1) e)3β-hidroksisteroid dehidrogenaz(HSD3B2) eksikliği f)17α-hidroksilaz/17-20 liyaz(CYP17) eksikliği g)P450-oksidoredüktaz(POR) eksikliği h)17β-hidroksisteroid dehidrogenaz(HSD17B3) ı)5α-redüktaz2(SRD5A2) 2-Androjen etkisinde bozukluk a)Androjen insensivite sendromu b)İlaçlar ve çevresel faktörler	B.Androjen fazlalığı 1-Fetal a)3β-hidroksisteroid dehidrogenaz(HSD3B2) eksikliği b)21-hidroksilaz(CYP21A2) eksikliği c)P450-oksidoredüktaz(POR) eksikliği d)11β-hidroksilaz(CYP11B1) eksikliği e)Glukokortikoid direnci 2-Fetoplasental a)Aromataz(CYP19) eksikliği b)P450-oksidoredüktaz(POR) eksikliği 3-Maternal a)Maternal virilizan tümörler b)Androjenik ilaçlar
	C.Diğer 1-Sendromerik CGB 2-Kalıcı Mülleriye kanal sendromu 3-Yok olan testis sendromu 4-Erkek genital gelişimin sendromik birliktelikleri	C.Diğer 1-Sendromerik CGB (kloakal anormallikler) 2-Mülleriye agenezi/hipoplazi (MURCS) 3-Uterin anormallikler (MODY5) 4-Vajinal atrezi(KcKusick-kaufman) 5-Labial yapışıklık

## 2.5. Seks Kromozom Cinsiyet Gelişim Bozuklukları

### 2.5.1. Klinefelter Sendromu

Klinefelter Sendromu (KS), erkeklerde en sık görülen cinsiyet kromozom bozukluğudur. Erkek yenidoğan bebeklerde yaklaşık 600'da bir görülmektedir (Maske & Kannamwar, 2016). Bu durumda, etkilenen XY fetusun hücrelerinde bir veya daha fazla ek X kromozomu bulunur. Azoospermik hastaların %11'inin ve infertil erkeklerin %3'ünün etyolojisinde KS'nun rol oynadığı tespit edilmiştir (Peynirci & Ertürk, 2013). KS'unun tipik klinik özellikleri farklı seviyelerde hipogonadizm bulguları, atrofik testisler ve jinekomastidir. Bu Sendromda X kromozom çiftinin ayrılmasında başarısızlık söz konusudur.

Klinefelter vakalarının yaklaşık yarısında neden, paternal mayoz-1'de hata ile sonuçlanan psödootozomal bölgedeki normal Xp/Yp rekombinasyonundaki başarısızlıktır. Maternal orijinli vakaların çoğunluğu maternal mayoz-1, geri kalanı ise mayoz-2 ya da mozaizme neden olacak post-zigotik mitotik hatalar sonucu oluşur. Maternal mayoz-1'deki hatalarla giden vakalarda anne yaşı ileridir (Nussbaum, 2005). Etkilenen kişilerin %80'i klasik XXY karyotipi taşırlar. Geri kalan %20'si yüksek derecede kromozomal anöploidi (48,XXX, 48,XXYY, 49,XXXXY) veya mozaizim (46,XY/47,XXY) gösterirler (Messina, 2012). KS varyantları arasında SRY pozitifliği olan 46,XX karyotipi de yer alır. İzokromozom Xq gibi yapısal kromozom anomalilerinin tüm KS'lu olguların %0.3-0.9'unu oluşturduğu tahmin edilmektedir (Peynirci & Ertürk, 2013).

Hastaların fenotipik olarak farklı özellikler göstermesi, kendi kişisel genetik çeşitliliği dışında çok sayıda genetik mekanizma ile açıklanabilir. Bunlar arasında, gen dozaj etkileri, fazla X kromozomunun kaynaklandığı ebeveyn ile birlikte inaktive olan X kromozomunun durumu, fenotipi belirleyen faktörler arasındadır. AR geninin ekzon 1'in N terminali oldukça polimorfik CAG tekrarı içerir ve bunun uzunluğu reseptör aktivitesi ile ters ilişkilidir. Uzun CAG tekrarı gösteren KS'lu hastalarda, puberte daha geç başlar ve yavaş ilerler, testisin dejenerasyon süreci de yavaştır. KS'lu hastalarda AR geninde CAG tekrarı artışı, östrojenin artması ile ilişkilidir. Bu da hastaların fenotipik özelliklerini etkiler ve farklılık yaratır (Wikström & Dunkel, 2011).

KS'lu hastalarda uzun bacaklar ve uzun boyun açıklamasını X kromozomunun psödootozomal bölgesinde bulunan SHOX geni gibi büyüme ile ilgili genlerin aşırı ekspresyonu ile açıklanabilir. AR geninde CAG tekrarları artarsa, boy uzar ve jinekomasti sıklığı artar (Wikström & Dunkel, 2011).

## 2.5.2. Turner Sendromu

Turner Sendromu (TS), kısmi veya tam X kromozomu monozomisi ile karakterize kromozomal bir bozukluktur. İnsidansı canlı doğan kızlarda 2000'de birdir (Hong & Reiss, 2014), ancak karyotipi 45,X olan embriyoların sadece %1'inin canlı doğduğu belirtilmektedir. Bu yüksek abortus oranı turner sendromunun tüm spontan abortusların yaklaşık %10'unundan sorumlu olduğunu göstermektedir (Sybert & McCauley, 2004). TS'da fenotipik özellikler geniş bir spektrum gösterebilmektedir. Tipik bulguları, kısa boy, yele boyun, düşük saç çizgisi, kalkan göğüs, ayrıık göğüs uçları, kardiyovasküler bozukluklar, gonadal disgenezidir (Gadhia vd., 2014).

TS'li bir birey, X kromozomu taşımayan bir yumurta hücresinin X kromozomu taşıyan bir sperm ile döllenmesi sonucu ya da X kromozomu taşımayan bir spermin normal bir yumurta hücresini döllenmesi ile meydana gelir. Erken embriyoda seks kromozomunun yokluğu 45,X mozaizme neden olur. Monozomi X'in görüldüğü vakaların büyük bir çoğunluğunda babanın mayozundaki kromozom ayrılma hatasından kaynaklanmaktadır (Nussbaum, 2005). X kromozomunun kısa kolu delesyonu ve anormal Y kromozomu oluşumuna neden olan mayotik hatalar sıklıkla babada rastlanmaktadır. (Heard & Turner, 2011). Turner sendromunun yaklaşık yarısında 45,X karyotipi saptanmaktadır (Hong & Reiss, 2014)(Tablo 2.2.).

Tablo 2.2. TS'da Görülen Kromozomal Yapılar (Nussbaum, 2005; Berletch, Yang, Xu, Carrel, Disteche, 2011; Margaret, Tilak, Rajangam, 2010)

Kromozomal Yapı	Yüzde(%)
45,X	50
mos 45,X/46,XX	15
46,X,i(X)(q10)	15
46,X,del(X)(q?)	10
46,X,del(X)(p?)	10
46,X,r(X)	10
mos 45,X/46,XY mos 45,X/46,X,del(Y)	6-11
mos 45,X/46,X,i(X)(q10)	5
45,X, başka X anormalliği	5
Diğer 45,X/? mozaik	5

TS ileri anne veya baba yaşı ile ilişkili değildir. Her ne kadar nadiren ailesel tekrarlar olsa da TS genellikle sporadiktir (Nussbaum, 2005).

X kromozomu kısa kolu distal bölümünde delesyon olan (Xp-) bireylerde, bu bölümde SHOX geni yer aldığı için, boy kısalığı ve Turner Sendromu ile ilişkili iskelet bulguları sıklıkla görülmekte iken, ovarian yetmezliği riski daha düşüktür. Bu bireylerde Xp22.3 delesyonu yoksa Turner sendromu tanısı konulmamalıdır. X kromozomu uzun kolu distal bölümü ve Xq24 delesyonu olanlarda boy kısalığı veya diğer TS özellikleri olmaksızın primer veya sekonder amenore bulunmaktadır, bu bireyler için prematür over yetmezliği tanısı daha uygun olacaktır (Bondy, 2007).

### **2.5.3. 45,X/46,XY Cinsiyet Gelişim Bozukluğu**

Bir nadir cinsiyet gelişim bozukluğu olan 45,X/46,XY (X/XY) mozaisizmi 15000'de bir olarak gözlenmektedir. X/XY olguları, Turner-benzeri sendrom, miks gonadal disgenezi (MGD), yetersiz virilize erkek veya normal erkek yapısı gibi farklı klinik görünümler taşıyabilmektedir (Tosson, Rose & Gartner, 2012).

X/XY sendromunda kayıp kromozom, TS olguların aksine Y kromozomudur. Bu karyotipin oluşum nedeni, erken embriyonik mitoz esnasında anafaz gecikmesi veya kromozomlar arası yeniden düzenlenmeden kaynaklanan hatalı ayrılmadır. Bu durumda iki veya üç farklı hücre dizini oluşur: 45,X/ 46,XY/ 47,XY. Bunlardan 47,XY dizini genellikle sonraki bölümlerde kaybolur. Olguların <10%'unda karyotip 45,X/47,XY veya 45,X/46,XY/47,XY şeklinde bulunabilir (Farrugia vd., 2012). X/XY olgularında Y kromozomunun yeniden düzenlenmesi %32-63 oranında bildirilmektedir (Lindhardt vd., 2012).

Lenfosit, fibroblast ve gonad karyotipleri farklı olabileceği gibi, gonadlar arası karyotip değişkenliği de olabilir. Herhangi bir dokuda fenotipi belirleyen, iki hücre dizininin (45,X ve 46,XY) görece oranlarıdır. Bazen bir dokuda tek bir hücre dizini hakim olabilir. Gonad dokusunda 46,XY hücre dizininin oranı testis işlevi ve virilizasyon derecesini belirler (Martinerie vd., 2012).

Amnion sıvı örneklerinde bulunan mozaisizm yüzdesi, gonadal ve genital fenotip açısından iyi bir göstergeç değildir. Prenatal dönemde 45,X/46,XY karyotip taşıdığı saptanan fetusların %85-95'i normal erkek tipi genital yapı ile doğmuşlardır. Bununla beraber bu organların yaklaşık 1/3'ünde gonadal histoloji anormal bulunmuştur; dış genital yapının normal olması disgenetik gonad olasılığını dışlatmamaktadır (Cools vd, 2011). Olguların %90'a yakını doğum sonrası tanı almaktadır. Dişi fenotipi hakim olguların %67'si yenidoğan döneminde kuşkulu genital yapı nedeniyle tanı alırken, daha az sayıda olgu çocukluk veya adolesan döneminde boy kısalığı, puberte gecikmesi veya primer amenore gibi endikasyonları ile

başvurmaktadır. Erkek fenotipi hakim olguların %22-29'unda kuşkulu genital yapı, %29'unda ise adolesan dönemde belirginleşen boy kısalığı tanı nedeni olmuştur (Tosson vd., 2012). *SHOX* geninin tek kopya olması 45,X vakalarda boy kısalığının açıklaması olabilir.

X/XY olgularında erişkin dönemde infertilite oranı %20-45 olarak bildirilmektedir. Genel popülasyonda infertilite nedeniyle araştırılan erkek olguların %1'inde 45,X/46,XY mozaizmi ile karşılaşılmaktadır. Oligo- ve azoospermi, Y kromozomu uzun kolunda bulunan ve spermatogenez ile ilgili bir çok geni barındıran AZF bölgesindeki yapısal anomaliler ile ilgilidir (Lindhardt vd., 2012).

## **2.6. 46,XY Cinsiyet Gelişim Bozuklukları**

### **2.6.1. Gonadal ( Testiküler) Gelişim Bozuklukları**

Karyotipi 46,XY olan bireylerde, gonadal farklılaşmanın herhangi bir yerindeki sorun nedeniyle bipotansiyel gonad testis yönünde farklılaşmaz. Oluşan disgenetik gonadın normal testise benzerliği çok değişkendir. Testis gelişiminde görevli genlerin etkinliğindeki bozulmanın yerine, derecesine ve zamanına göre gonad gelişimi farklılıklar gösterir. 46,XY gonadal disgeneziler, tam ve kısmi olmak üzere ikiye ayrılır.

#### **2.6.1.1. Komplet veya Parsiyel Gonadal Disgenezi**

Tam 46,XY gonadal disgenezilerde (Swyer Sendromu), 46,XY karyotipine rağmen testis gelişmemiştir. Normal dışı dış genital yapı ve band gonad ile tanımlanırlar. Olgular gecikmiş puberte ve amenore ile başvururlar. Uterus ve fallop tüpleri genellikle bulunmaktadır. Fiziksel incelemeleri ve boyları normaldir. Bazı olgularda Turner sendromu bulguları bulunabilir. Nadiren meme gelişimi ve/veya menstruasyon görülebilir (Carillo, Damian & Berkovitz, 2007).

Kısmi 46,XY gonadal disgenezi, 46,XY karyotipi varlığında tamamlanmamış testis farklılaşması olarak bilinmektedir. Olgular değişik derecelerde virilizasyon gösteren cinsel gelişim bozukluğu ile başvururlar. Gonad farklılaşma kusurunun derecesine bağlı olarak iç ve dış cinsel yapılar şekillenir. 46,XY kısmi gonadal disgenezili olguların üçte birinde Turner özellikleri bulunur. Bu duruma 45,X hücre dizisinin gizlenmiş mozaizmi neden olabilir (Carillo vd., 2007).

Tam gonadal disgenezili olguların yaklaşık %10-15'inde SRY gen mutasyonları bildirilmiştir (Gimelli vd., 2007). *SF1*, *WT1*, *SOX9* ve *DHH*

mutasyonları, 46,XY gonadal disgenezili olgularda bildirilen diğer mutasyonlardır (Carillo vd., 2007).

*SF1* gen mutasyonu tam gonadal disgeneziye neden olabilmektedir (Mallet vd., 2004). *SOX9* geninin heterozigot fonksiyon kaybı mutasyonları kromozomik iskelet displazisine ve fenotipik olarak erkekten dişiye kadar değişen cinsel gelişim bozukluğuna neden olur (Biason-Lauber, 2010). 46,XY karyotipinde, normal over ve dişi dış cinsel yapısına sahip bazı bireylerde *CBX2* gen mutasyonu gösterilmiştir (Biason-Lauber, Konrad, Meyer, DeBeaufort & Schoenle, 2009). *WNT4* ve X kromozomunun kısa kolunda bulunan *DAX1* gen çiftleşmelerinin 46,XY tam ve kısmi gonadal disgenezilere neden oldukları bildirilmiştir.

### **2.6.1.2. Testiküler Regresyon Sendromu**

Testiküler Regresyon Sendromu (TRS) fetal yaşamın ilk dönemlerinde normal gelişen testisin zamanla atrofiye uğraması ve kaybolması ile sonuçlanan bir durumdur (Hegarty, Mushtaq & Sebire, 2007). TRS sıklığı 1250 erkek çocukta bir olarak bildirilmiştir. Kriptorşidizmlili çocuklarda %5'ten daha az görülmektedir (Bader, Peeraully, Ba'ath, McPartland & Baillie, 2011). TRS olgularında fenotip testisleri ele gelmeyen dış genital görünümü normal bir erkekten, ağır mikropenis, kuşkulu genital yapı veya normal dişi dış genital görünümüne kadar değişkenlik gösterir. Olgular 46,XY genotipinde olup çoğu zaman tek, bazen çift taraflı olarak testis dokusunun yokluğu ve Müller kanallarının olmaması ile belirlenir (Spires, Woolums, Pulito & Spires, 2000). Bazı TRS'lu olgularda Müller kanallarının gösterilmesi genetik bir bozukluk (Y kromozomundaki mikrolezyon) sonucunda testis dokusunun gerilediğini düşündürmektedir (Calogero AE, 2001).

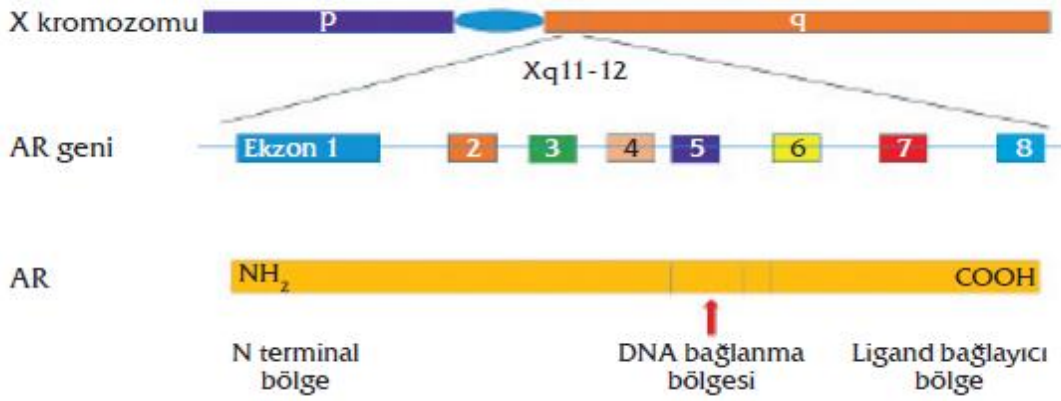
Testislerin kaybının embriyonik dönemde gerçekleşmesi (Embriyonik TRS) halinde klinik olarak kuşkulu genital yapı veya ağır mikropenis ile birlikte olmakta ve kısmi 46,XY gonadal disgenezi sendromları içinde yer almaktadır. Genetik nedenleri halen bilinmemesine rağmen mikropenis ve TRS tespit edilen bir erkek çocukta *SF1* geninde heterozigot missense mutasyon (V355M) bildirilmiştir (Mendoca, Domenice, Arnhold & Costa, 2009).

### **2.6.2. Androjen Duyarsızlık Sendromları**

Androjenler erkek fenotipinin oluşumu, sekonder cinsiyet karakterlerinin belirginleşmesi ve devamında, spermatogenezin başlaması ve sürdürülmesinde görev yapan önemli steroid hormonlardır. Androjen reseptör (AR) nükleer reseptör ailesinden NR3C4 (nükleer reseptör: 3, grup: C, üye:4) olarak da bilinen ve androjenler ile aktive olduktan sonra

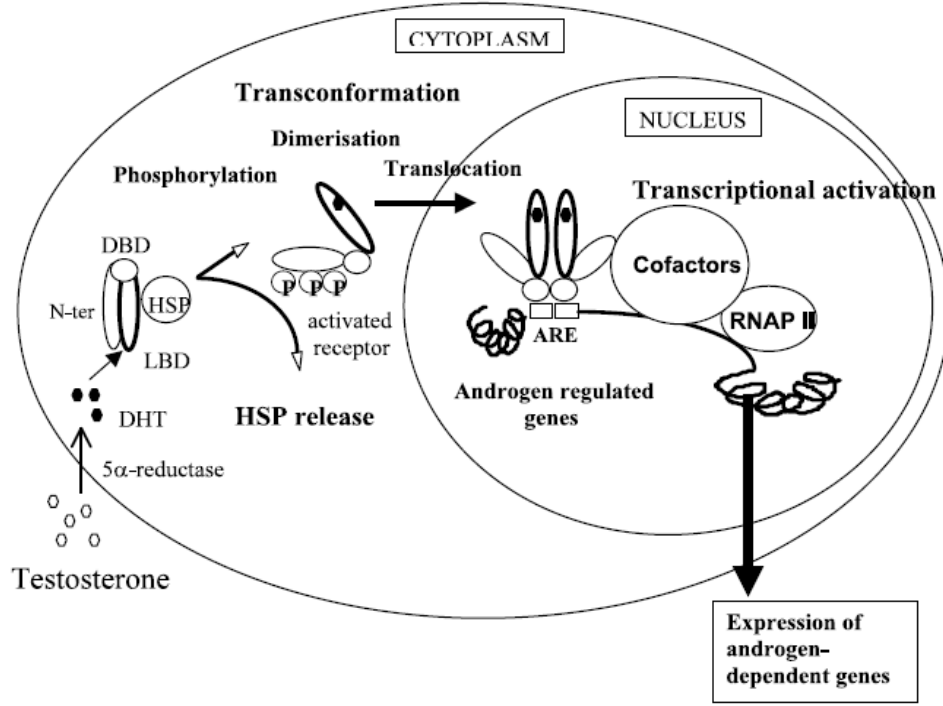
sitoplazmadan nükleusa geçen reseptörlerdir (Lu vd., 2006). AR geni Xq12 kromozomunda klonlanan bir gendir (Brown CJ, 1989). Androjenler biyolojik fonksiyonlarını AR üzerinden yapmaktadırlar. AR proteini gebeliğin 8.haftasında androjen etkisi başlamadan fetal dokuda eksprese olmaktadır (Gottlieb, Beitel, Nadarajah, Paliouras & Trifiro, 2012).

Androjenik aktivitede görevli başlıca androjenler testosteron (T) ve 5 $\alpha$ -dihidrotestosterondur (DHT). Her ikisi aynı androjen reseptörünü (AR) etkilemelerine karşın erkek yönde cinsel farklılaşmada farklı işlevleri üstlenmektedir. Nükleer hormon reseptörlerinin yapısal ve fonksiyonel analizleri farklı fonksiyonel bölgeler içerirler (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. X-kromozomunun Uzun Kolunda İnsan Androjen Reseptör Geni (Galani, Kitsiou-Tzeli, Sofokleous, Kanavakis & Kalpini-Mavrou, 2008)

AR ligand (T, DHT) bağlı olmadan inaktif durumda iken çeşitli moleküler HSP (heat shock proteins) ile kompleks oluşturarak, hücrenin sitoplazmasında bulunmaktadır. Reseptöre hormonun bağlanması ile reseptörün yapısında değişiklikler oluşur, reseptör HSP'den ayrılır, AR molekülü ikinci bir AR molekülü ile dimerize olur ve homodimer sitoplazmadan nükleusa geçer. AR dimerize ve fosforilize olduktan sonra kromatindeki androjene yanıt veren genlerin androjen yanıt elemanları (androgen response elements, ARE) ile sıkı etkileşime geçer. Bu etkileşimin modülasyonunda ko-regulatör proteinler önemli görev üstlenir ve ko-regulatör proteinler reseptördeki AF2'ye bağlanırlar (Mongan, Tadokoro-Cuccaro, Bunch & Hughes, 2015). AF2, transkripsiyon aktivitesinin başlamasında merkez rol oynamakta ve gen transkripsiyonunu başlatmaktadır (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. Hücrede Androjen Etkinin Genel Mekanizması (Gobinet, Poujol & Sultan, 2002)

Androjen duyarsızlık sendromları (ADS) 46,XY bireylerde değişik derecede virilizasyon kusuruna yol açan ve X'e bağlı kalıtımla geçen bir grup cinsiyet gelişim bozukluğudur. AR geninde fonksiyon kaybına neden olan mutasyonlar ya da AR spesifik ko-regulatör proteinlerle ilgili problemler androjenlere karşı direnç oluşturmaktadır. AR mutasyonları kısmi ve tam androjen duyarsızlık sendromlarının en iyi anlaşılabilir moleküler nedenleridir (Mongan vd., 2015).

Androjen bağlanmasını engelleyen ve ADS'na yol açan moleküler kusurlar çeşitlilik göstermektedir. Bunlar (a) Aminoasit değişimi ile ya da erken zincir sonlanması (prematüre stop kodon) ile sonuçlanan tek nokta mutasyonları; (b) Çerçeve kayması (frameshift) ya da prematüre sonlanmaya yol açan nükleotid yerleştirme (insertion), (c) Tam veya kısmi gen delesyonları (>10 nükleotid) ve (d) İntron mutasyonlarıdır (Gottlieb, 2011). AR mutasyonları olguların yaklaşık %70'inde X'e bağlı resesif kalıtımla taşıyıcı annelerden geçmekte olsada, %30'u somatik ya da de novo mutasyonlardır. Yeni mutasyonlar zigot döneminden sonra oluşursa somatik mozaisizme neden olur (Tripathy, Gouda, Palai & Das, 2010).

AR kusurlarıyla ilgili diğer bir durum Glutamin ve Glisin tekrar polimorfizmleridir. Androjen geninde ekzon 1 üzerindeki CAG (Glutamin) ve GGN (Glisin) üçlü tekrar polimorfizmleri, AR fonksiyonlarını bozarak nörolojik ya da endokrin problemlere yol açabilirler (Werner, 2006).



## 2.7.46,XX Cinsiyet Gelişim Bozuklukları

### 2.7.1.Gonadal (over) Gelişim Bozuklukları

Gonad (over) gelişim kusurları; gonadal disgenezi, ovotestiküler CGB, testiküler CGB olmak üzere sınıflandırılmıştır (Laino vd., 2014).

#### 2.7.1.1. 46,XX Gonadal Disgenezi

Karyotipi 46,XX olan gonadal (over) disgenezi olgular dişi fenotiptedir. Bununla birlikte, normal dişi iç ve dış genital yapıya sahip olan bu olgularda, dişi sekonder seks karakterleri gelişmemekte ve puberte ilerlemesi gerçekleşmemektedir (Migeon & Wisniewski, 2003). XX gonadal disgenezi sıklığı tam olarak bilinmemektedir, ancak 10000'de birden az olduğu düşünülmektedir. Olgular genetik heterojenite göstermekte ve çeşitli etyolojik faktörler sorumlu tutulmaktadır (Tablo 2.3). Olguların 2/3'ü genetik faktörlüdür (Meyers, 1996).

Tablo 2.3. 46,XX Gonadal Disgeneziye Yol Açan Nedenler (Simpson, 2008)

Gonadotropin gen defektleri
Follikul stimule edici hormon (FSH)
Follikul stimule edici hormon reseptör (FSHR)
Luteinizan hormon (LH)
Luteinizan hormon reseptör (LHR)
Somatik anomaliler olmaksızın 46,XX gonadal disgenezi
Anomaliler ile birlikte olan 46,XX gonadal disgenezi
Sinirsel sağrlık ile birlikte 46,XX gonadal disgenezi (Perrault sendromu)
Serebellar ataksi ile birlikte 46,XX gonadal disgenezi (heterojen)
Malformasyon sendromları ile birlikte 46,XX gonadal disgenezi
Pleiotropik Mendelian hastalıkların bir bileşeni olan 46,XX gonadal disgenezi
Her iki cinste germ hücre yokluğu
Adrenal ve over biyosentez kusurları
17 alfa hidroksilaz (CYP17) eksikliği
Aromataz (CYP19) eksikliği
Karbonhidrat metabolizma bozuklukları
Galaktozemi (GALT)
Karbonhidrat - eksikliği glikoprotein sendromu (PMM2)
Agonadi (46,XX)
Dinamik mutasyonlar
Frajil X (FRAXA)
Poliglanduler otoimmün sendrom
Otozomal trizomiler
Trizomi 13
Trizomi 18

Gonadal disgenezi, başlıca X kromozom anomalisi ile birlikte dir. Bu olguların bazılarında, genetik çalışmalarda, over gelişimi ile ilişkili

fonksiyonları olan *BMP15* geninde (Xp11.2) X'e bağılı geçişli mutasyonlar tanımlanmıştır (Rossetti, 2009). 47,XXX ve Xq delesyonu gibi diğerkromozom anomalileri, sıklıkla puberte gelişiminin olmamasından çok, prematür over yetmezliği sonucu pubertede duraklamaya sebep olmaktadır (Holland, 2001).

### **2.7.1.2. Ovotestiküler Cinsiyet Gelişim Bozuklukları**

Ovotestiküler CGB'na özgü hem testis hem de overe ait histolojik yapılar içeren gonad türüne ovotestis denir. Ovotestiküler CGB hastalarında en sık rastlanan gonad ovotestis (%60), ikinci sıklıkta over (%31), daha az sıklıkta testis (%9), çok nadir olarak da disgenetik gonaddır. Ovotestiküler CGB oldukça nadir bir durumdur. Bütün CGB vakalarının 4500 canlı doğumda bir olduğu ve bunların ancak %3-10'unun ovotestiküler CGB olduğu düşünülmektedir (Krstić, Smoljanić, Vukanić, Varinac & Janić, 2000). Ovotestiküler CGB'de over dokusunun olduğu tarafta Mülleriyen yapılar, testis dokusunun yakınlarında ise Wolff yapıları gelişir (Matsui, 2011). Dolayısıyla iç genital organlar kuşkuludur. Hastaların büyük bir bölümünde uterus ve vajen vardır, ancak uterus anomalileri oldukça sıktır. Bu anomalilere rağmen 46,XX ovotestiküler CGB vakalarının %60'ında menüstrüasyon görülür (Raygorodskaya, 2011). Dış genital organlar kuşku yapıda olmakla birlikte ilginç olarak karyotip analizlerinde 46,XX ön planda iken, fenotipik olarak erkek cinsiyeti baskındır. Ovotestiküler CGB genellikle sporadiktir (Temel vd., 2006). Ovotestiküler CGB'nin en sık görüldüğü toplum Afrikanın güney bölgesinde yaşayan zencilerdir. Bu bölgede ovotestiküler CGB bütün CGB vakalarının yarısını oluşturmaktadır.

Ovotestiküler CGB vakalarında en sık rastlanan karyotip %60 oranla 46,XX'dir. Vakaların %30-33'ünde 46,XX/46,XY; 46,XX/45,X veya daha farklı karmaşık karyotipler, %7-10'unda ise 46,XY karyotipi bulunur (Achermann & Jamesan, 2010). Ovotestiküler CGB olan hastalar, genetik, gonadal ve fenotipik olarak oldukça heterojen bir gruptur. 46,XX ovotestiküler CGB'nin patogeneğinde, Y kromozomu olmayan bir hastada testis dokusunun gelişmesini sağlayan mekanizmalardan biri olan gen translokasyonu sorumlu tutulmaktadır. Paternal mayoz sırasında X ve Y kromozomlarının psödootozomal bölgesini içeren X-Y translokasyonu *SRY* genini X kromozomu üzerinde taşıyabilir. Böylece 46,XX karyotipine sahip bir bireyde testis gelişmesi mümkün olur (Kashimada & Koopman, 2010). Ancak 46,XX ovotestiküler CGB vakalarının sadece %10'unda *SRY* translokasyonu bulunur (46,XX ve *SRY* pozitif ovotestiküler CGB; OMIM no=400045). Geri kalan %90 46,XX ovotestiküler CGB'li vakalarda etiyoloji tam anlamı ile bilinmemektedir (Achermann & Jamesan, 2010).

*SRY* negatif 46,XX ovotestiküler CGB'li vakalarda testiküler yapıların gelişmesinin sebebi X kromozomu ya da herhangi bir otozomal kromozom üzerinde bulunan diğer genlerde meydana gelen bir mutasyon olmalıdır (Wang, Liu, Yang, Chen & Ye, 2009). *SRY* dışında ilkel gonadın testis yönünde gelişmesine sebep olan genlerden en iyi bilineni *SOX9* genidir. *SOX9* duplikasyonlarında doza bağımlı olarak *SRY* olmadan da primordial gonad testise dönüşebilir (46,XX, *SRY* negatif, *SOX9* ile ilişkili ovotestiküler CGB, OMIM no=278850) (Jakob & Lovell-Badge, 2011). Ovotestiküler CGB vakalarının küçük bir kısmı 46,XY'dir (OMIM no=400044). Bunlardan ancak birkaçında *SRY* mutasyonu saptanmıştır. Ovotestiküler CGB vakalarının önemli bir bölümü karışık karyotip gösterir. Hastaların bir kısmı 46,XX/46,XY kimerizm gösterir.

Zigot meydana geldikten sonra mitoz sırasında kromozomun ayrılma hatası 45,X/46,XY, 45,X/46,XY/47,XXY veya daha farklı bir mozaik ile sonuçlanır. Aslında 45,X/46,XY mozaik vakaların pek çoğunda miks gonadal disgenezi, çok azında ise ovotestiküler CGB gelişir (Farrugia, 2012). Mozaik vakaların çoğunda *SRY* geni pozitiftir. Bazı vakalarda ise gizli mozaik olabilir. Bu durumda karyotipleme yapılan periferik kanda mozaikizm yoktur, ancak farklı doku gruplarında özellikle de gonadlarda *SRY* genin pozitif olduğu hücreler bulunabilir (Domenice S, 2001).

### **2.7.1.3. Testiküler Cinsiyet Gelişme Bozuklukları**

Testiküler CGB olarak da adlandırılan 46,XX erkek CGB nadir görülmektedir. Literatürde bildirilen 46,XX erkek olgularının tümü fenotipik olarak erkek görünümünde olup testislerin küçük ve azospermik olması ortak özellikleridir. Yapılan gözlemler 20000 erkek doğumda bir görüldüğü yönündedir (Wu, 2014). Testiküler CGB olan hastaları açıklayan birkaç patojenik mekanizma vardır. (a) *SRY* genini içeren Y dizisi, X kromozomu veya bir otozomal kromozomların distal ucuna transloke olması (b) *SRY* negatif XX erkeklerde testis farklılaşmasını tetikleyen testis belirleyici yolaktaki bir gende bir mutasyon (c) Gonada sınırlı gizli Y kromozom mozaikizmi. Erkek 46,XX CGB olgularının %85-90'ında *SRY* genin varlığı gösterilmiştir (Wu, 2014). *SRY* pozitif olgularda iç genital yapı tümüyle erkek fenotipinde iken, *SRY* negatif olgularda over ya da ovotestiküler yapılar olabilmektedir.

## **2.8. Ambigus Genitalya**

Ambigus Genitalya bir erkek veya kız çocuğun dış genital yapısının tipik görünüme sahip olmaması olarak tanımlanır. İnsidansı yaklaşık 4500 canlı doğumda birdir (Kumari & Vani, 2015). Cinsel farklılaşmanın herhangi bir aşamasında anormallik varsa (uygunsuz hormon seviyeleri, mutasyon

veya *SRY* delesyonu), gonadlar over ya da testis yönünde gelişmeyebilir. Bu nedenle XX veya XY bebeklerde belirsiz genital bölge ortaya çıkabilir. XX kız çocuklarında Ambigus Genitalya'nın en sık nedeni Konjenital Adrenal Hiperplazi (KAH), otozomal resesif geçişli bir hastalıktır (Davies, 2016).

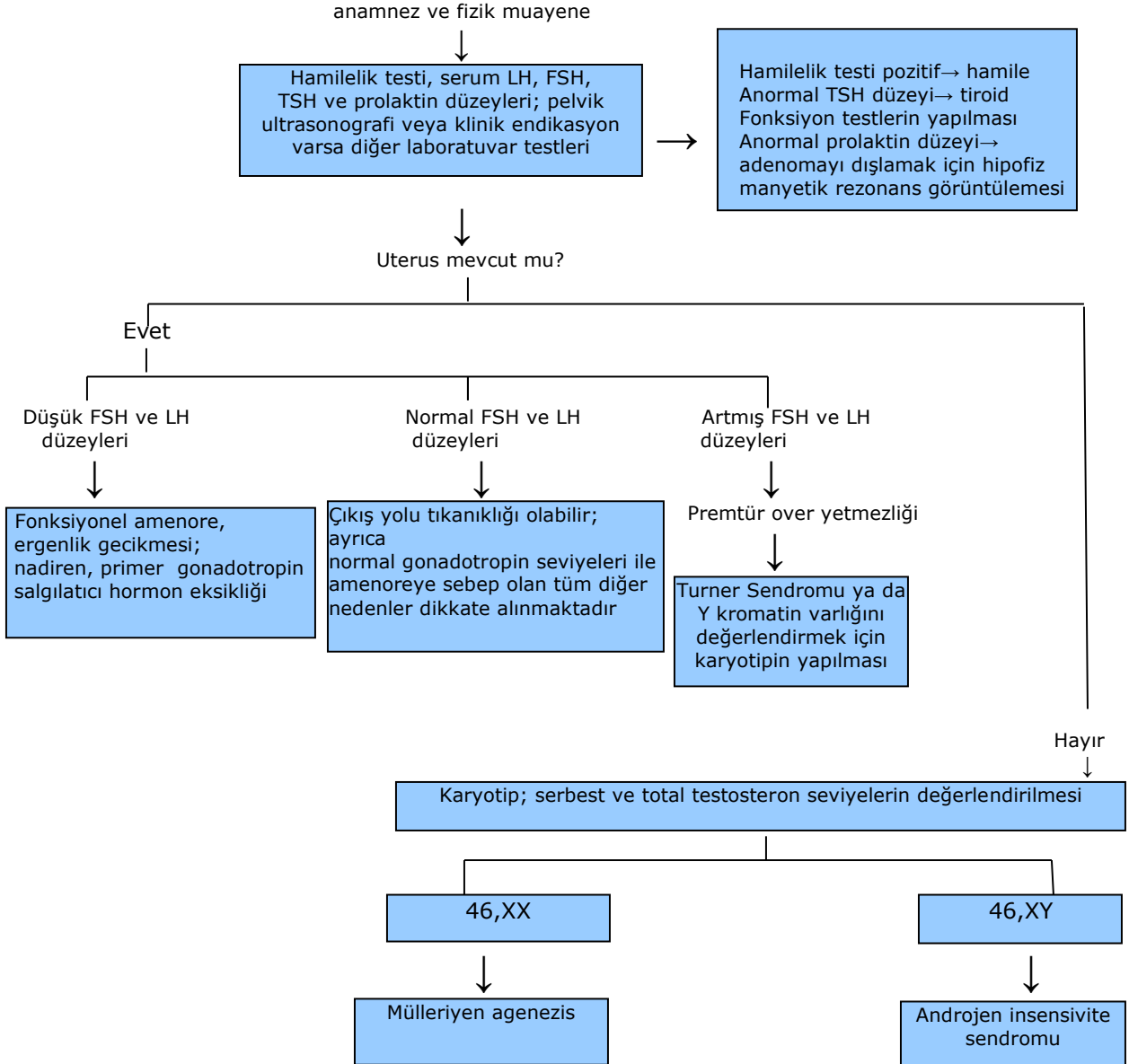
## 2.9. Primer Amenore

Primer amenore, normal sekonder seksüel gelişim varlığında 16 yaşına kadar ya da sekonder seksüel gelişim yokluğunda 14 yaşına kadar adet görememe durumu olarak bilinmektedir (Pidugu, 2013). Primer amenoreli olgularda sekonder seks karakteri yoksa, 14 yaş civarında primer amenore %0.1-2.5, sekonder seks karakterlerinin varlığında da 16 yaş civarında %1-5 aralığındadır. Primer amenorenin etiyolojisinde %40 oranında endokrin anormallikler ve %60 oranında gelişim anomalileri sorumlu tutulmaktadır (Oral & Aydoğan, 2011). Genel popülasyonda amenore çocuk doğurma yaşındaki tüm kadınların %2 ile %5'ini etkilemektedir (Pidugu, 2013). Ergenlerde primer amenore etiyolojisinde en sık neden Gonadal Disgenezilerden Turner Sendromu, ikinci sırada Mülleriyan anomalilerden Rokitansky-Kuster-Mayer-Hauser Sendromu (RKMH sendromu), üçüncü sırada ise Androjen İnsensivite Sendromu (AIS) takip eder (Oral & Aydoğan, 2011).

Primer amenore olgularında kromozomal anomaliler %15.9 ile %63.3'e kadar farklılık göstermektedir (Pidugu, 2013). Primer amenore'ye 45,X; 47,XXX; X kromozom mozaizizmleri (45,X/46,XX; 45,X/46,XX/47,XXX; 45,X/47,XXX; 46,XX/47,XXX), Y kromozom mozaizizmleri (45,X/46,XY; 45,X/47,XY), 46,XX/47,XX+10; 46,XX/46XY ve 46,XX/47,XXY gibi sayısal kromozom anomalileri neden olabilmektedir. Aynı zamanda 46,XY androjen insensivite sendromları, i(Xq), Robertsonian translokasyonlar, X;otozom translokasyonları, delesyon, duplikasyon tarzındaki yapısal kromozom anomalilerinin de primer amenore'ye neden olduğu bildirilmiştir (Tekcan vd., 2012).

Amenore olguları 4 bölümde sınıflandırılabilir: 1. Bölüm; uterus-vajina ile ilgili, dışarı akış yolları ya da hedef organ uterus ve endometriyal kavite bozukluklarını içermektedir. Bu grupta, Mülleriyan anomaliler, androjen insensivite sendromu, transver vajinal septum, himen imperforatus, Asherman sendromu, servikal stenoz sayılabilir. 2. Bölüm; ovarian nedenlerini içerir. Ovarian nedenleri kalıtsal ya da edinsel olabilmektedir. Bu grupta, Turner sendromu, XY gonadal disgenezi (Swyer sendromu) gibi overleri etkileyen kromozomal anomaliler, rezistan over sendromu, prematür over sendromu, kemoterapi ve/veya radyoterapi etkisi, galaktozemi, polikistik over sendromu sayılabilir. 3. Bölüm; ön hipofiz patolojilerini içerir. Hipofiz lezyonları, hipofizer apopleksi, hipofiz tümörleri; prolaktinoma ya da

non-fonksiyonel tümörler, tüberküloz gibi enfeksiyonları, hipofiz cerrahisi ya da radyoterapi uygulaması bu grupta sayılabilir. 4. Bölüm; hipotalamus ve santral sinir sistemi lezyonlarını içermektedir. Konjenital GnRH eksikliği, Kallman sendromu, konstitüsyonel puberte gecikmesi gibi konjenital nedenler yanında edinsel nedenler de vardır. Aşırı egzersiz, hızlı ve fazla kilo verilmesi, anoreksi nervoza da bu grupta değerlendirilmektedir (Oral & aydoğan, 2011). Şekil 2.8.'de primer amenoreye tanısal yaklaşım gösterilmektedir.



Şekil 2.8. Primer Amenore'ye Tanısal Yaklaşım (Klein & Poth, 2013)

## 2.10.Hipogonadotropik Hipogonadizm

GnRH veya gonadotropin yetmezliğine bağlı ortaya çıkan tablo hipogonadotropik hipogonadizm (HH) olarak tanımlanır. Prevelansı çok iyi bilinmemekle birlikte erkeklerde 4000-10000 arasında bir, kızlarda 40000'de bir olduğu tahmin edilmektedir (Della Valle, 2013). Doğumsal HH heterojen bir grubu içerir. Yenidoğanda hipogonadizm kız bebeklerde bulgu vermezken, erkeklerde mikropenis, inmemiş testis, hipospadias ve kuşuklu genital yapı olarak kendini gösterebilmektedir (Berberoğlu, 2011). Tümör, travma, radyoterapi gibi edinsel HH ise pubertenin hiç başlamaması/gecikmesi ve infertilite ile giden bir klinik tablodur. Doğumsal ve edinsel HH'de hipotalamo-hipofizer eksenden gonadal uyarı yapılmamaktadır. Tablo 2.4.'te Hipogonadotropik Hipogonadizm nedenleri gösterilmiştir.

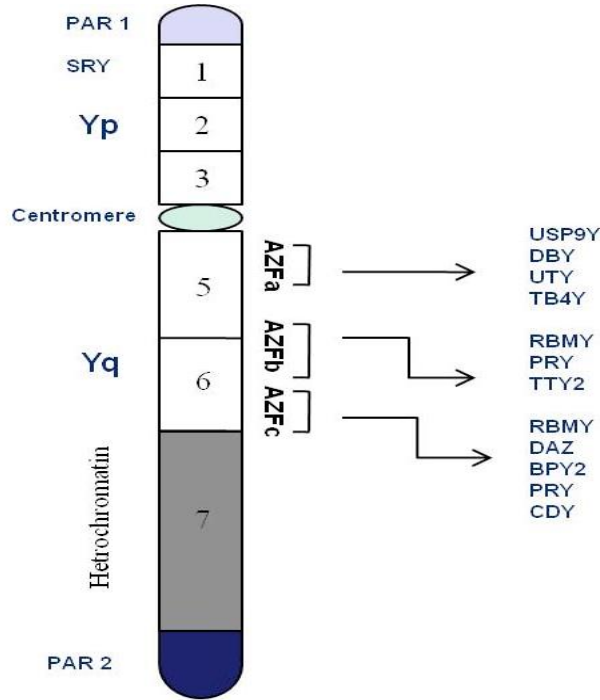
Tablo 2.4. Hipogonadotropik Hipogonadizm Nedenleri (Lee & Houk, 2007)

<b>Hipotalamik Nedenler</b>	GnRH ilgili gen mutasyonu (GNRH1 mutasyonu) GnRH nöronların migrasyonu ile ilgili gen mutasyonları ( <i>KAL1, FGF8, FGFR1, PROK2, PROKR2, NELF, CDH7</i> ) GnRH sekresyon bozuklukları (GPR54, KISS1R, TAC3, TACR3) GnRH reseptör bozuklukları Leptin ve/veya leptin reseptör bozuklukları <i>SF1</i> ve <i>DAX1</i> mutasyonları
<b>Hipofizer Nedenler</b>	Hipofiz bezi gelişim bozuklukları Lhb/FSHb reseptör gen mutasyonları İntrakraniyal yer kaplayan lezyonlar Granülamotöz hastalıklar Vasküler anomaliler Radyoterapi Travmalar/hipofiz sapı kesileri Sheehan sendromu
<b>Fonksiyonel Nedenler</b>	Ağır seyirli kronik sistemik hastalıklar Beslenme yetersizlikleri Ağır stres Yoğun egzersiz Metabolik hastalıklar İyatrojenik
<b>Sendromlarla birlikte</b>	Laurence-Moon-Biedl sendromu, Prader-Willi sendromu, Gordon-Holmes spinoserebellar ataksi, CHARGE birlikteliği, Diğer
<b>İdiyopatik</b>	Oluşumunda bir sebep gösterilmiyor

## 2.11. Azoospermi

Azoospermi, ejakülatta hiç sperm bulunmamasıdır. Genel popülasyonda erkeklerin %1'inde ve infertil erkeklerin %10-15'inde görülmektedir. Genetik faktörler azoospermik erkeklerin değerlendirilmesinde önemli bir yer almaktadır (Gudeloglu & Parekattil, 2013). Azoospermik erkeklerde çoğunlukla sayısal seks kromozom anomalilerine ve translokasyon, inversiyon, delesyon gibi yapısal kromozom anomalilerine de rastlanmaktadır (Dada vd., 2011).

İnfertil erkeklerde Y kromozomunun uzun kolunda delesyon belirlenmesi sonucu azoospermi faktör bölgesi (AZF) tanımlanmıştır. AZF bölgesi, erkek germ hücrelerinin proliferasyonunda ve farklılaşmasında önemli fonksiyonları olan genlerin kodlandığı bölgedir. AZF bölgesi AZFa (proksimal), AZFb (orta), AZFc (distal) şeklinde birbiri ile örtüşmeyen üç alt bölgeye ayrılmaktadır (Şekil 2.9.) (Küçükaslan vd., 2013).



Şekil 2.9. İnsan Y kromozomu (Dada vd., 2011)

Y mikrolelesyonu lokustaki yerine göre spermatogenez üzerinde farklı etkiler oluşturur. AZFa mikrolelesyonları germinal aplazi (Sertoli cell only syndrome, SCOS) ile ilişkilendirilir. Geniş AZFb delesyon bölgesine sahip olgularda azoospermi gözlenirken kısmi AZFb delesyonunda hafif ve ağır oligozoospermi fenotipleri oluşabilmektedir. AZFc bölgesinde meydana gelen

delesyonlar tip-2 SCOS ya da hipospermatogenezis nedeni olabilmektedir (Küçükaslan vd., 2013). AZFc delesyonu azospermik ve şiddetli oligospermi erkeklerde %2-10 oranında görülmektedir (Aldemir vd., 2013).

Y kromozom mikrodelsyonları azospermik erkeklerin %9'unda ve oligospermi erkeklerin %11.6'sında belirlenmiştir. Y kromozom mikrodelsyonlarının moleküler mekanizması, palindromik dizilerin benzer parçaları arasındaki homolog rekombinasyonudur (Ceylan & Ceylan, 2015).

## 2.12. İnfertilite

Dünya sağlık örgütünün tanımına göre infertilite, eşlerin 1 yıldan fazla sürede korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebeliğin olmaması olarak tanımlanır ve bu sorun çiftlerin %10 ile %15'inde görülmektedir (Ceylan & Ceylan, 2015). Reprodüktif çağıdaki evli çiftlerin %22'inde infertilite çok önemli bir problemdir (Dada vd., 2011). Bu olguların ortalama olarak %30-50'si erkek faktörüne bağlı infertilite olgulardır (Naasse vd., 2015).

Erkek infertilitesine neden olan genetik faktörler i) kromozomal anomaliler, ii) mikrodelsyonlar ve iii) tek gen defektleri olarak sıralanmaktadır (Küçükaslan vd., 2013). Erkek infertilitesinde kromozomal anomalilerin oranı azospermik erkeklerde %10 ile %23.62 ve oligospermi olgularında %1.10 ile %13.33 oranındadır (Naasse vd., 2015). İnfertil erkeklerde görülen en sık kromozom anomalisi Klinefelter Sendromudur. Erkek infertilitesinde Y mikrodelsyonu, Klinefelter Sendromundan sonra ikinci en önemli nedendir. Tablo 2.5.'te infertilite ile ilişkili bazı genetik faktörler gösterilmiştir.

Tablo 2.5. İnfertilite ile İlişkili Bazı Genetik Faktörler (Ceylan & Ceylan, 2015; Singh & Pakhıdđey, 2015; Dada vd., 2011)

Primer amenore	Turner sendromu,
XYY sendromu	47,XXX sendromu,
Down sendromu	Klinefelter sendromu
45,X/46,XY CGB	XX erkek CGB,
Yapısal kromozom anomalileri	Y kromozom mikrodelsyonu
Androjen insensivite sendromu	Myotonik Distrofi1,
Kistik fibrozis	Polikistik over sendromu
Kriptorşidizm	Kallmann sendromu
Hipogonadizm	Polikistik böbrek hastalığı
Noonan sendromu	Denys-Drash sendromu
Usher sendromu	Steroid 5-alfa redüktaz 2 eksikliği

İnfertilite değerlendirilmesinde çeşitli genetik testler tavsiye edilmektedir (Tablo 2.6).



Tablo 2.6. İnfertilite Olgularında Fenotipe Dayanarak Çeşitli Genetik Testler İçin Öneriler (Dada, Thilagavathi, Venkatesh, Esteves & Agarwal, 2011)

Genetik Testi	Fenotip	Tavsiye
Sitogenetik analizi	Oligozoospermi non-obstruktif azoospermi	Zorunlu
Sperm-Floresan in situ hibridizasyon (FISH)-mayoz segregasyon analizi	Oligozoospermi	Önerilir (mozaik olan durumda)
Yq mikrolelesyon analizi	Oligozoospermi non-obstruktif azoospermi	Zorunlu
CFTR mutasyon analizi	Vaz deferans konjenital bilateral yokluğu	Son derece tavsiye edilir
KAL1 gen mutasyon analizi	Kallmann sendromu	Tavsiye edilir
CAG tekrarı/ AR gen mutasyon analizi	Androjen insensivite sendromu	Tavsiye edilir
Steroid 5-alfa redüktaz 2(SRD5A2) gen mutasyon analizi	SRD5A2 eksikliği	Tavsiye edilir
LH reseptör gen mutasyon analizi	Azoospermi, mikropenis, gecikmiş puberte	Önerilir
FSH gen mutasyon analizi	Testis hacminde azalma	Önerilir
GnRH gen mutasyon analizi	Düşük serum LH ve FSH düzeyleri	Önerilir
Protamin/geçiş nükleer protein gen mutasyon analizi	Teratozoospermi / Anormal P1/P2 oranı	Önerilir
Sperm mitokondriyal DNA(mtDNA) gen mutasyon analizi	Astenozoospermi/ Oligozoospermi	Önerilir
DAZL/MTHFR mutasyon analizi	Anormal sperm parametreleri	Önerilir
Sperm DNA bütünlüğü	İdiyopatik infertilite ve tekrarlayan erken gebelik kayıpları	Tavsiye edilir

### 2.13. Sitogenetik Laboratuvar Teknikleri

Sitogenetik, fenotipik özelliklerin kromozomlarla olan ilişkisini incelemeyi konu edinen bilim dalıdır. Sitoloji ve genetik bilimlerinin birleşmesiyle ortaya çıkmıştır. Genetik materyalin hücresel düzeyde incelenmesi esas alınır (Rooney, 2001).

İnsan kromozomları ilk kez 1857 yılında Virchow tarafından görülmüş ancak kromozom sözcüğü 1888 yılında Waldeyer tarafından kullanılmıştır. Tjio ve Levan 1956'de insan fetal akciğer fibroblastları ile yaptıkları kültürde kolşisin kullanarak insan kromozomlarının sayısının 46 olduğunu bulmuşlar

(Harper, 2006). Bu buluş 1958'de Dawn, 1959'da Klinefelter ve Turner sendromlu hastalarda sayısal anormalliklerin tanımlanması ve kromozom elde etme çalışmaları için kullanılabilir ve güvenilebilir bir metot olabileceğini sağlamıştır.

Kromozom bantlama tekniklerinin 1960'ın sonlarında gelişmesiyle, kromozomların daha ayrıntılı analiz edilmesi bekleniyordu. Alkilleyici ajanla (quinacrin mustard) birleşen florokrom kullanılarak her bir kromozomu elde edebilmek için son derece karakteristik floresan modeli ile insanın tüm karyotipi tanımlandı. Quinacrin bantlamanın yerini 1970'de hızla giemsa bantlama almaya başladı. Sene 1973'de, bantlamanın ortaya çıkmasıyla kromozom analizinde çözünürlük ilerledi. Bundan 13 yıl sonra ilk buluş olan Philadelphia kromozomunun 22. kromozomun delesyonu sonucu değil, 9 ve 22. kromozomlar arasında gerçekleşen translokasyon sonucu oluştuğu açıklığa kavuşturulmuştur (Rowley, 1973).

1960 yılında, konferansta (Denver Conference) kabul edilen ISCN (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature) sınıflamasına göre kromozomlar değerlendirilmektedir ve karyotip yazımı da aynı toplantıda standardize edilen yazım kuralları ile yapılmaktadır (Mitelman, 1995).

Giemsa bantlama ile boyanmış kromozomların incelendiği rutin karyotip analizi uzun yıllar kromozom analizinde altın standart yöntem olmuştur. Ancak G-bantlama yöntemiyle karyotip analizinin çözünürlüğü en iyi koşullarda yaklaşık 5 Mb düzeyindedir. Bu nedenle rutin karyotip analizinde saptanan veya kuşku duyulan segmental delesyon, segmental duplikasyon, translokasyon gibi anomalilerin daha yüksek çözünürlüklü incelemesi ve rutin sitogenetik inceleme ile gösterilebilmesi zaten beklenmeyecek kadar küçük kriptik değişikliklerin araştırılması için yeni yöntemler geliştirilmiştir (Battaglia & Guerrini, 2005).

## **2.14. Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH)**

Sitogenetik ve moleküler genetik tekniklerini biraraya getiren bir tetkiktir. FISH, nükleik asit problemleri aracılığı ile preparat üzerinde bulunan hücresel ya da kromozomal DNA veya RNA'nın incelenmesi temeline dayanan bir tekniktir. Spesifik DNA sekanslarını hedefleyen floresan işaretli problemler aracılığıyla kromozomal anomaliler tanımlanır. Moleküler sitogenetik metodları (ISH, FISH, CGH) klasik sitogenetik yöntemlerle tanımlanamayan kromozomal mikrolelesyonlar ve yeniden düzenlenmeleri ortaya koyma olanağı sağlar. Bu yöntem aracılığıyla 1-3Mb arasında olan yapısal düzensizlikler saptanabilmektedir. FISH tekniğinin kolay uygulanabilir olması, duyarlılığı ve güvenilirliğinin yüksek olması, diğer moleküler DNA

hibridizasyon yöntemlerine göre rezolüsyon gücü, mozaizm tanısı gibi avantajlarının olmasıdır (Durak, 2005).

İlk kez 1969 yılında Joe Gall ve Lou Pardeu tarafından gerçekleştirilen sitolojik preparatlarda RNA'nın DNA ile hibridizasyonu, işaretlenmiş DNA dizilerinin sitolojik preparatlarda lokalize oldukları gösterilmiştir. Büyümekte olan hücrelere tritium verilmiş ve işaretli nükleik asitler nükleer emülsiyon aracılığı ile belirlenmiştir (Artan, 1996). FISH tekniği ile tanımlanmamış marker kromozomu ve kırık noktaları belirlenmiş translokasyon, inversiyon, insersiyon, mikrodelesyonlar gibi yapısal kromozomal yeniden düzenlenmeler ve sayısal kromozom anomaliler tespit edilebilmektedir (Vogelstein & Kinzler, 2002).

Bu teknik kromozomal anomalilerin tanımlanmasında sadece kromozomların metafaz aşamasında değil interfaz aşamasında da kullanılmaktadır. Günümüzde FISH tekniği yaygın olarak gerek araştırma amaçlı gerekse tanı amaçlı kullanılmaktadır. Ayrıca bazı vakalarda hastalığın seyri ile ilgili önemli bilgiler sunabilmektedir (Xiao, Renshaw, Cibas, Hudson & Fletcher, 1995; Taylor vd., 2000).

## 3- GEREÇ VE YÖNTEMLER

### 3.1. Gereç

#### 3.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri

Çalışmamız periferik kandan cinsiyet kromozom düzensizliklerinin sitogenetik ve moleküler sitogenetik verilerinin değerlendirilmesi amacıyla Ocak 2013 ve Aralık 2015 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik polikliniğe Azoospermi, Turner Sendromu, Klinefelter Sendromu, Primer İnfertilite, Ambigus Genitalya, Hipogonadotropik Hipogonadizm ve Primer Amenore şüphesi ile başvuran olgulardan kromozom analizi için periferik kan alındı.

#### 3.1.2. Kullanılan Gereçler

Lamin Air kabini (Heraeus)	Deep-Freeze (Heraeus)
37°C Etüv (Friocell MMM Med Center)	PH Metre (Jenco)
Zaman Ayarlı Santrifüj (Heraeus)	Sensys kamera (Sensys)
+4/-20°C buzdolabı (Arçelik marka)	Su banyosu (Nüve)
Elektronik terazi (Ainsworth-AA-250, Seuter)	Mikrosantrifüj (Eppendorf Centrifuge 5415)
Vortex (Janke & Kunkel, Heidolph, UF-2)	Kronometre
Santrifüj tüpü (15 ml)	Pipet
Işık mikroskop (Olympus CX21, CX31, BH-2, CH-2)	Ependorf tüpü (1,5 ml lik)
Floresan mikroskop (Olympus BX-61)	Mikropipet (Eppendorf)
Image Analyser (Cytovysion 3.93)	Pipet uçları
Hot plate ( Elektro-mag)	Steril enjektör

### **3.1.3. Cam Malzemeler**

Beher (500 ml, 1000 ml)	Mezür
Erlenmayer (500 ml, 1000 ml)	Yatay ve dikey şale
Lam	Lamel

### **3.1.4 Kimyasal Maddeler**

NaCl (Merck)	HCl (Merck)	Leishman Stain (Sigma)
KCl	NaOH (Merck)	DAPI (Merck)
Timidin	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (Merck)	Tween 20 (Sigma)
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	Methanol (Merck)	Ethonol (Merck)
Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> .2H <sub>2</sub> O (Carlo Erba)	Immersion yağı (Merck)	Rubber Cement (Marabu Fixo gum)
Glacial Acetic Acid (Merck)	Tripsin	VECTASHIELD Mounting Medium (Vector Labs)

### **3.1.5. Periferik Kan Lenfosit Kültür Medyumlar ve Solüsyonları**

Chromosome Medium	colcemid
RPMI 1640 bazal medyum	Hipotonik Solüsyon (KCL)
Fetal Bovine Serum (FBS)	Sol A ve Sol B Synchronet
Penisilin, Streptomisin	Phytohemagglutinin (PHA)
Carnoy Fiksatif: Methanol + Acetic Acid (3:1)	

### **3.1.6. Kullanılan Problar**

SRY(Yp11.31)/CEPX  
(SRY;Spectrum Orange,CEPX;Spectrum Green)(Vysis)

XIST(Xq13.2)(XIST;Spectrum Orange)(Vysis)

Total Vysion Subtelomer Probe panel Vial 2  
(Xqtel,Yqtel;Spectrum Orange)(Vysis)

ETV6(12p13.2)/RUNX1(21q22.3)  
(ETV6;Spectrum Green,RUNX1;Spectrum Orange)(Vysis)

N25 (22q11)/SHANK3(22q13)  
(N25;Spectrum Orange, Spectrum Green)(Kreatech)

CDKN2A(9p21)/CEP9  
(CDKN2A;Spectrum Orange,CEP9;Spectrum Green)(Vysis)

Total Vysion Subtelomer Probe panel Vial 5  
(5p;Spectrum Green,5q;Spectrum Orange)(Vysis)

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Periferik kan Lenfosit Kültürü**

1.Periferik kan kültürü için iki farklı besiyeri kullanıldı; Hazır besiyeri ve bizim hazırladığımız besiyeri.

(Hazırlanan zenginleştirilmiş besiyeri: 40cc RPMI +10cc FBS+ 1cc penisilin+1cc phytohemaglutinin)

2-Her olgu için 2' şer tüp çıkarıldı. Her tüpe 5' er ml farklı periferik kan kültür besiyerleri eklendi.

3. Steril ortamda tüpler alevden geçirilerek, olguların heparinli kanından çocuklarda 5-8 damla, erişkinlerde 8-13 damla tüplere damlatıldı.

4. Ekim yapıldıktan sonra tüpler birkaç kez ters çevrilerek karıştırıldı ve 60° eğik pozisyonunda 37°C'de etüvde 72 saatlik inkübasyona bırakıldı.

5. Kültürün kırksekizinci saatinde her olgunun bir tüpüne Sol A Synchronet solüsyonundan 100 µl ve diğer tüpe 200 µl Timidin eklendi. Sol A Synchronet solüsyonu eklendikten 18 saat sonra Sol B Synchronet solüsyonundan 100 µl eklenip, diğer tüpü Timidinden arındırıp ve tekrar 37°C etüve inkübasyona bırakıldı.

6. 72. saatin dolmasına 1.5 saat kala tüm kültür tüplerine 0.1 µl kolsemid solüsyonu eklendi.

7. 72 saatlik kültür sonunda tüpler 1300 RPM' de 8 dakika santrifüj edildi.

8. Süpernatant atıldıktan sonra 37°C 'de bekleyen KCL'den (0.075 mol/l) tüplere vorteksleyerek 5-6 ml ekleme yapıldı ve 30 dakika 37°C etüvde bekletildi.

9. Süre sonunda, tüplere taze hazırlanmış Carnoy's Fiksatifinden 6-9 damla, damlatıldı ve 1300 RPM' de 8 dakika santrifüj edildi.

10. Süpernatant uzaklaştırılıp vorteksleyerek pellet üzerine fiksatif solüsyonu eklendi ve tekrar santrifüje bırakıldı. Bu işlem temiz bir pellet elde edene kadar uygulandı.

11. Lamların üzerine elde ettiğimiz pelletten damlatılarak yayma işlemi yapıldı.

12. Preparatlar 18 saat hot plate' te yaşlandırıldı.

13. Hazırlanan preparatlarda Giemsa-Tripsin/Leishman-Tripsin bantlama yöntemi ile boyanma uygulandı.

14. Mikroskopta bulunan metafaz plakları değerlendirilir.

15. Analiz sonuçları ISCN' e göre rapor edildi.

16. Her olgu için kromozom analizinde 20 metafaz incelendi. Mozaisizm saptanan olgularda metafaz sayısı 100' e kadar artırıldı ve gerekli olgularda FISH analizi uygulandı.

### **3.2.2. Moleküler Sitogenetik Analizi**

Floresan in situ hibridizasyon tekniğinde, preparat ön yıkama, denatürasyon, hibridizasyon ve hibridizasyon sonrası yıkamalar uygulanmıştır.

#### **3.2.2.1. Preparatların Ön Yıkaması**

Preparatlar 2' şer dakika olmak üzere sırasıyla 2XSSC, %70, %85, %100 solüsyonundan geçirilerek dehidre edildi.

#### **3.2.2.2. Prob Denatürasyonu**

Çalışmamızda kullanılan problemlerin üretici firmanın öngörülen denatürasyon prosedürleri uygulanmıştır.

### **3.2.2.3. Hibridizasyon**

Proben bulunduğu ependorf tüpü santrifüj edilerek tüm probun dibeye çökmesi sağlanmıştır. Denatüre edilen preparatlarda belirlenen alana prob eklenip üzerlerine 24 mm'lik lamel kapatılmıştır. Lamel çevresi su girmemesi için rubber cement ile yalıtılmıştır. Preparatlar 75°C' de 2 dakika 'thermobright' ta hibridizasyon edilmiştir.

### **3.2.2.4. Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar**

- Bu yıkamalarda spesifik olarak bağlanmayan prob DNA'sının ortamdaki uzaklaştırılması ve oligo DNA'sına tam komplementer olan (%80-100) dizilerin hedef bölgede sabit hale getirilmesi amaçlanmaktadır. Bu amaçla gerçekleştirilen aşamalar:

- Hibridizasyonu tamamlanan preparatlar etüvden çıkartılarak lamellerin çevresindeki yalıtım maddesi dikkatlice temizlenmiştir.

- Preparatlar, oda ısısındaki 2XSSC solüsyonda hafifçe karıştırılarak lameller preparatlardan uzaklaştırılmıştır.

- Preparatlar 0.4XSSC solüsyonu ile 72°C' de 2 dakika bekletilmiştir.

- Takiben 2XSSC/T-20 solüsyonda 1 dakika bırakılmıştır.

### **3.2.2.5. Hibridize Olan Bölgelerin Görüntülenmesi**

Bu aşamada prob ve nükleus DNA'sının hibridize olduğu bölgelerin görünür hale getirilmesi amaçlanmaktadır.

Hibridizasyon sonrası yıkamaları yapılan preparatlar 4XSSC/DAPI solüsyonunda iki dakika bekletilmiş, süre sonunda 20 µl yüzey boyası (VECTASHIELD Mounting Medium) damlatılıp lamelle kapatılmıştır. İnceleme aşamasına kadar preparatlar -20°C' de ve karanlıkta bekletilmiştir.

### **3.2.2.6. Preparatların Mikroskopta İncelenmesi**

Preparatlar Olympus BX-61 Floresan mikroskopunda uygun filtrelerde incelenmiştir. Floresan mikroskoba bağlı soğutmalı kamera ve görüntü analiz sistemi (Applied Imaging) aracılığı ile her olguya ilişkin FISH analiz verileri incelenmiş, fotoğraflanmış ve arşivlenmiştir.



### 3.2.2.7. Değerlendirme

Hazırlanan preparatlara FISH analizi uygulanıp her olgu için ortalama 100 hücre değerlendirilmiştir. Sinyal değerlendirmeleri yapılırken birbirine çok yakın sinyaller ve sinyal çap büyüklüğü birbirlerinden farklı olan (iki katı ya da daha fazla) değerlendirmeye alınmamıştır.

### 3.2.3. Kullanılan Stok Solüsyonlar

Tablo 3.1. Carnoy's Fiksatif Solüsyonu

Metanol	3 birim
Asetik asit	1 birim

Tablo 3.2. KCL Solüsyonu

KCL	1,398 gr
Distile su	250 cc

Tablo 3.3. Boyamada kullanılan Solüsyonlar

<b><u>PBS</u></b>	
NaCl	4 gr
KCL	0,1 gr
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,57 gr
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,1 gr
Distile su	250 cc
<b><u>GURR BUFFER</u></b>	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.235 gr
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,235 gr
Distile su	250 cc
<b><u>Tripsin Solüsyonu</u></b>	
Tripsin	0,05 gr
PBS	100 cc
<b><u>Leishman BOYA</u></b>	
Metanol	100 cc
Leishman	0,2 gr

Tablo 3.4. Preparatların Ön Yıkama Solüsyonu

<b><u>20XSSC Solüsyonu</u></b>	
NaCl (3M)	175,3 gr
TriSodyum Sitrat (0,3 M)	88,24 gr
Distile su	1000 ml

Tablo 3.5. Preparatların Denatürasyon Solüsyonu

<b><u>0,07 M NaOH</u></b>	
1M NaOH	14 ml
Distile su	200 ml

Tablo 3.6. Hibridizasyon Sonrası Solüsyonlar

<b><u>0.4XSSC Solüsyonu</u></b>	
20XSSC	4 ml
Distile su	196 ml
<b><u>2XSSC Solüsyonu</u></b>	
20XSSC	20 ml
Distile su	180 ml
<b><u>2XSSC/Tween-20 Solüsyonu</u></b>	
20XSSC	20 ml
Tween 20	100 µl
Distile su	180 ml

Tablo 3.7. Görüntülenme Sistemleri Solüsyonu

<b><u>DAPI/Antifade Solüsyonu</u></b>	
2XSSC	20 ml
DAPI	100 µL
Distile su	80 ml

### **3.3. İstatistiksel Analiz**

Çalışmamız sonucunda hasta gruplarında tespit ettiğimiz anomali oranı literatür verileri ile SPSS 21 istatistik programı kullanılarak,  $\chi^2$  testi ile karşılaştırıldı. Fisher's Exact, Continuity Correction ve Pearson testlerine göre P değerleri hesaplanmış olup,  $P < 0.05$  düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4- BULGULAR

Retrospektif çalışmamızda Ocak 2013 ve Aralık 2015 tarihleri arasında cinsel gelişimin farklı klinik özelliklerine sahip 469 olgu Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında incelenmiştir.

Tıbbi Genetik polikliniğe, Azoospermi (211 olgu), Turner Sendromu (73 olgu), Klinefelter Sendromu (16 olgu), Primer İnfertilite (117 olgu), Ambigus Genitalya (14 olgu), Hipogonadotropik Hipogonadizm (11 olgu) ve Primer Amenore (27 olgu) ön tanıları ile yönlendirilen hastalar çalışmamıza dahil edilmiştir.

*SRY* translokasyonunu incelemek, kromozomlar arasında gerçekleşen translokasyon bölgelerini ve mozaicism oranını belirlemek amacı ile bazı hastalarda moleküler sitogenetik analiz uygulanmıştır.

Retrospektif olarak bu olgu gruplarının 3 yıla ait sitogenetik ve moleküler sitogenetik analizlerinin değerlendirilmesi, bölgesel verilerin oluşturulmasında katkı sağlayacaktır.

### 4.1. Hastaların Sitogenetik Bulguları

Çalışmada konvansiyonel giemsa bantlama (GTG banding) tekniği kullanılarak tüm olgular için (469 olgu) sitogenetik analiz uygulanmıştır. Hastaların sitogenetik analizleri ISCN (2009, 2013 ve 2016) protokollerine uygun olarak çalışılmıştır. Tablo 4.1'de Ocak 2013 ve Aralık 2015 tarihleri arasında çalışmaya dahil edilmiş hasta sayıları gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Ocak 2013 ve Aralık 2015 Tarihleri Arasında Çalışmaya Dahil Edilen Hastalar

Yıl	Hasta Sayısı	Kromozom Anomali Sayısı
2013 (n=98)	Klinefelter Sendromu:3 Turner Sendromu:5 Ambigus Genitalya:4 Primer Amenore:4 Hipogonadotropik Hipogonadizm:1 Azoospermi:63 Primer İnfertilite:18	Klinefelter Sendromu:2 Turner Sendromu:2 Ambigus Genitalya:0 Primer Amenore:0 Hipogonadotropik Hipogonadizm:1 Azoospermi:9 Primer İnfertilite:1
2014 (n=204)	Klinefelter Sendromu:4 Turner Sendromu:43 Ambigus Genitalya:4 Primer Amenore:13 Hipogonadotropik Hipogonadizm:8 Azoospermi:78 Primer İnfertilite:54	Klinefelter Sendromu:2 Turner Sendromu:6 Ambigus Genitalya:1 Primer Amenore:1 Hipogonadotropik Hipogonadizm:2 Azoospermi:14 Primer İnfertilite:3
2015 (n=167)	Klinefelter Sendromu:9 Turner Sendromu:25 Ambigus Genitalya:6 Primer Amenore:10 Hipogonadotropik Hipogonadizm:2 Azoospermi:70 Primer İnfertilite:45	Klinefelter Sendromu:4 Turner Sendromu:1 Ambigus Genitalya:2 Primer Amenore:1 Hipogonadotropik Hipogonadizm:0 Azoospermi:7 Primer İnfertilite:2

Araştırılan hastalar klinik özellikler ve başvuru nedenlerine göre gruplanmıştır (Tablo 4.2). Bunların 359'u (%76.55) erkek olup Azoospermi, Klinefelter Sendromu, Primer İnfertilite, Ambigus Genitalya ve Hipogonadotropik Hipogonadizm ile başvuru yapmışlar. Olguların 110'u (%23.45) ise kadın olup Turner Sendromu, Ambigus Genitalya, Hipogonadotropik Hipogonadizm ve Primer Amenore ile polikliniğimize başvurmuşlardır.

Tablo 4.2. Klinik Endikasyonlara Göre Kromozomal Anomalilerin Dağılımı

Başvuru/Sevk Nedeni	Hasta Sayısı	Toplamda Başvuru Yüzdeleri (%)	Kromozomal Anomali Sayısı	Toplam Kromozomal Anomaliye (n=61) Göre Yüzdeler (%)
<b><u>Erkek Olgular</u></b>				
Klinefelter Sendromu	16	3.41	8	13.11
Ambigus Genitalya	8	1.7	2	3.28
Hipogonadotropik Hipogonadizm	7	1.49	2	3.28
Azoospermi	211	45	30	49.18
Primer İnfertilite	117	24.95	6	9.84
<b>Toplam</b>	359		48	
<b><u>Kadın Olgular</u></b>				
Turner Sendromu	73	15.56	9	14.75
Ambigus Genitalya	6	1.28	1	1.64
Primer Amenore	27	5.76	2	3.28
Hipogonadotropik Hipogonadizm	4	0.85	1	1.64
<b>Toplam</b>	110		13	
<b>Genel Toplam</b>	469		61	

Olgulardan alınan periferik kan örneklerinin konvansiyonel sitogenetik analizleri yapıldı. Olguların %87'sinde (n=408) normal kromozom kuruluşu ve %13'ünde (n=61) kromozomal anomaliler tespit edilmiştir. Çalışmamızda 48 erkekte ve 13 kadında kromozomal anomaliler rapor edilmiştir. Anomali saptanan olgularda, %13.11'i (n=8) otozomal anomaliler ve %86.89'u (n=53) cinsiyet kromozom anomalileri saptanmıştır. Tablo 4.3.'te otozomal anomaliler gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Çalışmamıza Dahil Olan Olgularda Tespit Edilmiş Otozomal Anomaliler

<b>Anormalilerin Tipi</b>	<b>Karyotip</b>	<b>Olgu Sayısı</b>
<b>Sayısal Anomaliler</b>	47,XY,+21	1
<b>Yapısal Anomaliler</b>	46,XY,inv(12)(q14;q24.2)	1
	46,XY,t(12;22)(p12.2;q13.2)	1
	46,XY,t(5;12)(q15;q24.3)	1
	46,XY,t(9;21)(p21.1;q21.2)	1
	46,XY,t(4;8)(q34;q24)	1
	46,XX,t(11;15)(q13.1;q26)mat	1
	46,XX, fra(16)(q22.1)	1

Azoospermi ile başvuran olgularda tespit edilen kromozomal anomaliler Tablo 4.4. 'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Azoospermi Olgularında Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler

Endikasyon	Karyotip	Anormal Karyotip Sayısı	Kromozomal Anomali Yüzdesi(%)
Azoospermi (n=211)	47,XXY	22	14.2
	mos 47,XXY/46,XY	2	
	mos 45,X/46,Xder(Y)	1	
	46,XY,t(12;22)(p12.2;q13.2)	1	
	46,XY,t(5;12)(q15;q24.3)	1	
	46,XY,t(9;21)(p21.1;q21.2)	1	
	46,X,t(Y;2)(q11.23;p11.2)	1	
	46,XY,inv(12)(q14;q24.2)	1	
Toplam		30	14.2

Toplam 211 Azoospermi olan olguların 30'unda anomali saptanmış olup en çok 47,XXY (n=22) karyotipi gözlenmiştir. Çalışmamızda Azoospermi olgularında %14.2 oranında anomali tespit edilmiştir.

Turner Sendromu şüphesi ile başvuran olgularda tespit edilen kromozomal anomaliler Tablo 4.5' te gösterilmiştir.



Tablo 4.5. Turner Sendromu Endikasyonunda Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler

Endikasyon	Karyotip	Anormal Karyotip Sayısı	Kromozomal Anomali Yüzdesi(%)
Turner Sendromu (n=73)	45,X	3	12.33
	46,X,i(X)(q10)	2	
	mos 45,X/46,X,i(X)(q10)	1	
	mos 45,X/46,XX	2	
	46,X,der(X)	1	
Toplam		9	12.33

Toplam 73 Turner Sendromu endikasyonu ile başvuran hastaların 9'unda kromozomal anomali gözlenmiştir. Çalışmamızda Turner Sendromu olgularında %12.33 oranında anomali saptanmıştır.

Klinefelter Sendromu endikasyonu ile başvuran olgularda tespit edilen kromozomal anomaliler Tablo 4.6' da gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Klinefelter Sendromu Endikasyonunda Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler

Endikasyon	Karyotip	Anormal Karyotip Sayısı	Kromozomal Anomali Yüzdesi(%)
Klinefelter Sendromu (n=16)	47,XXY	6	50
	47,XYY	1	
	46,XX, SRY+	1	
Toplam		8	50

Klinefelter Sendromu endikasyonu ile başvuran 16 olgunun 8'inde kromozomal anomali gözlenmiştir. Çalışmamızda Klinefelter Sendromu şüphesi olan olgularda %50 oranında anomali tespit edilmiştir.

Primer İnfertilite endikasyonu ile başvuran olgularda tespit edilen kromozomal anomaliler Tablo 4.7. 'de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Primer İnfertilite Endikasyonunda Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler

Endikasyon	Karyotip	Anormal Karyotip Sayısı	Kromozomal Anomali Yüzdesi(%)
Primer İnfertilite (n=117)	47,XXY	4	5.13
	mos 46,X,der(Y)/45,X	1	
	46,XY,t(4;8)(q34;q24)	1	
Toplam		6	5.13

Toplam 117 Primer İnfertilite endikasyonu olan olguların 6'sında anomali saptanmış olup en çok 47,XXY karyotipi (n=4) saptanmıştır. Çalışmamızda Primer İnfertilite olgularında %5.13 anomali tespit edilmiştir.

Ambigus Genitalya endikasyonu ile başvuran olgularda tespit edilen kromozomal anomaliler Tablo 4.8 'de gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Ambigus Genitalya Endikasyonunda Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler

Endikasyon	Karyotip	Anormal Karyotip Sayısı	Kromozomal Anomali Yüzdesi(%)
Ambigus Genitalya (n=14)	46,XX,t(11;15)(q13.1;q26)mat	1	21.43
	47,XY,+21	1	
	46,XX,SRY+ (♂)	1	
Toplam		3	21.43

♂: Erkek

Toplam 14 Ambigus Genitalya olgunun, 3'ünde kromozomal anomali tespit edilmiştir. Çalışmamızda Ambigus Genitalya endikasyonu olan olgularda %21.43 oranında anomali rapor edilmiştir.

Hipogonadotropik Hipogonadizm endikasyonu ile başvuran olgularda tespit edilen kromozomal anomaliler Tablo 4.9 'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Hipogonadotropik Hipogonadizm Endikasyonunda Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler

Endikasyon	Karyotip	Anormal Karyotip Sayısı	Kromozomal Anomali Yüzdesi(%)
Hipogonadotropik Hipogonadizm (n=11)	47,XXY	1	27.27
	46,XX, SRY + (♂)	1	
	46,XY, SRY + (♀)	1	
Toplam		3	27.27

♂: Erkek ♀: Kadın

Toplam 11 Hipogonadotropik Hipogonadizm (HH) endikasyonu olan olguların 3'ünde anomali gözlenmiştir. Çalışmamızda HH olgularında %27.27 oranında anomali tespit edilmiştir.

Primer Amenore endikasyonu ile başvuran olgularda tespit edilen kromozomal anomaliler Tablo 4.10 'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. Primer Amenore Endikasyonunda Tespit Edilmiş Kromozomal Anomaliler

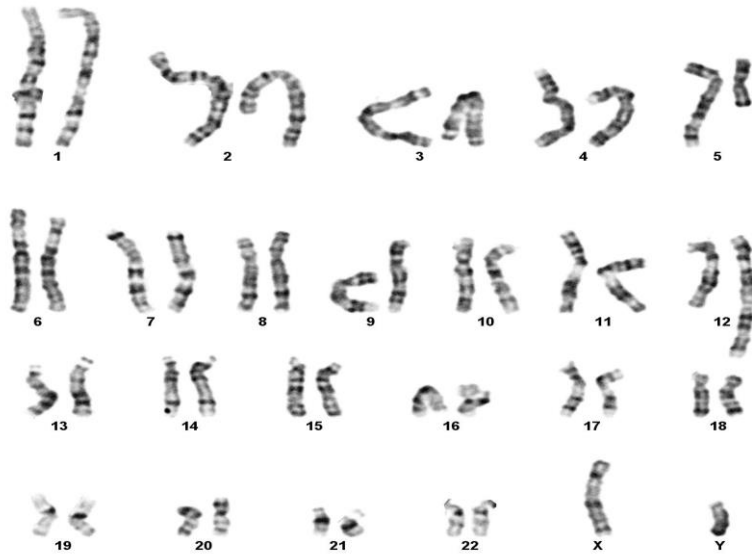
<b>Endikasyon</b>	<b>Karyotip</b>	<b>Anormal Karyotip Sayısı</b>	<b>Kromozomal Anomali Yüzdesi(%)</b>
Primer Amenore (n=27)	45,X	1	7.4
	46,XX, fra(16)(q22.1)	1	
Toplam		2	7.4

Toplam 27 Primer Amenore endikasyonu olan olguların 2'sinde kromozomal anomali tespit edilmiştir. Çalışmamızda Primer Amenore olgularında %7.4 oranında anomali raporlanmıştır.

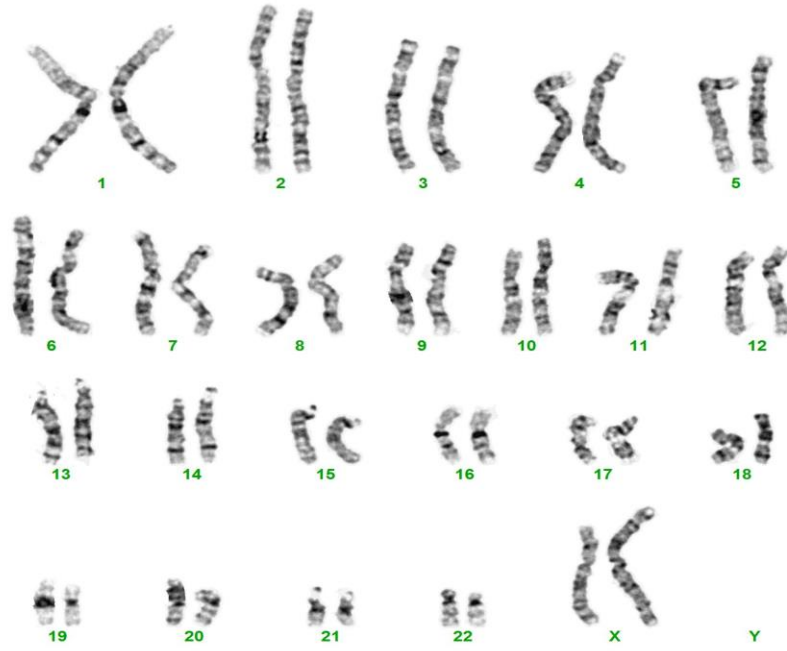
Çalışmamızda tespit edilen bazı kromozomal anomaliler Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4' te gösterilmiştir.



Şekil 4.1. 47,XXY Karyotipi



Şekil 4.2. 46,XY,t(5;12)(q15;q24.3) Karyotipi



Şekil 4.3. 46,X,i(X)(q10) Karyotipi



Şekil 4.4. 46,X,der(X) Karyotipi

#### **4.1.1. Sitogenetik Bulguların Değerlendirilmesi**

Çalışmamıza dahil edilen 469 olguda, %87 (n=408) oranında normal kromozom kuruluşu ve %13 (n=61) oranında kromozomal anomaliler tespit edilmiştir. Toplam 61 anomalili olgunun %13.11'i (n=8) otozomal anomaliler, %86.89'u (n=53) cinsiyet kromozom anomalilerden oluşmaktadır.

Periferik kandan elde edilen karyotip analizinde en çok Klinefelter Sendromu olgularında anomali tespit edilmiştir (%50). Takiben Hipogonadotropik Hipogonadizm (%27.27), Ambigus Genitalya (%21.43), Azoospermi (%14.2), Turner Sendromu (%12.33), Primer Amenore (%7.4) ve Primer İnfertilite (%5.13) olgularında kromozomal anomaliler gözlenmiştir.

#### **4.2. Hastaların Moleküler Sitogenetik (FISH) Bulguları**

Çalışmamızda periferik kandan tüm hastalar için kromozom analizi, bazı olgularda *SRY* translokasyonunu incelemek, kromozomlar arasında gerçekleşen translokasyon bölgelerini ve mozaizm oranını belirlemek amacı ile bazı hastalarda moleküler sitogenetik analiz uygulanmıştır. Toplam 61 anomalili olgudan, 12'sinde FISH analizi gerçekleştirilmiştir. FISH analizi için *SRY* spesifik problemleri, subtelomerik ve lokus problemleri kullanılmıştır (Tablo 4.11.).

##### **4.2.1. Moleküler Sitogenetik Bulguların Değerlendirilmesi**

Çalışmamızda kromozom analizinde elde edilen karyotiplemede toplam üç 46,XX CGB tespit edilmiştir. Alınan periferik kandan elde edilen hücre pelletinden moleküler sitogenetik analiz gerçekleştirilmiştir. İncelenen metafaz ve nükleuslarda, tüm olgularda *SRY* gen bölgesi açısından pozitif FISH sinyal paterni saptanmıştır (Şekil 4.5.). Sitogenetikte 46,XX CGB saptanan olgulardan birinde *SRY* gen bölgesine ait sinyal 6. kromozomda izlenmiştir (46,XX,ish der(6)(*SRY*+, 6pTEL48-)).

Sitogenetik analiz sonucunda bir olguda 46,XY CGB tespit edilmiştir. Uygulanan FISH analizinde *SRY* gen bölgesi açısından pozitif sinyal paterni saptanmıştır.

Sitogenetikte mos 45,X/46,X,i(X) tespit edilen 1 olguda FISH analizinde incelenen interfaz ve metafazda mozaik olarak X kromozomu için tek sinyal paterni ve mozaik olarak X kromozomlarından biri için normal sinyal paterni, diğer X kromozomu için izo(Xq) ile uyumlu sinyal paterni saptanmıştır.

İki olgunun mos 45,X/46,X,der(Y) sonucunda yapılan FISH analizinde monozomi X mozaisizmi tespit edilmiştir. Mozaiklik derivatif Y kromozomu içeren interfazlarda ise SRY geni için sinyal gözlenmiştir.

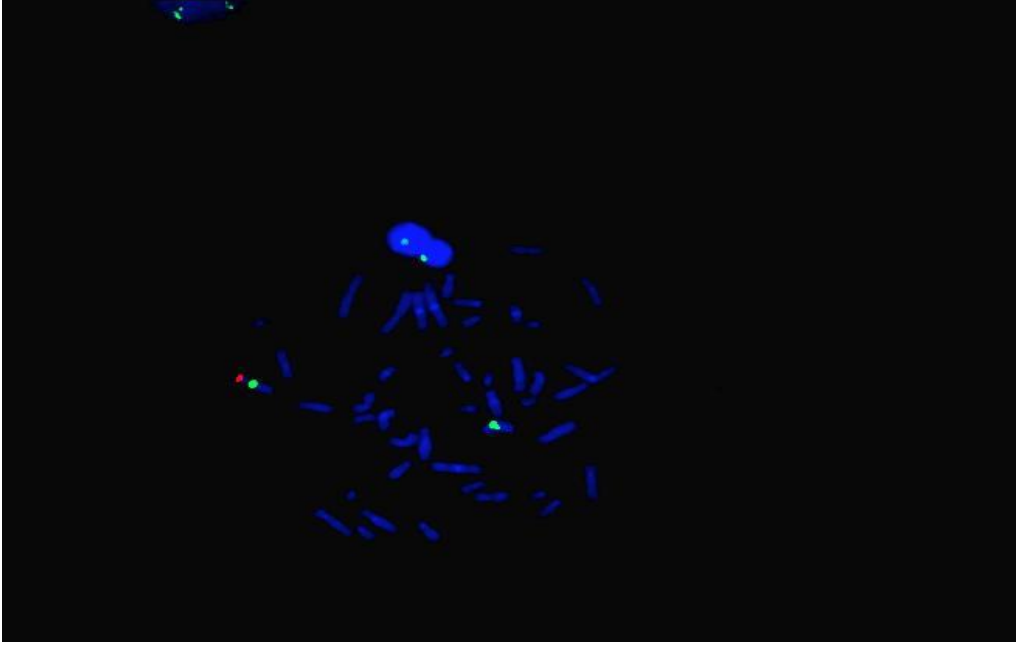
Mos 47,XXY/46,XY bir olgunun FISH sonucunda incelenen hücrelerinde yaklaşık %90 oranında Klinefelter sendromu ile uyumlu sinyal paterni saptanmıştır.

Sitogenetik analizde 46,XY,t(12;22)(p12.2;q13.2), 46,XY,t(9;21)(p21.1;q21.2), 46,X,t(Y;2)(q11.23;p11.2) ve 46,XY,t(5;12)(q15;q24.3) tespit edilen olgularda yapılan FISH analizinde, incelenen bölgeler açısından t(12;22), t(9;21), t(Y;2) ve t(5;12) ile uyumlu sinyal paterni saptanmıştır. Şekil 4.6'da t(5;12)'nin FISH görüntüsü gösterilmiştir.

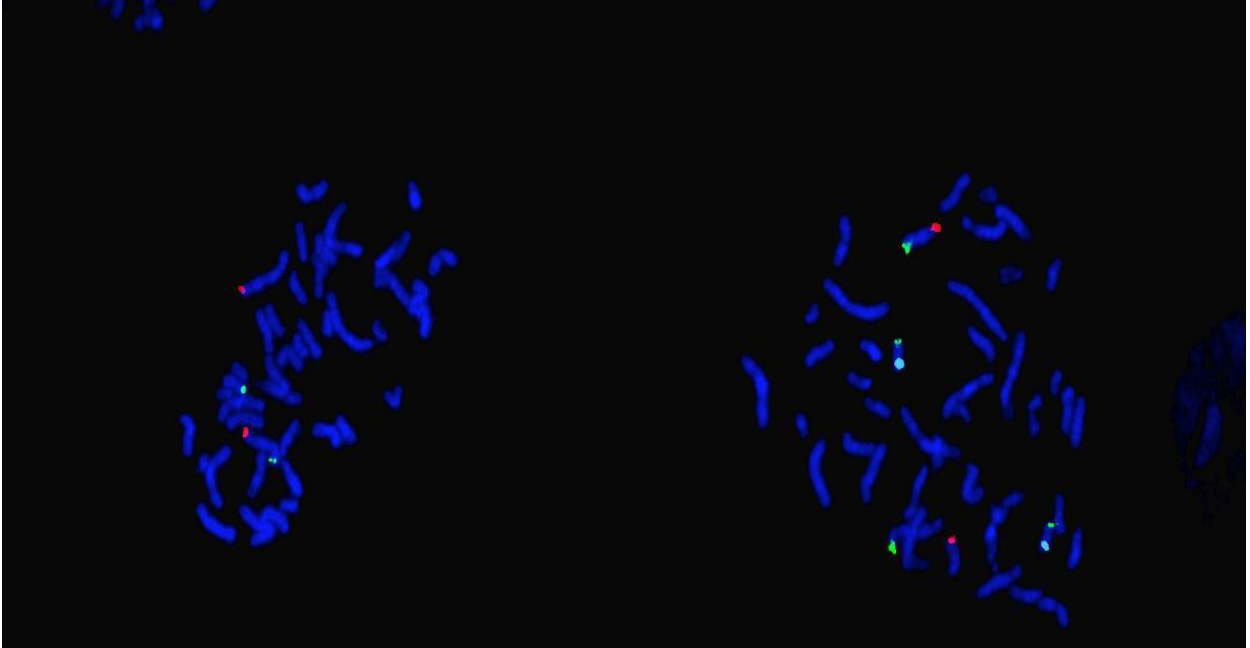


Tablo 4.11. Karyotip ve FISH Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Anomaliler	Anomalili Hasta Sayısı	Kullanılan Problar	FISH Sonucu
46,XX CGB	3	SRY/CEP X	3 olguda <i>SRY</i> pozitif (Bir olguda <i>SRY</i> gen bölgesine ait sinyal 6. kromozomda izlenmiştir → 46,XX,ish der(6)(SRY+, 6pTEL48-))
46,XY CGB	1	SRY/CEP X	<i>SRY</i> pozitif
mos 45,X/46,X,i(X)(q10)	1	Xq13.2(XIST) Subtelomer(Xq)	nucish(XISTx1)[140/200],(XISTx3)[60/200]
mos 45,X/46,X,der(Y)	2	SRY/CEP X	nucish(DXZ1x1,SRYx2[120/150])/nucish(DXZ1x1,SRYx0)[30/150]  nucish(DXZ1x1,SRYx0[300/400])/nucish(DXZ1x1,SRYx2)[100/400]
mos 47,XXY/46,XY	1	SRY/CEP X	Nucish(DXZ1x2,SRYx1)[360/400]/(DXZx1,SRYx1)[40/400]
46,XY,t(12;22)(p12.2;q13.2)	1	ETV6(TEL) /RUNX1(AML)  subtelomer  DiGeorge N25(SHANK3)	46,XY,t(12;22)(p12.2q13.2)[20].isht(12;22)(SHANK3+,N25-,TEL-,8M16/SP6-VIJyRM2196+;SHANK3-,N25+,TEL+,8M16/SP6+,VIJyRM2196-)[20]
46,XY,t(9;21)(p21.1;q21.2)	1	p16 AML	46,XY,t(9;21)(p21.1q21.2)[20].ish(9;21)(p16-,AML+;p16+,AML-)
46,X,t(Y;2)(q11.23;p11.2)	1	SRY CEPY	46,X,t(Y;2).ish t(Y;2)(SRY+,CEPY+;SRY-,CEPY-)
46,XY,t(5;12)(q15;q24.3)	1	5p,5q subtel 12p,12q subtel	46,XY,t(5;12)(q15q24.3)[20].ish(5;12)(8m16/SP6+,VDyRM2196-,C84c11/T3-,D5S2907+; 8m16/SP6-,VDyRM2196+, C84c11/T3+, D5S2907-)



Şekil 4.5. 46,XX, SRY pozitif FISH Görüntüsü  
(CEPX yeşil sinyal, SRY kırmızı sinyal)



Şekil 4.6. 46,XY,t(5;12)(q15;q24.3) FISH Görüntüleri  
(5ptel, 12ptel→ yeşil sinyal; 5qtel ve 12qtel→ kırmızı sinyal; CEP18→Aqua)

## 5- TARTIŞMA

Cinsiyet kromozomlarının anomalileri prenatal ve postnatal tanıda en sık gözlenen kromozom anomalileridir. İnsidansı 448 yenidoğanda birdir (Al-Alawi vd., 2016).

Cinsiyet gelişme bozuklukları (CGB), kromozomal, gonadal veya anatomik cinsiyet gelişiminin atipik olduğu konjenital durumlardır. Popülasyonda 1000'de bir oranında görülebilmektedir. Oldukça geniş bir spektrumu olan CGB'nun şimdiye kadar değişik sınıflamaları yapılmıştır. Genital fenotipin çok geniş bir spektrum göstermesi ve pek çok vakada genotip-fenotip ilişkisinin zayıf olması nedeni ile patolojileri net sınırlar ile ayırmak zor olmuştur (Ostrer, 2014). Bu olgu grubunda etyolojinin belirlenmesi için fenotipik bulgular, sitogenetik ve moleküler sitogenetik ile ilişkilendirilerek analiz edilmiştir.

Cinsel gelişim anomali nedenlerinin erken dönemde tespit edilmesi, etkilenen olguların erken dönemde cinsel kimliğinin belirlenmesi ve tedaviye yönlendirilmesi açısından oldukça önemlidir. Özellikle infertilite, gecikmiş puberte, cinsel belirsizlik ve primer amenore olgu gruplarında kromozomal anomalilerin tespiti bu hastaların tanı ve tedavisinde büyük katkı sağlamaktadır (Al-Alawi vd., 2016).

Sitogenetik analiz verimlilik veya bilinmeyen cinsel sorunları olan bireyleri araştırmak için en yararlı yaklaşımlardan biridir (Jouyan vd., 2012). Moleküler sitogenetik teknikler, konvansiyonel sitogenetik yetersizlikleri tamamlamak için kullanılan teknikler olup Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) en çok uygulanan moleküler sitogenetik tekniklerden biridir. Tanımlanamamış marker kromozomu, translokasyon bölgelerini belirlemek , inversiyon, insersiyon, mikrodelsyonlar gibi yapısal kromozomal yeniden düzenlenmeler ve sayısal kromozomal anomaliler FISH tekniği ile tespit edilebilmektedir (Vogelstein & Kinzler, 2002).

Çalışmamızda Azoospermi, Turner Sendromu, Klinefelter Sendromu, Primer İnfertilite, Ambigus Genitalya, Hipogonadotropik Hipogonadizm ve Primer Amenore ön tanıları ile kliniğimize yönlendirilmiş olgularda kromozom aberasyon sıklığı değerlendirilmiştir. Retrospektif olarak bu olgu gruplarının 3 yıla ait sitogenetik ve moleküler sitogenetik analizlerinin değerlendirilmesi, bölgesel verilerin oluşturulmasına katkı sağlayacaktır.

Çalışmamızda Ocak 2013 ve Aralık 2015 tarihleri arasında cinsel gelişimin farklı klinik özelliklerine sahip 469 olgu Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda incelenmiş ve sonuçlar literatür eşliğinde tartışılmıştır.

### **5.1. Sitogenetik ve Moleküler Sitogenetik Yöntem ile Saptanan Anomalilerin Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması**

Naasse ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları retrospektif bir çalışmada 1998 ve 2013 tarihleri arasında 444 Azoospermik erkekte kromozomal anomalilerin sıklığını ve Y kromozomu mikrodelesyonunun değerlendirilmesini yapmışlardır. Y kromozom mikrodelesyonlarını belirlemek amacıyla 85 olguda multiplex PCR tekniğinden yararlanarak moleküler analiz gerçekleştirilmiştir. Sitogenetik analiz sonucunda %13.06 (n=58) oranında kromozomal anomali saptanmıştır. Bu çalışma İnfertilitenin nedenlerini tanımlamak için genetik faktörlerin (karyotip, Y mikrodelesyonu vb.) analizini önermiştir (Naasse vd., 2015) (Tablo 5.1.).

*Hammami ve arkadaşları* 2015 yılında yapmış oldukları retrospektif bir çalışmada Ocak 2006 ve Mayıs 2014 tarihleri arasında 401 Azoospermik erkekte kromozomal anomalilerin sıklığını değerlendirmek amacıyla sitogenetik analizi uygulamışlardır. Ayrıca karyotipi normal gözlenmiş 90 olguda multiplex PCR tekniğinden yararlanarak Y kromozomu mikrodelesyonunun değerlendirilmesini yapmışlardır. Karyotipleme sonucunda %12.22 (n=49) oranında kromozomal anomali tespit edilmiştir. Bu çalışmada cinsiyet kromozom anomalileri %10.47 (n=42) oranında raporlanmıştır (Hammami vd., 2015) (Tablo 5.1.).

*Amouri ve arkadaşları* 2014 yılında yaptıkları retrospektif bir çalışmada 2006 ve 2012 tarihleri arasında 328 Azoospermik erkekte kromozomal anomalilerin sıklığını değerlendirmişlerdir. Sitogenetik analiz sonucunda %14.02 (n=46) oranında kromozomal anomali saptanmıştır. Cinsiyet kromozom anomalileri 40 olguda gözlenmiştir ve en çok 47,XXY kromozom kuruluşu saptanmıştır (n=31). Bu çalışma kromozomal anomali ve azoospermi arasındaki ilişkiyi desteklemiştir; Ayrıca normal karyotip saptanmış hastalarda, Y kromozomun taramasını önermiştir (Amouri vd., 2014) (Tablo 5.1.).

*Akbari ve arkadaşları* 2012 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, başvuran 132 Azoospermi olguda sitogenetik analiz gerçekleştirmişlerdir. Kromozom analizinde %20.45 (n=27) oranında kromozomal anomaliler saptanmıştır. Sayısal ve yapısal anomaliler sırasıyla 25 ve 2 olguda gözlenmiştir. Bu çalışma infertil erkeklerde kromozomal anomalilerin sıklıkla meydana geldiğini göstermiş ve bu sebeple olguların yardımcı üreme tekniklerinden faydalanabilmeleri konusunda sitogenetik analizin ve bulguların önemini vurgulamıştır (Akbari, Behjati, Pourmand, Asbagh & Kachoui, 2012) (Tablo 5.1.).

*Şamlı ve arkadaşları* 2005 yılında yapmış oldukları retrospektif bir çalışmada 1995 ile 2005 tarihleri arasında 383 azoospermik erkekte sitogenetik analiz uygulamışlardır. Karyotipleme sonucunda %12.3 (n=47) oranında kromozomal anomaliler tespit edilmiştir. Otozomal ve gonozomal anomaliler sırasıyla %19.1 (n=9) ve %80.9 (n=38) olarak raporlanmıştır. Bu çalışmada infertil erkek olgularında genetik nedenlerin belirlenmesi ve yardımcı teknikleri kullanarak elde edilecek bu bireylere ait çocukların taşıyabilecekleri genetik riskin saptanması amacıyla, sitogenetik analizin doğru tanının konmasına yardımcı olacağını bildirilmiştir (Şamlı, Solak, İmirzalıoğlu & Şamlı, 2005) (Tablo 5.1.).

Çalışmamızda Azoospermi ile başvuran 211 olgunun %14.22'side (n=30) kromozomal anomaliler saptanmıştır. Bizim çalışmamızda kromozomal anomaliler literatürlere göre daha sık gözlenmiştir. Literatürde otozomal ve gonozomal kromozomal anomalileri sırasıyla %2.70 ve %4.12 olarak raporlanmıştır. Bizim çalışmamızda anomaliler %1.9 oranında otozomal ve %12.32 oranında gonozomal olarak tespit edilmiştir.

Tablo 5.1. Çalışmamızda Azoospermi Olgularında Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması

<b>Araştırmacı</b>	<b>Toplam Olgu Sayısı</b>	<b>Kromozomal Anomali Sayısı</b>	<b>Gonozomal Anomali Sayısı</b>	<b>Otozomal Anomali Sayısı</b>	<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>
Naasse ve ark. (2015)	444	58 (%13.06)	54	4	P>0.05
Hammami ve ark. (2015)	401	49 (%12.22)	42	7	P>0.05
Amouri ve ark. (2014)	328	46 (%14.02)	40	6	P>0.05
Akbari ve ark. (2012)	132	27 (%20.45)	26	1	P>0.05
Şamlı ve ark. (2005)	384	47 (%12.3)	38	9	P>0.05
Bizim Çalışmamız (2016)	211	30 (%14.22)	26	4	

*Al-Alawi ve arkadaşları* 2016 yılında yaptıkları retrospektif bir çalışmada, Haziran 1999 ve Mayıs 2014 tarihleri arasında başvuran Turner Sendromu, Klinefelter Sendromu, Primer İnfertilite, Ambigus Genitalya, Hipogonadotropik Hipogonadizm ve Primer Amenore şüphesi olan olgularda sitogenetik analiz sonuçlarını değerlendirmişlerdir. Çalışmada 1022 olgunun, karyotip analizi sonucunda %22.21'inde (n=227) kromozomal anomali tespit edilmiştir. Bu çalışma çeşitli klinik şüpheleri olan cinsiyet kromozom anomalili hastalarda örneğin Ambigus Genitalya, Turner Sendromu, Klinefelter Sendromu ve Amenoreli hastalarda sitogenetik analizin önemini desteklemiştir (Al-Alawi vd., 2016) (Tablo 5.2., Tablo 5.3., Tablo 5.4., Tablo 5.5, Tablo 5.6., Tablo 5.7.).

*Thillainathan ve arkadaşları* 2014 yılında yayınlamış olduğu bir başka retrospektif çalışmada Ocak 2006 ve Aralık 2011 tarihleri arasında Turner Sendromu ve Ambigus Genitalya şüphesi olan çocuklarda sitogenetik analiz uygulamışlardır. Çalışmada 379 olgunun analiz sonucunda %16.35 (n=62) oranında kromozomal anomali rapor edilmiştir. Bu çalışmada konjenital ve gelişimsel anomalileri olan çocuklarda sitogenetik analizin önemi vurgulanmıştır (Thillainathan, Sirisena, Kariyawasam, Jayasekara & Dissanayake, 2014) (Tablo 5.2., Tablo 5.4.).

*Jouyan ve arkadaşları* 2012 yılında yaptıkları retrospektif çalışmada 2000 ve 2009 tarihleri arasında Klinefelter Sendromu, Turner Sendromu ve Ambigus Genitalya şüphesi ile başvuran 521 olguda sitogenetik analiz uygulamışlardır. Analiz sonucunda %23.41 (n=122) oranında kromozomal anomaliler saptanmıştır. Bu çalışmada cinsel gelişim bozukluğu olan bireylerde sitogenetik analiz en yararlı yaklaşımlardan biri olduğu ayrıca cinsiyet kromozom anöploidileri, otozomal anöploidilere göre daha yaygın olabileceği sonucuna varılmıştır (Jouyan vd., 2012) (Tablo 5.2, Tablo 5.3, Tablo 5.4.).

*Balkan ve arkadaşları* 2010 yılında 2000 ve 2009 tarihleri arasında yaptıkları retrospektif bir çalışmada Turner Sendromu, Klinefelter Sendromu, Primer İnfertilite, Ambigus Genitalya ve Primer/Sekonder Amenore şüphesi olan 1488 olguda Sitogenetik ve FISH analizlerini uygulamışlardır. Kromozom analizi sonucunda olguların %19.22 (n=286) kromozomal anomaliler saptanmıştır. Bu çalışmada polimorfik inversiyon 9'un anormal varyant olarak dahil edilmesi nedeniyle, anomali yüzdesi yüksek olduğu bildirilmiştir. Kromozomlar arasında gerçekleşen translokasyon bölgelerini belirlemek için FISH analizi uygulanmıştır (Balkan vd., 2010) (Tablo 5.2., Tablo 5.3., Tablo 5.4., Tablo 5.6., Tablo 5.7.).

Çalışmamızda Ocak 2013 ve Aralık 2015 tarihleri arasında cinsel gelişimin farklı klinik özelliklerine sahip 469 olguda yapılan sitogenetik ve moleküler sitogenetik analiz sonucunda olguların %13'ünde (n=61) kromozomal anomali tespit edilmiştir. Anomali saptanan olguların %13.11'i (n=8) otozomal anomaliler ve %86.89'u (n=53) cinsiyet kromozom anomalileri olarak rapor edilmiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıkların, hastaların seçim kriterleri ve grupların büyüklüğündeki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tablo 5.2. Çalışmamızda Turner Sendromu Endikasyonu ile Başvuran Olgularda Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması

<b>Araştırmacı</b>	<b>Toplam Olgu Sayısı</b>	<b>Kromozomal Anomali Sayısı</b>	<b>Kromozomal Anomali Yüzdesi</b>	<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>
Al-Alawi ve ark. (2016)	283	62	%21.9	P>0.05
Thillainathan ve ark. (2014)	149	50	%33.56	P<0.05
Jouyan ve ark. (2012)	354	57	%16.10	P>0.05
Balkan ve ark. (2010)	486	95	%19.55	P>0.05
Bizim çalışmamız (2016)	73	9	%12.33	

Çalışmamızda Turner Sendromu endikasyonu olan olguların verileri ile Thillainathan ve arkadaşlarının bulguları karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir (P<0.05).



Tablo 5.3. Çalışmamızda Klinefelter Sendromu Endikasyonu ile Başvuran Olgularda Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması

<b>Araştırmacı</b>	<b>Toplam Olgu Sayısı</b>	<b>Kromozomal Anomali Sayısı</b>	<b>Kromozomal Anomali Yüzdesi</b>	<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>
Al-Alawi ve ark. (2016)	71	46	%64.8	P>0.05
Jouyan ve ark. (2012)	137	56	%40.87	P>0.05
Balkan ve ark. (2010)	364	92	%25.27	P<0.05
Bizim çalışmamız (2016)	16	8	%50	

Çalışmamızda Klinefelter Sendromu endikasyonu olan olgu verileri ile Balkan ve arkadaşlarının bulguları karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılıklar bulunmaktadır (P<0.05). Bizim çalışmamızda, kromozomal anomalileri tespit etme oranının bu çalışmaya göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Tablo 5.4. Çalışmamızda Ambigus Genitalya Endikasyonu ile Başvuran Olgularda Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması

<b>Araştırmacı</b>	<b>Toplam Olgu Sayısı</b>	<b>Kromozomal Anomali Sayısı</b>	<b>Kromozomal Anomali Yüzdesi</b>	<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>
Al-Alawi ve ark. (2016)	264	29	%10.98	P>0.05
Thillainathan ve ark. (2014)	230	12	%5.22	P<0.05
Jouyan ve ark. (2012)	30	9	%30	P>0.05
Balkan ve ark. (2010)	162	22	%13.58	P>0.05
Bizim çalışmamız (2016)	14	3	%21.43	

Çalışmamızda Ambigus Genitalya endikasyonu olan olgu verileri Thillainathan ve arkadaşlarının bulguları ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (P<0.05). Bizim çalışmamızda raporlanan kromozomal anomali oranının bu çalışmaya göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Tablo 5.5. Çalışmamızda Hipogonadotropik Hipogonadizm Endikasyonu ile Başvuran Olgularda Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması

<b>Araştırmacı</b>	<b>Toplam Olgu Sayısı</b>	<b>Kromozomal Anomali Sayısı</b>	<b>Kromozomal Anomali Yüzdesi</b>	<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>
Al-Alawi ve ark. (2016)	40	11	%27.5	P=1
Bizim çalışmamız (2016)	11	3	%27.27	

Çalışmamızda, Al-Alawi ve arkadaşlarının bulgularına paralel olarak Hipogonadotropik Hipogonadizm endikasyonu olan olgularda yaklaşık aynı anomali yüzdesi saptanmıştır. Çalışmalar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

*Kaya ve arkadaşları* 2015 yılında yapmış oldukları retrospektif bir çalışmada 2007 ve 2012 tarihleri arasında infertilitenin etyolojisindeki kromozomal faktörleri incelemek amacıyla 151 İnfertil erkek olguda kromozom analizi uygulamışlardır. Sitogenetik analizi sonucunda %21.8 (n=33) oranında sayısal ve yapısal kromozomal anomaliler raporlanmıştır. Sitogenetik analizi sonucunda kromozomal anomaliler olarak gonozomal anöploidi, mozaik gonozomal anöploidi, Y kromozom delesyonu ve marker kromozomu saptanmıştır. Bu çalışmada kromozom analizinin yapılması, infertilite olgularının yardımcı üreme tekniklerinden faydalanabilmeleri konusunda yardımcı olabileceği vurgulanmıştır (Kaya vd., 2015) (Tablo 5.6.).

*Suganya ve arkadaşları* 2015 yılında yaptıkları retrospektif bir çalışmada Haziran 2009 ve Ağustos 2014 tarihleri arasında Primer İnfertilite olgularında kromozomal anomalilerin sıklığını değerlendirmek amacıyla 180 infertil erkek olguda sitogenetik analiz gerçekleştirmişlerdir. Analiz sonucunda olguların %2.45'inde (n=7) kromozomal anomali tespit edilmiştir (Suganya vd., 2015) (Tablo 5.6.).

*Kate ve arkadaşları* 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada 78 infertil erkek olguda sitogenetik analiz gerçekleştirmişlerdir. Kromozom analizi sonucunda olguların %10.2'sinde (n=8) cinsiyet ve otozomal kromozom anomaliler raporlanmıştır. Bu çalışmada, yapısal anomaliler arasında en çok dengeli translokasyonlar gözlenmiştir (Kate, Pokale, Jadhav & Gangane, 2014) (Tablo 5.6.).

*Sreenivasa ve arkadaşları* 2013 yılında yapmış oldukları retrospektif bir çalışmada 2009 ve 2012 tarihleri arasında 200 infertil erkek olguda kromozomal anomalilerin sıklığını değerlendirmişlerdir. Sitogenetik analiz sonucunda %7.5 (n=15) oranında kromozomal anomaliler tespit edilmiştir (Sreenivasa, Malini, Kumari & Dutta, 2013) (Tablo 5.6.).

Çalışmamızda Primer İnfertilite şüphesi ile başvuran 117 erkek olgunun analiz sonucunda %5.13 (n=6) oranında kromozomal anomaliler saptanmıştır. Cinsiyet kromozom anomaliler 5 olguda ve otozomal anomaliler 1 olguda gözlenmiştir.

Tablo 5.6. Çalışmamızda Primer İnfertilite Olgularında kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgileri ile Karşılaştırılması

Araştırmacı	Toplam Olgu Sayısı	Kromozomal Anomali Sayısı	Gonozomal Anomali Sayısı	Otozomal Anomali Sayısı	Diğer	İstatistiksel Değerlendirme
Al-Alawi ve ark. (2016)	41	5 (%12.19)	4	1	-	P>0.05
Kaya ve ark. (2015)	151	33 (%21.8)	31	-	2	P<0.001
Suganya ve ark. (2015)	180	7 (%3.17)	4	3	-	P>0.05
Kate ve ark. (2015)	78	8 (%10.2)	3	5	-	P>0.05
Sreenivasa ve ark. (2013)	200	15 (%7.5)	13	2	-	P>0.05
Balkan ve ark. (2010)	134	21 (%15.67)	17	4	-	P<0.05
Bizim Çalışmamız (2016)	117	6 (%5.13)	5	1	-	

Çalışmamızda Primer İnfertilite endikasyonu olan olgu verileri literatür bulguları ile karşılaştırıldığında, Kaya ve arkadaşları'nın yaptığı çalışma ile aralarında ileri düzeyde anlamlı farklılık ( $P<0.001$ ) ve Balkan ve arkadaşlarının bulguları ile aralarında anlamlı düzeyde farklılık ( $P<0.05$ ) gözlenmiştir.

*Pidugu ve arkadaşları* 2013 yılında yaptıkları retrospektif bir çalışmada Şubat 1998 ve Şubat 2012 tarihleri arasında Primer Amenore olgularında kromozomal anomalilerin sıklığını değerlendirmek amacıyla 637 olguda sitogenetik ve FISH analizi gerçekleştirmişlerdir. Analiz sonucunda %20.7 (n=132) olguda kromozomal anomali tespit edilmiştir. Anomalili olgularda en çok 45,X kromozom kuruluşu (n=48) gözlenmiştir. FISH analizi gerektiğinde bazı olgularda kırık noktaları ve mozaikizm oranını belirlemek için uygulanmıştır. Bu çalışmada kromozomal anomalilerin genel yüzdesi, özellikle Turner sendromu özelliklerine sahip tüm Primer Amenoreli hastalarında, kromozom analizin önemini vurgulamıştır. Primer/Sekonder amenoreli olgularında kromozomal anomalilerin erken tanımlanması, yardımcı üreme tekniklerinden faydalanabilmesi konusunda yardımcı olabileceği ve mozaikizm saptanan olgularda fertilité şansı öngörülebileceğini desteklemiştir (Pidugu, 2013) (Tablo 5.7.).

*Vijayalakshmi ve arkadaşları* 2010 yılında yapmış oldukları çalışmada 140 Primer Amenoreli olguda kromozom analizi ve FISH uygulamışlardır. Karyotipleme sonucunda %27.8 (n=39) oranında kromozomal anomali raporlanmıştır. Anomali saptanan olguların 29'unda sayısal ve 10'unda yapısal anomaliler gözlenmiştir. Marker kromozomun orijinini ve mozaikizm oranını belirlemek amacıyla 2 olguda FISH analizi gerçekleştirilmiştir (Vijayalakshmi vd., 2010) (Tablo 5.7.).

*Ayatollahi ve arkadaşları* 2010 yılında yaptıkları retrospektif bir çalışmada Ocak 2005 ve Mart 2008 tarihleri arasında Primer Amenore olgularında kromozomal anomalilerin sıklığını değerlendirmek amacıyla 220 olguda sitogenetik analiz uygulamışlardır. Kromozom analizi sonucunda %20 (n=44) oranında kromozomal anomali tespit edilmiştir. Anomali saptanan olgularda en çok 45,X (n=22) kromozom kuruluşu raporlanmıştır. Bu çalışma Primer Amenore olgularında genetiğe bağlı olmayan nedenler dışlandıktan sonra, genetik çalışmanın yapılmasını vurgulamıştır (Ayatollahi, Safaei & Vasei, 2010) (Tablo 5.7.).

*Kalavathi ve arkadaşları* 2010 yılında yapmış oldukları retrospektif bir çalışmada 1979 ve 2004 tarihleri arasında Primer Amenore olgularında kromozomal anomalilerin sıklığını değerlendirmek amacıyla 852 olguda sitogenetik analiz gerçekleştirmişlerdir. Karyotipleme sonucunda %25.82 (n=220) oranında kromozomal anomali raporlanmıştır. Bu çalışma anormal cinsel gelişim etyolojisinde, kromozomların rol oynadığını vurgulamıştır (Kalavathi vd., 2010) (Tablo 5.7.).

Çalışmamızda Primer Amenore ile başvuran 27 olguda yapılan analizde %7.4 (n=2) oranında kromozomal anomali saptanmıştır. Literatürde Primer Amenorede kromozomal anomalilerin oranı %15.9 ile %63.3 arasında görülmektedir ve bu oran örnek büyüklüğüne ve hasta seçim kriterlerine bağlı olduğunu düşünmekteyiz . Çalışmamızdaki örnek sayısı literatür verileri ile kıyaslandığında daha az olduğu görülmektedir.

Tablo 5.7. Çalışmamızda Primer Amenoreli Olgularda Kromozomal Anomalileri Sıklığının Literatür Bilgiler ile Karşılaştırılması

<b>Araştırmacı</b>	<b>Olgu Sayısı</b>	<b>Kromozom anomali Yüzdesi (%)</b>	<b>X Kromozom Anöploidilerin Sayısı</b>	<b>Yapısal Kromozom Anomalilerinin Sayısı</b>	<b>Normal Varyant</b>	<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>
Al-Alawi ve ark. (2016)	323	%16.43 (n=74)	belirtilmemiş	belirtilmemiş	-	P>0.05
Pidugu ve ark. (2013)	637	%20.7 (n=132)	75	46	11	P>0.05
Vijayalakshmi ve ark. (2010)	140	%27.8 (n=39)	29	10	-	P<0.05
Ayatollahi ve ark. (2010)	220	%20 (n=44)	36	8	-	P>0.05
Kalavathi ve ark. (2010)	852	%25.82 (n=220)	160	60	-	P>0.05
Balkan ve ark. (2010)	342	%16.37 (n=56)	28	10	18	P>0.05
Bizim Çalışmamız (2016)	27	%7.4 (n=2)	1	1	-	

Çalışmamızda Primer Amenore endikasyonu olan olgu verileri, Vijayalakshmi ve arkadaşlarının bulguları ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (P<0.05).

## 6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında Ocak 2013 ve Aralık 2015 tarihleri arasında periferik kandan cinsiyet kromozom düzensizliklerinin sitogenetik ve moleküler sitogenetik verilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Retrospektif çalışmamızda Azoospermi, Turner Sendromu, Klinefelter Sendromu, Primer İnfertilite, Ambigus Genitalya, Hipogonadotropik Hipogonadizm ve Primer Amenore ön tanıları ile kliniğimize yönlendirilmiş toplam 469 olguda konvansiyonel sitogenetik analiz gerçekleştirilmiştir. Bazı anomali tespit edilen olgularda SRY gen bölgesinin incelenmesi, mozaiklik oranını ve kromozomlar arasında gerçekleşen translokasyon bölgelerini belirlemek amacıyla FISH analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler literatürlerle birlikte tartışılmıştır.

Çalışmamıza dahil edilen 469 olguda, %87 (n=408) oranında normal kromozom kuruluşu ve %13 (n=61) oranında kromozomal anomali tespit edilmiştir. Toplam 61 anomalili olgunun %13.11'i (n=8) otozomal anomaliler, %86.89'u (n=53) cinsiyet kromozom anomalilerden oluşmuştur. Karyotipleme sonucunda, otozomal anomalilerde en çok translokasyon tipi anomaliler (n=5), cinsiyet kromozom anomalilerinde ise en çok 47,XXY (n=33) kromozom kuruluşu tespit edilmiştir.

Periferik kandan elde edilen karyotip analizinde en çok Klinefelter Sendromu olgularında anomali tespit edilmiştir (%50). Takiben Hipogonadotropik Hipogonadizm (%27.27), Ambigus Genitalya (%21.43), Azoospermi (%14.2), Turner Sendromu (%12.33), Primer Amenore (%7.4) ve Primer İnfertilite (%5.13) olgularında kromozomal anomaliler gözlenmiştir.

Çalışmamızda saptanan anomalilerin çoğu hasta gruplarında literatür verileri ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Sitogenetik analiz infertilite ve cinsiyet gelişim bozuklukları olan hastalarda, erken tanı ve tedavi ile bu olguların hayat standartlarını artıracaktır. Bu nedenle erken (çocukluk veya adolesan) dönemde hastaların kromozom analizine yönlendirilmeleri önemlidir.

Sitogenetik analiz infertilite veya cinsiyet gelişim bozukluğu olan bireylerde klinik tanıyı doğrulamak için en yararlı yaklaşımlardan biridir. Ancak G-bantlama yöntemiyle karyotip analizinin çözünürlüğü en iyi koşullarda yaklaşık 5 Mb ve FISH 1-3 Mb düzeyindedir. Normal karyotip tespit edilmiş ancak cinsel gelişim bozukluğu ile ilgili klinik bulguları bulunan hastalarda, sitogenetik ve FISH ile tespit edilememiş çok küçük kazanç ve kayıplar array-CGH ile incelenebilir.

Bizim retrospektif çalışmamızdan elde edilen veriler, infertilite ve cinsiyet gelişim bozukluğu olan olgularda bölgesel sitogenetik veri kütüphanesi oluşturmak için bir temel sağlayacaktır.



## KAYNAKLAR DİZİNİ

Achermann, J. C. (Ed.). (2010). *Disorders of sex development. (2nd Ed.)*. New York, Mc Graw Hill Medical.

Akbari, M. T., Behjati, F., Pourmand, G. R., Asbagh, F. A., & Kachoui, M. A. (2012). Cytogenetic abnormalities in 222 infertile men with azoospermia and oligospermia in Iran: Report and review. *Indian journal of human genetics, 18(2)*, 198.

Al-Alawi, I., Goud, T. M., Al-Harasi, S., & Rajab, A. (2016). Cytogenetic studies of 1232 patients with different sexual development abnormalities from the Sultanate of Oman. *Reproductive biomedicine online, 32(2)*, 162-169.

Aldemir, Ö., Müslümanoğlu, M. H., Can, C., Bal, C., Cantürk, M., Emre, R., ... & Artan, S. (2013). ICSI Sonrası Fertilizasyon Sonuçlarına Azoospermik ve Oligospermik Hastalardaki Genetik Anomalilerinin Etkisi. *Tıp Araştırmaları Dergisi, 11(3)*.

Amouri, A., Hammami, W., Kilani, O., Bouzouita, A., Ayed, W., Meftah, M. B., ... & Jaafoura, M. H. (2014). Chromosomal evaluation in a group of Tunisian patients with non-obstructive azoospermia and severe oligozoospermia attending a Tunisian cytogenetic department. *Comptes rendus biologies, 337(4)*, 223-228.

Artan, S. (Ed.). (1996). *Teorik ve Pratik Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH)*, Eskişehir: GENTAM

Ayatollahi, H., Safaei, A., & Vasei, M. (2010). Cytogenetic analysis of patients with primary amenorrhea in Southwest of Iran. *Iranian Journal of Pathology, 5(3)*, 121-126.

Bader, M. I., Peeraully, R., Ba'ath, M., McPartland, J., & Baillie, C. (2011). The testicular regression syndrome—do remnants require routine excision?. *Journal of pediatric surgery, 46(2)*, 384-386.

Balaton, B. P., & Brown, C. J. (2016). Escape artists of the X chromosome. *Trends in Genetics, 32(6)*, 348-359.

Balkan, M., Akbas, H., Isi, H., Oral, D., Turkyilmaz, A., Kalkanli, S., ... & Budak, T. (2010). Cytogenetic analysis of 4216 patients referred for suspected chromosomal abnormalities in Southeast Turkey. *Genet Mol Res, 9(2)*, 1094-1103.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Battaglia, A., & Guerrini, R. (2005). Chromosomal disorders associated with epilepsy. *Epileptic Disorders*, 7(3), 181-192.

Berberoğlu, M. (2011). *Yenidoğanda Hipogonadizme Yaklaşım*. İstanbul: Nobel Kitapevi.

Berletch, J. B., Yang, F., Xu, J., Carrel, L., & Disteche, C. M. (2011). Genes that escape from X inactivation. *Human genetics*, 130(2), 237-245.

Biason-Lauber, A., Konrad, D., Meyer, M., & Schoenle, E. J. (2009). Ovaries and female phenotype in a girl with 46, XY karyotype and mutations in the CBX2 gene. *The American Journal of Human Genetics*, 84(5), 658-663.

Biason-Lauber, A. (2010). Control of sex development. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 24(2), 163-186.

Bondy, C. A. (2007). Care of girls and women with Turner syndrome: a guideline of the Turner Syndrome Study Group. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(1), 10-25.

Brown, C. J., Goss, S. J., Lubahn, D. B., Joseph, D. R., Wilson, E. M., French, F. S., & Willard, H. F. (1989). Androgen receptor locus on the human X chromosome: regional localization to Xq11-12 and description of a DNA polymorphism. *American journal of human genetics*, 44(2), 264.

Calogero, A. E., Garofalo, M. R., Barone, N., De Palma, A., Vicari, E., Romeo, R., ... & D'Agata, R. (2001). Spontaneous regression over time of the germinal epithelium in a Y chromosome-microdeleted patient: Case report. *Human Reproduction*, 16(9), 1845-1848.

Carrillo, A. A., Damian, M., & Berkovitz, G. (2007). Disorders of sexual differentiation. *Pediatric endocrinology*, 5th edn. Marcel Dekker, New York, 365-390.

Ceylan, G. G., & Ceylan, C. (2015). Genetics and male infertility. *World J Clin Urol*, 4(1), 38-47.

Cools, M., Pleskacova, J., Stoop, H., Hoebeke, P., Van Laecke, E., Drop, S. L. S., ... & Wolffebuttel, K. P. (2011). Gonadal pathology and tumor risk in relation to clinical characteristics in patients with 45, X/46, XY mosaicism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(7), E1171-E1180.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)**

Dada, R., Thilagavathi, J., Venkatesh, S., Esteves, S. C., & Agarwal, A. (2011). Genetic testing in male infertility. *Open Reprod Sci J*, 3, 42-56.

Davies, K. (2016). Disorders of Sex Development–Ambiguous Genitalia. *Journal of pediatric nursing*.

Della Valle, E., Vezzani, S., Rochira, V., Granata, A. R. M., Madeo, B., Genovese, E., ... & Simoni, M. (2013). Prevalence of olfactory and other developmental anomalies in patients with central hypogonadotropic hypogonadism. *Frontiers in endocrinology*, 4.

Domenice, S., Nishi, M. Y., Billerbeck, A. E. C., Carvalho, F. M., Frade, E. M. C., Latronico, A. C., ... & Mendonca, B. B. (2001). Molecular analysis of SRY gene in Brazilian 46, XX sex reversed patients: absence of SRY sequence in gonadal tissue. *Medical Science Monitor*, 7(2), 238-241.

Durak, B. (2005). Hematolojide FISH. *Moleküler Hematoloji ve Sitogenetik Alt Komitesi Temel Moleküler Hematoloji Kurs Kitapçığı. Taksim International Otel*, 12-13.

Eggers, S., & Sinclair, A. (2012). Mammalian sex determination—insights from humans and mice. *Chromosome research*, 20(1), 215-238.

Farrugia, M. K., Sebire, N. J., Achermann, J. C., Eisawi, A., Duffy, P. G., & Mushtaq, I. (2013). Clinical and gonadal features and early surgical management of 45, X/46, XY and 45, X/47, XYY chromosomal mosaicism presenting with genital anomalies. *Journal of pediatric urology*, 9(2), 139-144.

Galani, A., Kitsiou-Tzeli, S., Sofokleous, C., Kanavakis, E., & Kalpini-Mavrou, A. (2008). Androgen insensitivity syndrome: clinical features and molecular defects. *Hormones (Athens)*, 7(3), 217-29.

Galupa, R., & Heard, E. (2015). X-chromosome inactivation: new insights into cis and trans regulation. *Current opinion in genetics & development*, 31, 57-66.

Gimelli, G., Gimelli, S., Dimasi, N., Bocciardi, R., Di Battista, E., Pramparo, T., & Zuffardi, O. (2007). Identification and molecular modelling of a novel familial mutation in the SRY gene implicated in the pure gonadal dysgenesis. *European Journal of Human Genetics*, 15(1), 76-80.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)**

Gadhia, P., Balar, P., Gonawala, T., Parekh, N., Patel, R., & Vaniawala, S. (2014). Cytogenetic Study of Turner Syndrome and Its Variants. *J Hum Genet*, 14(3), 4.

Gobinet, J., Poujol, N., & Sultan, C. (2002). Molecular action of androgens. *Molecular and cellular endocrinology*, 198(1), 15-24.

Gottlieb, B., Beitel, L. K., Nadarajah, A., Paliouras, M., & Trifiro, M. (2012). The androgen receptor gene mutations database: 2012 update. *Human mutation*, 33(5), 887-894.

Gudeloglu, A., & Parekattil, S. J. (2013). Update in the evaluation of the azoospermic male. *Clinics*, 68, 27-34.

Hammami, W., Kilani, O., Khelifa, M. B., Ayed, W., & Bouzouita, A. (2015). Genetic Diagnosis in Non-Obstructive Azoospermic Tunisian Men. *Austin J Reprod Med Infertil*, 2(2), 1012.

Harper, P. S. (2006). The discovery of the human chromosome number in Lund, 1955–1956. *Human genetics*, 119(1-2), 226-232.

Heard, E., & Turner, J. (2011). Function of the sex chromosomes in mammalian fertility. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3(10), a002675.

Hegarty, P. K., Mushtaq, I., & Sebire, N. J. (2007). Natural history of testicular regression syndrome and consequences for clinical management. *Journal of pediatric urology*, 3(3), 206-208.

Holland, C. M. (2001). 47, XXX in an adolescent with premature ovarian failure and autoimmune disease. *Journal of pediatric and adolescent gynecology*, 14(2), 77-80.

Hong, D. S., & Reiss, A. L. (2014). Cognitive and neurological aspects of sex chromosome aneuploidies. *The Lancet Neurology*, 13(3), 306-318.

Hughes, I. A., Houk, C., Ahmed, S. F., Lee, P. A., & Society, L. W. P. E. (2006). Consensus statement on management of intersex disorders. *Journal of pediatric urology*, 2(3), 148-162.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Hughes, I. A. (2008). Disorders of sex development: a new definition and classification. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 22(1), 119-134.

Hughes, J. F., & Rozen, S. (2012). Genomics and genetics of human and primate y chromosomes. *Annual review of genomics and human genetics*, 13, 83-108.

Jakob, S., & Lovell- Badge, R. (2011). Sex determination and the control of Sox9 expression in mammals. *FEBS journal*, 278(7), 1002-1009.

Jouyan, N., Dehaghani, E. D., Senemar, S., Shojaee, A., & Mozdarani, H. (2012). Sex chromosome aneuploidy in cytogenetic findings of referral patients from south of Iran. *Iranian journal of reproductive medicine*, 10(2), 141.

Kalavathi, V., Chandra, N., Nambiar, R. G., Shanker, J., Sugunashankari, P., Meena, J., ... & Marimuthu, K. M. (2010). Chromosomal abnormalities in 979 cases of amenorrhea: A review. *International Journal of Human Genetics*, 10(1-3), 65-69.

Kashimada, K., & Koopman, P. (2010). Sry: the master switch in mammalian sex determination. *Development*, 137(23), 3921-3930.

Kate, U. V., Pokale, Y. S., Jadhav, A. M., & Gangane, S. D. (2014). Chromosomal aberrations and polymorphic evaluation in males with primary infertility from Indian population. *J Clin Diagn Res*, 8(10).

Kaya, I., Turan, G. A., Gür, E. B., Eskicioğlu, F., Uğuz, B., Sözer, I., Adakan, Ş., & Saraçoğlu, M. (2015). İnfertil erkeklerde kromozomal anomali ve polimorfizm sonuçları: Retrospektif bir çalışma. *İzmir Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 1.

Klein, D. A., & Poth, M. A. (2013). Amenorrhea: an approach to diagnosis and management. *Am Fam Physician*, 87(11), 781-8.

Krstić, Z. D., Smoljanić, Ž., Vukanić, D., Varinac, D., & Janjić, G. (2000). True hermaphroditism: 10 years' experience. *Pediatric surgery international*, 16(8), 580-583.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Kumari, V. A., & Vani, A. (2015). Ambiguous genitalia: a clinical and chromosomal study. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 3(12), 3743-3748.

Küçükaslan, A. Ş., Çetintaş, V. B., Altıntaş, R., Vardarlı, A. T., Mutlu, Z., Ulukuş, M., ... & Eroğlu, Z. (2013). Identification of Y chromosome microdeletions in infertile Turkish men. *Turkish journal of urology*, 39(3), 170.

Laino, L., Majore, S., Preziosi, N., Grammatico, B., De Bernardo, C., Scommegna, S., ... & Grammatico, P. (2014). Disorders of sex development: a genetic study of patients in a multidisciplinary clinic. *Endocrine connections*, 3(4), 180-192.

Lavery, R., Chassot, A. A., Pauper, E., Gregoire, E. P., Klopfenstein, M., De Rooij, D. G., ... & Chaboissier, M. C. (2012). Testicular differentiation occurs in absence of R-spondin1 and Sox9 in mouse sex reversals. *PLoS Genet*, 8(12), e1003170.

Lee, P. A., & Houk, C. P. (2007). Puberty and its disorders. *Pediatric endocrinology*, 2, 273-304.

Lee, J. T. (2009). Lessons from X-chromosome inactivation: long ncRNA as guides and tethers to the epigenome. *Genes & development*, 23(16), 1831-1842.

Lindhardt Johansen, M., Hagen, C. P., Rajpert-De Meyts, E., Kjærgaard, S., Petersen, B. L., Skakkebak, N. E., ... & Juul, A. (2012). 45, X/46, XY mosaicism: phenotypic characteristics, growth, and reproductive function—a retrospective longitudinal study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(8), E1540-E1549.

Lu, N. Z., Wardell, S. E., Burnstein, K. L., Defranco, D., Fuller, P. J., Giguere, V., ... & Wilson, E. M. (2006). The pharmacology and classification of the nuclear receptor superfamily: glucocorticoid, mineralocorticoid, progesterone, and androgen receptors. *Pharmacol Rev*, 58(4), 782-797.

Mallet, D., Bretones, P., Michel-Calemard, L., Dijoud, F., David, M., & Morel, Y. (2004). Gonadal dysgenesis without adrenal insufficiency in a 46, XY patient heterozygous for the nonsense C16X mutation: a case of SF1 haploinsufficiency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(10), 4829-4832.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)**

Margaret, M., Tilak, P., & Rajangam, S. (2010). Special Volume. *Int J Hum Genet*, 10(1-3), 77-80.

Martinerie, L., Morel, Y., Gay, C. L., Pienkowski, C., De Kerdanet, M., Cabrol, S., ... & Brauner, R. (2012). Impaired puberty, fertility, and final stature in 45, X/46, XY mixed gonadal dysgenetic patients raised as boys. *European journal of endocrinology*, 166(4), 687-694.

Maske, G. L., & Kannamwar, A. D. (2016). Klinefelter's syndrome in azoospermic infertile males of Vidarbha region, Central India. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 4(4), 1045-1050.

Matsui, F., Shimada, K., Matsumoto, F., Itesako, T., Nara, K., Ida, S., & Nakayama, M. (2011). Long- term outcome of ovotesticular disorder of sex development: A single center experience. *International Journal of Urology*, 18(3), 231-236.

McClelland, K., Bowles, J., & Koopman, P. (2012). Male sex determination: insights into molecular mechanisms. *Asian J Androl*, 14(1), 164-171.

Mendonca, B. B., Domenice, S., Arnhold, I. J., & Costa, E. M. (2009). 46, XY disorders of sex development (DSD). *Clinical endocrinology*, 70(2), 173-187.

Messina, M. F., Sgrò, D. L., Aversa, T., Pecoraro, M., Valenzise, M., & De Luca, F. (2012). A characteristic cognitive and behavioral pattern as a clue to suspect Klinefelter syndrome in prepubertal age. *The Journal of the American Board of Family Medicine*, 25(5), 745-749.

Meyers, C. M., Boughman, J. A., Rivas, M., Wilroy, R. S., & Simpson, J. L. (1996). Gonadal (ovarian) dysgenesis in 46, XX individuals: frequency of the autosomal recessive form. *American journal of medical genetics*, 63(4), 518-524.

Migeon, C. J., & Wisniewski, A. B. (2003). Human sex differentiation and its abnormalities. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 17(1), 1-18.

Mitelman, Felix, ed. *ISCN 1995: an international system for human cytogenetic nomenclature (1995): recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature, Memphis, Tennessee, USA, October 9-13, 1994*. Karger Medical and Scientific Publishers, 1995.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Mongan, N. P., Tadokoro-Cuccaro, R., Bunch, T., & Hughes, I. A. (2015). Androgen insensitivity syndrome. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*, 29(4), 569-580.

Naasse, Y., Charoute, H., El Houate, B., Elbekkay, C., Razoki, L., Malki, A., ... & Rouba, H. (2015). Chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in infertile men from Morocco. *BMC urology*, 15(1), 1.

Nussbaum, R. L., McInnes, R. R., Willard, H. F., & Tunçbilek, E. (2005). *Thompson & Thompson tıbbi genetik*. Güneş Kitabevi.

Ono, M., & Harley, V. R. (2013). Disorders of sex development: new genes, new concepts. *Nature Reviews Endocrinology*, 9(2), 79-91.

Oral, E., & Aydoğan, B. (2011). Primer amenore. *Türk Pediatri Arşivi*, 46(11).

Ostrer, H. (2014). Disorders of sex development (DSDs): an update. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(5), 1503-1509.

Peynirci, H., & Erturk, E. (2013). Klinefelter Sendromu: klinefelter syndrome. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, 17(3), 63-68.

Pidugu, V. K. (2013). Chromosomal abnormalities in amenorrhea: a retrospective study and review of 637 patients in South India. *Archives of Iranian medicine*, 16(5), 267.

Quigley, C. A., & Vilain, E. (2006). Genetic basis of gonadal and genital development. *DeGroot LJ, Jameson JL. Endocrinology. 5th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders*.

Raygorodskaya, N. Y., Chernykh, V. B., Morozov, D. A., Olutoye, O. O., Bolotova, N. V., Averyanov, A. P., ... & Zolotukhina, T. V. (2011). A 3-year-old boy with ovotestes: gender reassignment and surgical management. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 24(7-8), 587-589.

Rey, R. A., & Grinspon, R. P. (2011). Normal male sexual differentiation and aetiology of disorders of sex development. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 25(2), 221-238.

Rooney, D. E. (2001). *Human cytogenetics: constitutional analysis; a practical approach* (Vol. 1). Oxford University Press, USA.



## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Rossetti, R., Di Pasquale, E., Marozzi, A., Bione, S., Toniolo, D., Grammatico, P., ... & Persani, L. (2009). BMP15 mutations associated with primary ovarian insufficiency cause a defective production of bioactive protein. *Human mutation*, 30(5), 804-810.

Rowley, J. D. (1973). A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining.

Sekido, R., & Lovell-Badge, R. (2012). Genetic control of testis development. *Sexual Development*, 7(1-3), 21-32.

Shabsovich, D., & Tirado, C. A. (2014). Genes, chromosomes, and disorders of sex development: an update. *J Assoc Genet Technol*, 40, 124-140.

Simpson, J. L. (2008). XX Gonadal Dysgenesis and Premature Ovarian Failure in 46, XX Individuals. *DNA*, 6, 3.

Singh, V., & Pakhiddey, R. (2015). Current Scenario on Genetic Basis of Infertility-A Review. *Acta Medica*, 2(2), 150.

Spires, S. E., Woolums, C. S., Pulito, A. R., & Spires, S. M. (2000). Testicular regression syndrome: a clinical and pathologic study of 11 cases. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 124(5), 694-698.

Sreenivasa, G., Malini, S. S., Kumari, P., & Dutta, U. R. (2013). Cytogenetic abnormalities in 200 male infertile cases in the southern region of India. *Open Journal of Genetics*, 3(02), 33.

Suganya, J., Kujur, S. B., Selvaraj, K., Suruli, M. S., Haripriya, G., & Samuel, C. R. (2015). Chromosomal abnormalities in infertile men from southern india. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 9(7), GC05.

Sybert, V. P., & McCauley, E. (2004). Turner's syndrome. *New England Journal of Medicine*, 351(12), 1227-1238.

ŞAMLI, H., Solak, M., İMİRZALİOĞLU, N., & ŞAMLI, M. M. (2005). Nonobstruktif azospermik ve şiddetli oligozoospermik erkeklerde saptanan kromozomal anomaliler. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 6(1).

Tekcan, A., Karakuş, N., Tural, Ş., Elbistan, M., Kara, N., & Güven, D. (2012). A Case With De novo X; Autosome Translocation.

Taylor, C. P. F., Bown, N. P., McGuckin, A. G., Lunec, J., Malcolm, A. J., Pearson, A. D. J., ... & United Kingdom Children's Cancer Study Group. (2000). Fluorescence in situ hybridization techniques for the rapid detection of genetic prognostic factors in neuroblastoma. *British journal of cancer*, 83(1), 40.

Temel, S. G., Gulten, T., Yakut, T., Saglam, H., Kilic, N., Bausch, E., ... & Scherer, G. (2006). Extended pedigree with multiple cases of XX sex reversal in the absence of SRY and of a mutation at the SOX9 locus. *Sexual Development*, 1(1), 24-34.

Tevosian, S. G. (2012). Genetic control of ovarian development. *Sexual Development*, 7(1-3), 33-45.

Thillainathan, S., Sirisena, N. D., Kariyawasam, K. W., Jayasekara, R. W., & Dissanayake, V. H. (2015). Cytogenetic analysis of chromosomal abnormalities in Sri Lankan children. *World Journal of Pediatrics*, 11(4), 374-379.

Tosson, H., Rose, S. R., & Gartner, L. A. (2012). Description of children with 45, X/46, XY karyotype. *European journal of pediatrics*, 171(3), 521-529.

Tripathy, K., Gouda, K., Palai, P. K., & Das, L. (2010). Familial complete androgen insensitivity syndrome with prostatic tissue and seminal vesicles. *Archives of gynecology and obstetrics*, 282(5), 581-583.

Vijayalakshmi, J., Koshy, T., Kaur, H., Mary, F. A., Selvi, R., Parvathi, V. D., ... & Paul, S. F. (2010). Cytogenetic analysis of patients with primary amenorrhea. *Int J Hum Genet*, 10(1-3), 71-76.

Vogelstein, B., & Kinzler, K. W. (Eds.). (2002). *The genetic basis of human cancer*. McGraw-Hill.

Wang, T., Liu, J. H., Yang, J., Chen, J., & Ye, Z. Q. (2009). 46, XX male sex reversal syndrome: a case report and review of the genetic basis. *Andrologia*, 41(1), 59-62.

Werner, R., Holterhus, P. M., Binder, G., Schwarz, H. P., Morlot, M., Struve, D., ... & Hiort, O. (2006). The A645D mutation in the hinge region of the human androgen receptor (AR) gene modulates AR activity, depending on the context of the polymorphic glutamine and glycine repeats. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(9), 3515-3520.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)**

Wikström, A. M., & Dunkel, L. (2011). Klinefelter syndrome. *Best practice & research clinical endocrinology & metabolism*, 25(2), 239-250.

Wu, Q. Y., Li, N., Li, W. W., Li, T. F., Zhang, C., Cui, Y. X., ... & Zhai, J. S. (2014). Clinical, molecular and cytogenetic analysis of 46, XX testicular disorder of sex development with SRY-positive. *BMC urology*, 14(1), 1.

Xiao, S., Renshaw, A., Cibas, E. S., Hudson, T. J., & Fletcher, J. A. (1995). Novel fluorescence in situ hybridization approaches in solid tumors. Characterization of frozen specimens, touch preparations, and cytological preparations. *The American journal of pathology*, 147(4), 896.

**Ekler Dizini (Gerekli ise yazınız değilse bu bölümü tezdten çıkarınız)**

**EK - 1**

## Özgeçmiş

### Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Sara KHADEM ANSARI  
Doğum tarihi ve yeri : 21.03.1989 / IRAN  
Uyruđu : IRAN  
Medeni durumu : Bekar  
İletişim adresleri : Büyükdere mah. Girginel sok. No:8/2  
Eskişehir

### Eğitim Durumu

(Tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru ilköğretim, lise, üniversite, yabancı dil / diller) :

**Yabancı Diller:** İngilizce, Türkçe, Farsça, Azerice, Arapça

### Öđrenim Durumu:

2013-2017: Y. Lisans, ESOĐÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

2009-2012: Lisans, Tabriz Tıp Bilimleri Üniversitesi Tıbbi Laboratuvar Anabilim Dalı

2004-2008: Lise, Eram Lisesi- Iran, Urmiye

**Mesleki Deneyim** :

### Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:

**Yayımlar** :

(Makale, Sözlü Bildiri, Poster Bildiri, Kitap, Kitap Bölümü vd.)

### Bilimsel Etkinlikler

Burslar :  
Ödüller :  
Projeler :  
Sözlü Konferans veya Seminerler :  
Kurslar ve Eğitim Programları :