



T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**MOLEKÜLER ETİYOLOJİSİ AYDINLATILAMAMIŞ CİNSİYET
GELİŞİM BOZUKLUĞU HASTALARINDA MİKROARRAY YÖNTEMİ
İLE KOPYA SAYISI DEĞİŞİKLİKLERİNİN SAPTANMASI VE KLİNİK
VARYASYONLARLA İLİŞKİLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Murat Çağlar KARATAŞ

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Samim ÖZEN

İZMİR 2022

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde, her zaman yol göstericim olan, mentorluk yapan, yoğun çalışma temposu içerisinde bana değerli vaktini ayıran danışman hocam Doç. Dr. Samim Özen'e,

Tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, desteğini esirgemeyen Doç.Dr Tahir Atik ve Uzm.Dr.Ferda Evin'e,

Çocuk sağlığı ve hastalıkları uzmanlık alanını tercih etmemde en büyük pay sahibi olan, uzmanlık eğitimim sürecince de desteğini esirgemeyen, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum ve her zaman örnek alacağım değerli hocam Prof. Dr. Mahmut Çoker'e,

Tıpta uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, destek ve yardımlarını gördüğüm Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm saygıdeğer öğretim üyelerine,

Yaşamım boyunca her zaman beni destekleyen, zor günlerimde hep yanımda hissettiğim, beni yetiştiren değerli aileme teşekkürlerimi borç bilirim.

Dr. Murat Çağlar KARATAŞ

İzmir, 2022



‘Moleküler Etiyolojisi Aydınlatılamamış Cinsiyet Gelişim Bozukluğu Hastalarında Mikroarray Yöntemi ile Kopya Sayısı Değişikliklerinin Saptanması ve Klinik Varyasyonlarla İlişkilendirilmesi’ isimli çalışmamız, TTU-2020-22260 proje kodu ile Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinatörlüğü ve Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Normal Cinsiyet Gelişimi.....	4
2.1.1. Bipotansiyel Gonadın Gelişimi	4
2.1.2. Erkek Yönünde Cinsiyet Gelişimi.....	6
2.1.3. Dişi Yönünde Cinsiyet Gelişimi	7
2.2. Cinsiyet Gelişim Bozukluklarının Sınıflandırılması	8
2.2.1 Cinsiyet Kromozom Bozukluğu ile Birlikte Olan CGB.....	10
2.2.2. 46,XY Cinsiyet Gelişim Bozuklukları	10
2.2.2.1. Gonad Gelişim Bozuklukları	12
2.2.2.2. Testosteron Üretim Kusurları	16
2.2.2.3. Testosteron Metabolizması Bozuklukları	18
2.2.2.4. Androjen Etkisindeki Bozukluklar	21
2.2.2.5. Müller Kanal Gelişim Hastalıkları.....	24
2.2.2.6. Sınıflandırılmayan ve Sendromik 46,XY CGB'ler.....	26
2.2.3. 46,XX Cinsiyet Gelişim Bozukluğu.....	27
2.2.3.1. Gonadal Disgenezilerin Neden Olduğu 46,XX Cinsiyet Gelişim Bozukluğu	27

2.2.3.2. Androjen Sentez Bozukluklarına Bağlı 46,XX Cinsiyet Gelişim Bozukluğu -Konjenital Adrenal Hiperplazi	28
2.2.3.3. Diğer (Sınıflandırılmayan Grup).....	29
2.3. Cinsiyet Gelişim Bozukluklarında Klinik Özellikler	30
2.4. Cinsiyet Gelişim Bozukluklarının Tanısında Genetik Test Seçimi.....	34
2.4.1. Genetik Tanısal Yöntemler	37
2.4.1.1. Sitogenetik İncelemeler	37
2.4.1.1.1.Karyotip Analizi	37
2.4.1.2. Moleküler Genetik İncelemeler	38
2.4.1.2.1. Kantitatif Floresan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (QF-PCR)	38
2.4.1.2.2. Tek Gen Dizi Analizi.....	39
2.4.1.2.3. Yeni Nesil Dizi Analizi	40
2.4.1.2.4.MLPA (Multiple Ligation - Dependent Probe Amplification)	43
2.4.1.3. Moleküler Sitogenetik İncelemeler.....	44
2.4.1.3.1. Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH).....	44
2.4.1.3.2. Kromozomal Mikroarray	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM	49
4. BULGULAR	51
5. TARTIŞMA	67
6. SONUÇLAR	73
KAYNAKÇA	74
EKLER.....	94
Ek 1. Araştırma Başvurusu Etik Kurul Onay Belgesi	94
Ek 2. Olgu Rapor Formu	97
Ek 3. Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu.....	98

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Normal cinsiyet gelişim evreleri.....	4
Şekil 2.	Embriyolojik bipotansiyel gonad gelişiminin modeli yukarıda özetlenmiştir	5
Şekil 3.	Bipotansiyel gonaddan gonadal gelişiminde etkili genlere ve bağlantılarına genel bakış	8
Şekil 4.	Cinsiyet Gelişim Bozukluklarında güncel tanı akış şeması.....	30
Şekil 5.	46,XX Cinsiyet Gelişim Bozukluklarında Prader Evrelemesi	31
Şekil 6.	Androjen Duyarsızlığında Dış Genital Evreleme.....	32
Şekil 7.	46,XX CGB’de Genetik Temelli Tanı Yaklaşım Şeması.....	34
Şekil 8.	46,XY CGB’de Genetik Temelli Tanı Yaklaşım Şeması.....	35
Şekil 9.	CGB olgularında klinik, laboratuvar ve genetik çalışmaların eş zamanlı yapıldığı, güncel tanı yaklaşımı.....	36
Şekil 10.	Normal XX Kadın Cinsiyet Kromozom Yapısına ait QF-PCR yöntemi ile yapılan çalışmanın elektroforegram görüntüsü	38
Şekil 11.	Normal XY Erkek Cinsiyet Kromozom Yapısına ait QF-PCR yöntemi ile yapılan çalışmanın elektroforegram görüntüsü	39
Şekil 12.	Yeni Nesil Dizleme uygulamalarının karşılaştırılması Genome medicine 2016; 8(1): 112.’den alınmış ve yeniden düzenlenmiştir	43
Şekil 13.	SRY ve Cinsiyet Kromzom Özgü FISH.....	45
Şekil 14.	Mikroarray Yöntemi	46
Şekil 15.	46,XY CGB olgularının başvuru bulguları.....	54
Şekil 16.	46,XX CGB olgularının başvuru bulguları.....	54
Şekil 17.	Sendromik olan ve sendromik olmayan olguların kopya sayısı değişikliklerinin sınıflandırılması.....	63

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.	Cinsiyet gelişim bozukluklarının sınıflandırılması	9
Tablo 2.	46,XY cinsiyet gelişim bozuklukları sınıflaması	11
Tablo 3.	Bazı sendromlara eşlik eden 46,XY cinsiyet gelişim bozuklukları	26
Tablo 4.	Dış genital yapı skorkaması.....	32
Tablo 5.	CGB tanısında kullanılan genetik testler.....	48
Tablo 6.	Olguların demografik, klinik ve genetik özellikleri	51
Tablo 7.	Yetiştirildiği cinsiyete göre olgularda kuşkulu dış genital yapı görülme sıklıkları.....	52
Tablo 8.	Karyotip analizine göre sendromik olan ve olmayan olguların dağılımı	52
Tablo 9.	Yetiştirildiği cinsiyete göre sendromik olan ve olmayan olguların dağılımı	52
Tablo 10.	Sendromik olan ve olmayan hastaların yaş ve başvuru sırasındaki yaş değerlerinin karşılaştırılması	53
Tablo 11.	Sendromik olan ve olmayan hastalarda kopya sayısı değişikliğinin karşılaştırılması	53
Tablo 12.	Patojenik varyant saptanan ve saptanmayan hastalarda kopya sayısı değişikliğinin karşılaştırılması	55
Tablo 13.	Mikroarray çalışması yapılan olguların önemli klinik bulguları ve saptanan CNV'leri.....	56
Tablo 14.	Sendromik olmayan olguların klinik özellikleri ve kromozom analizleri	63
Tablo 15.	Sendromik olguların klinik özellikleri ve kromozom analizleri	64
Tablo 16.	Literatürde ilk kez gösterilen varyantlar	66

KISALTMALAR LİSTESİ

ACMG	: American College of Medical Genetics and Genomics
AMH	: Anti-Müllerian hormon
BPES I	: Blefarofimozis, pitoz ve epikanthus inversus sendromu tip 1
CGB	: Cinsiyet gelişim bozukluğu
CNV	: Kopya sayısı değişikliği
DHT	: Dihidrotestosteron
EGS	: Eksternal genitalia skoru
ESPE	: European Society for Paediatric Endocrinology
FISH	: Floresan in situ Hibridizasyon
FSH	: Folikül stimulan hormon
KADS	: Kısmi androjen duyarsızlık sendromu
LH	: Luteinleştirici hormon
LWPES	: Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society
PMKS	: Persistan Müllerien Kanal Sendromu
QF-PCR	: Kantitatif Floresan Polimeraz Zincir Reaksiyonu “Quantitative fluorescent polymerase chain reaction”
SDS	: Standart deviasyon skoru
SF1	: Steroidojenik faktör 1
SRY	: Sex-determining region Y
SLOS	: Smith-Lemli-Opitz sendromu
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
StAR	: Steroidojenik akut regülatör protein
TESCO	: Testis spesifik SOX9 arttırıcı çekirdek element
VSD	: Ventriküler septal defekt

- YNDA** : Yeni nesil dizi analizi
- WES** : Tüm ekzom sekanslama ‘‘Whole Exome Sequencing’’
- WGS** : Tüm genom sekanslama ‘‘Whole Genome Sequencing’’
- WT1** : Wilms tümör supressor gen1



ÖZET

Giriş: Cinsiyet gelişim bozukluğu (CGB); kromozomal, gonadal veya anatomik cinsiyetin anormal olarak gelişimi ile karakterize nadir konjenital bir hastalıktır. Mikroarray (Single nucleotide polymorphism-SNP- array) yöntemi CGB'lerin tanısında, yüksek verimli güçlü bir tam genom tarama imkanı sunmaktadır.

Amaç ve Yöntem: Bu çalışmada CGB hastalarında moleküler etiyojinin aydınlatılmasında mikroarray yöntemi kullanılarak kopya sayısı değişikliklerinin saptanması amaçlanmaktadır. Karyotip analizinde herhangi bir yapısal ya da sayısal anomali saptanmayan, klinik ve laboratuvar bulgular eşliğinde algoritmik yaklaşımla ilişkili moleküler analizleri gerçekleştirilmiş ve herhangi bir patojenik varyant tespit edilmemiş olgularda mikroarray yöntemi ile kopya sayısı değişiklikleri değerlendirildi. Bulunan değişiklikler ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics) 2020 kriterlerine göre skorlandı. Elde edilen skor <0 olan varyantlar öncelikle dışlandı. Skoru 0 ve üstünde saptanan değişiklikler, belirlenen bölgedeki haplo ya da triployetersizlik bildirilen genlerin varlığı, ClinVar ve/veya DECIPHER veritabanlarında yapılan veri girişleri ve bildirilen fenotiplere göre incelendi. Bu veriler ışığında, elde edilen değişiklikler benign, anlamı bilinmeyen veya patojenik olacak şekilde sınıflandırıldı.

Bulgular: Cinsiyet gelişim bozukluğu nedeniyle izlenen moleküler genetik etiolojide patoloji saptanmayan 22 olgu dahil edildi. Olguların 18'i (%81.8) 46,XY ve 4'ü (%18.1) 46,XX CGB olarak sınıflandırıldı. Olguların ortalama yaşı 7.9±4.7 yıldır. Olguların çocuk endokrinoloji kliniğine başvuru yaşı 7.4 ay (en erken:4 günlük, en geç: 15 yaş) idi. Başvuru sırasında olguların 6'sı (%27.2) kız, 16'sı (%72.7) erkek cinsiyette yetiştirilmişti. Başvuru bulguları/yönlendirme nedenleri değerlendirildiğinde; 46,XY CGB grubunda hastaların 2'si (%11.1) inmemiş testis ile beraber hipospadias, 4'ü (%22.2) kuşkulu dış genital yapı, 1'i (%5.5) mikropenis ile beraber hipospadias, 1'i (%5.5) bilateral inmemiş testis, 1'i (%5.5) tek taraflı inmemiş testis, 8'i (%44.4) izole hipospadias ve 1'i (%5.5) mikropenis ile beraber bilateral inmemiş testis nedeni ile değerlendirildi. Kız cinsiyetinde büyütülmüş 46,XY CGB olgularının başvuru yakınması bir (%4.5) olguda kliteromegali ve bir

(%4.5) olguda kasıkta şişlik idi. 46,XX CGB'lerin ise 2'si (%50) kuşkulu dış genital yapı, biri (%25) primer amenore, biri (%25) rastlantısal olarak saptanan Müllerian agenezi nedeniyle başvurdu. Dört (%18.1) olguda anne-baba arasında akrabalık vardı. Beş (%22.7) olguda eşlik eden dismorfik bulgu (mikrognati, polidaktili vb.) mevcuttu. On bir (%50) olguda; doğumsal anomaliler eşlik etmekteydi ve en sık doğumsal anomali (3 olgu, %27) üriner sistem anomalileriydi.

Mikroarray analizi ile 22 olgudan 4'ünde hiç varyant saptanmazken, 18 olguda toplam 142 kopya sayısı değişikliği belirlendi. Bunların 114'ü (%80.3) delesyon, 28'i (%19.8) duplikasyondur. Kopya sayısı değişikliği saptanan 18 (%81.8) olgunun varyantları değerlendirildiğinde 5 (%22.7) olguda 13'ü patojenik; 5 (%22.7) olguda 19'u anlamı belirlenemeyen olarak sınıflandırıldı. Patojenik olarak sınıflandırılan varyantlar arasından sadece 1 tanesinde daha önce veri tabanlarında hipospadias ile ilişkili fenotip kaydedilmişken, diğer varyantlarda herhangi bir genital anomali bildirilmemişti. Patojenik ve anlamı bilinmeyen olarak sınıflandırılan varyantların aile segregasyonları ve ileri analizleri planlandı.

Sonuç: Karmaşık genetik mekanizmalarla ortaya çıkan CGB'lerin önemli kısmında günümüzde halen genetik tanı konulamamaktadır. CGB'de hızlı ve doğru tanı konulması, cinsiyet seçimi ve olgunun yönetimi açısından önemlidir. CGB olgularında moleküler etiolojinin aydınlatılmasında tanısal yaklaşım içerisinde seçili olgularda mikroarray analizi yer bulmalıdır. Ayrıca mikroarray analizi CGB etiolojisinde sorumlu yeni gen bulma çalışmalarında yol gösterici olabilir.

ABSTRACT

Introduction: Disorders of Sex Development (DSD); It is a rare congenital disease characterized by abnormal development of chromosomal, gonadal or anatomical sex. Microarray (SNP array) method offers a powerful full genome scanning opportunity in the diagnosis of DSDs.

Aim and Method: In this study, it is aimed to determine the copy number variations by using the microarray method to elucidate the molecular etiology in DSD patients. Copy number variations were evaluated with the microarray method in cases where no structural or numerical anomalies were detected in the karyotype analysis, molecular analyzes related to the algorithmic approach were performed in the presence of clinical and laboratory findings, and no pathogenic variant was detected. The variants found were scored according to the ACMG 2020 criteria. Variants with the resulting score <0 were first excluded. Changes with a score of 0 and above, the presence of genes with reported haplo or triploinsufficiency in the determined region, data entries made in the ClinVar and/or DECIPHER databases, and reported phenotypes were examined. In the light of these data, the obtained changes were classified as benign, obscure or pathogenic.

Results: Twenty-two cases with no pathology in the molecular genetic etiology, who were followed up due to sexual developmental disorder, were included. Eighteen (81.8%) of the cases were classified as 46,XY and 4 (18.1%) as 46,XX DSD. The mean age of the cases was 7.9 ± 4.7 years. The age of admission to the pediatric endocrinology clinic was 7.4 months (earliest: 4 days, latest: 15 years). At the time of admission, 6 (27.2%) of the cases were female and 16 (72.7%) were male. When the application findings / reasons for referral are evaluated; In 46,XY DSD group, 2 (11.1%) patients had hypospadias with undescended testis, 4 (22.2%) had suspicious external genitalia, 1 (5.5%) had hypospadias with micropenis, 1 (5.5%)) were evaluated for bilateral undescended testis, 1 (5.5%) unilateral undescended testis, 8 (44.4%) isolated hypospadias, and 1 (5.5%) bilateral undescended testis with micropenis. The presenting complaint of 46,XY DSD cases enlarged in female gender was cliteromegaly in one (4.5%) case and swelling in the groin in one (4.5%) case. Of 46,XX DSDs, 2 (50%) admitted with suspicious

external genitalia, one (25%) primary amenorrhea, and one (25%) coincidentally found Müllerian agenesis. There was consanguinity between the parents in four (18.1%) cases. Concomitant dysmorphic findings (micrognathia, polydactyly, etc.) were present in five (22.7%) cases. In 11 (50%) cases; congenital anomalies were accompanied and the most common congenital anomalies (3 cases, 27%) were urinary system anomalies.

While no variant was detected in 4 out of 22 cases with microarray analysis, a total of 142 copy number changes were detected in 18 cases. Of these, 114 (80.3%) were deletions and 28 (19.8%) were duplications. When variants of 18 (81.8%) cases with copy number changes were evaluated 13 out of 5 (22.7%) cases are pathogenic; 19 out of 5 (22.7%) cases were classified as undetermined. While only 1 of the variants classified as pathogenic had a hypospadias-related phenotype previously recorded in databases, no genital anomalies were reported in other variants. Family segregations and further analyzes of variants classified as pathogenic and of unknown significance were planned.

Conclusion: Today, genetic diagnosis cannot be made in the majority of DSDs that occur with complex genetic mechanisms. Rapid and accurate diagnosis in DSD is important in terms of gender selection and management of the case. Microarray analysis should be included in selected cases within the diagnostic approach to elucidate the molecular etiology of DSD cases. In addition, microarray analysis can guide studies to find new genes responsible for the etiology of DSD.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Cinsiyet gelişim bozuklukları (CGB) cinsiyet gelişim basamaklarından birindeki aksaklık sonucu ortaya çıkan; kromozomal, gonadal ya da anatomik yapının birbiriyle uyumsuz olduğu durumlardır (1). Cinsiyet gelişim bozuklukları; “cinsiyet kromozomuna ait nedenler”, “46,XY CGB” ve “46,XX CGB”, olarak üç ana grupta sınıflandırılmıştır (2,3). Cinsiyet gelişim bozukluklarının görülme sıklığı yaklaşık olarak 4500-5500 doğumda 1 oranındadır (2-4). Ülkemiz gibi akraba evliliğinin yaygın olduğu toplumlarda daha sık görüldüğü tahmin edilmektedir. Cinsiyet gelişim bozuklukları, etkilenen olgularda özellikle ilk 2 yılda hormonal bozukluklar, psikososyal farklılıklar, cinsel kimlik gelişim bozukluğu gibi birçok sorunu içinde barındırdığı için yenidoğan ve süt çocukluğu döneminde tıbbi, sosyal ve adli bir acil olarak değerlendirilmelidir. Yenidoğan sağlığı ile ilgilenen hekimlere doğumdan sonra aileler tarafından bebeğin cinsiyeti ve klinik durumu ile ilgili sorular sorulmaktadır. Bu nedenle CGB saptanan bebeklerin yenidoğan döneminde hızlı ve doğru tanısı çok önemlidir. Bazı CGB olguları doğumdan sonra erken dönemde kolaylıkla tanı alabilirken, bazılarında tanı ergenlik dönemine kadar gecikebilmektedir. Özellikle “46,XX CGB” olarak değerlendirilen bireylerde kuşkulu dış genital yapıdan, tamamen erkek görünümüne; “46,XY CGB” olarak değerlendirilen bireylerde ise kuşkulu dış genital yapıdan tamamen dişi görünümüne kadar farklı dış genital yapılar gözlemlenebilir (5-7).

Cinsiyet gelişim bozukluğu olan olgularda doğru tanıya yönelmek için öncelikle hastanın cinsiyet kromozom kompozisyonunun ve SRY (Sex-determining region Y) gen varlığının bilinmesi büyük önem taşır. Ayrıca kromozomal cinsiyet tayini yapıldıktan sonra, belirtilen sınıflandırmaya göre ayırıcı tanı gerçekleştirilmeli ve kesin tanı için ön tanımlar arasındaki sık görülen etiyolojilerden başlayarak moleküler analizler yapılmalıdır (8). Konvasiyonel kromozom analizi normal ve bilinen moleküler genetik nedenlerin çalışılmasına rağmen CGB li olgularda halen %50 olguda genetik tanı konulamamaktadır(9). Genom boyunca olan kopya sayısı değişikliklerinin de CGB'ye neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kopya sayısı değişikliklerinin analizi ile etiyolojiden sorumlu yeni gen keşifleri olanaklı hale gelmiştir (10).

Cinsiyet gelişim bozukluklarına hızlı ve doğru tanı konulması, cinsiyet seçimi ve olgunun yönetimi açısından şu sebeplerle aciliyet göstermektedir; (11,12)

1. Erken tanı ile en kısa sürede tedavi başlanarak olgunun anormal hormonal maruziyet süresinin en aza indirilmesi sağlanacak ve beyin cinsiyeti ve dış genital yapı üzerine olan olumsuz etkiler erken dönemde durdurulabilecektir.
2. Cinsiyet gelişim bozukluğu olgularının önemli bir kısmına hayati tehdit eden adrenal yetmezlik eşlik etmektedir. Özellikle adrenal yetmezliği olan olgular sıklıkla sepsis, gastroenterit, metabolik hastalık gibi diğer tanımlar ile karıştırılmakta yanlış ve yetersiz tedavi ciddi morbidite ve hatta ölüme neden olmaktadır. Erken tanı ve tedavi ile adrenal yetmezlik gelişmeden önlenilecektir.
3. Erken dönemde yapılan yanlışlıklar ve tanı gecikmesi, çocuk ve ailesi için ciddi ve bazen geri dönüşümsüz tıbbi, anatomik ve sosyal sorunlara neden olabilir. Hızlı ve kolay tanı konulması ailenin bu zorlu süreçte ilk baştan itibaren doğru bir şekilde aydınlatılmasını sağlayacak ve ailenin tedaviye uyumunu artıracaktır.

Cinsiyet gelişim bozukluğu tanısında en önemli sorunlardan biri genetik heterojenitenin fazla olmasıdır. Günümüzde CGB olgularına tanı konulması klasik hormonal ve genetik analizler ile oldukça uzun zaman almaktadır. Bunun dışında CGB olgularında tanı koyma süresinin uzun sürmesi, cinsiyetinin erken dönemde belirlenmesi hasta ve ailesi açısından sosyal, psikolojik sorunlara yol açabilir. Cinsiyet gelişim bozukluklarında klasik hormonal ve moleküler tanı yöntemleri maddi açıdan da büyük yük getirmekte ve uzun zaman almaktadır.

Mikroarray analizleri eş zamanlı bir şekilde tüm genom boyu değerlendirme yaparak, klinik materyalde delesyon ya da duplikasyonları tespit edebilmektedir (13). Mikroarray (SNP array) yöntemi CGB'lerin tanısında kullanılan çok sayıda testin yerine yüksek verimli güçlü bir tam genom tarama imkanı sunmaktadır. Ayrıca mikroarray analizi CGB etiyojisinde sorumlu yeni gen bulma çalışmalarında yol gösterici olabilir.

Çalışmaya Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Endokrin Bilim Dalı'nda CGB nedeniyle izlenen 0-18 yaş arası 22 olgu alındı. Bunlardan 18 olgu 46,XY; 4 olgu 46,XX karyotipinde, ancak moleküler etiyojisi bilinmeyen olgulardan seçildi. Bu çalışma ile CGB tanısı alan ancak moleküler etiyojisi belirlenemeyen

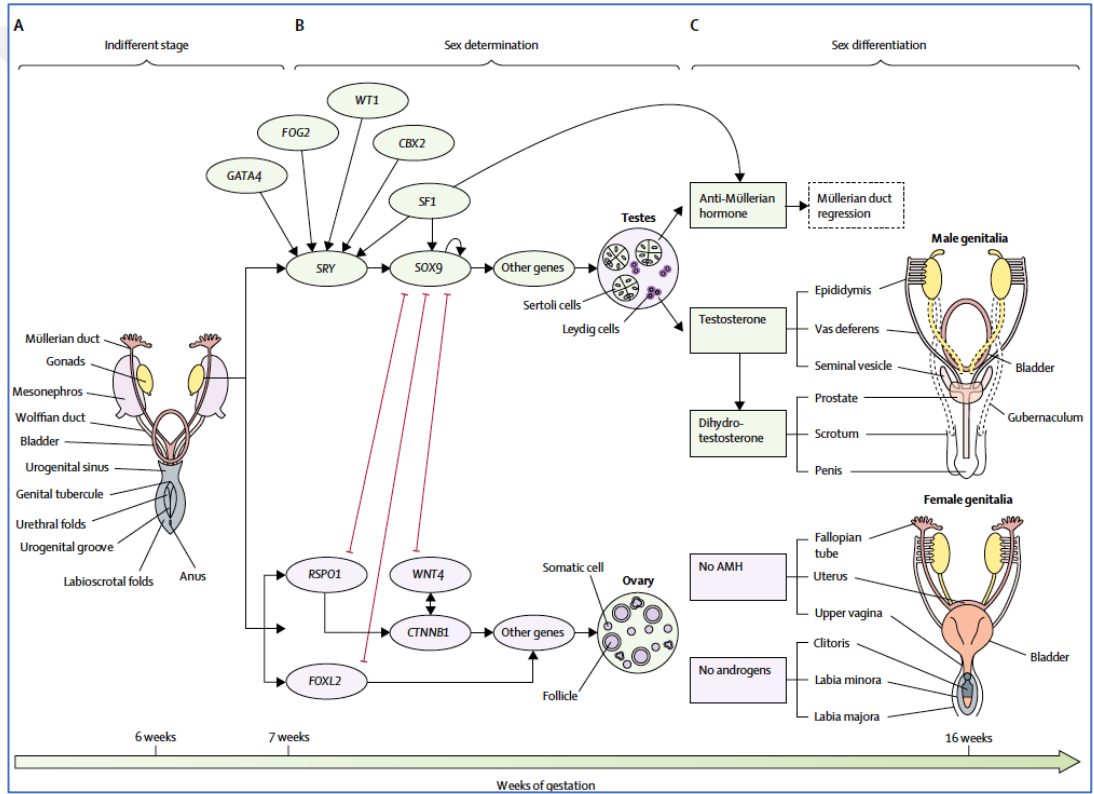
hastalarda etiyolojisinin aydınlatılması için mikroarray (SNP array) yöntemi kullanılarak kopya sayısı değışiklikleri ve mutasyon analizlerinin tespiti ve klinik varyasyonlar ile ilişkilendirilmesi amaçlandı.



GENEL BİLGİLER

2.1. Normal Cinsiyet Gelişimi

Normal cinsiyet gelişimi, primitif gonaddan kromozomal yapıya uygun olarak over veya testis gelişimi, ardından iç ve dış genital yapıların farklılaşmasını içermektedir. Gonad oluşumuna kadar olan evre ‘cinsiyet belirlenmesi’ (sex determination), iç ve dış genital yapının olgunlaşması ise ‘cinsiyet farklılaşması’ (sex differentiation) olarak tanımlanır (14).



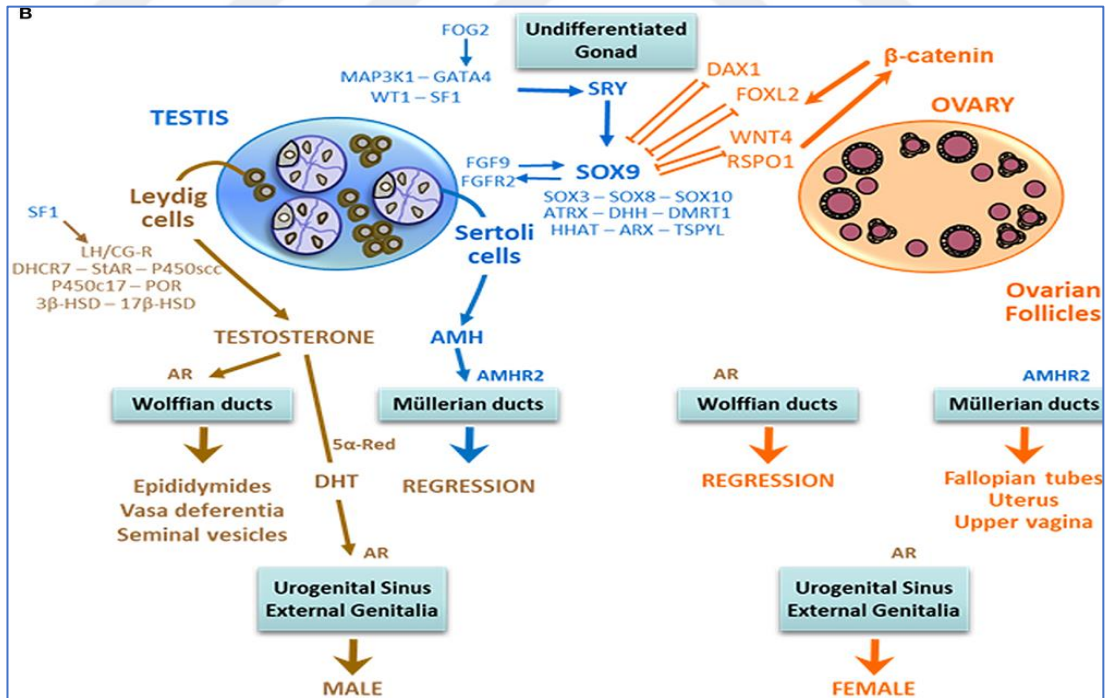
Şekil 1: Normal cinsiyet gelişim evreleri (15)

2.1.1. Bipotansiyel Gonadın Gelişimi

Bipotansiyel gonadın gelişimi cinsiyetin belirlenmesinde ilk adımdır. Bipotansiyel gonadın testis veya over yönünde gelişim sürecinde ilk olarak mezoderm tabakasında ürogenital katlantı gelişir. Yaklaşık olarak 4.haftada ise ilk gonad belirir. Kritik öneme sahip olan ürogenital katlantının gelişiminde çeşitli

transkripsiyon faktörleri rol oynar. Bunlar arasında *LHX1*, *LHX9*, *EMX2*, *PAX2*, *CBX2*, *ATRX*, *WT1* ve *SF* sayılabilir. Bunların içinde en bilinenlerden olan *WT1* (*Wilms tümör supressor gen1*) geni ürogenital katlantıda, çöломik epitelde, sertoli ve granüloza hücrelerinde eksprese olarak gonad ve böbrek gelişiminde rol alır. *WT1* geninde meydana gelen mutasyon sonucunda Wilms tümörü, gonadal disgenezi, glomerüler mezengial skleroz görülebilmektedir (16). Gonad, adrenal bez, hipofiz ve hiptalamusta eksprese edilen *SF1* (*Steroidojenik faktör 1*) geni ise gonadotropların normal işlevi için gereklidir. *SF1* gen mutasyonlarında 46,XY bireylerde CGB; 46,XX bireylerde over yetmezliği; her iki cinsiyette de adrenal yetmezlik görülebilir (17).

Gonadal gelişimde bir sonraki basamak primordial germ hücrelerinin göçüdür. Germ hücrelerinin göçü ve genital köprüde kolonize olması için bazı transkripsiyon faktörlerine ihtiyaç vardır. Germ hücreleri yerleştikten – bir ile altıncı hafta arası- sonra gonad bipotansiyel özelliğini kaybetmeye başlayarak testis ya da over yönüne farklılaşmaya başlar.



Şekil 2. Embriyolojik bipotansiyel gonad gelişiminin modeli yukarıda özetlenmiştir (18).

2.1.2. Erkek Yönünde Cinsiyet Gelişimi

Cinsiyet belirlenmesinde esas olan erkek farklılaşma faktörlerinin varlığı ya da yokluğudur. Y kromozomunun kısa kolu üzerinde yer alan *SRY* geni erkek cinsiyet farklılaşmasını belirlemektedir. Gonad farklılaşması, *SRY* geni varlığında testis oluşumu lehine ilerlemekte ve androjenlerin etkisi ile erkek genital yapılar oluşmaktadır. *SOX9*, *SRY*'nin hedef genidir. *SOX9*, organ gelişimi ve hücre farklılaşmasında rol alan “*SRY*-related HMG box” (*SOX*) ailesinin bir üyesi olup, transkripsiyon kaskadını uyararak cinsiyet farklılaşmasını düzenler. Ayrıca *SOX9* anti-müllerian hormon (AMH) salınımını da artırır. *SOX9* artışı için *SRY* ile birlikte *SF1* de gerekmektedir. *TESCO* (“testis spesifik *SOX9* arttırıcı çekirdek element”) bölgesinin ekspresyonunu *SRY* ve *SF1* birlikte arttırırlar. *SOX9* geni; *WNT4*, *FOXL2*, *DAX1* gibi over gelişiminde rol alan genleri baskımlarken *FGF9* ve *PGD2* ekspresyonlarını arttırır. Testis gelişiminde rol alan *FGF9*, *SOX9* ile pozitif geri bildirim etkileşim içindedir. *DAX1* geni X'e bağlı bir anti-testis gen olarak adlandırılmakla birlikte, her iki gonadın gelişiminde gerekli bir gendir. Fakat gerekli dozlar her iki cinsiyette farklılık göstermektedir. *DAX1* fazla olduğunda (duplikasyonlarında) *SF1*'i antagonize eder ve XY bireyde cinsiyet değişimine neden olur. Testosteron biyosentezinin yanı sıra Leydig hücreleri, testisin karın içinden skrotuma inişinden sorumlu olan insülin benzeri büyüme faktörü 3 (*INSL3*)'ü ve *SF1*'i de üretmektedir. Sertoli hücrelerinden salınan *FGF9*, *DHH*, *PDGFs* de Leydig hücre farklılaşmasında etkilidir. İç genital yapılar fetal dönemde 8. haftaya kadar her iki cinsiyette benzer olup hem Müller hem de Wolf kanalı bulunur. Wolf kanalları köken olarak mezonefroz kaynaklı olup embriyonik dönemde primitif böbreğin boşaltım kanalları olarak işlev görmektedir. Böbrek gelişimini tamamladıktan sonra genital sistemin içinde yer alarak seminal vezikül, epididim ve vas deferense farklılaşacaktır. 46,XY bireylerde Wolf kanallarının stabilizasyonu ve Müller kanalının gerilemesi gereklidir. Erkek yönündeki somatik gelişim için testiste Sertoli hücrelerinden salınan anti-Müllerian hormon (AMH) gereklidir. AMH; intrauterin dönemde 2. aydan itibaren, Müller kanalında eksprese edilen AMHR II ile birleşerek etkisini gösterir ve Müller kanalında gerileme olur. Fetal gelişim sırasında testisler karın içinde bulunduğu böbreklerin yanındaki konumdan skrotuma inmelidir. AMH ve *INSL3* bu iniş sırasında önemli rol oynar. 46,XY bireyde genital tüberkül glans penisi, üretral kıvrım penil gövdeyi, labioskrotal şişlikler proksimalden distale doğru

birleşerek skrotumu oluşturur (19). Penil dokunun gelişimi 11. haftada, üretranın oluşma süreci 14. haftada tamamlanır. Anogenital mesafenin artmaya başlaması bir diğer dış genital yapı değişikliği olarak karşımıza çıkmaktadır. Testosteron üretiminin fetal hipofizin kontrolüne geçtiği üçüncü trimester fallus büyümesinin en çok olduğu dönemdir. Dış genital yapının virilizasyonunda ise DHT görev almaktadır. DHT, hücre içinde 5 α -redüktaz 2 enzimi- *SRD5A2* geni ile kodlanır- ile testosterondan dönüşen, östrojene aromatize olmayan saf androjen etkide bir hormondur. Androjen reseptörü (AR) aracılığı ile ürogenital sinüs, prostat ve dış genital yapılar üzerine etkilidir. İlk trimester, dış genital yapının virilizasyonu için kritik zamandır. Bu dönemden sonra androjen ile karşılaşma fallusun büyümesine neden olur ancak orta hatta birleşme yapamaz (20)

2.1.2. Dişi Yönünde Cinsiyet Gelişimi

Bipotansiyel gonaddan overlerin farklılaşması da bir dizi genler ve transkripsiyon faktörlerine ihtiyaç duyar. Ovaryen yapının organizasyonu ve sürdürülmesi için germ hücrelerinin varlığı esastır. Germ hücreleri olmazsa folikül yapısı oluşamaz. *WNT4*, *FOXL2* ve *RSPO1* over gelişiminde rol alan en önemli genlerdir (20,21). *WNT4*'ün, anti-testis etkisi olup *RSPO1* ile benzer zamanda ve şekilde eksprese edilir. Ayrıca *DAX1* genini up-regüle eder ve *SF1*'i antagonize eder. Androjenleri azaltarak steroid üretimini yönlendirir (22). Fetal hayatta *WNT4* gen mutasyonunda oosit kaybı olmaktadır (19). Overde 8. haftadan sonra eksprese edilen bir transkripsiyon faktörü olan *FOXL2*, over gelişiminde etkili olan bir diğer önemli faktördür. Bipotansiyel gonad ovum yönünde geliyecekse germ hücreleri mitoz ile çoğalmaya devam eder ve 10. haftada mayoz bölünme başlar. Over gelişimi esnasında germ hücrelerinin göçü, çoğalması ve mayoz bölünmeye uğramasının ardından folikül yapılarının oluşumu başlar. Wolf kanalları 46,XX bireylerde 90. günde tamamen kaybolmaktadır. AMH olmadığından Müller kanalı ise gerilemez, fallop tüplerini ve uterusu oluşturur. *WNT4*, Müller yapıların gelişimi için gerekli genlerden birisidir. Dişi dış genital yapıların oluşumu erkek dış genital yapıların oluşumuna göre daha durağan bir süreçtir. Genital kıvrımlarda birleşme olmaz; anogenital mesafe artmaz ve üretral girinti (yarık) birleşmez. Ürogenital çıkıntı klitoris, Labioskrotal şişlikler labia majorayı, üretral kıvrımlar ise labia minorayı oluşturur. Müller kanalının alt ucu ile vaginal poşun üst kısmı birleşerek intrauterin

Tablo 1. Cinsiyet gelişim bozukluklarının sınıflandırılması

Cinsiyet kromozom CGB	46,XY CGB	46,XX CGB
A. 47,XXY (Klinefelter sendromu ve varyantları)	A. Gonad (testis) gelişim bozuklukları 1- Tam veya kısmi gonadal disgeneziler (<i>SRY</i> , <i>SOX9</i> , <i>SF1</i> , <i>WT1</i> , <i>DHH</i> vd) 2- Ovotestiküler CGB 3- İlerleyici testis kaybı	A. Gonad (over) gelişim bozuklukları 1- Gonadal disgenezi 2- Ovotestiküler CGB 3- Testiküler CGB(<i>SRY</i> +, <i>SOX9</i> duplikasyonu, <i>RSPO1</i>)
B. 45,X (Turner sendromu ve varyantları)	B. Androjen sentez veya etkisindeki bozukluklar 1- Androjen sentez bozuklukları - LH reseptör gen mutasyonları - Smith Lemi Opitz sendromu - Steroidojenik akut regülör protein mutasyonları - Kolesterol yan zincir ayrılma mutasyonları (<i>CYP11A1</i>) - 3 beta OH steroid dehidrogenaz 2 mutasyonları - P450 oksidoredüktaz mutasyonları - 17 OH steroid dehidrogenaz mutasyonları - 5alfa redüktaz 2 enzim eksikliği 2- Androjen etkisinde azalma - Androjen duyarsızlık sendromu - İlaç ve çevresel etkenler	B. Androjen Fazlalığı 1-Fetal 2- 3 beta OH steroid dehidrogenaz 2 mutasyonu -21 hidroksilaz mutasyonu -P450 oksidoredüktaz mutasyonu - 11 beta hidroksilaz mutasyonu -Glukokortikoid alımaç mutasyonu -Fetoplasental -Aromataz eksikliği -Oksidoredüktaz eksikliği 3-Anne kaynaklı -Annede virilizan tümör (Luteoma) -Androjenik ilaçlar
C. 45,X/46,XY (karma gonadal disgeneziler, ovotestiküler CGB)	C.Diğer	A. Diğer
D.46,XX/46,XY (kimerizm)	D. Erkek cinsiyet gelişiminde sendromik birliktelikler (Kloakal anomaliler, Robinow, Aarskog, El-ayak genital sendromu, popliteal pterigium 1- Persistan Müller kanalı sendromu (<i>AMH</i> veya <i>AMHR2</i>) 2- Kaybolan testis sendromu 3- İzole hipospadias (<i>Cxorf6</i>) 4- Doğumsal hipogonadotropik hipogonadizm 5- Kriptorşidizm (<i>INSL3</i> , <i>GREAT</i>) 6-Çevresel etkenler	B. sendromik birliktelikler 1- Müllerian agenezi/ hipoplaziler (MUCRS gibi) 2- Uterus anomalileri 3- Vajinal atrezi (McKusick-Kaufman gibi) 4- Labial yapışıklık

2.2.1 Cinsiyet Kromozom Bozukluğu ile Birlikte Olan CGB

Turner sendromu, bir X kromozom yokluğu veya X kromozomlarının yapısal yeniden düzenlenmesi olan hastaların fenotipini tanımlar. Yapısal yeniden düzenlemeler izokromozom Xq, kısmi delesyonlar ve ring X kromozomu içerir. Turner sendromlu hastalar, düşük doğum ağırlığı, kısa boyun ve el ve ayaklarda belirgin ödem gibi bulgular ile yenidoğan döneminde teşhis edilebilir. Diğer tipik bulgular kısa boy ve gecikmiş pubertedir. Karakteristik özellikler arasında epikandal kıvrımlar, palpebral fissürler, düşük kulaklar, mikrogınati, kalbin sol taraf anomalileri ve at nalı böbrekler bulunur. Tanısı kromozom analizi ile konulur. Ancak Y kromozomal materyalini saptayan genetik analiz de mutlaka yapılmalıdır. Çünkü bu kızlar virilizasyon geliştirebilir ve gonadoblastoma ve disgerminom için artmış risk taşırlar. Turner sendromlu kızlarda Hashimoto tiroiditi, çölyak hastalığı, nöroensensiyel işitme kaybı, hipertansiyon ve diabetes mellitus gibi başka bozukluklar gelişme riski yüksektir. Etkilenen kızların yaklaşık %50'si aort koarktasyonu veya biküspid aort kapağı dahil olmak üzere konjenital kalp hastalığına sahiptir ve aort diseksiyonu riski artar. Hastalığın erken tanısı morbidite ve mortaliteyi ciddi şekilde azaltıp hastaların yaşam kalitesini arttırmak için önemlidir (6,7,26).

Klinefelter sendromu 47,XXY karyotip ile karakterizedir. Etkilenen erkeklerin genellikle normal dış genital gelişimi var iken hipospadias ve inmemiş testisli olgular tanımlanmıştır. Uzun boylu, küçük testis, gecikmiş ergenlik, infertilite ve jinekomasti ile yaygın başvuru şekilleridir.

Karma gonadal disgenizelerde karyotip 45,X/46,XY olarak saptanır ve dış genital yapı yetersiz virilize erkekten virilize kıza kadar değişken derecelerde olabilir (6,7). Mozaik karyotipe sahip bu grup hastaların CGB serilerindeki oranı %1.9 ile %2.5 arasında az sıklıkta verilmiştir (27–29). Bu olgularda gonadlarda yüksek oranda malignite gelişim riski vardır. Tanı konulduğu anda gonadektomi önerilir.

2.2.2. 46,XY Cinsiyet Gelişim Bozuklukları

46,XY cinsiyet gelişim bozuklukları (46,XY CGB), intrauterin dönemde yetersiz virilizasyondan kaynaklanan kuşkulu genital yapı veya tamamen dışı görünümde dış genital yapı ile karşımıza çıkmaktadır. Hastaların büyük

çoğunluğunda erkek yönündeki gonadlar tanımlanır. Ancak bazı hastalarda gonad dokusu hiç yoktur veya gonadal disgenezi şeklindedir. Müller ve Wolf yapıları da farklı ölçülerde birlikte ve/veya ayrı olarak gözlenebilir. Dış genital yapı virilizasyonun tamamen yokluğunda normal dişi görünümündedir ve bu hastalar genellikle primer amenore ve/veya pubertede meme gelişimi olmaması nedeniyle hastaneye başvururlar. 46,XY CGB, testosteron veya dihidrotestosteron (DHT) sentezinin azalmasından ya da bu androjenlerin etkisinin bozulmasından kaynaklanabilir (30,31). 46,XY CGB'nin etiyolojik nedenlere göre sınıflandırması Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. 46,XY cinsiyet gelişim bozuklukları sınıflaması

A-GONAD GELİŞİM KUSURLARI
Gonadal disgenezi -Tam veya Kısmi Formları <i>WT1</i> gen mutasyonu (Denys-Drash sendromu, Frasier sendromu) Steroidojenik faktör-1 (<i>NR5A1/SF1</i>) mutasyonu <i>GATA4</i> ve <i>FOG2</i> , <i>CBX2</i> gen mutasyonu <i>SRY</i> gen mutasyonu <i>SOX9</i> gen mutasyonu (kampomelik displazi) <i>FGF9/FGFR2</i> mutasyonları “Hedgehog” sinyal yolu defektleri (<i>DHH</i> ve <i>HHAT</i> gen mutasyonları) <i>DMRT1</i> gen mutasyonu <i>ATR-X</i> sendromu (X-geçişli alfa-talasemi ve mental gerilik ile beraber gonadal disgenezi) <i>MAP3K1</i> gen mutasyonu <i>DAX1 (NR0B1)</i> gen duplikasyonu <i>WNT4</i> gen duplikasyonu Ovotestiküler Cinsiyet Gelişim Bozuklukları Gonadal agenezi
B-TESTOSTERON ÜRETİM KUSURLARI
Leydig hücre farklılaşmasındaki bozukluk (<i>LHCGR</i> gen mutasyonu) Kolesterol Sentez Defekti ilişkili Smith-Lemli-Opitz sendromu (<i>DHCR7</i> gen mutasyonu) Testosteron Sentezinde Enzimatik Kusurlar Adrenal ve Testiküler Steroidogenezdeki Bozukluklar <i>STAR</i> eksikliği (<i>STAR</i> gen mutasyonu) <i>P450scc</i> eksikliği (<i>CYP11A1</i> gen mutasyonu) 3-beta-hidroksisteroid dehidrogenaz II eksikliği (<i>HSD3B2</i> gen mutasyonu) 17alfa-hidroksilaz ve 17,20 liyaz eksikliği (<i>CYP17A1</i> gen mutasyonu) <i>P450</i> oksidoredüktaz defekti (elektron transferi bozulması) (<i>POR</i> gen mutasyonu) Testiküler Steroidogenezdeki Bozukluklar İzole 17,20-liyaz eksikliği (<i>CYP17A1</i> gen mutasyonu) Sitokrom b5 defekti (<i>P450c17</i> ve <i>POR</i> etkileşimi için allosterik faktör) 17beta-hidroksisteroid dehidrogenaz III eksikliği (<i>HSD17B3</i> gen mutasyonu) DHT üretiminde alternatif yolak bozuklukları <i>AKR1C2</i> ve <i>AKR1C4</i> kusurlarına bağlı 3 alfa- hidroksisteroid dehidrogenaz eksikliği
TESTOSTERON METABOLİZMASI BOZUKLUKLARI
5 alfa -redüktaz tip 2 eksikliği (<i>SRD5A2</i> gen mutasyonu)
ANDROJEN ETKİSİNDEKİ BOZUKLUKLAR
Androjen duyarsızlığı sendromu - kısmi ve tam form (<i>AR</i> gen mutasyonu)
MÜLLER KANAL GELİŞİM HASTALIKLARI
Anti-Müllerian hormon eksikliği (<i>AMH</i> gen mutasyonu) Anti-Müllerian hormon direnci (<i>AMHR</i> gen mutasyonu)
SINIFLANDIRILMAYAN ve SENDROMLARA EŞLİK EDEN 46,XY CGB

2.2.2.1. Gonad Gelişim Bozuklukları

Tam veya Kısmi Gonadal Disgenezi

Bipotansiyel gonaddan fonksiyonel bir testise gelişim ya da farklılaşma bozuklukları androjen üretiminde yetersizlik ile sonuçlanan gonadal disgenezilere neden olur. Oldukça farklı olan gonadların gelişim düzeyi, androjen ve anti-Müllerian hormon (AMH) üretim seviyelerine göre iç ve dış genital yapı şekillenir. Erkek yönünde iç ve dış genital yapıların hormonlar aracılığı ile farklılaşmasında normal yapı ve fonksiyonda Sertoli ve Leydig hücreleri gerekir. Aynı zamanda bipotansiyel gonaddan testis farklılaşmasında etkili olan genlerin eksiksiz, zamanında ve uygun dozda etki göstermeleri zorunludur. Testis gelişimindeki bozukluğun derecesine ve zamanına göre disgenetik gonadın normal testise olan benzerliği çok değişkendir. Gelişim basamaklarındaki erken dönemdeki sorunlar çoğunlukla tam gonadal disgeneziye neden olur. Gonadlar genellikle band veya disgenetik şekildedir. Aynı gonad içinde dahi farklı yapılar bir arada bulunabilir. Ağır ve erken evre bozukluklarda gonadal yapılar tamamen regrese olabilirler. Gonadal disgenizlerde gonadın gelişim kusuru şiddetine göre iç genital yapıda genellikle Wolf ve Müller kanalları değişik derece bir arada bulunur. Dış genital yapı ise normal dişi fenotopik özelliğinden kuşkulu genitalya, virilizasyon yetersizliği olan erkek (hipospadias, mikropenis, yetersiz skrotilizasyon...) gibi çok farklı bir görünüşte değişken olabilir(32–35).

Tam 46,XY Gonadal Disgenezi (Swyer Sendromu)

Testis hiç gelişmemiştir ve gonadlar genellikle band şeklindedir. Band gonadlar daha çok fibröz doku içerir iken germ hücreleri, Sertoli hücreleri, interstisyel steroid salgılayan hücreler, tubül ve foliküller içermez.

Band gonadlarda testosteron üretimi olmadığı için dış genital yapı tamamen normal dişi fenotipindedir. Yine Sertoli hücreleri de gelişmeyeceği için AMH üretimi de olmaz. Bunların sonucu olarak Müller kanalları regrese olmaz ve Wolf kanalları gelişmez. İç genital yapıda uterus ve fallop tüpleri benzeri yapılar bulunur. Cinsel kimlikleri de olguların neredeyse tamamında normal kız yönündedir. Olgular gecikmiş puberte veya primer amenore nedeni ile başvururlar. Nadiren meme gelişimi ve düzensiz menstrüel kanamalar olabilir. Bu durumda gonadların az da olsa

fonksiyonel olmasına bağı olabileceğı gibi östrojen salgılayan bir tümör gelişimi de akla gelmelidir. Pubik kıllanmaları adrenal bez kaynaklı androjenler nedeni ile normaldir. Genellikle fallus yapıları normal dişi şeklindedir. Fallusda büyüme gözlenenlerde kısmi gonadal disgenezi ya da testosteron salgılayan tümör düşünölmelidir.

Gonadal yetmezlik nedeni ile pubertal dönemde serum LH (Luteinleştirici hormon) ve FSH (Foliköl Stimulan Hormon) düzeyleri yüksek; östrojen, testosteron düzeyleri düşüktür. Serum AMH düzeyleri ölçölemeyecek kadar düşük saptanır.

Olguların yaklaşık üçte birinde gonadal tümörler gelişir. En sık gonadoblastom saptanır. Gonadoblastomlu olguların önemli bir kısmında malign tümör olan disgerminom gelişimi bildirilmiştir. Tümör gelişimi daha çok pubertal yaşlarda bildirilse de çok erken yaşlarda da gelişen olgular vardır. Bu yüzden malignite gelişimini önlemek için tanı konulduğı anda bilateral gonadektomi yapılmalıdır. Gonadektomi sonrası pubertal dönemde öncelikle östrojen ve sonrasında österojen/progesteron tedavisi uygulanmalıdır. Hormon yerine koyma tedavisi puberteyi sağlamak dışında metabolik etkiler ve kemik sağlığı için de gereklidir (31,35–37).

Kısmi 46,XY Gonadal Disgenezi

Gonad histolojisinde ince ve gevşek bir şekilde düzenlenmiş tunika albuginea, az gelişmiş seminifer tübüller, seminifer tübüller arası geniş boşluklar, immatür Sertoli ve germ hücreleri gözlenir. Bazı durumlarda, gonadal yapı o kadar az gelişmiştir ki patolojide "farklılaşmamış gonadal doku" veya bazen hatalı olarak "over tipi stroma " olarak tariflenebilir.

Kısmi 46,XY gonadal disgenezili olgularda Leydig hücre fonksiyonlarının bazıları korunmuş olması nedeni ile dış genital yapı genellikle kuşkulu genital yapı şeklindedir. İç genital yapıda ise Sertoli hücre yetersizliğı nedeni ile yetersiz AMH düzeylerini yansıtan Müller kanal artıkları gözlenebilir. Salgılanan testosteron seviyelerine göre Wolf kanallarının gelişimi değışkendir. Olgular değışik derecelerde virilizasyon gösteren kuşkulu genital yapı ile başvururlar. Cinsel kimlik seçimleri de çok değışkendir. Kimlik kararı verilmesinde en zor gruptan biridir. Bazı olgularda Turner sendromu stigmatları gözlenebilir. Bu olgular genellikle mozaik kromozom

yapısı gösterenlerdir. Gonadlar genellikle intraabdominal yerleşimlidir. Ancak bazı olgularda inguinal kanal ya da skrotum içinde olabilirler.

Serum testosteron seviyeleri düşük, LH ve FSH düzeyleri yüksektir. İnsan koryonik gonadotropin (hCG) uyarısına testosteron yanıtı yetersizdir. Serum AMH düzeyleri Sertoli hücre fonksiyon düzeyine bağlı olarak değişken olmakla birlikte genellikle erkek birey için yaşa göre düşüktür.

Tam gonadal disgenezilerde olduğu gibi gonadal tümör gelişme riski yüksektir (35,37–43). Kısmi 46,XY gonadal disgenezili olgularda cinsiyet seçimi çok zordur. Cinsiyet seçiminde; dış genital yapının virilizasyon derecesi, gonadların fonksiyonel kapasitesi, fertilité yetisi, gonadal tümör gelişme riski ve kişinin cinsel kimlik tercihi gibi birçok faktör etkilidir. Kişinin kendi karar verme yeteneği gelişinceye kadar mümkün ise kalıcı ve geri dönüşümsüz cerrahi işlemler pubertal yaşlar sonrasına ertelenmelidir. Bu olguların önemli bir kısmının pubertal yaşlardan sonra cinsel kimlik değiştirdikleri bilinmelidir. Erkek olarak yetiştirileceklerde gonadlar mümkün ise skrotuma indirilir. Ancak gonadlar disgenetik ise ve fonksiyonel değil ise çıkartılmalıdır. Gonadlar skrotuma indirilseler bile malignite riski devam eder. Hastalar malignite gelişimi açısından aralıklı fizik bakı, ultrasonografi ve tümör belirteçleri (beta-hCG, alfa fetoprotein) ile izlenmelidir. Kız cinsiyeti seçilenlerde ise gonadlar çıkarılmalı ve puberte döneminde hormon yerine koyma tedavisi başlanmalıdır (44,45).

46,XY gonadal disgenezi genetik etiyolojisi çok heterojendir ve gonadal oluşumu sürecinde yer alan herhangi bir genin kusurlarından kaynaklanabilir. 46,XY tam veya kısmi gonadal disgeniziye neden olduğu gösterilen, erken gonadal gelişim ve farklılaşmada rol oynayan sorumlu birçok gen bulunmuştur. *NR5A1*, *MAP3K1* ve *SRY*'deki mutasyonlar 46,XY gonadal disgenezinin en sık görülen moleküler nedenleridir.

Bunlar içinde en sık görüleni *SRY* gen mutasyonlarıdır. Olguların yaklaşık %10-15'inden sorumludur. Kısmi gonadal disgenezide, *SRY* mutasyonunun sıklığı, tam disgeneziden daha düşüktür. Bugüne kadar, *SRY* mutasyonlarının çoğu, ağırlıklı olarak de-novo mutasyonları olan “*HMG box*” bölgesinde bulunur. Bununla birlikte, aynı mutasyonu taşıyan fertil babalar ve etkilenen erkek çocuk olguları bildirilmiştir

(46–48). Bu vakaların birkaçında, babanın normal ve mutant SRY geni için somatik mozaikliği gösterilmiştir (49).

Ovotestiküler Cinsiyet Gelişim Bozukluğu

Aynı hastada testis ve over dokusunun bir arada bulunmasıyla karakterize cinsiyet gelişim bozukluğudur. Bu grup içerisinde %60 oranıyla en sık rastlanılan karyotip 46,XX'dir (50). Tüm CGB olan vakaların %3-10 'u bu grupta yer almaktadır (51)Hastalar normal dışı görünümünden normal erkek görünümüne kadar değişebilen çeşitlilikte dış genital yapıya sahip olabilirler.

Ovotestiküler CGB vakalarında gonadların dağılımı incelendiğinde %34 oranında en sık görülen form tek taraflı ovotestis/over, ardından %29 bilateral ovotestis/ovotestis, %25 over/testis, en az görülen form ise %12 oranında ovotestis/testis birlikteliğidir (52,53). Ovotestiküler CGB'de gonadların konumunu mevcut testis dokusunun miktarı ve inişi belirler. Ovotestislerin yaklaşık yarısı abdominal, 1/4'ü inguinal, 1/4'ü labioskrotal yerleşimli iken; overlerin %85'i abdominal, testislerin ise yarısı labioskrotal yerleşimlidir (53).

Ovotestiküler CGB olgularının uzun dönem izleminde gonadal tümör gelişme riski karyotipten bağımsız olarak %5'in altında bulunmuştur (53).

Olguların çok az bir kısmı kuşkulu dış genital yapının farkedilmesi ile yenidoğan döneminde tanı alabilir. Ancak olguların çoğu puberteye kadar gözden kaçır. Erkek olarak yetiştirilen bireyin dışıye ait ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişmesi ile farkedilir (50).

Ovotestiküler CGB olgularında cinsiyet seçimi iç ve dış genital organların durumu, hCG stimülasyon testi yanıtı,fonksiyonel testis dokusu varlığı ve aileyle birlikte hastanın tercihi doğrultusunda yapılabilir (52).

Dışi cinsiyet seçilecek olgulara tedavide kliteroplasti, labioskrotal redüksiyon, vajinal dilatasyon gibi operasyonlar uygulanabilir. Erkek cinsiyet tercihi olanlarda ise penis eğriliği düzeltici operasyonlar, hipospadias düzeltilmesi gibi operasyonlar uygulanabilir. Olguların yetiştirileceği cinsiyete ait gonadlar korunmaya çalışılırken karşı cinse ait gonadlar çıkarılır. Gonad yapısı yetersiz olan hastalara puberteden sonra seks steroid replasmanı yapılabilir (50).

Gonadal agenezi

46,XY karyotipine sahip olup dişi iç veya dış genital yapı yada belirsiz genital yapı ile karşımıza çıkan ve laporoskopi ile doğrulanmış oldukça az sayıda olgu mevcuttur. Bu bozukluğun sebebi henüz belirlenmemiştir, ancak bipotansiyel gonad gelişimi için gerekli olan bilinen genler dışındaki başka bir bozukluk en olası nedendir (47).

2.2.2.2. Testosteron Üretim Kusurları

Fetal serum testosteron konsantrasyonları, ilk trimesterin sonuna doğru normal yetişkin erkek aralığına yükselir. Testosteronun bu yüksek düzeyleri, Wolf kanallarının gelişimi ve daha sonra epididim, seminal veziküller ve seminal kanalda farklılaşmaya yol açar. Bunu daha sonra dış genital organlar ve prostat büyümesi izler. Androjen ve AMH konsantrasyonlarındaki artışın zamanlaması ve miktarı, erkek yönünde cinsiyet farklılaşmasının kritik belirleyicileridir. Androjen biyosentez basamaklardaki anormallikler yetersiz androjen üretimine ve sonuçta yetersiz virilize 46,XY bireye neden olur. Bazı anormallikler adrenal steroidogenezi de etkiler (35,45,54).

Leydig Hücre Farklılaşmasındaki Bozukluk (*LHCGR* gen mutasyonu)

İnsan LHCG reseptörü geninin (*LHCGR*) inaktive edici mutasyonları, Leydig hücre hipoplazisine neden olur. Bu inaktive edici mutasyonlar, 46,XY bireylerde hem doğum öncesi hem de doğum sonrası LH ve plasental hCG sinyal iletimini ve dolayısıyla testosteron üretimini önler. Hem hCG hem de LH, ortak bir transmembran reseptörü *LHCGR*'yi uyararak etki eder. (55).

Tam Leydig hücre hipoplazili olguları doğumda dış genital yapıları dişi görünümüne olduğu için çoğu, kız cinsiyet kimliği alır puberte döneminde meme gelişiminin olmaması ve adet görmeme nedeni ile getirilir. FSH seviyelerine göre daha baskın yüksek LH seviyeleri ve düşük testosteron düzeyleri ölçülür. hCG uyarısına testiküler yanıtızlık vardır. Ayrıca laboratuvar incelemelerinde testosteron öncüsü hormonların yüksekliği dikkati çeker (31,35,47,56).

Leydig hücre hipoplazisinin kısmi formunda ise klinik oldukça değişkendir. Mikropenis ve/veya hipospadias ile karakterize yetersiz virilize erkek görünümünden dış genital organlarının belirsizliğine kadar geniş bir klinik çeşitlilik gösterir.

İnmemeiş testis olabilir. Puberte döneminde kısmi virilizasyon gözlenir. Testis boyutu normal veya sadece ılımlı küçük iken sıklıkla mikropenis saptanır. hCG testine kısmi yanıt alınabilir. Testosteron seviyeleri puberte döneminde artsa da yüksek LH seviyelerine göre düşük düzeydedir.

Leydig hücre hipoplazili olgularda hastalığın ağırlığına göre değişken olmakla birlikte, Leydig hücrelerinin yokluğu ve görece korunmuş Sertoli hücrelerin varlığı ile karakterize inmemiş testis yapısı gözlenebilir. Testislerde Sertoli hücrelerinin fonksiyonlarının normal olması dolayısı ile normal miktarda AMH üretiminden dolayı için iç genital yapıda Müller kanalları saptanmaz(31,35).

Klinik ve laboratuvar bulguları belirgin ancak dizi analizinde heterozigot mutasyon olan ya da mutasyon gösterilmeyenlerde genin olası büyük delesyonlarını göstermek için array-CGH veya MLPA testi istenmelidir (57).

Kolesterol Sentez Defekti İlişkili 46,XY Cinsiyet Gelişim Bozukluğu: Smith-Lemli-Opitz Sendromu (SLOS)

Smith-Lemli-Opitz sendromu (SLOS) 1/20.000- 60.000 sıklıkta görülür. Bu bozukluğa, 11q12-q13 kromozom bölgesinde kodlanan sterol delta-7-redüktaz (*DHCR7*) genindeki mutasyonlar neden olur. SLOS'taki genotip-fenotip korelasyonu zayıftır. Tipik yüz görünümü, kısa burun ile birlikte öne dönük burun delikleri, blefaropitoz, mikrosefali, ışığa duyarlılık, mental gerilik, 2 ve 3. ayak parmaklarının sindaktilisi, hipotoni ve belirsiz dış genitalya ile karakterizedir. Başvuruda adrenal yetmezlik olabilir veya başta olmasa bile zamanla gelişebilir. Erkelere dış genital yapı hipospadiastan dışı dış genital görünüme kadar değişebilir. Müllerian kanal artıkları da saptanabilir. Etkilenen çocuklar da plazma veya dokularda 7-dehidrokolesterol (7DHC) düzeyleri yüksektir. 46,XY CGB'li hastalarda başvuru anında kolesterol seviyelerinin rutin olarak ölçülmesi tanıya yaklaştıır. Ancak plazma kolesterol seviyeleri sıklıkla düşük olmasına rağmen, bazı hastalarda normal sınırlar içinde olabileceği de unutulmamalıdır. SLOS'da kolestrol replasmanı yanında simvastatin tedavisinin parodoksal olarak serum ve serebrospinal sıvı kolestrol seviyelerini arttırarak klinikte düzeltme yaptığı gösterilmiştir. Gen tedavisi çalışmaları da devam etmektedir (58,59).

Testosteron Sentezinde Enzimatik Kusurlar

Testosteron sentezini bozan bugüne kadar 6 enzimatik kusur tanımlanmıştır. Bunlardan üçünde, kortizol sentezindeki bozukluk nedeni ile ek olarak adrenal yetmezlikte görülebilir. Steroidojenik akut regülatör protein (*StAR*) eksikliği, P450 yan zincir ayrılması (P450 side chaincleavage; P450scc), 3-beta hidroksisteroid dehidrogenazeksikliği; kortizol, aldosteron ve testosteron eksikliği ile karakterizedir. 17-hidroksilaz ve P450 oksidoredüktaz eksikliğinde; hem kortizol, hem testosteron biyosentezi yetersizdir. 17,20 desmolaz, 17 keto-redüktaz ise glukokortikoid ve mineralokortikoid üretiminde rolü olmayan enzimlerdir, sadece testosteron biyosentezinde rol oynarlar. Bütün bu enzimatik eksikliklerinin hepsinin kalıtım şekli otozomal resesiftir (47,60).

Dihidrotestosteron Üretiminde Alternatif Yolak Bozuklukları

AKR1C2 ve *AKR1C4* kusurlarına bağlı 3 alfa- hidroksisteroid dehidrogenaz eksikliği (*AKR1C2* ve *AKR1C4* gen mutasyonları)

AKR1C2 fetal testiste yoğun şekilde eksprese edilir iken yetişkin testiste az miktarda bulunur. *AKR1C4* ise daha düşük seviyelerde fetal ve yetişkin testislerde bulunur. Bu nedenle, hem *AKR1C2* hem de *AKR1C4*'ün fetal testiste DHT'ye giden alternatif yolakta etkili olduğu bu genlerdeki mutasyonların erkek genital gelişiminde yetersizliğe neden olduğu gösterilmiştir. Klinik olarak izole 17-20 liyaz eksikliği düşünülüp hormonal ve genetik analizleri uyumsuz hastalarda *AKR1C2* ve *AKR1C4* gen mutasyonları akla gelmelidir (47,61,62).

2.2.2.3. Testosteron Metabolizması Bozuklukları

5 alfa -redüktaz tip 2 Eksikliği (*SRD5A2* Gen Mutasyonu)

5alfa-redüktaz tip 2 eksikliği, 46,XY CGB'nin otozomal resesif kalıtılan formudur ve 5alfa-redüktaz tip 2 enzimini kodlayan *SRD5A2* genindeki mutasyonlardan kaynaklanır. 5alfa-redüktaz, testosteronun en potent androjen olan DHT'ye dönüşümünü katalizleyen anahtar enzimdir (47,63).

Klinik bulgular 5alfa-redüktaz enzim eksikliğinin derecesine göre farklılık gösterebilir. Dış genital yapı dışı görünümde, yetersiz virilize erkek görünümde veya

kuşkulu genital yapıda olabilir. Kuşkulu genital yapıda kliteromegali, mikrofalus, değişik derecelerde hipospadias, bifid skrotum görülebilir. Prostat hipoplaziktir. Ürogenital sinus perineye açılır. Virilizasyon derecesine bağlı olarak vaginal poş ya ürogenital sinüs ya da üretral orifisin arkasından üretra ile bağlantılıdır. Testisler inguinal kanalda ya da labia-skrotal yapılar içerisinde bulunabilir.

Testis gelişimi, testosteron ve AMH yapımı normal olduğundan iç genital yapıda Müller yapıları geriler, Wolf kanallarının (epididim, vas deferens ve veziko seminalis) gelişimi normaldir. 5alfa-redüktaz eksikliği olan 46,XY hastalarda, pubertede testosteron düzeylerinin yükselmesi ile virilizasyon başlar. Erkek yönünde ikincil cinsiyet karakterleri gelişir. Kas kitlesi artar, ses kalınlaşır, fallus boyu büyür. Prostat ve seminal kanallardaki gelişim iyi olmadığından, hastaların semenlerinin viskozitesi fazladır ve genellikle ejakülat volümleri düşüktür. Ejakülat volümlerinin düşük olmasına rağmen, sperm sayısı normaldir. Pubertal dönemde, 5alfa -redüktaz enzim eksikliğinin diğer 46,XY cinsiyet gelişim bozukluklarından ayırıcı tanısını yapmak zor olabilmektedir. Ayırıcı tanıda öncelikli düşünülmesi gereken kısmi androjen reseptör direnci olan hastaların aksine 5alfa-redüktaz eksikliğinde pubertede jinekomasti genellikle gözlenmez (35,47,64).

5alfa-redüktaz enzim eksikliğinde kliniğe neden olan DHT sentez yetersizliğidir. Tanı için serum testosteron ve DHT ölçümü yapılmalıdır. Yüksek veya normal serum testosteron/ DHT oranını tanıda yol göstericidir (65). Ancak her hastada bu değerlerin bazal ölçümü yol gösterici olmayabilir. Mutasyonun ağırlığına göre enzim düzeyi çok değişken olabilir. Bu durum da tanıda testosteron/DHT kullanımını kısıtlar. Özellikle prepubertal çocuklarda hCG uyarısı ile testosteron seviyelerinin yükseltilmesi sonrası testosteron/DHT oranlarına bakılması gerekir. hCG uyarısı ile testosteron/ DHT oranının yaşa ve enzim düzeyine göre değişkenlik göstermesi ve özellikle kısmi olgularda bu testlerin güvenilirliği düşük olması nedeni ile hormonal ölçümlerin tanıdaki rolü sınırlıdır (47,60,66,67). Kesin tanı *SRD5A2* gen dizi analizi ile yapılır. Bugüne kadar *SRD5A2* geninde 100 yakın mutasyon tariflenmiştir. Homozigot mutasyonlar bileşik heterozigotlardan daha sık gözlenir. Çoğu yanlış anlamalı (missens) mutasyonlarıdır (31,47,60,68). Paternal uniparental dizomili bir olgu da tariflenmiştir (69). Fenotipik özelliklerin değişkenliği ve ağırlığı enzim aktivite düzeyine bağlıdır. Aynı mutasyonu taşıyan olgularda bile fenotipik

özellikler farklı olabilir. Bu durum 5alfa-redüktaz enzim aktivitesini etkileyen başka faktörlerin de olduğunu düşündürmektedir (70).

5alfa-redüktaz tip 2 eksikliği olan 46,XY olguların çoğunda doğumda kız sosyal kimliği verilmiştir. Ancak çocuklukta orşiektomi yapılmamış olan bu bireylerin çoğu ergenlik veya yetişkinlikte erkek sosyal cinsiyeti seçer. Değişik çalışmalarda doğumda dişi sosyal cinsiyet verilen olgularda erkek yönüne seçim değişikliği % 12-50 arasında bildirilmiştir. Bu neden ile özellikle geri dönüşümsüz dişi yönünde yapılacak cerrahi girişimlerin bireyin kendi kararını verebileceği puberte ve sonrası yaşlara (14 yaş üstü) ertelenmesi en uygun yaklaşım olur. Androjen tedavisine iyi yanıt alınan olgularda erkek yönünde yetiştirilmesi genel olarak kabul edilir. Erkek yönünde yetiştirilecek olgularda hipospadias, kordi onarımı gibi cerrahi işlemler 2 yaşından önce yapılmalıdır. İnmemiş testis operasyonu ise fertileyi korumak ve malignite gelişim riskini azaltmak için olabildiğince erken 6-12 aylar arası yapılması önerilir. Erkek olarak düzeltme operasyonları yapılacak olgularda cerrahi işlemin başarısını arttırmak için cerrahi öncesi ayda bir 25-50 mg testosteron 3 ay süre ile verilerek penis büyümesi sağlanabilir. Androjenlerin doku iyileşmesini bozucu etkisi nedeni ile son testosteron tedavisi üzerinden en az 3 ay sonra cerrahi işlemlerin planlanması gerekir. Testosteronun kemik maturasyonunu ilerletici etkisi ve östrojene aromatisasyonu sonucu jinekomasti geliştirici etkisi nedeni ile 50 kat daha potent olup ancak aromatize olmayan DHT lokal olarak (5-10 mg/gün) cerrahi öncesi kullanılabilir. Puberte döneminde de yüksek doz testosteron 200-500 mg haftada iki kez 6 ay süre ile uygulama ile penis büyümesi ve kıllanma sağlanabilir. Ancak yapılan çalışmalarda erişkin penis boyunun olguların tamamında 2 SDS (Standart deviasyon skoru) altında olduğu bulunmuştur. İn-vitro fertilizasyon yöntemi ile fertilité mümkündür. Kız olarak büyütülen olgularda olası cinsiyet değişikliği riski nedeni ile kalıcı cerrahi girişimler puberte ve sonrasına ertelenmelidir. Cerrahi olarak fallusun küçültmesi, perineoplasti, vajinoplasti ve gonadektomi gerekir. Kesin olarak kız cinsiyeti seçenlerde gereken östrojen replasman tedavisi yapılmalıdır. Tüm CGB olgularında olduğu gibi 5- alfa redüktaz eksikliğinde de olgular yakın psikiyatrik izlem içinde olmalıdır (47,60,71,72).

2.2.2.4. Androjen Etkisindeki Bozukluklar

Androjen Duyarsızlığı Sendromu (ADS)

Androjen duyarsızlığı sendromu, Xq11-q12 bölgesinde lokalize androjen reseptör (AR) geninde mutasyonlar sonucu ortaya çıkar. X'e bağlı resesif geçişlidir (73,74). 46,XY CGB'nin en sık nedenlerinden biridir (75). İlk olarak 1953 yılında Yale Üniversitesi'ndeki bir kadın doğum uzmanı olan Lohn Morris, bilateral testis varlığına rağmen kadın fenotipi olan 82 kişiyi (literatürden derlenen 80 olgu ve kendi iki vakası) rapor etmiştir ve bu tablo testiküler feminizasyon olarak isimlendirilmiştir (76). Tam ADS prevalansı, canlı kız çocuk doğumlarında 4.1/100000 bulunmuştur. Moleküler olarak kanıtlanmış 46,XY olgularında prevalans 1/20400-99100 olarak saptanmıştır (77). Androjen reseptörleri (AR veya NR3C4) steroid/tiroid hormon ailesinden bir nükleer reseptördür. Androjen reseptörleri Wolf kanallarının (epididimis, vas deferans, vesicula seminalis) ve prostatın gelişimi yanısıra dış genital yapının farklılaşmasında önemli rol oynar. Tam ADS' unda Wolf kanallarının gelişim beklenmez, ancak bazı olguların %70 kadarında epididimis ve vas deferens saptanmıştır (78). Pubertede ikincil cinsiyet gelişimi (penis büyümesi, ses kalınlaşması kılınma, spermatogenezisin başlaması vb) için androjen reseptörlerine gereksinim vardır.

Bugüne kadar ADS'na yol açan AR geninde 500'den fazla mutasyon tespit edilmiştir, yaklaşık %30 kadarı de-nova mutasyondur (79) (80). Ancak AR gen analizleri, tam ADS formuna sahip hastaların >% 90'ında kısmi androjen duyarsızlık sendromu (KADS) hastaların sadece %40'ı için allelik varyantları tanımlayabilmektedir. Kısmi androjen duyarsızlık sendromunda genetik analizler zordur. DNA içinde yer alan hareketli uzun tekrar dizileri (*LINE-1*) mutasyonlarının da KADS yol açtığı gösterilmiştir. Diğer taraftan AR geni dışındaki faktörlerin KADS'na yol açabileceğini düşünülmektedir (81).

Androjen reseptöründeki kusurun derecesine göre virilizasyon yetersizliği tam bir dişi görünümünden, infertilitesi ve/veya jinekomastisi olan erkek görünüme değişen fenotip özelliği gösterirler. ADS klinik olarak üç alt gruba ayrılır: tam, kısmi ve hafif form (82). Tam androjen duyarsızlığı, saptanmış vakanın aile taraması, intrauterin dönemde dişi dış genital yapıya karşı 46,XY karyotip saptanması, herhangi bir yaşta sıklıkla çocuklukta inguinal herni onarımı sırasında testisin

farkedilmesi ile tesadüfen veya pubertede primer amenore ile tanı alır. Bilateral inguinal hernili kızların %1-2 tam androjen duyarsızlığı saptanmıştır (83). Fenotip tamamen kız görünümündedir. Fizik bakıda kör vajen vardır, labiumlar içinde veya inguinal kanalda gonadlar palpe edilebilir. Pubertede, estradiol düzeyleri normal erkek aralığında olmasına karşın, androjen etkisinin yokluğu ve androjenlerin periferde östrojenlere dönüşümüne bağlı olarak meme gelişimi ortaya çıkar. Ancak aksiller ve pubik plosite yoktur. Büyüme atağı normaldir, Y kromozomunun etkisine bağlı olarak yaş grubundaki kızlara göre boy daha uzundur, erkelerden daha kısadır (84).

Kısmi androjen duyarsızlık sendromunda, androjen reseptör fonksiyonun düzeyine göre fenotip değişkendir. Fizik muayene kuşkulu genital yapı gözlenir. (kliteromegali, değişik derecede hipospadias, bifid skrotum). Hafif form, genellikle mikropenisi olan normal bir erkek fenotipi görülür. Yetişkinlerde bulgular jinekomasti ve infertilitedir (85).

Mini pubertede ve pubertede yüksek LH düzeyine karşın normal bazal testosteron düzeyleri androjen duyarsızlığını düşündürür. İnhibin B veya AMH seviyeleri normal veya ılımlı artmıştır, AMH düzeyleri testis fonksiyonunu değerlendirmek için değerlidir (86).

Androjen duyarsızlık sendromu yönetimini, cinsiyetin belirlenmesi, hormon replasman tedaviler, psikososyal destek, gonadektomi gereklimi gerekli ise ideal zamanlama, genetik danışmanlık, uygulanan işlemlerin uzun süreli sonuçları gibi başlıklar altında toplamak mümkündür. Tam androjen duyarsızlığı olan XY bireyler genellikle kız cinsiyette büyütülüp oldukça iyi feminize davranışlar gösterirler. “United Kingdom Database of Ambiguous Genitalia and Intersex Disorder and Androgen Insensitivity Support Group”, yaptığı çalışmada destek gruba göre destek almayan grubun daha fazla erkek tipi oyun ve oyuncak seçtiklerini gözlemlemiştir. Bazı olguların dişi cinsel kimlik ile ilgili düşük skora sahip oldukları da gösterilmiştir. Bununla birlikte tam androjen direnci olan olguların tamamı cinsel karmaşa yaşasa bile cinsiyet değişimi talebinde bulunmamıştır. Tam androjen duyarsızlığı olan XY bebekler kız olarak büyütülmesi konusunda uzlaşma vardır (37). Geçmişte kısmi androjen duyarsızlığı olan XY bireylere, kız yönünde cerrahi işlemler uygulanıp gonadektomi ve hormon replasman tedavileri uygulanıyordu (87). Uzun süreli çalışmalarda kız olarak büyütülen hastalar genellikle memnun olmalarına

karşın, cerrahi girişimlerden hoşnutsuzluk ve yaşanan cinsel karmaşa nedeni ile büyütülen cinsiyeti değiştirme gereksinimi duymuşlardır. Bu nedenle XY kısmı androjen direnci olan olguların en azından fonksiyonel bir testis ve palpe edilir penil dokunun varlığı nedeni ile erkek olarak büyütülmeleri önerilmektedir(37)(88). Geç dönem tanı alan olgularda (18 ay sonrası) çocuğun cinsel kimliği ve aile süreçte birlikte değerlendirilerek yönlendirme yapılmalıdır.

Erişkin boy erkek cinsiyete göre daha kısa, kız cinsiyete göre daha uzundur. Tam ADS da puberteye kadar malignite riski düşüktür, puberte sonrası yaş ile birlikte risk artışı gösterilmiştir (89). Germ hücreli tümör sıklığı %1-2 arasındadır(90). Tümörlerin büyük kısmını seminom, disgerminom ve germinom/seminom dışı tümörler oluşturur. Tam ADS bireylerinde germ hücre tümör insidensinin düşük olması ilk yılından sonra germ hücrelerinin hızlı azalması ile açıklanmaktadır (91). Yaşın dışında gonadın yerleşimi germ hücreli tümör gelişimi için belirleyecidir. Kısmi ADS tümör riski tam ADS dan daha yüksektir (%15).

Tam ADS'dan farklı olarak kısmi ADS'da az da olsa yanıtı androjen reseptörü varlığı nedeni ile germ hücrelerini koruyabilir (92). Bu nedenle, kısmi ADS'deki germ hücre tümör insidensi (%15) Tam ADS'tekinden daha yüksektir. Tedavi edilmemiş inmemiş testisleri olan kısmi ADS vakalarında germ hücre tümör riski %50'ye kadar çıkabilir (93). Tam ADS da spontan meme gelişimine katkısı nedeni ile kız büyütülen olgularda gonad çıkarılma zamanının puberte sonrasına bırakılması uygun görülmektedir. Kısmi androjen duyarsızlığı olup erkek büyütülenlerde inmemiş testislerin indirilmesi gerekmektedir. Gonadları korunan hastalara ultrasonografi (US) veya manyetik rezonans görüntüleme (MRG) gibi görüntüleme yöntemleri ile dikkatli izlem önerilmektedir. Ultrason kolay erişim ve düşük maliyet ilk seçenektir. Labioskrotal ve/veya inguinal gonadların US ile yıllık takibi önerilir. Karın içi gonadları MRG'nin izlenmesi daha yararlıdır (94). Gonadektomi uygulanan tüm olgulara meme gelişimi, kemik mineral kazanımı sağlamak için hormonal replasman tedavisi gereklidir. Kısmi ADS Testosteron esterleri 250-500 mg haftada uygulama DHT düzeylerini artırarak penil büyümeye katkıda bulunabilir. Yüksek doz testosteron kullanımında peniste büyüme 6 ay kadar sonra ortaya çıkar (95). Bu süreden sonra, gerektiğinde testosteron dozu idame dozuna geri dönmelidir. Kısmi ADS'da prepubertal ve pubertal dönemde

dehidrotestoron (DHT) lokal olarak kullanılmış, klinik yanıt alınmış olmasına karşın az sayıda hastada deneyim nedeni ile daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

2.2.2.5. Müller Kanal Gelişim Hastalıkları

Persistan Müllerien Kanal Sendromu

Antimüllerien Hormon (AMH) sentez ve etki kusurları, Persistan Müllerien Kanal Sendromu (PMKS) olarak da bilinir. 46,XY bireyde AMH ve AMH reseptör2 (*AMHR2*) gen mutasyonları veya gonad gelişiminde kusurlara yol açan patolojiler ile birlikte görülür. Gonad gelişim kusurlarında Leydig ve Sertoli hücreleri birlikte etkilendiğinden, PMKS ile birlikte kuşkulu genital yapı da vardır. AMH sentez ve etki kusuru sonucu ortaya çıkan tabloda (izole PMKS) dış genital yapı tamamen erkek cinse özgüdür. İlk olarak 1939'da Nilson tarafından “Herni uteri inguinalis” olarak tarif edilmiştir (96). İzole PMKS az görülen klinik tablodur, gerçek sıklık bilinmemektedir. Son 50 yılda 300’e yakın olgu bildirilmiştir (97). Büyük kısmı çocukluk döneminde tanı alan olgulardır.

Antimüllerien hormon, erkeklerde testiste Sertoli hücrelerinde, kadınlarda overde granuloza hücrelerinde yapılır. İnhibin, aktivin gibi glikoproteinleri içeren “Transforming Growth Faktör-B” ailesindendir. Müller kanallarının mezenkimal hücreleri, over granuloza hücreleri, testisin Sertoli ve Leydig hücreleri membranında bulunan *AMHR2* reseptörlerine bağlanır (98). AMH erkek fetusun ürogenital gelişiminde müller kanalların gerilemesini ve normal erkek üreme sisteminin gelişmesini sağlar. Erkeklerde 7. gestasyon haftasında Sertoli hücrelerinde AMH salgılanmaya başlar. AMH’nin Sertoli hücrelerinde üretiminin düzenlenmesinde birkaç gen rol oynar, *SOX9* aktivasyonu için gerekli *SRY* geni, steroidojenik faktör 1 (*SF1*) ve *DAX1* hep birlikte fetal testisten AMH ekspresyonunu uyarırlar (75,76). İlerleyen yaş ve artan testosteron üretimi ile AMH üretimi azalır. Postnatal ilk aylarda artış FSH konsantrasyonu artışı ile birlikte. Puberte döneminde azalmaya ise farklılaşmış Sertoli hücrelerindeki androjen reseptörlerinin aktivasyonu ile ortaya çıkan androjen etkisi yol açar (101).

Otozomal resesif kalıtılan PMKS’ye *AMH* veya *AMH reseptör tip 2 (AMHR2)* genlerindeki homozigot ya da birleşik heterozigot mutasyonlar olguların %88’ini açıklar. *AMH* veya *AMHR2*’de mutasyonları saptanmayan olgular “idiyopatik” PMKS

adı verilir. PMKS' lu hastalarda bu iki gendeki mutasyonların kliniği benzerdir, sıklığı birbirine yakındır. İdiyopatik olgularda akraba evliliği %10'larda iken *AMH* ve *AMHR2* gen mutasyonlarında %40'a yakın oranında saptanmıştır(102). Olgular sıklıkla inguinal herni veya inmemiş testis operasyonları sırasında farkedilir (103). Puberte sonrası genellikle infertilite, oligospermi, hematüri, veya kasık fıtığı ile başvururlar (104). İzole PMKS'da testosteron sentezinin normal olması nedeni ile dış genital yapı ve urogenital sinüs ve Wolffian yapılar normal olarak farklılaşmıştır. Dış genital yapı erkek fenotipindedir. Tek veya iki taraflı inmemiş testis ve/veya inguinal herni görülür. Genellikle herni veya inmemiş testis operasyonu sırasında hastalık fark edilir.

AMH genindeki mutasyona bağlı olanlarda serum *AMH* düzeyi düşük ya da ölçülemeyecek düzeyde iken *AMHR2* genindeki mutasyonlarda son organ direnci nedeni ile serum *AMH* düzeyi normal ya da yüksek saptanır (105). PMKS da serum testosteron ve hCG' ye testosteron yanıtı ve gonodotropin düzeyleri normaldir (106). PMKS tanısı için ultrasonografi (USG) veya manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yeterlidir. Görüntüleme bulguları testisin anatomik yerleşimine göre değişmektedir (107).

Tedavide hedef fertilitiyi korumak ve testise ait tümör gelişme riskini azaltmaktır. PMKS tedavi testisler inmemiş ise cerrahi olarak düzeltilmesidir. Ancak karın içi yerleşimle testis spermatik kordonun çok kısa olması nedeni ile testislerin indirilmesi oldukça güçtür. Uterusun çıkartılması gelecekte bu dokuya ait malignite riski nedeni ile testis ile ilgili yapılara zarar vermemek koşulu ile önerilmektedir (108). Ancak vas deferens mezosalpink, uterus yan duvar ve serviks içine gömülü ise testis normal pozisyona getirmede güçlük nedeni ile duktuslara zarar vermeden çıkartmak gerekebilir. Testis ve duktuslar arasında bağlantının yetersiz olması, testisin yerine indirilmesinde güçlükleri torsiyona bağlı testis yapı bozukluğu, iç spermatik arter kısalığı gibi nedenlerden dolayı çoğunda azospermi ve fertilitede sorunlar vardır. Testis tümör riski izole inmemiş testisten daha fazla olarak bildirilmiştir (104). 67 yaşında bir erkekte uterusu ait adenokarsinom bildirilmiştir (109).

2.2.2.6. Sınıflandırılmayan ve Sendromik 46,XY CGB'ler

Yukarıda bahsedilmeyen bazı oldukça nadir sendromlara 46,XY CGB eşlik edebilir (110). Oldukça değişken klinik bulgular ve belirsiz iç ve dış genital yapının olduğu bu sendromlardan bazıları tablo 3’de özetlenmiştir.

Tablo 3. Bazı sendromlara eşlik eden 46,XY cinsiyet gelişim bozuklukları

Sendrom	Fenotip	Gen	Lokus	OMIM
Nöropati ile birlikte gonadal disgenezi	Polinöropati, gonadal disgenezi	<i>DHH</i>	12q12-13.1	607080
Kennerknecht Sendromu	Mental retardasyon, agonadizm, boy kısalığı, persistan müller kanalları, renal agenezi	-	-	600908
Kısa-kosta torasik displazi 3	Boy kısalığı, kalp ve akciğer anomalileri, kuşku genital yapı	<i>DYNC2H1</i>	11q22	613091
X- geçişli lissensefali 2	Mental retardasyon, büyük fontanel, santral sinir sistemi anomalileri, hipotalamik disfonksiyon, mikropenis, genital anomaliler	<i>ARX</i>	Xp21.3	300215
Sifrim-Hitz-Weiss sendromu	Konjenital kalp hastalığı, makrosefali, mental retardasyon, hipogonadotropik hipogonadizm, hipotoni	<i>CHD4</i>	12p13	617159
MIRAGE sendromu	Miyelodisplazi, intrauterin büyüme geriliği, boy kısalığı, adrenal yetmezlik, enteropati	<i>SAMD9</i>	7q21.2	617053
McKusick–Kaufman sendromu	Kardiak, genitoüriner, iskelet anomalileri	<i>MKKS</i>	20p12.2	604896
Robinow sendromu	İskeler displazisi, brakidaktili, boy kısalığı, yüz anomalileri, mikropenis, belirsiz dış genital yapı	<i>RRS1, WNT5A</i>	9q22.31 3p14.3	180700 268310
Rubinstein–Taybi sendromu	Geniş başparmak-halluks sendromu) başparmak ve ayak parmakları geniş, mikrosefali, geniş burun köprüsü ve Aşağı dönük palpebral fissür. genital anomaliler, özellikle kriptorşidizm	<i>CREBBP EP300</i>	16p3.33 22q13.2	180849 602700
Aarskog–Scott sendromu Fasiogenital displazi	Vertebral anomaliler (kısa boy), hipertansiyon, parmak anomalileri ve belirsiz genital yapı (hipospadias, şal skrotum ve inmemiş testis)	<i>FGD1</i>	Xp11.22	305400
Axenfeld–Rieger sendromu	Gözün ön kamara ve iris anomalileri, üst kesici diş yokluğu, hipospadias ve amgisu genitalya	<i>PITX2</i>	4q25	180500
“VATER/VACTERL association”	Vertebra, trakeo-özefageal fistül, özefagus, kalp, renal, anorektal, genitoüriner anomaliler	-	-	192350
Kaudal regresyon sendromu	Anorektal ve genitoüriner anomalilerle birlikte vertebral kolon ve omuriliğin değişken anomalileri, pulmoner hipoplazi, kardiak anomali	-	-	-
Sirenomelia (mermaid) sendromu	Abdominal aorta anomilisi, tek umlikal arter, pelvik organların yokluğu, alt ekstremitlerin ağır hipoplazisi/füzyonu, gonadal agenezi	-	-	-

2.2.3. 46,XX Cinsiyet Gelişim Bozukluğu

46,XX CGB ilk kez 1964 yılında tanımlanmış olup, kromozom yapısı 46,XX olan bireyin erkek fenotipinde olmasıyla karakterizedir, testiküler CGB olarak da adlandırılır (111,112).

2.2.3.1. Gonadal Disgenezilerin Neden Olduğu 46,XX Cinsiyet Gelişim Bozukluğu

Floresan in situ hibridizasyon ve kromozomal mikroarray teknikleri ile 46,XX CGB olgularının %80-95'inde *SRY* varlığı gösterilmiştir (113). *SRY* negatif olgularda iç genital yapı over ya da ovotestiküler yapıda olabilirken, *SRY* pozitif olgularda iç genital yapı bütünüyle erkek fenotipindedir. Fenotip olarak 46,XX erkek olgularının büyük çoğunluğu erkek görünümünde olup, yaklaşık %85'inde puberte sonrası penis boyu ve pubik kıllanma normalken, testisler küçüktür (114). Non-sendromik 46,XX testiküler CGB'li olguların yaklaşık %15'inde doğumda kuşkulu genital yapı mevcuttur. Azosperminin görülmesi ve testislerin küçük olması ortak özellikleridir. Jinekomasti sık görülmektedir. Klinefelter sendromu ile benzer klinik ve laboratuvar bulguları olsa da boyları normal dişi boy aralıkları ile uyumlu saptanmıştır. Testiküler bozukluğa sekonder gelişen hipergonadotropik hipogonadizm ile uyumlu hormonal bulguları mevcuttur. Serum testosteron değerleri genellikle düşük olmakla birlikte, LH ve FSH bazal serum değerleri hafif yüksektir. Bu olgularda hCG uyarısı sonrası düşük veya subnormal Testosteron cevabı gözlenmektedir. Patoloji incelemelerinde, Leydig hücrelerinin hiperplazisi ve germ hücrelerin yokluğu; testis dokusunda seminefer tübüllerin sayıca azalması ve boyutlarında küçülme ve fibroskleroz bildirilmiştir. Over yapıları izlenmemiştir.

Bu grupta moleküler analizlerle *SOX9* geninin tümünü kapsayan duplikasyonlar (mozaik veya non- mozaik), *SOX3* geninin upstream bölgesindeki mikrolelesyonlar veya mikroduplikasyonlar ve *SRY*, *SOX9* geninin promotor bölgesinde küçük duplikasyonlar veya tripplikasyonlar, 17q24,3 bölgesini de içeren dengeli translokasyonlar ve *RSPO2* vb genlerdeki mutasyonlar bildirilmiştir (115).

2.2.3.2. Androjen Sentez Bozukluklarına Bağlı 46,XX Cinsiyet Gelişim Bozukluğu -Konjenital Adrenal Hiperplazi

Maternal, fetal ve fetoplasental kaynaklara bağlı olarak androjen fazlalığı görülebilmektedir. Olgular genellikle normal over ve Müller yapılarının yanında dış genital yapının değişik derecede maskülinizasyonu ile karşımıza çıkmaktadır. Dişi fetus 8-14. haftalar arasında androjen etkisine maruz kalmış ise klitoris penis benzeri büyümesine, labiyumların tamamen birleşerek skrotum görüntüsü almasına ve klitoris tepesinde tek ürogenital sinüsün olmasına; 12-14.haftadan sonra androjen etkisi altında kalmışsa sadece kliteromegaliye neden olmaktadır. Bu olgular genellikle bilateral kriptorşidizm ile başvurmakta ve çoğu erkek olarak yetiştirilmektedir (116).

Konjenital Adrenal Hiperplazi (KAH) adrenal kortekste, kolesterolden kortizol biyosentezinde görev alan beş enzimden birinin eksik ya da hiç olmaması nedeniyle, kronik ACTH yüksekliğinin yol açtığı adrenal korteksin aşırı stimülasyonu ve hiperplazisi ile karakterize bir hastalıktır. Bu grubun %90'ı *CYP21A2*'e, %5'i *CYP11B1*'e, diğer kısım ise *CYP17A1*, *CYP11A1* ve *HSD3B2*'ye bağlı mutasyonlar sonucu oluşur (117).

En sık "46,XX CGB" nedeni konjenital adrenal hiperplazidir. Bu grubun içinde de en sık neden *CYP21A2* genindeki mutasyonlara bağlı 21-hidroksilaz eksikliğidir. Klasik tuz kaybettiren 21- hidroksilaz eksikliği olan kız bebekler genellikle kuşuklu dış genital yapı nedeniyle yenidoğan döneminde klinik bulgu vermektedir. Etkilenen dişi bebekler için, dış genital organların virilizasyonu hafif kliteromegaliden, perineal hipospadias- bilateral inmemiş testisli erkek görünümüne kadar değişken olabilir (6,7). Adrenal yetmezlik kliniği bebeklerde genellikle 2-3 haftalıktan önce gelişmez ve yetersiz beslenme, dehidratasyon, hiponatremi, hiperkalemi, hipotansiyon gibi klinik ve laboratuvar özellikler ile başvurabilirler. Hastalarda değişik derecelerde virilizasyon bulguları olur. Bazı olgulara dış genital görünümünden dolayı yanlışlıkla erkek cinsiyet kimliği verilmektedir. Erkek kimlik verilen kız olgular daha geç dönemde fark edildiğinde tıbbi, psikiyatrik, sosyal ve adli birçok sorun ile karşılaşmaktadır. Olguların bir kısmı da sepsis, gastroenterit gibi hatalı tanımlar alabilir. Tanı geciktiğinde veya gözden kaçırıldığında, konjenital adrenal hiperplazi potansiyel olarak ölümcülde olabilir (6,7). Bu olgulara erken tanı konulması akut adrenal yetmezlik ile ilişkili morbidite ve mortaliteyi önler. Ayrıca

erken, hızlı ve doğru tanı ile etkilenen kız bebeklere hatalı olarak erkek cinsiyeti verilmesinin önüne geçilebilir.

46,XX CGB'lerle ilişkili diğer steroidogenez bozuklukları arasında, 11-beta hidroksilaz eksikliği (*CYP11B1* gen mutasyonu), 3-beta hidroksisteroid dehidrojenaz eksikliği (*HSD3B2* gen mutasyonu), P450 oksidoredüktaz eksikliği (*POR* gen mutasyonu) ve *CYP19A1*'deki mutasyonlara bağlı aromataz eksikliği yer alır (6,7).

Ayrıca *HSD3B2* ve *POR* mutasyonları olan erkek bebeklerde, bozulmuş testosteron biyosentezinden ötürü yetersiz virilizasyonla bebeklere yanlışlıkla kız cinsiyeti verilmesine neden olabilir. Bunun dışında gebelik sırasındaki maternal hiperandrojenizm, hamileliğin androjen salgılayan tümörleri (luteoma) ve eksojen androjene maruz kalmaya bağlı 46,XX CGB olabilir.

2.2.3.3. Diğer (Sınıflandırılmayan Grup)

46,XX karyotipe sahip erkek fenotipli bireyler vardır. Bu olguların çoğunda *SRY* geni pozitif saptanır. *SRY* geninin sıklıkla X kromozomu daha nadiren de otozomal kromozomlardan birine translokasyonu sonucu ortaya çıkar. Olgularda değişken derece virilizasyon gözlenir. Tanı için kromozom analizi ile *SRY* gen aranması için gereklidir (6,7).

Ovotestiküler CGB hem over foliküllerinin hem de seminifer tübüllerin varlığı ile tanımlanır. Gonadalar fonksiyonel olabilceği gibi tamamen disgenetik de olabilirler. Ovotestiküler CGB ile ilgili bilinen genler *SOX9*, *NR5A1*, *SOX3*, *SOX10*, *WNT4* ve *RSPO1* genleridir. Bu olgularda da öncelikle *SRY* gen varlığı dışlanmalıdır (6,7).

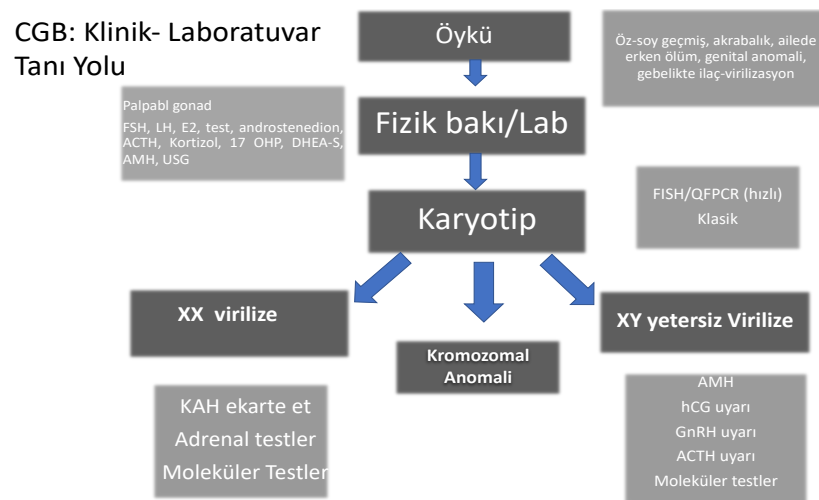
Over gelişim faktörlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar over disgenezi ve/veya primordial foliküllerin hızlandırılmış kaybı ile ilişkili olup, erken over yetmezliği ile sonuçlanır. Doğumdan sonra *WNT4* oositlerde ve granüloza hücrelerinde saptanır. *FOXL2*'deki mutasyonlar, prematüre over yetmezliği ile ilişkili olabilen blefarofimozis, pitoz ve epikanthus inversus sendromu tip 1 (BPES I) ile ilişkilidir. Ovaryan disgenezi ve prematüre over yetmezliği ile ilişkili diğer genler arasında *LHX8*, *MCM8*, *MCM9*, *NOBOX* ve *FSHR* gibi genler bulunmaktadır. Bu olgular daha çok puberte gecikmesi ile başvururlar, CGB fenotipleri yoktur(6,7).

2.3. Cinsiyet Gelişim Bozukluklarında Klinik Özellikler

Cinsiyet gelişim bozukluğu olduğu düşünülen bir çocuğun klinik değerlendirilmesi kapsamlı bir öykü ve fizik muayene ile başlar. Tüm hastalarda özellikle de bebeklerde öyküye gebelik dönemi ile başlanmalı ve büyük hastalarda puberte öyküsü ayrıntılı olarak alınmalıdır. Akraba evliliği, ailede benzer yakınması olan kişilerin varlığı, neonatal bebek ölümü, ailede dişi yetiştirilen ancak pubertal dönemde virilizasyon gösteren ve cinsiyet değişimi isteyen birey varlığı, infertilite öyküsü, ailede gecikmiş veya tamamlanmamış puberte varlığı, annede bilinen herhangi bir teratojen, potansiyel çevresel bozucu madde maruziyeti, ilaç kullanımı, virilizan hastalık olup olmadığı sorgulanmalıdır. Antenatal dönemde yapılan ultrasonografik incelemeler ve ileri genetik değerlendirmelerin yapılıp yapılmadığı sorgulanmalıdır (5,118).

Fizik muayenede dış genital yapıdaki kuşkulu bulgular belirlenmeli, fenotipik skorlama yapılmalı ve bunlara sistemik bulguların eşlik edip etmediği belirlenmelidir (5,25). Cinsiyet gelişim bozukluğu olan bir kişide dış genital yapının görünümü tümüyle normal bir dişi, dişi fenotip egemen kuşkulu, erkek fenotip egemen kuşkulu ya da tümüyle normal erkek görünümde olabilir. Kliteromegali, labial füzyon varlığı ve vajinal açıklığın görülmemesi, palpe edilen gonad varlığı dişi fenotip egemen kuşkulu genital yapıya yol açmaktadır.

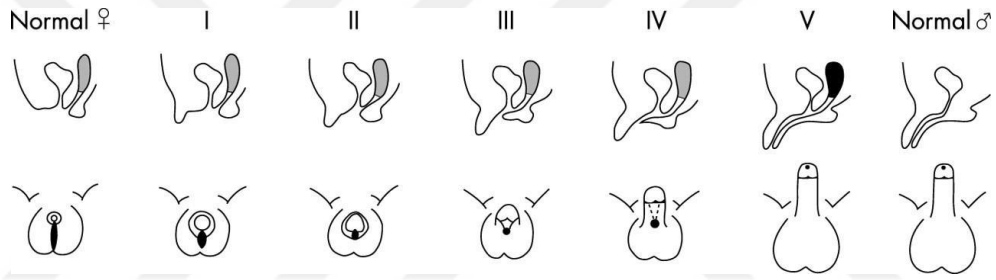
Cinsiyet Gelişim Bozukluklarında güncel tanı akış şeması Şekil 4’ de gösterilmiştir.



Şekil 4. Cinsiyet Gelişim Bozukluklarında Güncel Tanı Akış Şeması

Erkek fenotip egemen kuşkulu genital yapıda fallusun boyu, çapı, üretral meatusun açıklığı ve gonadlar değerlendirilmelidir. Bu bireylerde mikropenis, kordi, hipospadias, bifid skrotum, palpe edilemeyen gonadlar olabilmektedir. Zamanında doğan bir yenidoğanda penis boyu $3,5 \pm 0,7$ cm olarak ölçülmelidir, 2,5 cm ve altı mikropenis olarak kabul edilmektedir(119) . İki taraflı palpe edilemeyen gonadlar, bebeğin KAH'lı virilize bir dişi olduğu şüphesini doğurken, tek taraflı palpe edilen gonad ise 45,X/46,XY karyotip ilişkili gonadal disgenezi lehine bir bulgu olabilir .

46,XX CGB olan vakalarda virilizasyonun derecelendirilmesinde Prader skorlaması(120) (Şekil 5); 46,XY CGB olan bireylerdeki yetersiz virilizasyonun belirlenmesinde Quigley Sinnecker skorlaması, androjen duyarsızlığında dış genital evreleme (Şekil 6)(121) ve dış genital yapı skorlaması (EGS) önerilmektedir.



Şekil 5. 46,XX Cinsiyet Gelişim Bozukluklarında Prader Evrelemesi (120)

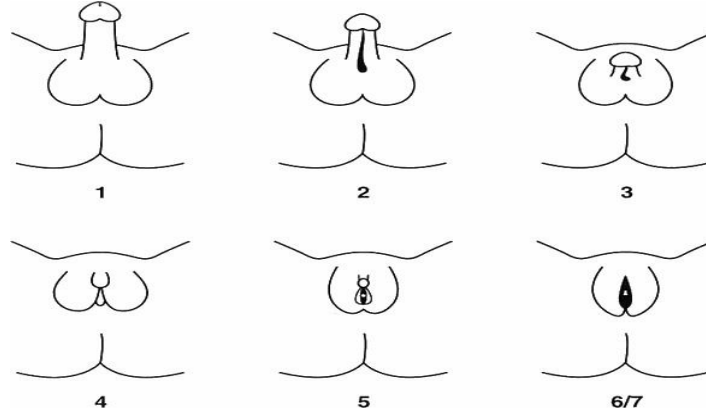
Evre1 : Kliteromegali, (labial füzyon yok).

Evre 2 : Kliteromegali ve posterior labial füzyon

Evre 3 : Değişik derecede kliteromegali, tam labial füzyon ve perineal ürogenital sinüs

Evre 4 : Fallus görünümünde klitoris, tam labial füzyon, fallus kökünde ürogenital sinüs

Evre 5 : Penis görünümünde fallus, üretra meatusu fallusun ucundadır, labiumlar skrotuma benzer görünüm almıştır (palpabl gonadı olmayan erkek bebek görünümü)



Şekil 6. Androjen Duyarsızlığında Dış Genital Evreleme

- Evre 1** : Normal erkek görünümü
- Evre 2** : Erkek görünümünde, fakat hafif derecede hipospadias var
- Evre 3** : Ağır derecede maskülinizasyon kusuru var-mikropenis, penoskrotal hipospadias, bifid skrotum ve/veya kriptorşidi
- Evre 4** : Ağır derecede şüpheli genital yapı-klitorise benzeyen fallus, labioskrotal kıvrım, tek delik
- Evre 5** : Posterior labial yapışıklık ve kliteromegalisi olan kız görünümü
- Evre 6/7** : Tam kız görünümü (erişkinde pubik kıllanma mevcutsa evre 6, kıllanma yoksa evre 7)

Tablo 4. Dış genital yapı skorlaması (122)

Dış Genital Yapı Skoru	Labioskrotal Füzyon	Genital Tüberkül(GT) Uzunluğu (mm)	Üretral Meatus Yeri	Sağ Gonad Yeri	Sol Gonad Yeri
3	Tam füzyon	>31	GT ucunda	Skrotal	Skrotal
2.5		26-30	Koronal glandüler	Skrotal	Skrotal
2			GT boyunca	Skrotal	Skrotal
1.5	Posterior füzyon	21-25	GT tabanında	Labioskrotal	Labioskrotal
1		10-20	Labioskrotal	İnguino-labioskrotal	İnguino-labioskrotal
0.5				İnguinal	İnguinal
0	Füzyon yok	<10	Perineal	Non-palpabl	Non-palpabl

Dış genital yapı skorlaması: Beş bulgunun her birine puan verilerek toplam skor oluşturulur.

15 puan : Normal erkek fenotip

0 puan : Normal dişi fenotip

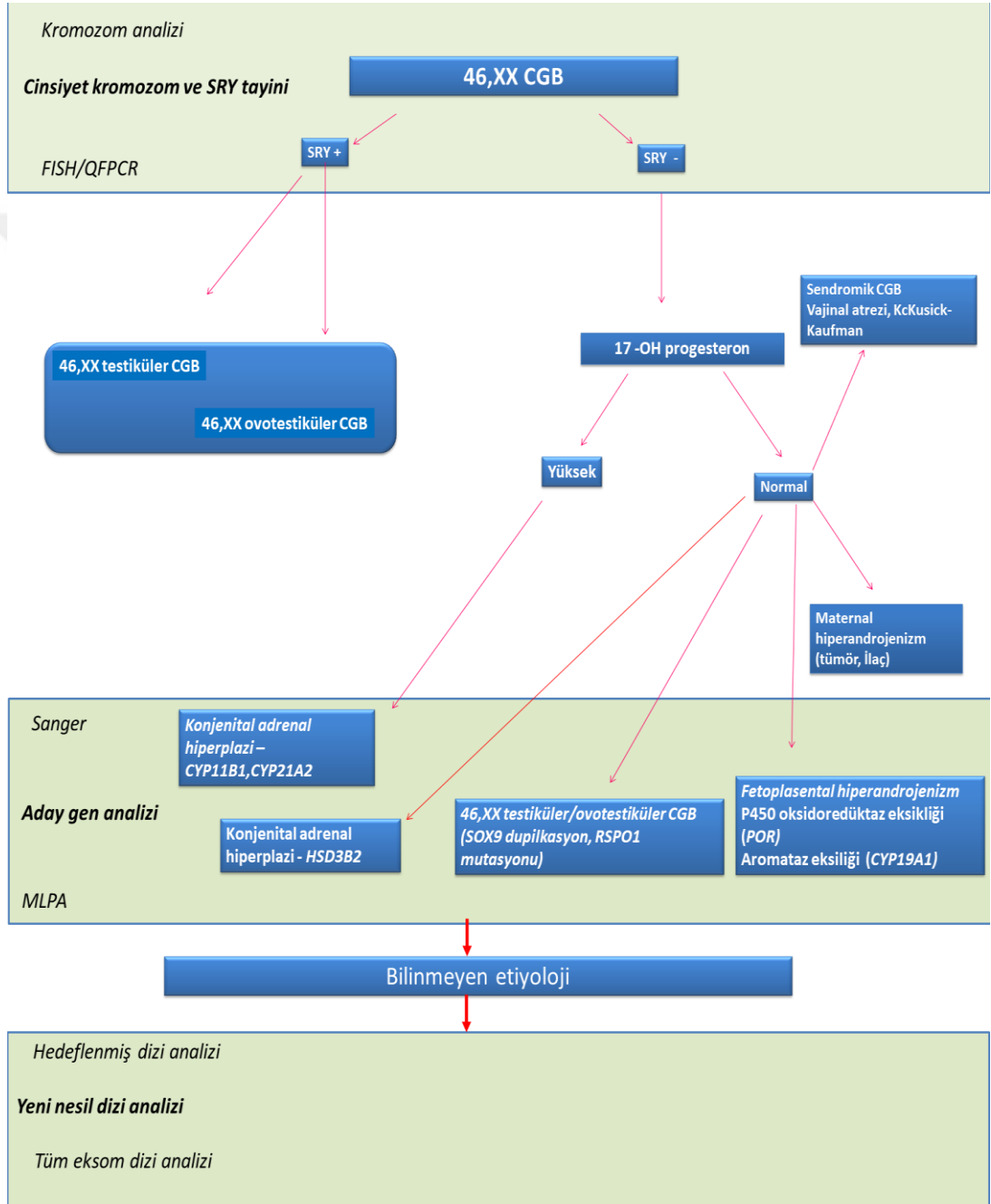
Birçok sendrom ile birliktelik gösterebileceği için dış genital organların muayenesi kadar eşlik eden dismorfik bulgular da CGB'yi saptamada önemlidir

Cinsiyet gelişim bozukluğu düşünülen hastaların hormonal ölçümlerinin gestasyonel yaşa uygun olarak yorumlanması ve bazı durumlarda stimülasyon testleri ile değerlendirilmesi gerekmektedir. Yenidoğan bir bebekte dış genital organların görünümü cinsiyeti belirlemede yetersiz kaldığında ya da intrauterin dönemdeki tayin edilen cinsiyet ile uyumsuz olduğunda hızlıca laboratuvar değerlendirme gerekmektedir. İlk basamakta 17-hidroksiprogesteron (17OHP), serum elektrolitleri, androjenler, AMH, gonadotropinler ve cinsiyet kromozomlarına bakılmalıdır. Ancak değerlendirme yapılırken tuz kaybettiren KAH'da 17OHP seviyesinin 36.saat, serum elektrolitlerinin 4.günden sonra anormal hale geleceği unutulmamalıdır (118). Aynı şekilde erkek bir yenidoğanda testosteron düzeyi ilk bir iki hafta düşükken sonrasında 2- 3 aya kadar artacak ve düşecektir (123).

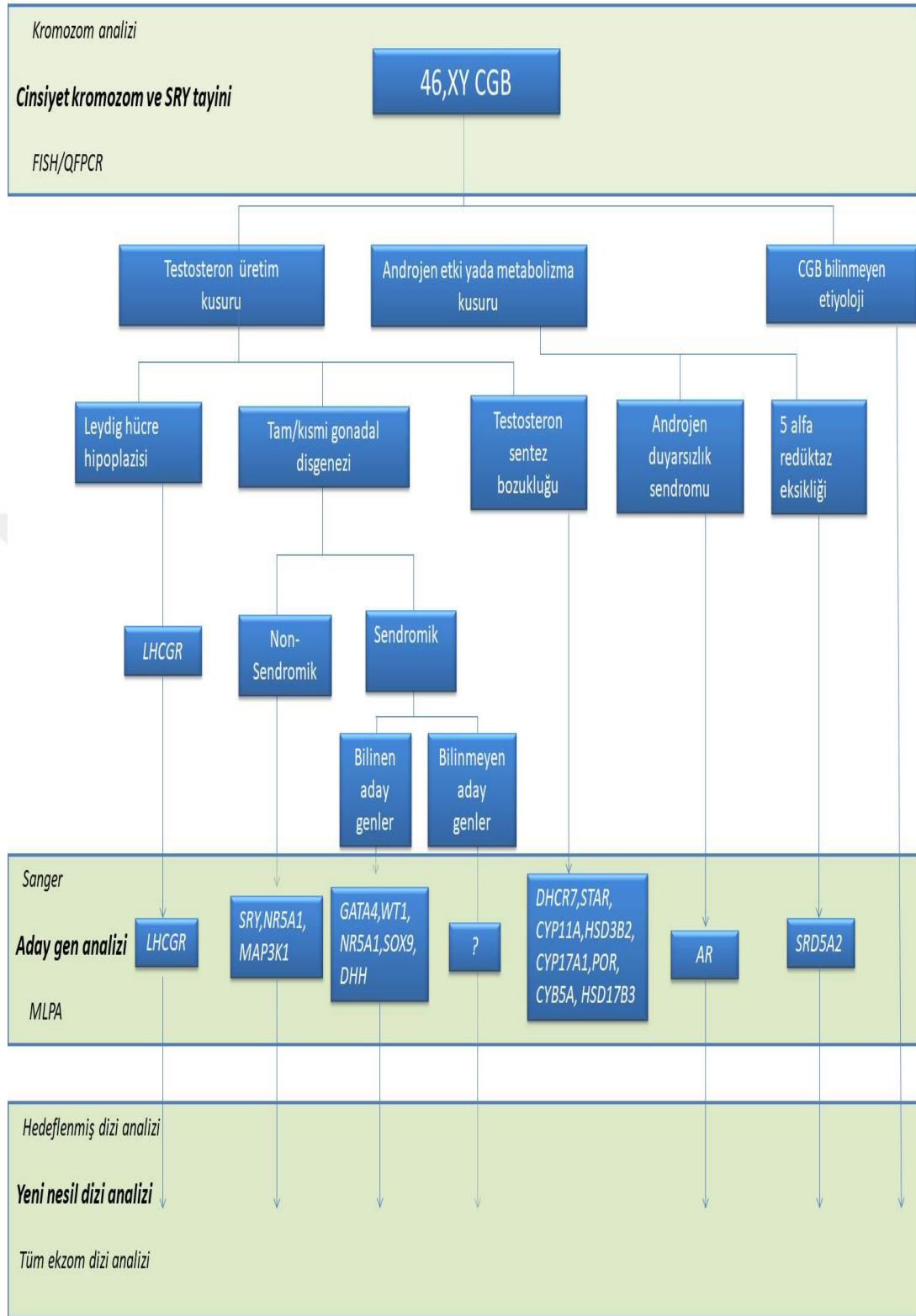
Serum AMH düzeyi testis dokusu varlığını göstermede bir belirteç olarak kullanılabilir (124). AMH hem testisteki Sertoli hücrelerinden hem de overlerdeki Granüloza hücrelerinden sentezlenmesine karşın doğumda erkeklerde çok daha yüksek düzeyde saptanmaktadır (123,124). Gonadotropin ölçümü de ayırıcı tanıda kullanılabilir. Gonadal disgenezide çok yüksek seviyelerde saptanırken, androjen sentez bozukluklarında ve kısmi androjen duyarsızlığında normal veya çok hafif yükselmiş olabilir. Tam androjen duyarsızlığında ise düşük bile olabilir (125). Bazal AMH ve androjen seviyelerinin ölçümünün yanında bazı vakalarda tanıya varmada testis ve adrenal steroidogenezi değerlendirmek için hCG ve ACTH uyarı testlerine, özellikle bir dokunun daha baskın olduğu Ovotestiküler CGB'de görüntüleme yöntemlerine ve gonadal doku biyopsilerine gereksinim duyulabilir. Ancak bu testlerin uyarı testleri olması nedeniyle seçilmiş ve gerekli vakalarda yapılması önerilmektedir. Hem gonadları hem de adrenal bezi etkileyen steroid sentez bozukluklarında ACTH uyarı testi tanıda kullanılabilir (118).

2.4. Cinsiyet Gelişim Bozukluklarının Tanısında Genetik Test Seçimi

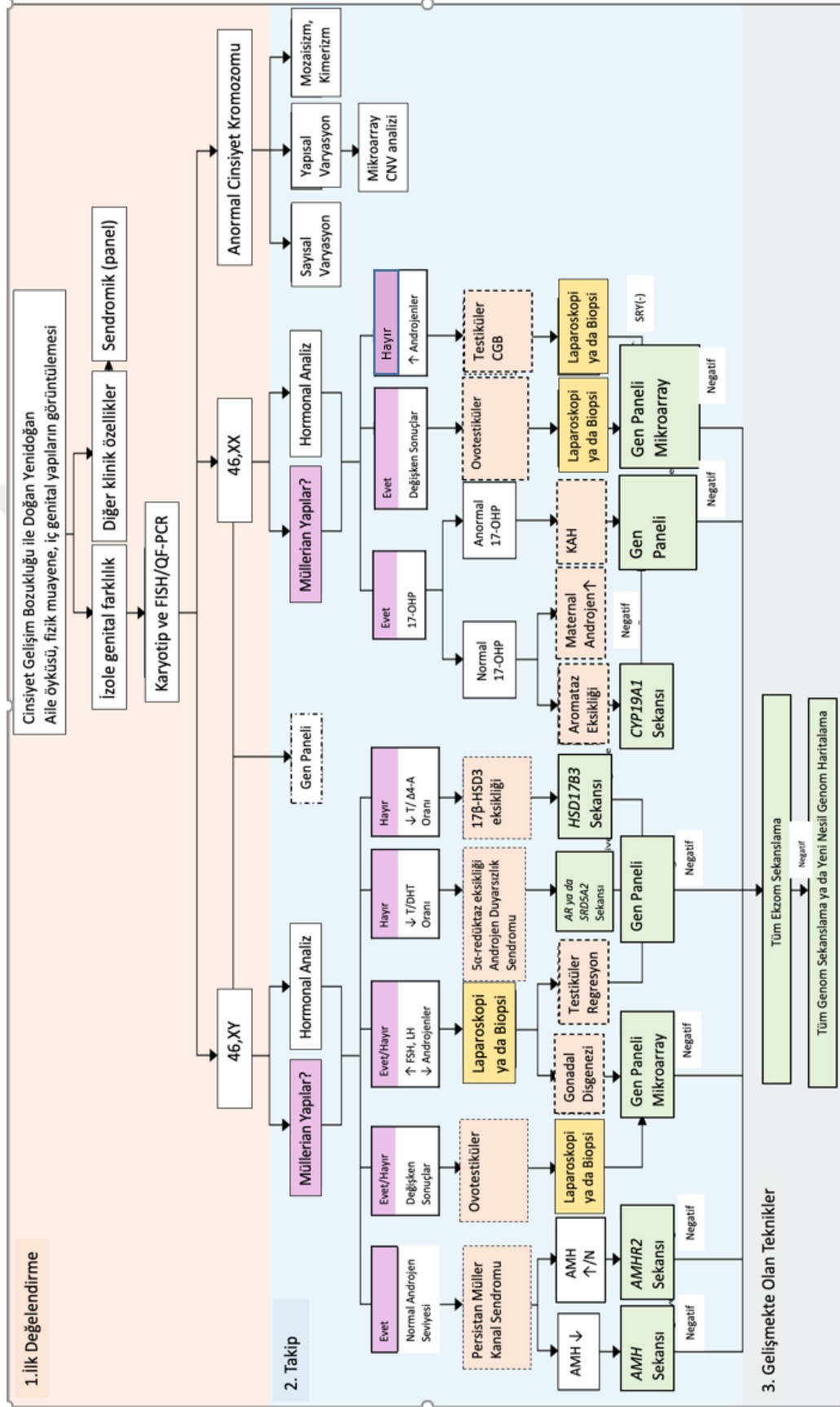
Günümüzde CGB gibi oldukça kompleks moleküler ve hormonal etiyolojik nedeni olan hastalıklarda en başından itibaren multidisipliner yaklaşım gerekmektedir. Son yıllarda gelişen genetik teknolojiler sayesinde CGB olgularında daha düşük maliyetle hızlı tanı konulması sağlanmaktadır.



Şekil 7. 46,XX Cinsiyet Gelişim Bozukluğunda Genetik Temelli Tanı Yaklaşım Şeması



Şekil 8. 46,XY Cinsiyet Gelişim Bozukluğunda Genetik Temelli Tanı Yaklaşım Şeması



Şekil 9. CGB olgularında klinik, laboratuvar ve genetik çalışmaların eş zamanlı yapıldığı, güncel tanı yaklaşımı (15)

2.4.1. Genetik Tanısal Yöntemler

Kromozomlar, DNA'nın hücre bölünmesi sırasında katlanarak kondanse olmuş şeklidir. Kromozomların yapısal özelliklerini, anormallikleri ve sonucunda oluşan klinik ve moleküler özellikleri ve bu sorunların kalıtım şekillerini inceleyen bilim dalı "Sitogenetik" olarak isimlendirilir. Kromozomların sayısal ya da yapısal anomalileri, 50 yıldan uzun bir süredir mikroskobik olarak gösterilmektedir. Genom çağında ilerlediğimiz bu 50 yıllık süreçte, kromozomlara bakışımızdaki çözünürlük giderek artmıştır. Kromozomları ışık mikroskobunda analiz etmemizi sağlayan tek yöntem karyotiplemedir. Çözünürlük gücü daha yüksek olan FISH (floresan in situ hibridizasyon) ve kromozomal mikrodizin (mikroarray) yöntemlerinin kullanıma girmesiyle, "Moleküler sitogenetik", karyotipleme ile beraber kromozomları ve anomalilerini daha iyi anlamamıza ve tanımamıza olanak sağlamıştır.

2.4.1.1. Sitogenetik İncelemeler

2.4.1.1.1. Karyotip Analizi

İnsan kromozomlarının boyutları, şekli ve bant kalıpları esas alınarak, düzenlenmiş ve sınıflandırılmış hali karyotip olarak adlandırılır. İnsan kromozomlarının organizasyonunu ve genel morfolojisini, karyotip analizi ile değerlendirmek için, kullanılacak hücrelerin mutlaka kültürde proliferasyonu gereklidir. En sık karyotip analizi için tercih edilen hücreler, beyaz kan hücreleri, spesifik olarak da T lenfositlerdir. Bu hücrelerin sitogenetik analizi için uygun olan "kısa süreli kültür" hazırlığı, periferik kan örneğinin doku kültür ortamına ekilmesinin ardından, bölünmeye stimüle edilmesiyle başlar. Birkaç gün sonra, bölünen hücreler, mitotik ağı inhiye eden çeşitli kimyasallar kullanılarak, mitozda durdurulur. Hücreler, ortama eklenen hipotonik solüsyon ile patlatılarak kromozomların salınması sağlanır. Daha sonra, sabitleme ve yayma yoluyla boyamaya hazır hale getirilir (126). Hem kalıtsal (prenatal veya postnatal) hem de kazanılmış hastalıklarda, sayısal ve yapısal anormalliklerin belirlenmesinde altın standart test olmuştur. Kromozom yapısıyla ilgili farklı varyasyonları ortaya çıkarmak için Giemsa boyaması, C tipi bantlama, R tipi bantlama ve Q tipi bantlama gibi farklı kromozomal boyama teknikleri kullanılmaktadır (127).

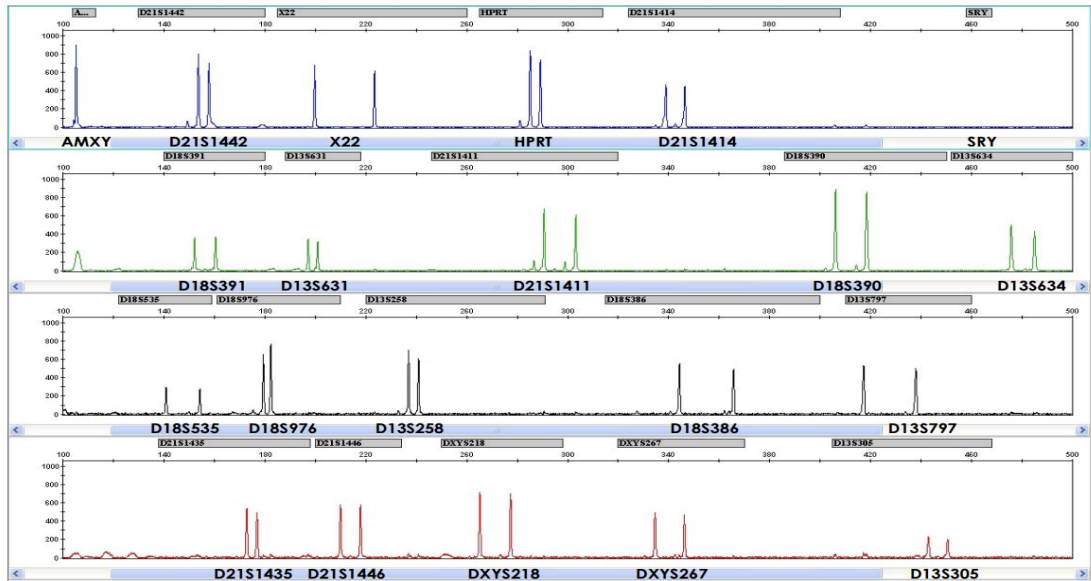
CGB Hastalarının tanısal yaklaşımında Karyotip analizi başlangıç noktasıdır. Çalışma süresi 1-2 haftadır. Anöploidi ve/veya mozaizm ve yapısal varyantların tespitine olanak sağlar. Standart G-bantlama ile yapılan karyotiplemede, toplamda yaklaşık 400-550 bant görüntülenmektedir. Bu düzeydeki bir çözünürlük, yaklaşık 5-10 Mb (1 Mb=1 milyon baz)’dan daha büyük delesyon veya duplikasyonların tespit edilebilmesine imkan sağlamaktadır. Tanısal etkinliği %15 düzeyindedir (çoğunlukla mozaikler) (128).

2.4.1.2. Moleküler Genetik İncelemeler

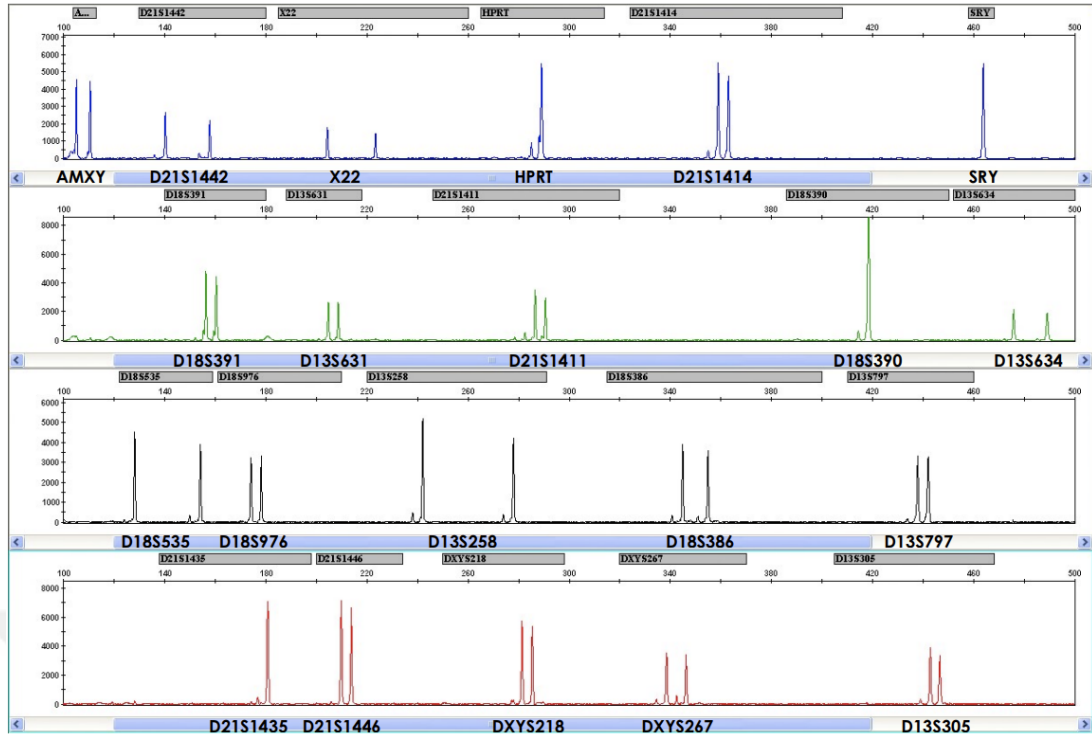
2.4.1.2.1. Kantitatif Fluoresan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (QF-PCR)

Kantitatif fluoresan polimeraz zincir reaksiyonu (quantitative fluorescent polymerase chain reaction, QF-PCR) insanda major sayısal anoploidi nedeni olan kromozom 13, 18, 21, X ve Y kromozomlarının küçük ardışık tekrar (short tandem repeat, STR) analizi ile hızlı tanımlanmasına imkan sağlayan bir yöntemdir.

Bu yöntemi FISH dahil diğer yöntemlerden üstün kılan avantajları daha hızlı olması, daha az materyale ihtiyacının olması, daha güvenilir ve düşük maliyetli olmasıdır (129).



Şekil 10. Normal XX Kadın Cinsiyet Kromozom Yapısına ait QF-PCR yöntemi ile yapılan çalışmanın elektroforegram görüntüsü



Şekil 11. Normal XY Erkek Cinsiyet Kromozom Yapısına ait QF-PCR yöntemi ile yapılan çalışmanın elektroforegram görüntüsü

2.4.1.2.2. Tek Gen Dizi Analizi

DNA birincil (temel) yapılarının belirlenmesinde DNA dizi analizleri ya da sekanslama yöntemleri kullanılmaktadır. DNA dizi analizi, genetik kontrol mekanizmaları ve gen yapısı ile ilgili bir çok bilgi edinmemize olanak sağlamıştır. Kalıtsal hastalıkların ortaya çıkma ve tedavi süreçleriyle ilgili mekanizmaların anlaşılabilmesi için, araştırılan hastalığa etki gösteren gen bölgelerinin aydınlatılması gerekmektedir. Bu açıdan DNA dizi analizlerinin yapılması, tedavi sürecinin başlangıcı ve seyrinde izlenecek yolun belirlenmesinde en önemli faktördür. Sıklıkla rekombinant DNA oluşum yapılarının tayininde ya da gen mutasyonları (delesyon, insersiyon vb.) tespitinde kullanılır

Dizi analiz çalışmalarına öncülük oluşturacak ilk denemeler 1953 yılında DNA'nın 3 boyutlu yapısı tanımlandıktan sonra küçük RNA parçaları ile çalışılmış olup, 1965 yılında Robert Holley tarafından tRNA molekülünün dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Allan Maxam-Walter Gilbert ve Sanger tarafından 1977 yılında

iki farklı DNA dizi analiz yöntemi bulunmuştur. 1985 yılından itibaren otomatik dizi analiz cihazları geliştirilmiştir.

Günümüzde konsensus olarak DNA dizileme için Kapiller elektroforez tabanlı yarı otomatik Sanger dizileme altın standart olarak kabul edilmektedir (130). Fakat bu yöntemin artık altın standart olmayabileceği ile ilgili yayınlar da bulunmaktadır (131).

Günümüzde birçok merkezde moleküler genetik tanı için Sanger dizi analizi kullanılmaktadır. Konvansiyonel Sanger dizi analizi ile kısa dizi (en fazla 1000-1200 baz çifti) okumaları yapılabilmekte ve ön tanıya yönelik her gen ayrı ayrı sıra ile analiz edilmektedir. Bu işlem yüksek güvenilir sonuçlarla birlikte oldukça zaman alıcı ve yüksek maliyetlidir. Sanger dizi analiziyle gen dozajı dengesizliklerinin saptanamayacağı unutulmamalıdır. Ayrıca Sanger dizi analizi ile büyük delesyon ve duplikasyon mutasyonları saptanamamaktadır. Bu nedenle Sanger dizi analizi, çok sayıda genin veya büyük genlerin incelenmesi gereken durumlarda rutin kullanım açısından pratik bir yaklaşım sunamaz. Büyük gen delesyon ve duplikasyonları CGB’de moleküler defekterin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Bu sebeple Sanger dizi analizi ile mutasyon saptanamayan olgularda MLPA, array CGH veya tek nükleotid polimorfizm (SNP) array analizleri yapılması gerekmektedir.

2.4.1.2.3. Yeni Nesil Dizi Analizi

Enzimatik reaksiyonlarla DNA’nın kesilerek çok sayıda DNA parçasıyla bir veri tabanı oluşturulması ve bu DNA parçalarının çoğaltılması yeni nesil dizileme (YND) yönteminin temelini oluşturmaktadır. Paralel sekanslama ile milyonlarca küçük DNA parçasının eş zamanlı dizilenmesi gerçekleştirilmekte; böylece genomdaki her bir bazın birden fazla kez okunması mümkün olmakta ve varyasyonların daha doğru bir şekilde tespit edilebilmesi sağlanmaktadır (132). Ana hatlarıyla sistem; çalışılacak biyolojik materyalin elde edilmesi, elde edilen biyolojik materyallerden genomik DNA’nın izolasyonu, ardından izole edilen DNA’daki hedef bölgelerin seçilmesi, DNA’nın enzimatik reaksiyonla kesilerek DNA veri tabanının oluşturulması, veri tabanını oluşturan DNA parçalarının çoğaltılması, DNA parçalarının dizilenmesi, dizileme sonrası ham verinin oluşturulması, kaynak dizi üzerine haritalama, olası değişimlerin tanımlanarak yorumlanması, Sanger dizileme

veya NGS ile doğrulama ve ayrışma (segregasyon) analizi, aday patojenik değişimlerin belirlenmesi ve son olarak elde edilen bu verilerin raporlanması basamaklarından oluşmaktadır (132).

2.4.1.2.3.1. Hedeflenmiş Yeni Nesil Dizi Analiz Panelleri

Hedefe yönelik olarak oluşturulan YND panelleri ile etyolojisi genetik heterojenite gösteren hastalıklar için çok sayıda gen aynı anda dizilenebilmektedir (133). YND panelinde sonuçlar, klinik ekzom veya genom analizi sonuçlarına göre daha kolay analiz edilebilmektedir. Çünkü daha az sayıda varyant belirlenmektedir. Bu nedenle, YND panelleri klinik ekzom ve genom analizine kıyasla daha hızlı sonuç vermektedir. Ayrıca YND panelleriyle raslantısal bulgular (şüphelenilen fenotipe neden olabilecek gen değişimleri haricinde farklı fenotip ile ilişkilendirilen patojenik varyantların elde edilmesi) elde edilmemektedir.

Genetik olarak oldukça heterojen olan CGB olgularında hedeflenmiş yeni nesil dizi analiz panelleri moleküler tanı için oldukça hızlı, başarı oranı yüksek ve ekonomiktir (134).

Yeni nesil dizi analizinde mutasyon saptanmasa bile klinik güçlü şüphe durumunda Sanger Dizi analizi ile tanı konulabilir.

2.4.1.2.3.2. Tüm Ekzom Sekanslama

Tüm ekzom sekanslama (WES), insan genomunda bilinen 20.000'den fazla genin kodlama bölgelerini eşzamanlı analiz etme olanağı tanıyan, uygun maliyetli ve yüksek çıktılı bir teknolojidir (135,136). Tüm ekzom sekanslama, günümüzde insan genomunun protein kodlayan kısmını incelemek için kullanılan en yaygın teknolojik yaklaşımdır. Tüm ekzom sekanslama insan genomunun sadece %1-1,5'ini kapsamakla birlikte, bu küçük genom kısmı bile hastalığa neden olan, bilinen mutasyonların yaklaşık %85'ini barındırmaktadır. Fakat hastalıkların genetik kökenini, olguların %25-40'ında aydınlayabilmektedir (137,138). Bu oran karyotip ve kromozomal mikrodizi (%15-20) gibi daha klasik yöntemlerle elde edilenden daha yüksek bir orandır (132,133). Tüm ekzom sekanslamanın, güçlü bir tanısal araç olmakla birlikte, bütün klinik endikasyonlar için en iyi tanısal yaklaşım olmadığını

bilmek gerekir ve klinik bulgular ve ortaya çıkan fenotip varyantların tespit edilmesi için gerekli ilişkilerin kurulmasında en önemli basamaktır (141).

2.4.1.2.3.3. Tüm Genom Sekanslama

Tek gen analizleri, panel testleri ve mikroarray analizi daha önceden belirlenmiş bir gendeki bilinen varyantları incelerken, WES analizi sadece fonksiyonel proteinleri kodlayan ekzon bölgelerini inceler. Tüm Genom Analizinde “Whole Genome Sequencing” (WGS) ise insan genomundaki tüm genlerin kodlanan ve kodlanamayan tüm bölgeleri dizilenmektedir. Böylece, genetik olarak karmaşık hastalıklara neden olabilecek nükleotid değişiklikleri tamamen incelenebilmektedir. Tüm Genom Analizi tek bir analizde eşzamanlı olarak bir çok varyantın kapsamlı bir şekilde tanımlanmasına olanak sağlar. Günümüzde çok sayıda klinik çalışma ile birlikte kodlanmayan dizi varyantlarının da hastalıkların tanısında kritik rolü olduğunu ortaya çıkmıştır.

Tüm ekzom analizi ile %85 oranında bilgi sağlanabilirken; WGS de kodlanan kodlanamayan varyantlar, delesyonlar duplikasyonlar, kopya sayısı değişiklikleri (Copy Number Variation, CNV) bakılarak %99 bilgi sağlanmaktadır (138).

Tüm genom analizinin tanı başarısında da hastanın klinik bilgileri ve fenotipik özellikleri çok önemlidir. Klinik bilgi ne kadar ayrıntılı verilirse binlerce gen arasında ilgili gen mutasyonunu bulmak o kadar kolay olacaktır. Fenotip - genotip eşleşmesinin daha başarılı yapılarak hastanın tanısının daha hızlı belirlenebilmesi için çok geniş mutasyon veri tabanı da gerekmektedir.

Dizileme Türü	Hedef bölgeler	Başlıca kullanım alanı	Kısıtlılıkları
Tüm genom dizileme (WGS)	Tüm genler, tüm ekzonlar, tüm kodlamayan bölgeler	Hastalıkla ilgili yeni genlerin keşfi	Maliyet Derinlik(Covarege Deep): Düşük Allel ayırımı için düşük duyarlılık
Tüm ekzom dizileme (WES)	Tüm genler, tüm ekzonlar	Klinik araştırma; tanısal test olarak; neo-epitop tahmini	Maliyet Derinlik (coverage deep): düşük Allel ayırımı için orta derecede duyarlılık
Geniş Gen Panelleri	300–600 gen	Tanısal; klinik denemeler; klinik araştırma	Kapsam
Küçük Gen Panelleri	<100 gen	Tanısal; hastalık progresyonunun monitörizasyonu	Kapsam

Şekil 12. Yeni Nesil Dizleme uygulamalarının karşılaştırılması Genome medicine 2016; 8(1): 112.'den alınmış ve yeniden düzenlenmiştir (142).

2.4.1.2.4.MLPA (Multiple Ligation - Dependent Probe Amplification)

Multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyon (MLPA), genom üzerinde tek bir nükleotid değişimini dahi ayırt edebilen genomik DNA veya RNA dizisindeki 50'den fazla bölge için doz değişimlerini saptayabilen, aCGH ve SNP mikrodizin yöntemlerinin aksine basit, hızlı, düşük maliyetli, pratik bir teknik olarak genetik laboratuvarlarında geniş kullanım alanı bulan multipleks PZR'a dayalı bir tekniktir. MLPA, hastalık yapıcı değişim (mutasyon) olarak sıklıkla delesyon/duplikasyon görülen tek gen hastalıklarının veya tek nükleotid değişimleri açısından taranıp normal bulunan ve büyük delesyon/duplikasyondan şüphelenilen hastalıkların tanısında kullanılabilir. Delesyon ve duplikasyonların rahatlıkla saptanabildiği diğer bir yöntem Array-CGH tır. Ancak pahalı bir yöntem olduğu için bilinen bir bölgede ya da bilinen bir gende/genlerde delesyon/duplikasyon aranıyorsa MLPA tercih edilebilir. Delesyon/duplikasyon analizleri dışında, kromozomların bazı bölgelerine gönderilen probalar ile kromozomun sayısı hakkında bir ön bilgi edinmek ve anöploidleri tespit edebilmek mümkün olabilir. Bu yöntemin kısıtlılıkları ise, dengeli translokasyonların ve nokta mutasyonlarının saptanmasında yeterli olaması, kontaminasyona açık olması ve hedefe yönelik olup daha az çözünürlükte tarama yapmasıdır (143). MLPA tek bir gene spesifik olarak tasarlanmış bir analiz yöntemidir. Ön tanıda birden fazla gen bulunduğunda her genin ayrı ayrı analiz

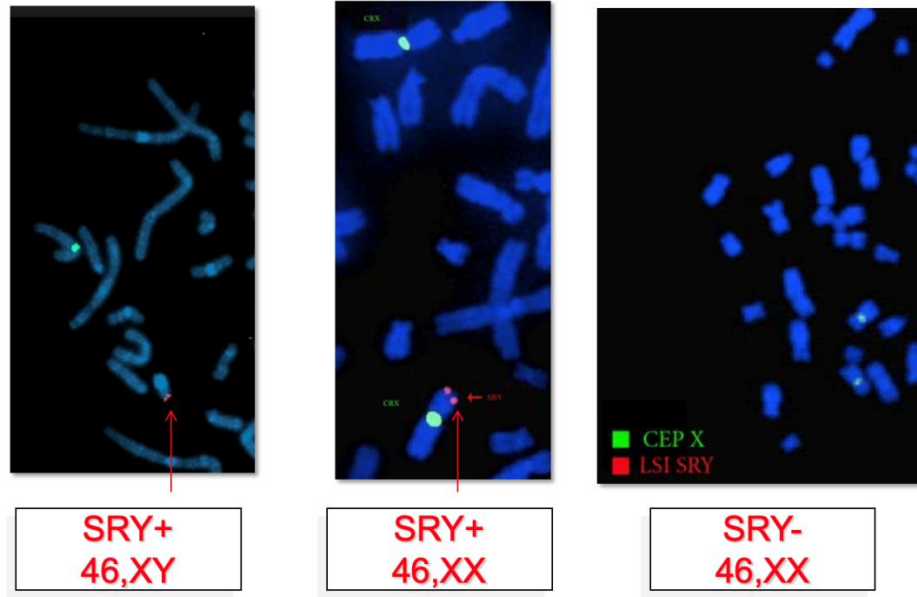
edilmesi gerekmekte, bu durum da analiz süresinin ve maliyetin daha da artmasına sebep olmaktadır (143).

2.4.1.3. Moleküler Sitogenetik İncelemeler

2.4.1.3.1. Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH)

Hücrede, bir kromozomal bölgenin organizasyonunu, sayısal veya yapısal özelliklerini değerlendirmek, özellikle bir bölgenin varlığı ya da yokluğunu belirlemek için, 1990'lerden itibaren FISH yöntemi ön sıralara yerleşti. Floresan in situ hibridizasyon tekniği moleküler çalışmalar için büyük ve tespiti zor, klasik sitogenetik çalışmalar için ise küçük ve saptanması mümkün olmayan anomalilerin tespiti için kullanılan moleküler ve sitogenetik tetkikler arasında bir köprü oluşturan, boyutu 500 kB'den büyük duplikasyonların ya da 100 kB'den büyük delesyonların araştırılmasında kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde prob olarak isimlendirilen spesifik insan DNA dizilerini içeren klonlar kullanılarak, metafaz ya da interfaz sırasında genomun ilgili bölgesinin varlığı ya da yokluğu belirlenebilmektedir. DNA problemleri, tüm bir kromozom için, sadece belirli bir kromozom bölgesi için ve hatta sadece gen düzeyinde hedefler için hazırlanabilir. Kullanılan problemler farklı renklerde floresan ile işaretlenmiştir. Klinik materyalde anormal kromozom sayısının varlığını hızlıca belirlemek ya da kromozomal yeniden düzenlenmeleri tespit etmek için kullanılabilir.

Floresan in situ hibridizasyon teknolojisi G-bantlamaya göre daha yüksek duyarlılık ve daha yüksek bir çözünürlük sağlasa da tüm set kromozomların aynı anda analiz edilmesine izin vermemektedir (144).



Şekil 13. SRY ve Cinsiyet Kromozom Özgü FISH

2.4.1.3.2. Kromozomal Mikroarray

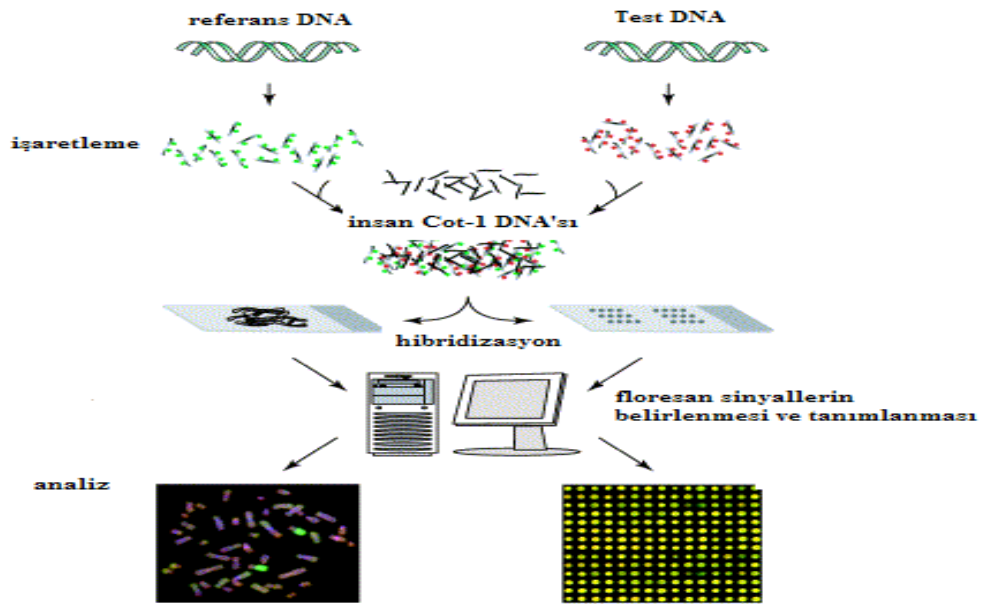
Tüm genom boyunca DNA dizisindeki kopya sayısı değişimlerini inceleyen bir moleküler sitogenetik yöntemdir. Moleküler biyolojik ve robotik tekniklerin bir arada kullanımı sonucunda, cam matris üzerinde herbiri spesifik bir geni temsil eden binlerce DNA parçasının yapıştırılması ile elde edilen arrayler ile hücrelerde, gen ekspresyon analizleri ve tek nükleotid polimorfizmlerinin genotiplenmelerini yapmak mümkündür. Laboratuvarlarda sıklıkla kullanılan konvensiyonel sitogenetik yöntemleri 5 MB veya daha büyük kromozomal değişiklikleri saptayabilmektedir. Son yıllarda kromozomal mikroarray analizlerinin hızla gelişmesiyle birlikte, konvensiyonel sitogenetik yöntemlerinin 5Mb'lık çözünürlük sınırı önemli ölçüde düşmüştür.

Mikroarray yönteminin sık kullanılan iki tipi array CGH (Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon array) ve SNP array (Tek nükleotid polimorfizm array)'dir. CGH tabanlı diziler (aCGH) genomik DNA miktarını ölçer. Hastanın örneği ile normal bir kontrol örneğindeki genomik DNA'yı karşılaştırır. Array CGH tekniklerindeki gelişmeler >1 kb boyutundaki değişiklikleri referans genomla kıyaslayarak değerlendirme imkanı sunmuştur (145). SNP array de kopya sayısı değişikliği (CNV) tespitinde kullanılırken genomdaki tek bir baz çiftinin bireyler arasında farklılıklarını gösteren bölgelerden türetilen DNA problemleri kullanır, her

prob bir SNP’de bulunduğundan karşılık geldiği SNP genotipini belirleyebilir. Aynı zamanda homozigotluğun uzun bitişik uzantılarını (LCSH) saptayabilir (145). Bu durum homozigotluk haritalaması yapılmasına, kimerizmin saptanmasına, uniparental dizomilerin ve kalıtılan genetik kimliğin tespitine ve poliploidi tanısına, olanak verir (146).

Kullanım alanları; kanser araştırmaları, gen ekspresyon çalışmaları, normal ve patolojik durumlarda gen ekspresyon farklarının incelenmesi, mutasyon ve polimorfizm tespiti, ilaç hedeflerinin tanımlanması, gen haritalanması, DNA dizi analizi, çevresel araştırmalar, hastalık alt tiplerinin araştırılması, epigenetik modifikasyonlara yönelik çalışmalardır.

Mikroarray yöntemi gelişimsel gecikme, otizm ve multiple konjenital anomalisi olan olgularda ilk basamak test olarak önerilmektedir (147). Array CGH ve SNP array, klasik yöntem ile normal karyotip hastalarında tüm genom boyunca submikroskopik genom dengesizliğini ve kopya sayısı varyasyonunu 10 KB kadar küçük tespit edebilen yöntemlerdir. Özellikle sendromik klasik karyotip analizi normal CGB olgularında bilinen başka moleküler sebep yok ise array CGH ve/veya SNP array analizi yapılmalıdır. CGB’lerin tanısında kullanılan çok sayıda testin yerine yüksek verimli güçlü bir tam genom tarama imkanı sunmaktadır



Şekil 14. Mikroarray Yöntemi

Genetik hastalıkların iyi tanımlanmış nedenlerinden birisi de kopya sayısı değişikliğidir (CNV) (148). Karyotip ve mikroarray analizleri CNV belirlenmesinde altın standart yöntemlerdir (149).

Kopya sayısı değişikliği klasik olarak 1 kilobazdan (kb) büyük değişiklikler şeklinde tanımlanır (150). Kopya sayısı değişikliğine yol açan insersiyon, delesyon ve duplikasyonlar, insanlarda genom boyunca bulunur ve insan genomunun yaklaşık %12'sini etkiler (151,152).

Kopya sayısı değişiklikleri, genom boyunca varyasyon yaratmak için önemli bir potansiyele sahiptir ve CNV'lerin de novo mutasyon oranı, tek nükleotid varyantlarından daha yüksektir. Dört potansiyel varyasyonla (A, C, G, T) sınırlı olan tek nükleotid varyantları aksine, CNV'lerin boyutu ve gen içeriği değişebilir ve daha kapsamlı genetik değişikliklere izin verir (153).

Kopya sayısı değişiklikleri, popülasyonlarda farklı sıklıkta ortaya çıkabilir. Görülme sıklığı %1'den fazla olduğunda, CNV kopya sayısı polimorfizmi (CNP) olarak adlandırılır (150). Genel popülasyonda delesyonlar duplikasyonlardan daha çok görülür (2:1) (152). Dozaj sensitif genlerin haplo yetmezliği tolere edememesi sebebiyle delesyonlar duplikasyonlardan daha zararlıdır. Birden fazla gen içeren CNV'ler, tek bir fenotip üzerinde farklı genlerin toplam etkisi veya tek bir genin çoklu fenotipler üzerindeki pleiotropik etkileri nedeniyle geniş bir spektrumda fenotipik etkilere sahip olabilir.

Tablo 5. Cinsiyet Gelişim Bozukluğu (CGB) tanısında kullanılan genetik testler (128)

Yöntem	Çalışma Süresi	Tespit Edilen Varyantlar					Çözünürlük	Tanısal Etkinlik
		Anöploidi ve/veya Mozaizm	CNV	Kodlanan SNV	Kodlanmayan SNV	Yapısal Var yant		
Klinikte Uygulanabilir Yöntemler								
Karyotip	1-2 hafta	✓	x	x	x	✓	>5 Mb	%15 (çoğunlukla mozaikler)
İnterfaz FISH (X, Y veya SRY belirteçleri)	<3 gün	✓	x	x	x	x	uygulanamaz	Hızlı cinsiyet kararı
Mikroarray	2-3 hafta	✓	✓	x	x	x	<50 kb	%15
Tek gen analizi ya da gen paneli	~6 hafta	x	x	✓	(✓)	x	SNV: 1 nükleotid Indels:<50 baz çifti	Panel bağımlı
Ekzom Sekanslama	~12 hafta (acil durumlarda <1 hafta)	x	x	✓	x	x	SNV: 1 nükleotid Indels:<50 baz çifti	%30-45
Tüm genom sekanslama	~16 hafta	x	✓ (doğrulama gerektirir)	✓	✓	✓ (doğrulama gerektirir)	SNV: 1 nükleotid	En az %30-45
Preklinik Yöntemler								
Optik genom haritalama	~12 hafta	✓	✓	x	x	✓	Yapısal variant: >500 baz çifti	?
Long-Read Sekanslama	?	x	✓	x	x	✓	Yapısal variant: 50 baz çifti-5 kb?	?

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Endokrinoloji Bilim Dalı'nda takip edilen 0-18 yaş arası CGB'li 22 olgu alındı. Bunlardan 18 (%81.8) olgu 46,XY; 4 (%18.1) olgu 46,XX karyotipinde idi. Karyotip analizinde herhangi bir yapısal ya da sayısal anomali saptanmayan, klinik ve laboratuvar bulgular eşliğinde algoritmik yaklaşımla ilişkili moleküler analizleri gerçekleştirilmiş ve herhangi bir patojenik varyant tespit edilmemiş olgularda mikroyarray yöntemi ile kopya sayısı değişiklikleri değerlendirildi. Bu çalışmada CGB hastalarında moleküler etiyolojinin aydınlatılmasında mikroyarray yöntemi kullanılarak kopya sayısı değişikliklerinin saptanması ve klinik bulgularla ilişkilendirilmesi amaçlandı. Bulunan değişiklikler ACMG 2020 kriterlerine göre skorlandı. Elde edilen skor <0 olan varyantlar öncelikle dışlandı. Skoru 0 ve üstünde saptanan değişiklikler, belirlenen bölgedeki haplo ya da triploiyetersizlik bildirilen genlerin varlığı, ClinVar ve/veya DECIPHER veritabanlarında yapılan veri girişleri ve bildirilen fenotiplere göre incelendi. Bu veriler ışığında, elde edilen değişiklikler benign, anlamı bilinmeyen veya patojenik olacak şekilde sınıflandırıldı. Patojenik ve anlamı bilinmeyen olarak sınıflandırılan varyantların aile segregasyonları ve ileri analizleri planlandı. Hasta sayısına yapılan diğer çalışmalardan yola çıkılarak optimal örneklem sayısı hesaplanarak karar verildi. Olguların dosya bilgileri olgu rapor formlarına kaydedildi.

Olguların hasta arşiv dosyalarından edinilen doğum tarihi, başvuru tarihi, karyotip sonucu, büyütüldüğü cinsiyet, fizik muayene bulguları, Quigley/Prader evresi, eşlik eden anomaliler, daha önce yapılan genetik tetkikler ve sonuçları, düzeltme operasyon öyküsü, anne baba arasında akrabalık öyküsü gibi major bulgular hasta vizitlerinde yapılan muayeneler ile korele edilerek olgu rapor formlarına kaydedildi.

Olguların takipli olduğu diğer bölümler olan Çocuk Cerrahisinde yapılmış olan muayeneleri, varsa Çocuk Psikiyatrisi takip ve öneri notları da olgu rapor formlarına not edildi.

Muayeneleri yapılan olgulardan EDTA'lı tüpe 2 ml kan alınarak mikroyarray çalışması için -20 °C'de saklandı. Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje No: TTU-2020-22260) ve Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği desteği ile her bir

gönüllü için Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi ve Laboratuvarlarından ' İllumina 300K Arrayred Hizmeti' ile delesyon-duplikasyon analizi ve biyoinformatik analiz için hizmet alımı gerçekleştirildi.

Olgular periyodik poliklinik takiplerinde görülerek, ailelere ve olguların kendisine çalışmamız ile ilgili detaylı olarak yazılı ve sözlü bilgi verildi. Çalışmaya katılmayı kabul eden olgular gönüllü onam formunu imzalayarak hasta grubuna dahil oldu. Çalışmaya başlamadan önce Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 20-9T/74 karar numarası ile onay alındı.

Veriler IBM SPSS 25.0 programında analiz edildi. Tanımlayıcı istatistikler birim sayısı (*n*), yüzde (%) ortalama±standart sapma ($\bar{x} \pm ss$), minimum değer (*min*) ve maksimum değer (*mak*) olarak verildi. Sayısal değişkenlere ait verilerin normal dağılımı Shapiro Wilk normallik testi ile değerlendirildi. Sayısal değişkenler Mann Whitney-U testi ile analiz edildi. Gruplar ile kategorik değişkenler arası ilişkiye Kikare testi ile bakıldı. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

Cinsiyet gelişim bozukluğu nedeniyle izlenen moleküler genetik etiyojide patoloji saptanmayan 22 olgu dahil edildi. Olguların 18'i (%81.8) 46,XY ve 4'ü (%18.1) 46,XX CGB olarak sınıflandırıldı Olguların ortalama yaşı 7.9 ± 4.7 yılı. Olguların çocuk endokrinoloji kliniğine başvuru yaşı 7.4 ay (en erken:4 günlük, en geç: 15 yaş) idi.

Tablo 6. Olguların demografik, klinik ve genetik özellikleri

Değişkenler		n	%
Anne-baba akrabalığı	Var	4	18.1
	Yok	18	81.8
Eşlik eden dismorfik bulgu	Var	5	22.7
	Yok	17	77.2
Doğumsal anomali varlığı	Var	11	50
	Yok	11	50
Quigley/Prader Evrelemesi	Prader Evre 1	2	9.1
	Prader Evre 2	2	9.1
	Quigley Evre 1	3	13.6
	Quigley Evre 2	4	18.2
	Quigley Evre 3	7	31.8
	Quigley Evre 4	3	13.6
	Quigley Evre 5	1	4.5
Mikroarray analizinde kopya sayısı değişikliği (n=22)	Var	18	81.8
	Yok	4	18.1
Kopya sayısı değişikliği(n=142)	Delesyon	114	80.3
	Duplikasyon	28	19.8

Başvuru sırasında olguların 6'sı (%27.2) kız, 16'sı (%72.7) erkek cinsiyette yetiştirilmişti. Başvuru bulguları /yönlendirme nedenleri değerlendirildiğinde; 46,XY CGB grubunda hastaların 2'si (%11.1) inmemiş testis ile beraber hipospadias, 4'ü (%22.2) kuşkulu dış genital yapı, 1'i (%5.5) mikropenis ile beraber hipospadias, 1'i (%5.5) bilateral inmemiş testis, 1'i (% 5.5) tek taraflı inmemiş testis, 8'i (%44.4) izole hipospadias ve 1'i (%5.5) mikropenis ile beraber bilateral inmemiş testis nedeni ile değerlendirildi. Kız cinsiyetinde büyütülmüş 46,XY CGB olgularının başvuru yakınması bir (%4.5) olguda kliteromegali ve bir (%4.5) olguda kasıkta şişlik idi. 46,XX CGB'lerin ise 2'si (%50) kuşkulu dış genital yapı, biri (%25) primer

amenore, biri (%25) rastlantısal olarak saptanan müllerian agenezi nedeniyle başvurdu.

Tablo 7. Yetiştirildiği cinsiyete göre olgularda kuşkulu dış genital yapı görülme sıklıkları

	Kuşkulu dış genital var	Kuşkulu dış genital yok	Toplam
Kız	4 (%66.7)	2 (%33.3)	6 (%100)
Erkek	2 (%12.5)	14 (%87.5)	16 (%100)
Toplam	6 (%27.3)	16 (%72.7)	22 (%100)
p=0.025			

Yetiştirildiği cinsiyeti kız olan 6 hastanın 4'ünde (%66.7), yetiştirildiği cinsiyeti erkek olan 16 hastanın 2'sinde (%12.5) kuşkulu dış genital yapı görüldü. (**p=0.025**)

Dört (%18.1) olguda anne-baba arasında akrabalık vardı. Beş (%22.7) olguda eşlik eden dismorfik bulgu (mikrognati, polidaktili vb.) mevcuttu. On bir (%50) olguda; doğumsal anomaliler eşlik etmekteydi ve en sık doğumsal anomali (3 olgu, %27) üriner sistem anomalileriydi.

Tablo 8. Karyotip analizine göre sendromik olan ve olmayan olguların dağılımı

	46,XX	46,XY	Toplam
Sendromik	2 (%12.5)	14 (%87.5)	16 (%100)
Sendromik olmayan	2 (%33.3)	4 (%66.7)	6 (%100)
Toplam	4 (%18.2)	18 (%81.8)	22 (%100)
p=0.541			

Tablo 9. Yetiştirildiği cinsiyete göre sendromik olan ve olmayan olguların dağılımı

	Kız	Erkek	Toplam
Sendromik	3 (18.5)	13 (%81.3)	16 (%100)
Sendromik olmayan	3 (%50)	3 (%50)	6 (%100)
Toplam	6 (%27.3)	16 (%72.7)	22 (%100)
p=0.283			

Tablo 10. Sendromik olan ve olmayan hastaların yaş ve başvuru sırasındaki yaş değerlerinin karşılaştırılması

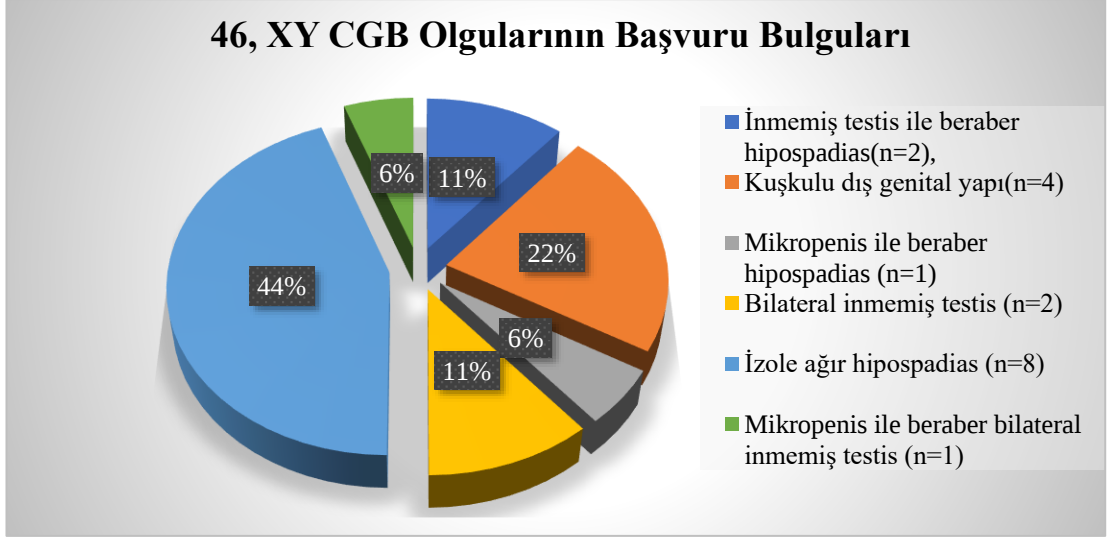
	Yaş (yıl) Ortanca (min-max)	Başvuru yaşı (yıl) Ortanca (min-max)
Sendromik	6.75 (1.75-14.7)	0.29 (0.01-3.8)
Sendromik olmayan	10.95 (1.2-19.8)	3.91 (0.1-15)
Toplam	8.32 (1.2-19.8)	0.33 (0.01-15)
	p=0.178	p=0.01

Sendromik olan ve olmayan hastaların yaş ve başvuru sırasındaki yaşları karşılaştırıldı. Başvuru sırasında yaş ortanca değeri sendromik olmayanlarda anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p=0.01).

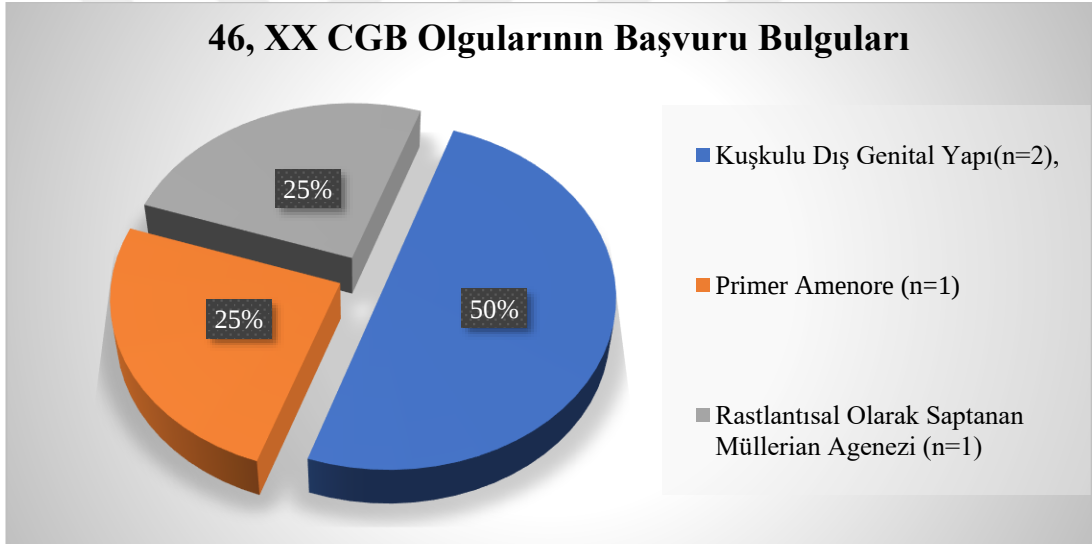
Tablo 11. Sendromik olan ve olmayan hastalarda kopya sayısı değişikliğinin karşılaştırılması

	Kopya sayısı değişikliği Ortanca (min-mak)
Sendromik	3 (0-62)
Sendromik olmayan	0.5 (0-3)
Toplam	2 (0-62)
	p=0.04

Kopya sayısı değişikliği sendromu olan ve olmayan hastalar arasında karşılaştırıldı. Ortanca kopya sayısı değişikliği sendromik olan hastalarda anlamlı daha yüksek bulundu (p=0.04).



Şekil 15. 46,XY CGB olgularının başvuru bulguları



Şekil 16. 46,XX CGB olgularının başvuru bulguları

Mikroarray analizi ile 22 olgudan 4 (%18.1)'ünde hiç varyant saptanmazken, 18 (%81.8) olguda toplam 142 kopya sayısı değişikliği belirlendi. Bunların 114'ü (%80.3) delesyon, 28'i (%19.8) duplikasyondur. Kopya sayısı değişikliği saptanan 18 olgunun varyantları değerlendirildiğinde 5 (%22.7) olguda 13'ü patojenik; 5 (%22.7) olguda 19'u anlamı belirlenemeyen olarak sınıflandırıldı. Patojenik olarak sınıflandırılan varyantlar arasından sadece 1 tanesinde daha önce veri tabanlarında hipospadias ile ilişkili fenotip kaydedilmişken, diğer varyantlarda herhangi bir

genital anomali bildirilmemişti. Patojenik ve anlamı bilinmeyen olarak sınıflandırılan varyantların aile segregasyonları ve ileri analizleri planlandı.

Tablo 12. Patojenik varyant saptanan ve saptanmayan hastalarda kopya sayısı değişikliğinin karşılaştırılması

	Kopya sayısı değişikliği Ortanca (min-mak)
Patojenik	3 (2-62)
Patojenik olmayan	1 (0-5)
Toplam	2 (0-62)
	p=0.031

Kopya sayısı değişikliği patojenik varyant saptanan ve saptanmayan hastalar arasında karşılaştırıldı, ortanca kopya sayısı değişikliği patojenik varyant saptanan hastalarda anlamlı daha yüksek bulundu (p=0.031).

Tablo 13. Mikroarray çalışması yapılan olguların önemli klinik bulguları ve saptanan kopya sayısı değişiklikleri

Olgu No	Klinik	CNV Tipi	Kromozom al Lokasyon	Kromozom Koordinatları	Boyut (bç)	Delesyon/Duplikasyon Alanındaki Gen Sayısı
1	Hipospadias Bilateral inmemiş testis VSD+KMP, Hipotonisite İmmun yetmezlik, Trasaminaz yüksekliği ,Hepatomegali	Kayıp	7p12.1	53,435,451 - 53,513,013	77,563	(-)
		Kayıp	8p23.2	5,017,328 - 5,085,123	67,796	(-)
		Kazanç	10q11.21	44,778,856 - 44,864,035	85,18	1
2	Hipospadias Bifid skrotum Çekik göz, Ayrık meme başları, Simian çizgisi Düşük kulak Derin sakral dimple Epikantus	Kayıp	1p31.1	79,130,037 - 79,593,644	463,608	(-)
		Kayıp	1q25.2	179,000,356 - 179,263,948	263,593	4
		Kayıp	3p12.2	80,354,637 - 81,128,788	774,152	2
		Kayıp	4p15.1	31,156,321 - 32,271,693	1,115,373	4
		Kayıp	4q13.1	60,819,730 - 60,957,761	138,032	1
		Kayıp	4q35.2	187,194,751 - 187,813,461	618,711	4
		Kayıp	5p14.3	18,741,564 - 18,929,611	188,048	(-)
		Kayıp	5p13.3	29,978,003 - 30,108,497	130,495	(-)
		Kayıp	5q15	93,592,012 - 95,024,587	1,432,576	7
		Kayıp	5q21.3	106,306,330 - 107,275,080	968,751	1
		Kayıp	6q12	66,916,968 - 67,258,951	341,984	(-)
		Kayıp	7p21.3	11,529,836 - 12,541,416	1,011,581	4
		Kayıp	7p11.2	57,460,704 - 62,977,911	5,517,208	(-)
		Kayıp	7q31.1	108,448,591 - 109,222,280	773,69	5
		Kayıp	8p22	14,634,612 - 14,789,040	154,429	1
		Kayıp	9p23	10,727,372 - 12,099,118	1,371,747	(-)
		Kayıp	9p23	12,972,383 - 13,469,566	497,184	3
		Kayıp	9p21.3	25,143,482 - 26,297,314	1,153,833	3
		Kayıp	9p13.1	38,771,463 - 67,111,986	28,340,524	(-)
		Kayıp	10q21.1	53,413,561 - 56,330,503	2,916,943	4
		Kayıp	11p15.1	21,299,759 - 26,500,274	5,200,516	12
		Kayıp	11p11.2	48,625,555 - 56,705,570	8,080,016	(-)

Olgu No	Klinik	CNV Tipi	Kromozom al Lokasyon	Kromozom Koordinatları	Boyut (bç)	Delesyon/Duplikasyon Alanındaki Gen Sayısı
		Kayıp	11q14.1	81,513,709 - 82,980,910	1,467,202	6
		Kayıp	11q14.3	88,772,308 - 88,831,918	59,611	1
		Kayıp	11q21	96,513,498 - 98,342,068	1,828,571	1
		Kayıp	11q22.3	103,120,468 - 103,669,230	548,763	1
		Kayıp	12p12.1	22,845,052 - 23,552,823	707,772	2
		Kayıp	12q21.1	72,784,127 - 74,614,854	1,830,728	3
		Kayıp	12q21.31	84,718,697 - 85,670,919	952,223	4
		Kayıp	15q14	38,251,762 - 38,355,494	103,733	1
		Kayıp	21q11.2	13,315,250 - 14,160,005	844,756	11
		Kayıp	22q11.1	15,387,331 - 16,828,991	1,441,661	(-)
		Kayıp	Xp22.2	16,915,298 - 16,987,300	72,003	1
		Kayıp	Xp21.3	26,632,181 - 26,730,000	97,82	(-)
		Kayıp	Xp11.4	41,708,547 - 41,776,687	68,141	2
		Kayıp	Xq21.2	86,937,000 - 87,334,699	397,7	(-)
		Kayıp	Xq21.31	87,528,864 - 87,597,502	68,639	1
		Kayıp	Xq22.2	103,323,975 - 103,391,422	67,448	3
		Kayıp	Xq22.3	107,167,683 - 107,239,034	71,352	2
		Kayıp	Xq22.3	109,060,992 - 109,235,639	174,648	(-)
		Kayıp	Xq23	114,593,643 - 114,679,247	85,605	5
		Kayıp	Xq23	116,875,777 - 117,017,342	141,566	(-)
3	Kuşkulu dış genital yapı (Penoskrotal hipospadias , Bifid skrotum Sağ inmemiş testis) Skrotum hipoplazik , Sağ testis inguinal kanalda ele geliyor ve indirilebiliyor. Sağ renal agenezi	Kazanç	17q21.31	46,107,462 - 46,272,927	165,466	2
		Kazanç	22q11.23	25,270,018 - 25,514,912	244,895	4
		Kazanç	Xq28	155,784,694 - 155,912,321	127,628	1

4	Kuşkulu dış genital yapı (Labium, tek orifis ve yaklaşık 1 cm falus) Sol inguinal kanalda palpabl gonad Hiperkalemi Diyafragma hernisi Sol böbrekte hidronefroz	Kayıp	2q37.3	241,975,583 - 242,087,422	111,840	6
5	Kuşkulu dış genital yapı Bifid skrotum + Proksimal penil hipospadias	Kazanç	4p15.1	34,853,810 - 35,694,812	841,003	(-)
		Kayıp	6q12	63,645,254 - 71,378,254	7,733,001	20
		Kazanç	22q11.23	25,331,025 - 25,514,912	183,888	3
6	Unilateral inmemiş Testis (Sol testis skrotumda palpabl , sağ palpe edilemedi) Sağ multikistik böbrek, Sol böbrek agenezik, Sağ Grade3 VUR	Kayıp	2q37.3	241,975,583 - 242,087,422	111,840	6
		Kazanç	9q34.3	135,257,320 - 135,426,950	169,631	1
		Kazanç	11p15.2	15,099,584 - 15,177,226	77,643	1
		Kazanç	17q21.31	46,107,462 - 46,272,927	165,466	2
		Kazanç	Xq28	155,713,658 - 155,872,074	158,417	1
7	Midpenil hipospadias Unilateral inmemiş testis (sol testis yüksek skrotal, sağ inmemiş testis) Bifid skrotum Hipotiroidi (Prematürite) Anal atrezi	Kazanç	2q11.2	100,906,450 - 101,025,798	119,349	4
		Kayıp	2q37.3	241,575,782 - 242,087,422	511,641	16
		Kazanç	17q21.31	46,151,163 - 46,215,654	64,492	2
8	Hipospadias Mikropenis Hidrosel Hidroşefali (V-P Şant) Strabismus	Kayıp	1p22.2	88,202,894 - 88,543,582	340,689	1
		Kayıp	1p12	118,487,335 - 118,580,521	93,187	(-)
		Kayıp	1q31.1	190,073,576 - 190,597,905	524,330	3
		Kayıp	1q31.3	194,309,815 - 197,218,475	2,908,661	14
		Kayıp	2q22.1	140,776,093 - 141,076,218	300,126	1
		Kayıp	2q32.3	193,277,860 - 194,451,208	1,173,349	1
		Kayıp	2q34	211,988,170 - 212,471,965	483,796	2
		Kayıp	3q11.2	97,368,923 - 97,572,440	203,518	1
		Kayıp	4p15.2	27,361,118 - 30,237,358	2,876,241	3
		Kayıp	4p13	43,149,120 - 43,808,721	659,602	1
		Kayıp	4q13.1	60,819,730 - 60,929,698	109,969	1

	Kayıp	4q13.1	61,280,880 - 63,017,467	1,736,588	2
	Kayıp	4q32.1	159,740,624 - 162,153,292	2,412,669	3
	Kayıp	5p14.3	18,655,144 - 19,093,640	438,497	(-)
	Kayıp	5p14.3	21,081,264 - 21,200,816	119,553	(-)
	Kayıp	5p14.1	27,478,091 - 27,686,463	208,373	1
	Kayıp	5p14.1	27,823,544 - 27,973,646	150,103	(-)
	Kayıp	5p13.3	29,944,650 - 30,170,334	225,685	(-)
	Kayıp	5q14.2	82,931,204 - 83,283,618	352,415	3
	Kayıp	5q23.1	119,935,145 - 121,776,572	1,841,428	2
	Kayıp	5q23.3	129,131,139 - 129,342,289	211,151	(-)
	Kayıp	5q34	161,234,101 - 163,224,608	1,990,508	5
	Kayıp	6q11.2	62,629,560 - 62,924,359	294,800	(-)
	Kayıp	6q12	64,633,573 - 67,249,939	2,616,367	3
	Kayıp	6q15	91,932,221 - 95,846,764	3,914,544	(-)
	Kayıp	6q16.3	103,654,454 - 104,139,165	484,712	(-)
	Kayıp	7p14.1	42,394,736 - 42,489,051	94,316	(-)
	Kayıp	7q11.21	62,239,852 - 63,014,855	775,004	(-)
	Kazanç	7q11.23	76,514,388 - 76,978,826	464,439	6
	Kayıp	7q31.1	108,561,901 - 110,159,554	1,597,654	4
	Kayıp	7q31.31	118,582,131 - 119,129,312	547,182	(-)
	Kayıp	7q31.33	124,727,758 - 126,441,679	1,713,922	7
	Kayıp	8q23.3	112,169,087 - 113,706,229	1,537,143	2
	Kayıp	8q23.3	114,486,770 - 114,785,301	298,532	(-)
	Kayıp	9p23	10,481,205 - 13,469,566	2,988,362	8
	Kayıp	9p21.3	22,617,270 - 23,542,709	925,44	2
	Kayıp	9p21.3	24,837,094 - 26,698,646	1,861,553	3
	Kayıp	9q31.1	102,187,693 - 102,801,213	613,521	1
	Kayıp	10q21.1	52,991,534 - 56,924,509	3,932,976	5
	Kayıp	10q22.3	79,903,819 - 80,209,147	305,329	9
	Kayıp	11p15.2	14,723,387 - 14,900,334	176,948	2
	Kayıp	11p15.1	21,664,766 - 25,839,287	4,174,522	9

		Kayıp	11p11.12	50,330,908 - 56,676,662	6,345,755	(-)
		Kayıp	11q14.3	90,752,813 - 91,294,145	541,333	2
		Kayıp	11q21	96,980,531 - 100,088,811	3,108,281	1
		Kayıp	12p12.3	16,689,071 - 18,048,979	1,359,909	3
		Kayıp	12q12	38,515,393 - 38,600,984	85,592	(-)
		Kayıp	12q21.1	72,996,304 - 75,187,221	2,190,918	4
		Kayıp	12q21.32	87,115,664 - 87,278,845	163,182	(-)
		Kayıp	13q31.2	88,333,473 - 88,541,088	207,616	1
		Kayıp	15q14	38,238,028 - 38,348,280	110,253	1
		Kayıp	Xp21.3	26,625,125 - 26,730,000	104,876	(-)
		Kayıp	Xp21.3	28,138,773 - 28,245,059	106,287	(-)
		Kayıp	Xp21.1	33,784,533 - 34,200,966	416,434	1
		Kayıp	Xq21.1	84,716,963 - 84,890,527	173,565	(-)
		Kayıp	Xq21.31	87,535,262 - 87,661,531	126,27	1
		Kayıp	Xq22.3	109,060,992 - 109,235,639	174,648	(-)
		Kayıp	Xq23	114,611,120 - 114,679,247	68,128	5
		Kayıp	Xq23	116,886,237 - 117,017,342	131,106	(-)
		Kayıp	Xq25	121,850,261 - 121,901,450	51,19	(-)
		Kazanç	Xq25	123,678,199 - 124,274,915	596,717	4
		Kayıp	Xq25	126,725,881 - 126,821,445	95,565	1
9	Hipospadias Hidronefroz ,Yaygın gelişimsel gerilik	Kayıp	7p21.1	16,902,217 - 16,976,071	73,855	(-)
10	Penoskrotal hipospadias Bifid skrotum Pectus excavatum, Noonan Sendromuna benzer stigmatları	Kayıp	8q24.23	136,592,558 - 136,837,768	245,211	1
11	Klitteromegali Tek Orifis	(-)				

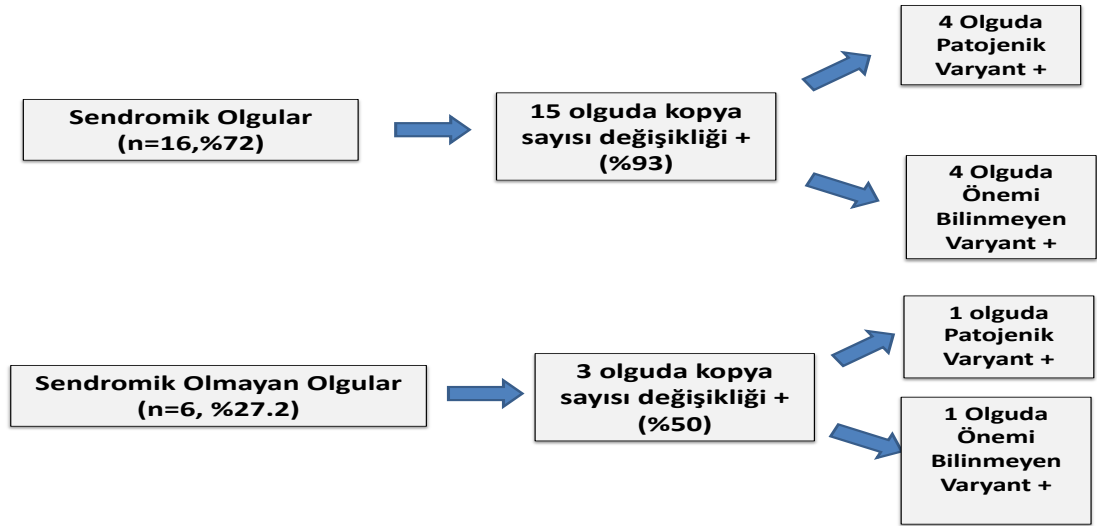
12	Proksimal penil hipospadias Bifid skrotum Nefrolitiazis (Oksalat taşı) Mental retardasyon	Kazanç	13q12.11	19,531,331 - 19,946,984	415,654	5
		Kazanç	17p11.2	22,180,454 - 22,228,960	48,507	1
		Kayıp	17q21.31	46,107,462 - 46,225,515	118,054	2
13	Midpenil hipospadias Chordee, Bifid skrotum Fenilketonüri	Kayıp	9q21.11	66,793,820 - 68,419,287	1,625,468	(-)
		Kazanç	10q26.3	133,403,671 - 133,616,539	212,869	6
		Kazanç	Xq28	155,709,357 - 156,005,042	295,686	3
14	Hipospadias Hemanjiom	Kazanç	1p31.1	78,173,560 - 78,325,056	151,497	1
		Kazanç	10q11.22	46,225,568 - 46,330,334	104,767	3
		Kayıp	21q11.2	13,315,250 - 13,452,182	136,933	1
		Kazanç	Xp22.33	43,118 - 617,647	574,530	(-)
15	Penoskrotal hipospadias, Boy kısalığı, VSD	Kazanç	4q25	111,032,114 - 111,282,065	249,952	(-)
16	Mikropenis, Bilateral inmemiş testis (Sağ testis yüksek skrotal palpabl, sol testis palpe edilemedi.) Sol kulakta işitme kaybı	Kazanç	10p11.21	35,207,802 - 35,271,661	63,86	2
		Kazanç	Xq28	155,709,357 - 155,912,321	202,965	2
17	Testisler bilateral nonpalpabl (Sağ testis agenezik)	Kazanç	10q26.3	133,438,843 - 133,616,539	177,697	4
18	Kuşkulu dış genital yapı Bilateral inmemiş testis (Her iki testis skrotumda palpe edilemedi.) Penoskrotal hipospadias + ağır kordi mevcut. Glas penis çapı 11 mm	Kazanç	17p12	14,197,712 - 15,396,992	1,199,281	10
		Kazanç	19p13.3	2,181,608 - 2,244,073	62,466	5
19	Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRHK) Sendromu ?	(-)				
20	Primer amenore	(-)				
21	Kuşkulu dış genital yapı	Kazanç	5q35.3	179,301,829 - 179,494,860	193,032	1

	Gebelikte progesteron kullanımı, Oligohidramnios, Gebelik Luteoması?	Kayıp	Xq25	126,681,804 - 127,116,560	434,757	1
22	Kuşkulu dış genital yapı Antenatal hidronefroz Vajinal atrezi Polidaktili Mc Kusick Kauffman Sendromu? Konjenital hipotirodi, Talamostriatal vaskülopati	(-)				

CNV* Kopya Sayısı Değişikliği, VUR*Vezikoureteralreflü, VSD* Ventriküler Septal Defekt

Genom düzeneği referans hg38 alınarak hazırlanmıştır.

Mikroarray sonuçlarının yorumlanmasında ChAS (Chromosome Analysis Suite, 4.1) yazılımı kullanılmıştır.



Şekil 17. Sendromik olan ve sendromik olmayan olguların kopya sayısı değişikliklerinin sınıflandırılması

Tablo 14. Sendromik olmayan olguların klinik özellikleri ve kromozom analizleri

Olgu no	Yaş Karyotip / Büyüdüğü Cinsiyet	Başvuru yaşı	Fizik Bakı	Akraba evliliği / Ailede benzer öykü	Eşlik eden anomali	Ön tanı
		Başvuru Yakınması				
3	19 yaş 10 ay 46,XX / Kız	15 yaş Primer amonere	Prader Evre 1	Var/Yok	Yok	Gonadal agenezi
4	12 yaş 7 ay 46,XY / Kız	2 yaş 2 aylık Klitteromegali Tek orifis Fallus 1.2 cm	Quigley Evre 4	Yok/Yok	Yok	Androjen etki kusuru
5	9 yaş 3 ay 46,XY / Erkek	2 yaş Kuşkulu dış genital yapı	Quigley Evre 3	Yok/Yok	Yok	Androjen sentez kusur
17	15 yaş 7 ay 46,XY / Erkek	11 yaş 9 aylık Testisler bilateral nonpalpabl Sağ testis agenezik	Quigley Evre 1	Yok/Yok	Yok	Gonadal agenezi
18	1 yaş 2 ay 46,XY / Erkek	1 aylık Kuşkulu dış genital yapı Bilateral inmemiş testis	Quigley Evre 4	Yok/Yok	Yok	Androjen etki kusuru
19	9 yaş 4 ay 46,XX / Kız	5 yaş 8 aylık Bilateral inguinalde operasyon skarı vajen ya da uterus ile uyumlu görünüm saptanmamış	Prader Evre 1	Yok/Yok	Yok	Mayer- Rokitansky- Küster-Hauser Sendromu?/ Gonadal agenezi

Tablo 15. Sendromik olguların klinik özellikleri ve kromozom analizleri

Olgu no	Yaş Karyotip Büyüdüğü Cinsiyet	Başvuru yaşı Başvuru Yakınması	Fizik Bakı	Akraba Evliliği/ Ailede Benzer Öykü	Eşlik eden anomali	Ön tanı
1	4 Yaş 8 ay 46,XY Erkek	11 aylık Hipospadias Bilateral inmemiş testis	Quigley Evre 3	Var	VSD+KMP,Hipotonisite, İmmun Yetmezlik, Trasaminaz Yüksekliği Hepatomegali,	Androjen sentez kusuru/ Testosteron metabolizması bozuklukları
2	3 yaş 10 ay 46,XY Erkek	12 günlük Hipospadias	Quigley Evre 4	Aynı köy	Çekik göz, ayırık meme başları, simian çizgisi, düşük kulak, derin sakral dimple, epikantus	Androjen etki kusuru
3	4 yaş 46,XY Erkek	4 aylık Kuşkulu dış genital yapı (Penoskrotal Hipospadias, bifid skrotum sağ inmemiş testis)	Quigley Evre 3	Yok	Sağ renal agenezi	Androjen sentez kusuru
4	7 yaş 3 ay 46,XY Kız	10 günlük Kuşkulu dış genital yapı	Quigley Evre 5	Aynı Köyden	Hiperkalemi Diyafagma hernisi Sol böbrekte hidronefroz	Gonadal disgenezi
6	9 yaş 9 ay 46,XY Erkek	3 aylık Unilateral inmemiş testis	Quigley Evre 1	Yok	Sağ multikistik BB, Sol agenezik, Sağ Grade3 VUR	Androjen sentez kusuru/ Parsiyel gonadal disgenezi
7	11 yaş 7 ay 46,XY Erkek	1 yaş Hipospadias Unilateral inmemiş testis	Quigley Evre 3	Yok	Hipotiroidi (Prematürite) Anal atrezi	Androjen sentez kusuru / Parsiyel gonadal disgenezi
8	6 yaş 3 ay 46,XY Erkek	3 aylık Hipospadias Mikropenis	Quigley Evre 2	Var	Hidrocefali V-P Şant Strabismus Hidrosel	Androjen sentez kusuru

9	7 yaş 5 ay 46,XY Erkek	7 günlük Hipospadias	Quigley Evre 3	Yok	Hidronefroz Yaygın gelişimsel gerilik	Androjen etki kusuru
10	11 yaş 3 ay 46,XY Erkek	3 yaş 10 aylık Tek Orifis, Hipospadias (Penoskrotal), Bifid skrotum	Quigley Evre 4	Yok	Pectus Excavatum, Noonan Sendromuna Benzer Stigmatları	Androjen sentez kusuru
12	14 yaş 8 ay 46,XY Erkek	11 aylık Hipospadias	Quigley Evre 3	Yok	Nefrolitiazis (Oksalat taşı), Mental retardasyon	Androjen sentez kusuru
13	2 yaş 2 ay 46,XY Erkek	4 aylık Hipospadias (Midpenil)	Quigley Evre 2	Yok	Fenilketonüri	Androjen etki kusuru
14	4 yaş 2 ay 46,XY Erkek	5 aylık Hipospadias	Quigley Evre 1	Yok	Hemanjiom	Androjen etki kusuru
15	11 yaş 9 ay 46,XY Erkek	2 aylık Hipospadias	Quigley Evre 2		Boy kısalığı, Ventriküler Septal Defekt	Androjen sentez kusuru
16	12 yaş 4 ay 46,XY Erkek	3 aylık Mikropenis, Bilateral inmemiş testis	Quigley Evre 2	Yok	Sol kulakta işitme kaybı	Androjen sentez kusuru
21	4 yaş 6 ay 46,XX Kız	4 günlük Kuşkulu dış genital yapı	Prader Evre 2	Yok	Oligohidramnios, Gebelikte progesteron kullanımı Gebelik luteomasi??	Androjen sentez kusuru
22	1 yaş 9 ay 46,XX Kız	4 aylık Kuşkulu dış genital yapı	Prader Evre 2	Var	Antenatal hidronefroz, Vajinal atrezi, Polidaktili, Mc Kusick Kauffman Sendromu, Konjenital Hipotirodi, Talamostriatal Vaskülopati	Androjen sentez kusuru

Tablo 16. Literatürde ilk kez gösterilen varyantlar

Kromozom	Başlangıç	Bitiş	Boyut (bp)	Tip	Gen ve bölgeler	Franklin Sınıflaması	ACMG skoru
5	93,592,012	95,024,587	1,432,576	Delesyon	7	Patojenik	1
10	53,413,561	56,330,503	2,916,943	Delesyon	4	Patojenik	1
11	21,299,759	26,500,274	5,200,516	Delesyon	12	Patojenik	1
11	103,120,468	103,669,230	548,763	Delesyon	1	Olası patojenik	0,9
12	22,845,052	23,552,823	707,772	Delesyon	2	Patojenik	1
X	41,708,547	41,776,687	68,141	Delesyon	2	Patojenik	1
1	194,309,815	197,218,475	2,908,661	Delesyon	14	Patojenik	1
5	161,234,101	163,224,608	1,990,508	Delesyon	5	Patojenik	1
10	52,991,534	56,924,509	3,932,976	Delesyon	5	Patojenik	1
11	21,664,766	25,839,287	4,174,522	Delesyon	9	Patojenik	1
17	14,197,712	15,396,992	1,199,281	Duplikasyon	10	Patojenik	1
6	63,645,254	71,378,254	7,733,001	Delesyon	20	Patojenik	1
2	241,575,782	242,087,422	511,641	Delesyon	16	Patojenik	1

5. TARTIŞMA

Cinsiyet gelişim bozukluğu; kromozomal, gonadal veya anatomik cinsiyetin anormal olarak gelişimi ile karakterize nadir konjenital bir hastalıktır ve etiyolojik açıdan oldukça heterojendir. Hem etiyolojinin belirlenmesi hem de hasta yönetimi için multidisipliner bir yaklaşım gerekmektedir. Bazı CGB olguları doğumdan hemen sonra kolaylıkla tanınabilse de, bazılarında tanı çocukluk ya da ergenlik dönemine kadar gecikebilmektedir. Yenidoğanın dikkatli klinik değerlendirmesi ile çoğu CGB hastası erken dönemde tanınabilir. Olguların erken ve doğru tanı alması ve sürecin doğru yönetimi ile adli, sosyal ve anatomik bir çok sorunun önüne geçilebilir. Cinsiyet gelişim bozukluğunun tanısallık değerlendirilmesi; klinik muayene ile birlikte uygun zamanda hormon ölçümleri, görüntüleme, sitogenetik ve moleküler çalışmaları içerir. Olguların az bir kısmında endoskopik ve laparoskopik görüntüleme ve/veya gonadal biyopsi gereklidir (154).

Cinsiyet gelişim bozukluğu olan olgularda cinsiyet kromozomlarının belirlenmesi tanı için ilk basamak olmalıdır. Bunun için klasik karyotip yöntemi kullanılabilir ancak zaman alıcıdır. Bu nedenle 24-48 saat gibi çok daha kısa sürede %100'e yakın oranda doğru sonuç veren ve cinsiyet kromozomları ya da *SRY* geninin varlığını gösteren floresan in situ hibridizasyon (FISH), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ya da kantitatif floresan PCR (QFPCR) gibi hızlı sonuçlanabilecek yöntemlerle cinsiyet kromozom analizi yapılmalı, sonrasında bunu tam bir karyotip analizi takip etmelidir. Cinsiyet kromozomlarının belirlenmesi ve *SRY* gen varlığının değerlendirilmesi sonrasında, klinik ve hormonal bulguların eşliğinde oluşturulan ön tanıya yönelik ileri moleküler genetik analiz yapılması gerekmektedir (15).

Cinsiyet gelişim bozukluğunun altında yatan mekanizmanın anlaşılmasında genetik teknolojideki ilerlemeler büyük katkı sağlamaktadır. Gelişen teknolojiye rağmen günümüzde 46,XY CGB'nin önemli bölümünün genetik nedeni saptanamamaktadır ve tanı oranının yaklaşık %35-45 olduğu bildirilmektedir (134,155).

Cinsiyet gelişim bozukluğu ilişkili genlerin büyük çoğunluğu DNA dizi analizi ile saptanabilen mutasyonlar olsa da, literatürde *NR5A1*, *NR0B1*, *DMRT1*, *FGF9*, *SOX3*, *SOX9*, *SRY* ve *WT1* genlerinde büyük delesyon ve duplikasyonlar da

gösterilmiştir (156). Günümüzde büyük delesyon tipi mutasyonlar gerçek zamanlı PCR, FISH, MLPA, microarray gibi farklı yöntemlerle gösterilebilmektedir.

Cinsiyet gelişim bozukluğu vakalarına özgün moleküler tanı konulabilmesi için belirli fenotipik özellikleri temel alarak oluşturulan paneller ve gen sekanslama yöntemleri kullanılmaktadır. Eggers ve ark.'nın (157) 64 tanımlı ve 967 aday genden oluşan panel-gen testi ile 326 vaka içeren çalışmasında tanı oranı %43 olarak bildirilmiştir. Baxter ve ark. (155) 47 46,XY CGB olgusundaki CGB ile ilişkili 64 gen için yapıldığında tanı oranının %35 olduğunu bildirmiştir. Özen ve ark.(134) Türk populasyonunda yapılan ilk CGB ilişkili 56 gen içeren panel çalışmasında 20 46,XY CGB olgusunda tanı oranının %45 olduğunu bildirmişlerdir.

Büyük gen delesyon ve duplikasyonları CGB'de moleküler defekterin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Array CGH ve SNP array, klasik yöntem ile normal karyotip hastalarında tüm genom boyunca submikroskopik genom dengesizliğini ve kopya sayısı varyasyonunu 10 KB kadar küçük tespit edebilen yöntemlerdir. Bu sebeple özellikle klasik karyotip analizi normal sendromik CGB olgularında bilinen başka moleküler sebep yoksa array CGH ve/veya SNP array analizi yapılmalıdır.

Cinsiyet gelişim bozukluğu olgularında moleküler etiolojinin aydınlatılmasında tanısal yaklaşım içerisinde seçili olgularda mikroarray analizi yer bulmalıdır. Ayrıca mikroarray analizi CGB etiolojisinde sorumlu yeni gen bulma çalışmalarında yol gösterici olabilir.

Çalışmamıza dahil edilen cinsiyet gelişim bozukluğu nedeniyle izlenen ve genetik etiyojisi aydınlatılamamış hasta grubunda mikroarray yöntemi ile kopya sayısı değişiklikleri değerlendirildiğinde 22 hastanın 18'inde (%82) kopya sayısı değişikliği saptandı. Bunların 114'ü (%80.3) delesyon, 28'i (%19.8) duplikasyondur. Kopya sayısı değişikliği saptanan 18 olgunun varyantları değerlendirildiğinde 5 olguda 13'ü patojenik; 5 olguda 19'u anlamı belirlenemeyen olarak sınıflandırıldı. Patojenik olarak sınıflandırılan varyantlar arasından sadece 1 tanesinde daha önce veri tabanlarında hipospadias ile ilişkili fenotip kaydedilmişken, diğer varyantlarda herhangi bir genital anomali bildirilmemişti. Daha önce yapılan çalışmalarda Tannour ve ark.'nın (13) çalışmasında 46,XX ve 46,XY CGB olguları CGH-array yöntemi ile incelenmiş ve olguların %21.5 de fenotipten sorumlu aday CNV'ler saptanmıştır .

Ledig ve ark.'nın (158) a-CGH çalışmasında ise 87 46,XY gonadal disgenezili olgu grubunda tanı oranı %30 olarak bildirilmiştir. Array çalışmaları ile *SUPT3H*, *C2ORF80*, *KANK1*, *ADCY2* ve *ZEB2* genlerinin CNV için yeni aday genler olduğu, sendromik bulguların eşlik ettiği CGB olgularında array-CGH veya SNP-array tekniklerinin ilk basamak testi olarak uygulanması ve bu aşamada tanı oranının yaklaşık %30 olduğu bildirilmiştir (158,159).

Amarillo IE,ve ark.'nın (160) çalışmasında 52 CGB olgusu (cinsiyet kromozom anomaliler dahil) değerlendirilmiş. CGB'deki daha küçük (>1 kb) kopya sayısı değişikliklerinin tespiti ve işlevsel açıklaması için özel bir biyoinformatik analiz kullanılmış; 52 vakada, 68 CGB geniyle örtüşen >300 kopya sayısı değişikliği saptanmış.

Délot EC ve ark.'nın (161) çalışmasında moleküler tanısı olmayan 144 CGB olgusu değerlendirilmiş hastaların 43'üne (%30) sendromik veya izole CGB'si olup olmadığına bakılmaksızın kromozomal mikroarray uygulanmış.;2 olguda Y kromozomunun kaybı ve bir olguda Y kazanımı, 1 olguda Klinefelter sendromu, 1 olguda AR gen delesyonu ve 1 olguda WAGR sendromu; Ayrıca 5 hastada klinik önemi bilinmeyen kopya sayısı değişikliği saptanmış.

Literatürde CGB hastalarında tanısal yaklaşımda mikroarray yönteminin kullanıldığı çok sayıda yayın bulunmamaktadır. Çalışmamızda patojenik varyant saptadığımız hastalar olgu bazlı değerlendirildi.

1.Olgu (Olgu no:18): 1 yaş 2 aylık 46,XY CGB olgusu. Bir aylıkken kuşkulu dış genital yapı, bilateral inmemiş testis yakınmasıyla Çocuk Endokrinoloji polikliniğimize başvurdu. Androjen etki kusuru ön tanısıyla izleme alındı. Fizik bakısında eşlik eden dismorfik bulgusu ve doğumsal anomalisi saptanmadı. Quigley Evre 4 olarak değerlendirildi. Olgunun ailesinde akraba evliliği ve ailede benzer öykü yoktu. Mikroarray analizinde 17.kromozomda 1,199,281 bp boyutunda duplikasyon saptandı. Saptanan bölgenin, referans genomda 10 adet gen içerdiği tespit edildi. Kopya sayısı değişikliğinin ACMG kriterlerine göre skoru 1 olarak saptandı. Daha önce Clinvar veri tabanında 53 kez bildirilmiş olup bunların 1'i VUS (önemi bilinmeyen), 52'si patojenik; Decipher veri tabanında ise 38 kez bildirilmiş olup bunların 18'i sınıflandırılmayan, 9'u patojenik, 6'sı olası patojenik, 5'i önemi

bilinmeyen varyant olarak tanımlanmış. Sadece 1 olguda hipospadias bildirilmiş. Bunun dışında en çok bildirilen fenotip mikrosefali ve gelişme geriliğidir.

2.Olgu (Olgu no:5): 9 yaş 3 aylık 46,XY CGB olgusu. 2 yaşında kuşkulu dış genital yapı yakınmasıyla Çocuk Endokrinoloji polikliniğimize başvurdu. Androjen sentez kusuru ön tanısıyla izleme alındı. Fizik bakısında eşlik eden dismorfik bulgu saptanmadı. Prematürite nedeniyle nöromotor gelişim bozukluğu mevcuttu. Quigley evre 3 olarak değerlendirildi. Olgunun ailesinde akraba evliliği ve ailede benzer öykü yoktu. Mikroarray analizinde 6.kromozomda 7,733,001 bp boyutunda delesyon saptandı. Saptanan bölgenin, referans genomda 20 adet gen içerdiği tespit edildi. ACMG kriterlerine göre skoru 1 olarak saptandı. Clinvar ve Decipher veri tabalarında daha önceden varyant tanımlanmamış olduğu belirlendi.

3.Olgu (Olgu no:7): 11 yaş 7 aylık 46,XY CGB olgusu. 1 yaşında hipospadias ve tek taraflı inmemiş testis yakınmasıyla Çocuk Endokrinoloji polikliniğimize başvurdu. Androjen sentez kusuru ve parsiyel gonadal disgenezi ön tanılarıyla izlemde olan olgunun fizik bakısında eşlik eden anal atrezi mevcut idi. Prematürite nedeniyle nöromotor gelişim bozukluğu eşlik etmekteydi. Quigley evre 3 olarak değerlendirildi. Olgunun ailesinde akraba evliliği ve ailede benzer öykü yoktu. Mikroarray analizinde 2.kromozomda 511,641 bp boyutunda delesyon saptandı. Saptanan bölgenin, referans genomda 16 adet gen içerdiği tespit edildi. ACMG skoru 1 olarak saptandı. Clinvar veri tabanında daha önce 1 patojenik, 2 olası patojenik, 4 önemi bilinmeyen varyant; Decipher veri tabalarında 4 sınıflandırılmayan varyant tanımlanmıştı.

4.Olgu (Olgu no:8): 6 yaş 3 aylık 46,XY CGB olgusu. Hipospadias ve mikropenis yakınması mevcuttu. Androjen sentez kusuru ön tanısıyla izleme alındı, fizik bakısında eşlik eden hidrocefali (VP şant), strabismus, hidrosel mevcut olduğu saptandı. Quigley evre 2 olarak değerlendirildi. Olgunun ailesinde 1. derece akraba evliliği öyküsü mevcut. Ailede benzer hastalık öyküsü yok. Mikroarray analizinde; 1.kromozomda 2,908,661 bp boyutunda delesyon saptandı. Saptanan bölgenin, referans genomda 14 adet gen içerdiği tespit edildi. ACMG kriterlerine göre skoru 1 olarak saptandı. Clinvar veri tabanında 1 önemi bilinmeyen varyant, 1 olası patojenik, 1 patojenik varyant; Decipher veri tabanında ise 3 önemi bilinmeyen varyant tanımlandığı bulundu.

Aynı olgunun 5. kromozomunda 1,990,508 bp boyutunda delesyon saptandı. Saptanan bölgenin, referans genomda 5 adet gen içerdiği tespit edildi. ACMG kriterlerine göre skoru 1 olarak saptandı. Clinvar veri tabanında 1 patojenik varyant tanımlanmış ancak Decipher veri tabanında daha önceden varyant tanımlanmamıştı.

Ayrıca 10. kromozomda 3,932,976 bp boyutunda delesyon saptandı. Saptanan bölgenin, referans genomda 5 adet gen içerdiği tespit edildi. ACMG skoru 1 olarak saptandı. Clinvar veri tabanında 1 patojenik, 1 önemi bilinmeyen varyant tanımlanmış; Decipher veri tabanında 1 sınıflandırılmayan, 2 önemi bilinmeyen varyant tanımlanmış idi.

11. kromozomda da 4,174,522 bp boyutunda delesyon saptandı. Saptanan bölgenin, 9 adet gen içerdiği tespit edildi. ACMG skoru 1 olarak saptandı. Clinvar veri tabanında 1 patojenik, 1 olası patojenik varyant tanımlanmış; Decipher veri tabanında 2 sınıflandırılmayan varyant tanımlanmış idi.

5.Olgü (Olgü no:2): 3 yaş 10 aylık 46,XY CGB olgusu. 12 günlükken hipospadias nedeniyle yapılan tetkiklerle androjen etki kusuru ön tanısıyla izleme alındığı öğrenildi. Olgunun fizik bakışında eşlik eden dismorfik bulguları (Çekik göz, ayrık meme başları, simian çizgisi, düşük kulak, derin sakral dimple, epikantus) mevcuttu. Quigley Evre 4 olarak değerlendirildi. Olgunun ailesinde akraba evliliği yok ancak yakın köylerde yaşadıkları öğrenildi. Ailede benzer hastalık öyküsü yok. Mikroarray analizinde; 5.kromozomda 1,432,576 bp boyutunda delesyon saptandı. Saptanan bölgenin, 7 adet gen içerdiği tespit edildi. ACMG skoru 1 olarak saptandı. Clinvar veri tabanında 1 önemi bilinmeyen, 2 patojenik varyant; Decipher veri tabanında ise 1 patojenik, 1 olası patojenik, 3 sınıflandırılmayan varyant tanımlanmış idi.

10.kromozomda 2,916,943 bp boyutunda delesyon saptandı. Saptanan bölgenin, 4 adet gen içerdiği tespit edildi. ACMG skoru 1 olarak saptandı. Clinvar veri tabanında 1 önemi bilinmeyen, 1 patojenik varyant; Decipher veri tabanında 1 sınıflandırılmayan, 1 önemi bilinmeyen varyant tanımlanmıştı.

11.kromozomda 5,200,516 bp boyutunda delesyon saptandı. Saptanan bölgenin, 12 adet gen içerdiği tespit edildi. ACMG skoru 1 olarak saptandı. Clinvar veri tabanında 1 olası patojenik, 1 patojenik varyant; Decipher veri tabanında 2 sınıflandırılmayan varyant tanımlanmıştı.

11.kromozomda 548,763 bp boyutunda delesyon saptandı. Saptanan bölgenin 1 adet gen içerdiği tespit edildi. ACMG skoru 0.9 olarak saptandı. Clinvar ve Decipher veri tabanlarında daha önceden varyant tanımlanmadığı görüldü.

12.kromozomda 707,772 bp boyutunda delesyon saptandı. Saptanan bölgenin 2 adet gen içerdiği tespit edildi. ACMG skoru 1 olarak saptandı. Clinvar veri tabanında 2 patojenik varyant; Decipher veri tabanında ise 1 sınıflandırılmayan varyant tanımlanmıştı.

Aynı olgunun X kromozomunda ise 68,141 bp boyutunda delesyon saptandı. Saptanan bölgenin 2 adet gen içerdiği tespit edildi. ACMG skoru 1 olarak saptandı. Clinvar veri tabanında 1 patojenik varyant tanımlanmış ancak Decipher veri tabanında daha önceden varyant tanımlanmamıştı.

Çalışmamızda mikroarray analizi sonucunda saptanan CNV'lerin, gerçekten patojenitelerinin teyid edilebilmesi için ebeveynlerin de bu açıdan araştırılması, aile segregasyonu yapılması gerekmektedir.

Olguların tüm klinik özelliklerinin ortaya konulması, mikroarray çalışması ile kopya sayısı değişikliklerinin saptanması ve ülkemizde cinsiyet gelişim bozukluğu olgularında tanısal yaklaşımda mikroarray analizi ile CNV araştırmaları yapılan ilk çalışma olması bu çalışmanın üstünlükleridir. Mikroarray çalışması için daha az sayıda olguya ulaşılması ve olguların ebeveynlerinin fizik muayenelerinin ve mikroarray çalışmalarının yapılamaması bu çalışmanın kısıtlılıkları olarak karşımıza çıkmaktadır.

6. SONUÇLAR

- Çalışmamıza Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.B.D, Çocuk Endokrinoloji B.D polikliniğinde CGB nedeni ile izlenen ancak moleküler genetik etiyojisi aydınlatılamamış 22 olgu dahil edildi.
- Karyotip analizi ile değerlendirildiğinde 18 (%81.8) olgu 46,XY CGB;4 (%18.2) olgu 46,XX CGB olarak sınıflandırıldı.
- Beş (%22.7) olguda eşlik eden dismorfik bulgu (mikrognati, polidaktili vb.) mevcuttu. On bir (%50) olguda; doğumsal anomaliler eşlik etmekteydi ve en sık doğumsal anomali (3 olgu, %27) üriner sistem anomalileriydi.
- Mikroarray analizi ile 18 (%81.8) olguda toplam 142 kopya sayısı değişikliği saptandı. Bu değişikliklerden 114'ü (%80.3) delesyon, 28'i (%19.8) duplikasyon olarak değerlendirildi.
- Kazanç ve kayıp bölgelerinin içerdiği çok sayıda gen saptandı.
- Çalışmamızda CGB olgularının %45.5'inde mikroarray analizinde varyant saptandı. Bunların % 22.7'si patojenik; %22.7'si önemi bilinmeyen olarak sınıflandırıldı.
- Cinsiyet gelişim bozuklukları ile ilişkili olabilecek literatürde ilk kez tanımlanan 13 yeni patojenik varyant saptandı.
- Bu çalışma ile ülkemizde CGB olgularında ilk kez mikroarray analizi ile tanısal yaklaşım gerçekleştirilmiş oldu.
- Karmaşık genetik mekanizmalarla ortaya çıkan CGB'lerin önemli kısmında günümüzde halen genetik tanı konulamamaktadır. CGB'de hızlı ve doğru tanı konulması, cinsiyet seçimi ve olgunun yönetimi açısından önemlidir
- Mikroarray analizi CGB etiyojisinde sorumlu aday gen ve DNA bölgeleri bulma çalışmalarında yol gösterici olabilir.
- Dismorfik/sendromik bulguları olan ve/veya hormonal/ diğer genetik testlerde tanı konulamayan CGB olgularında genetik etiyojinin aydınlatılmasında mikroarray analizi kullanılabilir.

KAYNAKÇA

1. Mendonca BB, Domenice S, Arnhold IJP, Costa EMF. 46,XY disorders of sex development (DSD). Clinical Endocrinology [Internet]. 2009 Feb 1 [cited 2022 Mar 30];70(2):173–87. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2265.2008.03392.x>
2. Lee PA, Houk CP, Ahmed SF, Hughes IA, Achermann J, Ahmed F, et al. Consensus statement on management of intersex disorders. International Consensus Conference on Intersex. Pediatrics [Internet]. 2006 Aug [cited 2022 Mar 30];118(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16882788/>
3. Warne GL, Raza J. Disorders of sex development (DSDs), their presentation and management in different cultures. Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders 2008 9:3 [Internet]. 2008 Jul 17 [cited 2022 Mar 30];9(3):227–36. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11154-008-9084-2>
4. Lee PA, Nordenström A, Houk CP, Ahmed SF, Auchus R, Baratz A, et al. Global Disorders of Sex Development Update since 2006: Perceptions, Approach and Care. Hormone research in paediatrics [Internet]. 2016 [cited 2022 Mar 30];85(3):158–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26820577/>
5. Hughes IA, Houk C, Ahmed SF, Lee PA. Consensus statement on management of intersex disorders. Archives of Disease in Childhood [Internet]. 2006 Jul 1 [cited 2022 Mar 30];91(7):554–63. Available from: <https://adc.bmj.com/content/91/7/554>
6. Hiort O, Birnbaum W, Marshall L, Wünsch L, Werner R, Schröder T, et al. Management of disorders of sex development. Nature Reviews Endocrinology 2014 10:9 [Internet]. 2014 Jul 15 [cited 2022 Mar 30];10(9):520–9. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrendo.2014.108>
7. Witchel SF. DISORDERS OF SEX DEVELOPMENT. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2022 Mar 30];48:90. Available from: [/pmc/articles/PMC5866176/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30000000/)

8. Laino L, Majore S, Preziosi N, Grammatico B, de Bernardo C, Scommegna S, et al. Disorders of sex development: a genetic study of patients in a multidisciplinary clinic. *Endocrine Connections* [Internet]. 2014 Sep 23 [cited 2022 Mar 30];3(4):180. Available from: [/pmc/articles/PMC4195882/](#)
9. White S, Ohnesorg T, Notini A, Roeszler K, Hewitt J, Daggag H, et al. Copy Number Variation in Patients with Disorders of Sex Development Due to 46,XY Gonadal Dysgenesis. *PLOS ONE* [Internet]. 2011 [cited 2022 Mar 30];6(3):e17793. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0017793>
10. Croft B, Ohnesorg T, Sinclair AH. The Role of Copy Number Variants in Disorders of Sex Development. *Sexual Development* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2022 Mar 30];12(1–3):19–29. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/481896>
11. Massanyi EZ, Dicarlo HN, Migeon CJ, Gearhart JP. Review and management of 46,XY disorders of sex development. *J Pediatr Urol* [Internet]. 2013 Jun [cited 2022 Mar 30];9(3):368–79. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23276787/>
12. Concolino P, Mello E, Toscano V, Ameglio F, Zuppi C, Capoluongo E. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) assay for the detection of CYP21A2 gene deletions/duplications in Congenital Adrenal Hyperplasia: First technical report. *Clinica Chimica Acta*. 2009 Apr 1;402(1–2):164–70.
13. Tannour-Louet M, Han S, Corbett ST, Louet JF, Yatsenko S, Meyers L, et al. Identification of De Novo Copy Number Variants Associated with Human Disorders of Sexual Development. *PLOS ONE* [Internet]. 2010 [cited 2022 Mar 30];5(10):e15392. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0015392>
14. Disorders of Sexual Differentiation / | Adriana A. Carrillo, Middey Da [Internet]. [cited 2022 Mar 30]. Available from: <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.3109/9781420042726-20/disorders-sexual-differentiation-adriana-carrillo-middey-damian-gary-berkovitz>

15. León NY, Reyes AP, Harley VR. A clinical algorithm to diagnose differences of sex development. *Lancet Diabetes Endocrinol* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2022 Apr 5];7(7):560–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30803928/>
16. Mazen I, Hassan H, Kamel A, Mekkawy M, Mcelreavey K, Essawi M. WT1 Gene Mutation, p.R462W, in a 46,XY DSD Patient from Egypt with Gonadoblastoma and Review of the Literature. *Sexual Development* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2022 Mar 30];11(5–6):280–3. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/485394>
17. Schimmer BP, White PC. Minireview: Steroidogenic Factor 1: Its Roles in Differentiation, Development, and Disease. *Molecular Endocrinology* [Internet]. 2010 Jul [cited 2022 Mar 30];24(7):1322. Available from: </pmc/articles/PMC5417463/>
18. León NY, Reyes AP, Harley VR. A clinical algorithm to diagnose differences of sex development. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2022 Mar 30];7(7):560–74. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S2213858718303395/fulltext>
19. Biason-Lauber A. Human sex development: From basic science to clinical practice and back. *Pediatric Endocrinology Reviews*. 2017 Sep 1;15(1):8–20.
20. Bashamboo A, McElreavey K. Human sex-determination and disorders of sex-development (DSD). *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2015 Sep 1;45:77–83.
21. Biason-Lauber. Control of sex development. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology & Metabolism* [Internet]. 2010 [cited 2022 Mar 30];24(2):163–86. Available from: <http://www.zora.uzh.chYear:2010http://www.zora.uzh.chhttp://www.zora.uzh.ch>
22. Ohnesorg T, Vilain E, Sinclair AH. The genetics of disorders of sex development in humans. *Sex Dev* [Internet]. 2014 Sep 1 [cited 2022 Mar 30];8(5):762–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24504012/>

23. Ohnesorg T, Vilain E, Sinclair AH. The genetics of disorders of sex development in humans. *Sex Dev* [Internet]. 2014 Sep 1 [cited 2022 May 2];8(5):762–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24504012/>
24. Hughes IA, Houk C, Ahmed SF, Lee PA. Consensus statement on management of intersex disorders. *Journal of Pediatric Urology* [Internet]. 2006 Jun 1 [cited 2022 Mar 30];2(3):148–62. Available from: <http://www.jpurology.com/article/S1477513106000581/fulltext>
25. Lee PA, Houk CP, Ahmed SF, Hughes IA, Achermann J, Ahmed F, et al. Consensus Statement on Management of Intersex Disorders. *Pediatrics* [Internet]. 2006 Aug 1 [cited 2022 Mar 30];118(2):e488–500. Available from: </pediatrics/article/118/2/e488/69037/Consensus-Statement-on-Management-of-Intersex>
26. Warne GL, Raza J. Disorders of sex development (DSDs), their presentation and management in different cultures. *Rev Endocr Metab Disord* [Internet]. 2008 Sep [cited 2022 Mar 30];9(3):227–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18633712/>
27. Öcal G, Berberoğlu M, Şıklar Z, Bilir P, Uslu R, Yagmurlu A, et al. Disorders of sexual development: An overview of 18 years experience in the pediatric endocrinology department of ankara university. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism* [Internet]. 2010 Nov 1 [cited 2022 Mar 30];23(11):1123–32. Available from: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jpem.2010.177/html>
28. Erdoan S, Kara C, Uçaktürk A, Aydın M. Etiological Classification and Clinical Assessment of Children and Adolescents with Disorders of Sex Development. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology* [Internet]. 2011 Jun [cited 2022 Mar 30];3(2):77. Available from: </pmc/articles/PMC3119445/>
29. Kohva E, Huopio H, Hero M, Miettinen PJ, Vaaralahti K, Sidoroff V, et al. Recombinant Human FSH Treatment Outcomes in Five Boys With Severe Congenital Hypogonadotropic Hypogonadism. *J Endocr Soc* [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2022 Mar 30];2(12):1345. Available from: </pmc/articles/PMC6270974/>

30. Hiort O, Birnbaum W, Marshall L, Wünsch L, Werner R, Schröder T, et al. Management of disorders of sex development. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(9):520–9.
31. Wisniewski AB, Batista RL, Costa EMF, Finlayson C, Sircili MHP, Dénes FT, et al. Management of 46,XY Differences/Disorders of Sex Development (DSD) Throughout Life. *Endocrine Reviews*. 2019 Dec 1;40(6):1547–72.
32. Massanyi EZ, Dicarlo HN, Migeon CJ, Gearhart JP. Review and management of 46,XY Disorders of Sex Development. *Journal of Pediatric Urology*. 2013;9(3):368–79.
33. Lucas-Herald AK, Bashamboo A. Gonadal development. *Endocrine Development*. 2014;27.
34. Domenice S, Arnhold IJP, Costa EMF, Mendonca BB. 46,XY Disorders of Sexual Development. *Endotext*. 2000. 1. Domenice S, Arnhold IJP, Costa EMF, Mendonca BB.
35. Hiort O, Birnbaum W, Marshall L, Wünsch L, Werner R, Schröder T, et al. Management of disorders of sex development. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(9):520–9.
36. Kyriakou A, Dessens A, Bryce J, Iotova V, Juul A, Krawczynski M, et al. Current models of care for disorders of sex development - results from an International survey of specialist centres. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2016;11(1).
37. Lee PA, Nordenström A, Houk CP, Ahmed SF, Auchus R, Baratz A, et al. Global Disorders of Sex Development Update since 2006: Perceptions, Approach and Care. *Hormone Research in Paediatrics*. 2016;
38. Bashamboo A, McElreavey K. Human sex-determination and disorders of sex-development (DSD). *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2015 Sep 1;45:77–83.
39. Ostrer H. Disorders of sex development (DSDs): An update. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2014;99(5):1503–9.

40. Berberoğlu M, Şıklar Z. The Evaluation of Cases with Y-Chromosome Gonadal Dysgenesis: Clinical Experience over 18 Years. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. 2018 Feb 27;10(1):30–7.
41. Wong YS, Tam YH, Pang KKY, To KF, Chan SSC, Chan KW, et al. Clinical heterogeneity in children with gonadal dysgenesis associated with non-mosaic 46,XY karyotype. *Journal of Pediatric Urology*. 2017 Oct;13(5):508.e1-508.e6.
42. Breehl L, Caban O. Genetics, Gonadal Dysgenesis. *StatPearls*. 2020.
43. Kathrins M, Kolon TF. Malignancy in disorders of sex development. *Translational Andrology and Urology*. 2016;5(5).
44. Bashamboo A, McElreavey K. Human sex-determination and disorders of sex-development (DSD). Vol. 45, *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2015.
45. Ostrer H. Disorders of sex development (DSDs): An update. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2014;99(5):1503–9.
46. Mendonca BB, Domenice S, Arnhold IJP, Costa EMF. 46,XY disorders of sex development (DSD). *Clinical Endocrinology*. 2009 Feb;70(2):173–87.
47. Domenice S, Arnhold IJP, Costa EMF, Mendonca BB. 46,XY Disorders of Sexual Development. *Endotext*. 2000. 1. Domenice S, Arnhold IJP, Costa EMF, Mendonca BB.
48. Lucas-Herald AK, Bashamboo A. Gonadal development. *Endocrine Development*. 2014;27.
49. Schmitt-Ney M, Thiele H, Kaltwasser P, Bardoni B, Cisternino M, Scherer G. Two novel SRY missense mutations reducing DNA binding identified in XY females and their mosaic fathers. *Am J Hum Genet*. 1995 Apr;56(4):862–9.
50. Ökten A. Ovotestiküler Cinsiyet Gelişim Bozukluğu. In: Akıncı A, Saka N, editors. *Cinsiyet Gelişim Bozuklukları* [Internet]. Nobel Tıp Kitabevleri; 2015 [cited 2022 Mar 30]. p. 67–77. Available from: <https://nobeltip.com/product/140>

51. Matsui F, Shimada K, Matsumoto F, Itesako T, Nara K, Ida S, et al. Long-term outcome of ovotesticular disorder of sex development: A single center experience. *International Journal of Urology* [Internet]. 2011 Mar 1 [cited 2022 Mar 30];18(3):231–6. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1442-2042.2010.02700.x>
52. Kim YM, Oh A, Kim KS, Yoo HW, Choi JH. Pubertal outcomes and sex of rearing of patients with ovotesticular disorder of sex development and mixed gonadal dysgenesis. *Ann Pediatr Endocrinol Metab* [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2022 Apr 5];24(4):231–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31905442/>
53. Barseghyan H, Vilain E. The Genetics of Ovotesticular Disorders of Sex Development. *Genetic Steroid Disorders*. 2014 Jan 1;261–3.
54. Houk CP, Lee P a. Update on disorders of sex development. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012;19(1):28–32.
55. Choi J, Smitz J. Luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin: Origins of difference. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2014 Mar;383(1–2):203–13.
56. Mendonca BB, Costa EMF, Belgorosky A, Rivarola MA, Domenice S. 46,XY DSD due to impaired androgen production. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010 Apr;24(2):243–62.
57. Richard N, Leprince C, Gruchy N, Pigny P, Andrieux J, Mittre H, et al. Identification by array-Comparative Genomic Hybridization (array-CGH) of a large deletion of luteinizing hormone receptor gene combined with a missense mutation in a patient diagnosed with a 46,XY disorder of sex development and application to prenatal di. *Endocrine Journal*. 2011;58(9):769–76.
58. Nowaczyk MJ, Wassif CA. Smith-Lemli-Opitz Syndrome. *GeneReviews®*. 1993.
59. Porter FD. Smith-Lemli-Opitz syndrome: pathogenesis, diagnosis and management. *European Journal of Human Genetics*. 2008 May 20;16(5):535–41.

60. Mendonca BB, Costa EMF, Belgorosky A, Rivarola MA, Domenice S. 46,XY DSD due to impaired androgen production. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010 Apr;24(2):243–62.
61. Flück CE, Meyer-Böni M, Pandey A V., Kempná P, Miller WL, Schoenle EJ, et al. Why Boys Will Be Boys: Two Pathways of Fetal Testicular Androgen Biosynthesis Are Needed for Male Sexual Differentiation. *The American Journal of Human Genetics*. 2011 Aug;89(2):201–18.
62. Miller WL, Auchus RJ. The “backdoor pathway” of androgen synthesis in human male sexual development. *PLOS Biology*. 2019 Apr 3;17(4):e3000198.
63. Mendonca BB, Batista RL, Domenice S, Costa EMF, Arnhold IJP, Russell DW, et al. Steroid 5 α -reductase 2 deficiency. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2016 Oct;163:206–11.
64. Bashamboo A, McElreavey K. Human sex-determination and disorders of sex-development (DSD). Vol. 45, *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2015.
65. Wilson JD, Griffin JE, Russell DW. Steroid 5 alpha-reductase 2 deficiency. *Endocr Rev*. 1993 Oct;14(5):577–93.
66. Cheon CK. Practical approach to steroid 5alpha-reductase type 2 deficiency. *European Journal of Pediatrics*. 2011 Jan 28;170(1):1–8.
67. Wilson JD, Griffin JE, Russell DW. Steroid 5 alpha-reductase 2 deficiency. *Endocr Rev*. 1993 Oct;14(5):577–93.
68. Abacı A, Çatlı G, Kırbıyık Ö, Şahin NM, Abalı ZY, Ünal E, et al. Genotype–phenotype correlation, gonadal malignancy risk, gender preference, and testosterone/dihydrotestosterone ratio in steroid 5-alpha-reductase type 2 deficiency: a multicenter study from Turkey. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2019 Apr 21;42(4):453–70.
69. Chávez B, Valdez E, Vilchis F. Uniparental Disomy in Steroid 5 α -Reductase 2 Deficiency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2000 Sep;85(9):3147–50.
70. Abacı A, Çatlı G, Kırbıyık Ö, Şahin NM, Abalı ZY, Ünal E, et al. Genotype–phenotype correlation, gonadal malignancy risk, gender preference, and

- testosterone/dihydrotestosterone ratio in steroid 5-alpha-reductase type 2 deficiency: a multicenter study from Turkey. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2019 Apr 21;42(4):453–70.
71. Arboleda VA, Sandberg DE, Vilain E. DSDs: genetics, underlying pathologies and psychosexual differentiation. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(10):603–15.
 72. Baratz AB, Sharp MK, Sandberg DE. Disorders of sex development peer support. Vol. 27, *Endocrine development*. 2014.
 73. Radpour R, Falah M, Aslani A, Zhong XY, Saleki A. Identification of a Critical Novel Mutation in the Exon 1 of Androgen Receptor Gene in 2 Brothers With Complete Androgen Insensitivity Syndrome. *Journal of Andrology*. 2009 May;30(3):230–2.
 74. Pomahacova R, Zamboryova J, Paterova P, Krepelova A, Subrt I, Jaklova R, et al. Late diagnosis of complete androgen insensitivity syndrome and transmission/carriers of the disease in a family with mutation c.2495G>T p.(Arg832Leu) in exon 7 of the androgen receptor gene: genetic, clinical and ethical aspects. *Biomedical Papers*. 2018 Nov;
 75. Hughes IA, Davies JD, Bunch TI, Pasterski V, Mastroyannopoulou K, MacDougall J. Androgen insensitivity syndrome. *The Lancet*. 2012 Oct;380(9851):1419–28.
 76. Quigley CA, Bellis A De, Marschke KB, El-Awady MK, Wilon EM, French FS. Androgen Receptor Defects: Historical, Clinical, and Molecular Perspectives*. *Endocrine Reviews*. 1995 Jun;16(3):271–321.
 77. Berglund A, Johannsen TH, Stochholm K, Viuff MH, Fedder J, Main KM, et al. Incidence, Prevalence, Diagnostic Delay, and Clinical Presentation of Female 46,XY Disorders of Sex Development. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2016 Dec;101(12):4532–40.
 78. Hannema SE, Scott IS, Hodapp J, Martin H, Coleman N, Schwabe JW, et al. Residual Activity of Mutant Androgen Receptors Explains Wolffian Duct Development in the Complete Androgen Insensitivity Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2004 Nov;89(11):5815–22.

79. Achermann JC, Domenice S, Bachega TASS, Nishi MY, Mendonca BB. Disorders of sex development: effect of molecular diagnostics. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11(8):478–88.
80. Gottlieb B, Beitel LK, Nadarajah A, Paliouras M, Trifiro M. The androgen receptor gene mutations database: 2012 update. *Human Mutation*. 2012 May;33(5):887–94.
81. Batista RL, Yamaguchi K, di Santi Rodrigues A, Nishi MY, Goodier JL, Carvalho LR, et al. Mobile DNA in Endocrinology: LINE-1 retrotransposon causing Partial Androgen Insensitivity Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2019 Aug;
82. Hughes IA, Davies JD, Bunch TI, Pasterski V, Mastroyannopoulou K, MacDougall J. Androgen insensitivity syndrome. *The Lancet*. 2012 Oct;380(9851):1419–28.
83. Deeb A, Hughes IA. Inguinal hernia in female infants: a cue to check the sex chromosomes? *BJU International*. 2005 Aug;96(3):401–3.
84. Mongan NP, Tadokoro-Cuccaro R, Bunch T, Hughes IA. Androgen insensitivity syndrome. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015 Aug;29(4):569–80.
85. Kosti K, Athanasiadis L, Goulis DG. Long-term consequences of androgen insensitivity syndrome. *Maturitas*. 2019 Sep;127:51–4.
86. Lucas-Herald AK, Kyriakou A, Alimussina M, Guaragna-Filho G, Diver LA, McGowan R, et al. Serum Anti-Müllerian Hormone in the Prediction of Response to hCG Stimulation in Children With DSD. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2020 May;105(5).
87. Mieszczyk J, Houk CP, Lee PA. Assignment of the sex of rearing in the neonate with a disorder of sex development. *Current Opinion in Pediatrics*. 2009 Aug;21(4):541–7.
88. Kreukels BPC, Köhler B, Nordenström A, Roehle R, Thyen U, Bouvattier C, et al. Gender Dysphoria and Gender Change in Disorders of Sex Development/Intersex Conditions: Results From the dsd-LIFE Study. *J Sex Med*. 2018;15(5):777–85.

89. Batista RL, Costa EMF, Rodrigues A de S, Gomes NL, Faria JA, Nishi MY, et al. Androgen insensitivity syndrome: A review. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. 2018;62(2):227–35.
90. Patel V, Casey RK, Gomez-Lobo V. Timing of Gonadectomy in Patients with Complete Androgen Insensitivity Syndrome—Current Recommendations and Future Directions. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*. 2016 Aug;29(4):320–5.
91. Kaprova-Pleskacova J, Stoop H, Brüggewirth H, Cools M, Wolffenbuttel KP, Drop SL, et al. Complete androgen insensitivity syndrome: factors influencing gonadal histology including germ cell pathology. *Modern Pathology*. 2014 May;27(5):721–30.
92. Kaprova-Pleskacova J, Stoop H, Brüggewirth H, Cools M, Wolffenbuttel KP, Drop SL, et al. Complete androgen insensitivity syndrome: factors influencing gonadal histology including germ cell pathology. *Modern Pathology*. 2014 May;27(5):721–30.
93. Cools M, Drop SLS, Wolffenbuttel KP, Oosterhuis JW, Looijenga LHJ. Germ Cell Tumors in the Intersex Gonad: Old Paths, New Directions, Moving Frontiers. *Endocrine Reviews*. 2006 Aug;27(5):468–84.
94. Cools M, Looijenga L. Update on the Pathophysiology and Risk Factors for the Development of Malignant Testicular Germ Cell Tumors in Complete Androgen Insensitivity Syndrome. *Sexual Development*. 2017;11(4):175–81.
95. Weidemann W, Peters B, Romalo G, Spindler KD, Schweikert HU. Response to Androgen Treatment in a Patient with Partial Androgen Insensitivity and a Mutation in the Deoxyribonucleic Acid-Binding Domain of the Androgen Receptor 1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1998 Apr;83(4):1173–6.
96. Shalaby MM, Kurkar A, Zarzour MA, Faddan AA, Khalil M, Abdelhafez MF. The management of the persistent Müllerian duct syndrome. *Arab Journal of Urology*. 2014 Sep 5;12(3):239–44.

97. Aw L Da, Zain MM, Esteves SC, Humaidan P. Persistent Mullerian Duct Syndrome: a rare entity with a rare presentation in need of multidisciplinary management. *International braz j urol*. 2016 Dec;42(6):1237–43.
98. di Clemente N, Josso N, Gouédard L, Belville C. Components of the anti-Müllerian hormone signaling pathway in gonads. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2003 Dec;211(1–2):9–14.
99. Rey RA, Grinspon RP. Normal male sexual differentiation and aetiology of disorders of sex development. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011 Apr;25(2):221–38.
100. Lasala C, Schteingart HF, Arouche N, Bedecarrás P, Grinspon RP, Picard JY, et al. SOX9 and SF1 are involved in cyclic AMP-mediated upregulation of anti-Mullerian gene expression in the testicular prepubertal Sertoli cell line SMAT1. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2011 Sep;301(3):E539-47.
101. Aksglaede L, Sørensen K, Boas M, Mouritsen A, Hagen CP, Jensen RB, et al. Changes in Anti-Müllerian Hormone (AMH) throughout the Life Span: A Population-Based Study of 1027 Healthy Males from Birth (Cord Blood) to the Age of 69 Years. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010 Dec;95(12):5357–64.
102. Picard JY, Cate RL, Racine C, Josso N. The Persistent Müllerian Duct Syndrome: An Update Based Upon a Personal Experience of 157 Cases. *Sexual Development*. 2017;11(3):109–25.
103. Korkmaz Ö, Özen S, Özcan N, Bayındır P, Şen S, Onay H, et al. Persistent Müllerian Duct Syndrome with Transverse Testicular Ectopia: A Novel Anti-Müllerian Hormone Receptor Mutation. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. 2017 Jun;9(2):179–81.
104. Picard JY, Cate RL, Racine C, Josso N. The Persistent Müllerian Duct Syndrome: An Update Based Upon a Personal Experience of 157 Cases. *Sexual Development*. 2017;11(3):109–25.
105. Lindhardt Johansen M, Hagen CP, Johannsen TH, Main KM, Picard JY, Jørgensen A, et al. Anti-Müllerian Hormone and Its Clinical Use in Pediatrics

- with Special Emphasis on Disorders of Sex Development. *International Journal of Endocrinology*. 2013;2013:1–10.
106. Dixon J, Wallace AM, O'Toole S, Ahmed SF. Prolonged human chorionic gonadotrophin stimulation as a tool for investigating and managing undescended testes. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007 Dec;67(6):816–21.
 107. Alharbi KN, Khushaim AO, Alrasheed M, Akhtar M, Neimatallah M. Radiological Findings in Persistent Müllerian Duct Syndrome: Case Report and Review of Literature. *Journal of Radiology Case Reports*. 2017 Mar;11(3).
 108. Farikullah J, Ehtisham S, Nappo S, Patel L, Hennayake S. Persistent Müllerian duct syndrome: lessons learned from managing a series of eight patients over a 10-year period and review of literature regarding malignant risk from the Müllerian remnants. *BJU International*. 2012 Dec;110(11c):E1084–9.
 109. Shinmura Y, Yokoi T, Tsutsui Y. A Case of Clear Cell Adenocarcinoma of the Müllerian Duct in Persistent Müllerian Duct Syndrome. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2002 Sep;26(9):1231–4.
 110. Hutson JM, Grover SR, O'Connell M, Pennell SD. Malformation syndromes associated with disorders of sex development. *Nature Reviews Endocrinology*. 2014 Aug 10;10(8):476–87.
 111. Alves C, Braid Z, Coeli FB, de Mello MP. 46,XX male - testicular disorder of sexual differentiation (DSD): hormonal, molecular and cytogenetic studies. *Arq Bras Endocrinol Metabol* [Internet]. 2010 Nov [cited 2022 Mar 30];54(8):685–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21340153/>
 112. Vorona E, Zitzmann M, Gromoll J, Schüring AN, Nieschlag E. Clinical, endocrinological, and epigenetic features of the 46,XX male syndrome, compared with 47,XXY Klinefelter patients. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2007 [cited 2022 Mar 30];92(9):3458–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17579198/>
 113. McElreavey K, Vilain E, Abbas N, Herskowitz I, Fellous M. A regulatory cascade hypothesis for mammalian sex determination: SRY represses a negative regulator of male development. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet].

- 1993 [cited 2022 Apr 5];90(8):3368–72. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8475082/>
114. Délot EC, Vilain EJ. Nonsyndromic 46,XX Testicular Disorders of Sex Development. GeneReviews® [Internet]. 2015 May; Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1416/>
 115. Cox JJ, Willatt L, Homfray T, Woods CG. A SOX9 Duplication and Familial 46,XX Developmental Testicular Disorder . New England Journal of Medicine [Internet]. 2011 Jan 6 [cited 2022 Mar 30];364(1):91–3. Available from:
<https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc1010311>
 116. Hughes IA. Disorders of sex development: a new definition and classification. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism. 2008 Feb 1;22(1):119–34.
 117. Nimkarn S, Gangishetti PK, Yau M, New MI. 21-Hydroxylase-Deficient Congenital Adrenal Hyperplasia. Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mefford HC, et al., editors. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al, editors GeneReviews® [Internet] Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017 Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1171/> [Internet]. 1993 [cited 2022 Mar 30]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20301350/>
 118. Lee PA, Nordenström A, Houk CP, Ahmed SF, Auchus R, Baratz A, et al. Global Disorders of Sex Development Update since 2006: Perceptions, Approach and Care. Hormone research in paediatrics [Internet]. 2016 [cited 2022 Mar 30];85(3):158–80. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26820577/>
 119. Feldman KW, Smith DW. Fetal phallic growth and penile standards for newborn male infants. J Pediatr [Internet]. 1975 [cited 2022 Apr 3];86(3):395–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1113226/>
 120. PRADER A. [Genital findings in the female pseudo-hermaphroditism of the congenital adrenogenital syndrome; morphology, frequency, development and heredity of the different genital forms]. Helv Paediatr Acta [Internet]. 1954 [cited 2022 Apr 3];9(3):231–48. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13201003/>

121. Quigley CA, Bellis A de, Marschke KB, El-Awady MK, Wilson EM, French FS. Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives. *Endocr Rev* [Internet]. 1995 [cited 2022 Apr 3];16(3):271–321. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7671849/>
122. van der Straaten S, Springer A, Zecic A, Hebenstreit D, Tonnhofer U, Gawlik A, et al. The External Genitalia Score (EGS): A European Multicenter Validation Study. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2020 Jan 8 [cited 2022 May 9];105(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31665438/>
123. Bergadá I, Milani C, Bedecarrás P, Andreone L, Ropelato MG, Gottlieb S, et al. Time Course of the Serum Gonadotropin Surge, Inhibins, and Anti-Müllerian Hormone in Normal Newborn Males during the First Month of Life. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [Internet]. 2006 Oct 1 [cited 2022 Mar 30];91(10):4092–8. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article/91/10/4092/2656624>
124. Josso N, Rey R, Picard JY. Testicular anti-müllerian hormone: Clinical applications in DSD. *Seminars in Reproductive Medicine* [Internet]. 2012 Oct 8 [cited 2022 Mar 30];30(5):364–73. Available from: <http://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0032-1324719>
125. Bouvattier C, Carel JC, Lecoindre C, David A, Sultan C, Bertrand AM, et al. Postnatal Changes of T, LH, and FSH in 46,XY Infants with Mutations in the AR Gene. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [Internet]. 2002 Jan 1 [cited 2022 Mar 30];87(1):29–32. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article/87/1/29/2846510>
126. Nussbaum R, McInnes R, Willard H. Thom & Thom Genetics in medicine. *Journal of Kathmandu Medical College*. 2016;512.
127. O'Connor C. Karyotyping for Chromosomal Abnormalities. *Nature Education*; 2008.
128. Délot EC, Vilain E. Towards improved genetic diagnosis of human differences of sex development. *Nature Reviews Genetics* 2021 22:9 [Internet]. 2021 Jun 3 [cited 2022 Mar 30];22(9):588–602. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41576-021-00365-5>

129. SHERLOCK J, CIRIGLIANO V, PETROU M, TUTSCHEK B, ADINOLFI M. Assessment of diagnostic quantitative fluorescent multiplex polymerase chain reaction assays performed on single cells. *Ann Hum Genet* [Internet]. 1998 Jan [cited 2022 Mar 30];62(Pt 1):9–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9659974/>
130. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1977 [cited 2022 Mar 30];74(12):5463. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/270306/>
131. Beck TF, Mullikin JC, Biesecker LG. Systematic Evaluation of Sanger Validation of NextGen Sequencing Variants. *Clin Chem* [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2022 Mar 30];62(4):647. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2681111/>
132. Buermans HPJ, den Dunnen JT. Next generation sequencing technology: Advances and applications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2014 Oct 1;1842(10):1932–41.
133. Liu YT, Lee YC, Soong BW. What we have learned from the next-generation sequencing: Contributions to the genetic diagnoses and understanding of pathomechanisms of neurodegenerative diseases. *Journal of Clinical Medicine* [Internet]. 2015 Jul 3 [cited 2022 Mar 30];29(2–3):103–12. Available from: <https://doi.org/10.3390/jcm2015070103>
134. Özen S, Onay H, Atik T, Solmaz AE, Özklnay F, Gökşen D, et al. Rapid Molecular Genetic Diagnosis with Next-Generation Sequencing in 46,XY Disorders of Sex Development Cases: Efficiency and Cost Assessment. *Hormone research in paediatrics* [Internet]. 2017 Mar 1 [cited 2022 Apr 19];87(2):81–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27898418/>
135. Yang Y, Muzny DM, Xia F, Niu Z, Person R, Ding Y, et al. Molecular Findings Among Patients Referred for Clinical Whole-Exome Sequencing. *JAMA* [Internet]. 2014 Nov 12 [cited 2022 Mar 30];312(18):1870. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25211561/>
136. Harding KE, Robertson NP. Applications of next-generation whole exome sequencing. *Journal of Neurology* 2014 261:6 [Internet]. 2014 May 18 [cited 2022 Mar 30];261(5):1000–1008. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24811111/>

- 2022 Mar 30];261(6):1244–6. Available from:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00415-014-7372-1>
137. Rosenfeld JA, Mason CE, Smith TM. Limitations of the Human Reference Genome for Personalized Genomics. PLOS ONE [Internet]. 2012 Jul 11 [cited 2022 Mar 30];7(7):e40294. Available from:
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0040294>
 138. Sawyer SL, Hartley T, Dymont DA, Beaulieu CL, Schwartzentruber J, Smith A, et al. Utility of whole-exome sequencing for those near the end of the diagnostic odyssey: time to address gaps in care. Clinical Genetics [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2022 Mar 30];89(3):275. Available from:
</pmc/articles/PMC5053223/>
 139. Srivastava S, Cohen JS, Vernon H, Barañano K, McClellan R, Jamal L, et al. Clinical whole exome sequencing in child neurology practice. Annals of Neurology [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2022 Mar 30];76(4):473–83. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ana.24251>
 140. Levenson D. Whole-exome sequencing emerges as clinical diagnostic tool. American Journal of Medical Genetics Part A [Internet]. 2014 Jan 1 [cited 2022 Mar 30];164(1):ix–x. Available from:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajmg.a.36385>
 141. Tetreault M, Bareke E, Nadaf J, Alirezaie N, Majewski J. Whole-exome sequencing as a diagnostic tool: current challenges and future opportunities. <https://doi.org/10.1586/1473715920151039516> [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2022 Mar 30];15(6):749–60. Available from:
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1586/14737159.2015.1039516>
 142. Lennon NJ, Adalsteinsson VA, Gabriel SB. Technological considerations for genome-guided diagnosis and management of cancer. Genome Medicine [Internet]. 2016 Oct 26 [cited 2022 Mar 30];8(1). Available from:
</pmc/articles/PMC5080740/>
 143. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwiijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. Nucleic Acids Research [Internet]. 2002 Jun

- 15 [cited 2022 Mar 30];30(12):e57. Available from: [/pmc/articles/PMC117299/](#)
144. Fantes JA, Boland E, Ramsay J, Donnai D, Splitt M, Goodship JA, et al. FISH Mapping of De Novo Apparently Balanced Chromosome Rearrangements Identifies Characteristics Associated with Phenotypic Abnormality. *American Journal of Human Genetics* [Internet]. 2008 Apr 11 [cited 2022 Mar 30];82(4):916. Available from: [/pmc/articles/PMC2491339/](#)
 145. Levy B, Burnside RD. Are all chromosome microarrays the same? What clinicians need to know. *Prenatal Diagnosis* [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2022 Mar 30];39(3):157–64. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/pd.5422>
 146. Keren B. The advantages of SNP arrays over CGH arrays. *Molecular Cytogenetics* 2014 7:1 [Internet]. 2014 Jan 21 [cited 2022 Mar 30];7(1):1–1. Available from: <https://molecularcytogenetics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1755-8166-7-S1-I31>
 147. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus Statement: Chromosomal Microarray Is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies. *American Journal of Human Genetics* [Internet]. 2010 May 14 [cited 2022 Mar 30];86(5):749. Available from: [/pmc/articles/PMC2869000/](#)
 148. Lupski JR. Structural Variation Mutagenesis of the Human Genome: Impact on Disease and Evolution. *Environ Mol Mutagen* [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2022 Mar 30];56(5):419. Available from: [/pmc/articles/PMC4609214/](#)
 149. Gross AM, Ajay SS, Rajan V, Brown C, Bluske K, Burns NJ, et al. Copy-number variants in clinical genome sequencing: deployment and interpretation for rare and undiagnosed disease. *Genet Med* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2022 Apr 3];21(5):1121–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30293986/>
 150. Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nature Reviews Genetics* 2006 7:2 [Internet]. 2006 Feb [cited 2022 Mar 30];7(2):85–97. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrg1767>

151. Macé A, Kutalik Z, Valsesia A. Copy Number Variation. *Methods in Molecular Biology* [Internet]. 2018 [cited 2022 Mar 30];1793:231–58. Available from: https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-4939-7868-7_14
152. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature* [Internet]. 2006 Nov 23 [cited 2022 Mar 30];444(7118):444. Available from: [/pmc/articles/PMC2669898/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16061518/)
153. Lupski JR. Genomic rearrangements and sporadic disease. *Nature Genetics* 2007 39:7 [Internet]. 2007 Jun 27 [cited 2022 Mar 30];39(7):S43–7. Available from: <https://www.nature.com/articles/ng2084>
154. Tafazzoli K, Wunsch L, Bouteleux M, Lindert J, Schulz T, Birnbaum W, et al. Endoscopy and Laparoscopy in Disorders of Sex Development. *Sex Dev* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2022 May 3];12(1–3):100–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29414828/>
155. Baxter RM, Arboleda VA, Lee H, Barseghyan H, Adam MP, Fechner PY, et al. Exome sequencing for the diagnosis of 46,XY disorders of sex development. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2015 Feb 1 [cited 2022 Apr 19];100(2):E333–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25383892/>
156. Croft B, Ayers K, Sinclair A, Ohnesorg T. Review disorders of sex development: The evolving role of genomics in diagnosis and gene discovery. *Birth Defects Res C Embryo Today* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2022 Apr 19];108(4):337–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28033663/>
157. Eggers S, Sadedin S, van den Bergen JA, Robevska G, Ohnesorg T, Hewitt J, et al. Disorders of sex development: insights from targeted gene sequencing of a large international patient cohort. *Genome Biol* [Internet]. 2016 Nov 29 [cited 2022 Apr 19];17(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27899157/>
158. Ledig S, Hiort O, Scherer G, Hoffmann M, Wolff G, Morlot S, et al. Array-CGH analysis in patients with syndromic and non-syndromic XY gonadal

- dysgenesis: evaluation of array CGH as diagnostic tool and search for new candidate loci. *Hum Reprod* [Internet]. 2010 [cited 2022 Apr 4];25(10):2637–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20685758/>
159. Norling A, Lindén Hirschberg A, Iwarsson E, Persson B, Wedell A, Barbaro M. Novel candidate genes for 46,XY gonadal dysgenesis identified by a customized 1 M array-CGH platform. *Eur J Med Genet* [Internet]. 2013 Dec [cited 2022 Apr 4];56(12):661–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24055526/>
160. Amarillo IE, Nievera I, Hagan A, Huchthagowder V, Heeley J, Hollander A, et al. Integrated small copy number variations and epigenome maps of disorders of sex development. *Human Genome Variation* [Internet]. 2016;3. Available from: <https://decipher.sanger.ac.uk/>
161. Délot EC, Papp JC, Délot EC, Fox M, Grody W, Lee H, et al. Genetics of Disorders of Sex Development: The DSD-TRN Experience. *Endocrinol Metab Clin North Am* [Internet]. 2017;46(2):519. Available from: [/pmc/articles/PMC5714504/](https://pmc/articles/PMC5714504/)

EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onay Belgesi

Univ. Evrak Tarih ve Sayısı: 15/09/2020-E.234297



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : 99166796-050.06.04 633
Konu : Onay Kararı 20-9T/74

Doç. Dr. Samim ÖZEN
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
(Çocuk Endokrinolojisi Bilim Dalı)

Kurulumuza başvurusunu yaptığınız "Moleküler Etiyolojisi Aydınlatılmamış Cinsiyet Gelişim Bozukluğu Hastalarında Mikroarray Çalışması İle Kopya Sayısı Değişiklikleri Saptanması Ve Klinik Varyasyonlar İle İlişkilendirilmesi " konulu araştırmanıza ilişkin Kurulumuz Onay kararı ekte sunulmaktadır.

Başvuru dosyasının araştırmanın yürütüleceği kuruma iletilerek kurum iznini gösterir belgenin (daha önce sunulmamış ise) alınmasından sonra çalışmaya başlanması ve süreç içinde bu belgenin Kurulumuza iletilmesi gerekmektedir.

Başvuru dosyası kapsamında, araştırma giderlerinin Bilimsel Araştırma Proje Fonu (BAP) tarafından karşılanacağına ilişkin sunulmuş bulunan belge doğrultusunda, araştırmanızın desteklendiğine dair belgenin alınmasından sonra çalışmaya başlanması ve süreç içinde bu belgenin Kurulumuza iletilmesi gerekmektedir

Varsa Biyolojik Materyal Transfer Formu'nun imzaları tamamlanarak Kurulumuza iletilmesi gerekmektedir. 10.04.2016 tarih ve 29680 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Tıbbi Laboratuvarlar Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmeliğin 34. maddesinde "yurtdışına tetkik amaçlı numune gönderme yetkisi sadece ruhsatlı tıbbi laboratuvarlara aittir" ifadesi yer almakta olup bu madde Klinik Araştırmalar için de yürürlüğe girmiştir. Gönderilen insan kaynaklı biyolojik materyal klinik araştırma için gönderilse bile ruhsatlı bir tıbbi laboratuvar aracılığı ile <http://numunetransfer.saglik.gov.tr> adresindeki numune transfer yazılımı kullanılarak gönderilmesi konusuna dikkat edilmelidir.

Yazımızın bir örneğinin diğer araştırma merkezlerine ve destekleyiciye iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Güzide AKSU
Kurul Başkanı

Ek: İlgili Etik Kurul Kararı (1 Adet aslı gibidir örneği elden gönderilecektir)

ASLI GIBİDİR

Ege Üniversitesi Rektörlüğü Gençlik Cad. No:12 35040 Bornova/İzmir
Telefon No:
E-Posta: İnternet Adresi: www.ege.edu.tr

Bilgi İçin: Halide TATAR
Unvan: Şef

İlge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununa göre Güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

Microsoft Teams Programı ile Teletoplantı gerçekleştirilmiştir.

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Moleküler Etiyolojisi Aydınlatılmamış Cinsiyet Gelişim Bozukluğu Hastalarında Mikroarray Çalışması İle Kopya Sayısı Değişiklikleri Saptanması Ve Klinik Varyasyonlar İle İlişkilendirilmesi
	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Samim ÖZEN
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Prof. Dr. Şükran DARCAN Prof.Dr. Ruhsar Damla Gökşen Şimşek Doç.Dr Tahir ATİK Uzman Dr. Ferda EVİN Uzman Dr. Aysun ATA Uzman Dr. Eren ER Ass.Dr. Murat Çağlar KARATAŞ
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Endokrinolojisi Bilim Dalı
	DESTEKLEYİCİ	Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	-
	BİLGİLENDİRME FORMU	-
	VERİ İZLEME FORMU/ ANKET	☐
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒
KARAR BİLGİLERİ	DİĞER	☐
	Karar Nu: 20-9T/74	Tarih: 03.09.2020
Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğu toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.		
EGE ÜNİVERSİTESİ TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
ÇALIŞMA ESASI	Ege Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurul Yönergesi, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu	
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Güzide AKSU	

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Kabılın (**)	İmza
Prof. Dr. Güzide AKSU Başkan	Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	ONLINE KATILDI
Doç. Dr. Tolga AKŞİT (Başkan Yardımcısı)	Antrenörlük Eğitimi - Hareket ve Antrenman Bilimleri	Ege Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi Hareket ve Antrenman Bilimleri AD	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	ONLINE KATILDI
Prof. Dr. Ceyda KABAROĞLU Üye	Klinik Biyokimya	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D. Klinik Biyokimya B.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	ONLINE KATILDI
Prof. Dr. Zeliha KERRY Üye	Farmakoloji	Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji AD	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU Üye	Halk Sağlığı AD	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	ONLINE KATILDI

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:
Prof. Dr. Güzide AKSU

Araştırma Başvurusu Onay Belgesi

Sayfa

1/2

ASLI GİBİDİR



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Moleküler Etiyolojiyi Aydınlatmamış Cinsiyet Gelişim Bozukluğu Hastalarında Mikroarray Çalışması İle Kopya Sayısı Değişiklikleri Saptanması Ve Klinik Varyasyonlar İle İlişkilendirilmesi
-----------------------	---

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu: 20-9T/74				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Eyüp Sabri ERCAN Üye	Çocuk Ruh Sağlığı	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	ONLINE KATILDI
Prof. Dr. Çağdaş EKER Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	ONLINE KATILDI
Prof. Dr. H. Oya TÜRKOĞLU Üye	Periodontoloji	Ege Üniversitesi Diş Hek. Fakültesi Periodontoloji A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	ONLINE KATILDI
Prof. Dr. Meltem SEZİŞ DEMİRCİ Üye	İç Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	ONLINE KATILDI
Prof. Dr. Şafak DAĞHAN Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	Ege Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	ONLINE KATILDI
Doç. Dr. Ahmet ÖZGÜRYENİEL Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	ONLINE KATILDI
Doç. Dr. Tahir ATİK Üye	Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları A.D. Çocuk	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	ONLINE KATILDI
Dr. Öğr. Üyesi Aysun EKŞİOĞLU Üye	Ebelik AD.	Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Anabilim Dalı	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	ONLINE KATILDI

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

ASLI GİBİDİR

Etik Kurul Başkanı'nın
Unvanı/Adı/Soyadı:
Prof. Dr. Güzide AKSU

Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	22	28.09.2011/05	2/2

Ek 2: Olgu Rapor Formu

“ Moleküler etiyojisi aydınlatılamamış Cinsiyet Gelişim Bozukluğu Hastalarında Mikroarray çalışması ile kopya sayısı değışiklikleri saptanması ve klinik varyasyonlar ile ilişkilendirilmesi “

OLGU RAPOR FORMU

Olgu no:

Doğum Tarihi:

Başvuru tarihi:

Başvuru yakınması:

Akraba evliliğı:

Ailede benzer öykü:

Quigley/Prader evresi:

Düzeltilme operasyonu:

Kromozom analizi sonucu:

Mikroarray sonucu:

Ek 3: Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

EBEVEYNLER İÇİN

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

BU ÇALIŞMANIN ADI NE?

Moleküler etiyolojisi aydınlatılamamış Cinsiyet Gelişim Bozukluğu Hastalarında Mikroarray çalışması ile kopya sayısı değişiklikleri saptanması ve klinik varyasyonlar ile ilişkilendirilmesi

BU ÇALIŞMANIN AMACI NE?

Cinsiyet gelişim bozukluğu hastalarında moleküler etiyolojinin aydınlatılmasında Mikroarray (SNP array) yöntemi kullanılarak kopya sayısı değişikliklerinin saptanması ve saptanan bu değişikliklerinin klinik varyasyonlar ile ilişkilendirilmesi amaçlanmaktadır.

SİZE NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAK?

Hastalardan 2 cc periferik kan örneği alınacaktır.

FARKLI TEDAVİLER İÇİN ARAŞTIRMA GRUPLARINA RASTGELE ATANMA OLASILIĞI NEDİR?

Yoktur.

NE KADAR ZAMANINIZI ALACAK?

1 (bir) gün

ARAŞTIRMAYA KATILMASI BEKLENEN TAHMİNİ GÖNÜLLÜ SAYISI KAÇTIR?

Araştırmaya 30 hastanın katılması planlanmaktadır.

SİZDEN ALINACAK BİYOLOJİK MATERYALLERE NE OLACAK VE ANALİZLER NEREDE YAPILACAK? (ANALİZLERİN YURTDIŞINDA YAPILMASI DURUMUNDA BİYOLOJİK MATERYALLERİN NEREYE GÖNDERİLECEĞİNİN AÇIKLANMASI),

Hastalardan 2 cc Periferik kan örneği alınacaktır. Alınan 2 cc periferik kan örneklerinden hizmet alımı yapılacak merkezde Mikroarray çalışılacaktır. Mikroarray yöntemi ile saptanan kopya sayısı değişiklikleri klinik varyasyonlar ile ilişkilendirilecektir.

SİZDEN BEKLENEN NEDİR? SİZİN SORUMLULUKLARINIZ NELERDİR?

Araştırma ile ilgili olarak araştırmacının önerilerine uymak sizin sorumluluğunuzdur. Bu koşullara uymadığınız durumlarda , araştırmacı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

ÇALIŞMAYA KATILMAK SİZE NE YARAR SAĞLAYACAK?

Çocuğunuzda Cinsiyet Gelişim Bozukluğuna yol açan genetik nedenin aydınlatılması amaçlanmaktadır.

ARAŞTIRMAYA KATILIMININ SONA ERDİRİLMESİNİ GEREKTİRECEK DURUMLAR NELERDİR?

Çalışmaya katılmayı gönüllünün kabul etmemesi durumunda çalışma dışı bırakılacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMAK SİZE HERHANGİ BİR ZARAR VEREBİLİR Mİ?

Sizlere uygulanacak olan kan alma işlemi zor bir işlem olmayıp size herhangi bir zararlı etkisi yoktur.

EĞER KATILMAK İSTEMEZSENİZ NE OLUR?

Bu çalışma tamamen gönüllülerle yapılacak bir çalışmadır. Katılma zorunluluğu söz konusu değildir.

SİZE UYGULANABİLECEK OLAN ALTERNATİF YÖNTEMLER NELERDİR?

Bulunmamaktadır.

BU ÇALIŞMAYA KATILDIĞIM İÇİN BANA HERHANGİ BİR ÜCRET ÖDENECEK Mİ?

Bu çalışmaya katıldığınız için herhangi bir katılım ücreti almayacaksınız.

BU ÇALIŞMAYA KATILDIĞIM İÇİN BEN HERHANGİ BİR ÜCRET ÖDEYECEK MİYİM?

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

Bilgilerin gizliliği: Tüm kişisel ve tıbbi bilgileriniz gizli kalacak, sadece bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.

BU ÇALIŞMANIN SORUMLUSUNUN İLETİŞİM BİLGİLERİ

1- Adı, soyadı: Doç.Dr. Samim Özen

2- Ulaşılabilir telefon numarası:

3- Görev yeri: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastanesi

ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma

yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bilgilendirilmiş gönüllü olurunun imzalı ve tarihli bir kopyasının bana verileceğini biliyorum.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

Araştırma ekibinde yer alan ve araştırma hakkında bilgilendirmeyi yapan yetkin bir araştırmacının		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

12-18 YAŞ ERGENLER İÇİN

(FORM 17)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Cinsiyet gelişim bozukluğu hastalarında moleküler etiyolojinin aydınlatılmasında Mikroarray (SNP array) yöntemi kullanılarak kopya sayısı değişikliklerinin saptanması ve saptanan bu değişikliklerinin klinik varyasyonlar ile ilişkilendirilmesi amaçlanmaktadır.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Endokrin Bilim Dalı tarafından izlenen 0-18 yaş arası Cinsiyet gelişim bozukluğu olan olgular çalışmaya katılabilecektir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

1 tüp (2 ml) kan örneği alınacaktır.

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma ile ilgili olarak uygulama süresi boyunca tedavi protokolü dışında hiçbir ilaç kullanmama ancak zorunlu olarak ilaç almak durumunda kaldığında mutlaka sorumlu araştırmacıyı bilgilendirme, uygulanan araştırma şemasına özen gösterme, araştırmacının önerilerine uyma sizin sorumluluklarınızdır. Bu koşullara uymadığınız durumlarda araştırmacı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 30'dur.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre 1 (bir) gündür.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Cinsiyet gelişim bozukluğuna yol açan genetik nedenlerin aydınlatılmasına yardım etmiş olacaksınız.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Yoktur

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİNER İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

Çalışma süresince birlikte kullanımının sakıncalı olduğu ilaç ve besinler yoktur.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

Uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız, gebe kalmanız veya bir yan etkiye maruz kalmanız vb. nedenlerle doktorunuz sizin izniniz olmadan sizi çalışmadan çıkarabilir.

DiĞER TEDAVİLER NELERDİR?

Başka tedavi yöntemi yoktur.

HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK / SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?

Araştırmada herhangi bir zarar görme olmayacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Uygulama süresi boyunca, zorunlu olarak araştırma dışı ilaç almak durumunda kaldığınızda Sorumlu Araştırmacıyı önceden bilgilendirmek için, araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 02323901230no.lu telefonda Doç. Dr Samim Özen'e başvurabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR?

Çalışmayı destekleyen kurum yoktur.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır. Araştırmacı, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle isteğiniz dışında ancak bilginiz dahilinde sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu durumda da sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler kullanılamaz.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?

Size ve çocuğunuza ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayımlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde çocuğunuza ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren üç sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

Araştırma ekibinde yer alan ve araştırma hakkında bilgilendirmeyi yapan yetkin bir araştırmacının		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

8-12 YAŞ ERGENLER İÇİN

(FORM 17)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Cinsiyet gelişim bozukluğu hastalarında genetik tanının konulması amaçlanmaktadır.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Endokrin Bilim Dalı tarafından izlenen 0-18 yaş arası Cinsiyet gelişim bozukluğu olan olgular çalışmaya katılabilecektir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

1 tüp (2 ml) kan örneği alınacaktır.

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma ile ilgili olarak uygulama süresi boyunca tedavi protokolü dışında hiçbir ilaç kullanmama ancak zorunlu olarak ilaç almak durumunda kalındığında mutlaka sorumlu araştırmacıyı bilgilendirme, uygulanan araştırma şemasına özen gösterme, araştırmacının önerilerine uyma sizin sorumluluklarınızdır. Bu koşullara uymadığınız durumlarda araştırmacı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 30 ‘dur

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre 1 (bir) gündür.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Cinsiyet gelişim bozukluğu olgularında genetik nedenlerin aydınlatılmasına yardım etmiş olacaksınız.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Yoktur.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİNER İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

Çalışma süresince birlikte kullanımının sakıncalı olduğu ilaç ve besinler yoktur.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

Uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız, gebe kalmanız veya bir yan etkiye maruz kalmanız vb. nedenlerle doktorunuz sizin izniniz olmadan sizi çalışmadan çıkarabilir.

DİĞER TEDAVİLER NELERDİR?

Başka tedavi yöntemi yoktur.

HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK / SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?

Araştırmada herhangi bir zarar görme olmayacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Uygulama süresi boyunca, zorunlu olarak araştırma dışı ilaç almak durumunda kaldığınızda Sorumlu Araştırmacıyı önceden bilgilendirmek için, araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0322 333 00 00 no.lu telefonda Doç Dr Samim Özen'e başvurabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR?

Çalışmayı destekleyen kurum yoktur.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır. Araştırmacı, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle isteğiniz dışında ancak bilginiz dahilinde sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu durumda da sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler kullanılamaz.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?

Size ve çocuğunuza ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayımlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde çocuğunuza ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren üç sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

Araştırma ekibinde yer alan ve araştırma hakkında bilgilendirmeyi yapan yetkin bir araştırmacının		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		