



TÜRKİYE CUMHURİYETİ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CİNSİYET ANOMALİSİ OLUP 46, XY KARYOTİPİNE SAHİP
HASTALARDA SOX9 VE SRY TİM GEN ANALİZİ**

ESRA İLDENİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Diyarbakır – 2021



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CİNSİYET ANOMALİSİ OLUP 46, XY KARYOTİPİNE SAHİP
HASTALARDA SOX9 VE SRY TİM GEN ANALİZİ**

Yüksek Lisans Tezi

ESRA İLDENİZ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

DR.ÖĞR.ÜYESİ DİCLEHAN ORAL

Diyarbakır – 2021



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DICLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Esra İLDENİZ' in hazırladığı “CİNSİYET ANOMALİSİ OLUP 46,XY KARYOTİPİNE SAHİP HASTALARDA SOX9 VE SRY TÛM GEN ANALİZİ” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: /06/2021

Danışmanı: DR.ÖĞR.ÜYESİ DICLEHAN ORAL

Jüri Üyeleri

imza

Jüri Başkanı:

Üye :

Üye :

Üye :

Üye :

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun /06/2021 tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

/06/2021

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DICLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi , bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

04 .06.2021

ESRA İLDENİZ
İMZA:

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi. Diclehan ORAL'a teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum. Tez çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübeleri ile her zaman yanımda olan ve tezimde emeği geçen değerli hocam Doç. Dr. Selahattin TEKEŞ'e Yüksek lisansa başladığım ilk günden beri eğitimime katkı sağlayan hocalarım Prof.Dr.Mahmut BALKAN'a ayrıca çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından bana sürekli yardımda bulunarak yol gösteren ve gelecekteki hayatında çok daha başarılı olacağına inandığım kıymetli Arş. Gör.Mahir BİNİCİ ve Arş.Gör.İlyas YÜCEL'e ve Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı çalışanlarına da sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Maddi ve manevi her konuda daima beni motive eden ve destek olan, benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen hayatım boyunca örnek aldığım ve almaya çalışacağım sevgili annem ve babama sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından TIP.20.008 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ESRA İLDENİZ

Diyarbakır-2021

İÇİNDEKİLER

ONAY	I
BEYAN.....	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
TABLolar DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
1.ÖZET.....	IX
1.1 Türkçe Özet	IX
1.2.Abstract.....	X
2.GİRİŞ	1
3.GENEL BİLGİLER.....	3
3.1. Cinsiyet Belirsizliği Nedir?.....	3
3.1.1. Cinsiyet ayrımı nasıl yapılır?	4
3.1.2. Tedavi yöntemleri	5
3.1.3. Cinsiyet belirsizliğinin nedenleri	5
3.2. Cinsel Farklılaşma	7
3.2.1. Cinsiyet kromozomlarının özellikleri ve fonksiyonları	8
3.3.SRY Geni.....	10
3.4.SOX9 Geni	11
3.5. SRY-SOX9 Mekanizması	13
3.6. Genital Sistem Yapısı.....	15
3.6.1 Testis gelişim aşamaları	17
3.6.2 Genital kanalların farklılaşma süreci	18
4.GEREÇLER ve YÖNTEMLER	20

4.1 Kullanılan Gereçler.....	20
4.2 Yöntemler.....	21
4.2.1 Hastalardan kan alınması	21
4.2.2 Alınan kanlardan DNA eldesi	21
4.2.3. Hücrenin preparasyonu	21
4.2.4. Hücre lizisi	21
4.2.5. Proteinlerin uzaklaştırılması.....	21
4.2.6. DNA ayrıştırılması	22
4.2.7. DNA çökmesi.....	22
4.2.8. Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu	22
5. BULGULAR.....	24
5.1 Sitogenetik Sonuç	24
5.2 Rt- PCR Sonuçları.....	25
5.3 Sonuçların Değerlendirilmesi ve Yorumlanması	27
5.4 Çalışmada Kullanılan İstatistiksel Analizler	28
5.4.1 SOX9 gen analizi	28
5.4.2.SRY gen analizi.....	28
6.TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	31
7.KAYNAKÇA	37
8. ÖZGEÇMİŞ.....	44
9.ETİK KURUL ONAYI.....	45
10.ORJİNALLİK RAPORU (Plagiarism Detector).....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Y kromozomu üzerindeki genler	9
Şekil 2:SOX9 Geninin cinsiyet gelişimi üzerindeki rolü	12
Şekil 3: SOX9 Geninin diğer genlerle etkileşimleri.....	13
Şekil 4: Bazı otozomal genlerin testis determinasyonundaki rolleri	15
Şekil 5: Normal cinsiyet gelişimini.....	16
Şekil 6:Testis gelişim aşaması.....	19
Şekil 7:Over gelişim aşaması	19
Şekil 8: SRY Primerinin bağlanma pikleri (binding peak)	25
Şekil 9: SRY Primerinin erime eğrisi (melting curve).....	25
Şekil 10: SOX9 Primerinin bağlanma pikleri (binding peak).....	27
Şekil 11: SOX9 Primerinin erime eğrisi (melting curve).....	27
Şekil 12: Cinsiyete göre sry geninin dağılımı	29
Şekil 13: SRY genine göre karyotip dağılımı	30
Şekil 14: SRY genine bağlı cinsiyet değişimi.....	33

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Bazı genlerin mutasyon\delesyon ve duplikasyon\translokasyonlarının gonadal farklılaşma üzerine etkileri	4
Tablo 2: Dişi ve erkekte cinsel farklılaşmayı etkileyen faktörler ve ayırt edici ölçütler.	8
Tablo 3: Gerçek zamanlı PCR içeriği	22
Tablo 4: Primer diziler	22
Tablo 5: Gerçek zamanlı PCR döngü koşulları.....	22
Tablo 6: Cinsiyete göre yüzdelik değerler	24
Tablo 7: Bireylerin karyotip sonucu	24
Tablo 8: SOX9 geninin bireylerde bulunma yüzdesi	27
Tablo 9: SRY geninin cinsiyete göre dağılımı	28
Tablo 10: SRY geninin karyotip sonucuna göre dağılımı.....	28
Tablo 11: SRY geninin yüzdelik dağılımı	34

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bç : Baz çifti

DNA : Deoksiribonükleik asit

PCR :Polimeraz zincir reaksiyonu

SOX9: sry-related hmg-box 9

SRY : Sex-determining Region Y

TDF : Testis belirleyici faktör

CGB :Cinsiyet gelişim bozuklukları

WT1: Wilms Tumor1

SF1: Steroidogenic factor 1

PARs : Psödootozomal bölgeler

PAR1: Pseudoautosomal region 1

NRY: Rekombinasyona girmeyen bölge

Duct: Genital kanal

FGF9: (fibroblast büyüme faktörü 9)

HMG : DNA-binding domain high mobility group

DDS : Dosage sensitive sex reversal-DXA-1 geni

CİNSİYET ANOMALİSİ OLUP 46, XY KARYOTİPİNE SAHİP HASTALARDA SOX9 VE SRY TUM GEN ANALİZİ

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Esra İLDENİZ

Danışmanı: Dr.Öğr.Üyesi Diclehan ORAL

Anabilim Dalı: Tıbbi Biyoloji

1.ÖZET

1.1 Türkçe Özet

Amaç: Bu çalışmamızda bölgemizde karşılaştığımız cinsiyet anomalili hastalarda bipotansiyel gonad gelişimi sonrası meydana gelen değişimlerde SRY ve SOX9 genlerinin etkisinin araştırılması ve bu genlerdeki mutasyonların testis ve ovaryum oluşumuna olası etkileri incelenerek elde edilecek verilerin ışığında literatüre yeni bilgilerin kazandırılması hedeflenmektedir.

Gereç ve Yöntemler: Üniversitemizin Tıbbi Biyoloji- Genetik Laboratuvarlarına Cinsiyet anomalisi şüphesiyle başvuran 0-45 yaş aralığındaki 60 hastadan alınan kandan izole ettiğimiz DNA örnekleri kullanılarak çalışma gerçekleştirildi. Sitogenetik çalışmalar sonucunda 46, XY çıkan hastalara SRY ve SOX9 gen analizi yapıldı. Hasta bireylerin SRY ve SOX9 gen analizleri RT-PCR ile amplifiye edilerek elde edilen veriler bilgisayar sistemi kullanılarak değerlendirildi.

Bulgular: Yaptığımız çalışma sonucunda cinsiyet anomalisi tanısı ile gelen 60 hastadan 46,XY olan bireyler sitogenetik analiz sonuçlarına göre tespit edildi ve bu hastalardaki SRY ve SOX9 gen bölgelerinin varlığı ve yokluğuna bakılarak 44 tane 46,XY bireyden 4 tanesinde SRY gen bölgesi bulunmayıp SOX9 gen bölgesi bulunmuştur

Sonuç: SOX9 geni otozomal kromozom üzerinde bulunup SRY genine bağlı aktivite göstermektedir. Bunun sonucunda tüm bireylerde SOX9 geni var olup SRY genine bağlı olarak cinsel organ gelişiminde etkilidir. Bu çalışmada SRY ve SOX9 gen bölgelerinin karyotip sonucu ile ilişkili olduğu bununda cinsiyet gelişimi ve cinsel organ gelişimi üzerinde rol oynamış olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: SOX9 geni, SRY geni, cinsiyet anomalisi

SOX9 AND SRY ALL GENE ANALYSIS IN PATIENTS WITH GENDER ANOMALIS AND 46, XY CARYOTYPE

Student's Surname and Name: İLDENİZ Esra

Adviser of Thesis: Dr.Öğr.Üyesi Diclehan ORAL

Department: Medical Biology

1.2.Abstract

Aim: In this study, it is aimed to investigate the effects of SRY and SOX9 genes in the changes that occur after the development of bipotential gonads in patients with gender anomalies in our region, and to provide new information to the literature in the light of the data to be obtained by examining the possible effects of mutations in these genes on the formation of testis and ovary.

Metarials and Methods: The study was carried out using DNA samples isolated from the blood taken from 60 patients aged 0-45 years who applied to the Medical Biology-Genetics Laboratories of our university with the suspicion of gender anomaly. As a result of cytogenetic studies, SRY and SOX9 gene analyzes were performed on patients with karyotype 46, XY. The SRY and SOX9 gene analyzes of the patients were amplified by RT-PCR and the data obtained were evaluated using a computer system.

Result: As a result of our study, 46,XY individuals out of 60 patients who came with the diagnosis of gender anomaly were determined according to the results of cytogenetic analysis, and the presence and absence of SRY - SOX9 gene regions in these patients were examined and the SRY gene region was not found in 4 of 44 46,XY individuals, but the SOX9 gene region was found.

Conclusion: The SOX9 gene is located on the autosomal chromosome and shows activity depending on the SRY gene. As a result, all individuals have the SOX9 gene and it is effective in the development of the genitals depending on the SRY gene. As a result of this study, it is thought that the SRY-SOX9 gene regions are associated with the karyotype result, which may play a role in sex development and sexual organ development.

Keywords: SOX9 gene, SRY gene, sex anomaly

2.GİRİŞ

İnsanın tüm hücrelerinde 23 anneden, 23 de babadan gelen toplam 46 kromozom bulunur.46 kromozomun 44 tanesi otozomal geriye kalan 2 kromozom ise gonozomal kromozomlar olup X ve Y olarak isimlendirilmiştir. Sağlıklı bir bireyde 22 çift otozomal 2 tanede cinsiyet kromozomu bulunmaktadır.Buna göre erkeklerde gonozomal kromozom XY dir. Kadınlarda gonozomal kromozom ise XX dir. Bazı bireylerde 46, XY – 46, XX kromozom yapısı dışında başka kromozom yapıları da bulunabilmektedir (1). Bunun gibi durumlar cinsiyet gelişim bozukluğundan (CBG) kaynaklanmaktadır. CBG kromozom yapısı, gonadlar, dış genital organların çeşitli derecelerde anatomik yapının birbiriyle uyumsuz olduğu durumlar olarak tanımlanmaktadır (2). Kromozom kuruluş, gonad oluşumu veya anatomik olarak cinsel organların gelişimindeki problemler cinsiyet gelişim bozuklukları olarak adlandırılan bir takım konjenital rahatsızlıklara neden olmaktadır. Genelde CGB yerine, hermafroditizm, ambiguus genitale, intersex, gibi değişik isimler de kullanılmaktadır. Bunlar gonadal, kromozomal ya da anatomik cinsiyeti kapsayan kromozom-fenotip uyumsuzluğu sonucu oluşur. Genellikle hormon aktivitesindeki anormallik veya hormon üretimindeki bozukluklar ile meydana gelirler (3).

Cinsel gelişim anomalilerinin genetik nedenleri:

- Kromozomal mutasyonlar
- Tek gen defektleri (otozomal, gonozomal)
- Multifaktöryel nedenlerdir.

Kromozomal mutasyonlar sonucunda oluşan cinsel gelişim bozuklukları:

Y kromozomu üzerindeki SRY bölgesindeki yapısal düzensizlikler sonucu ortaya çıkan XX ve XY CGB dur (4). 46 XY CGB' de dış genital yapının fenotipi; normal dişi, kuşkulu genital yapı (ambiguous) veya mikropenisi olan bir erkek olabilir (5). 46XY testiküler bozukluğunun prevalansı yaklaşık 1/20.000 dir. Bu anomalinin %15 SRY geni, DAX1 geni, SOX9 geni mutasyonundan kaynaklanmaktadır (4).

Memelilerde cinsiyet, bir testis belirleyici faktör (TDF) kodlayan Y kromozomu tarafından belirlenir. Bu faktör, farklılaşmamış embriyonik gonadların yumurtalıklardan çok testisler olarak gelişmesine neden olur. Testisler daha sonra tüm erkek cinsel özelliklerinden sorumlu olan erkek cinsiyet hormonlarını üretir.

1990 yılında, cinsiyet belirleyici gen TDF tanımlandı ve insanlarda SRY olarak adlandırıldı. Cinsiyet belirlemede yer alan Y'ye bağlı olmayan diğer genler daha sonra SRY' deki mutasyonlarla açıklanmayan cinsiyet tersine çevrilmiş XY hastaların genetik analizi ile bulundu. Bu genler WT1, SF1, DAX1 ve SOX9'dur. Normal cinsel gelişim, cinsiyet belirleme, cinsel farklılaşma ve cinsel davranışta rol oynayan bir dizi farklı genin işlevsel ve gelişimsel entegrasyonundan kaynaklanabilir (6).

Çalışmamızda RT-PCR yöntemi kullanılarak belirlediğimiz gen bölgelerine bakarak etkilerini araştırdık. Bu sayede çıkan sonuçlar doğrultusunda bu gen bölgelerinin cinsiyet belirlemelerindeki etkisini öğrenmeye çalıştık. Böylelikle yapılacak benzer araştırmalar için ön veriler oluşturmayı amaçladık.

3.GENEL BİLGİLER

3.1. Cinsiyet Belirsizliği Nedir?

Bazı bebeklerin dış genital yapıları tam olarak ayırt edilemeye bilmektedir. Bunun sonucunda kesin bir cinsiyet bilgisi verilemeyebilir. Bazı durumlarda bebeğin dış genital yapısına bakarak cinsiyet ayırımını yapabilesek bile bebeğin kromozomal yapısı dış genital yapısı ile uyumsuz olabilmektedir. Bu gibi vakalara cinsiyet gelişim bozukluğu tanısı verilmektedir. Bebeğin oluşmaya başladığı ilk haftalarda gonadlar kız veya erkek cinsiyetine uygun olarak değişim göstermemektedir. Bu değişimler kromozomlardaki genler ve hormonların etkisi ile kızlarda over, erkeklerde ise testis oluşumunu sağlamaktadır. İnsanlarda var olan 23 çift kromozomun son çifti cinsiyetin belirlenmesinden sorumlu kromozomlardır. Sağlıklı kadın bireylerde X kromozomundan 2 tane varken sağlıklı erkek bireylerde X ve Y kromozomlarından birer tane bulunur. Y kromozomu üzerindeki bir genden dolayı (SRY) yumurta testis yönünde gelişir, testisten salgılanan testosteron hormonu tarafından penis, skrotum ve üretra gelişir. Gebeliğin 7 ve 8. ayında testisler karın içinden torbalara geçer. SRY geninin olmadığı durumda yumurtalar overe doğru farklılaşır ve rahim, tüpler oluşur. Genetik, hormonal ve çevresel etkilerden dolayı cinsiyet gelişimi aşamalarında aksama olursa bu durum cinsiyet gelişim bozukluklarına neden olur (7).

Tablo 1: Bazı genlerin mutasyon\delesyon ve duplikasyon\translokasyonlarının gonadal farklılaşma üzerine etkilerini içeren tablo aşağıda özetlenmiştir. (8)

	Kromozomdaki lokalizasyonu	Gonadal gelişim	Eşlik eden diğer bozukluklar	Seks reversal\ kuşkulu genital yapı	Müller yapılarının gelişimi
Gen mutasyonu veya delesyonuna bağlı (fonksiyonun kaybolması)					
WT1	11p13	Disgenezis (erkek ve dişi)	1.WAGR 2.Denys-Drash 3.Frasier send.	1.Kuşkulu genital yapı 2.Kuşkulu genital yapı\seks reversal 3.Seks reversal	1.Değişken (erkek) 2.Değişken (erkek) 3.Evet (erkek)
SF-1	9q33	Disgenezis (erkek)	Adrenal yetmezlik	Seks reversal	Evet (erkek)
SRY	Yp11	Erkek-over		Seks reversal \kuşkulu genital yapı	Erkek (değişken)
DAX-1	Xp21	Disgenezis (erkek)	Adrenal yemezlik ve hipogonotropik hipogonadizm\ bozulmuş spermatogenezis	Yok	Yok
SOX9	17q24.3-25.1	Disgenezis veya Over\ ovotestis (erkek)	Kamptomelik displazi	Seks reversal veya kuşkulu genital yapı	Değişken
AMH	19p13.3-13.2	N			Evet(erkek)
Gen duplikasyonu veya translokasyonuna bağlı (fonksiyon kazanılması)					
Y'nin SRY parçasının duplikasyonu	Yp11.3	Dişide testis		Seks reversal şüpheli genital yapı	Yok
DAX1 duplikasyonu	dup1Xp21	Disgenezi veya Over\ ovotestis (erkek)		Seks reversal, kuşkulu genital yapı	Değişken
Wnt4 duplikasyonu	dup1p35	Disgenezi (erkek)		kuşkulu genital yapı	Evet
SOX9 duplikasyonu	Dup17q24.3-25.1	Dişide testis		kuşkulu genital yapı	Yok

3.1.1. Cinsiyet ayrımı nasıl yapılır?

İlk bakışta bir çocuğun kız ya da erkek olduğu ayrımı yapılamıyorsa uzman kişiler tarafından önce ayrıntılı bir pedigrı alınır ve kişiye detaylı muayene yapılır. Sonrasında cinsiyet belirsizliğinin nedenlerini anlayabilmek için radyolojik görüntüleme tetkikleri ve gerekli testler yapılmalıdır.

- Kromozom analizi
- Hormon ve kan testleri
- Genitoüretrogram testi
- İç organların için ultrasonografi
- Yumurta dokularının varlığı veya yokluğu
- Ailenin fikri ve gerekli işlemler için aile kararı (7).

3.1.2. Tedavi yöntemleri

Cinsel bozukluğun tedavisi cinsiyet gelişim bozukluğunun çeşidine göre farklılık gösterir. Uygun cinsiyete karar verildikten sonra düzeltici ameliyatlar, bazı organların çıkarılması veya oluşturulması gerekmektedir veya hormonal tedavilerle birey tedavi edilir. Tedavi her hasta için farklı olup hastanın durumuna göre en uygun tedavi seçilir ve bunun için aileyle görüşülerek planlama yapılır (7).

3.1.3. Cinsiyet belirsizliğinin nedenleri

Androgen Sendromu

Böbrek üstü bezlerdeki bir mutasyonun neden olduğu kalıtsal bir hastalıktır. Bu hastalığa sahip olan kişilerde böbrek üstü bezleri rutin fonksiyonlarını yapamadığı için üretiminden sorumlu olduğu kortizol ve aldosteron hormonu olması gereken seviyede salgılanamaz. Yeteri kadar salgılanmayan kortizol ve aldosteron hormonu, hipofiz ve hipotalamusta sexül hormon dengesinin bozulmasına neden olur. Bu durum kadınlarda erkeksi dış görünüme neden olurken, erkek çocuklarda ise erken gelişmeye neden olur (1).

Klinefelter Sendromu

Çoğunlukla erkeklerde görülen bu rahatsızlığa Klinefelter Sendromu adı verilmiştir. Karyotipi 47,XXY şeklindedir. Ekstradan bir X kromozomu bulunur. Çocukluk çağlarında cinsel organları normal gelişme gösterir, ergenlik çağında ise testis küçülmesi ve bundan dolayı testosteron seviyesinde azalma ve spermlerde fonksiyon

bozukluğu görülür. Klinefelter-Sendromunun toplumdaki indeksi 1:590 ile 1:900 arasındır.

Tipik Özellikleri:

- Sperm yoklu veya azlığı
- Uzun boy
- Uzun kolları
- Dirseklerde kırışıklıklar
- Küçük testis ve penis.
- Kas zayıflığı
- Özgüven eksikliği ve buna bağlı olarak sosyal iletişim kurmada birtakım zorluklar görülür.

İntersexsüalite

Cinsel organ oluşumu döllenmenin ilk evresinde gerçekleşmez. Ancak ilerleyen aşamalarda ya testosteron üretilerek penis oluşur ya da testosteron üretilmediği için vajina oluşur. İnterseksüeller fizyolojik, genetik ve hormonal olarak kadın veya erkek sınıfına girmez. Bu hastaların büyük bir kısmında mikropenis ve büyük bir vajina bulunabilirken bazılarında da küçük bir penise benzeyen sadece büyük bir klitoris bulunur (1).

Turner Sendromu

Sadece kadınlarda ortaya çıkan genetik bir hastalık olup karyotip görüntüsü 45,X şeklindedir. Toplumdaki insidansı 1:2500 civarındadır. 2 X kromozomundan bir tanesi ya hiç yoktur ya da bir parçası kaybolmuştur.

Tipik Özellikleri:

- Geniş ya da yele boyun
- İnfertilite
- Gelişmemiş yumurtalıklar

- Boy kısalığı (~1,45 m).
- Düz ve dışa dönük tırnaklar

Swyer Sendromu

XY-Kadını olarak da bilinmektedir. Bu hastalarda testosteron hormonunun salgılanması kısmen ya da tamamen yok olduğundan bu hastalar genotipik özellikleri erkek olup fenotipik özellikleri kadındır. Bu hastalarda Y kromozomu üzerinde bulunan SRY denilen kısmı ya normalden kısadır ya da bu gen bölgesi bulunmamaktadır. Bu kısalık SRY geni tarafından kodlanan TDF hormonunun hatalı üretilmesine neden olur ve bu da erkeksi görünümü sağlayan testosteron hormonu üretiminin kısmen ya da tamamen durmasına neden olur. XY-kadınının insidansı 1:3000 dir. Bu hastalığa sahip embriyoların %98'i hamileliğin ilk ayında ölür.

Tipik Özellikler

- primer amenore ,yumurtalık bulunmaz
- Fenotipik özelliklerinin kadına benzemesi
- Seyrek kıl yapısı
- Büyük bir klitorise
- Vajina ve rahime sahiptirler (1).

3.2. Cinsel Farklılaşma

Benzer sekonder cinsel özellikleri ve psikoseksüel oryantasyonu olan fertil bir erişkinin görünümü, genetik cinsiyetin döllenmede oluşmasıyla başlayan mantıklı ve belirli bir sırayı izler. Sonrasında Y kromozomunun erkek cinsiyeti gelişimini belirleyen kısmının varlığı veya yokluğu gonadal cinsiyeti belirler ve böylece farklılaşmamış embriyonik gonadın testis veya overe dönüşümünü sağlar. Bunu takiben iç genital yolların ve dış genital yapının farklılaşması benzer bir düzeni takip eder. Yani farklılaşmamış genel primordia, eğer fetal testisin salgılarıyla erkek yönünde gelişim olmazsa dişi olmaya eğilimlidir. Doğumda görülen dış genital yapı

hem cinsiyet rolü hem kanuni cinsiyet için temel teşkil eder. Daha sonra püberte esnasında ve sonrasında testis ve over hormonları, sekonder cinsel özellikleri uyarır ve bu hem psikoseksüel kimliğin oluşmasına hem de erişkin üreme yeteneklerinin kazanılmasını sağlar. Tablo 2.de klinikte dişi-erkek ayırımında kullanılan ölçütler özetlenmiştir (9-10-11).

Tablo 2: Dişi ve erkekte cinsel farklılaşmayı etkileyen faktörler ve ayırt edici ölçütler (9)

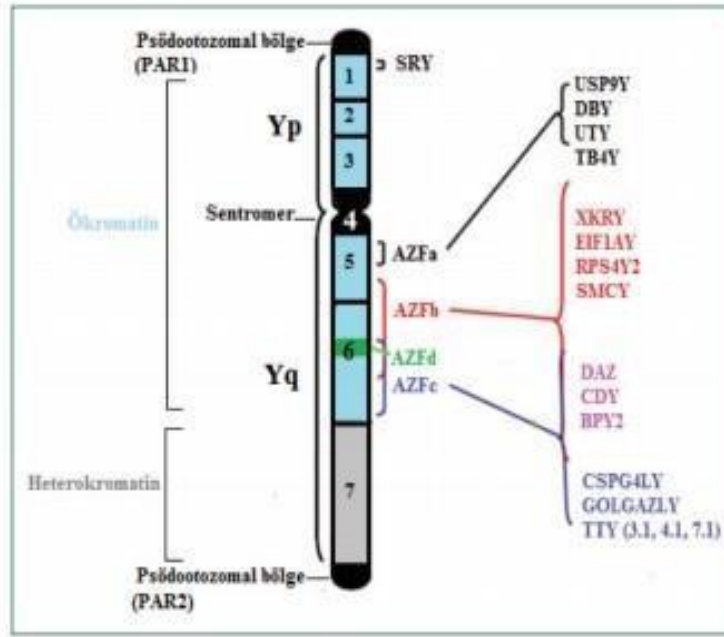
Belirleyici faktörler			
	Dişi gelişim	Erkek gelişim	Ayırt edici ölçütler
Genetik cinsiyet	Homogametik (XX)	Heterogametik (XY)	Karyotip
Gonadal cinsiyet	Oositler	Y-bağımlı testis-belirleyici faktör (TDF)	Histoloji
İç Genital kanallar	Doğal gelişim	Mülleriyen inhibiting faktör, testosteron	Ültrasonografi
Dış genital yapı	Doğal gelişim	Dihidrotestosteron, testosteron	Klinik inceleme
Cinsiyet kişilik	Psikososyal faktörler	Psikososyal faktörler, testosteron	Gözlem
Ergenlik	Östradiol	Testosteron	Hormon analizi

3.2.1. Cinsiyet kromozomlarının özellikleri ve fonksiyonları

A. Y kromozomu: Y kromozomu en özelleşmiş kromozomdur. Tamamen cinsiyetin belirlenmesinde ve fertilitenin kontrolünde görevlidir. Y kromozomundaki genler sadece erkeklerde bulunur. Y kromozomu insan kromozomlarının en küçüğüdür. Y kromozomu tüm genomun yaklaşık %2– 3’ünü kapsamaktadır. Kromozomların kısa kolu p ve uzun kolu q olarak adlandırılır. Y kromozomu ökromatin, psödootozomal ve heterokromatin bölgelerinden oluşur. Psödootozomal bölgeler (PARs), q’nın (PAR2) ve p’nin (PAR1) uç kısımlarında bulunur. Bu kısımlar, mayoz safhasında X kromozomunun psödootozomal kısımları ile rekombinasyona girerler. Psödootozomal kısımdaki genler, otozomal genler gibi kalıtılır (12).

Y kromozomunun büyük bir kısmı (%95) rekombinasyona girmeyen bölge (NRY) denilen ve bu kromozomda heterokromatin ve ökromatin denilen bölgeleri meydana getirir. Heterokromatin bölge q’nun distalinde bulunur ve genetik olarak işlevsiz

olarak kabul edilen bu bölgenin büyük bir kısmını DYZ1 ve DYZ2 denilen tekrar dizileri oluşturur. Ökromatin bölge ise PAR1'in distalinde yer alır ve p ve q' nun parasentromerik bölgeleri ile sentromer bölgesini meydana getirir (Şekil 1). Cinsiyetin belirlenmesi boy kontrolü ve Turner stigmata ve spermatogenezden sorumlu tüm genler bu alanda yerleşmiş durumdadır (13). Cinsiyet belirleyici Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki psödootozomal bölgenin hemen yanında testis belirleyen faktör geni (TDF) SRY (cinsiyeti belirleyici bölge Y) vardır. Bu bölge en azından 9X homolog ve 11 testis spesifik geni içerir. Testis spesifik genlerden bazıları spermatogenez için gerekli gibi görünen DAZ, RBM ve SPGY gibi bazı genleri ve disgenetik gonadlardan gonadoblastomanın gelişimiyle ilgili genler içerir. Henüz belirlenemeyen diğer genlerin genel görünümüyle ilgili olduğu düşünülmektedir (14).



Şekil 1: Y kromozomu üzerindeki genler (7).

B. X kromozomu: X kromozomu bir haploide (22 otozom+X) total DNA'nın %5 kadarını içeren büyük bir submetasentrik kromozomdur. Y kromozomunun tersine X kromozomu vücuttaki her sistemin fonksiyonuyla ilgilidir ve 280'den fazla belirlenmiş genetik lokus içermektedir. Bu lokuslar hem erkek hem de dişilerin cinsel farklılaşmasında önemli rol oynayan genleri içermektedir (14). Erkeklerde genital farklılaşma ve sekonder seksüel karakterlerde önemli yeri olan androjen reseptör geni

Xq11-12 bandında yerleşmiştir. Delesyon haritalanması X' in uzun kolundaki genlerin (Xq11 ve Xq22 arasındaki bandlar) Klinefelter sendromunun belirtilerinin ortaya çıkmasıyla ilgili olduklarını göstermiştir (15). Turner sendromundaki gonadal disgenezide de görüldüğü gibi normal over farklılaşması için her iki X kromozomu da gereklidir. Normal over farklılaşması ve fonksiyonu için önemli olan Xq13 ve Xq27 bantlarının arasında bulunan X kromozomunun uzun kolu üzerinde kritik bir segment vardır. Bu bölgede kırılma veya yapısal anomalileri olan dişiler gonadal disgenezi, primer veya sekonder amenore ve infertiliteye yol açan prematür folliküler atreziyle karşımıza çıkarlar. Kısa kol (Xp) üzerindeki bazı delesyonlar sadece normal cinsel gelişimi olan kısa boylulara yol açsa da monozomi (45 X) veya izokromozom gibi daha şiddetli anormalliklerle birlikte tam bir Turner sendromuna neden olur (14-15). X kromozomu üzerindeki diğer genlerinde cinsel farklılaşmada rolü vardır. DDS (Dosage sensitive sex reversal-DXA-1 geni) gerek dişi gerekse erkek tip cinsel farklılaşmada etkili genler taşır. DAX-1 geni hem over ve hem de testis farklılaşmasında önemli rol oynar. Bu genin delesyonu ve fonksiyon kaybına sebep olan mutasyonlarında adrenal hipoplazi ve hipogonadotropik hipogonadizme neden olur (14). X kromozomu üzerinde ayrıca Y kromozomunda bulunmayan çok sayıda çift olmayan gen bulunmaktadır. Bunlardaki defektler monozomi X'li dişiler ve hemizigos erkeklerde hastalığa sebep olur. Bu X'e bağlı geçen hastalık örnekleri arasında renk körlüğü, hemofili A, hemofili B ve lokusu uzun kol üzerinde yerleşmiş bulunan glikoz 6 fosfat dehidrogenaz eksikliği gösterilebilir. Gelişimin erken döneminde dişide bir X kromozomunun inaktivasyonu ile bu kompensasyon sağlanır böylece X'e bağlı genlerin eksprese edilen dozu erkek ve dişide eşitlenir. Böylece dişi aktif paternal ve maternal X kromozomları açısından mozaik olur. Bir hücredeki X kromozomu sayısı ne olursa olsun birisi inaktive olur. İnaktivasyondan sonra aktif X'in yapısal olarak anormal olduğu hücre dizileri normal olanlara göre daha az etkili replike olur ve böylece bu diziye karşı seleksiyon oluşabilir (14).

3.3.SRY Geni

Erkek yönünden cinsiyet farklılaşması gebeliğin 5-6. haftasında gerçekleşir ve Y kromozomunda bulunan şifrelere ihtiyaç duyar (16). İnsanda normalde Y kromozomunda bulunan bilgilerin yokluğu veya eksprese olamaması durumunda over gelişimi başlar ve dişi görüntüsü gözlenir. Y kromozomunun kısa kolunda lokalize

olan SRY geni Testis gelişiminde görev alır (16). Sertoli hücresinin oluşumunda da SRY geninin büyük bir rolü vardır (16,17). SRY tek eksonlu basit bir yapıya sahip bir genidir. 5' kuşatma dizisi TATA veya CAAT kutuları içermez; GC açısından zengindir ve transkripsiyonu güçlendirdiği bilinen iki sıralı Sp1 tanıma bölgesi içerir (18). Tek ekzondan oluşan 845 nukleotid uzunluğuna sahip 204 amino asit kodlaya bilen bu gen SRY genidir. SRY geni tarafından kodlanan protein (HMG) motifi taşıdığından dolayı transkripsiyon faktörü olarak görev yapmaktadır (17).

‘‘The Human Gene Mutation Database’de’’ (19) ve yapılan diğer çalışmaların sonucuna göre bu gen hem promotor bölge hem de ekzon mutasyonlarını bildirilmektedir. XY cinsiyet dönüşümü olgularında SRY gen mutasyonları bildirilmiştir (20-21). SRY geninde ortaya çıkan mutasyonlar gonadların testis yönünde gelişmesini engelleyerek dişi fenotipi ile XY cinsiyet dönüşümü ve Swyer sendromu gelişimine neden olmaktadır. Bu genden kaynaklı farklı mutasyonlar gonadal disgenezi vakalarının %15’ini oluşturmaktadır (22).

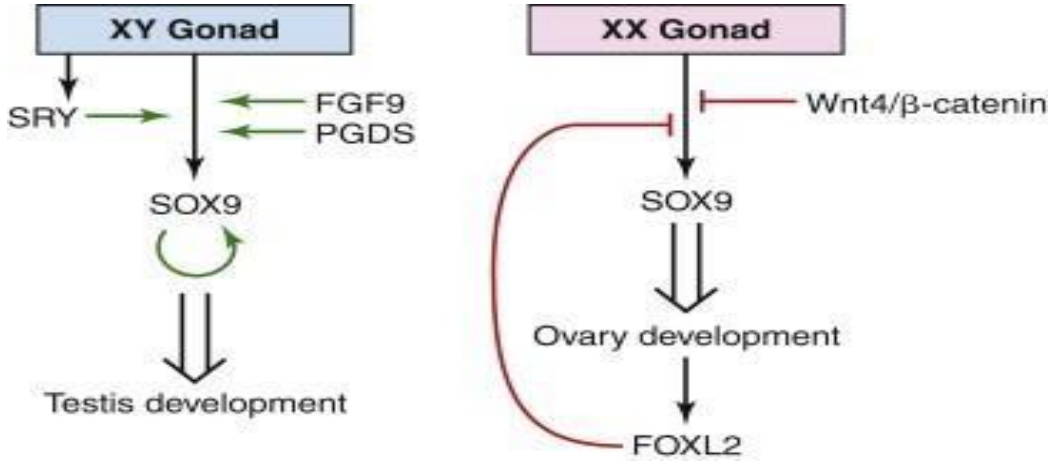
Memeli Y kromozomundaki SRY geni şüphesiz testisi belirleme görevi görür ancak hala nasıl olduğu belirsizdir. Başlangıçta SRY’ nin testis belirleme yolundaki diğer genleri aktive etmek için doğrudan hareket ettiği varsayılıyordu. SRY’ nin SOX3 (SRY’ nin evrimleştiği) ve SOX9 genleri ile etkileşime girerek dolaylı olarak işlev gördüğüne dair alternatif bir hipotez sunulmaktadır. Spesifik olarak kadınlarda SOX3’ün SOX9 işlevini engellediğini ancak erkeklerde SRY’ nin SOX3’ü engellediğini ve SOX9’un testis belirleyici rolünü yerine getirmesine izin verdiğini ileri sürülmektedir. Bu hipotez, üç genden herhangi birinin eksiklikleri veya aşırı üretimi olan XX ve XY bireylerinin fenotiplerinin test edilebilir tahminlerini yapar ve XX (SRY) erkek vakalarını ve SRY yokluğunda farklılaşmayı açıklayabilir. Hipotez aynı zamanda günümüz memelilerinin baskın SRY cinsiyet belirleme sisteminin SOX3 dozajına dayanan eski bir sistemden evrimleşmiş olabileceğine dair bir yol önermektedir (23).

3.4.SOX9 Geni

SOX-9(cinsiyet belirleyici bölge kutusu 9) CCTTGAG dizisini HMG kutusu sınıfı DNA bağlayıcı proteinlerin diğer üyeleriyle birlikte tanır. SOX9 ayrıca erkek cinsel gelişiminde çok önemli bir rol oynayan SRY proteini tarafından düzenlenen otozomal

bir gendir. SOX9 geni otozomal olduğundan XX fetüslerde ve yetişkinlerde de ifade edilebilir SOX9, Sf1 ile çalışarak, dişi üreme sisteminin oluşumunu engellemek için Sertoli hücrelerinde AMH üretebilir. (24) Erkek cinsel organlarının gelişimini desteklemek için birkaç başka genle de etkileşime girer. FGF9'un SOX9 tarafından aktivasyonu, erkek gelişiminde testis kordonlarının oluşturulması ve Sertoli hücrelerinin çoğalması gibi hayati süreçleri başlatır (25).

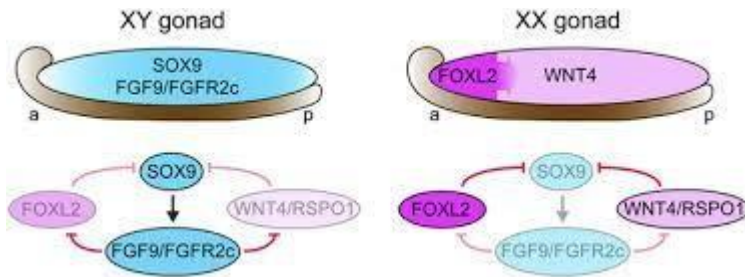
Testis indüksiyonu memelilerde gonadal Sry ve Sox9 ekspresyonu ile ve Sry'nin olmadığı omurgalılarda Sox9 ekspresyonu ile ilişkilidir. Memelilerde Sry, Sox9 ekspresyonunu yukarı doğru düzenleyerek testis indüksiyonunu başlatabilir ancak bu hipotezi destekleyen doğrudan kanıtlar eksiktir. Testislerin Sry yokluğunda geliştiği Sry-negatif XX cinsiyet tersine çevirme (XXSR) modelleri testis indüksiyonunda Sry ve Sox9 arasındaki bağlantıyı sağlayabilir. Sry ve Sox9 ekspresyonunun zamanlaması, testis belirlemedeki bir rolle tutarlıdır: Sry ekspresyonu testislerde CS 16'da başlar, ardından CS 17'de Sox9 ekspresyonunun yukarı regülasyonu izler (26).



Şekil 2: SOX9 Geninin cinsiyet gelişimi üzerindeki rolü

3.5. SRY-SOX9 Mekanizması

Memelilerde, erkek cinsiyet tayini ve spermatogenez, Y kromozomundaki genler tarafından kontrol edilir. Memeli Y kromozomunun hızlı evriminin, erkek üremesinde kritik bir işleve sahip olanlar dışında birkaç gen içermesine neden olduğu hipotezi altında bu işlevler için aday genleri saptamak ve test etmek için evrimsel karşılaştırmalar kullanılabilir. Üç ana mevcut memeliler grubundan (plasentaller, keseli hayvanlar ve monotremeler) cinsiyet kromozomlarının gen içeriğinin karşılaştırılması, X kromozomunun bir kısmının ve Y'nin karşılık gelen bir bölgesinin tüm memeliler tarafından paylaşıldığını ve çok eski olması gerektiğini göstermektedir. Memeli Y'nin evrimi bir cinsiyet kromozomunun psödootozomal bölgesine otozomal bölgeler eklendikçe birkaç ekleme ve yıpratma döngüsünde gerçekleştiğinin üzerine yeniden birleşti ve Y'de bozuldu. Bu, Y kromozomundaki çoğu genin ve sözde genin neden X üzerinde akraba olduğunu açıklıyor. Görünüşe göre SRY geninin kendisi oldukça korunmuş X-bağlantılı gen SOX3 ile yakından ilişkili olduğu için bir istisna değildir. Üç memeli gruptaki SRY / SOX baz dizisinin ve gen konumunun karşılaştırılması, SRY'nin, HMG kutusunun dışındaki tüm dizilerin mutasyonu ve kaybıyla SOX3'ten nispeten yakın zamanda evrimleştiğini göstermektedir. Burada bir transkripsiyonel aktivatör olarak hareket etmek yerine SRY geninin paralogu SOX3'ü inhibe etme görevi gördüğü ve bu da eski bir otozomal cinsiyet belirleyici gen SOX9'u inhibe ettiği öne sürülmektedir (23-27).

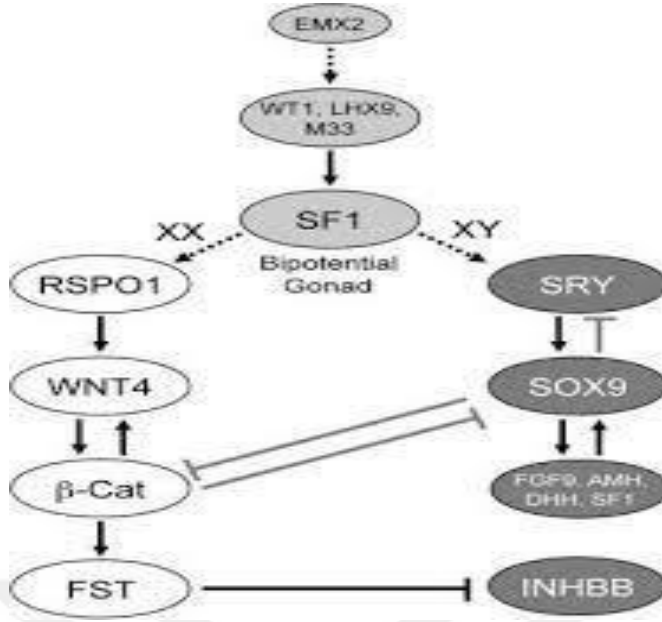


Şekil 3: SOX9 Geninin diğer genlerle etkileşimleri

Testis belirleyici faktör (TDF), Y kromozomunun Yp11.3 bölgesinde bulunan 35-kilobaz ağırlığında baz çifti dizisidir ve bu alan Y kromozomunun cinsiyet belirleyici

bölgesi (SRY) olarak adlandırılır. Memelilerde erkek embriyosunda cinsiyet belirlenmesi için ilk moleküler sinyal, farklılaşmamış gonadal çıkıntındaki somatik hücrelerin bir alt grubu tarafından SRY ekspresyonudur. Bu geçici SRY ekspresyonu pre-Sertoli hücrelerinin farklılaşmasına neden olur, aksi takdirde bu hücreler granuloza hücrelerine farklılaşıp dişi cinsiyete yönelirler. Sonuçta SRY gen bölgesi eksik veya değiştirilmiş olduğunda, undiferansiye gonadlar over yönünde ilerler. Gonad determinasyonunda ilk basamak bir takım transkripsiyon faktörlerinin ve hücre sinyallerinin birbiriyle etkilemesi aşamasıdır (28). Testis determinasyonu intrauterin, gebe kalımdan sonraki altıncı haftanın sonunda fetal testisin sertoli hücreleri farklılaşmaya ve anti-Müllerian hormonu salgılamaya başlar. Önümüzdeki iki hafta içinde Leydig hücreleri belirir ve testosteron salgılamaya başlar. Yumurtalık farklılaşması testisinkini 4-5 hafta takip eder (L.HenryPh.D., 2014)(29).

Y kromozomu (Yp11) SRY geni, birtakım cinsiyet belirleyici faktörleri içeren bir yolağı aktive eder. WT1, CBX2 (M33) SF1, GATA4/FOG2 genlerin aktivasyonu SRY aktivasyonunda kritik rol oynamaktadır. SRY geni ekspresyonu, SOX9 (SRY ilişkili HMG box bölgesi) gen aktivasyonuna yol açar. Bu SOX9 geni 7q24.3-25.1 bölgesinde lokalizedir ve erken testiküler gelişim için çok önemlidir. SOX9 aktivasyonu PGD2 ve FGF9 genlerinin aktive olmasını salar. Bu her iki gende XY gonadlarda ileri pozitif besleme yolu ile SOX9' u aktif halde tutarlar. FGF9 ile WNT4/RSP01/-catenin sinyalleri arasındaki denge FGF9 lehine olduğu zaman fetüs erkek gelişim yoluna doğru ilerlemektedir. Diğer taraftan DMRT1, ARTX ve DHH ve bazı otozomal genler de testis determinasyonunda rol almaktadır (28).



Şekil 4: Bazı otozomal genlerin testis determinasyonundaki rolleri

3.6. Genital Sistem Yapısı

CGB' larını anlayabilmek için normal cinsiyet gelişimini anlamak gerekir. İç genitalerin gelişimi aynı taraftaki gonada, dış genitalerinde gelişimi ise testesteron ve dihidrotestesterona (DHT) bağlıdır. Testesteron 5 α - reduktaz enzimiyle DHT'ye indirgenir. Bu enzim genital dokuda bulunur. Streak gonad ya da over varlığında iç genital kanal dişi yönünde gelişerek uterus ve fallop tüpü meydana gelir. Testisin varlığında iç genital kanal erkek yönünde gelişir ve epididim, vazdeferens ve seminal veziküller oluşur. DHT varsa genital çıkıntından fallus, yoksa klitoris gelişir (Şekil 5) (30).



Şekil 5: Normal cinsiyet gelişimini (31)

Erkek cinsel farklılaşması ve gelişiminde birçok gen görev almasına rağmen androjenlerin kontrol ettiği genler bu süreçte temel bir rol oynar. Androjen aktivitesiyle her iki cinsiyet yönünde farklılaşma potansiyeline sahip iç ve dış genital yapılar, geri dönüşümsüz olarak erkek yönde farklılaşma göstermektedir. Embriyonun cinsiyeti genetik olarak fertilizasyon ile belirlenmektedir. Ancak gelişimin 7. haftasına kadar cinsiyet tam olarak erkek veya dişi yönde morfolojik özellik göstermemektedirler. Gonadlar, erken evrede genital veya gonadal kabartı olarak isimlendirilen bir çift dikey yapıdan oluşur. Genital kabartı, çöломik epitelin proliferasyonu ve alttaki mezenşimin yoğunlaşması ile meydana gelir. Germ hücreleri 6. haftaya kadar genital kabartıya taşınmamaktadır. İnsan embriyosundaki primordiyal hücreler gelişimin erken evresinde allantois yakınındaki yol kesesi duvarında endoderm hücreleri arasında oluşmaya başlamaktadır. Primordiyal hücreler ameboid hareketlerle arka bağırsağın dorsal mezenteri boyunca göç ederek 5. haftanın başlangıcında primitif gonadlara ulaşır ve gelişimin 6. haftasında genital kabartılara yerleşirler. Bu göç gerçekleşmediği takdirde gonad gelişimi olmamaktadır. Primordiyal germ hücreleri, gonadların over veya testis yönünde gelişmesinde indükleyici bir role sahiptir. Primordiyal hücreler, genital kabartıya ulaşmadan kısa bir süre önce buradaki çöломik epitel hücreleri çoğalmaya başlar ve penetrasyon yoluyla

mezenkim altına geçer. Bu şekilde, primitif seks kordonları adı verilen düzensiz şekilli yapılar oluşmaya başlar. Bu kordonlar dişi ve erkek embriyolarda yüzey epiteline yapışıktır ve herhangi bir yönde farklılaşmaları olanaksızdır. Bu yapıya farklılaşmamış gonad ismi verilmektedir (32).

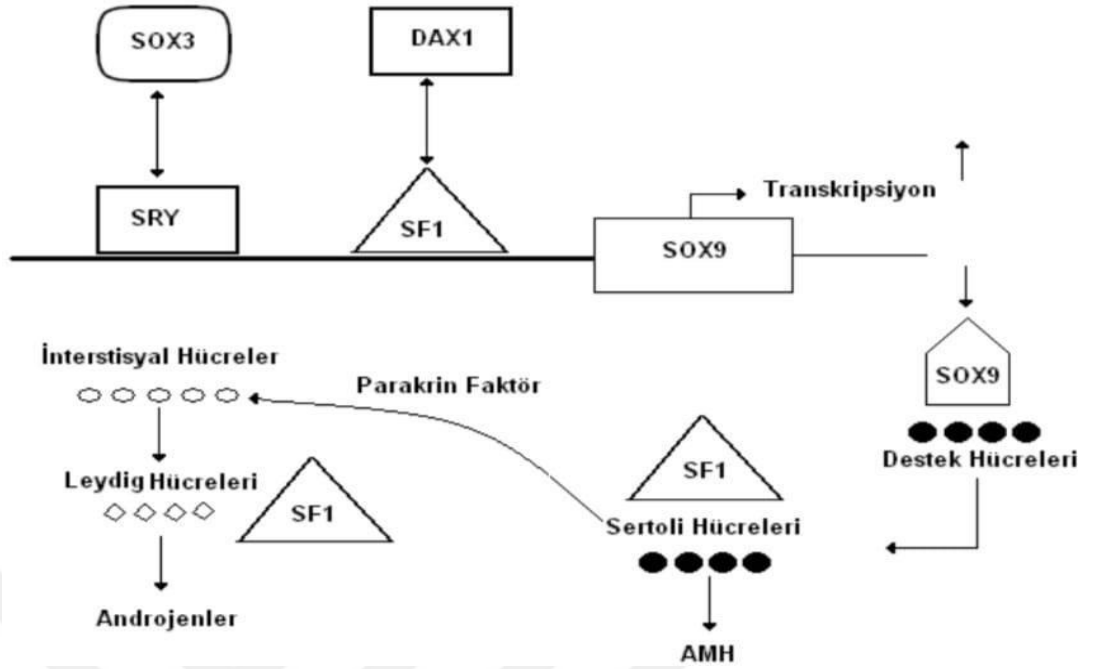
3.6.1 Testis gelişim aşamaları

Genetik olarak erkek olan embriyo XY kromozom yapısına sahiptir. Y kromozomunun sentezlediği testis-determining factor (TDF) etkisiyle, primitif seks kordonları çoğalmaya devam ederek medullayı geçer; testis veya meduller kordonları oluşturur. Meduller kordonlardan daha sonra rete testis yapısı gelişmektedir. Gelişimin ileri aşamalarında, testis kordonlarının yüzey epiteli ile bağlantısı koparak arada tunica albuginea (beyaz tabaka) olarak isimlendirilen fibröz konnektif doku oluşur. Dördüncü ayda testis kordonları at nalı şeklini alır ve kordonların devamında rete testis yapısı bulunur. Bu dönemde testis kordonları primitif germ hücrelerini ve sertoli hücrelerini içermektedir. Leydig hücreleri gonad kabartısındaki mezenkimden köken almaktadır. Leydig hücreleri testis kordonlarının farklılaşmasından hemen sonra oluşmaktadır. Gebeliğin 8. haftasında fetal gonadlarda bulunan leydig hücreleri tarafından testosteron üretimi başlamaktadır ve bu aşamada testisler genital kanal (duct) ve dış genital yapı farklılaşmasını başlatabilecek yetenektedir. Testosteron, wolf kanallarında eksprese edilen AR üzerinde lokal etki yaparak bu yapıların dejenerasyonunu önlemekte; vas deferens, epididimis ve 6 seminal vezikülün oluşumunu sağlamaktadır (33). Testosteron kana salındıktan sonra etkisini endokrin olarak göstermektedir. Bu şekilde genital tüberkülden dış genital yapının farklılaşmasında ve prostat morfogenezinde görev yapmaktadır. Testosteronun fetal dokulardaki konsantrasyonu düşüktür. Ancak dış genital yapı ve prostat dokusunda 5 a-redüktaz tip II enzimi tarafından testosterondan dihidrotestosteron meydana gelmektedir (31). Dihidrotestosteron, testosterona göre 10 kat daha güçlü bir etki oluşturmaktadır (34). Testis kordonları puberte dönemine kadar solid tabiatla kalırlar. Kordonlarda lümen oluşuktan sonra seminiferöz tübül olarak adlandırılırlar. Seminiferöz tübüller rete testis ile birleşmektedir. Rete testislerin devamı efferent kanalcıklar (ductuli efferentes) olarak isimlendirilmektedir. Efferent kanalcıklar, rete testis ile mezonefrik

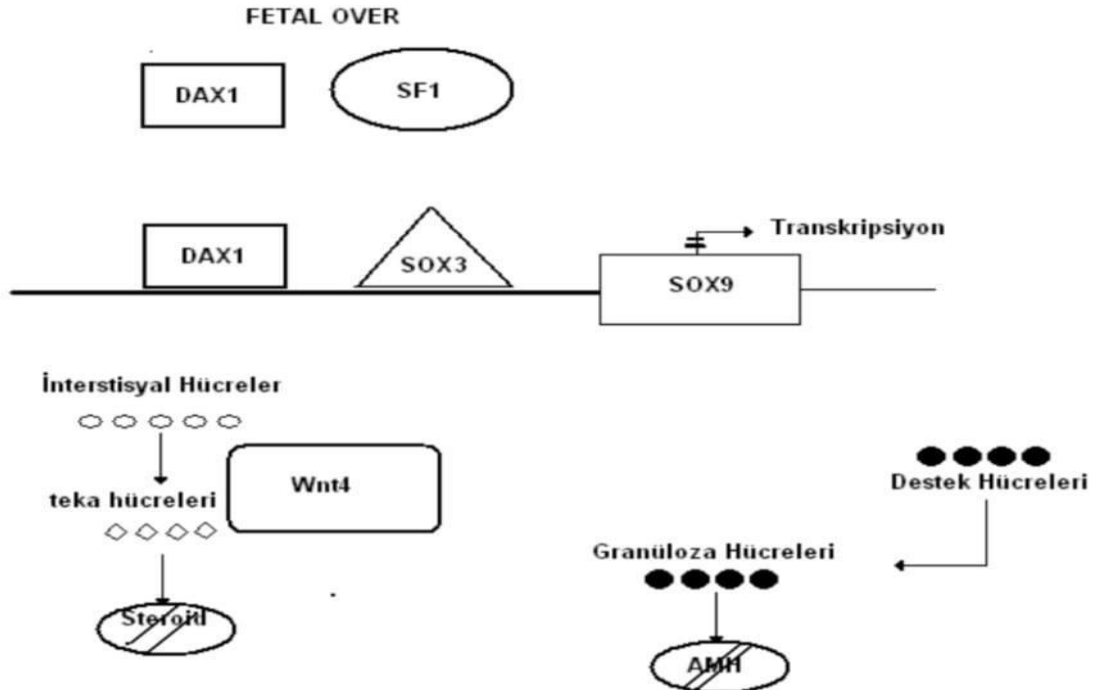
kanal veya wolf kanalı olarak da bilinen deferens kanal (ductus deferens) arasında bağlantı kurmaktadır.

3.6.2 Genital kanalların farklılaşma süreci

Genital kanalların gelişimi ve dış genital yapının oluşması, intrauterin hayatta fetüste dolaşan hormonların etkisi altında meydana gelmektedir. Fetal testislerden salgılanan AMH paramezonefrik kanalın gerilemesine neden olur. Testosteron, testislerde üretilen ve hedef dokulara ulaşan majör androjendir. Testosteron, dokularda 5α redüktaz enzimi aracılığıyla dihidrotestosterona dönüştürülür. Testosteron, mezonefrik kanalların virilizasyonuna aracılık ederken; dihidrotestosteron ise erkekte dış genital yapının gelişmesini sağlamaktadır. Mezonefrozun gerilediği esnada bazı boşaltıcı tubüller, rete testis kordonları ile bağlantı kurarak efferent kanalcıkları meydana getirir. Mezonefrik kanallar, erkekte ana genital kanalların köken aldığı yapıdır. Efferent kanalcıklardan sonra 7 mezonefrik kanal uzun ve kıvrımlı bir hal alır; bu yapı duktus epididimis olarak adlandırılmaktadır. Mezonefrik kanal, duktus epididimis ile seminal vezikül arasında kalın bir kas tabakası kazanır. Bu yapı duktus deferens olarak isimlendirilir. Seminal vezikülden sonraki yapıya ise ejakülatör kanal denilmektedir. Embriyo gelişiminin 3. haftasında primitif çizgiden köken alan mezenkim hücreleri, kloakal membran civarına göç ederek burada bir çift kloakal katlanma meydana getirir. Bu katlanmalar membranın kranyal kısmında birleşerek genital tüberkül yapısını oluşturmaktadır. 6. haftada, kloakal membran ürogenital ve anal membranlara bölünür. Kloakal katlanmalar ise üretral ve anal katlanmaları meydana getirmektedir. Bu olaylar devam ederken, üretral katlanmaların yan kısımlarında genital şişkinlikler oluşur. Bu şişkinliklerden, erkeklerde skrotal şişkinlik olarak isimlendirilen yapılar gelişmektedir. Prostat, organogenezin ilk aşamalarında epitelyal tomurcuktan oluşmaya başlamaktadır. Bu dönemde sadece epitelyum çevresinde bulunan mezenkimde androjen reseptör ekspresyonu gerçekleşmekte; epitelyal tomurcuğun gelişiminin, mezenkimden epitele iletilen androjen bağımlı parakrin sinyaller aracılığıyla olduğu bilinmektedir (35). Gebeliğin 10-12. haftalarında, ürogenital sinüsten dışarıya doğru uzanan bir çıkıntıdan prostat morfogenezi başlamaktadır. Androjenler prostat morfogenezi ve farklılaşması için yeterlidir (32).



Şekil 6: Testis gelişim aşaması (60)



Şekil 7: Over gelişim aşaması (60)

4.GEREÇLER ve YÖNTEMLER

Çalışmamızı Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'na gelen 46 XY Cinsiyet Anomalisi ön tanısı sahip 0-45 yaş arası 60 hastadan alınan kanlardan elde ettiğimiz DNA ile gerçekleştirdik.

4.1 Kullanılan Gereçler

Etüv

Combi-Spin (Biosan FLV-2400N)

15 ml'lik konik santrifüj tüpleri

Şaleler

Buzdolabı

Laboratuvar saati

Benmari

Mikropipetler

Buzdolabı

Rt-PCR cihazı (GeneAmp PCR System 9700)

Plate Septa 96-Well

Mikroskop

Elektronik duyarlı terazi

Mezürler

Vorteks

Lam

Flaster

Spanch

4.2 Yöntemler

4.2.1 Hastalardan kan alınması

Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi Hastanesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'46 XY Cinsiyet Anomalisi ön tanısı ile gelen 0-45 yaş aralığındaki 60 kişiden EDTA'lı tüpler içinde kanlar alındı.

4.2.2 Alınan kanlardan DNA eldesi

5-10 ml tam kandan DNA izole etmek için uygun bir protokol kullanılarak DNA izolasyonunu gerçekleştirdik.

4.2.3. Hücrenin preparasyonu

- Öncelikle dolaptaki kanların erimesi için belli bir süre dışarda beklettik
- Sonra Kanlar Sodyum- EDTA 'lı mor tüplere alındı.
- Ön soğutma için santrifüj 4 ° C ye alındı.
- 50 ml'lik falkon tüpe 5-10 ml kan ve 40 ml Reaktif A eklendi.
- Tüp 2 dakika elle hafifçe çalkalandı.
- 4 ° C de 3000 rpm de 10 dakika santrifuj bırakıldı.
- Falkon tüpü içindeki pelete zarar vermeden içine çamaşır suyu eklenen behere boşaltıldı.

4.2.4. Hücre lizisi

- Altta kalan pelletin üzerine 2 ml Reaktif B eklendi.
- Pipetaj yapıldı.
- Her tüpe pipetaj yapıldıktan sonra 15 ml'lik tüplere aktarıldı

4.2.5. Proteinlerin uzaklaştırılması

- Çalışma başında Benmari 65 ° C kadar ısıtıldı.
- 15 ml'lik her tüpe 500 ml Sodyum Perklorat eklendi.
- Tüpler oda ısısında 15 dakika Rotary mixe koyuldu.
- Tüpler benmaride (65 ° C) 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

4.2.6. DNA ayrıştırılması

- Benmariden çıkarılan her tüpe 2 ml kloroform (-20 C de muhafaza edilmeli) eklendi.
- Kloroformdan sonra tüpler 10 dakika rotermixte karıştırıldı.
- Santrifüj ısısı tekrar yükseltildi
- Tüpler 15-20 ° C sıcaklığa ve 1400 rpm ayarlanan santrifüjde 10 dakika döndürüldü.

4.2.7. DNA çökmesi

- Tüpüm içinde DNA bulunan üst kısım pastör pipeti ile alınarak 15 ml 'lik farklı bir tüpe aktarıldı.
- 4 ° C'de dolapta olması gereken etanol içinde DNA bulunan tüpe DNA miktarının 2 katı kadar eklendi. İyice karışması için yavaşça elle tüp çevrilerek DNA'nın yoğunlaştırılması sağlandı.
- Öze ile yoğunlaşan DNA yavaşça alındı
- Ucunda DNA bulunan öze 1,5 ml lik eppendorf tüpe ters bırakılarak 5-10 dakika bekletilerek kurutuldu.
- DNA kurduktan sonra DNA'nın bulunduğu kısım tüpün içinde olacak şekilde kesildi.
- İçinde DNA bulunan eppendorf tüplerinin üzerine 200 µl distile su eklendi.

4.2.8. Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Yapılan çalışmada toplam hacim 20 µl dir. Primerleri sulandırmak için TE buffer kullanıldı. Her bir hasta için SRY ve SOX9 primerleri kullanılarak RT-PCR testi yapıldı. RT- PCR testinde kullanılan malzemeler (tablo 3 'te) gösterilmiştir. RT-PCR da kullanılan primerlerin baz dizilimi (tablo 4'ta), RT-PCR için gerekli döngü koşulları (tablo 5'te) gösterilmiştir.

Tablo 3: Gerçek zamanlı PCR içeriği

Tek Kullanımlık Enjeksiyon Suyu	DNA	Reverse Primer	Forward Primer	SyberGreen MasterMix(Qiagen)
7 µl	2 µl	0.5 µl	0.5 µl	10 µl
Kullanılan Toplam Hacim = 20 µl				

Tablo 4: Primer dizileri

SRY	F: 5'-GGATGACTGTACGAAAGCCACAC -3'
	R: 5'-TTTGTCCAGTGGCTGTAGCGGT -3'
SOX9	F: 5'-AGGAAGCTCGCGGACCAGTAC -3'
	R: 5'-GGTGGTCCTTCTTGTGCTGCAC -3'

Tablo 5: Gerçek zamanlı PCR döngü koşulları

Adım	Hedef sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	95°C	15 dakika	1
Denatürasyon	95°C	15 saniye	40
Annealing	63°C 55°C	20 saniye (SRY için) 20 saniye (SOX9 için)	40
Elongasyon (Uzama)	72°C	20 saniye	40

***Primerlerin sadece bağlanması ve okuması için farklı döngü koşulları uygulanmıştır.**

5. BULGULAR

Yapılan bu çalışmada Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Tanı Laboratuvarına yönlendirilen cinsiyet anomalisi tanısı ile gelen 60 hastayı kapsamaktadır. Çalışma grubumuzdaki 60 hastaya sitogenetik analiz yapmak için hastalardan alınan periferik kandan lenfosit kültürü yöntemi ile karyotip analizi yapıldı ve sonuçlar değerlendirildi. 60 hastaya SRY- SOX9 gen bölgelerinin varlığı veya yokluğunun tespiti için önceden yapılmış olan DNA izolasyonu sonucunda elde edilen DNA lar ve hedef primerler kullanılarak RT-PCR yöntemi ile elde ettiğimiz veriler değerlendirilmiştir. Yapılan bu çalışmada karyotip analiz sonucu önemli olup bu sonuçlara göre elde edilen gen bölgelerinin varlığı ve yokluğu incelenerek değerlendirme yapılmıştır. Yaptığımız çalışma sonucunda cinsiyet anomalisi tanısı ile gelen 60 hastadan 46XY olan hastalar sitogenetik analiz sonuçlarına göre tespit edildi ve bu hastalardaki SRY ve SOX9 gen bölgelerinin varlığı ve yokluğuna bakılarak 44 tane 46XY hastadan 4 tanesinde SRY gen bölgesi bulunmayıp SOX9 gen bölgesi bulunmuştur 46 XX karyotipine sahip 16 kadın hastadan 3 tanesinde SRY geni bulunup 13 tanesinde bulunmazken SOX9 genleri tüm hastalarda bulunmuştur.

5.1 Sitogenetik Sonuç

60 hasta grubunda yapılan sitogenetik analizde 60 hastadan, 1 (%1,7) tanesi Klinefelter sendromu (47,XXY), 43 tanesi (%71,7) 46,XY (erkek), 16 tanesi (%26,7) 46,XX(kadın) karyotipine sahip olduğu görüldü. Bu karyotip sonuçları göz önüne alınarak gen bölgeleri ile arasındaki ilişki incelendi. Çalışma grubumuzda bulunan farklı kromozom yapısına sahip tüm olgular (tablo 6) da verilmiştir.

Tablo 6: Bireylerin karyotip sonucu

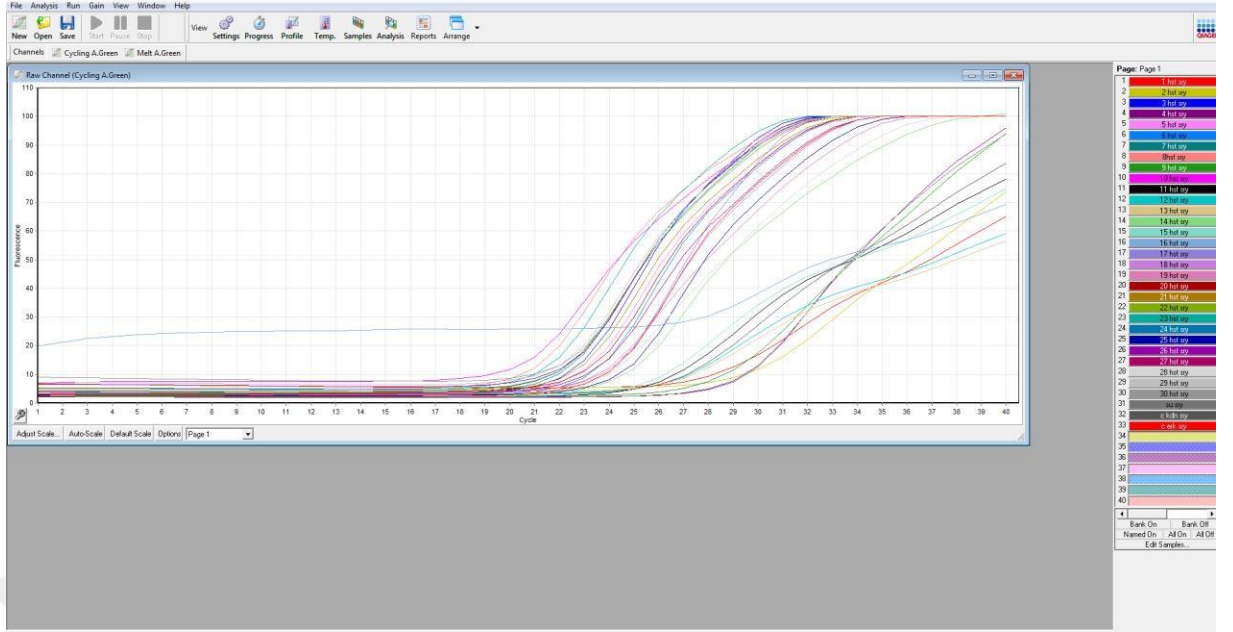
Karyotip Sonucu				
		Frequency	Percent	Cumulative Percent
Valid	46,XX	16	26,7	26,7
	46,XY	43	71,7	98,3
	47,XXY	1	1,7	100
	Total	60	100	

Tablo 7: Cinsiyete göre yüzdeler

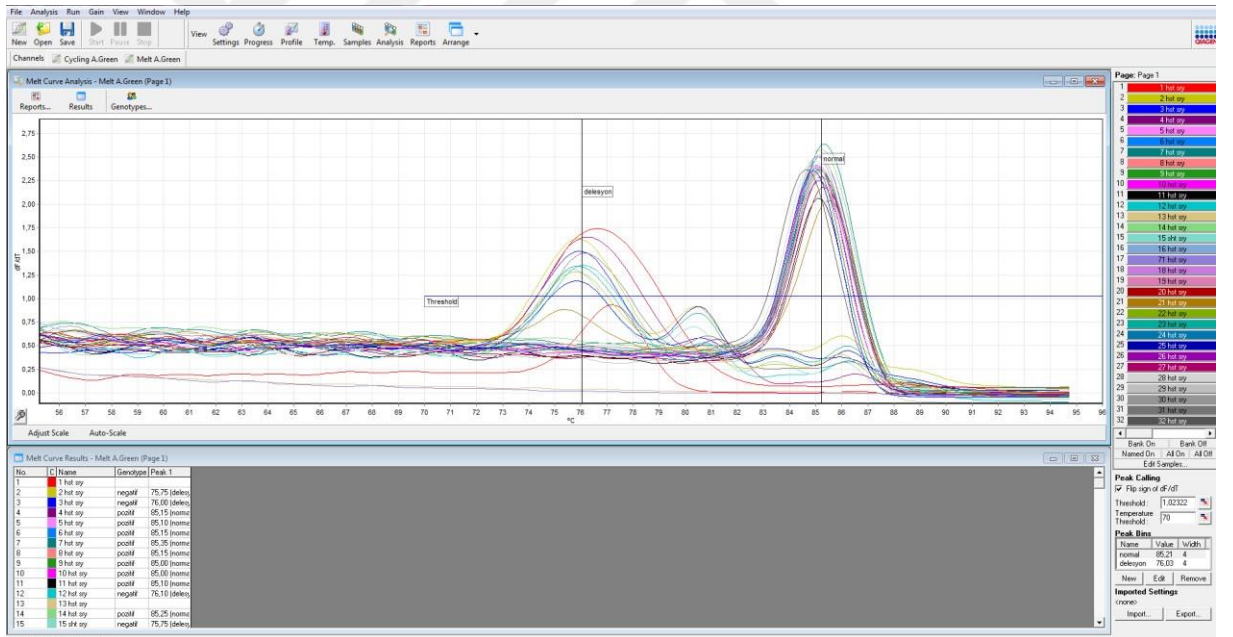
Cinsiyet				
		Frequency	Percent	Cumulative Percent
Valid	Erkek	44	73,3	73,3
	Kadın	16	26,7	100
	Total	60	100	

5.2 Rt- PCR Sonuçları

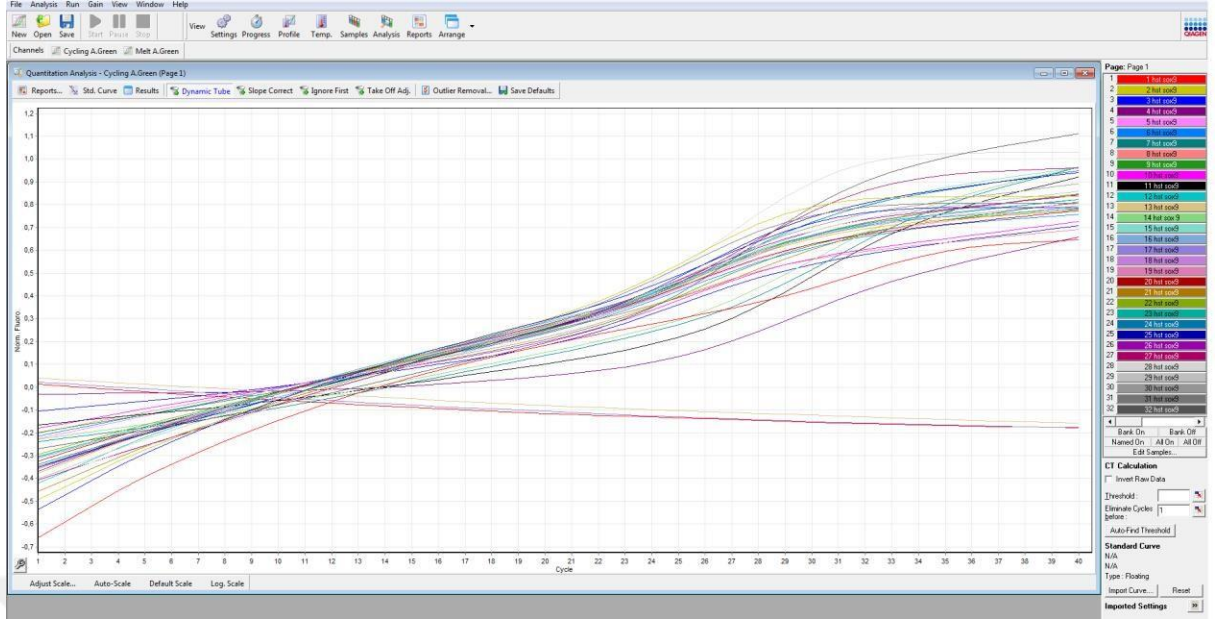
Yapılan bu çalışmada 60 bireyde 2 farklı gen bölgesi (SRY, SOX9) 2 farklı primer kullanarak hedef genlerin olup olmadığı ve bu genlerin cinsiyet üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Tüm hastaların RT- PCR testi sonunda primer bağlanma eğrileri kontrol edildi. Bağlanan primerlerin sinyallerine göre artan örneklerin erime eğrileri göz önüne alınarak sonuçlar değerlendirildi.



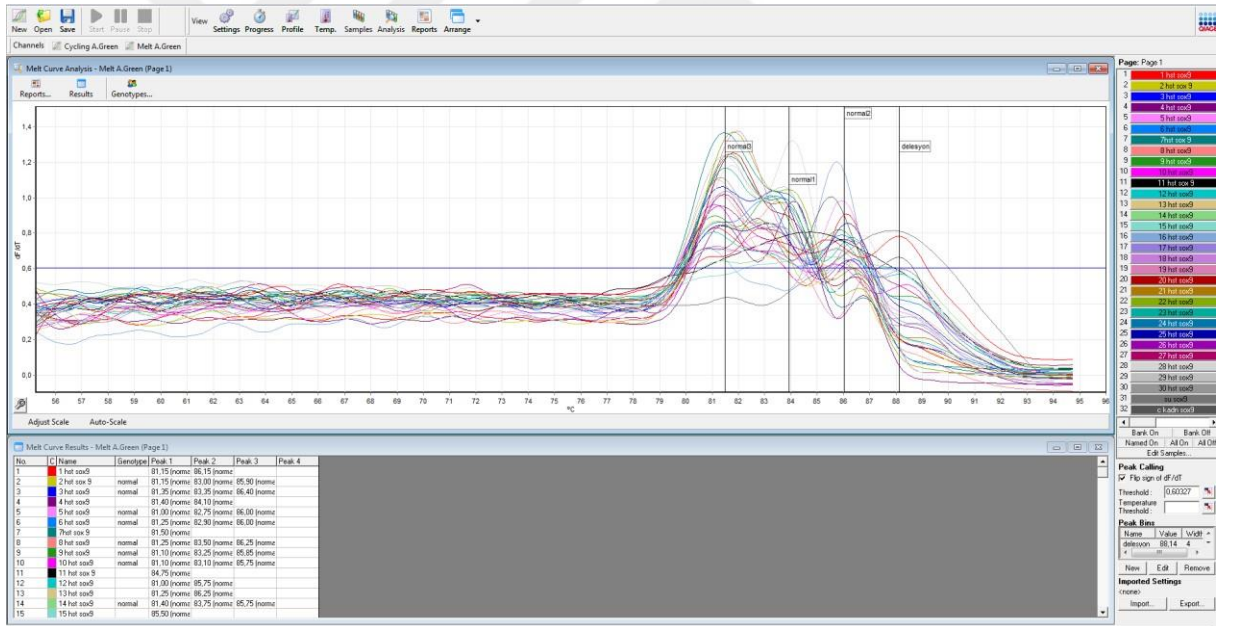
Şekil 8: SRY Primerinin bağlanma pikleri (binding peak)



Şekil 9: SRY Primerinin erime eğrisi (melting curve)



Şekil 10: SOX9 Primerinin bağlanma pikleri (binding peak)



Şekil 11: SOX9 Primerinin erime eğrisi (melting curve)

5.3 Sonuçların Değerlendirilmesi ve Yorumlanması

Her bir primerin Melting curve'ları (şekil 9) ve (şekil 11' de) gösterilmiştir. Erime eğrileri dikkate alınmış olup buna göre gen bölgelerinin varlığı ve yokluğunun cinsiyet üzerindeki etkisi araştırıldı ve elde edilen veriler doğrultusunda sonuçlar değerlendirildi.

5.4 Çalışmada Kullanılan İstatistiksel Analizler

Yaptığımız bu çalışmada istatistiksel analiz için SPSS programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikleri; kategorik değişkenler için karyotip sonucu,cinsiyet ve gen bölgeleri ; sayısal değişkenler için sayı ve yüzdelerik değerleri verilmiştir. Bu çalışmamızda ele aldığımız iki farklı örneklem grubunu belirlediğimiz gen bölgeleri ile ilişkilerini kıyaslayıp aralarında anlamlı bir fark olup olmadığını tespit etmek için Ki-Kare (Chi-Square) Testi uygulanmıştır.

5.4.1 SOX9 gen analizi

SOX9 primerin uygulandığı 60 bireyin hiçbirinde mutasyon saptanamamıştır. SOX9 geni otozomal bir kromozom üzerinde olduğu için tüm bireylerde bu gen bölgesi bulunmaktadır. SRY geninin varlığı veya yokluğuna göre sadece uyguladığı aktivite değişmektedir. SOX9 geni, SRY bulunması durumunda erkek birey gelişmesi için diğer genlerle iç genital yapının gelişiminde rol oynarken SRY geni bulunmazken farklı gen bölgeleriyle iş birliği sonucu dişi birey iç genital yapısının gelişmesinde rol oynamaktadır.

Tablo 8: SOX9 geninin bireylerde bulunma yüzdesi

Sox9 geni					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Var	60	100	100	100

5.4.2.SRY gen analizi

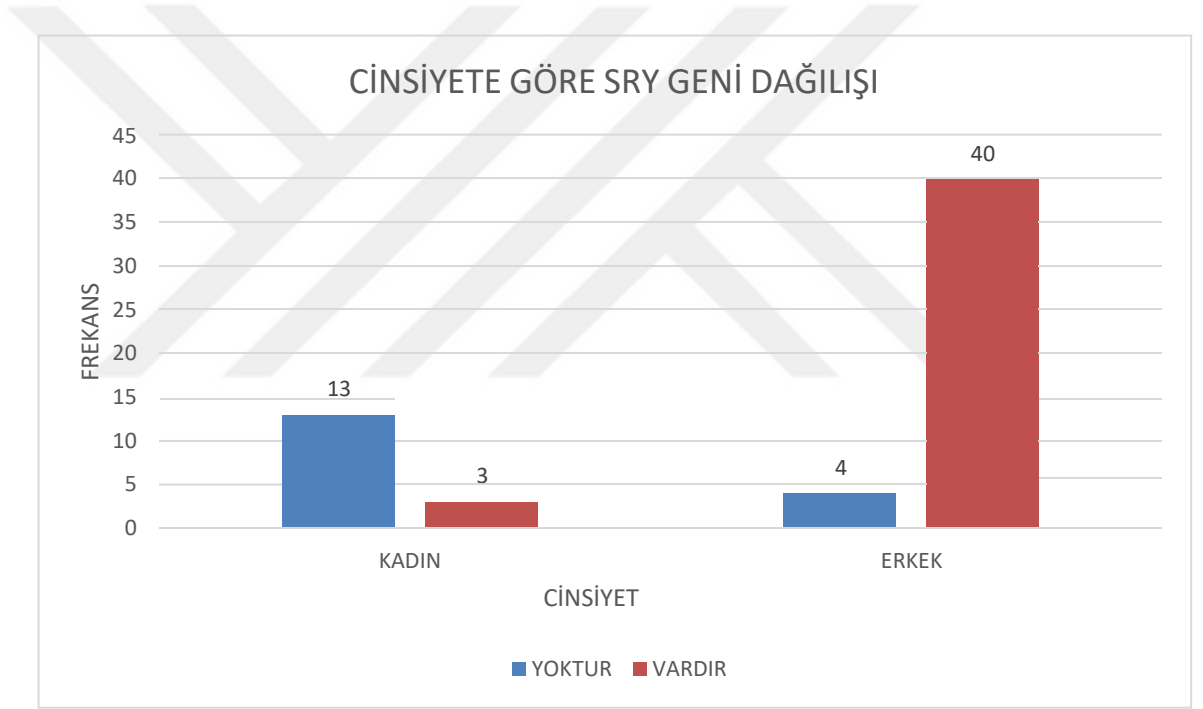
Primerin uygulandığı 60 bireydeki 46,XX karyotipine sahip 16 bireyin 13'ünde SRY bulunmazken 44 erkeğin (46,XY) 40 tanesinde SRY geni var olup (%90,91) 4'ünde (% 9,09) SRY geni saptanamamıştır. Yapılan istatistiksel analizde 46,XY cinsiyet anomali ile gelen 44 bireyden 4'ünde mutasyon saptanmıştır. Erkek bireylerde SRY gen bölgesinin varlığı söz konusuysen kadın bireylerde bu gen bölgesinin normal şartlarda bulunmaması gerekmektedir. Ama cinsiyet anomali durumunda hastalarda bu durum tam tersi olmaktadır. Bu çalışmamızda SRY geni bulundurmayan 46XY

hastaların tespiti yapılmış olup 44 erkek bireyden 4 tanesinde SRY geni bulunmamaktadır.

Tablo 9: SRY geninin cinsiyete göre dağılımı

Crosstab				
		Sry geni		Total
		Yoktur	Vardır	
Cinsiyet	Kadın	13	3	16
	Erkek	4	40	44
Total		17	43	60

Ki-Kare=30,088 P=0,000 Fark anlamlıdır.

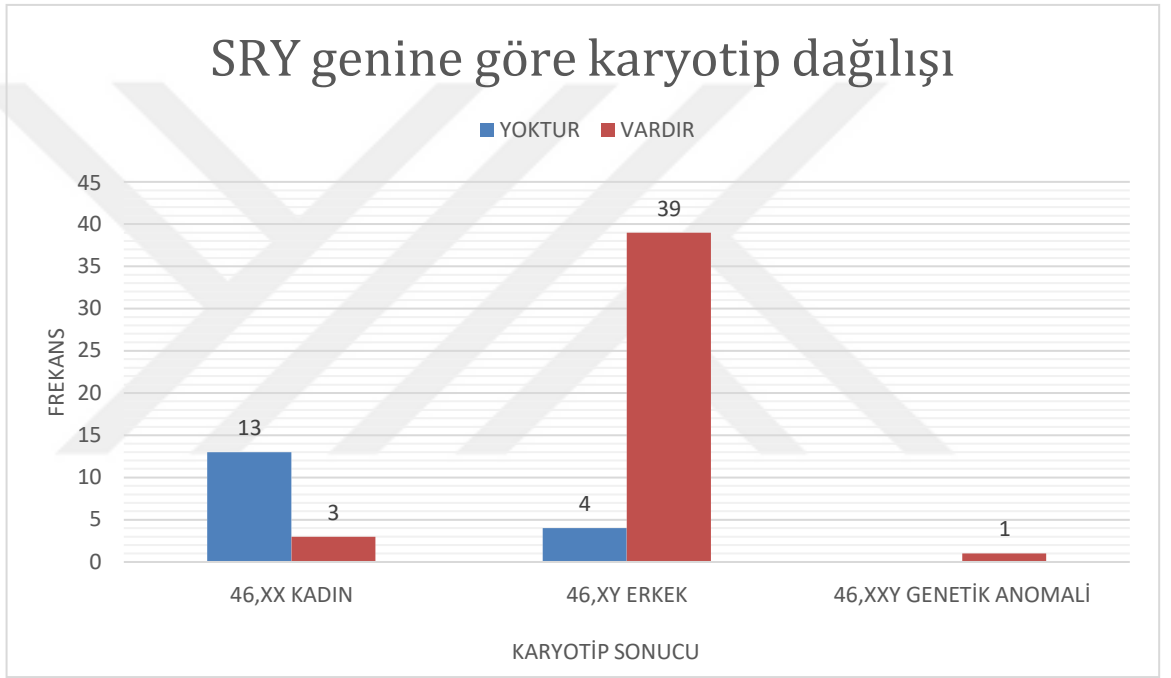


Şekil 12: Cinsiyete göre sry geninin dağılımı

Tablo 10: SRY geninin karyotip sonucuna göre dağılımı

Crosstab				
		Sry geni		Total
		Yoktur	Vardır	
Karyotip Sonucu	46,XX Kadın	13	3	16
	46,XY Erkek	4	39	43
	47,XXY Genetik Anomali	0	1	1
Total		17	43	60

Ki-Kare=30,129 P=0,00 fark anlamlıdır.



Şekil 13: SRY genine göre karyotip dağılımı

6.TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Cinsiyet anomalisi X veya Y Cinsiyet kromozomlarının sayıca eksikliğine, fazlalığına veya gen bölgelerinin duplikasyon/ delesyonuna bağlıdır. Cinsel farklılaşmada görevli olan *DMRT1*, *DMRT3*, *WNT4*, *SOX9*, *SF1*, *SRY* ve *DAX1* gibi genler ve bu genlerdeki kusurlar, ekspresyon düzeyleri değişen şiddette cinsel gelişim bozukluklarına neden olabilir (36).

Yaptığımız bu çalışmada cinsiyet anomali ön tanısı ile gelen hastalardan 46 XY karyotipine sahip hastalarda SRY ve SOX9 geni varlığı incelendi bu çalışma sonucunda erkek bireylerde SRY pozitif kadınlarda negatif olması beklenmektedir. SOX9 geni de her iki cinsiyet grubunda pozitif olmalıdır. SOX9 geni tüm bireylerde pozitif olup SRY geni 46 XY karyotipine sahip 44 hastadan 4 tanesinde negatif çıkmıştır. Bu durum negatif çıkan 4 hastanın genetik testleri yapılmış olup dış ve iç genital yapılarında herhangi bir ayırım yapılamamış olup bu incelemeler sonucunda daha faydalı bir bilgi sağlayabilmek ve cinsiyet gelişim bozukluğu tespiti için farklı testler önerilmektedir. Dış genital yapılarına bakılarak ayırımı yapılamayan yani kuşkulu genital yapı, cinsel organların kız veya erkek yönünde tam farklılaşmamış olması nedeniyle ortaya çıkan cinsiyet belirsizliğini ifade eder ve genel olarak 4500 doğumda bir görülür (37-38). İnterseks yeni bir tanımlama ile cinsel gelişim bozukluğu olarak adlandırılmakta ve kromozomal, gonadal veya anatomik cinsel yapıların atipik olduğu doğumsal durumları tarif etmektedir (39)

Cinsel gelişim bozukluğu belirtileri doğumda;

- 1- Açık bir şekilde kuşkulu dış genital yapı
- 2- Dişi dış genital yapı ile birlikte klitoris hipertrofisi
- 3- Görünümde erkek dış genital yapıyla birlikte inmemiş testis, mikropenis
- 4- Aile bireylerinde cinsel gelişim bozukluğunun varlığı
- 5- Prenatal karyotip ile genital görünüm arasındaki farklılık şeklinde belirtilir (39).

Çocukluk veya ergenlik döneminde tanı konulması durumu;

- 1- Daha önceden tanınmamış kuşkulu genital yapı
- 2- Gecikmiş veya tamamlanmamış püberte bulguları
- 3- Dişide virilizasyon bulgularının ortaya çıkması
- 4- Primer amenore
- 5- Erkek meme gelişimi şeklinde sıralanabilir (39).

Y kromozomu erkek cinsiyet gelişimini için belirleyici faktördür. Y kromozomu embriyoyu normalde dişiye doğru giden süreçten uzaklaştırır. Fisher, tüm erkeksi özelliklerin Y kromozomu üzerindeki genlerin kontrolünde olmasının şart olmadığına işaret etmiştir. Çünkü Y ile bağlantılı sadece tek bir gen gonadı erkek yönde farklılaştırmaktadır. Sonrasında testiküler hormonlar, otozomal bütündeki genler tarafından bu işlem izlenmektedir. Bu stratejiye göre herhangi bir gen cinsel ayrımın oluşmasına katkıda bulunabilir (40-41).

Önceden yapılan araştırmalarda Y kromozomunun kısa kolunda yerleşmiş olan SRY genin tek başına testis gelişimini sağlayabildiği varsayılıyordu (SRY nin önceki adı; TDF =testis belirleyici faktör) sonradan bulunan başka yeni genlerin de testis oluşumunda rol aldığı anlaşılmıştır. (Otozomal kromozomlarda sox9, wt-1, wnt-4, sf-1; Gonozomal bir kromozom olan X kromozomunun kısa kolunda ise dax-1 geni örnek verilebilir.) Sox9, fgf9, pıgd2 gibi genler dozaja bağlı olarak testis yönünde gelişmeyi sağlarken wnt4, foxl2, dax1, b-catenin geni ise over yönünde gelişmeyi sağlar (42). Y kromozomunun kısa kolunda lokalize olan SRY geni 'pseodoautosomal region 1' denilen alana yakın bir konuma yerleşmiş durumdadır. PAR1 mayozun, profaz I aşamasında "crossing over" denilen genlerin yer değiştirmesi olayının en sık gerçekleştiği bölgedir ve bazı durumlarda SRY geni de bu değişimine katılabilir. Bu yüzden embriyonun cinsiyet gelişiminin başladığı evrede XY kromozom yapısına sahip olmasına rağmen SRY geni olmadığı için dişi olarak, XX kromozomuna sahip olduğu durumda ise SRY geni bulunduğu için erkek olarak gelişim gösterecektir (43).

SRY geni cinsiyetin belirlenmesinin ilk basamağında farklılaşmamış gonadın sertoli hücrelerinin çekirdek kısmında bulunur. İnsanlarda embriyo gelişiminin ilk 6 haftasında germ hücreleri henüz farklılaşmamıştır hem kız hem de erkek birey için aynıdırlar. Kısacası dişilik ve erkeklik yönünde gelişim söz konusu değildir (44).

Gonad farklılaşması uygun genetik bileşenler varsa ve cinsiyet erkek yönünde geliyecekse gelişimin 7. haftasında testis farklılaşmaya başlar. Testiküler yapılar gelişmeye başlar bunlar; sertoli hücrelerinden spermatogoniya oluşumuna kadar olan bir dönüşümdür. Sertoli hücreleri 8. haftada hormon üretmeye başlar. SRY geninin olmadığı zaman dişi yönünde gelişme gösterir. 2-6. aylarda overler gelişmeye başlar. Ama cinsiyet gelişimi sadece genlere bağlı olmayıp hormonlarında bu durum üzerinde etkisi bulunmaktadır. Hormonal farklılaşmada erkek karyotipine sahip bireyde testisler, iç ve dış genital farklılaşma için gerekli steroid ve protein yapısındaki hormonları salgılar. Leydig hücreleri tarafından salgılanan testosteron erkek yönünde gelişmesini sağlarken, sertoli hücreleri tarafından salgılanan anti müllerian hormon müller kanalını gerileterek uterus gelişimini engeller. Erkeklerde testosteron 8-9. haftalarda üretilmeye başlar. 9-14. Haftanın sonunda wolf kanallarının geliştirdiği yapılar oluşur. 28. haftadan sonuna farklılaşma tamamlanır (42).

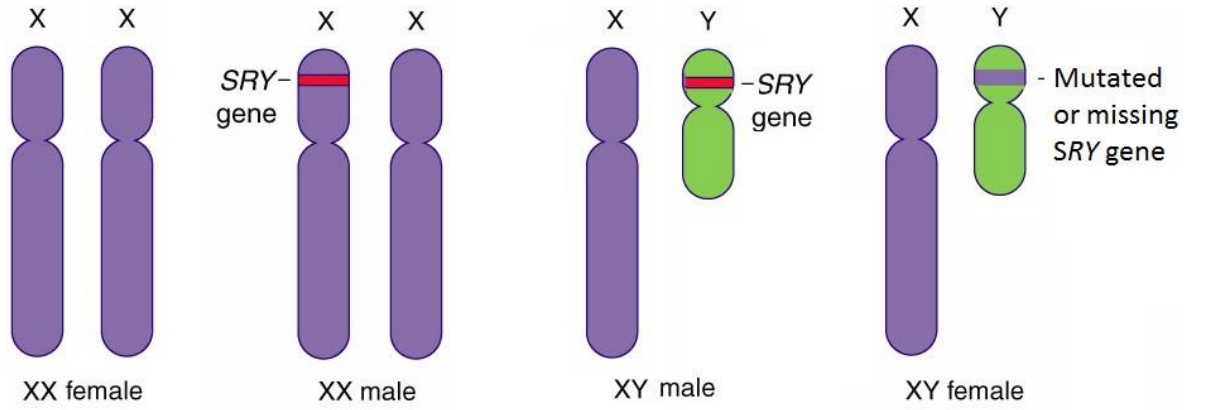
SRY' nin Sertoli hücresi oluşumunda etkili gen olduğu bilinmektedir (45-46). SRY geni tarafından kodlanan protein HMG kısmını taşımakta ve bundan dolayı transkripsiyon faktörü olarak çalışmaktadır (46). SRY geni mutasyonları XY cinsiyet dönüşümü olgularında bildirilmiştir (47-48). Erkek/dişi yönündeki cinsiyet dönüşümü SRY geni mutasyonlarına bağlı olarak gerçekleşir. (49). HMG bölgesi içeren SRY geni tek ekzonlu bir yapıdan oluşur. DNA'ya bağlanma ve DNA'yı bükme özelliğine sahiptir. Bundan dolayı transkripsiyon aşamasını düzenlediği düşünülmektedir (50-51).

İnsanlarda, 46, XX cinsiyetin tersine çevrilmesi, *SOX9'un* duplikasyonu (aşırı ekspresyonu) ve *SRY* geninin varlığı ile belirlenir. 46 XY cinsiyet tersine çevrilmesinin *DAX1* ve *WNT4* genlerinin artırılması, *SOX9*, *SF1*, *WT1* ve *DMRT1-DMRT2* genlerinin haplo yetersizliği cinsiyet dönüşümlerini etkilediği düşünülmektedir (52-53). Cinsiyetin dönüşümleri sadece *SRY* geni ile açıklanamaz. Bunun yanında cinsiyet belirleme kademesindeki diğer genlerdeki "işlev kazanımı" ve "işlev kaybı" gibi mutasyonlarının cinsiyetin tersine dönmesine neden olabileceğini düşünülmektedir. Diğer bir olasılık, kritik genlerin dozajının yani ekspresyon seviyeleri de cinsiyet belirlemeyi etkileyebilmektedir. Çeşitli otozomal genler (*WT1*, *SOX9*, *WNT4*, *DMRT1*) ve cinsiyete bağlı genler (*DAX1*, *SRY*) cinsiyet

belirleme sürecinde etkileşime *girerler*. Ancak tam etki mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır (54-55).

Q yu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SRY geni, kan ve gonad örneklerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak ve SRY motifini doğrudan sıraladı. 16 olgunun 15'i SRY pozitif, bunların 13'ü (%86,7) testis dokusu varlığını ve 2'si testis dokusu olmayan yumurtalıkları gösterdi. Bir SRY negatif vakası testis dokusunun varlığını gösterdi. Bu çalışmaya göre periferik kan karyotipi gonadal tipini yansıtmaz. Bu hastalığın kaynağı SRY geni dışında testisle ilgili faktörler olabilir (56). Diğer bir çalışma, Levente Lázár ve arkadaşları tarafından yapılan bu çalışmanın amacı, SRY bölgesinin gerçek zamanlı PCR amplifikasyonunun güvenilirliğini ve tekrarlına bilirliliğini kontrol etmektir. Amniyonik sıvı örnekleri 11-22. Gebelik haftaları arasında 56 gebeden alındı. Cinsiyeti belirlemek için SRY bölgesinin RT-PCR analizi yapıldı. 50 gebeliğin 26'sında sitogenetik analizde erkek fetüs bulundu. PCR sonucunda 27 vakada SRY bölgesi pozitif olup, 46'lık bir XY karyotip vakasında SRY bölgesi için PCR reaksiyonu negatif, bunun sonucunda bu yöntemin cinsiyeti belirlemek için kolay, invaziv olmayan bir yöntem olduğu düşünülmüştür (57).

Peter Goodfellow adında bir araştırmacı cevabı 1980 yılında Y kromozomunda lokalize olan ve cinsiyetin belirlenmesinden sorumlu bir gen ile ilgili çalışma yaptı. Yaptığı bu çalışma sonucunda *SRY* genini buldu. Swyer sendromuna teşhisi konulan kadın hastalarda Y kromozomu bulunmasına rağmen Y kromozomu üzerinde bulunan *SRY* geni ya mutasyona uğramıştır ya da bu gen bulunmamaktadır. Bundan dolayı erkek kromozom yapısına sahip bireylerin erkek genital yapısı gelişmemektedir. Goodfellow diğer bir çalışmasında SRY geninin işlevini detaylı olarak açıklamıştır. Bu çalışma da XX kromozom yapısına sahip dişi farelere *SRY* geninin bir kopyasını vermiştir. Bu çalışma sonucunda farelerin erkek genital yapısını geliştirdiği ve erkeklere özgü davranışlar gösterdiği tespit edilmiştir (58).



Şekil 14: SRY genine bağlı cinsiyet değişimi (59)

Sonuç olarak, SOX9 geni otozomal kromozom üzerinde bulunup SRY genine bağlı olarak aktivite göstermektedir bunun sonucunda tüm bireylerde SOX9 geni var olup SRY genine bağlı olarak cinsel organ gelişiminde etkilidir.

SRY geni ise erkek bireylerde pozitif olması gereken bir gen olup yaptığımız çalışmada 44 erkek bireyden 4'ünde bu gen bölgesi yoktur bu da SRY geninin bu 4 bireyin cinsiyet gelişimi ve cinsel organ gelişimi üzerinde rol oynamış olabileceğini ileri sürmektedir. SRY negatif çıkan hastalarda yapılan laboratuvar çalışması sonuçları ve genital sistem incelemeleri sonucunda kuşku bir genital yapıya sahip olduğu tespit edildi. Bunun sonucunda bu hastaların Swyer sendromu belirtileri gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca cinsiyet anomalisi özellikle cinsel organ gelişiminde rol oynayan bu gen bölgelerinin bu tür vakalarda karyotip analizinin gerekliliğini de ortaya çıkarmıştır. Aşağıdaki tabloda yapılan çalışma sonucunda SRY geninin varlığı ve yokluğu değerlendirilmiştir.

Tablo 11: SRY geninin yüzdeler dağılımı

		Sry geni			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	var	43	71,7	71,7	71,7
	yok	17	28,3	28,3	100
	Total	60	100	100	

Yapılan bu çalışma sonucunda bu gen bölgelerinin karyotip sonucu ile ilişkili olduğu ve bu gen bölgeleri yapılacak olan cinsiyetle ilgili çalışmalarda ek bilgi sağlayacaktır. Buna bağlı olarak ihtiyacı olan bireylere uygun genetik danışma verilerek kişiye, ailesine ve gelecek kuşaklara bu tür hastalıklar hakkında farkındalık oluşturulması sağlanabilir. Bu bulgu ayrıca, cinsiyet belirlemenin birden fazla genetik faktör tarafından düzenlenen karmaşık bir süreç olduğunu göstermektedir.



1. Saltuerk, M. (2011, 5 14). *Kromozomal bozukluklar ve cinsiyet belirsizliği*. Kromozomal bozukluklar ve cinsiyet belirsizliği web sitesi: <https://blog.unikoeln.de/saltuerk/2011/05/14/kromozomal-bozukluklar-ve-cinsiyet-belirsizligi/> adresinden alındı
2. Allen L. Disorders of sexual development. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2009; 36: 25-45.
3. Sax L. How common is intersex? a response to Anne FaustoSterling. *J SexRes* 2002;39:174.
4. Ilgın Ruhi, H. (tarih yok). *Genital sistem gelişimi ve bozukluklarında genetik mekanizmalar*. Genital sistem gelişimi ve bozukluklarında genetik mekanizmalar web sitesi: https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/79765/mod_resource/content/0/Genital%20Sistem%20Gelisim%20ve%20Bozukluklarında%20Genetik%20Mekanizmalar.pdf adresinden alındı
5. Wisniewski AB, Mazur T. 46, XY DSD with Female or Ambiguous External Genitalia at Birth due to Androgen Insensitivity Syndrome, 5alpha-Reductase-2 Deficiency, or 17beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Deficiency: A Review of Quality of Life Outcomes. *Int J Pediatr Endocrinol*. 2009; 2009: 567430
6. Vilain, E., & McCabe, E. R. (1998). Mammalian sex determination: from gonads to brain. *Molecular genetics and metabolism*, 65(2), 74–84.
7. Oğuzkurt, P. D. (2020). Çocuk Cerrahisi ve Çocuk Ürolojisi. Çocuk Cerrahisi ve Çocuk Ürolojisi web sitesi: <http://pelinoguzkurt.com/cocukta-cinsiyet-gelisim-bozuklugu> adresinden alındı
8. Ogilvy-Suart AL., Brain CE. (2004): Early assessment of ambiguous genitalia, *Arch Dis Child*, 89, 401-407

9. Couch RM., Winter JSD. (2001): Sexual Differentiation. in: Feling P., Frohman LA (eds). *Endocrinology Metabolism*, 4th ed. McGraw-Hill companies, United State, pp.779-817
10. Winter JSD. (1992): Ambiguous Genitalia: A Clinician's Approach, *The endocrinologist*, 2 (5), 312-317
11. Houk CP., Lee PA. (2005): Intersex State: Diagnosis and Management, *Endocrinol Metb Clin N Am*, 34, 791-810
12. Seda O, Liska F, Sedova L. Sex Determination. Multimedia E-textbook of Medical Biology, Genetics and Genomics. Czech Republic: Institute of Biology and Medical Genetics of the First Faculty of Medicine of Charles University and the General Teaching Hospital; 2005
13. Lahn BT and Page D. Functional coherence of the human Y chromosome. *Science* 1998; 278: 675– 680.
14. Couch RM., Winter JSD. (2001): Sexual Differentiation. in: Feling P., Frohman LA (eds). *Endocrinology Metabolism*, 4th ed. McGraw-Hill companies, United State, pp.779-817
15. Winter JSD. (1992): Ambiguous Genitalia: A Clinician's Approach, *The endocrinologist*, 2 (5), 312-317
16. Schäffler A, Barth N, Winkler K, Zietz B, Rümmele P, Knüchel R, Schölmerich J, Palitzsch KD. Identification of a new missense mutation (Gly95Glu) in a highly conserved codon within the high-mobility group box of the sex-determining region Y gene: report on a 46, XY female with gonadal dysgenesis and yolk-sac tumor. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(6): 2287-92.
17. Li B, Phillips NB, Jancso-Radek A, Ittah V, Singh R, Jones DN, Haas E, Weiss MA. SRY-directed DNA bending and human sex reversal: reassessment of a clinical mutation uncovers a global coupling between the HMG box and its tail. *J Mol Biol* 2006; 360: 310- 28

18. Erickson, P. J. (2017, 7 6). 149 - Cinsiyet Belirleme ve Farklılaşmanın Genetiği. R. P. Peter James Ellis içinde, Fetal ve Yenidoğan Fizyolojisi. Philadelphia: Elsevier. 149 - Cinsiyet Belirleme ve Farklılaşmanın Genetiği web sitesi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-35214-7.00149-9> adresinden alındı
19. Hgmd, <http://www.hgmd.org/>
20. Shahid M, Dhillon VS, Jain N, Hedau S, Diwakar S, Sachdeva P, Batra S, Das BC, Husain SA. Two new novel point mutations localized upstream and downstream of the HMG box region of the SRY gene in three Indian 46, XY females with sex reversal and gonadal tumour formation. *Mol Hum Reprod* 2004; 10: 521- 6.
21. Cunha JL, Soardi FC, Bernardi RD, Oliveira LE, Benedetti CE, Guerra-Junior G, Maciel-Guerra AT, de Mello MP. The novel p.E89K mutation in the SRY gene inhibits DNA binding and causes the 46, XY disorder of sex development. *Braz J Med Biol Res* 2011; 44: 361- 5
22. Şahin, F. i. (2013). SRY GENİ HIGH MOBILITY GROUP (HMG) BÖLGESİNDE TANIMLANAN YENİ MUTASYON. ankara: Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi.
23. Graves JA. Interactions between SRY and SOX genes in mammalian sex determination. *Bioessays*. 1998 Mar;20(3):264-9. doi: 10.1002/(SICI)1521-1878(199803)20:3<264::AID-BIES10>3.0.CO;2-1. PMID: 9631654.
24. De Santa Barbara P, Bonneaud N, Boizet B, Desclozeaux M, Moniot B, Sudbeck P, et al. (November 1998). "Direct interaction of SRY-related protein SOX9 and steroidogenic factor 1 regulates transcription of the human anti-Müllerian hormone gene". *Molecular and Cellular Biology*. 18 (11): 6653–65. doi:10.1128/mcb.18.11.6653. PMC 109250. PMID 9774680.
25. Kim Y, Kobayashi A, Sekido R, DiNapoli L, Brennan J, Chaboissier MC, vd. (Haziran 2006). "Fgf9 ve Wnt4, memeli cinsiyet belirlemesini düzenlemek

için antagonistik sinyaller olarak hareket eder". PLOS Biyolojisi. 4(6): e187. doi:10.1371/journal.pbio.0040187. PMC 1463023 . PMID16700629.

26. Meyers-Wallen, V. N. (2003). Sry and Sox9 expression during canine gonadal sex determination assayed by quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*, 65(4), 373-381.
27. Graves JA. Evolution of the mammalian Y chromosome and sex-determining genes. *J Exp Zool*. 1998 Aug 1;281(5):472-81. PMID: 9662834.
28. Yüce, P. D. (2014). Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. P. D. Kışnişçi içinde, Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi (s. 700). ANKARA: GÜNEŞ TIP KİTABEVLERİ.
29. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-091906-5.00012-4>
30. Ernst MM, Liao LM, Baratz AB, Sandberg DE. Disorders of Sex Development/Intersex: Gaps in Psychosocial Care for Children. *Pediatrics* 2018; 142.
31. Ellsworth K, Harris G. Expression of the type 1 and 2 steroid 5 alpha-reductases in human fetal tissues. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995; 215: 774-780.
32. Topçu, D. V. (2011, 10 25). 46,XY KROMOZOM KURULUŞLU CİNSEL GELİŞİM. ankara, ankara üniversitesi, türkiye.
33. Siiteri PK, Wilson JD. Testosterone formation and metabolism during male sexual differentiation in the human embryo. *J Clin Endocrinol Metab*. 1974; 38: 113-125
34. Deslypere JP, Young M, Wilson JD, McPhaul MJ. Testosterone and 5 alpha-dihydrotestosterone interact differently with the androgen receptor to enhance transcription of the MMTV-CAT reporter gene. *Mol Cell Endocrinol*. 1992; 88: 15-22.

35. Takeda H, Mizuno T, Lasnitzki I. Autoradiographic studies of androgen-binding sites in the rat urogenital sinus and postnatal prostate. *J Endocrinol.* 1985; 104: 87-92.
36. Villanueva AL, Benirschke K, Campbell J, Wachtel SS, Rebar RW 1984 46, XY saf gonadal disgenez vakasında ikincil cinsiyet özelliklerinin tam gelişimi. *Obstet Gynecol* 64: 68S – 72S [[PubMed](#)] [[Google Akademik](#)]
37. Hughes IA., Houk C., Ahmed SF., Lee PA. (2006): LWPES1/ESP2 Consensus Group: Consensus statement on manegement of intersex disorders, *Arc Dis child*, 91, 554-562
38. Wisniewski AB., Mazur T.(2009): Review Article, *Ġnternational Journal of Pediatric Endocronology*, Article ID 567430, 7 pages
39. Lee PA., Houk CP., Ahmed SF., Hughes IA. (2006): Consensus Statement on manegement of intersex Disorders, *Pediatrics*, 118, 488-500
40. Couch RM., Winter JSD. (2001): Sexual Differentiation. in: Feling P., Frohman LA (eds). *Endocronology Metabolism*, 4th ed. McGraw-Hill companies, United State, pp.779-817
41. . Low Y.,Hutson JM. (2003): Rules for clinical diagnosis in babies with ambiguous genitalia, *J Paediatr*, 39, 406-413
42. <https://tr.instela.com/cinsel-farklilasma--8754771>
43. Seda O, Liska F, Sedova L (2006): Sex Determination. In: *Multimedia E-textbook of Medical Biology, Genetics and Genomics*. Czech Republic, Prague
44. Hassa O, Aştı RN (2003): *Embriyoloji*.133–134. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd Şti, Ankara.
45. Schäffler A, Barth N, Winkler K, Zietz B, Rümmele P, Knüchel R, Schölmerich J, Palitzsch KD. Identification of a new missense mutation (Gly95Glu) in a highly conserved codon within the high-mobility group box of the sex-determining region Y gene: report on a 46,XY female with gonadal dysgenesis and yolk
46. Li B, Phillips NB, Jancso-Radek A, Ittah V, Singh R, Jones DN, Haas E, Weiss MA. SRY-directed DNA bending and human sex reversal: reassessment of a

clinical mutation uncovers a global coupling between the HMG box and its tail.
J Mol Biol 2006; 360: 310- 28.

47. Shahid M, Dhillon VS, Jain N, Hedau S, Diwakar S, Sachdeva P, Batra S, Das BC, Husain SA. Two new novel point mutations localized upstream and downstream of the HMG box region of the SRY gene in three Indian 46,XY females with sex reversal and gonadal tumour formation. Mol Hum Reprod 2004; 10: 521- 6.
48. Cunha JL, Soardi FC, Bernardi RD, Oliveira LE, Benedetti CE, Guerra-Junior G, Maciel-Guerra AT, de Mello MP. The novel p.E89K mutation in the SRY gene inhibits DNA binding and causes the 46,XY disorder of sex development. Braz J Med Biol Res 2011; 44: 361- 5.
49. Kaur G, Delluc-Clavieres A, Poon IK, Forwood JK, Glover DJ, Jans DA. Calmodulin-dependent nuclear import of HMGbox family nuclear factors: importance of the role of SRY in sex reversal. Biochem J 2010; 430(1): 39- 48
50. Hgmd, <http://www.hgmd.org/>
51. Phillips NB, Jancso-Radek A, Ittah V, Singh R, Chan G, Haas E, Weiss MA. SRY and human sex determination: the basic tail of the HMG box functions as a kinetic clamp to augment DNA bending. J Mol Biol 2006; 358: 172- 92.
52. Pelletier J, Bruening W, Li FP, Glaser T, Harber DA & Housman D (1991). WT1 mutasyonları, anormal genital sistem gelişimine ve kalıtsal Wilm tümörüne katkıda bulunur. *Doğa* , 353: 431-434.
53. Vainio S, Heikkila M, Kispert A, Chin N & McMahon AP (1999). Memelilerde kadın gelişimi, Wnt-4 sinyali ile düzenlenir. *Doğa* , 397: 405-409
54. Veitia RA, Salas-Cortés L, Ottolenghi C, Pailhoux E, Cotinot C & Fellous M (2001). Memelilerde testis tayini: cevaplardan çok soru. *Moleküler ve Hücrel Endokrinoloji* , 179: 3-16.
55. Ahmed SF & Hughest IA (2002). Erkek zayıflamasının genetiği. *Klinik Endokrinoloji* , 56: 1-18.
56. Yu Q, Huang S, Ye L, Feng L, He F, Ye J, Gu C, Ge Q. The role of sexual related Y gene detection in the diagnosis of patients with gonadal dysgenesis. Chin Med J (Engl). 2001 Feb;114(2):128-31. PMID: 11780190.

57. Lázár L, Bán Z, Szakács O, Nagy B, Beke A, Oroszné NJ, Rigó J Jr, Papp Z. Szabad magzati DNS kimutatása a magzati Y-kromoszóma igazolásával anyai vérplazmából [Fetal sex determination with real time PCR of fetal DNA in maternal plasma]. Orv Hetil. 2003 Dec 7;144(49):2405-9. Hungarian. PMID: 14725206
58. Öztürk, C. (2019, Nisan 17). *Swyer Sendromu: XY Kromozom Çifti Taşıyan Kadınlar!* Swyer Sendromu: XY Kromozom Çifti Taşıyan Kadınlar! WEB SİTESİ: <https://evrimagaci.org/swyer-sendromu-xy-kromozom-cifti-tasiyan-kadinlar-7736> adresinden alındı
59. Quora
60. Yaşar, D. (2010). *KUŞKULU GENİTAL YAPILI OLGULARIN DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLERİNİN TANI VE CİNSEL KİMLİĞİN BELİRLENMESİNDE ETKİN FAKTÖRLERİN ARAŞTIRILMASI. İSTANBUL: İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ.*



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DICLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

8. ÖZGEÇMİŞ

9.ETİK KURUL ONAYI



10.ORJİNALLİK RAPORU (Plagiarism Detector)

yüksek lisans tezi

ORJİNALLİK RAPORU

%6 BENZERLİK DİNDERSİ	%5 İNTERNET KAYNAKLARI	%4 KAYNAKLAR	%1 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
---------------------------------	----------------------------------	------------------------	-------------------------------

BİRİNCİ KAYNAKLAR

1	klab.tch.harvard.edu İnternet Kaynağı	%3
2	Vilain, E.. "Mammalian Sex Determination: From Gonads to Brain", Molecular Genetics and Metabolism, 1998:10 Yayın	%1
3	Jennifer A. Marshall Graves. "Evolution of the mammalian Y chromosome and sex-determining genes", The Journal of Experimental Zoology, 1998 Yayın	%1
4	www.labome.org İnternet Kaynağı	<%1
5	Peter James Ellis, Robert P. Erickson. "Genetics of Sex Determination and Differentiation", Elsevier BV, 2017 Yayın	<%1
6	Submitted to Istanbul Bilgi University Öğrenci Ödevi	<%1

7	Submitted to Archbishop Stepinac High School Öğrenci Ödevi	<%1
8	Submitted to University of Bedfordshire Öğrenci Ödevi	<%1

Antlaşım çıkar

Kapat

Ekleme/ileri çıkar

Kapat

Bibliyografyayı Çıkart

Kapat