

46,XX Erkek Fenotipli Olguya Genetik Yaklaşım: Olgu Sunumu

Haydar BAĞIŞ¹, M. Özgür ÇEVİK¹, Ali ÇİFT², İlker GÜNEY¹, Ömer Faruk KARAÇORLU¹

¹Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Adıyaman, Türkiye

²Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Adıyaman, Türkiye

ÖZET

Bu çalışmada 46,XX testiküler bozukluk tanısı almış ve fenotipi yetişkin erkek olan hastanın moleküler analizler ile hastalığının karakterize edilmesi amaçlanmıştır. 46,XX erkek sendromu, 46,XX karyotipine sahip erkeklerde görülen normal genital yapıdan ambiguus genitelyaya kadar uzanabilen bir hastalıktır. Vakamız, 5 yıllık evli 29 yaşında erkek hasta ve azospermliydi. Erkek infertil hastada, karyotip ve Y mikrodelesyon analizleri aynı anda yapıldı. Hastada 46,XX erkek karyotipi saptandı ve multiplex PCR ile Y kromozomu AZF-A, AZF-B ve AZF-C gen bölgelerinde Y mikrodelesyonu saptandı. Hastada SRY gen bölgesinin varlığı FISH analizi ile ortaya kondu. Azospermi ve infertilite nedeniyle tıbbi genetik polikliniğine başvuran hastalarda, hastaya daha iyi bir genetik danışmanlık verilebilmesi için vakanın moleküler düzeydeki genetik analizler ile tanımlanması gerekir.

Anahtar Sözcükler: 46,XX Erkek Sendromu, Testiküler Bozukluk, SRY Geni, Infertilite.

ABSTRACT

46,XX Male Testicular Disorder Genetic Approach: A Case Report

The aim of this study was to characterize the 46, XX testicular disorder, by an adult male phenotype patient who was diagnosed with the molecular analysis. 46, XX male syndrome is a disease seen in men with 46, XX karyotype whose genital structure can be traced back from normal ambiguous genitalia. Our case was a 5-year married 29-year-old male patient with azospermia. In a male patient, karyotype and Y microdeletion analyzes were performed at the same time. 46, XX male karyotype revealed by the patient. Y microdeletions were found on the AZFA, AZFB AZFC gene by using multiplex PCR. The presence of SRY gene in the patient was determined with FISH analysis. Azospermic patients admitted to the medical genetics clinic due to infertility must be identified by genetic analysis on molecular level in order to give a better genetic counseling to patients.

Keywords: 46,XX Male Syndrome, Testicular Disorder, SRY Gene, Infertility.

46,XX erkek sendromu, 46,XX karyotipine sahip erkeklerde görülen normal genital yapıdan ambiguus genitelyaya kadar uzanabilen bir hastalıktır. İnfertilite problemi nedeniyle hastaneye başvuran çiftlerin yaklaşık %50'sinde erkeğe bağlı faktörün olması, erkek üreme sağlığının araştırılmasında moleküler genetik ve sitogenetik çalışmaların önemini ortaya koymaktadır. Azospermi ve oligozoospermili erkekler ayrı ayrı değerlendirildiğinde sitogenetik anomalilerin sıklığı sırasıyla %13.7 ve %4.6 olarak bulunmuştur (1).

Kadınlarda XX, erkeklerde XY biçiminde olan cinsiyet kromozomları nadir de olsa bazı erkeklerde XX biçiminde olmaktadır. Bu durum, normalde Y kromozomu üzerinde taşınan SRY gen bölgesinin, kromozom eşleşmesi sırasında X kromozomuna geçmesi ile ortaya çıkmaktadır. Fenotipik olarak normal görünüp XX kromozom taşıyan erkekler, Y kromozomu yokluğuna bağlı olarak infertil olmaktadır. Aynı durum, XY dişilerde de söz konusudur. Y kromozomundaki SRY geninin kaybı ile XY dişiler oluşmaktadır (2, 3).

46,XX testiküler bozukluk, ilk olarak de la Chapelle ve arkadaşları tarafından 1964 yılında 'XX Erkek Sendromu' olarak adlandırılmış ve bu sendrom 2005

yılında ise "46,XX testiküler bozukluk" olarak yeniden tanımlanmıştır (4, 5). 46,XX testiküler bozukluğunun prevalansı, yaklaşık 1/20.000-1/25.000 erkek doğumdur (6, 7).

46,XX testiküler bozukluk, 46,XX karyotipine sahip erkeklerde görülen normal genital yapıdan ambiguus genitelyaya kadar uzanabilen genital yapı ile karakterize bir hastalıktır (8). Etiyolojik mekanizma Y kromozomunun bir parçasının X kromozomuna translokasyonu olarak bildirilmektedir. Hastalığın tanısı klinik, endokrinolojik, özellikle sitogenetik ve moleküler genetik test bulgularına göre konulmaktadır. Endokrinolojik tanıda testiküler yetmezliğe bağlı sekonder gelişen hipergonadotropik hipogonadizm sık görülür (9). Çoğu vakalarda 46,SRY-pozitif XX erkeklerde normal genital yapı gözükmesine rağmen, SRY-negatif XX erkek bireylerde çoğunlukla ambiguus genitelya gözükmektedir. Fakat az sayıda olsa da SRY-pozitif XX erkeklerde de ambiguus genitelya rastlanmaktadır (10).

Bu çalışmada 46,XX testiküler bozukluk tanısı almış ve fenotipi yetişkin erkek olan hastanın moleküler analizler ile hastalığının karakterize edilmesi amaçlandı.

³ Yazışma Adresi: Haydar BAĞIŞ, Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, Adıyaman, Türkiye

Tel: 0416 233 1692

Geliş Tarihi/Received: 24.12.2015

e-mail: hbhagis@gmail.com

Kabul Tarihi/Accepted: 25.07.2016

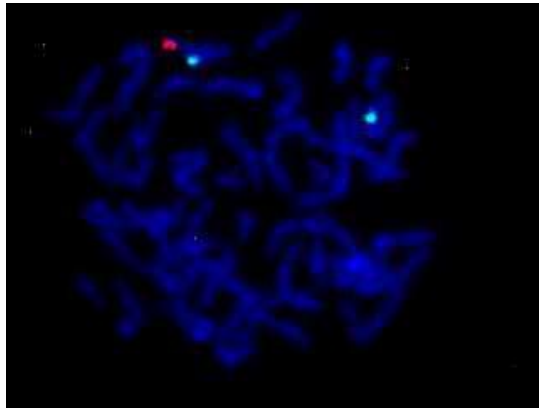
OLGU SUNUMU

5 yıllık evli ve eşile akrabalığı bulunmayan 29 yaşındaki erkek hastanın yapılan sperm analizinde azoospermi saptanması üzerine periferik kandan kromozom analizi ve Y mikrodelsyonu analizi amacıyla tıbbi genetik polikliniğimize başvurdu. Alınan periferik kan örneklerinden lenfosit kültürü yapılarak rutin kromozom eldesi ve GTG bantlama yöntemleri uygulanarak kromozom analizi yapıldı (11). Elde edilen 450-500 bant çözünürlükteki metafaz plaklarının incelenmesi sonucunda hastada 46,XX erkek karyotipi saptandı (Şekil 1).



Şekil 1. 46,XX Karyotip

SRY FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) Analizi ile SRY'nin hangi kromozom üzerinde olduğuna bakıldı ve hastada X kromozomu üzerinde SRY gen bölgesinin varlığı FISH ile ortaya kondu (Şekil 2).



Şekil 2. SRY-FISH Analizi

Y mikrodelsyonu taraması amacıyla Periferik kandan izole edilen DNA örneğinde, aşağıda görülen AZF-A, AZF-B ve AZF-C bölgelerine ait toplam 25 gen loküsü multipleks Polimeraz Chain Reaction (PCR) tekniği ile incelendi: SY14 SRY, SY81A, SY82A, SY83A, SY84A, SY86A SY87A, SY88A, SY128A, SY121B, SY124B, SY127B, SY128B, SY130B, SY133B, SY134B, SY135B, SY143B, SY145C, SY152C, SY157C, SY158C, SY254C, SY255C, SY160Y Het. Y kromozomu AZF-A, AZF-B ve AZF-C gen bölgelerinde Y mikrodelsyonu saptandı.

TARTIŞMA

46,XX erkek sendromu, dişi bir karyotipte erkek fenotipinin görüldüğü cinsiyetin tersine çevrilme

sendromudur. Bizim olgumuzda dişi karyotipe (46,XX) sahip fakat fenotipik olarak erkek olan bir hasta moleküler açıdan ele alındı. 46,XX testiküler cinsiyet gelişim bozukluklarının %90'ı doğumda normal erkek fenotipik yapıya sahiptir ve puberteden sonra genital belirsizlikler veya infertilite nedeniyle tanı alırlar (10). Etiyopatogeneizde en sık kabul edilen mekanizma Y kromozomunun bir parçasının X kromozomuna translokasyonudur. Bu hastaların erkek fenotipinde olmalarına rağmen 46,XX kromozomlarına sahip olmalarının hücre bölünmesi esnasındaki hataya bağlı olduğu belirtilmiştir (12).

SRY geni Y kromozomu üzerinde yer alır ve testiküler farklılaşmayı düzenleyen korunmuş bir yapı olan HMG (high mobility grup) bölgesini kodlar (13, 14). SRY proteini testis oluşumundan önce genital çıkıntı içinde eksprese olur ve erken fetal hayatta testiküler oluşumdan erişkin testis gelişimine kadar testis içinde eksprese olur (15). Moleküler genetik analizlerde 46,XX testiküler cinsiyet gelişim bozukluklarının çoğunda X kromozomuna transloke olmuş SRY geni gösterilmektedir (16). Y kromozomundan otozomal kromozoma transloke olmuş bir SRY gen parçası ile ilgili bir çalışma mevcuttur (17).

Bazı ambigus genitalya ve jinekomasitisi bulunan hastalarda SRY negatif olarak gösterilmiştir. Testis oluşumunda SRY geni ana düzenleyici olmasına rağmen, 46,XX testiküler cinsiyet bozukluğu olan vakalarda sadece SRY geninin varlığı ile açıklanamayan fenotipik çeşitlilikler gösterilmiştir. SOX9, DAX-1, WTI, WNT4, FGF9 ve RSPO1 gibi bazı diğer genler de gonadal farklılaşma sürecinde yer almaktadır (6).

46,XX SRY pozitif bireylerde gözlenen XX erkek fenotipleri; normal iç ve dış erkek gonadlarından anormal sekonder seks karakterlerine, küçük testis ve hipospadias'dan, gerçek hermafrodite kadar değişkenlik göstermektedir. Fenotipteki çeşitliliğin öncelikle iki mekanizmaya bağlı olduğu düşünülmektedir: X kromozomu inaktivasyon paternine ve X kromozomuna transloke olmuş SRY genini içeren Y materyalinin miktarına (18).

Gerçek hermafrodit veya ambigus gonadlara sahip olan 46,XX erkeklerin; muhtemelen X kromozomu inaktivasyonu yayılmasına olanak veren ve SRY genini inaktive eden, X kromozomuna transloke olmuş az miktarda Y kromozom materyaline sahip olduğu görülmüştür (19). Görülen fenotipik farklılıkları açıklamak için pozisyon etkisi adı verilen bir mekanizma rapor edilmiştir.

Fenotipik farklılıklar SRY geninin kırılma noktasının proksimal yakınlığına ve SRY gen ekspresyonunu etkileyen gizli yeniden düzenlenmelerin yokluğuna da bağlıdır (20). Karyotipi 46,XX erkek çocuklar normal testosteron seviyelerine ve adolesan dönemde normal serbest testosteron seviyelerine sahiptir. Fakat erişkin dönemde testosteron seviyeleri azalabilir ve hipergonadotropik hipogonadizme sebep olur (21).

46,XX testiküler bozukluğu olan vakamız 29 yaşında infertilite tanısı almış ve normal genital yapıya sahip olup, testisleri küçük ve penis boyu normal sınırlar

içindeydi. Ancak hastamızda jinekomasti ve ambigius genitale olmayıp testisin boyutları normalin altında ve yumuşaktı. Testosteron ve serbest testosteron seviyelerinin düşük olduğu görüldü. Ayrıca, FSH ve LH düzeyleri de yüksek bulundu. Bu durum 46,XX erkeklerin normal dış genitelyaya ve maskülinizasyona sahip olmasına rağmen spermatogenez eksikliğini açıklayabilir.

46,XX testiküler bozukluğu olan bireylerin çoğu puberte sonrası normal pubik kıllanma ve normal penis boyuna sahip olmalarına rağmen bu bireylerde jinekomasti, küçük testisler ve azospermiye bağlı infertilite bulunur (22). Bu genetik yapıya sahip olanların daha az bir kısmı ise ambigius genitelya ile doğmaktadır (6).

46,XX testiküler yetmezliği olan hastamızda yaptığımız FISH analizinde SRY'nin pozitif olduğunu gösterdik. Ancak bu gibi hastaların yaklaşık %20'sinde ise SRY negatif gözükülebilmektedir (23).

Epididimal kanallarda tıkanıklığa bağlı olmayan azospermi ve şiddetli oligozoospermi hastalarında genetik testlerin yapılması önem kazanmaktadır. Bunun için son yıllarda artan sitogenetik, moleküler sitogenetik ve moleküler genetik analizler sonucunda şiddetli oligozoospermik ve azospermik erkeklerin %3 ila %18 arasında Y kromozomu mikrodelesyonuna rastlanmıştır.

Y kromozomunun uzun kolunda AZFa, AZFb, AZFc ve AZFd bölgelerinde spermatogenez ile ilgili genler yer almaktadır. Y kromozomunun uzun kolu üzerindeki 11.bölgede, azospermiye neden olan ve Azospermik Faktör (AZF) olarak bilinen gen aileleri bulunmaktadır. AZFa ve AZFb gen bölgeleri, sperm matürasyonunda rol alan proteinleri kodlamaktadırlar. AZFc (DAZ: deleted in azospermia) gen bölgesi, gonadlardaki hücre proliferasyonunda, spermatojenik hücre

çekirdeğinde lokalize olan RNA bağlayıcı motif içeren RNA-bağlayıcı protein sentezinde rol alır. AZFd gen bölgesi, sperm olgunlaşma basamaklarında görevli aktif proteinleri kodlamaktadır.

AZFc bölgesi mikrodelesyonları, tüm delesyonların %79 unu oluşturmakta; AZFb, AZFbc, AZFa, AZFabc bölgesi delesyonları ise sırasıyla %9, %6, %3 ve %3 oranında görülmektedir. Moleküler genetik analizler ile Y kromozomu AZFa, AZFb ve AZFc bölgelerindeki delesyonların çalışılması %100 tanı değeri sağlamaktadır (24).

Hastamızın periferik kanından izole edilen DNA örneğinde Y mikrodelesyonu taraması amacıyla, AZFa, AZFb ve AZFc gen bölgelerine ait toplam 25 gen lokusu multiplaks PCR tekniği ile incelendi ve her üç lokusta delesyonlar tespit edildi.

Sonuç olarak, azospermi ve infertilite nedeniyle tıbbi genetik polikliniğine başvuran hastalarda, hastaya daha iyi bir genetik danışmanlık verilebilmesi için vakanın moleküler düzeydeki genetik testler ile tanımlanması gerekir. Bunun için hastanın kan ve DNA örneklerinde rutin kromozomal karyotip, SRY FISH analizi ve Y kromozomu mikrodelesyonu gibi moleküler testlerin mutlaka yapılması gerekmektedir. 46,XX testiküler yetmezliği olan bu gibi azospermik hastalara testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) operasyonu yapılsa bile sperm bulunamayacağı anlatılmalıdır. Eğer hastalardan testis biyopsisi alınırsa spermatogenezin olmadığı ve biyopsi materyalinde sadece Sertoli hücreleri ile Leydig hücrelerinin olacağı anlatılmalıdır (25). Test sonuçlarına göre ailenin genetik danışma alması ve hastaların çeşitli poliklinik veya merkezlere yönlendirilmesi uygun olur.

Açıklama: Bu çalışma American Society of Human Genetics 2015 kongre kitabında özet olarak basılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Forti G, Krausz C. Evaluation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4177-88.
2. Sher A, Hasnain SE. Molecular dissection of the human Y-chromosome. *Gene*, 2002; 283: 1-10.
3. Ronfani L, Bianchi ME. Molecular mechanism in male determination and germ cell differentiation. *CMLS, Cell Mol. Life Sci*, 2004; 61: 1907-25.
4. de la Chapelle A, Hortling H, Niemi M, Wennström J. XX chromosomes in a human male. First case; *Acta Med Scand*. 1964; 175: 25-38.
5. Hughes IA, Houk C, Ahmed SF, Lee PA, LWPES Consensus Group, ESPE Consensus Group 2006. Consensus statement on management of intersex disorders.; *Arch Dis Child* 2006; 91: 554-63.
6. Ergun-Longmire B, Vinci G, Alonso L, et al. Clinical, hormonal and cytogenetic evaluation of 46,XX males and review of the literature. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005; 18: 739-48.
7. de la Chapelle A. The etiology of maleness in XX men. *Hum Genet* 1981; 58: 105-16.
8. Turunç T. 46,xx testiküler bozukluk. *Androloji Bülteni* 2014; 16: 274-9.

9. Pérez-Palacios G, Medina M, Ullao-Aguirre A, et al. Gonadotropin dynamics in XX males. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 53: 254-7.
10. Hughes I. Ambiguous genitalia (including sex reversal). In: Firth HV (ed). *Oxford Desk Reference Clinical Genetics*. 1st ed. New York: Oxford University Press, 2005: 38-41.
11. Verma R, Babu A. Tissue culture techniques and chromosome preparation in Human chromosomes: principles and techniques 2nd ed. New York: McGraw-Hill Inc, 6-71, 1994.
12. Chiang HS, Wu YN, Wu CC, Hwang JL. Cytogenetic and molecular analyses of 46,XX male syndrome with clinical comparison to other groups with testicular azoospermia of genetic origin. *J Formos Med Assoc* 2013; 112: 72-8.
13. Jiang T, Hou CC, She ZY, Yang WX. The SOX gene family: function and regulation in testis determination and male fertility maintenance. *Mol Biol Rep* 2013; 40: 2187-94.
14. Zhao L, Koopman P. SRY protein function in sex determination: thinking outside the box. *Chromosom Res* 2012, 20: 153-62.
15. Sekido R. SRY: A transcriptional activator of mammalian testis determination. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42: 417-20.
16. Rizvi AA. 46,XX man with SRY gene translocation: cytogenetic characteristics, clinical features and management. *Am J Med Sci* 2008; 335: 307-9.
17. Dauwerse JG, Hansson KB, Brouwers AA, Peters DJ, Breuning MH. An XX male with the sex-determining region Y gene inserted in the long arm of chromosome Fertil Steril 2006; 86: 463.e1-5.
18. Minor A, Mohammed F, Farouk A, et al. Genetic characterization of two 46,XX males without gonadal ambiguities. *J Assist Reprod Genet* 2008; 25: 547-52.
19. Kusz K, Kotecki M, Wojda A, et al. Incomplete masculinisation of XX subjects carrying the SRY gene on an inactive X chromosome. *J Med Genet* 1999; 36: 452-6.
20. Gunes S, Asci R, Okten G, et al. Two males with SRY-positive 46,XX testicular disorder of sex development. *Systems Bio Reprod Med* 2013; 59: 42-7.
21. Velasco G, Savarese V, Sandorfi N, Jimenez SA, Jabbour S. 46,XX SRY-positive male syndrome presenting with primary hypogonadism in the setting of scleroderma. *Endocr Pract* 2011; 17: 95-8.
22. Zenteno-Ruiz JC, Kofman-Alfaro S, Méndez JP. 46,XX sex reversal. *Arch Med Res* 2001; 32: 559-66.
23. Ryan N, Akbar S. A case report of an incidental finding of a 46,XX, SRY negative male with masculine phenotype during standard fertility workup with review of the literature and proposed immediate and long-term management guidance. *Fertil Steril* 2013; 99: 1273-6.
24. Hopps CV, Mielnik A, Goldstein M, Palermo GD, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions. *Hum Reprod* 2003; 18: 1660-5.
25. Boucekkine C, Toublanc JE, Abbas N, et al. Clinical and anatomical spectrum in XX sex reversed patients. Relationship to the presence of Y specific DNA-sequences. *Clin Endocrinol* 1994; 40: 733-42.