

Olgu Sunumu

45,X/46,XY Karyotipine Sahip Ullrich-Turner Sendromlu Bir Olgu

Hüseyin YÜCE^a, Haluk AKIN, Ebru ETEM, Şükriye DERYA DEVECİ

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı ELAZIĞ

ÖZET

45,X/46,XY mozaikliği nadir görülen kromozomal bir anomali. Her 10.000 yeni doğan bebekte ve ikinci trimester amniosentezlerinde yaklaşık 15 oranında görülmektedir. Oluşan fenotip normal bir erkekten klasik Ullrich-Turner Sendromuna (UTS) kadar değişmektedir. Bu bireyler sıklıkla infertildir. Olgu kısa boy, primer amenore ve hipoplazik uterus göstermekteydi. Klinik muayene sonucunda bir çok Turner sendromu bulguları ortaya kondu. Probandın karyotipi, periferik kandan yapılan sitogenetik inceleme sonucu, 45,X/46,XY olarak saptandı. Mozaiklik oranının tam olarak belirlenmesi için sentromerik X ve Y probları kullanılarak Floresans *in situ* Hibridizasyon (FISH) yöntemi uygulandı. Mozaiklik oranı moleküler sitogenetik inceleme sonucu 45,X(%27)/46,XY(%73) olarak bulundu Y kromozomunun kesin varlığının ortaya konması için pseudoautosomal bölgeye spesifik primerler kullanılarak cinsiyet tayini gerçekleştirildi. Bu incelemede, olgu X ve Y kromozomları için özgül bantlar gösterdi. UTS hastalarında bireyin cinsiyetinin, mozaiklik oranının ve Y kromozomuna ait dizilerin varlığının kesin olarak ortaya konması, hastalığın prognozunu belirlemesi açısından oldukça önemlidir. UTS olgularında Y kromozom varlığının önemi ve nispeten nadir olarak görülen bu olguda laboratuvar bulguları ile birlikte genetik danışmanlık süreci literatür ışığında tartışılarak sunulmuştur. ©2004, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Anahtar kelimeler: Ullrich-Turner Sendromu, polimeraz zincir reaksiyonu, Y kromozomu

ABSTRACT**A Case of Ullrich-Turner Syndrome with 45,X/46,XY Karyotype**

The presence of mosaic 45,X/46,XY is a very rare chromosomal anomaly, with an incidence of about 1.5 per 10.000 in newborn infants and in midtrimester amniocentesis. The phenotype can vary from a normal male to a classical Ullrich-Turner syndrome (UTS). This patients are often infertile. The proposita presented at short stature, primary amenorrhea and hypoplastic uterus. Clinical examination revealed multiple Turner syndrome stigmata. Proposita karyotype was determined as 45,X/46,XY by cytogenetic analysis of peripheral blood. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) method was performed using centromeric X and Y probe to define the exact mosaicism rate. The rate of mosaicism is found as 45,X(%27)/46,XY(%73) by molecular cytogenetic evaluation. Sex determination was performed using pseudoautosomal region specific primers to establish definitely presence of Y chromosome. In this detection, the case revealed specific bands for Y and X chromosomes. It is important to determine definitely mosaicism rate, presence of Y chromosome and sex in UTS patients in terms of prognosis of the disease. It has been presented the importance of the presence Y chromosome in patients with UTS and genetic counseling process laboratory findings in this relatively rare seen case by discussing in view of the literature. ©2004, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Key words: Ullrich-Turner Syndrome, polymerase chain reaction, Y chromosome

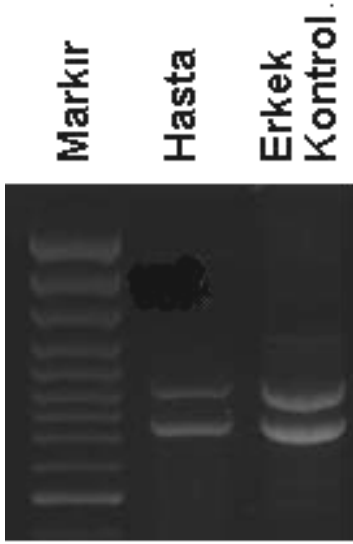
Turner Sendromu 2000 canlı dışı doğumda yaklaşık olarak bir görülmektedir. Vakaların yaklaşık %50'sinde, periferik kandan yapılan karyotipik analizler bir X kromozomunun tam kaybını göstermektedir. Vakaların %60'ında paternal X kromozomunun mayoz boyunca kaybedilmesi söz konusudur (1). 45,X/46,XY mozaikliği nadir kromozomal bir anomali olup her 10.000 yeni doğan infansta ve ikinci trimester amniosentezlerinde yaklaşık %1.5 oranında görülmektedir. Oluşan fenotip normal bir erkekten klasik Ullrich-Turner Sendromuna (UTS) kadar değişmektedir (2). Bu bireyler sıklıkla infertildir (3). UTS hastalarının %40-60'ı X kromozomunun tek bir normal kopyasına sahipken geri kalan UTS hastaları ise yapısal olarak anormal ikinci bir seks kromozomuna sahiptirler veya ikinci seks kromozomu açısından mozaiktirler. Hastaların prognozu, karyotipin tipine bağlı olarak değişmektedir (4).

OLGU SUNUMU

Proband kısa boy ve primer amenore şikayetiyle 2003 yılında Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarına gönderilmiştir. 30 yaşındaki olgunun 1.35 cm boy, düşük kulak, kısa kol ve bacaklar gibi Turner sendromunun pek çok özelliğini taşıdığı tespit edildi. Endokrinolojik çalışmalar olguda hiper-gonodotropik hipogonadizm (estradiol, 20.86 pg/ml (Postmenopozal Faz: 10-40pg/ml), LH, 21.31 mIU/ml (Postmenopozal Faz: 7.7-58.5) ve FSH, 35.57 mIU/ml (Postmenopozal Faz: 25.8-134.8) olduğunu göstermiştir. USG sonucunda her iki overin atrofik ve uterusun hipoplazik görünümde olduğu tespit edilmiştir. Periferik kan metafazlarından yapılan sitogenetik inceleme sonucunda hastada Y kromozomunun varlığı tespit edildi. Hastanın karyotipi 45,X/46,XY olarak belirlendi. Mozaiklik oranının kesin olarak tespit edilmesi için yapılan *in situ* Floresans

^a Yazışma Adresi: Dr. Hüseyin Yüce, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, 23119 ELAZIĞ
Tel: 0424 237 00 00 / 6112 e-mail: etemsare@hotmail.com

Hibridizasyon (FISH) çalışmasında oran 45,X(%27)/46,XY(%73) olarak bulundu. Kullanılan lokus spesifik seks tanımlayıcı bölge (sex determining region: SRY) probu için sinyal görülemedi. Yapılan moleküler genetik çalışmada hastanın ve kontrol olarak kullanılan erkek bireyin her ikisinde de X için 771bc ve Y için 947bc'lik bandın varlığı gözlemlendi. Hasta bireyde Y kromozomuna ait bandın, X kromozomuna ait bandla kıyaslandığında daha ince olduğu gözlemlendi. Bunun nedeni, hastanın Y kromozomu açısından mozaik olmasıdır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ürünlerinin elektroforetik analizlerine ait jel görüntüsü Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. PAR'a spesifik primerler kullanılarak yapılan PZR ürünlerinin elektroforetik analizleri. **Sütun 1:** 100bc'lik DNA boyut markırı. **Sütun 2:** UTS'li hasta birey. **Sütun 3:** 46,XY karyotipine sahip erkek birey.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hastanın karyotipinin ortaya konması için PHA indüklenmiş periferik kan lenfositleri kullanılarak 72 saatlik kültür yapıldı. Kültür sonrası elde edilen metafaz preparatları tripsin giemsa bantlama yöntemi (GTG) kullanılarak boyandı. Mozaiklik oranının tam olarak ortaya konması FISH yöntemi kullanıldı. FISH sentromerik X ve SRY spesifik bir dual proba ilaveten sentromerik Y probu kullanılarak yapıldı. Kısaca 3 µl sentromerik X ve SRY probu, 3µl sentromerik Y probu ve 9µl hibridizasyon tamponunu içeren bir prob karışımı hazırlandı. Prob ve preparatın denatürasyonu eş zamanlı olarak 72°C'te yapıldı. Hibridizasyon 37°C'lik ısıya sahip benmaride 16 saat süreyle gerçekleştirildi. Yıkama aşamalarını takiben preparatlar 9,5µl DAPI (4,6 diamino-2-fenil-indol) ve 0,5 µl PI (propodium iodat) karışımı ile boyandı. FISH analizi için interfaz hücrelerinin incelenmesinde uni-color filtrelerle sahip floresans mikroskop kullanıldı. Mozaiklik oranının tespiti için 500 hücre incelendi. Y kromozom varlığının kesin olarak ortaya konması için pseudotozomal bölgeye (pseudautosomal region; PAR) spesifik primerler kullanılarak cinsiyet tayini yapıldı. DNA izolasyonu periferik kandan elde edilen lenfositlerden gerçekleştirildi. PZR Ellis ve arkadaşlarının yapmış oldukları yöntemle göre gerçekleştirildi (5). X spesifik primer 5'-CTG CAG AAA CAA GCT CAT CAG CGT GAC TAT-3', Y spesifik primer 5'-GTA CTA CCT TTA GAA AAC TAG TAT TTT CCC-3' ve bir tane X ve Y'nin her ikisine spesifik olan 5'-GAA TTC TTA ACA GGA CCC ATT TAG

GAAT TAA-3' primeri kullanılarak yapıldı. PZR 94°C'de 5dk ön denatürasyon 94°C'de 1dk, 54°C'de 1dk, 72°C'de 2dk içeren 30 döngü ve takiben 72°C'de 6 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi. PZR ürünleri etidium bromü ile hazırlanan %2'lik agaroz jelde yürütüldü. X için 771bc'lik ürün ve Y için 947bc'lik ürün elde edildi. 46,XY karyotipine sahip bir erkekte elde edilen DNA kontrol olarak kullanıldı. Laboratuvar analizlerini takiben hasta genetik danışmanlığa yönlendirildi.

TARTIŞMA

Farklı karyotiplere sahip (45,X mozaik veya bir markır kromozomlu hastalarda) UTS hastalarında önceki raporlar Y kromozomunun veya Y kökenli dizilerin varlığının %4-61 arasında değiştiğini göstermektedir. Canto ve arkadaşları 3 UTS'li hastada yaptıkları çalışmada hastalardan 2'sinde SRY gen mutasyonunu tespit etmişlerdir. Tüm 3 hastada endokrinolojik çalışmalarla hipergonadotropik hipogonadizm varlığını bulmuşlardır (4). Olgumuz hem hipergonadotropik hipogonadizm varlığı hemde rudimenter bir uterusun varlığı açısından Canto ve arkadaşlarının olgularıyla benzeşmektedir. Dişiye yakın bir fenotipe sahip olan olguda, dış genitelyada virilizasyon olmamasına rağmen olguda göğüs gelişimi mevcut değildir. Bu fenotipin oluşumunda en önemli etkenlerden biri SRY geninin delesyona uğramış olması veya genin fonksiyon kaybına neden olan bir mutasyona sahip olmasıdır. UTS'li hastalarda SRY gen pozitifliğinin ortaya konması için yapılan pek çok çalışmada farklı oranlar tespit edilmiştir. UTS'li dişi fenotipine sahip olan olgularda SRY gen pozitifliği oranı oldukça düşüktür. Held ve arkadaşları 91 hastada yaptıkları çalışmada markır kromozoma sahip 8 hastada SRY geninin varlığını tespit etmişlerdir (6). Medlej ve arkadaşları 40 hastada yaptıkları çalışmada 1 hastada SRY geninin varlığını bulmuşlardır (7). Kocova ve arkadaşları 18 hastada yaptıkları çalışmada 6 hastada SRY pozitifliğini saptamışlardır (8). Ancak 3 çalışma grubu da SRY gen mutasyonlarını taramamışlardır. Olguda SRY gen pozitifliğinin ortaya koymak için yapılan FISH çalışmasında kullanılan SRY probu için sinyal görülemedi. Bu, olguda SRY gen bölgesinin delesyona uğramış olduğunu göstermektedir. Farelerde yapılan çalışmalarda farklı genotipe sahip farelerde aynı SRY gen mutasyonunun farklı fenotipler ortaya çıkardığı bulunmuştur. Cameron ve Sinclair farklı genetik altyapılı bireylerde, gendeki aynı mutasyonun SRY aktivitesini azaltarak testis gelişimini engelleyebileceğini ileri sürmüşlerdir (9). Bu SRY gen pozitifliğinin UTS hastalarında fenotipin belirlenmesinde etkili olmayabileceğini göstermektedir.

Hastada Y kromozom mozaikliği %73'dür. UTS olgularında periferik kanda bu derecede yüksek bir mozaiklik oranına literatürde rastlanmamıştır.

UTS hastalarında bir Y kromozomunun varlığında gonadoblastom veya disgerminom gelişme riski %10-%20'dir (10). Bu nedenle hastaya kesin tanı konduktan sonra hastanın derhal genetik danışmanlığa yönlendirilmesi ve gonadoblastom veya diğer tümöral gelişimler hakkında bilgilendirilmesi gerekmektedir. Olgunun yaşı 30 olmasına rağmen gonadoblastom gelişimi saptanmamıştır. Page Y pozitif dişi fenotipine sahip bireylerde kanser gelişme riski açısından Y kromozomu üzerinde bir gonadoblastom (GBY) geninin var olabileceğini ileri sürmüştür (11). GBY lokusu tam olarak lokalize edilmemesine rağmen aday genler tanımlanmıştır (12). GBY lokusu tam olarak lokalize edilinceye kadar Y kromozom kökenli dizilere sahip UTS'li hastalarda disgenetik gonadların uzaklaştırılması gerekmektedir. Sonuç olarak UTS hastalarında

SRY gen pozitifliği ve mutasyonlarının FISH veya moleküler genetik yöntemlerle belirlenmesi gerekmektedir. PZR, UTS olgularında Y kromozom materyalinin tespitinde oldukça duyarlı bir yöntemdir. 1000 hücrede 1 Y kromozom

materyalini tespit edebilir (13). Olgunun genetik danışmanlık ve tedavi süreci hala devam etmektedir. Gonadoblastom riskinin elimine edilmesi için, disgenetik gonadların uzaklaştırılması konusunda hasta bilgilendirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Ranke MB, Saenger P. Turner's syndrome. The Lancet . 2001; 358: 309-314
2. Costa T, Lambert M, Teshima I, Ray PN, Richer CL, Dallaire L. Monozygotic twins with 45,X/46,XY mosaicism discordant for phenotypic sex. Am J Med Gen 1998; 75: 40-44
3. Newberg MT, Francisco RG, Pang MG and et al. Cytogenetic of somatic cells and sperm from a 46,XY/45,X mosaic male with moderate oligoasthenoteratozoospermia. Fertil Steril 1998; 69: 146-148
4. Canto P, Chesnaye E, Lopez M and et al. A mutation in the 5' non-high mobility group box region of the SRY gene in patients with Turner Syndrome and Y mosaicism. The Journal of Clin Endocrinol Metab 2000; 85: 1908-1911
5. Ellis N, Taylor A, Bengtsson BO, Kidd J, Rogers J, Goodfellow P. Population structure of the human pseudoautosomal boundary. Nature 1990; 344: 663-665
6. Held KR, Kerber S, Kaminsky E and et al. Mosaicism in 45,X Turner syndrome: does survival in early pregnancy depend on the presence of two sex chromosomes? Hum Genet 1992; 88:288-294
7. Medlej R, Lobaccaro JM, Berta P and et al. Screening for Y-derived sex determining gene SRY in 40 patients with Turner syndrome. The J Clinical Endocrinol Metab 1992; 75:1289-92
8. Kocova M, Siegel SF, Wenger SL, Lee PA, Trucco M. Detection of Y chromosome sequences in Turner's syndrome by Southern blot analysis of amplified DNA. Lancet 1993; 17; 342:140-143
9. Cameron FJ, Sinclair AH. Mutations in SRY and SOX9: testis determining genes. Hum Mutat 1997; 9: 388-395
10. Verp MS, Simpson JL. Abnormal sexual differentiation and neoplasia. Cancer Genet Cytogenet 1987; 25: 191-218
11. Page DC. Hypothesis: a Y-chromosomal gene causes gonadoblastoma in dysgenetic gonads. Development 1987; 101:151-155
12. Lau YF, Lau HW, Komuves LG. Expression pattern of a gonadoblastoma candidate gene suggests a role of the Y chromosome in prostate cancer. Cytogenet Genome Res 2003; 101:250-260
13. Osipova GR, Karmanov ME, Kozlova SI, Evgrafov OV. PCR detection of Y-specific sequences in patients with Ullrich-Turner Syndrome: Clinical Implications and Limitations. Am J Med Genet 1998; 76: 283-287

Kabul Tarihi:06.08.2004