

## SRY GENİ HIGH MOBILITY GROUP (HMG) BÖLGESİNDE TANIMLANAN YENİ MUTASYON

Feride İffet ŞAHİN<sup>1</sup>, Sertaç ESİN<sup>2</sup>, Gülay CEYLANER<sup>3</sup>, Emin Emre KURT<sup>1</sup>, Enver Okan ÖTE<sup>1</sup>, Yunus Kasım TERZİ<sup>1</sup>,  
Zerrin Yılmaz ÇELİK<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup> Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ankara

<sup>3</sup> İntergen Genetik Merkezi, Ankara

### ÖZET

*SRY geninde meydana gelen mutasyonlar gonadların testis yönünde farklılaşmasını engelleyerek dişi fenotipi ile birlikte XY cinsiyet dönüşümü ve saf gonadal disjenezi (Swyer sendromu, OMIM 480000) gelişimine neden olabilmektedir. Bu gende tanımlanmış farklı mutasyonlar gonadal disjenezi olgularının %15'inden sorumludur. Bu çalışmada, 46,XY karyotipine sahip primer amenoreli bir olguda SRY geni "High Mobility Group" (HMG) bölgesinde saptadığımız yeni bir mutasyonu (p.Arg132Pro) bildiriyoruz. Saptadığımız mutasyon proteinin nükleer lokalizasyon sinyali bölgesinde polar bazik bir aminoasit olan arjinin yerine, nonpolar hidrofobik bir aminoasit olan prolinin geçmesine neden olmaktadır. Bu olgu sunumu ile gonadal disjenezili hastalarda, karyotipte Y kromozomu saptanması durumunda SRY geninin varlığının gösterilmesi ve bu gendeki mutasyonların özellikle dizi analizi yöntemi ile araştırılmasının genetik yaklaşım açısından önemi vurgulanmaktadır.*

**Anahtar kelimeler:** amenore, gonadal disjenezi, HMG kutusu, SRY geni, Swyer sendromu

*Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2013; Cilt: 10, Sayı: 2, Sayfa: 118- 21*

### NEW MUTATION IDENTIFIED IN THE SRY GENE HIGH MOBILITY GROUP (HMG)

#### SUMMARY

*Mutations in the SRY gene prevent the differentiation of the fetal gonads to testes and cause development of a female phenotype, and as a result sex reversal and pure gonadal dysgenesis (Swyer syndrome) can be developed. Different types of mutations identified in the SRY gene are responsible for 15% of the gonadal dysgenesis cases. In this study, we report a new mutation (p.Arg132Pro) in the High Mobility Group (HMG) region of SRY gene detected in a patient with primary amenorrhea who has 46,XY karyotype. This mutation leads to replacement of the polar and basic arginine with a nonpolar hydrophobic proline residue at aminoacid 132 in the nuclear localization signal region of the protein. With this case report we want to emphasize the genetic approach to the patients with gonadal dysgenesis. If Y chromosome is detected during cytogenetic analysis, revealing the presence of SRY gene and identification of mutations in this gene by sequencing analysis is important.*

**Key words:** amenorrhea, gonadal dysgenesis, HMG box, SRY gene, Swyer syndrome

*Journal of Turkish Society of Obstetrics and Gynecology, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2013; Vol: 10, Issue: 2, Pages: 118- 21*

---

**Yazışma adresi:** Prof. Dr. Feride İffet Şahin, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Ankara

Tel: (0532) 452 62 23

e-posta: feridesahin@hotmail.com

Alındığı tarih: 23.08.2012, revizyon sonrası alınma: 23.08.2012, kabul tarihi: 09.01.2013, online yayın tarihi: 10.01.2013

## GİRİŞ

Normal erkek yönündeki cinsiyet farklılaşması gebeliğin 5-6. haftasında gerçekleşir ve Y kromozomundan kaynaklanan bilgiye gereksinim duyar<sup>(1)</sup>. İnsanda Y kromozomundan kaynaklanan bilginin yokluğu veya ifadenememesi durumunda over gelişimi olur ve dişi fenotip gözlenir. Testis gelişiminde Y kromozomunun kısa kolu üzerinde yer alan seks belirleyici bölge (*SRY* geni) rol oynar<sup>(1)</sup>. *SRY*'nin Sertoli hücresi gelişiminde tetiği çeken gen olduğu bilinmektedir<sup>(1,2)</sup>. *SRY* geni 204 amino asit kodlayan 845 nukleotid uzunluğunda, tek ekzondan oluşan bir genidir. *SRY* geninden kodlanan protein “*DNA-binding domain high mobility group*” (HMG) motifi taşımakta ve bu nedenle transkripsiyon faktörü olarak çalışmaktadır<sup>(2)</sup>. *The Human Gene Mutation Database*'de<sup>(3)</sup> ve literatürde bu genin hem promotor bölge hem de ekzon mutasyonları bildirilmektedir.

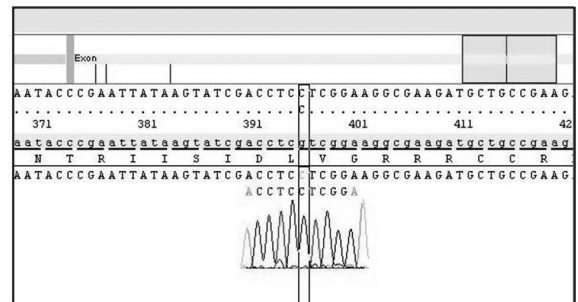
*SRY* geni mutasyonları XY cinsiyet dönüşümü olgularında bildirilmiştir<sup>(4-6)</sup>. Gen içindeki mutasyonlar gonadal disjenezi veya cinsiyet dönüşümü olgularına özgü tek tek mutasyonlar olarak rapor edilmektedir<sup>(1)</sup>. Bu olgu sunumunda, 46,XY karyotipine sahip dişi fenotipteki bireyde saptanan *SRY* geni HMG bölgesindeki yeni bir mutasyon, klinik bulgularıyla birlikte tartışılmaktadır.

## OLGU SUNUMU

16 yaşında hasta, kadın doğum polikliniğine adet görmeme nedeniyle dış merkezden refere edildi. Hastanın öyküsünden, spontan adet görmediği, ultrasonda uterusunun bulunduğu ve 1 ay doğum kontrol ilacı (OK) ile normal adet gördüğü öğrenildi. Yine dış merkezde yapılan pelvik Manyetik Rezonans (MR) görüntülemesinde uterus ve overlerin normalden küçük olarak izlendiği belirtilmişti. Hastanın 15 yaşında bir erkek ve 9 yaşında bir kız kardeşi vardı. Anne babası akraba değildi. Yapılan muayenesinde fenotipik olarak normal dişi görünümü mevcuttu, ön saç çizgisi normalden daha aşağıda yerleşmişti. Aksiller ve pubik kıllanma ve meme gelişimi Tanner evre 2 ile uyumluydu. Pelvik muayenede normal açıklıklı himen izlendi, dış genital organlar normaldi. Boyu 172 cm, kilosu 90 kilo idi. Motor mental gelişimi normaldi. Yapılan ultrason incelemesinde uterus boyutları

46x15x24, endometrium lineer, sol over 19x6 mm sağ over ise 19x7 mm idi. Overlerde belirgin folikül izlenmedi. Hastanın yapılan tetkiklerinde FSH:38,8 mIU/ml (2-10 mIU/ml), LH:14,7 mIU/ml (2-15 mIU/ml), estradiol:13 pg/ml (30-119pg/ml), serbest testosteron:1,98 pg/ml (0,04-4.18 pg/ml), DHEA-SO4:5271 ng/ml (651-3680ng7ml), 17-OH progesteron:1,47 ng/ml (0,30-1 ng/ml), TSH:1,03 UIU/ml (0,40-4,67 UIU/ml), prolaktin:767 mIU/L (33,36-580 mIU/L) olarak tespit edildi. Hipergonadotropik hipogonadizm tanısı konan hasta OK ile adet gördü.

Hastadan aydınlatılmış onam sonrası periferik kan alınarak lenfosit kültürü hazırlandı, elde edilen metafaz plaklarına Giemsa tripsin bantlama uygulandı. Analiz edilen 30 alanda karyotip 46,XY olarak belirlendi. *SRY* geninin kromozom üzerindeki lokalizasyonunu belirlemek ve olası translokasyon veya yeniden düzenlenmeleri dışlamak amacıyla hastanın metafaz plaklarına LSI *SRY*/CEPX (Vysis, Abbott Molecular Inc, Des Plaines, IL, ABD) probu ile floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi uygulandı. *SRY* genine ait sinyal Y kromozomunun kısa kolu üzerinde saptandı. Eş zamanlı olarak *SRY* genine ait primerlerle polimeraz zincir tepkimesi sonrası hastada amplifikasyon saptandı, böylece hastamızda *SRY* geninin varlığı ikinci bir yöntemle doğrulandı. *SRY* genindeki olası mutasyonların varlığını araştırmak amacıyla, genin promotor bölge ve ekzonunu içeren iki ayrı primer seti kullanılarak yapılan polimeraz zincir tepkimesiyle elde edilen ürünlere, Sanger tepkimesi ve ABI 3130 (Applied Biosystems, Foster City, CA, ABD) cihazında kapiller elektroforez işlemi uygulandı. Elde edilen dizi, cihazın yazılımı (Seqscape) kullanılarak [www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)<sup>(7)</sup> adresinde verilen referans dizi ile karşılaştırıldığında olgumuzda genin HMG bölgesinde p.Arg132Pro mutasyonunun varlığı belirlendi (Şekil 1).



Şekil 1: *SRY* geninde DNA dizi analizi yöntemi ile saptanan p.Arg132Pro mutasyonuna ait elektroferogram görüntüsü. Mutasyon saptanan nükleotid iki dikey çizgi arasında gösterilmektedir.

## TARTIŞMA

Memeli embriyogenezi sırasında *SRY* geninin varlığı gonadların testis yönünde gelişimini, dolayısıyla embriyonun erkek cinsiyeti yönünde gelişimini belirleyecek faktör olarak bildirilmiştir<sup>(3)</sup>. *SRY* geninin yokluğunda veya ifadenmesinin bozulduğu durumda fetal gonadlar over olarak gelişmektedir. XY gonadal disgenezi embriyonik dönemde testiküler gerileme ile karakterize saf veya kısmi formda gelişen bir klinik antitedir. Saf gonadal disgenezi (Swyer sendromu), 46,XY karyotipine sahip dişi fenotipinde gelişmiş dış genitaler ve normal Mülleryen yapılar, ancak streak gonadlar ile tanımlanır<sup>(5)</sup>. Kısmi gonadal disgenezi durumunda ise şüpheli dış genitaler ve kısmi testiküler farklılaşma mevcuttur. Bu bireylerde tek veya çift taraflı disgenetik veya streak gonadlar gözlenebilir<sup>(3)</sup>.

Erkek/dişi yönündeki cinsiyet dönüşümü *SRY* geni mutasyonlarına bağlı olarak gerçekleşir<sup>(8)</sup>. *SRY* geni HMG bölgesi içeren tek ekzondan oluşur ve hem DNA'ya bağlanan hem de DNA'yı bükme aktiviteye sahiptir. Bu nedenle transkripsiyonu düzenlediği düşünülmektedir<sup>(3,9)</sup>. Gonadal disgenezi olgularının yaklaşık %15'inden *SRY* genindeki farklı mutasyonlar sorumludur. *SRY* geninin açık okuma çerçevesinde şimdiye kadar bildirilmiş 41 mutasyonun özellikle HMG bölgesinde yoğunlaşması bu bölgenin gonadal disgenezi açısından önemli olduğunu vurgulamaktadır<sup>(4)</sup>.

Hastamızda saptanan mutasyon (p.Arg132Pro) *SRY* proteininin nükleer lokalizasyon sinyali bölgesinde polar bazik bir aminoasit olan arjinin yerine, nonpolar hidrofobik bir aminoasit olan prolinin geçmesine neden olmaktadır. Daha önce saf gonadal disgenezili bir olguda aynı bölgede saptanan p.Arg132Gly mutasyonu bildirilmiştir<sup>(4)</sup>. Hastamızdaki bu yeni mutasyonun tespiti HMG bölgesinin gonadal disgenezi patogenezi önemli olduğu bilgisini desteklemektedir. Bu bölgede meydana gelen mutasyonlar proteinin katlanmasını etkilemekte dolayısı ile proteinin DNA bükme ve bağlanma fonksiyonunu bozmaktadır. Özellikle nükleer lokalizasyon sinyalinin bozulması proteinin çekirdeğe taşınmasını ve fonksiyonunu gerçekleştirmesini etkilemektedir. HMG bölgesinde bildirilmiş *SRY* gen mutasyonları çoğunlukla *de novo* olarak oluşmaktadır, ancak hastaya yaklaşımda, düşük olsa da gonadal mozaiklik ve mutasyonun penetrans eksikliği özelliğine sahip olma olasılığı unutulmamalıdır<sup>(10)</sup>.

Hastamızda, yapılan muayene ve laboratuvar

incelemeleri sonuçları ile Swyer Sendromu tanısı konulmuştur. Ailede başka etkilenmiş birey olmaması, sağlıklı erkek ve kız kardeşinin olması ailesel geçişin olmadığı fikrini vermekle birlikte, ailenin diğer bireylerinde *SRY* gen mutasyonu taranması için izin alınmadığından bu konuda kesin bir sonuca varılması mümkün olamamıştır. Elde edilen tüm bu bulgular ışığında hasta ve ailesine, saptanan bulgular ve sonuçları konusunda genetik danışmanlık verilmiş ve olası kanser riski nedeniyle gonadektomi önerilmiştir<sup>(4)</sup>.

Gonadal disgeneziden şüphelenilen olgularda karyotipte Y kromozomu saptanması durumunda, *SRY* geninin varlığının gösterilmesi ve bu gendeki mutasyonların özellikle dizi analizi yöntemi ile araştırılmasının genetik yaklaşım açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Şimdiye kadar bildirilmiş birçok mutasyon olmakla birlikte, bu gende dizi analizi ile saptanabilecek yeni mutasyonlar ve klinik yansımalarının tanımlanması ile *SRY* geninin cinsiyet farklanmasındaki rolünün daha iyi anlaşılacağı kanısındayız.

## KAYNAKLAR

1. 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.
2. 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.
3. HGMD, <http://www.hgmd.org/>
4. Shahid M, Dhillion 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.
5. Salehi LB, Scarciolla O, Vanni GF, Nardone AM, Frajese G, Novelli G, Stuppia L. Identification of a novel mutation in the *SRY* gene in a 46, XY female patient. *Eur J Med Genet* 2006; 49: 494- 8.

6. 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.
7. [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000184895;r=Y:2654896-2655740;t=ENST00000383070](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000184895;r=Y:2654896-2655740;t=ENST00000383070)
8. Kaur G, Delluc-Clavieres A, Poon IK, Forwood JK, Glover DJ, Jans DA. Calmodulin-dependent nuclear import of HMG-box family nuclear factors: importance of the role of SRY in sex reversal. *Biochem J* 2010; 430(1): 39- 48.
9. 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.
10. Filges I, Kunz C, Miny P, Boesch N, Szinnai G, Wenzel F, Tschudin S, Zumsteg U, Heinemann K. A novel missense mutation in the high mobility group domain of SRY drastically reduces its DNA-binding capacity and causes paternally transmitted 46,XY complete gonadal dysgenesis. *Fertil Steril* 2011; 96(4): 851- 5.