T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

TÜRK ÇOCUKLARINDA DUDAK DAMAK YARIKLARINA NEDEN OLAN ADAY GENLERİN ARAŞTIRILMASI

MİNE (YILDIRIM) KORUYUCU

İ. Ü. Kütüphane ve Dök. D. Bşk.
Dem No. 253726
Sıra No.

DANIŞMAN
PROF.DR. FİGEN SEYMEN

PEDODONTİ ANABİLİM DALI
PEDODONTİ PROGRAMI

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Pedodonti Anabilim Dalı Doktora Programında Mine YILDIRIM KORUYUCU tarafından hazırlanan Türk Çocuklarında Dudak Damak Yarıklarına Neden Olan Aday Genlerin Araştırılması başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

04 / 09 / 2012

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) İmzası

1.Prof.Dr. Figen SEYMEN-Danışman (İst.Üni. Diş Hekimliği Fak. Pedodonti Anabilim Dalı)

2.Prof.Dr. Oya AKTÖREN (İst.Üni. Diş Hekimliği Fak. Pedodonti Anabilim Dalı)

3.Prof.Dr. Tevfik AKINCI (İst.Üni. Diş Hekimliği Fak. Pedodonti Anabilim Dalı)

4.Prof.Dr. Koray GENÇAY (İst.Üni. Diş Hekimliği Fak. Pedodonti Anabilim Dalı)

5.Prof.Dr. İlknur TANBOĞA (Mar.Üni. Diş Hekimliği Fak. Pedodonti Anabilim Dalı)

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 çalışmayla 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 olmadığı beyan ederim.

Mine YILDIRIM KORUYUCU

İTHAF

"Aileme ithaf ediyorum"

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince gerek akademik gerek sosyal alanda vizyonumu genişletecek pek çok imkân sağlayan, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, daima öğretici ve yönlendirici olan danışman hocam Sayın ***Prof.Dr. Figen Seymen***'e,

Doktora eğitimim sırasında gösterdiği destek ve katkılarından dolayı sayın hocam ***Prof.Dr. Koray Gençay***'a,

Bana Pedodontiyi sevdirerek, akademik hayata atılmamda önemli rolü olan sayın hocam ***Prof.Dr. Oya Aktören***'e,

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki sevgili hocalarım, ***Prof.Dr. Tevfik Akıncı'ya, Prof.Dr. Zeynep Aytepe'ye, , Prof.Dr. Isın Ulukapı'ya, Prof.Dr. Gamze Aren'e, Prof Dr. Elif Sepet'e,***

Doktora tezimin oluşturulmasında büyük emeği geçen, çalışmanın özellikle genetik inceleme kısmının yurt dışında gerçekleştirilmesi ve bu konuda gerekli cihazları bana kullanma imkanı tanıyan, aynı zamanda tecrübe ve bilgisini paylaşan, yol gösteren ve destek olan sayın ***Prof.Dr. Alexandre Rezende Vieira'ya*** ve tüm Pittsburgh Üniversitesi Oral Biyoloji ve Genetik Departmanı laboratuar çalışanlarına,

Bu uzun ve yorucu yolda acı-tatlı günler geçirdiğimiz tüm sevgili ***çalışma arkadaşlarıma***, özellikle tezimin ortaya çıkmasında katkıda bulunan ve yönlendirmeleri ile verimli bir akademik dönem geçirmemi sağlayan ***Doç. Dr. Elif Bahar Tuna'ya***,

Beni en iyi koşullarda büyütüp yetiştiren, her kararımı destekleyen ve her zaman yanımda olan annem ***Münire Yıldırım*** ve babam ***Saffet Yıldırım***'a, biricik kardeşim ***Müge Yıldırım***'a, fakültenin ilk günlerinden bugüne kadar herşeyi paylaştığımız canım arkadaşlarım ***Ayça-Yiğit Kurt'a,*** hayatıma anlam katan en önemli kişinin yetişmesini sağlayan ***Naciye ve Nurettin Koruyucu'ya*** ve her anımda yanımda olduğu gibi doktora tezi çalışmalarım sırasında da hep yanımda olan, desteğini ve sevgisini her zaman hissettiğim, büyük sabır ve fedakarlıkla bana yardımcı olan çok sevgili eşim Dişhekimi ***Çağdaş Koruyucu'ya,***

Sonsuz tesekkürlerimi sunuyorum...

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... İX
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... Xİİİ
ÖZET XV
ABSTRACT ..... XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Damak ve Dudakların Embriyolojik Gelişimi 3
2.2. Damak Embriyolojik Gelişimi 5
2.3. Dudak Embriyolojik Gelişimi 7
2.4. Dudak - Damak Yarıklarının Sınıflandırılması ve Embriyolojik Temeli 8
2.4.1. Damak Yarıkları 11
2.4.1.1. Primer Damak Yarıkları 11
2.4.1.2. Sekonder Damak Yarıkları 11
2.4.1.3. Primer ve Sekonder Damak Yarıkları 12
2.4.2. Dudak Yarıkları 12
2.4.2.1. Tek taraflı Dudak Yarıkları 13
2.4.2.2. Çift Taraflı Dudak Yarıkları (Fissio Labialis Bilateralis) 13
2.4.2.3. Mediyan Dudak Yarıkları 13
2.4.3. İzole (Non- Sendromik) Oral Yarıklar: 15
2.4.4. İzole Olmayan (Sendromik) Oral Yarıklar: 15
2.5. Dudak ve/veya Damak Yarıklı Çocuklarda Görülen Anomaliler 19
2.6. Dudak - Damak Yarıklarının Teşhisi ve Epidemiyolojisi 21
2.6.1. Dudak - Damak Yarıklarının Teşhisi 21
2.6.2. Dudak - Damak Yarıklarının Epidemiyolojisi 23

2.7. Dudak - Damak Yarıklarının Etyolojisi 24
2.7.1. Nonsendromik Dudak ve Damak Yarıklarında Çevrenin ve Kalıtımın Rolü ... 26
2.7.1.1. Çevrenin Rolü 26
2.7.1.2. Kalıtım ve Genlerin Rolü 29
2.7.1.3. Çevresel Faktörlerin Genler Üzerine Etkisi 43
2.8. Yapılan Analizler 44
2.8.1. Genetik Bağlantı (Linkage) Analizi 45
2.8.2. Bağlantı Dengesizliği Analizi (Linkage Disequilibrium) 47
2.8.3. Assosiyasyon Analizleri 47
2.8.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu 48
3. GEREÇ VE YÖNTEM 55
3.1. GEREÇ 55
3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Aletler 55
3.1.2. Kullanılan Sarf Malzemeler ve Kimyasallar 55
3.1.3. Kullanılan Standart Genler, Primerler ve Allelleri 57
3.1.4. Kullanılan Yazılımlar ve Programlar 58
3.2. YÖNTEM 58
3.2.1. Örneklerin Alınması 60
3.2.2. Örneklerin İncelenmesi 61
3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu 61
3.2.2.2. Örneklerin Seyreltilmesi 65
3.2.2.3. PZR Testleri 66
3.2.3. İstatistik 68
4. BULGULAR 69
4.1. Çevresel Faktörlere Bağlı Bulgular 71
4.2. Dental Bulgular 75
4.3. Genetik Bulgular 80
5. TARTIŞMA 96
KAYNAKLAR 114
FORMLAR 134
EK 1: Gönüllü Bilgilendirilmiş Onam Formu 134
EK 2: Dudak- Damak Yarığı Anamnez Formu 136
EK 3: Dudak – Damak Yarığı Etyoloji Formu 137

EK 4: Referans Mektupları 138
EK 5: Genetik Sözlük 140
ETİK KURUL KARARI 144
ÖZGEÇMİŞ 146

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Kraniyofasiyal gelişimde rol oynayan faktörler 4
Tablo 2-2: Dudak -damak yarıkları ile birlikte izlenen bazı sendromlar ve bu sendromlara neden olan genler 16
Tablo 2-3: Dudak damak yarıklarının sıklığı 23
Tablo 2-4: Ailede etkilenen birey varlığına göre dudak-damak yarığı görülme olasılıkları 32
Tablo 2-5: Anne ve babanın etkilenme durumuna göre dudak-damak yarığı oluşum riskleri 33
Tablo 2-6: Çevresel faktörlerin DDY oluşumunda genler üzerine etkisi 44
Tablo 2-7: PZR tipleri ve karşılaştırmaları 52
Tablo 3-1: Kullanılan genler, lokusları ve allelleri 57
Tablo 4-1: DDY ve kontrol gruplarının ortalama yaşları 69
Tablo 4-2: DDY ve kontrol gruplarının cinsiyete göre dağılımı 69
Tablo 4-3: DDY tiplerinin cinsiyete göre dağılımı 70
Tablo 4-4:DDY grubunda oronazal fistül görülme durumu 71
Tablo 4-5: Akraba evliliğinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 71
Tablo 4-6: Annenin hamilelik yaşının DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 71
Tablo 4-7: Annede sistemik hastalık durumunun DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 72
Tablo 4-8: Annenin hamilelik döneminde enfeksiyon geçirmesinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 72
Tablo 4-9: Annenin hamilelik öncesi sigara kullanmasının DDY ve kontrol gruplarına göre değerlendirilmesi 73
Tablo 4-10: Annenin hamilelik süresince sigara kullanmasının DDY ve kontrol gruplarına göre değerlendirilmesi 73
Tablo 4-11: Annenin hamilelik süresince ilaç kullanımının DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 74
Tablo 4-12: Ailede DDY görülmesinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 74
Tablo 4-13: Ailede kanser hikâyesinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 75
Tablo 4-14: Gruplara göre dmf.dmfs, DMF, DMFs değerlendirilmesi 75

Tablo 4-15: Oklüzyonun DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 76
Tablo 4-16: Oklüzyon ile çevresel ve dental değişkenlerin karşılaştırılması 76
Tablo 4-17: Hipoplazinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 77
Tablo 4-18: Makrodontinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 77
Tablo 4-19: Mikrodontinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 77
Tablo 4-20: Hipodontinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 78
Tablo 4-21: Süpernümerer diş görülüp görülmemesinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 79
Tablo 4-22: Meziodensin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı 79
Tablo 4-23: DDY grubunun genotipik incelemesi 81
Tablo 4-24: Kontrol grubunun genotipik incelemesi 82
Tablo 4-25: DDY-Kontrol grubu genotipik analiz 84
Tablo 4-26: DDY-Kontrol grubu allelik analiz 87
Tablo 4-27: DDY-kontrol grubu minör allel sıklığı (MAF) ve Hardy Weinberg dengesi (HWE) sonuçları 91
Tablo 4-28: Aile grubu minör allel sıklığı (MAF) ve Hardy Weinberg dengesi (HWE) sonuçları 92
Tablo 4-29: Transmission Disequilibrium Test (TDT) 93
Tablo 5-1: DDY'li bireylerde dental anomali sıklığı 110
Tablo 5-2: DDY'ye neden olan aday genler ve lokusları 111

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: 6. Haftanın başında meydana gelen yapılar 5
Şekil 2-2: 7. Haftanın sonunda intermaksiller proçes sonucu nazal septumların oluşması 5
Şekil 2-3: Primer ve sekonder damak 6
Şekil 2-4: Dudak ve damağın embriyolojik gelişimi 7
Şekil 2-5: Üst dudağın oluşumunda rol alan hücre hareketleri 8
Şekil 2-6:10. Haftada filtrum ve üst dudakların oluşması 8
Şekil 2-7:Dudak- damak yarığı basit sınıflama (Veau 1931) 9
Şekil 2-8: Dudak- damak yarığı kompleks sınıflama 14
Şekil 2-9:Primer ve Sekonder Damak gelişimi ve etkin olan genler 31
Şekil 2-10: MSX1 geninin 4. kromozom üzerindeki pozisyonu 33
Şekil 2-11: MSX1 mutasyonlarının etkileri 35
Şekil 2-12: PAX9 geninin 14. kromozom üzerindeki pozisyonu 36
Şekil 2-13: IRF6 geninin kromozom 1 üzerindeki pozisyonu 36
Şekil 2-14: IRF6 geninin klinik dağılımı 37
Şekil 2-15: TBX22 geninin X kromozumu üzerindeki pozisyonu 38
Şekil 2-16: PVRL1 geninin kromozom 11 üzerindeki pozisyonu 39
Şekil 2-17: TGFα geninin kromozom 2 üzerindeki pozisyonu 39
Şekil 2-18: TGFβ3 geninin kromozom 14 üzerindeki pozisyonu 40
Şekil 2-19: MTHFR geninin kromozom 1 üzerindeki pozisyonu 41
Şekil 2-20: BCL3 geninin kromozom 19 üzerindeki pozisyonu 42
Şekil 2-21:FGFR1 geninin kromozom 8 üzerindeki pozisyonu 42
Şekil 2-22: SUMO1 geninin kromozom 2 üzerindeki pozisyonu 43
Şekil 2-23: Polimeraz Zincir Reaksiyonu 53
Şekil 2-24 : Polimeraz Zincir Reaksiyonu 54
Şekil 3-1: Örnek toplanması 60
Şekil 3-2: Bebeklerden örnek toplanması 60
Şekil 3-3: Gerekli örnek miktarı 61
Şekil 3-4: Su banyosu 61
Şekil 3-5: Pipet ve falkon tüpleri 62
Şekil 3-6: Glikojen ve Oragene Purifier 63

Şekil 3-7: Vorteks cihazı 63
Şekil 3-8: Hassas tartı, santrifüj cihazı 63
Şekil 3-9: TE Buffer sulüsyonu 64
Şekil 3-10: Spektrofotometre (Thermo Scientific, Nano Drop 1000, USA) cihazı 65
Şekil 3-11: Otomatik Pipet ve 96'lık plate 66
Şekil 3-12: Polimeraz Zincir Reaksiyonu cihazı 67
Şekil 4-1: DDY-Kontrol grubu genotipik analiz grafiği 86
Şekil 4-2: DDY-Kontrol grubu allelik analiz grafiği 89
Şekil 4-3: Transmisson Disequilibrium Test (TDT) grafiği 95

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

DDY	Dudak Damak Yarığı
TGFα	Transforming growth factor alpha
MSX1	Drosophila msh homeo box homolog-1
TGFβ	Transforming Growth Factor beta
BCL3	B-cell CLL/Lymphoma 3)
IRF6	Interferon regulatory factor-6
PVR	Poliovirus receptor
PAX9	Paired box 9
BMP	Bone morphogenic protein
SHH	Sonic hedgehog
WNT	Wingless-type MMTV integration
SMAD	Smad transcription factors
JAG	Jagged protein
EGF	Epidermal growth factor
FGFR	Fibroblast growth factor receptor
DLX	Drosophila distal-less (Dll) gene
GLI	Glioma-associated oncogene homolog
HOXA2	Homeobox protein Hox-A2
LHX8	LIM homeobox 8
PITX2	Paired-like homeodomain 2
PRX1	Peroxiredoxin 1
TBX	T-box protein
COL2A1	Collegen type-2 alpha-1
MMP	Matrix metallopeptidase
TIMP	Tissue inhibitor of metalloproteinases
USG	Ultrasonografi
DNA	Deoksiribonükleik asit
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu

FAS	Fetal alkol sendromu
ADH1C	Alcohol dehydrogenase class1
NTD	Nöral tüp defektleri
MTHFR	Metilentetrahidrofolat redüktaz
CBS	Sistathionin sentetaz
RARA	Retinoic acid receptor alpha
SATB2	Special AT-rich sequence-binding protein 2
FOXE1	Forkhead box E1
SPRY2	Sprouty homolog 2
PTCH	Protein patched homolog 1
GBRB3	Gamma-aminobutyric acid receptor, beta 3
LAMB2	Laminin, beta 2
SUMO1	Small ubiquitin-related modifier-1
ABCA4	ATP-binding cassette sub-family A member 4
MAFB	Musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B
CRISPLD2	Cysteine-rich secretory protein LCCL domain containing 2
AXIN2	Axis inhibition protein 2
VWS	Van der Woude Sendromu
SNP	Single Nükleotid Polimorfizm
LOD	Logaritm of Odds Ratio
LD	Linkage Disequilibrium
IBD	Identity By Descent
APM	Affected pedigree member
TDT	Transmission disequilibrum test
HRR	Haplotype relative risk
dNTP	Deoksiribonükleozid trifosfat
HWE	Hardy Weinberg equilibrium
FBAT	Family Based Association Test
HBAT	Haplotype Based Association Test
MAF	Minör Allel Frequency

ÖZET

Koruyucu Yıldırım M. Türk Çocuklarında Dudak-Damak Yarıklarına Neden olan Aday Genlerin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pedodonti ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2012.

Dudak-damak yarıkları, 1/700 insidansla en sık görülen konjenital anomalilerdendir ve dudak ve damağı oluşturan yüz çıkıntılarının gelişimsel aşamasında çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi ile oluştuğu bildirilmektedir. Bu çalışmanın amacı Türk çocuklarında dudak-damak yarıklarına neden olan bazı aday genler ile yarık arasındaki ilişkinin incelenmesi ve çevresel faktörlerin hastalığın oluşumundaki etkisinin değerlendirilmesidir. Bu çalışma, İ.Ü Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti A.D'na diş tedavileri için başvuran sendromik olmayan DDY'lı çocuklar ve aileleri ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın birinci basamağında 158 DDY'lı çocuk ile 161 sağlıklı çocuktan oluşan kontrol grubu, dental anomaliler ve DDY'ye neden olduğu düşünülen çevresel faktörler açısından karşılaştırılmış; ikinci basamakta ise anne-baba-etkilenmiş çocuk-kardeş şeklinde 102 aile toplam 356 birey genetik ve çevresel faktörlere göre değerlendirilmiştir. Genetik inceleme için bireylerden elde edilen DNA örnekleri seçilmiş primerler uygulandıktan sonra PZR'da incelenmiştir. 158 olgunun 3'ünde sadece dudak yarığı, 10'unda sadece damak yarığı, 58'inde çift taraflı, 64'ünde tek taraflı sol, 23'ünde tek taraflı sağ DDY izlenmiştir. DDY'li bireylerde en sık karşılaşılan dental anomaliler sırasıyla mikrodonti, hipodonti ve hipoplazi olduğu görülmüş; sınıf 3 maloklüzyona yatkınlık saptanmıştır. Ailede kanser ve DDY hikayesinin DDY oluşumuna etki eden en önemli belirleyiciler olduğu; 2. derece belirleyicilerin ise annenin hamilelikte ilaç, sigara kullanması ve hamilelikte enfeksiyon geçirmesi olduğu belirlenmiştir. Kromozom 1, ABCA4 geni, marker rs481931'in DDY oluşumu, süpernümerer dişler ve maloklüzyon oluşumu, ailede DDY ve kanser oluşması riski ile; kromozom 6, marker rs132547'nin DDY oluşumu ve mikrodonti ile; kromozom 1, IRF6 geni, marker rs2235371'in DDY oluşumu ve hipodonti ile; kromozom 1, HSD11B1 geni, marker rs4844880; kromozom 1, IRF6 geni, marker rs861019; kromozom 11, MMP3 geni, marker rs522616'nın meziodens oluşumu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak, DDY oluşumunda genetik faktörlerin önemli bir role sahip olduğu, çevresel faktörlerin tek başına etkili olmadığı, bu iki faktörün birlikte DDY riskini artırdığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Dudak-damak yarığı, aday genler, çevresel faktörler, sendomik, sendromik olmayan

ABSTRACT

Koruyucu Yıldırım M. Candidate genes investigation of cleft lip and palate in Turkish children. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pedodontics. Doctorate Thesis. İstanbul. 2012.

Cleft lip and palate (CLP) are one of the most common congenital malformation with an incidence of 1/700 which have been reported to occur in the development process of facial tissues by the interaction of environmental and genetic factors. The aim of this study is to investigate the relationship between cleft and some candidate genes that cause CLP and to evaluate the effect of environmental factors on the formation of disease in Turkish children. This study was carried out with non-syndromic cleft lip-palate children and their families who applied for dental treatment to İstanbul University, Faculty of Dentistry, Department of Pedodontics. In first step of the study, 158 CLP patients and a control group of 161 healthy children were compared in terms of dental anomalies and environmental factors. In the second step, mother-father-affected child-sibling in the form of 102 family totally 356 individuals were evaluated according to genetic and environmental factors. DNA samples obtained from individuals for genetic analysis were investigated in PCR after applying the selected primers. It was observed 3 cases with only cleft lip,10 cases with only cleft palate, 58 cases with bilateral, 64 cases with unilateral left, 23 cases with unilateral right cleft lip-palate of totally 158 cases. The most common dental anomalies in individuals with CLP respectively microdontia, hypodontia and hypoplasia; predisposition to class 3 malocclusion were indentified. For cleft formation, family history of cancer and cleft are the most important determinants; second degree determinants were determined as drug intake, smoking and infection during pregnancy. Clefting, supernumerary tooth and malocclusion, family history of celft and cancer are associated with chromosom 1, ABCA4 gene, marker rs481931; clefting and microdontia associated with chromosom 6, marker rs132547; clefting and hypodontia associated with chromosom 1, IRF6 gene, marker rs2235371; mesiodens associated with chromosom 1, HSD11B1 gene, marker rs4844880; chromosom 1, IRF6 gene, marker rs861019; chromosom 11, MMP3 gene, marker rs522616 were found. As a results, genetic factors play an important role in the formation of CLP, environmental factors are not effective alone, these two factors increase the risk of clefting together were found.

Key Words: Cleft lip-palate, candidate genes, environmental factors, syndromic, non-syndromic

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dudak-damak yarıkları (DDY), embriyolojik dönemde çeşitli nedenlerden dolayı yüz bölgesindeki yapıların birleşmesindeki hata nedeniyle ortaya çıkan bir anomali olarak tanımlanmaktadır. Yüz deformiteleri içerisinde en sık görülen konjenital anomalilerden biri olduğu belirtilirken, her 500-1000 canlı doğumdan birinde rastlandığı bildirilmektedir (15,22,23,29,37,49,75,84,96,99-101,113,117,136,138,139, 157,173,193,194,198).

Dudak-damak yarıkları eğer bir sendromla beraber görülüyorsa sendromik, tek başına bir malformasyon ise non-sendromik DDY (izole DDY) olarak adlandırılmaktadırlar. Meydana gelen malformasyonun temel nedeni nazal kavite ile oral kavitenin gelişim sırasında tam olarak ayrılamaması olarak bildirilmektedir (23). Bu hastalar doğumlarından hemen sonra konuşma, beslenme zorlukları, orta kulak enfeksiyonları gibi sağlık sorunlarıyla karşı karşıya kalmaktadırlar (163). Tedavileri uzun ve genellikle multi-disipliner olarak doğumdan sonra ergenliğe kadar devam etmekte ve şiddetli olgularda birden fazla cerrahi müdahele gerekebilmektedir. Çoğu hastada dental bozukluklar görülmektedir ve sıklıkla ortodonti tedavi gereksinimleri bulunmaktadır (29,30). Yapılan bir çalışma ile oral yarıkla doğan çocukların sağlıklı çocuklara göre psikiyatrik sorunlarla daha sık karşılaştıkları ve sosyal yaşantıda daha çekingen oldukları belirtilmiştir (30).

Ayrıca yapılan bir istatistiksel değerlendirmeye göre dudak-damak yarıklı bireylerin ailelerinde lösemi ve lenfoma gibi kanser tiplerinin görülme oranının yüksek olduğu belirtilirken; dudak-damak yarığı ile doğan erkek bireylerde akciğer kanseri, kadın bireylerde beyin ve göğüs kanseri gelişme riskinin arttığı belirtilmektedir (193).

Dudak-damak yarıklarının etyolojisi tam olarak açıklanamamasına karşın bu anomalinin embriyolojik yaşamda embriyo üzerine etki eden faktörlere bağlı olduğu düşünülmektedir. Araştırmalar dudak-damak yarığının, embriyolojik gelişimin ilk 8 haftası içerisinde ortaya çıktığını göstermektedir (34,76,117,118,139,193,205,206).

Günümüzde DDY'nin genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle meydana geldiği veya her iki faktörün de DDY oluşumunda birlikte etkisinin olduğu kabul edilmektedir (37). Kimi olgularda genetik faktörler ön plana çıkmış gibi gözükürken

kimi olgularda çevresel faktörler, kimi olgularda ise hem genetik hem de çevresel faktörlerin birlikte DDY oluşumuna neden olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (21,23,163).

Gerek etnik gerekse değişik populasyonlara dayalı mutasyon taramaları yapılarak DDY'nın meydana gelme nedeni belirlenmeye çalışılmıştır. Sadece gen ve gen grupları değil aynı zamanda bağlantı çalışmaları yapılarak multigenik bir kusur olan DDY için aday genlerin bulunduğu kromozom bölgeleri de belirlenmiştir (117,163,193).

Bugüne kadar yapılan genetik çalışmalar, sadece aday genlerin analizleriyle değil aday genlerin birbirleriyle bağlantılarına da yönelik olmuştur. Aday genler arasında en çok çalışılanı TGFα (Transforming growth factor alpha), MSX1 (Drosophila msh homeo box homolog-1), TGFβ (Transforming growth factor beta), BCL3 (B-cell CLL/lymphoma-3), IRF6 (Interferon regulatory factor-6), PVR (Poliovirus Receptor), PAX9 (Paired Box-9) genleri olarak görülmektedir (40,42,67,100,124,145,194).

Bu çalışma ile Türk çocuklarında dudak-damak yarıklarına neden olan bazı aday genler ile yarık arasındaki ilişkinin incelenmesi ve çevresel faktörlerin hastalığın oluşumundaki etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Damak ve Dudakların Embriyolojik Gelişimi

Kraniyofasiyal gelişim birçok sinyal iletim sistemini, büyüme faktörleri ve onların reseptörlerini, transkripsiyon faktörleri, hücre adezyon molekülleri ve ekstrasellüler matriks komponentlerini içine alan oldukça karmaşık bir metabolik gelişim sistemi olarak tanımlanmaktadır (12-14,26,65,67,169,210) (Tablo 2-1). Embriyolojik gelişim srasında, epitel ve mezenkim arasındaki sinyalizasyon, MSX1, BMP4, SHH ve BMP2 arasında gerçekleşmektedir. BMP2 ve BMP4'ün mezenkimdeki, SHH ve BMP4'ün medial kenar epitelyumundaki etkilerini MSX1 düzenlemektedir. Sırasıyla SHH'nin BMP2'yi stimule etmesi ile mezenkimdeki BMP2 etkisi artmakta bu da palatal rafların gelişimini düzenlemektedir. Bu durumda, MSX1'in fonksiyon kaybında tüm bu sinyal yolu etkilenerek DDY oluşum riski artmaktadır (114,163,167).

İntrauterin yaşamın ilk haftalarında anterior nöral tüpün dorsalinden köken alan nöral krest hücreleri mezenkim hücreleri ile yüz taslağını (fasiyal primordia) oluşturmak üzere birleşmektedirler. Yüz taslağında ileride burun, ağız, dudak ve damakları oluşturacak olan nazal, maksiller ve mandibular çıkıntılar (prominens) bulunmaktadır (67,167).

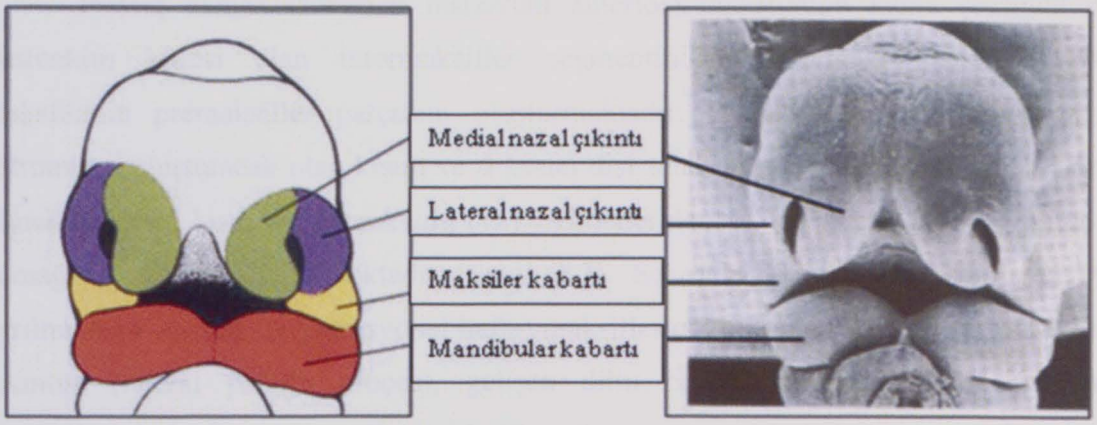
Yüz gelişiminin büyük bölümü 4-8. haftalar arasında gerçekleşmekte ve 10. hafta sonunda anlaşılır bir yüz görünümü ortaya çıkmaktadır. Brankial arkların proksimalindeki yüz taslağında, ektodermin her iki yanında kabartılar belirmektedir. Bu kabartılara nazal plakot adı verilmekte ve bunlardan medial ve lateral nazal çıkıntılar gelişmektedir. İki taraflı medial nazal çıkıntıların ortasında frontonazal çıkıntı belirmektedir. Nazal plakotların hemen altında, mandibular arkın proksimalinde maksiller çıkıntı ortaya çıkmaktadır. Yüz gelişimi sürecinde medial nazal çıkıntı, lateral nazal çıkıntı ve maksiller çıkıntı birleşerek normal burun, üst dudak ve damak yapılarını oluşturmaktadırlar (Şekil 2-1). Maksiller çıkıntı ile medial nazal çıkıntının birleşmesi sonucu oral ve nazal kaviteler birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Medial nazal çıkıntının mediale hareketi ile filtrum, Cupit yayı, burun ucu, premaksilla ve nazal septum oluşmaktadır. Maksiller çıkıntı ise üst dudağın lateral bölümü ve yanağın üst kısmını oluşturmaktadır (Şekil 2-2) (142,152). Burun kanatları lateral çıkıntıdan

gelişmektedirler. Medial nazal çıkıntıların mediale, birbirlerine doğru hareketi sırasında bunların arasındaki frontonazal çıkıntı kranial tarafa yönelerek alın ve nazal dorsumu oluşturmaktadır. Mandibular çıkıntı alt çeneyi, alt dudağı ve yanağın alt bölümünü oluşturmaktadır (15,84,118,130,201).

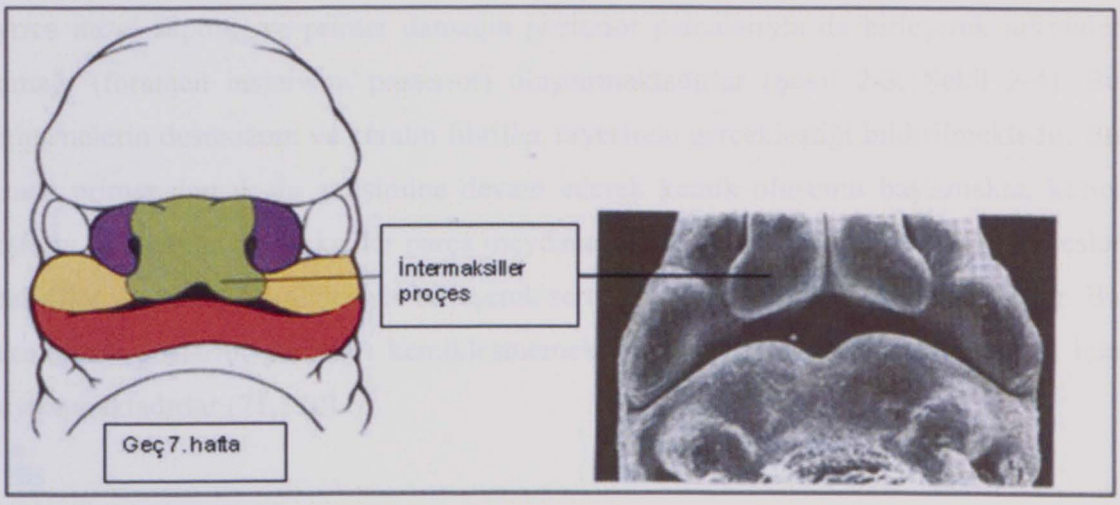
Dudak ve damak bölgeleri embriyojenik birincil ve ikincil damaktan meydana gelmektedir. Intrauterin hayatın 5. ve 6. haftalarında sağ ve sol üst çene çıkıntıları (burjon) ve nazal çıkıntıların birleşmesiyle birincil (ilkel) damak oluşmaktadır. Birincil damak; dudak, ön dişlerin alveolü, ön damak ve insizal foremen oluşumuna; ikincil damak geri kalan sert damağın ve yumuşak damağın oluşumuna katkıda bulunmaktadır. 8. haftada üst çene çıkıntılarından ortaya çıkan palatinal çukurlar ile burun septumunun orta hatta birleşmesi ile ikincil damak meydana gelmektedir. Yüz çıkıntılarının, birleşme yerlerinin zayıf olması ve gelişimin herhangi bir aşamasındaki duraklamalardan etkilenebildikleri belirtilmektedir (15,42,118,173,201).

Tablo 2-1: Kraniyofasiyal gelişimde rol oynayan faktörler

Sinyal Yolları	SHH, BMP2, BMP4, BMP7, Wnt5a, SMAD2-4, JAG1
Büyüme Faktörleri ve Reseptörleri	EGF, EGFr, TGF, FGF2, FGF8, FGF1, FGF1r, FGF2r
Transkripsiyon Faktörleri	DLX1-6, GLİ2-3, HOXA2, IRF6, LHX8, PAX9, PITX2, PRX1, MAX1, TBX1, TBX22
Hücre Adezyon Molekülleri	PVRL1, E-Cadherin
Ekstrasellüler Matriks	COL2A1, COL11A1, COL11A2, MMP2-3, MMP9, MMP13, TIMP1-3, Fibronektin



Şekil 2-1: 6. Haftanın başında meydana gelen yapılar

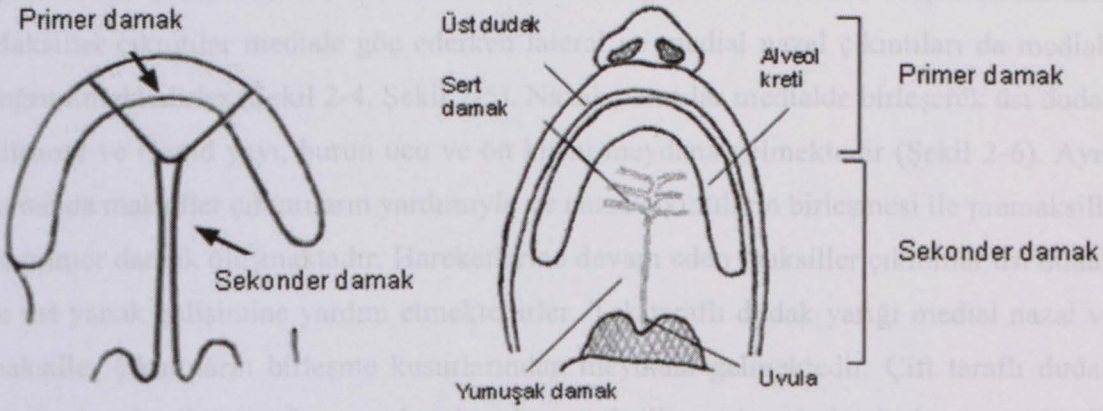


Şekil 2-2: 7. Haftanın sonunda intermaksiller proçes sonucu nazal septumların oluşması

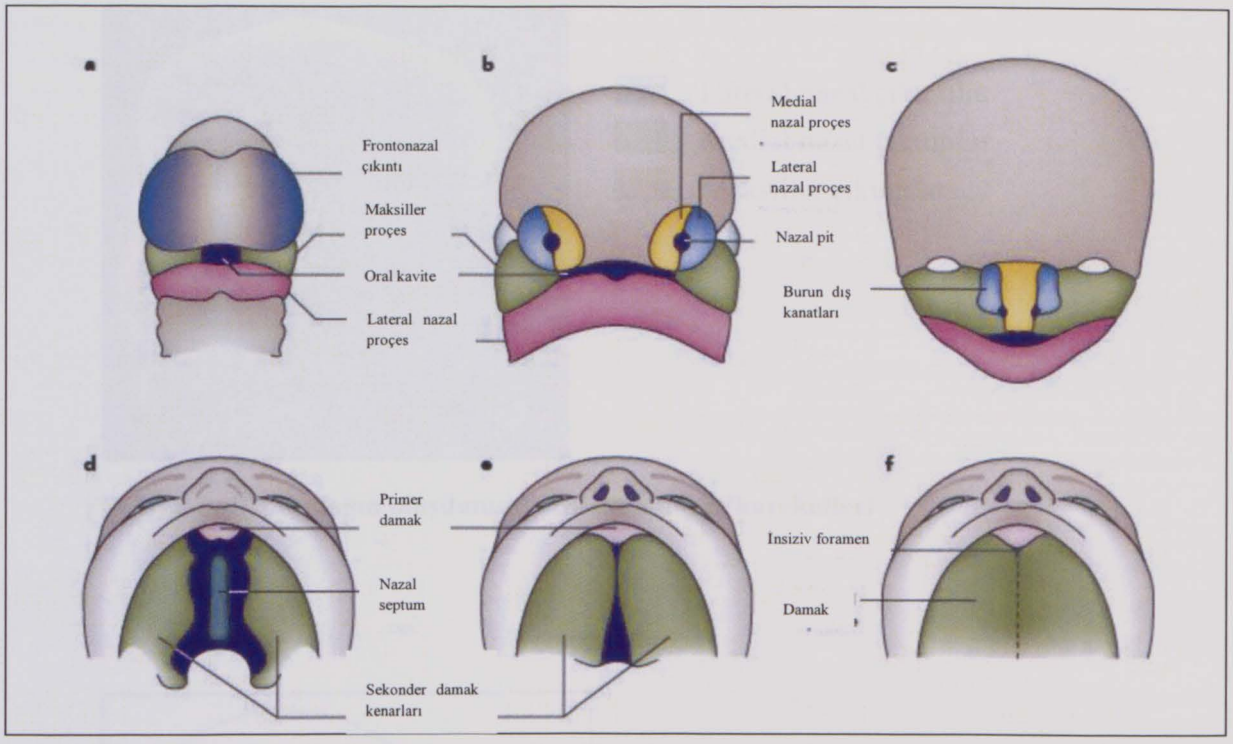
2.2. Damak Embriyolojik Gelişimi

Damak Gelişimi (palatogenez) primer damak ve sekonder damak olak üzere iki taslaktan gelişmektedir. Palatogenez intra-uterin hayatın 5. haftasının sonunda başlamakta ve yaklaşık 12. haftada sona ermektedir (71). En kritik dönem 6. haftanın sonundan 9. haftanın başına kadar olan zaman olarak bildirilmektedir. Ağız yapılarını oluşturacak olan dokuların farklılaşması, hareketlenmesi ve birleşmeleri ile damak, dudak ve nazal dokular meydana gelmektedir (11). Fibroblast büyüme faktörleri (FGF) ve sonic hedgehog (SHH) sinyalinin bu evrede oldukça etkili olduğu belirtilmektedir (11,28).

Primer damak (foramen insizivum anterior) maksillanın kama şeklinde bir mezenkim kitlesi olan intermaksiller segmentinden gelişmeye başlamakta ve maksillanın premaksiller parçasını oluşturmaktadır. Primer damağın, üst dudağın filtrumunu oluşturacak olan kısım ve 4 kesici dişi tutan üçgen şeklindeki damak kısmı olmak üzere iki kısmı bulunmaktadır (71). Sekonder damak, insanlarda sert ve yumuşak damağın %90'ını oluşturmaktadır (Şekil 2-3). Sekonder damak gelişimi 3 evreye ayrılmıştır. I. evrede (6. gestasyonel hafta) maksiller çıkıntılardan uzanan iki mezenkim çıkıntısı (lateral palatin proçes), gelişen dilin her iki yanında dikey düzleme hareketleriyle başlamakta ve II. evrede (7 ve 8. gestasyonel haftalar) lateral çıkıntıların uzamasıyla dilin üzerinde yatay konuma gelmektedirler (92). III. evrede (9-10. gestasyonel haftalar) yatay konuma gelen hücreler birbirine yaklaşarak birleşmekte, ayrıca nazal septum ve primer damağın posterior parçalarıyla da birleşerek sekonder damağı (foramen insizivum posterior) oluşturmaktadırlar (Şekil 2-3, Şekil 2-4). Bu birleşmelerin desmozom ve keratin fibriller sayesinde gerçekleştiği bildirilmektedir. Bu sırada primer damak da gelişimine devam ederek kemik oluşumu başlamakta, kesici dişlerin bulunduğu premaksiller parça meydana gelmektedir. Lateral palatinal proçesler maksiller ve damak kemikleriyle birleşerek sert damağın oluşumunu başlatmaktadır. Bu çıkıntıların posterior parçaları kemikleşmemekte ve yumuşak damağı oluşturmak için kaynaşmaktadırlar (71,110).



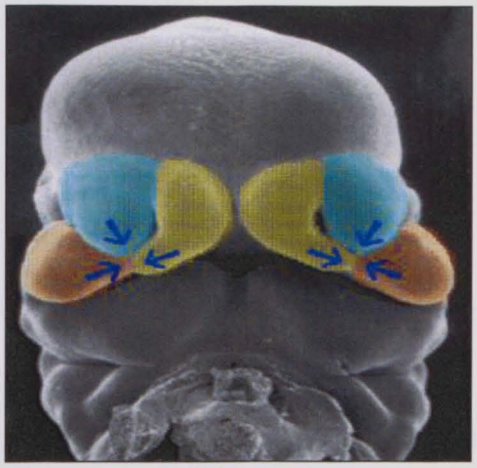
Şekil 2-3: Primer ve sekonder damak



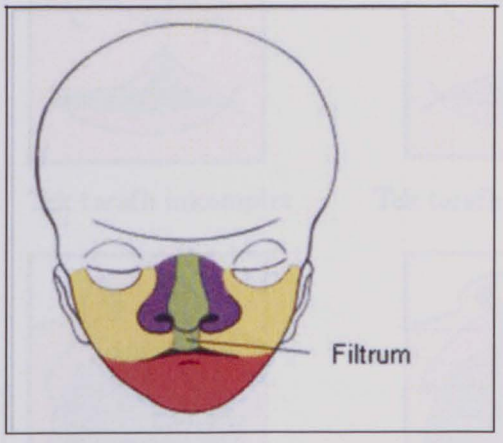
Şekil 2-4: Dudak ve damağın embriyolojik gelişimi

2.3. Dudak Embriyolojik Gelişimi

Alt dudak mandibular çıkıntılardan yaklaşık 11-12. haftalarda meydana gelmektedir (117,163). Üst dudak ise maksiller çıkıntı tarafından oluşturulmaktadır. Maksiller çıkıntılar mediale göç ederken lateral ve medial nazal çıkıntıları da mediale doğru itmektedirler (Şekil 2-4, Şekil 2-5). Nazal çıkıntılar medialde birleşerek üst dudak filtrumu ve Cupid yayı, burun ucu ve ön kısmı meydana gelmektedir (Şekil 2-6). Aynı zamanda maksiller çıkıntıların yardımıyla ve nazal çıkıntılarla birleşmesi ile premaksilla ve primer damak oluşmaktadır. Hareketlerine devam eden maksiller çıkıntılar üst dudak ve üst yanak gelişimine yardım etmektedirler. Tek taraflı dudak yarığı medial nazal ve maksiller çıkıntıların birleşme kusurlarından meydana gelmektedir. Çift taraflı dudak yarığında da iki tarafta nazal çıkıntılar maksiller çıkıntılarla birleşememektedir (71,114).



Şekil 2-5: Üst dudağın oluşumunda rol alan hücre hareketleri



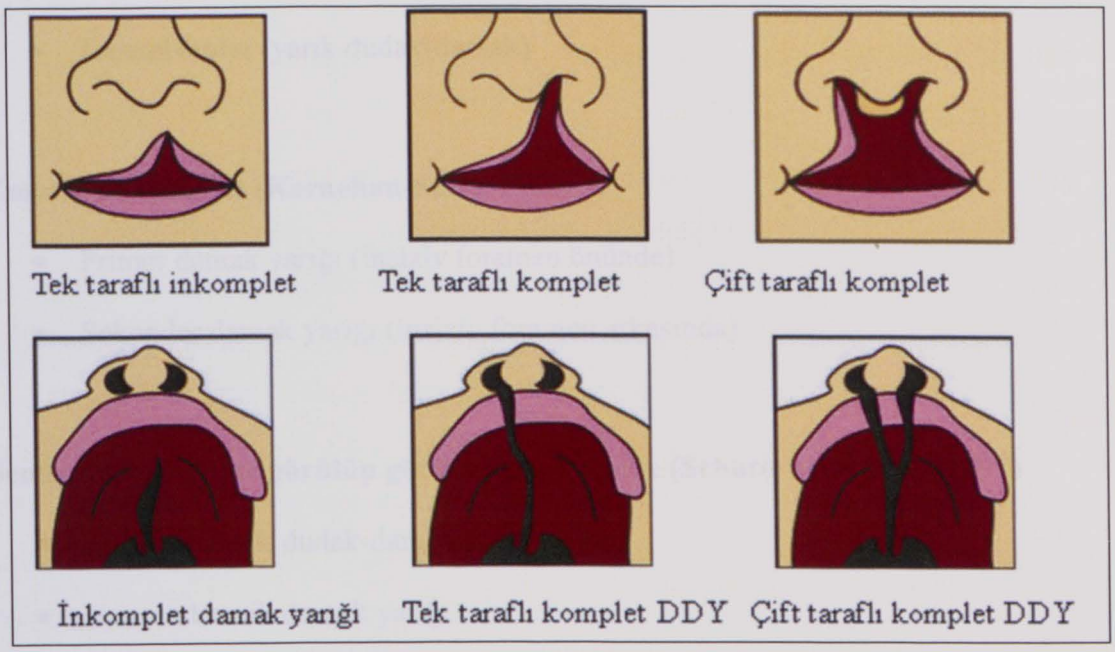
Şekil 2-6:10. Haftada filtrum ve üst dudakların oluşması

2.4. Dudak - Damak Yarıklarının Sınıflandırılması ve Embriyolojik Temeli

Dudak-damak yarıkları karmaşık bir deformite grubu olarak tanımlanmaktadır. Bu tanımlama için pek çok sınıflama kullanılmıştır (Şekil2-7) (96,122).

Basit Sınıflama (Veau 1931)

- Tek taraflı (unilateral) yarık
- İki taraflı (bilateral) yarık
- Dudağı etkileyen damak veya burunu içine almayan inkomplet (tam olmayan) yarık
- Dudak, maksillanın ön kısmı, burun, sert ve yumuşak damağı etkileyen komplet (tam) yarık



Şekil 2-7:Dudak-damak yarığı basit sınıflama (Veau 1931)

Yerleşimlerine ve yarık tipine göre (Veau 1931)

- İki taraflı tam dudak damak yarığı
- Bir tarafı tam diğer tarafı tam olmayan dudak damak yarığı
- Sadece tam dudak yarığı
- Sadece tam olmayan dudak yarığı

- Mikroform yarık (Dudakta yara izi şeklinde görülen yarık)
- Sadece tam damak yarığı
- Sadece tam olmayan damak yarığı (Yumuşak damak yarığı)
- Sadece uvula yarığı
- Submüköz yarık

Alveoler ark temel olarak alınırsa (Davies - Ritchie 1922)

- Prealveoler (yarık dudak)
- Postalveoler (yarık damak)
- Transalveoler (yarık dudak-damak)

Embriyolojiye göre (Kernehan-Stark 1958)

- Primer damak yarığı (insiziv foramen önünde)
- Sekonder damak yarığı (insiziv foramen arkasında)

Sendrom ile birlikte görülüp görülmemesine göre (Schutte ve Murray 1999)

- Nonsendromik dudak-damak yarığı
- Nonsendromik damak yarığı
- Sendromik dudak-damak yarığı
- Sendromik damak yarığı

2.4.1. Damak Yarıkları

2.4.1.1. Primer Damak Yarıkları

Lateral damak çıkıntılarını oluşturan mezenkim hücrelerinin kendi aralarında ve primer damaktaki mezenkim hücreleri ile tam olarak birleşememesinden meydana geldiği bildirilmektedir (205).

Üst dudak ve arkada insiziv foramene kadar olan yapılar (premaksilla) primer damak olarak isimlendirilmektedir. Üst dudağı oluşturan yapılardan medial nazal çıkıntı ile maksiller çıkıntının tek tarafta birleşememesi tek taraflı dudak yarığını, iki tarafta da birleşememesi çift taraflı dudak yarığını oluşturmaktadır. Embriyolojik etkilenmenin zamanlamasına ve birleşme oranına bağlı olarak komplet (tam) veya inkomplet (tam olmayan) yarıklar meydana gelmektedir (84,118,201).

Medial nazal çıkıntıların mediale hareketi sonrasında orta çizgide birleşme olmaz ise medyan dudak yarığı ortaya çıkmaktadır. Maksiller çıkıntı ile mandibular çıkıntının laterallerde birleşememesi makrostomi veya lateral yüz yarığı denilen durum ile sonuçlanmaktadır. Dudak yarıkları ile beraber insiziv foramen önündeki damak bölümünde de yarıklar görülebilmektedir. Komplet dudak yarıklarında primer damağı oluşturan tüm yapılarda tek veya çift taraflı yarık olabilmektedir. Medial nazal çıkıntılar ile frontonazal çıkıntının birleşmesi sonucu medyan damak çıkıntısı oluşmaktadır. Bu çıkıntı her iki lateralde maksiller çıkıntının uzantısı olan lateral damak çıkıntıları ile birleşerek premaksillayı oluşturmaktadır. Bu birleşme meydana gelmez ise primer damağın premaksilla bölümünde tek veya iki taraflı yarık ortaya çıkmaktadır (118).

2.4.1.2. Sekonder Damak Yarıkları

Lateral damaktaki mezenkim hücrelerinin birbirleriyle ve nazal septumla birleşememesiye meydana gelmektedir (205).

Primer damak yapılarının oluşumunu takiben 8. haftada lateral damak çıkıntıları (maksiller çıkıntının medial kenarlarından gelişirler) vertikal durumdan horizontal

duruma doğru hareketlenmektedirler. Lateral damak çıkıntıları, bu yukarı ve mediale hareket sırasında dil ile karşılaşmakta ve dil ile eş zamanlı hareket ederek yön değiştirmektedirler. Yer değişiminin tamamlanması ile lateral damak çıkıntıları da gelişimini tamamlamakta ve orta çizgide birleşerek sert damağın bir kısmını (insiziv foramenin posterioru) ve yumuşak damağın tamamını oluşturmaktadırlar. Her iki lateral damak çıkıntısının orta çizgideki birleşme yeri palatinal rafe olarak ortaya çıkmaktadır (201,205).

Sekonder damak yarıkları bifid uvula, submüköz yarık, inkomplet yarık (tam olmayan) ve komplet yarık (tam) olarak sınıflandırılmaktadırlar. Lateral damak çıkıntılarının yukarıya doğru hareketi, gelişmesi ve birleşmesindeki kusurlar damak yarığı oluşumuna yol açabilmektedir. Sekonder damak yarığı oluşumunu ve derecesini lateral damak çıkıntılarının gelişim sürecindeki engellemelerin zamanı ve şiddeti belirlemektedir. Lateral damak çıkıntılarında meydana gelen defektler daha önce maksiller çıkıntının oluşumu sırasında ortaya çıkan bozukluklardan kaynaklanabilmektedir. Bazı olgularda her iki taraftaki lateral damak çıkıntılarından kaynaklanan birleşme kusuru olabilmektedir (çift taraflı yarık), bazı olgularda ise lateral damak çıkıntılarındaki birleşme kusurundan tek taraftaki gecikme sorumlu olmaktadır (tek taraflı yarık) (84,205).

2.4.1.3. Primer ve Sekonder Damak Yarıkları

Lateral damak çıkıntılarını oluşturan mezenkim hücrelerinin hem kendi aralarında, hem de primer damak mezenkimi ve nazal septum hücreleri ile birleşememesinden meydana gelmektedirler (193,205) (Şekil 2-8).

2.4.2. Dudak Yarıkları

Damaktan bağımsız olarak (sağlam ve/veya yarık damak) dudakta meydana gelen yarıkları kapsamaktadırlar ve 1/1000 insidansında görüldükleri bildirilmektedir. Farklı etnik gruplarda bu oran değişebilmekte, ayrıca erkeklerde oluşma oranının daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Alt dudak yarıkları çok nadir görülmekte ve mandibular

çıkıntılardaki mezenkim hücrelerinin birleşememesi ile meydana geldiği belirtilmektedir (114,193,205) (Şekil 2-8).

Mikroform yarıklar da bu grup içerisine girebilmektedir. Bu tip yarıkların dudak yara izi şeklinde veya orbikularis oris kasında defektler şeklinde izlendiği bildirilirken sıklığı 0.06/10.000 olarak belirtilmektedir. Mikroform ve subepitelyal yarıklarda BMP4 geninin rol oynadığı bildirilmektedir (171,202).

2.4.2.1. Tek taraflı Dudak Yarıkları

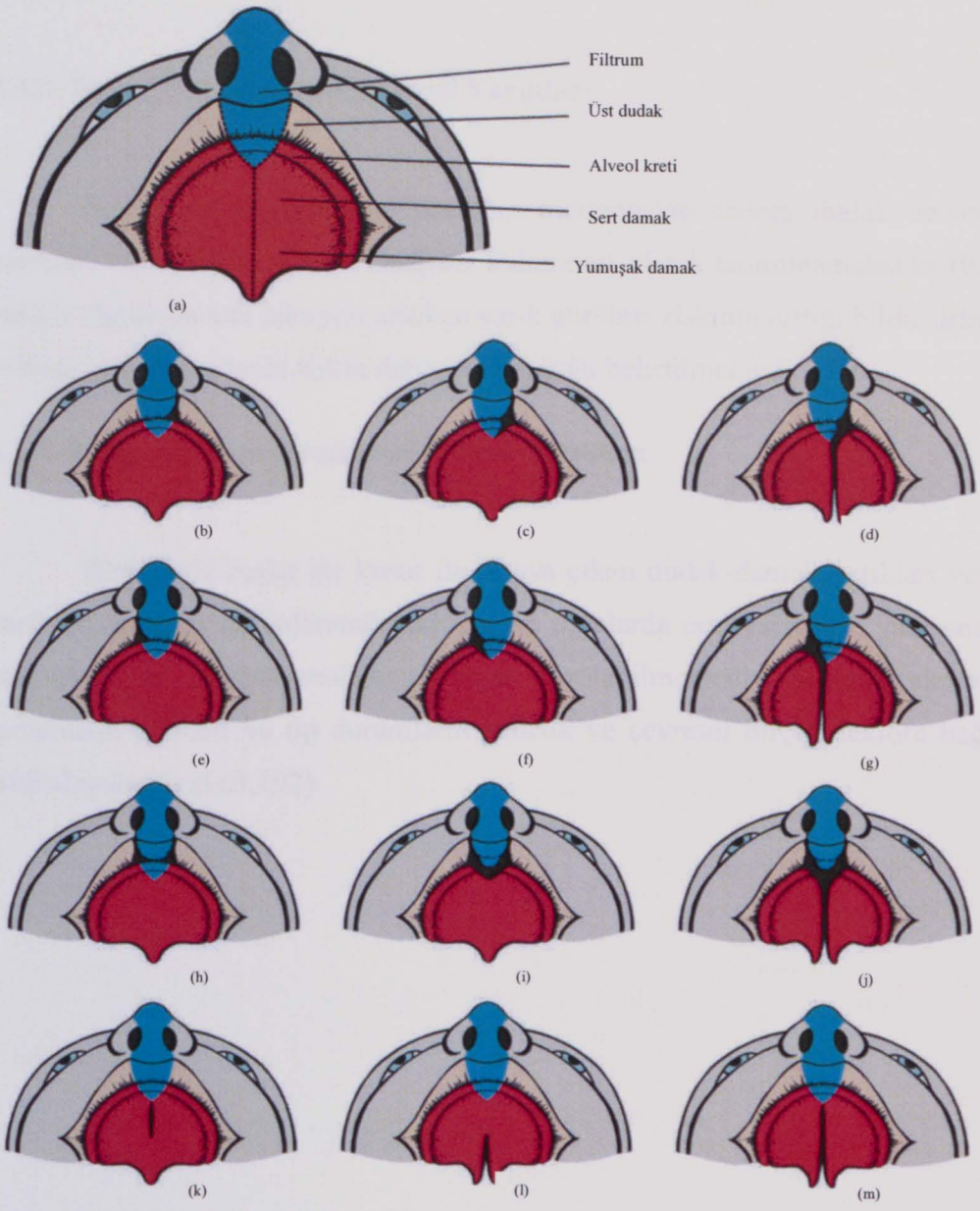
Maksiller çıkıntının medial nazal çıkıntılar ile tam birleşememesinden kaynaklanmaktadır. Bu kusur mezenkim hücrelerin çoğalması ve üstündeki epitel dokunun düzgün hale gelememesiyle meydana gelmektedir (114).

2.4.2.2. Çift Taraflı Dudak Yarıkları (Fissio Labialis Bilateralis)

Maksiller çıkıntılardaki mezenkim hücrelerinin birleşip bunların kaynaşmış olan medial nazal çıkıntılar ile birleşememesinden kaynaklanmaktadırlar. İki taraftaki sorun simetrik olmayabilir, yarığın boyutu ve şiddeti farklı olabilmektedir. Bazı durumlarda intermaksiller segment serbest olarak asılı kalmakta ve dudak birleşmesi ve ağız kapanmasında sorunlara yol açabilmektedir (114).

2.4.2.3. Mediyan Dudak Yarıkları

Az görülen bir defekt olarak bildirilmektedir. Mediyan nazal çıkıntıların tam yada kısmi birleşememesinden kaynaklanmakta ve intermaksiller segmentin oluşmamasına neden olabilmektedir. Sendrom ile birlikte görüldüğü durumlar daha sıktır ve otozomal çekinik olarak geçiş gösterdiği bildirilmiştir (114,193).



Şekil 2-8: Dudak-damak yarığı kompleks sınıflama

(a) Normal anatomi **(b)** Tek taraflı sol dudak yarığı **(c)** Tek taraflı sol dudak,alveol yarığı **(d)** Tek taraflı sol dudak, alveol, sert ve yumuşak damak yarığı **(e)** Tek taraflı sağ dudak yarığı **(f)** Tek taraflı sağ dudak, alveoli yarığı **(g)**) Tek taraflı sağ dudak, alveol, sert ve yumuşak damak yarığı **(h)** Çift taraflı dudak yarığı **(i)** Çift taraflı dudak, alveoli yarığı **(j)** Çift taraflı dudak, alveol, sert ve yumuşak damak yarığı **(k)** Sert damak yarığı **(l)** Yumuşak damak yarığı **(m)** Sert ve yumuşak damak yarığı (98)

2.4.3. İzole (Non- Sendromik) Oral Yarıklar:

Bireylerde herhangi bir sendrom bulunmadan sadece dudak ve/veya damak yarıkları veya sadece damak yarığının bulunması olarak tanımlanmaktadır (9,10). İzole yarıklı olgularda aile hikayesi arttıkça yarık görülme riskinin arttığı bildirilirken, akraba evliliği gibi durumlarda riskin daha fazla olduğu belirtilmektedir (206).

2.4.4. İzole Olmayan (Sendromik) Oral Yarıklar:

Bireylerde başka bir kusur ile ortaya çıkan dudak-damak yarıkları veya damak yarıkları şeklinde tanımlanmaktadır. Bu tip olgularda oral yarıkların yanı sıra sistemik hastalıklar ve vücutta malformasyonlar görülebilmektedir. Sıklıkla akraba evliliği sonucunda görülen bu tip durumların genetik ve çevresel birçok faktöre bağlı olduğu bildirilmektedir (163,192).

Tablo 2-2: Dudak -damak yarıkları ile birlikte izlenen bazı sendromlar ve bu sendromlara neden olan genler

Sendrom	Gen ismi	Gen Kısaltması	Kromozom Lokasyonu	Kalıtım
Akut promiyelositik lösemi	Retinoic acid receptor, alpha polpypeptide	*RARA*	17q12	Otozomal Resesif
Alstrom sendromu	Transforming growth factor –alpha	*TGFA*	2p13	Otozomal Resesif
Andersen sendromu	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2	*KCNJ2*	17q24.3	Otozomal Dominant
Angelman sendromu	Gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor, Beta 3	*GABRB3*	15q11-q13	Otozomal Resesif
Apert sendromu	Fibroblast growth factor receptor 2	*FGFR2*	10q26	Otozomal Dominant
Axenfeld-Rieger sendromu	Distal-Less Homebox2	*DLX2*	2q31.1	Otozomal Dominant
Bamforth-Lazarus Sendromu	Forkhead Box E1	*FOXE1*	9q22	Otozomal Resesif
Bardet-Biedl sendromu	T-box transcription factor 10	*TBX10*	11q13.1	Otozomal Resesif
Bazal hücreli nevus sendromu (Gorlin sendromu)	Patched	*PTC*	9q22.3	Otozomal Dominant
Beare-Stevenson cutis gyrata sendromu	Fibroblast growth factor receptor 2	*FGFR2*	10q26	Otozomal Dominant
Branchio-oculo-facial sendromu	Transcription factor AP-2 alpha	*TFAP2A*	6p24	Otozomal Dominant
Campomelic displazi	SRY (Sex- determining region Y) -Box 9	*SOX9*	17q24.3-q25.1	Otozomal Resesif
CLP – ektodermal displazi	Poliovirus receptor-related 1	*PVRL1*	11q23.3	Otozomal Resesif
Damak yarığı ile Ankiloglossi	T-box transcription factor 22	*TBX22*	Xq21.1	X'e bağlı
Diastrophic displazi	Diastropic dysplasia sulfate transporter	*DTDST*	5q32-q33.1	Otozomal Resesif
DiGeorge sendromu	CATCH22	*CATCH22*	22q11	Otozomal Dominant
Digeorge Sendromu	T-box transcription factor 1	*TBX1*	22q11.21	Otozomal Resesif veya X'e bağlı
Ektrodaktili, ektodermal displazi, orofasiyal cleft sendromu	Transformation related protein 63	*TP63*	3q27	Otozomal Dominant
Fenulketanuri	Phenylalanine hydoxylase	*PAH*	12q24.1	Otozomal Resesif
Fragile X sendromu	D4S192	*D4S192*	4q25-4q31.3	Otozomal Resesif
Goldenhar Sendromu	Myelocytomatosis viral related oncogene, neuroblastoma derived	*MYCN*	2p24.1	Otozomal Resesif veya Dominant
Gorlin sendromu	Sonic Hedgehog Homolog	*SHH*	7q36	Otozomal Dominant
Gorlin sendromu	Protein patched homolog 1	*PTCH1*	9q22.3	Otozomal Dominant
Greig cephalopolysyndactyly sendromu	Gli-Kruppel Family member 2	*GLI2*	2q14	Otozomal Dominant
Holoprosencephaly	GLI family zinc finger 2	*GLI2*	2q14	Otozomal Dominant
Holoprosencephaly	SIX homeobox 3	*SIX3*	2p21	Otozomal Dominant
Holoprosencephaly, tip 3	Sonic Hedgehog Homolog	*SHH*	7q36	Otozomal Dominant

Jackson-Weiss sendromu	Fibroblast growth factor receptor 2	*FGFR2*	10q26	Otozomal Dominant
Jarcho-Levin sendromu	Paired box gene 9	*PAX9*	14q12-q13	Otozomal Resesif
Kabuki sendromu	Myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 2	*MLL2*	12q12-q14	Otozomal Dominant
Kallmann Sendromu	Fibroblast growth factor receptor 1	*FGFR1*	8p11.2-p11.1	X'e bağlı
Kledіokraniyal displazi	Muscle segment homeobox, drosophila, homolog of 2	*MSX2*	5q34-q35	Otozomal Dominant
Kraniyofrontonazal displazi	Eph-related receptor tyrosine kinases	*EFNB1*	Xq12	Otozomal Dominant
Kruzon kraniofasiyal dizostozis	Fibroblast growth factor receptor 2	*FGFR2*	10q26	Otozomal Dominant
Larsen sendromu	Filamin B, beta	*FLNB*	3p14.3	Otozomal Dominant
Loeys-Dietz Sendromu	Transforming growth factor -beta receptor type 1	*TGFBR1*	9q22	Otozomal Dominant veya Resesif
Marfan sendromu	Transforming growth factor -beta type 1	*TGFB1*	19q13.2	Otozomal Dominant
Margarita Island CL/P-ektodermal displazi sendromu	Poliovirus receptor	*PVR*	19q13.31	Otozomal Resesif
Miller sendromu	Dihydroorotate dehydrogenase	*DHODH*	16q22	Otozomal Resesif
Neonatal osseous displazi I	Diastropic dysplasia sulfate transporter	*DTDST*	5q32-q33.1	Otozomal Resesif
Okulofasiokardiodental	BCL6 corepressor	*BCOR*	Xp11.4	X'e bağlı
Oro-fasiyal-digital sendromu	GLI family zinc finger 3	*GLI3*	7p13	Otozomal Resesif
Osmed sendromu	Collagen, type XI, alpha 2	*COL11A2*	6p21.3	Otozomal Resesif
Otopalatodigital tip 1 ve 2	Filamin A, alpha	*FLNA*	Xq28	Otozomal Dominant
Pallister-Hall sendromu	Microphthalmia-associated transcription factor	*MITF*	3p14.1-p12.3	Otozomal Dominant
Pallister-Hall sendromu	Gli-Kruppel Family member 2	*GLI2*	2q14	Otozomal Dominant
Pfeiffer sendromu	Fibroblast growth factor receptor 2	*FGFR2*	10q26	Otozomal Dominant
Pierre-Robin Sendromu	Sex determinin region-Y	*SOX9- SRY box 9*	17q24.3-q25.1	Otozomal Dominant
Popliteal pterygium sendromu	Interferon regulatory factor 6	*IRF6*	1q32-q41	Otozomal Dominant
Retinoblastoma	Retinoblastoma-1	*RB1*	13q14.1-q14.2	Otozomal Dominant
Roberts sendromu	Establishment of cohesion 1 homolog 2	*ESCO2*	8p21.1	Otozomal Resesif
Robinow sendromu	Receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 2.	*ROR2*	9q22	Otozomal Resesif
Saethre-Chotzen sendromu	Twist transcription factor	*TWIST*	7p21	Otozomal Dominant
Shprintzen-Goldberg sendromu	Collagen, type XI, alpha 2	*COL11A2*	6p21.3	Otozomal Dominant
Siderius X-linked mental retardation	PHD Finger Protein 8	*PHF8*	Xp11.2	X'e bağlı
Simpson dismorfi sendromu	Glypican-3	*GPC3*	Xq26	X'e bağlı
Smith lemli opitz	7-Dehydrocholesterol reductase	*DHCR7*	11q13.4	Otozomal Resesif
Stickler sendromu, tip 1-2	Collagen, type XI, alpha 1,2	*COL11A1-2*	1p21- 6p21.3	Otozomal Dominant
Stickler sendromu, tip3	Collagen, type XI, alpha 2	*COL11A2*	6p21.3	Otozomal Dominant
Tetra-amelia-CLP	Wingless-type MMTV integration site family, member 3	*WNT3*	17q21	Otozomal Resesif

Toriello-Casey sendromu	Special at-rich sequence binding protein 2	*SATB2*	2q32-q33	Otozomal Resesif
Treacher Collins mandibulofasial dizostozis	Treacle	*TCOF1*	5q32-q33.1	Otozomal Dominant
Trisomi 21 (Down Sendromu)	Methylenetetrahydofolate reductase	*MTHFR*	1p36.3	Otozomal Resesif veya Dominant
Trisomi 21 (Down Sendromu)	Replication factor C (Activator 1)	*RFC1*	4p14-p13	Otozomal Resesif veya Dominant
Van der Woude sendromu	Interferon regulatory factor 6	*IRF6*	1q32-q41	Otozomal Dominant
Van der Woude sendromu	D4S192	*D4S192*	4q25-4q31.3	Otozomal Dominant
Velokardiyofasiyal sendrom	CATCH22	*CATCH22*	22q11	Otozomal Dominant
Velokardiyofasiyal sendrom	T-box transcription factor 1	*TBX1*	22q11.21	Otozomal Resesif veya X'e bağlı
Waardenburg sendromu, tip I	Paired box homeotic gene-3	*PAX3*	2q35	Otozomal Dominant
Waardenburg sendromu, tip IIA	Microphthalmia-associated transcription factor	*MITF*	3p14.1-p12.3	Otozomal Dominant
Witkop sendromu	Muscle segment homeobox, drosophila, homolog of 1	*MSX1*	4p16.1	Otozomal Dominant
Wolf-Hirschhorn sendromu	Muscle segment homeobox, drosophila, homolog of 1	*MSX1*	4p16.1	Otozomal Dominant
Zellweger sendromu-3	Peroxisomal Membrane Protein-3	*PXMP3*	8q21.1	Otozomal Dominant

Dudak-damak yarığı gözlenen olguların yaklaşık olarak %70'inin bir sendroma bağlı olmaksızın, %30'unun bir sendromla birlikte görüldüğü bildirilirken, yaklaşık olarak %20-30 arasında dudak-damak yarıklı olgulara, %40-60 arasında sadece damak yarıklı olgulara 400'den fazla sendromun eşlik ettiği bildirilmektedir (Tablo2-2) (8,33,42,65,67,79,84,101,115,157,171). Ayrıca sadece damak yarığı gözlenen olguların da %50'sinin bir sendromla beraber oluşmadığı belirtilmektedir. (8,37,117,168). İnsanlarda kollajenleri, fibroblast büyüme faktörlerini, sülfat taşıyıcıları, nükleolar proteinleri ve tiroid transkripsiyon faktörlerini kodlayan genlerde oluşan defektler dudak damak yarığının eşlik ettiği sendromlar ile ilişkilendirilmiştir (76).

2.5. Dudak ve/veya Damak Yarıklı Çocuklarda Görülen Anomaliler

Bu tip hastalar çok çeşitli problemler ile dünyaya gelmektedirler. Beslenme problemleri, konuşma ve duyma problemleri, dental problemler, sosyal ve psikolojik bozuklular ve mental yetersizlikler bunlardan başlıcaları olarak belirtilmektedir (65).

Dudak ve damağın yetersiz gelişimine bağlı burun ve ağız kavitelerinin görevlerini tam yapamamasından dolayı solunum ve beslenme problemleri bunlardan en önemlisi olarak gözlenmektedir. Beslenme problemleri ayrıca çocuğun normal gelişiminde de etkili olmaktadır. Bu durumun zararını en aza indirgemek için dudak-damak yarıklı hastalara özel beslenme pozisyonları ve biberonlar geliştirilmiştir. Eğer beslenme problemleri şiddetliyse nazo-gastrik tüp yardımı ile çocuğun gelişimini devam ettirmesi sağlanmaktadır (30,114,133).

Ağrı ve duyma kaybı ile sonuçlanan tekrarlayan kulak enfeksiyonları ve konuşma problemi de diğer önemli problemler olarak bildirilmektedir. Dudak-damak yarıklı bireylerde yumuşak damakta oluşan defekt nedeniyle velofarengeal fonksiyon yetersizliği sonucu konuşma problemleri ortaya çıkmaktadır (122).

Yarık ne kadar şiddetli ise bu tip problemlerin oluşma riski ve tedavi şekli daha kompleks olabilmektedir. Özellikle estetik açıdan sadece cerrahi tedavi değil dental ve ortodontik tedavi gereksinimi de bu tip hastalarda çok önemli olmaktadır. Dental orta

hat sapmaları ve asimetrik dental ark formu, üst çenenin az gelişimine bağlı ön bölgede çapraz kapanışa yatkınlık, dişlerdeki sayı, şekil ve doku anomalileri dudak damak yarıklı hastalarda gözlenen en önemli dental anomaliler olarak belirtilmektedir (80,195).

Dişlerin, dudak ve damak ile aynı zamanda oluşması ve bazı genlerin hem diş gelişiminde hem de dudak ve damak gelişiminde rol oynamasından dolayı DDY'li çocuklar, yarık olmayan çocuklarla dental anomali görülme sıklığı açısından karşılaştırıldığında, yarıklı çocuklarda dental anomalilerin daha sık görüldüğü belirtilmiştir. Yarık şiddeti ile anomali görülme sıklığı da doğru orantılı olarak artmaktadır (188). Dudak damak yarığı ile doğan bireylerde diş eksikliği görülme sıklığının görülmeyenlere göre 6 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (189).

Dental anomaliler; sayı, boyut, biçim, formasyon, sürme zamanı anomalileri, mine defektleri ve konum bozuklukları şeklinde görülmektedir (80,108,188,192). Konjenital diş eksiklikleri, sayı anomalileri içinde en sık görülen anomali olarak bildirilmektedir. Çalışmalarda hipodonti için belirtilen prevalans %33-79 arasında değişiklik göstermektedir. Sıklıkla yarık tarafta maksiller kanin veya lateral kesicilerin eksik olduğu bildirilmiştir. Diş eksikleri, yarık hattı dışında da sağlıklı bireylerden fazla olabilmektedir. Her ne kadar dudak damak yarıklı hastalarda hipodonti hiperdontiden daha yaygınsa da özellikle tek taraflı yarıklarda yarık tarafında süt yada daimi süpernümerer yan kesiciler sıklıkla görülebilmektedir. DDY'da süpernümerer dişler yarığa komşu yan kesicilerdir ve genellikle gömülü kaldıkları bildirilmiştir (80,160,193).

MSX1, TGFβ3, TGFα, PAX9, FGFR1 ve IRF6 genlerinin hem dudak-damak yarıklarının oluşumunda hemde diş eksikliği görülen olgularda etkili genler olduğu yapılan bağlantı ve bağlantı dengesizliği çalışmaları ile belirtilmektedir (112,160,192,195,197,199,). Dental epitelyumun oluşumunda erken evrede çok çeşitli moleküllerin etkili olduğu bildirilirken BMP2, BMP4, BMP7, DLX2, DLX5, FGF1, FGF2, FGF4, FGF8, FGF9, LEF1, GLI2 ve GLI3 gibi moleküllerin insanlarda diş eksikliğinde potasiyel aday genler olabileceği vurgulanmaktadır (192).

Diş eksikliğinin 45 den fazla sendrom (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/) ile ilgili olduğu ancak bu sendromlarda hangi dişlerin eksik olduğu detaylı olarak bildirilememektedir. Bunun nedeni olarak her dişin farklı ve bağımsız gelişimsel

mekanizmasının olması ve dişlerin spesifik türlerinin eksikliğinde farklı genetik faktörlerin etkili olması düşünülmektedir (71).

DDY'da sık görülen anomalilerden bir diğeri de ektopik dişler olarak belirtilmektedir. Dental arkta olması gereken yerden farklı pozisyonda süren dişler, ektopik diş olarak tanımlanmaktadır. Bu tip hastalarda transpoze dişler ve gömülü dişlerde görülebildiği gibi nazal kavitede sürmüş dişlere de rastlanabilmektedir. Bu dişler nazal obstruksiyon, kronik irritasyon ya da sinüzite sebep olabilmektedir (71,80,106).

Diş minesinin hipomineralizasyonunda, mine kaybı olmaksızın, renk ve translusensi bozulmakta ve bu durum mine defekti olarak tanımlanmaktadır. Eğer mine yüzeyinde makroskopik defekt varsa mine hipoplazisi olarak yorumlanmaktadır. DDY'lı hastalarda mine hipoplazisi sık görülebilmekte ve hipoplazi sonucu estetik bozularak, çürük riksi ve duyarlılık artmaktadır (93,106).

2.6. Dudak - Damak Yarıklarının Teşhisi ve Epidemiyolojisi

2.6.1. Dudak - Damak Yarıklarının Teşhisi

Genetik hastalıkların ve doğumsal anomalilerin bir bölümü riskli ailelelerde gebeliğin 9. haftasından itibaren anne karnındaki bebeğe ait dokularda yapılan testlerle tanınabilmektedir. Bu testler için, ultrasonografi, amniyosentez, koryon villüs aspirasyonu veya kordosentez gibi yöntemler kullanılmaktadır. Dudak-damak yarıklarının prenatal teşhisinin yüz kemiklerinden akustik gölge elde edilmesinin zor olması nedeniyle çoğu zaman yanıltıcı olduğu belirtilmektedir. Gebeliğin 20-22. haftaları arası teşhis için en uygun zaman olarak bildirilmektedir (15,96).

Ultrasonografi (USG) ultra ses dalgaları veren bir alet yardımı ile fetüsün iç ve dış organlarının görülmesi ve varsa anomalilerin saptanması esasına dayanmaktadır. Bebeğin başına ait şekil bozuklukları (hidrosefali, mikrosefali), nöral tüp defektleri (omurganın kapanma kusurları), el, ayak, bağırsak, böbrek ve kalp gibi organlara ait anomaliler bu yöntemle tanınmaktadır. Normal gebeliğin izlenmesinde imkanlar

uygunsa gebeliğin 10-12. haftası ve 17-20. haftasında USG yapılması doğuştan olan anomalilerin taranmasını sağlayabilmektedir. USG'nin doğuştan olan anomalilerin taranmasında sensitivitesi (duyarlılığı) düşük ise de nöral tüp defektlerinin tanınmasında sensitivitenin yüksek olduğu bildirilmektedir (96).

Üç boyutlu ultrason tekniklerinin kullanılmaya başlanması ile prenatal teşhisin doğruluk payı daha da artmaktadır. Üç boyutlu ultrasonun, geleneksel iki boyutlu görüntülemeye göre daha net yüz resimleri sunması sayesinde yarık hattının tam olarak hangi doğrultuda olduğunun belirlenmesi sağlanmaktadır. Bunun yanısıra üç boyutlu ultrason teknolojisinin kullanımı henüz tam olarak yaygınlık kazanmamıştır (15,96).

2. yöntem bebeğin anne rahminde, içinde yüzdüğü sıvının bir miktarının (yaklaşık 16 ml) enjektör ile aspire edilmesi yani amniyosentez yöntemi olarak bildirilmektedir. Genellikle gebeliğin 15-21. haftaları arasında uygulanmaktadır. USG ile gebelik haftası hesaplandıktan sonra, plasentanın yeri ve amniyotik sıvının aspire edileceği bölge belirlenmekte ve ince bir iğne ile çocuğun baş ve gövdesinden uzak bir yerden amniyotik sıvı alınmaktadır. Amniyotik sıvıya dökülmüş olan fetüse ait hücreler özel ortamlarda kültür edilerek üretilmekte ve bu hücrelerde kromozom, enzim ve DNA analizi yapılabilmektedir. Bugün dünyada benimsenmiş olan, 35 yaş üzerindeki bütün gebelere amniyosentez yapılarak fetal karyotipi belirlemektir (96,114).

Daha nadir kullanılan yöntem Koryon villüs aspirasyonu olarak belirtilmektedir. Bebeği besleyen plasentadan bir miktar dokunun biyopsi yöntemi ile alınmasıdır. Özellikle PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) teknolojisiyle DNA analizleri için, gerekirse sitogenetik analizler için yapılmaktadır (96).

Gelecekte, dental anomaliler, dudak izleri, orbikularis oris kasındaki defektler, 3 boyutlu yüz görüntüsü ölçümleri, beyin fonksiyonlarının, konuşma ve zihinsel farklılıkların, okuma becerisi ve zeka düzeyinin değerlendirilmesi gibi subklinik fenotiplerin belirlenmesi ile minor yapısal defektler ve bu defekte yatkınlığı olanlar saptanabilecektir (37,171,202).

2.6.2. Dudak - Damak Yarıklarının Epidemiyolojisi

Dudak-damak yarıkları, embriyolojik dönemde çeşitli nedenlerden dolayı yüz bölgesindeki yapıların birleşmesindeki hata nedeniyle ortaya çıkan bir anomali olarak tanımlanmaktadır. Yüz deformiteleri içerisinde en sık görülen konjenital anomalilerden biri olduğu belirtilirken, her 500-1000 canlı doğumda bir rastlandığı bildirilmektedir (15,22,23,29,37,49,75,84,96,99-101,113,117,136,138,139,157,173,193,194,198).

Tablo 2-3: Dudak damak yarıklarının sıklığı

Etnik	Sıklık
Afrika	0.4/1000
Kafkasya	0.9/1000
Amerika	0.4-1.7/1000
Asya	1.4/1000
Türkiye	0.95-1.5/1000
Batı Avrupa	1.3-1.9/1000
Kuzey Avrupa	2.1/1000

Dudak - damak yarıkları ırklara göre değişik oranlarda görülmektedir (Tablo 2-3) (15,33,37,42,45,51,93,117,173,178,193,195,198-200). Afrikalı ve Afrika kökenlilerde, İsrail ve güney Avrupada oran daha düşük, Latin Amerika, Hintliler, Japonlar ve Çinlilerde ise daha fazla olarak bildirilmektedir (114,124). İzole DDY beyaz ırkta 0.7-1/1000, Çin'de 1.7/1000, Kore'de 1.87/1000, Japonya'da 2,1/1000, Türkiye'de 0.95/1000 olarak belirtilmiştir (73,124,181,185). Siyah ırkta nadir görülürken, doğulu sarı ırkta çok daha sık ortaya çıktığı belirtilmektedir (124).

DDY'dan erkekler kızlara göre 2 kat daha fazla etkilenirken; dudak yarığı erkeklerde, damak yarığı ise kızlarda daha sık görülmektedir. Sol tek taraflı yarık görülme sıklığı sağ tek taraflı yarıklara göre iki kat fazla iken çift taraflı yarık görülme oranı daha az olarak bildirilmiştir (15,37,42,84,198). Yarık dudak olgularının sıklığı ortalama 1/300, sadece yarık damak ortalama 1/1500 ve her ikidurumun birarada bulunma sıklığı da ortalama 1/2500'dür. Finlandiya'da yarık damak sıklığı 1/1000,

kuzey-doğu Fransa'da 0.41/1000, İtalya'da 0.34/1000 olarak görülmüştür. Oranların bu kadar değişik olmasının nedenleri arasında coğrafi, etnik köken ve kalıtım kalıplarının farklılıkları olabileceği gibi oral yarığın tipine göre de farklılık görülmektedir (117,163,198,206).

Ayrıca yapılan bir istatistiksel değerlendirmeye göre dudak-damak yarıklı bireylerin ailelerinde lösemi ve lenfoma gibi kanser tiplerinin görülme oranının yüksek olduğu belirtilirken; dudak-damak yarığı ile doğan erkek bireylerde akciğer kanseri, kadın bireylerde beyin ve göğüs kanseri gelişme riskinin arttığı belirtilmektedir (193).

2.7. Dudak - Damak Yarıklarının Etyolojisi

Dudak damak yarıklarının etyolojisi tam olarak açıklanamamasına karşın bu anomalinin embriyolojik yaşamda embriyo üzerine etki eden faktörlere bağlı olduğu düşünülmektedir. Araştırmalar dudak-damak yarığının, embriyolojik gelişimin ilk 8 haftası içerisinde ortaya çıktığını göstermektedir (34,76,117,118,139,193,205,206).

Dudak ve damağı oluşturan yüz çıkıntılarının gelişimsel aşamaları genetik ve çevresel faktörlerin etkisi altında gerçekleşmektedir (9,29,49,83,98,124). Pek çok genetik ve çevresel faktörün oluşturduğu etkinin toplamının belirli bir hastalığı veya deformiteyi ortaya çıkarmasına multifaktöriyel etki mekanizması adı verilmektedir. Dudak-damak yarıklarının embriyojenik sürecindeki bozukluklar da multifaktöriyel etki mekanizması ile açıklanabilmektedir (15,22,42,108,118,139,199).

Dudak damak yarığı oluşumu, genlerin etkisi ile (lokus heterojenite), bir gendeki farklı mutasyon ile (allelik heterojenite) veya çeşitli genlerin birbiri üzerine gen-gen, gen-çevre etkileşimleri ile oluşmaktadır (8).

Çevresel faktörler (%60-%75)

- Annenin yaşı
- Annenin sigara kullanması
- Annenin alkol kullanması

- Annenin hamilelik döneminde enfeksiyon geçirmesi
- Annenin hamilelik döneminde ilaç kullanması (Vazoaktif ilaçlar-psödoepinefrin, aspirin, ibuprofen, amfetamin, antikonvülsan ilaçlar-fenobarbital, dilantin, naproksen, kortikosteroidler)
- Folik asit eksikliği
- Vitamin eksikliği (A, B6, B12)

Genetik faktörler (%25-40)

- Aile hikayesi
- Aday genler (22,75,96,127,137,163,200,201).

Yüz deformitelerinin oluşumuyla ilgili yapılan birçok çalışma olmasına rağmen etyolojisi ve patojenitesi hala tam anlamıyla açıklığa kavuşmasa da yarık dudak-damak oluşumunun genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle meydana geldiği bilinmektedir. Bazı olgularda sadece genetik veya çevresel faktörler olabildiği gibi bazı olgularda hem genetik hem de çevresel faktörler birlikte etkili olabilmektedir (8,160). Tek yumurta ikizlerinde dudak-damak yarığı oluşumunun %100 olmaması genetik faktörlerin tek başına etkili olmadığını göstermektedir (117).

Gen-gen veya gen-çevre etkileşimlerinin geçtiğimiz yıllar süresince yüz deformitelerinin oluşumda önemli bir role sahip olduğu moleküler ve epidemiyolojik çalışmalar sayesinde ortaya konulmaktadır. Çeşitli lokus ve genler, dudak-damak yarıklarının oluşumda aday olarak gösterilmiş ve bu konu üzerinde çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir (78,95,200). Hamilelik döneminde anti-epileptik ilaç, alkol ve sigara kullanımı, folik asit ve multivitamin eksiklikleri gibi genetik olmayan çevresel faktörlerin dudak-damak yarığı ile ilişkisi ortaya konmasına rağmen hastalığın genetik temeline dayanan çalışmalar ön plana çıkmaktadır (117,136,193,205,206).

2.7.1. Nonsendromik Dudak ve Damak Yarıklarında Çevrenin ve Kalıtımın Rolü

2.7.1.1. Çevrenin Rolü

DDY oluşumunda birçok teratojen etken ile ilgili çalışma yapılmıştır. Bu faktörler arasında en fazla çalışılanlar gebelik sırasında maternal sigara ve alkol kullanımı, vitamin ve özellikle folik asit eksikliği, viral enfeksiyonlar ve bazı ilaçlar olarak bildirilmektedir. Bu faktörlere annenin gebeliği sırasında maruz kalma sıklığı, maruz kalınan faktörün dozu ve gebelik süresi meydana gelebilecek fetal kusurların şiddetini değiştirebilmektedir (162).

- ***Hamilelik yaşı:*** Genel olarak annenin 35 yaşından sonra doğum yapması doğumsal defekt oluşma riskini artırmaktadır. Geç yaşta gerçekleşen hamileliklerde dudak damak yarıklarına daha sık rastlandığı bildirilmektedir. Dudak - damak yarığı oluşumunda annenin yaşının önemli olması kadar babanın yaşınında etyolojide rol oynayabileceğini savunan kaynaklar bulunmaktadır (16).

- ***Sigara kullanımı:*** Sigara içinde tanımlanan kimyasalların kanser ve birçok hastalığa neden olduğu bilinmektedir. DDY oluşumunda ise annenin sigara kullanımı en fazla çalışılmış olan teratojenik faktör olarak bildirilmektedir (203). Sigaranın DDY oluşumunu etkilediğini belirten çalışmalar olduğu gibi (9,32,88,147,206,207) etkilemediğini belirten çalışmalar da bulunmaktadır (88,97). Yapılan bir araştırmada, sigara kullanımının DDY oluşumuna etkisi %4, çift taraflı DDY oluşumuna ise etkisinin %12 olduğu bildirilmiştir (58). Meta-analiz çalışmaları, sigaranın dudak- damak yarığı oluşumda etkinliğinin 1.3 oranında daha fazla olduğunu desteklemektedir (37). Sigara içen gebelerdeki başlıca sorun kan karboksihemoglobin yükselmesine bağlı olarak fetüste hipoksinin görülmesi ihtimali olarak bildirilmektedir (33,147,198). Bu olgularda prematüre doğumlar olabileceği gibi düşük ağırlıklı doğumların da görülebileceği belirtilmiştir (198). Ayrıca, yine gebeliklerinde sigara kullanan bireylerin çocuklarında serum alfafeto proteinlerde yükselme ve gelişim geriliği sorunları da bildirilmiştir (56).

Hamile annenin günde 15 sigara veya daha fazlasını içmesinin dudak damak yarığı oluşumunu yaklaşık olarak 20 kat arttırabileceği bildirilmektedir (193).

- ***Alkol kullanımı:*** Alkolün fetus üzerindeki etkisi "fetal alkol sendromu" (FAS) olarak bilinmektedir (198). Maternal alkol kullanımının fetus üzerindeki etkileri arasında zeka geriliği, kraniyofasial sorunlar, kalp ve ürogenital sistem bozuklukları sayılabilmektedir. Alkol kullanan gebelerde alkol plasental engeli aşıp gelişmekte olan fetal doku ve organlara zarar verebilmektedir. Bu organlar özellikle merkezi sinir sistemi organları olarak belirtilmektedir (54). Annenin hamilelikte alkol almasının fetal alkol sendromuna neden olabileceği bunu takiben mental gelişimde geri, kraniofasiyal anomalili ve santral sinir sisteminde disfonksiyona sahip çocukların dünyaya gelebileceği bildirilmektedir (84).

Alkolden etkilenen fetal yapıların ortak özelliği nöral krest hücrelerinden köken almaları olarak dikkat çekmektedir. Bugüne kadar alkol ile DDY arasında pozitif ilişki bulunan çalışmalar olmasına karşın (84,91,116), tersine herhangi bir ilişkinin bulunmadığı çalışmalarda bildirilmiştir (149). Son dönem çalışmaları ise hamilelikte alkol kullanımında yüksek dozda alkolün kısa süre içerisinde azda olsa alınması halinde, ADH1C adı verilen alkol dehidrogenaz geninde varyasyonlara neden olarak dudak damak yarığı oluşumu riskini artırdığını bildirmektedir (37).

- ***İlaç kullanımı:*** Özellikle antikolvülsan (diazepam, fenitoin,fenobarbital) ilaç kullanan annelerin çocuklarında konjenital anomalilerin oldukça sık görüldüğü bildirilmektedir (127). Maternal konrtikosteroid kullanımı ile DDY oluşumu arasında pozitif ilişki belirtilmektedir (114,127). Ancak ilaç kullanımı ile DDY arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla yapılmış fazla çalışma bulunmamaktadır. Gebeliğin birinci trimesterinde fenitoin, karbamazepin gibi folik asit antogonisti olan ilaçların kullanımının DDY' li çocuk doğurma riskini artırdığı belirtilmiştir. Yapılan bazı hayvan çalışmalarında ise steroid takviyesi yapılan hayvanlarda DDY görülmesinin gebelikte steroid kullanımının, risk faktörleri arasında bulunmasına neden olduğu ileri sürülmüştür (127).

- ***Folik asit kullanımı***: Folik asit (B9 Vitamini) serum ve biyolojik sıvılarda bulunabilen ve hücrede tek karbonlu grupların taşınmasında rol oynayan bir molekül olarak belirtilmektedir. Folik asit karaciğerde dihidrofolat ve tetrahidrofolata indirgenip hücrelerde metabolizmaya dahil olmaktadır. Biyolojik olarak aktif olan formu folik asidin indirgenmiş şeklidir. Temel görevleri histidin katabolizması, serinden glisin elde edilmesi, nükleotid biyosentezi, kan hücresi yapımı, S-adenozil-methionin sentezi, homosisteinin methionine remetilasyonu, DNA'nın, nörotransmiterlerin ve fosfolipitlerin metilasyonu, hücre bölünmesi ve oluşan hücrelerin sağkalımları olarak sayılabilmektedir (7,131). Pürin sentezindeki kilit rolünden dolayı folik asitin fonksiyonunu inhibe edici ilaçlar anti-kanser çalışmalarında kullanılmaktadır. Aynı şekilde antibiyotik olarak da folat inhibe edici ilaçlar kullanılabilmektedir (62). B9 sentezini insanların aksine bakterilerde yapılabilmektedir ve bu sentezin durdurulması pürin metabolizmasını engelleyeceğinden bakterilerinde üremesine engel olmaktadır. Bu durumda folat eksikliği veya antifolat ilaç kullanımı yararlı etkileri görülen intestinal bakterilerin de üremesine olumsuz etki yapmaktadır. Folat, metabolik etkisini siyanokobalamin (B12) yardımıyla gösterir. Bu nedenle B12 eksikliği de folat eksikliği ile benzer bulgular vermektedir. Bireylerde folat ve B12 eksikliğinde, kan hücrelerinde gelişim bozukluğuna bağlı patolojiler görülmektedir (6,50).

Maternal folik asit eksikliği fetüste birçok sendromun oluşmasının teratojenik nedenlerinden biri olarak gösterilmektedir. Nöral tüpün gelişiminin dorsolateral boyundan orijin alan nöral krest hücrelerinden diş dokuları ve yüz gelişmekte bu nedenle de nöral tüp defektleri (NTD) ve dudak damak yarıkları embriyolojik olarak ilişkili olmaktadır (5,21). Son yıllarda gebelerde folat eksikliği ile ilgili çalışmalar hız kazanmış ve özellikle NTD oluşumu ile ilgili önemli bağlantılar bulunmuştur (5). Maternal folat eksikliğinin, sadece NTD ile değil, fetüste kol ve bacak anomalileri, üriter sistem anomalileri ve izole DDY ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (50,204). Bunu izleyen çalışmalarda maternal folat eksikliğinin giderilmesi ile NTD oluşumunun azaltılabileceği belirtilmiştir (134,180). Bu yüzden gebelerin hamile kalmaya karar verdikten sonra ve hamileliklerinin birinci trimesterinde günlük 800 mikrograma kadar folik asit takviyesi almalarının, fetüste olası anomali oluşumunu azaltabileceği bildirilmiştir (21,50). Bunun aksine hamilelik süresince folik asit antogonisti olan metotreksat, aminoptrein ve antikonvulsan ilaçların kullanımı dudak damak yarıklarının oluşumunda büyük risk oluşturmaktadır (5).

Folik asit metabolizmasında bazı genlerdeki polimorfizmler ile çeşitli folik asit kökenli kusurlar ve hastalıklarla ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Folik asit metabolizmasındaki önemli genler ve alleleri metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR C677T ve A1298C), methionin sentetaz (MTR A2756G), methionin sentetaz redüktaz (MTRR A66G), sistathionin sentetaz (CBS) ve timidilat sentetazdır. Bu genlerdeki kusurlar bireylerde folat metabolizmasında bozukluklara yol açabileceğinden önemli roller üstlenmektedirler (148).

Folik asit ve kanser arasındaki ilişki oldukça karmaşıktır. Folik asit metabolitlerinin DNA onarımında, yenilenmesinde ve fonksiyonunda önemli görevleri bulunmaktadır (205). Bazı araştırmacılar bireyin doğru zamanda yeterli düzeyde folik asit kullanmasının kansere karşı direnç kazandıracağını, ancak risk taşıyan bazı bireylerde folik asit kullanımının tersine tümör oluşumunu tetikleyebileceğini bildirmişlerdir (74,141).

Günümüzde izole DDY ile özellikle MTHFR genotiplemesini içeren çalışmalar ön plana çıkmıştır. Yapılan çalışmaların çoğunda DDY oluşumu üzerinde folik asit eksikliğinin genotipten bağımsız önemli etkilerinin olduğu gösterilmiştir (90,151,175,176).

- ***Vitamin eksikliği:*** Vitamin (A, B6), çinko veya kolestrol eksikliğinin dudak damak yarığı oluşumunda risk faktörü olabileceği bazı çalışmalarda belirtilmesine karşın henüz tam olarak desteklenememiştir (37).

Ayrıca hamilelikte beslenme bozukluğu, hipertermi, stress, obezite, iyonize radyasyon ve enfeksiyon gibi çevresel etkenler ile anne ve babanın tarım ilaçlarına ve organik solventlere maruz kalmasının da dudak damak yarığı oluşum riskini artırdığı bildirilmektedir (37,114).

2.7.1.2. Kalıtım ve Genlerin Rolü

İnsan embriyosunun gelişimi, insan vücudunda bulunan her somatik hücre içindeki çekirdeğe yerleşmiş 23 çift kromozomun içinde bulunan DNA'nın düzenleyici

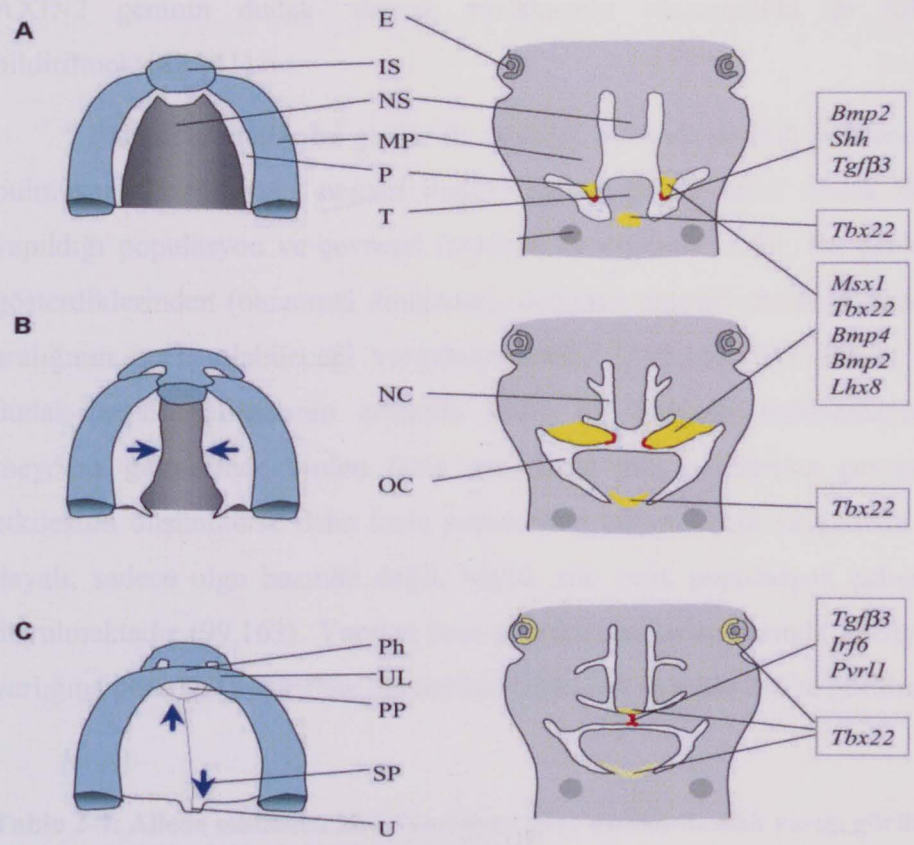
mekanizmalarına bağlı olmaktadır. İnsan kromozomlarının yaklaşık olarak 100.000 genden meydana geldiği ve bunların sadece birkaç yüz tanesinin kafa-yüz, ağız içi ve diş gelişimsel anomalileri ve hastalıkları ile ilgili olduğu düşünülmekte, genlerde oluşan hatalar ve mutasyonların bir jenerasyondan diğer jenerasyona taşınabileceği belirtilmektedir (143).

Dudak ve damak oluşumu, hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması, hücre adezyonu ve apoptozisini içeren çeşitli proçeslerin sonucunda meydana gelmekte ve bu proçeslerden herhangi birinde oluşacak bir aksama sonucunda dudak damak yarıkları ortaya çıkmaktadır. Yetersiz hücre farklılaşması ve/veya proliferasyonu, yetersiz hücre adhezyonu ve/veya aşırı hücre apoptozisi ya da bu nedenlerin her ikisi birden dudak-damak yarığı oluşum mekanizmasını açıklamaktadır (193).

Dudak-damak yarıklarının oluşumda genetik faktörlerin önemini segresyon analizi yöntemi kullanarak doğrulayan ilk araştırıcı Fogh Andersen olarak bilinmektedir. Son yıllarda ise pek çok araştırıcı yaptıkları çalışmalarla dudak-damak yarıkların etyolojisinde rol oynayan genlerin tanımlanmasına katkıda bulunmaktadırlar (23,75,99,102,105,111,139,194,195).

Günümüzde dudak-damak yarıkları ile ilişkilendirilmiş aday genler MSX1, MSX2, PAX9, BCL3, P63, D4S192, RARA, MTHFR, RFC1, GABRB3, PVR, PVRL1, PVRL2, TGFα, TGFβ1, TGFβ2, TGFβ3, IRF6, TBX1, TBX10, TBX22, SATB2, FGF8, FGF12, FGFR1, FGFR2, FGFR8, F13A, ET1, DLX2, OFC1, AP2, FOXE1, GLI2, JAG2, LHX8, SKI, SPRY2, PTCH, RYK, GBRB3, CRTL1, LAMB2, SUMO1, BMP4, VAX1, ABCA4, MAFB, MYH9, PDGFC, GSTT1, CX43, W185X, VCL, CRISPLD2 olarak bildirilmektedir (Şekil 2-9) (9, 23, 29, 37, 41, 47, 65, 70, 75, 79, 84, 87, 96, 108, 111, 122, 142, 143, 163,168,176,192,198-200).

Son dönemde yapılan bağlantı ve assosiasyon çalışmalarına göre DDY oluşumunda 1q, 2p, 4q, 6p, 14q, 17q ve 19q kromozomal bölgelerinin kesin olarak etkili olduğu ve MSX1, BMP4, TBX22, MTHFR ve TGFα genlerinin aday genler arasında en önemlileri olduğu özellikle vurgulanmaktadır (114,124).



Şekil 2-9:Primer ve Sekonder Damak gelişimi ve etkin olan genler

A) 7. Haftada gelişim B) 8. Hafta C) 9-10 . hafta (E: Göz, NS: Nazal septum, MP: Maksiller prosses, IS:Intermaksiller segment, P: Palatal çıkıntılar, T: Dil) B. Maksiller hücre hareketleri (NC: Nazal boşluk, OC: Oral boşluk) C. Primer ve sekonder damak oluşumunun tamamlanması (Ph: Filtrum, UL: Üst dudak, PP: Primer damak, SP: Sekonder damak; U: Uvula) (163).

Dudak-damak yarıkları ve TGFα geni arasında 1989 yılında Ardinger ve arkadaşları tarafından bulunan mutasyon ilk mutasyon olarak belirtilmektedir. Bugüne kadar yapılan genetik çalışmalar, sadece aday genlerin analizleriyle değil aday genlerin birbirleriyle bağlantılarına da yönelik olmuştur. Aday genler arasında en çok çalışılanı TGFα (transforming growth factor alpha), MSX1 (drosophila msh homeo box homolog-1), TGFβ (transforming growth factor beta), BCL3 (B-cell CLL/lymphoma 3), IRF6 (interferon regulatory factor-6), PVR (poliovirus receptor), PAX9 (paired box 9) genleri olarak görülmektedir (40,42,67,100,194,205).

Son dönem çalışmalar BMP4 ve Hedgehog sinyallerinde bozulma sonucunda karaniyofasiyal gelişimsel anomaliler ile beyin, göz ve parmaklarda da defektlerin gözlendiği bildirilmektedir (171). WNT sinyali ise aday gen olarak kabul edilen yeni bir gen olarak bildirilmektedir. Ayrıca kanser ve diş eksikliği oluşumunda rol oynayan

AXIN2 geninin dudak- damak yarıklarının oluşumunda da rol oynayabildiği bildirilmektedir (41).

Bazı araştırıcılar bu genler ile hastalık arasında pozitif, bazıları da negatif ilişki bulmuştur. Pozitif veya negatif ilişkiyi sadece genler direk olarak değil, çalışmanın yapıldığı populasyon ve çevresel faktörler de etkilemektedir. Bu genler farklı kalıtım gösterdiklerinden (otozomal dominant, otozomal resesif) dudak-damak yarığı insidans aralığının geniş olabileceği vurgulanmaktadır (100,163,201). Halen aday genler ile dudak-damak yarıklarının arasında kesin bir bağlantı bulunamamıştır. Hastalığın meydana gelmesinde birden fazla gen, hatta gen gruplarının çevresel faktörler ile etkileşimi düşünülürse daha fazla populasyon taramalarına ve genetik analiz temeline dayalı, sadece olgu bazında değil, büyük aile veya populasyon çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır (99,163). Yapılan bazı populasyon taramalarında ailede etkilenen birey varlığına göre DDY görülme olasılıkları tablo 2-4 ve tablo 2-5'te görülmektedir.

Tablo 2-4: Ailede etkilenen birey varlığına göre dudak-damak yarığı görülme olasılıkları (15,23,33,42,51,65,67,78,98,139,157)

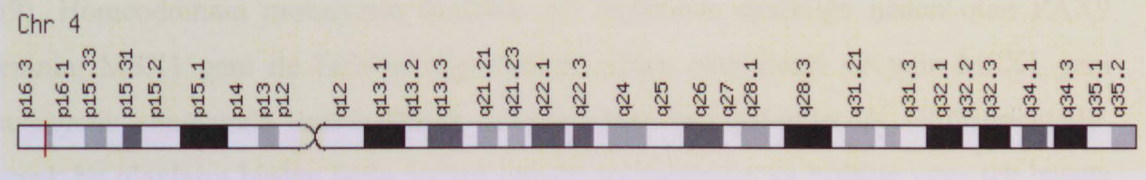
DDY durumu	Olasılık
Anne ya da babada varsa	
ilk çocukta	%5-6
Hem anne hem de babada varsa	
ilk çocukta	%25-30
İlk çocukta varsa	
ikinci çocukta	%2-4
üçüncü çocukta	%10
İki anomalili çocuktan sonra	
üçüncü çocukta	%20
Tek yumurta ikizlerinde	%40-60
Çift yumurta ikizlerinde	%3-10
Kuzenlerde	%0.5-1
1. derece akrabalıkta	%4
2. derece akrabalıkta	%0.7
3. derece akrabalıkta	%0.3

Tablo 2-5: Anne ve babanın etkilenme durumuna göre dudak-damak yarığı oluşum riskleri (100)

Anne etkilenmiş	**Dudak-damak yarığı (%)**	**Damak yarığı riski (%)**
Etkilenmiş kardeş yok	2.7	2.3
1 kardeş etkilenmiş	9.9	11.2
2 kardeş etkilenmiş	18.3	21.1
Baba etkilenmiş		
Etkilenmiş kardeş yok	2.3	5.0
1 kardeş etkilenmiş	9.3	14.4
2 kardeş etkilenmiş	17.6	23.9
Anne ve Baba etkilenmiş		
Etkilenmiş kardeş yok	24.0	45.0
1 kardeş etkilenmiş	31.7	51.6
2 kardeş etkilenmiş	37.6	54.5

MSX1 (Drosophila msh homeo box homolog-1)

Kraniyofasiyal gelişimi regüle eden gen ailelerinin başında MSX gen ailesi gelmektedir (Şekil 2-10). MSX gen ailesi MSX1, MSX2 ve MSX3 olarak tanımlanmış 3 genden meydana gelmiştir (36). Bu genin temel vücut fonksiyonlarını başlatacak olan proteinleri şifreleyen 'homeobox genler' grubuna dahil olduğu, 4. kromozom üzerinde bulunduğu, diş ve kafa-yüz iskeleti gelişiminde ve hücre farklılaşmasında önemli görevleri olduğu belirtilmektedir (9,87,156,166).



Şekil 2-10: MSX1 geninin 4. kromozom üzerindeki pozisyonu

MSX3 geni dorsal nöral tüpte, MSX2 ve MSX1 ise epitelmezenkim etkileşiminin olduğu her dokuda, özellikle de kraniyofasiyal gelişim gösteren bölgelerde exprese edilir (35,38,156). MSX1 ve MSX2 organogenezis ve diş gelişiminde rol alırken, MSX3'ün bu konuda herhangi bir katkısı görülmemektedir (2,25,94).

MSX1 gen expresyonunun kraniyofasiyal gelişim bölgesinde, odontoblast ve ameloblast hücrelerinin proliferasyon evrelerinde, kafatası kemikleri ve meninks oluşumunu sağlayan nöral krest kökenli hücrelerde, damak yapısını meydana getirecek olan hücrelerde aktif rol oynadığı gösterilmiştir (182,211). Gen regülasyonunun ise farklı mekanizmalarla; retinoid, büyüme faktörü, diğer homeodomain proteinlerle etkileşimler düzeyinde olduğu bildirilmiştir (20,27,121,154).

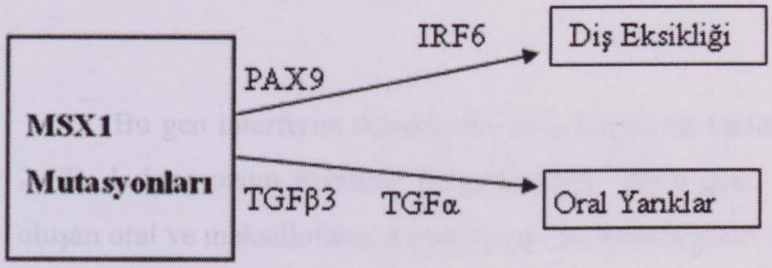
MSX1 geninde oluşabilecek mutasyonların insanlarda diş eksikliklerine bunun yanında dudak-damak yarıklarına neden olabileceği bildirilmektedir. Genin 'homeodomain' olarak adlandırılan bölgesinde bulunan bir proteinin -bu proteinin DNA'nın belirli bölgelerine yapışarak gerekli düzenlemeleri yapabilmek için diğer genleri aktive edilebilmesi gerekmektedir- transkripsiyonel faktör olarak görev yapmasında etkili bir tek aminoasitin değişmesi sonucunda mutasyon oluşabildiği bilinmektedir (60,75,76,86,113,136,212). Ancak bu genin mutasyonunun sadece belirli dişler üzerinde (ikinci küçük azılar ve üçüncü büyük azılar) etkili olduğu saptanmıştır. MSX1 geninin az miktarda salgılanmasının diğer embriyonik bölgeler ve bazı dişlerin gelişimi üzerinde negatif etki göstermediği bildirilmektedir, ikinci küçük azıların ve üçüncü büyük azıların gelişiminde anormal bir durum olmaması için ise bu genin yeterli düzeyde olması gerektiği belirtilmektedir (33,76,136,163,173,192).

MSX1 proteininin MSX2'ye göre protein affinitesi daha yüksekken, DNA'ya olan affinitesinin daha düşük olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle MSX1 proteininin modüle edici etkisini diğer homeodomain proteinler üzerinden sürdürdüğü belirtilmiştir (59). Homeodomain mutasyonu özellikle azı dişlerinde eksikliğe neden olan PAX9 geninin, MSX1 geni ile birlikte oligodontiye neden olabileceği ve yine MSX1 geni mutasyonu sonucunda dudak-damak yarıkları meydana gelebileceği bildirilmektedir. Ancak bu olayların birden fazla nedeni olduğu ve bu genler ile birlikte veya tek başına da bu anomalilerin oluşabileceği belirtilmektedir (72,78,209).

Vastardis ve arkadaşları, 1996 yılında yaptıkları çalışma ile MSX1 geninde saptadıkları mutasyonun 2. küçük azılar ve 20 yaş dişlerinde otozomal dominant diş

eksikliğine neden olduğunu bildirmişlerdir. MSX1'in diğer bir mutasyonu sonucu Jumlongras ve arkadaşları tarafından 2001 yılında Witkop diş ve tırnak sendromu olarak tanımlanmıştır. MSX1 geninde saptanan 3. mutasyonun dudak-damak yarıkları ve diş eksiklikleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. 2002 yılında ise Lidral ve Reising MSX1 geninde 4. farklı mutasyonu bulduklarını bildirmişlerdir (86,152,166).

MSX1 ve PAX9 genlerinin başkalaşımı sonucu diş eksikliğinin olma olasılığı artarken; TGFα ve MSX1 genlerinde birlikte izlenen mutasyonlar sonucu dudak-damak yarığı oluşma riskinin 9.7 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir. Bu da gen-gen etkileşimlerinin etyolojideki önemini ortaya koymaktadır (Şekil 2-11) (61,152).



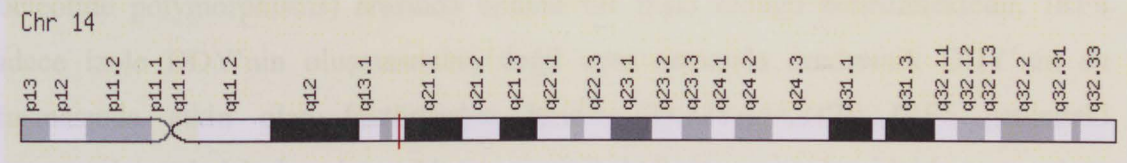
Şekil 2-11: MSX1 mutasyonlarının etkileri

PAX9 (Paired box gene 9)

Bu genin transkripsiyon faktörlerinden 'paired box' gen ailesinden (Şekil 2-12) olduğu, 14. kromozom üzerinde bulunduğu ve diş gelişimi ile daha genel olarak çeşitli organların ve iskeletsel elemanların katı yassı epitellerinin gelişiminden sorumlu olduğu bildirilmiştir. AXIN2 ve MSX1 ile birlikte, insanlarda 20 yaş dişlerinin eksikliğinden sorumlu en önemli gen olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, iki düzenleyici gen olarak belirtilen MSX1 ve PAX9 genlerinde meydana gelen ve üç kategoride incelenen mutasyonların -nokta mutasyonu, geniş DNA delesyonu ve çerçeve mutasyon- diş eksikliğine neden olduğu ancak bu mutasyonların olguların çok azında rol aldığı vurgulanmaktadır (166,192).

Frazier-Bowers ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada PAX9 geninde oluşacak çerçeve mutasyonunun büyük azı dişlerinde eksikliklere neden olacağını ve bu genin büyük azı dişlerinin gelişiminde önemli rolü olduğunu belirtmişlerdir. Yine bu

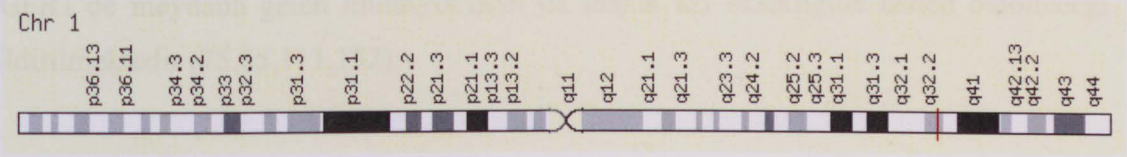
çalışmada, MSX1 ve PAX9 genlerinin birlikte özellikle arka grup dişlerin oluşum evrelerinde etkili olduğu, mutasyonlarında ise bu grup dişlerde eksiklik görülebileceği bildirilmiştir (113).



Şekil 2-12: PAX9 geninin 14. kromozom üzerindeki pozisyonu

IRF6 (Interferon regulatory factor-6)

Bu gen interferon düzenleyici transkripsiyon faktör ailesinin bir üyesidir (Şekil 2-13). 1. kromozom üzerinde bulunmaktadır. IRF6 geni, damak gibi bağ dokusundan oluşan oral ve maksillofasiyal yapıların oluşumunda görev almaktadır (85).



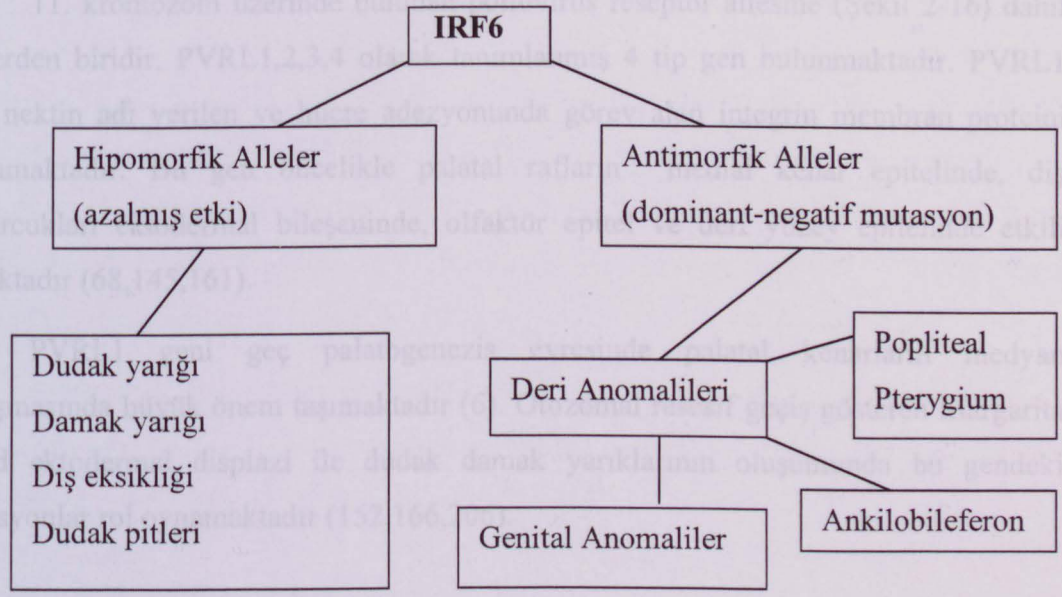
Şekil 2-13: IRF6 geninin kromozom 1 üzerindeki pozisyonu

IRF6 geninde meydana gelen delesyonlar ve nokta mutasyonları sendromik dudak-damak yarıklarının en sık karşılaşılan formlarından biri olan otozomal dominant geçişli Van der Woude Sendromu (VWS) ve popliteal pterygium sendromuna neden olduğu vurgulanmaktadır (138). Genel olarak bu sendromların görülme sıklığının 1/100.000-200.000 olduğu ve dudak-damak yarığı görülen bireylerin %1-2 sinde ise Van der Woude Sendromu saptandığı vurgulanmaktadır (75,85,111,152). IRF6 mutasyonu ile diş eksikliği ve alt dudaklarda pit oluşumu gözlendiği bildirilmektedir (37,138).

Birincil damağın formasonu süresince ve öncesinde damak parçalarının ektoderm kenarlarını yönlendirmede görev almaktadır (115). IRF6 ayrıca oral

epidermin formasyonu ve palatal adezyonun temelini oluşturan spatiotemporal regulasyonda önemli rol oynamaktadır (37).

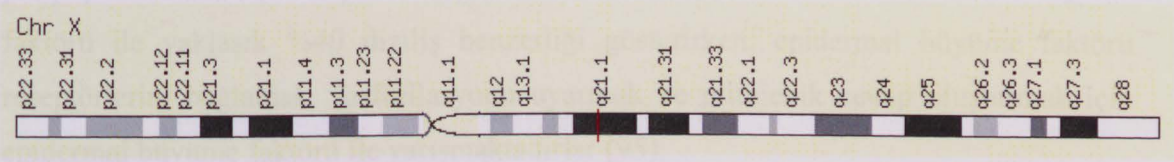
Son yıllarda farklı coğrafik kaynaklardan elde edilen olgular ile ilgili yapılan çalışmalarda, dudak-damak yarıkları ve tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs-single nücleotide polymorphisms) arasında önemli bir ilişki olduğu belirtilmektedir. IRF6 sadece izole DDY'nin oluşmasından değil aynı zamanda sendromik DDY'nin de oluşmasında etkin olan faktörlerden biridir (23,138,144,212). IRF6 genindeki varyasyonların dudak-damak yarıklarına genetik katkıdan sorumlu oldukları ve sadece bir etkilenmiş çocuk bulunan ailelerde görülme riskini üç kat arttırdığı bildirilmektedir (138). Vieira ve ark., 116 olgu/aile üçlüsünü dahil ettikleri ve kraniyofasiyal sendromlardan sorumlu olan FGFR1 ve IRF6 ile ilişkisini incelemeyi amaçladıkları çalışmalarında, izole dudak yarıkları ve/veya dudak-damak yarıklarının saptandığı Van der Woude Sendromu ve popliteal pterygium sendromuna neden olan IRF6 lokusunda meydana gelen genetik varyasyonların, insanlarda görülen diş eksikliği ile ilişkili olduğunu bildirmektedirler (Şekil 2-14) (192,193,197). Bu ilişkinin özellikle küçük azı eksikliğinde saptandığı vurgulanmaktadır. Ayrıca, Kallmann Sendromu'na neden olan FGFR1'de meydana gelen mutasyonların da küçük azı eksikliğine neden olabileceği bildirilmektedir (75,85,111,152).



Şekil 2-14: IRF6 geninin klinik dağılımı (192)

TBX 22 (T-box transcription factor)

Bu gen ortak DNA bağlayıcı alan paylaşan 'T-box' gen ailesindendir (Şekil 2-15). T-box genler düzenleyici ve gelişimsel proçes ile ilgili transkripsiyon faktörlerini kodlamaktadırlar. Bu gendeki mutasyonların X'e bağlı kalıtımsal bozukluklar ve dudak-damak yarıklarına neden olduğu ve insan palatogenezisinde önemli rol oynadığına inanılmaktadır (152,166). Bu genin X'e bağlı kalıtım gösteren dudak damak yarığı ile birlikte gözlenen ankiloglossi sendromuna neden olduğu bildirilmektedir (192).

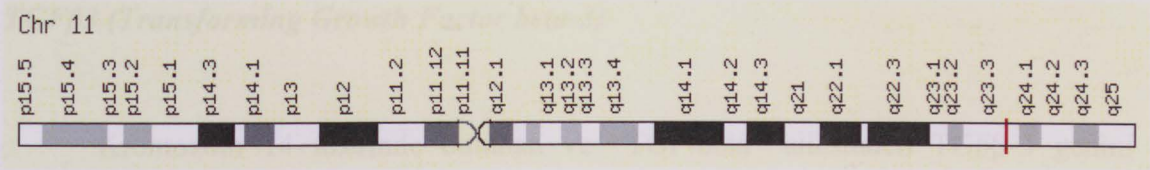


Şekil 2-15: TBX22 geninin X kromozumu üzerindeki pozisyonu

PVRL (poliovirus receptor-related)

11. kromozom üzerinde bulunan poliovirüs reseptör ailesine (Şekil 2-16) dahil genlerden biridir. PVRL1,2,3,4 olarak tanımlanmış 4 tip gen bulunmaktadır. PVRL1 geni nektin adı verilen ve hücre adezyonunda görev alan integrin membran proteini kodlamaktadır. Bu gen öncelikle palatal rafların medial kenar epitelinde, diş tomurcukları ektodermal bileşeninde, olfaktör epitel ve deri yüzey epitelinde etkili olmaktadır (68,145,161).

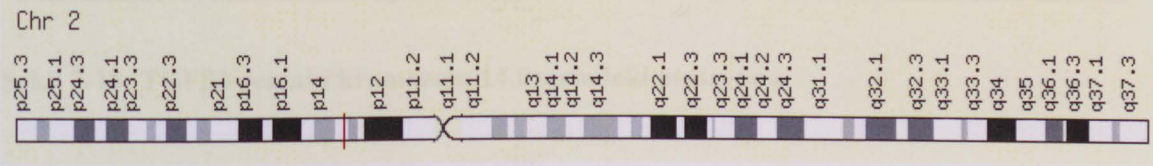
PVRL1 geni geç palatogenezis evresinde palatal kenarların medyan kanaşmasında büyük önem taşımaktadır (6). Otozomal resesif geçiş gösteren Margarita island ektodermal displazi ile dudak damak yarıklarının oluşumunda bu gendeki mutasyonlar rol oynamaktadır (152,166,206).



Şekil 2-16: PVRL1 geninin kromozom 11 üzerindeki pozisyonu

TGFα (Transforming growth factor alpha)

2. krozomozom üzerinde bulunan (Şekil 2-17) biyolojik olarak aktif polipeptitlerden oluşan büyüme faktörleri olarak tanımlanmaktadır. Epidermal büyüme faktörü ile yaklaşık %40 diziliş benzerliği gösterirken, epidermal büyüme faktörü reseptörlerini bağlamak, fosforilasyonu uyarmak ve mitojenik cevap oluşturmak için epidermal büyüme faktörü ile yarışmaktadırlar (95).



Şekil 2-17: TGFα geninin kromozom 2 üzerindeki pozisyonu

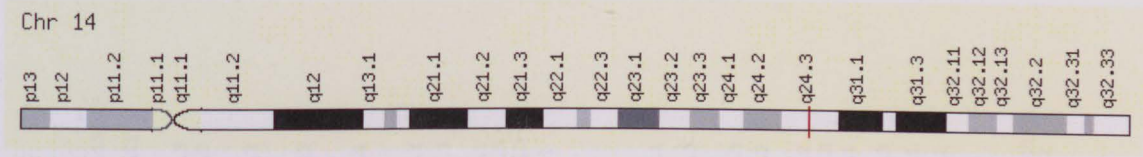
TGFα C3 allelinin DDY oluşumu ile bağlantılı olduğunu gösteren çalışmalar, TGF α C3 allelinin risk faktörleri arasına alınması gerektiğini göstermiştir (39,66,155). Kraniofasiyal gelişim süresince TGFα, birleşen palatal uzantıların medial sınır epitellerini oluşturmada görev alarak ekstrasellüler matriks sentezini ve mezenkimal hücre göçünü hızlandırmaktadır (188,189,192).

TGFα nın diş eksikliği ve dudak-damak yarıklarının oluşumunda %20 oranında etkin olduğu bildirilmekle birlikte; kütanöz maling melonoma, göğüs kanserleri ve oral kanserlere de neden olabildiği bildirilmektedir (188).

TGFβ3 (Transforming Growth Factor beta-3)

Kromozom 14 üzerinde bulunan ve "TGF-beta" ailesinden TGFβ-3 genini kodlayan proteindir (Şekil 2-18). Moleküler düzeyde TGFβ3, ekstrasellüler matriksteki proteolitik bozulmadan sorumlu TIMP2 ve MMP13'ü içeren matriks metalloproteinaz ailesi üyelerini düzenlemekte görevlidir (114).

Bu gendeki mutasyonlar sonucu sendromla birlikte görülmeyen dudak-damak yarıkları oluşabilmektedir. Son yıllardaki çalışmaların sonuçları doğrultusunda MSX1 ve TGFβ alleleri arasındaki etkileşimler sonucu dudak-damak yarığı oluşma riskinin tek başına bu genlerde görülen mutasyonlara göre daha fazla olduğu bildirilmektedir (9,152).



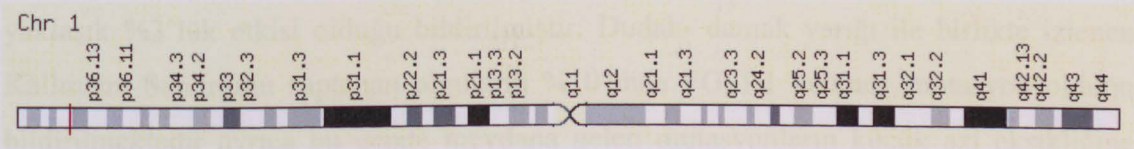
Şekil 2-18: TGFβ3 geninin kromozom 14 üzerindeki pozisyonu

TGFβ gen ailesi hücre proliferasyonu, migrasyonu ve diferansiyasyonu, ekstrasellüler matriks düzenlenmesi ve epitelyal/mezenkimal dönüşümden sorumlu olarak belirtilmektedir. Palatinal dokuların gelişimi süresince TGFβ1, TGFβ2, TGFβ3 genlerinde yüksek aktivasyon izlendiği bildirilmektedir (192,198). DDY ile yapılan bağlantı analizlerinde TGFβ3 gen lokusu ile DDY arasında anlamlı bir ilişki ortaya çıkmasından sonra bu gen ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır (59,66,95,191).

MTHFR (Methylenetetrahydrofolatereductase)

Konjenital anomaliler ve nöral tüp defektleri ile belkide en fazla ilişkisi olan gen MTHFR olarak bildirilmektedir. 1p36.3'te lokalize ve 11 ekzondan oluşmaktadır (Şekil 2-19). Genin ürünü olan enzim 5, 10-metilentetrahidrofolatın 5-metiltetrahidrofolata katalizlenmesini sağlar ve methionin sentetaz ile homosisteinin metionine dönüşmesini

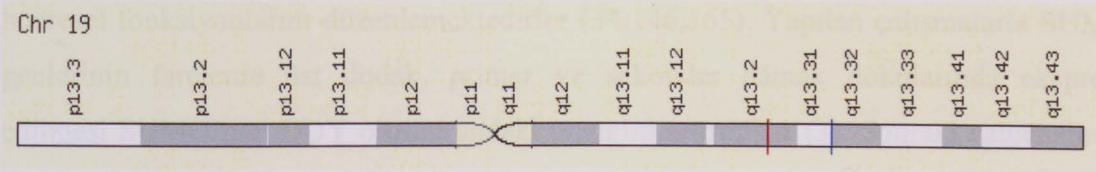
sağlamaktadır (151,185). Yapılan bir çalışmada 38 İtalyan ailede MTHFR gen bölgesi DDY oluşumu ile ilişkili bulunmuştur (185). MTHFR TT alleli ile DDY arasında pozitif ilişki bulunan çalışmalar olmasına karşın (4,104,185,186), bazı çalışmalarda bu ilişki bulunamamıştır (18,24). Aynı gende ikinci en sık görülen polimorfizm 1298A-C'dir. 1298. nükleotidindeki adenin-sitozin değişimi enzimde glutamin-alanin değişimine neden olur. Ancak bu polimorfizmde seyrek allel varyantı olan CC genotipinin, enzim üzerindeki etkisi çok fazla değildir ve bu yüzden bu polimorfizmi içine alan çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmada araştırıcılar bu polimorfizm ile DDY arasında herhangi bir bağlantı saptayamamışlardır (158). Ancak A1298C ve C677T alleleri için bileşik heterozigot olan birey, C677T homozigotlarında olduğu gibi yüksek serum homosistein ve düşük serum folat seviyeleri göstermişlerdir (185). 3. prototip olan T1059C alleli için çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Bu varyantın A1298C ile geçiş göstermesi bu varyantın önemini belirtmektedir (151,185).



Şekil 2-19: MTHFR geninin kromozom 1 üzerindeki pozisyonu

BCL3 (B-cell/lymphoma 3)

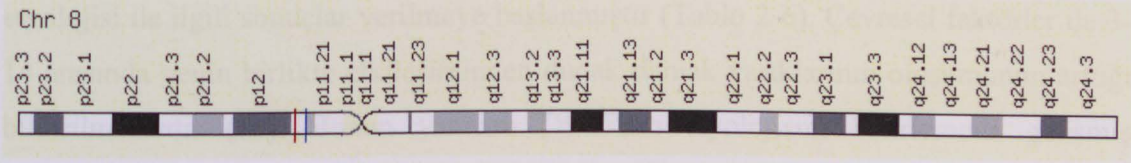
19. kromozom üzerinde bulunmaktadır (Şekil 2-20) ve bu gen ile yapılan çalışmalarda BCL3 geninin non-sendromik DDY ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Transkriptional aktive edici faktör olarak görev yaptığı düşünülmektedir. BCL3 ün DDY ile ilişkilendirildiği çalışmaların yanı sıra (10,46,125), bazı çalışmalarda mutasyon saptanamamıştır (44). Yeni çalışılmaya başlanan bir gen olmasının yanında farklı populasyonlarda farklı etkiler gösterebileceği bildirilmiş ayrıca MTHFR ile birlikte DDY oluşumuna etkinin arttığı bildirilmektedir (10,4647).



Şekil 2-20: BCL3 geninin kromozom 19 üzerindeki pozisyonu

FGFR (Fibroblast Growth Factor Receptor)

8. kromozom üzerinde bulunan ve fibroblast büyüme faktörlerini indükleyen proteindir (Şekil 2-21). Son yıllarda FGFR ile ilgili çalışmalar da önem kazanmaya başlamıştır. FGF sinyalinin özellikle kraniyofasiyal gelişimi etkileyen birçok gelişimsel proçes ile ilgili olduğu belirtilmiştir. FGFR'nin dudak- damak yarıklarında izlenen dental anomalilerde rol oynadığı saptanmıştır. FGFR genlerinin izole DDY oluşumunda yaklaşık %3'lük etkisi olduğu bildirilmiştir. Dudak- damak yarığı ile birlikte izlenen Kallmann Sendromu saptanan olguların %10'unda FGFR1 geninde mutasyon olduğu bildirilmektedir ayrıca bu gende meydana gelen mutasyonların küçük azı eksikliğine neden olabileceği belirtilmektedir (106,132).

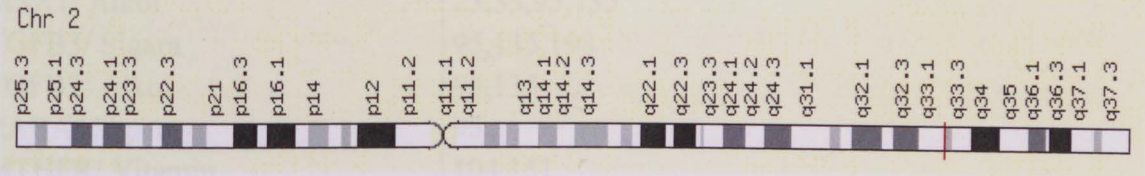


Şekil 2-21:FGFR1 geninin kromozom 8 üzerindeki pozisyonu

SUMO1 (small ubiquitin-related modifier-1)

Kromozom 2 üzerinde yer alan (Şekil 2-22) Sumo ve Ubiquitin proteinleri birçok hücresel proteini modifiye ederek onların metabolizmaları ve fonksiyonlarına etki etmektedirler (34). Ubiquitin, proteinlerin yıkılmasını sağlarken sumo proteinleri etki ettikleri proteinlerin nüklear transport, transkripsiyon regülasyonu, apoptozis gibi

hücresel fonksiyonlarını düzenlemektedirler (34,146,165). Yapılan çalışmalarla SUMO genlerinin farelerde üst dudak, primer ve sekonder damak dokularında eksprese edilmesi SUMO'nun DDY oluşumundaki önemini artırmıştır (3). Sonraki çalışmalarda ise SUMO1' in MSX1 genini regüle ettiği bildirilmiştir (52).



Şekil 2-22: SUMO1 geninin kromozom 2 üzerindeki pozisyonu

2.7.1.3. Çevresel Faktörlerin Genler Üzerine Etkisi

Organizmalarda, genlerin regülasyonunda iç faktörlerin etkili olduğu kadar çevresel faktörlerin de etkili olduğu bilinmektedir. Ancak günümüze kadar belirlenen birçok hastalık da dahil çevresel faktörlerin etkisi tam olarak kesinleşememiştir. DDY oluşumunda çevre-genotip etkileşimiyle ilgili az sayıda çalışma olmasına karşın, etyolojisi ile ilgili sonuçlar verilmeye başlanmıştır (Tablo 2-6). Çevresel faktörler ile 3-14 arasında genin birlikte etkileşiminden dudak damak yarıklarının oluşumunun arttığı bildirilmektedir (79). Bunun yanısıra DDY'nin etyolojisini belirlemede gelişmiş yöntemlere ve populasyon taramalarına ihtiyaç duyulmasına sebep olarak çevresel faktörler ile genlerin birlikte etkileşimi gösterilmektedir (114).

Viral enfeksiyonlar sonrası interferon düzenleyici faktörün aktiflendiği belirtilmektedir. DDY ile IRF6 ilişkisinin annenin birinci trimesterde viral enfeksiyon geçirmesi ve IRF6 genin etkilenmesi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (114).

Tablo 2-6: Çevresel faktörlerin DDY oluşumunda genler üzerine etkisi

Gen/ Çevre	Kaynaklar
TGFA/ Sigara	10,32,95,135,152,153, 198
TGFA/ Alkol	95
TGFA/ Vitamin	66,151,153
TGFA / Folik asit	8
MSX1/ Sigara	33,95,135,186,198
MSX1/ Alkol	23,33,95,135
TGFB3/ Sigara	95,135,198
TGFB3/ Alkol	95,135
RARA/ Sigara	95
MTHFR/ Vitamin	104,151
P450/ Sigara	186
GST/ Sigara	37,186
HPX1/ Sigara	186
NOS3 / Sigara	37
IRF6 / Sigara	37
IRF6 / Vitamin	37
CRISPLD2 / Folik asit	29
GSTT / Sigara	53,186
RARA/ Vitamin, folik asit	136,152,186

2.8. Yapılan Analizler

Son 20 yılda linkage (bağlantı), assosiasyon, kromozon kırılma çalışmaları, genom boyu tarama, hayvan deneyleri, ekspresyon çalışmaları ile dudak damak yarıklarının ve Mendel sendromlarının çevresel risk faktörlerinin epidemiyolojik analizleri ve gen-çevre etkileşimlerini aydınlatmaya yönelik çok çeşitli çalışmalar yapılmıştır (49).

Yayınlanmış çoğu genetik çalışma sıklıkla segresyon, assosiasyon ve linkage (bağlantı) analizleri temel alınarak yapılmıştır. Segresyon analizinde temel amaç hastalığın kalıtım şeklini tanımlamaktır. Bunun tersine assosiasyon ve bağlantı analizleri kromozom üzerinde hastalığa neden olan gen veya genlerin haritasını genetik belirleyicileri (marker) kullanarak oluşturmaktadır (139). Bağlantı çalışmaları ailelerdeki hastalık fenotipi ile genetik marker için allellerin kosegresyonuna bakmaktadır. Dominant yada X'e bağlı kalıtım tek bir ailede ya da çeşitli ailelerde

çekinik karakterlerin analizi bağlantı çalışmaları ile başarılı bir şekilde yapılabilmektedir. Bağlantı çalışmaları tek gen hastalıkları için önemli bir çalışma şekli olarak belirtilmektedir (200).

Genome boyu bağlantı çalışmaları da dudak-damak yarıklarının genetik analizinde sıklıkla planlanan çalışma tiplerinden bir diğeri olarak belirtilmektedir. Fazla sayıda aile bireyine ulaşılmış ailelerle yapılan kromozomal kırılma çalışmaları veya bağlantı çalışmaları ile dudak-damak yarıklarının oluşumda rol oynayan çoğu aday genin, hayvan deneyleri ile de uyumluluk gösterdiği bildirilmiştir. Bunun yanısıra meta-analiz çalışmaları da günümüze kadar yapılmış çalışmaların istatistiksel olarak anlamlılığı açısından büyük önem taşımaktadır. Olgu-üçlü aile çalışmaları; tek yönlü olguların bağlantı için resmi testlere uyum sağlamasına izin vermekte, geleneksel olgu-kontrol çalışmalarında ortaya çıkan problemleri ortadan kaldırmakta, bireysel markerlar ve genler içindeki marker kombinasyonlarını (haplotipler) analiz edebilmek ve gen-gen, gen-çevre araştırmaları için potansiyel oluşturmak gibi avantajları bulunmaktadır (15).

2.8.1. Genetik Bağlantı (Linkage) Analizi

Bağlantı analizi, fenotipik özellikleri tanımlanan hastalık genlerinin saptanmasına olanak sağlayan en önemli yöntem olarak bildirilmektedir. İki veya daha fazla genetik lokusun birbirine olan yakınlığını yani bağlantısını araştırmak için uygulanmaktadır. Temeli, hastalık geninin fiziksel olarak yakınında bulunan genlerin de hastalık geni ile birlikte kalıtılması üzerine kurulmuştur. Araştırılan hastalık geninin yeri hasta bireylerde birlikte kalıtılan "komşu" bölgenin varlığı, hasta olmayan bireylerde bu bölgenin olmayışı ile anlaşılmaktadır (103,198). Bu analiz ile çok fazla sayıda marker sayesinde genomun herhangi bir yerindeki hastalık genine fiziksel olarak oldukça yakın lokusların polimorfizmi genotiplendirilebilmektedir. Mayoz bölünme aşamasında ebeveynlerin kromozomları çaprazlaşarak (crossing-over) parça değişimlerine (rekombinasyon) uğrayabilmektedir. İki lokus birbirine ne kadar yakınsa rekombinasyon olasılığı yani birbirinden ayrılması o kadar düşük olasılıkta olmaktadır. Bu amaçla insan genom çalışmaları ile bilinen ikili, üçlü veya dörtlü nükleotid tekrarlarını içeren nüklotid sekansları marker olarak kullanılmaktadır. Bu tekrar bölgeleri bireylerde ebeveynlerden Mendel kurallarına uygun olarak aktarılmakta ve

farklı sayıda tekrar dizileri içermektedirler. Bağlantı analizi çalışmaları ile bu nükleotid tekrar sayısının hastalık fenotipi ile geçip geçmediğinin matematiksel tespiti yapılabilmektedir (33).

Anne ve babadan farklı (heterozigot) veya aynı (homozigot) olmak üzere genomda iki allel bulunmaktadır. Elektroforez yöntemi ile birbirinden ayrılan alleller isimlendirilerek, genom üzerinde çok farklı yerlere spesifik markerlar yardımı ile bireyin genotipi çıkarılmaktadır (genotiplendirme). Her lokus için iki aynı (homozigot) veya farklı (heterozigot) allel elektronik ortamda analiz edilebilir hale getirilmektedir (22).

Haploid insan genomunda yaklaşık 3000 megabaz DNA yer alır ve bağlantı analiz çalışmları ile ilgi alanı yaklaşık 10-15 megabaza indirgenir. Buna karşın bu bölgede yüzlerce gen yer almaktadır. Haplotip analizi, aranılan genetik markerların o bireydeki geçiş paterninin araştırılmasıdır. Etkilenen bireylerde aynı allelin, haplotipin görülmesi bu markerların hastalıkla birlikte aktarıldığını göstermektedir (101). Geniş ailelerin bireylerinin incelenmesinde veya daha az sayıda ancak aynı soydan gelen ailelerde etkilenmiş bireylerin genetik açıdan incelenmesinde kullanılan en uygun yöntem olarak belirtilmektedir (37).

Linkage analizi için; LOD Skor (Logaritm of Odds Ratio) analizi uygulanır. LOD skor; linkage saptanması olasılığının linkage gözlenmemesi olasılığına oranının logaritmik değerde ifade biçimidir. Başka bir deyişle aranılan genin, test edilen kromozom lokusunda olması olasılığının ilgili lokusta bulunmaması olasılığına oranıdır. Sonuçta çıkan değer arttıkça lokalizasyonun saptanması olasılığı da artacaktır. Lokusun ispatlanabilmesi için bir dizi farklı işlem yapılması gerekebilir (aile ve örnek sayılarının arttırılması, genomun diğer bölgelerinin araştırılması vs. gibi). Burada önemle belirtilmesi gereken nokta bu analizde sonuçta bulunan bir olasılık değeridir ve saptanan lokus hakiki lokus olmayabilir. Nitelikten sorumlu ilgili gen ve gen içi mutasyon gösterilinceye kadar lokus informasyonu yanıltıcı olabilir (28).

2.8.2. Bağlantı Dengesizliği Analizi (Linkage Disequilibrium)

Marker ve hastalık arasındaki tespiti yapan diğer bir çalışma da linkage disequbilirium (bağlantı dengesizlik) (LD) çalışmalarıdır. Bu çalışmalarda etkilenmiş bireyler ve etkilenmemiş kontrol grupları oluşturulmaktadır. LD sonuçlarında populasyondaki alleller ve iki lokus arasında gelişigüzel olmayan korelasyon (assosiasyon) tanımlanmaktadır. Kompleks hastalıklar olarak kabul edilen hastalıklarda ve daha fazla sayıda olgu incelemesi yapılarak incelenen hastalıklarda bağlantı dengesizliği çalışmaları bağlantı analizi çalışmalarından daha güçlü sonuçlar elde etmektedir (200).

Genetik epidemiyolojik çalışmalarda etyolojik uygunluğun istatistiksel önemini yakalayabilmek için geniş örnek gruplarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bağlantı dengesizliği (LD) analizlerine dayanarak, çoklu ortak ve düşük penetrans allelerden elde edilen gen etkileri daha efektif bir şekilde belirlenebilmektedir (120). Genlerin çok küçük etkilerinin incelenmesinde dahi bağlantı ve bağlantı dengesizliği çalışmaları büyük örnek gruplarında başarı göstermektedir (194).

Bağlantı ve bağlantı dengesizliği çalışmaları dudak-damak yarıklarının oluşumunda MSX1 ve TGFβ3 ile MSX1 ve PAX9 genleri arasındaki ilişki sonucunda yarık oluşumu riskinin arttığını ortaya koymuştur (77,78,84,166).

2.8.3. Assosiyasyon Analizleri

Assosiyasyon çalışmalarında en sık kullanılan yöntemler şunlardır: 1- Vaka ve kontrol çalışmaları, 2- Nesil kimliklendirmesi (IBD), 3- Kardeş çiftleri (Sib pair), 4- Etkilenmiş bireylerin aile ağacı (APM), 5- Transmission Disequilibrium Test (TDT) ve 6- Haplotiplerin göreceli riski (HRR) (201).

Etkilenmiş bireyler ve anne, babalarını da içine alan üçlü grupların veya olgu-kontrol gibi farklı grupların kromozomal anomalilerinin veya mikrodelesyonların tanımlanmasında, etkilenmiş bireyde direk DNA diziliminin belirlenmesinde kullanılmaktadırlar (51,66,101,115,201).

Eğer lokalizasyonu tek başına ispatlayacak büyüklükte aile grubu oluşturulabilmişse ve nitelik tek gen kalıtım modellerinden birini gösteriyorsa seçilecek metod linkage olmalıdır. Kompleks niteliklerde assosiyasyon yöntemlerinden birisi seçilebilmektedir. Bu amaçla günümüzde yaygın olarak önerilen iki aşamalı bir çalışma planı izlenmektir. Burada genellikle büyük aileler üzerinden tüm genom taranmakta ve potansiyel lokuslar saptandıktan sonra sadece ilgili kromozom bölgelerine yönelik olarak assosiyasyon çalışmaları düzenlenmektedir (198,201).

Dudak-damak yarıklarına neden olan genler ile ilgili bağlantı ve assosiasyon çalışmaları sonucunda TGFα'nın damak yarığı oluşturduğu kanıtlanmıştır. Buna karşın bazı çalışmalarda, damak yarığı ile TGFα, TGFβ2, TGFβ3 veya MSX1 arasında mutasyon saptanmadığı bildirilmiştir (42).

2.8.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) temel olarak her canlı hücrede varolan deoksiribonükleik asit (DNA) replikasyonunu esas almaktadır. 1983 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde Karry Mullis tarafından geliştirilen bu yöntem nükleik asitlerin canlı organizma içinde bulunmadan uygun koşullar altında çoğaltılması temeline dayanmaktadır (105,140).

Zincir reaksiyonunun en önemli iki özelliği DNA'da spesifik bir bölgenin belirlenmesi ve bu spesifik bölgenin amplifiye edilmesidir. Zincir reaksiyonu için; DNA molekülü, bu molekülün komplementer zincirini sentezlemek için gerekli "primerler", "Taq polimeraz enzimi" ve "nükleotidler" bulunmalıdır. Primerler, DNA sentezinin başlaması için gerekli olan çift sarmallı DNA içerir, amplifiye olacak spesifik bölgeye yapışır, reaksiyonun spesifikliği bu primer tarafından belirlenir. Taq polimerazın kullanımı yanlış negatif sonuçların oluşmasını engellemektedir (140).

- ***Kalıp DNA***

PZR'da genomik DNA'lar, pazmid ve faj DNA'ları, çeşitli genler ve herhangi bir DNA parçası veya RNA kalıp olarak kullanılabilmektedir (105,140).

- ***Polimerazlar***

DNA polimeraz enzimleri, kalıp ipliğe tamamlayıcı bir DNA ipliği meydana getirmek üzere, orijinal iplikteki baz bilgisini kullanarak primer çiftine bir enzim yardımı ile dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) ekleyerek zincirin sentezini gerçekleştirmekle görevlidirler. Enzim sentezinin başlayabilmesi için kalıp moleküldeki tamamlayıcı diziye bağlanan primer çiftine gerek duyulmaktadır. DNA polimeraz enzimlerinden *Thermus Auaticus'tan* elde edilen **Taq DNA polimeraz** enzimi PZR'da en yaygın kullanılan enzimdir. Birçok enzim hızlı ve geriye dönüşümsüz olarak bozulmasına rağmen, Taq DNA polimeraz enzimi termostabildir ve 95^0C sıcaklığa dayanıklılık göstermektedir (105,140).

- ***Primerler***

PZR uygulamalarında kalıp DNA'ya tamamen tamamlayıcı olan ve genellikle 18-20 oligonükleotidden oluşan primerlere gereksinim duyulmaktadır. Primerler, primer sentezi yapan laboratuarlardan ya da ticari olarak elde edilebilmektedir (105).

- ***dNTP Karışımı***

Deoksiribonükleozid trifosfatlar (dNTP, dATP, dGTP, dTTP, dCTP) tek tek ya da dörtlü karışım halinde ticari olarak sağlanabilmektedir. Her dNTP konsantrasyonunun eşit olması (20-200 mM) ürünün özgünlüğü ve doğru sonuç elde edilmesi açısından önem taşımaktadır (105).

- ***PZR'ın Oluşum Mekanizması***

PZR, çift iplikli bir DNA molekülünde hedef diziye iki nükleotid primerin bağlanması ve uzaması esasına dayanmaktadır (105,140).

İlk aşamada sayısı arttırılmak istenen ve ekstraksiyon ile elde edildiği varsayılan nükleik asit denatüre edilerek iki zinciri birbirinden ayrılır; her iplikçiğin çoğaltılmak istenen bölgesinin uçlarına primerler bağlanır, ortamdaki Taq polimeraz ve nükleotitler yardımı ile yeni birer zincir sentezi gerçekleşir. Sonuçta her iplikçiğin bizi ilgilendiren bölgesinin komplementeri sentezlenmiş olur, böylece kısa sürede tek iplikçik çift

sarmallı hale geçmiştir. Bu yeni molekülün denature edilmesi ve ayrışan her iki zincirden yeni komplementer zincirler sentezi sonucunda DNA parçası çoğaltmak mümkündür. Tüm bu işlemler (denatürasyon, primerlerin bağlanması, yeni DNA sentezi) ısının yükseltilip alçaltılması ile sağlanır ve tek bir tüp içinde gerçekleşir (105,140).

PZR uygulamasında "tek bir siklus" dendiğinde 3 aşama kastedilmektedir (Şekil 2-23) (140):

Denatürasyon: DNA molekülünün her iki iplikçiği birbirlerine hidrojen bağları ile tutunmuşlardır. Isının yükseltilmesi ile (92-94^{0}C) bu bağlar kopar ve iki iplikçik birbirlerinden ayrılırlar.

Bağlanma (Annealing): Isının aniden düşürülmesi (37-65^{0}C arasında ideali 55^{0}C) ile ortama ilave edilmiş olan primerler, ayrışmış nükleik asit zincirlerinin komplementer bölgelerine bağlanırlar.

Uzama (Ekstensiyon): Isının 72^{0}C'ye yükseltilmesi ile ortamdaki Taq polimeraz enzimi uygun bölgelere bağlı primerlerden hareketle ve yine ortama ilave edilmiş nükleotidleri kullanarak yeni ve komplementer zincir sentezini gerçekleştirir. Bu sentez ana zincirin her bir bazının karşısına komplementeri olan baz yerleşerek ilerler.

PZR protokolü üç aşamalı bir döngü olarak kabul edilir ve 30-50 döngüden oluşmaktadır. 30-50 döngü ve 0.1 ml'lik bir reaksiyon hacminde hedef DNA parçasının 10^{12} kat fazla kopyası sentezlenebilmektedir (Şekil 2-24).

PZR'ın en önemli avantajı çok çeşitli klinik materyallerin kullanılabilmesidir. Tek bir saç, tek bir sperm, kan, tükürük, bukkal epitalyal hücreler, parafin bloklar, taze veya taze dondurulmuş dokular kullanılabilir. Bununla birlikte DNA'nın oldukça stabil ve dirençli bir molekül olması, milyon yıllık biyolojik örneklerin ve arşiv materyallerinin kullanılabilirliğini sağlamaktadır. PZR'ın önemli bir kullanım alanı ökaryotik DNA'daki mutasyonların belirlenmesidir. PZR kullanımı ile bazıları prenatal

ya da embriyo döneminde olmak üzere gen mutasyonu ve allell bağımlı hastalıklar bulunmuştur. PZR ile mutasyonların belirlenmesi kanser ve genetik hastalıkların tanı ve tedavisinde önemli bir aşamadır. PZR'ın; DNA fragmanlarının izolasyonu ve işaretlenmesi, DNA ve RNA dizilemesi (Sequencing), protein-DNA etkileşimlerinin analizi, gen terapisi manipulasyonları, translokasyon, delesyon gibi kromozomal değişimlerin tespiti, nükleotid dizi varyasyonlarının saptanması, viral ve bakteriyolojik patojenlerin tespiti gibi kullanım alanları bulunmaktadır (105,140).

PZR kısa sürede ve kesin teşhis verebilecek hassas bir yöntemdir. Tekniğin kendine has avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. En büyük avantajı hızlı bir şekilde, tek bir kopya halinde bulunan bir diziyi birkaç milyon kez arttırarak daha kesin bir sonucun alınmasını sağlamaktır. Ancak çalışma koşullarının tamamen steril şartlar altında olması gerekmektedir. Kullanılan primerlerin çalışma koşulları tamamen kendilerine has olup, özel reaksiyon şartları yerine getirildiği takdirde optimum amplifikasyon ürünleri elde edilebilmektedir (140).

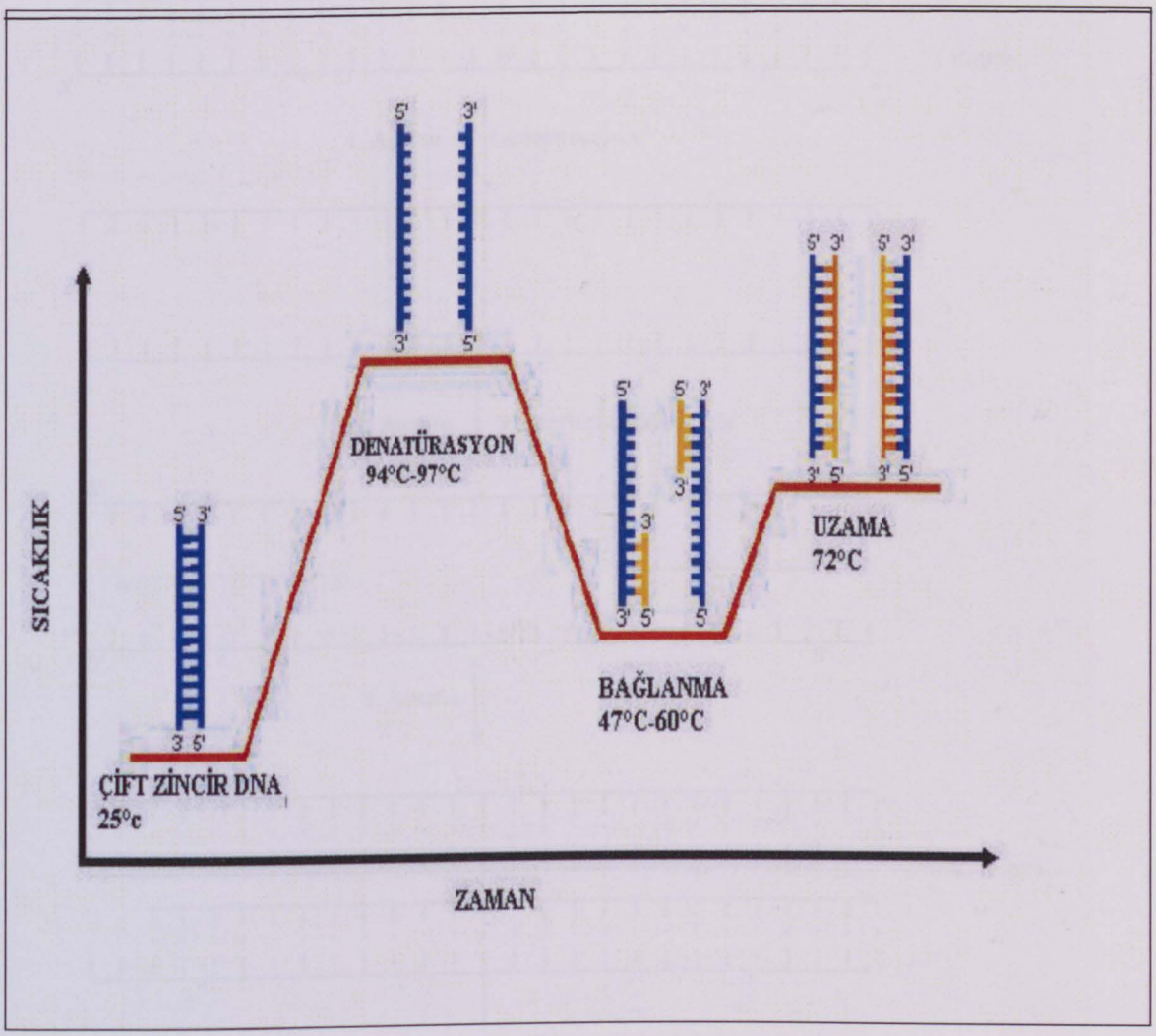
- **PZR Çeşitleri**

Moleküler çalışmalarda kullanılan amaca yönelik birden fazla PZR çeşidi bulunmaktadır. Çalışılan DNA kaynağına ve hedef DNA bölgesine göre faklı yöntemler tercih edilebilir. Temelde ayni mekanizma kullanılmakla birlikte birbirlerinden faklılıkları bulunmaktadır (Tablo2-7) (105,140):

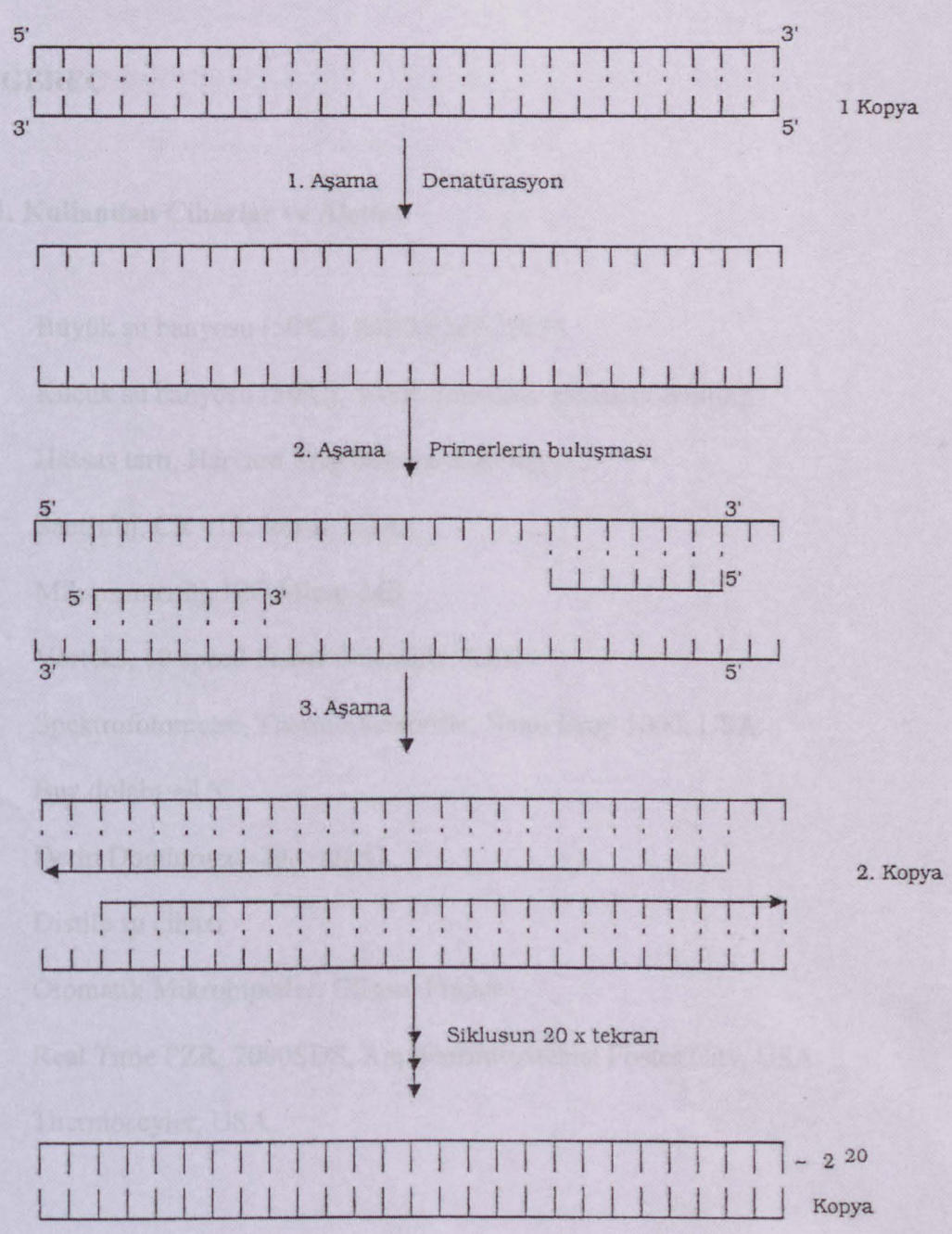
1. Nested PZR (Yuvalanmış PZR)
2. Real Time PZR (Gerçek zamanlı PZR)
3. Revers Transkripsiyon PZR (RT-PZR, Geri PZR)
4. Asimetrik PZR
5. Inverse PZR (IPZR, Ters PZR)
6. In situ PZR
7. Multipleks PZR (Çoklu PZR)
8. Rastgele Çoğaltılmış

Tablo 2-7: PZR tipleri ve karşılaştırmaları

PZR tipi	Örnek	Çalışma şekli	Avantaj	Dezavantaj
Nested	DNA	ekstrenal ve internal primer kullanımı	daha hassas nonspesifik amplifikasyonun azaltılması	yanlış pozitif sonuç ihtimali var örnek hazırlama için ek oda gereksinimi
Real-time	DNA RNA	hedef nükleik asit dizisinin kopya sayısının tespiti ile quantifikasyon	Hızlı bağıl veya kesin sonuç amplifikasyon sonrası analize gerek duyulmaz daha az kroskontaminasyon riski	daha pahalı ekipman ve sarf malzeme primer ve prob seçimi sınırlıdır doğrulama analizlerine izin vermez
Revers Transkripsiyon	mRNA RNA, rRNA viral	RNA nın amplifikasyonu ve araştırılması	tüm RNA çeşitlerinin amplifikasyonu	RNA nın çabuk bozunması daha fazla zaman ve maliyet gereksinimi kontaminasyon riski
Asimetrik	DNA	Tek iplikli DNA amplifikasyonu	primerlerin hibridizasyonunu kontrol altına almak	PZR ürününden küçük miktarda (%1-2) almak tek primeri 15-30 sikluslar arasında kullanmak
Inverse	DNA RNA	Çift iplikli DNA amplifikasyonu	DNA dizinin amplifikasyonu ve araştırılması	fazla ekipman kontaminasyon problemi
In situ	DNA RNA	DNA ve RNA'nın direk hücresel hibridizasyonu	yüksek duyarlılık amplikonlara bağlı kontaminasyon riski çok az çok düşük kopya iletilerini algılamak	maliyet kararsızlık
Multipleks	DNA RNA	iki veya daha fazla sayıdaki farklı DNA dizisinin aynı anda amplifikasyonu	zaman ve araç-gereç tasarrufu	primer seçim olanakları sınırlıdır önemli ölçüde optimizasyon gerektirir çoğunlukla hassasiyeti ve özgünlüğü düşük
Rastgele çoğaltılmış	DNA	mutasyona bağlı amplifikasyon	geniş kullanım alanı az genomik DNA basit ve hızlı	tekrarlanabilirliği zayıf daha fazla araç-gereç gereksinimi insan hatası ve kroskontaminasyon riski



Şekil 2-23: Polimeraz Zincir Reaksiyonu



Şekil 2-24 : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Aletler

Büyük su banyosu (50°C), ISO TEMP 20285

Küçük su banyosu (50°C), VWR Scientific products Heating

Hassas tartı, Harvard Trip balance 2kg-5kg

Santrifüj, CR 412, Jouan, USA

Mikrosantrifüj, IEC Micro-MB

Vorteks, 10 speed Fisher Scientific, USA

Spektrofotometre, Thermo Scientific, Nano Drop 1000, USA

Buz dolabı +4 °C

Derin Dondurucu -20, -80 °C

Distile su cihazı

Otomatik Mikropipetler, Gilson, France

Real Time PZR, 7000SDS, AppliedBiosystems, Foster City, USA

Thermoscyler, USA

3.1.2. Kullanılan Sarf Malzemeler ve Kimyasallar

DNA izolasyon kiti, Oragene DNA extraction, USA

15 ml plastik deney tüpleri

5 ml serolojik pipet, VWR international

Otomatik pipet tutucu, Drummond Pipet-Aid XP

Pipet uçları 0.2-2 ml,1-10 ml, Gilson, Inc, USA

2 ml kapaklı deney tüpleri

PZR için 96 lık, 0.2 ml plate, Template III, natural, USA

96 lık Plate kapakçıkları, Dome top 8.cap strips, USA

PZR için 112 lik plate, Template III, natural, USA

Plate kapakları için Şeffaf bant, Thermalseel, RT

Steril Ependorf tüpü 0.2 ml, 0.5 ml, 2ml

Glikojen 100 ml (20 mg/ml), reagent, invitrogen

Taq DNA polimeraz

Oragene purifier, OG-L2P-5 conductor

Etil Alkol, Ethanol C2H5OH

TE steril Buffer

Steril su

Buz

3.1.3. Kullanılan Standart Genler, Primerler ve Allelleri

Tablo 3-1: Kullanılan genler, lokusları ve allelleri

Kromozom	Genler	SNP marker	Lokusları	Kromozom yerleri	Allelleri
1	ABCA4	rs481931	1p22.1	94570016	G / T
1	ABCA4	rs560426	1p22.1	9453438	C / T
1	---------	rs13041247	1p22.1	39269074	C / T
1	---------	rs11696257	1p22.1	39270816	C / T
1	HSD11B1	rs4844880	1q32.2	209870916	A / T
1	IRF6	rs2235371 (V274I)	1q32.2	209964080	C / T
1	IRF6	rs2013162	1q32.2	209968684	A / C
1	IRF6	rs861019	1q32.2	209975386	A / G
1	IRF6	rs2073487	1q32.2	209976646	C / T
1	--------	rs642961	1q32.2	209989270	A / G
1	--------	rs658860	1q32.2	209990549	C / T
2	TGFα	rs930655	2p13.3	70684451	A / G
2	TGFα	rs377122	2p13.3	70767025	C / T
6	PRSS35	rs10943944	6q14.2	84211936	C / T
6	PRSS35	rs7753918	6q14.2	84217168	A / G
6	PRSS35	rs9449648	6q14.2	84223760	A / G
6	PRSS35	rs1171114	6q14.2	84227646	C / T
6	PRSS35	rs512140	6q14.2	84230653	A / G
6	----------	rs1171105	6q14.2	84240865	T / C
6	SNAP91	rs217325	6q14.2	84350654	C / G
6	----------	rs10943957	6q14.2	84516524	A / T
6	----------	rs1325474	6q14.2	84539425	A / G
6	CYB5R4	rs6940766	6q14.2	84615504	A / G
8	---------	rs16903544	8q24.21	129645234	C / T
8	---------	rs987525	8q24.21	129946154	A / C
11	MMP3	rs522616	11q22.2	102715048	A / G
17	TIMP2	rs8179096	17q25.3	76921649	C / T
19	PVR	rs1058402	19q13.31	45150614	A / G
19	PVR	rs35385129	19q13.31	45162189	A / C

3.1.4. Kullanılan Yazılımlar ve Programlar

Nükleik asit konsantrasyonu ölçümü, Nano Drop 1000 V 3.7.0, USA

Gene AMP PZR system 9700, AppliedBiosystems, USA

SDS 2.2.2 software, AppliedBiosystems, USA

FBAT V1.7.2, Population Genetics Programme

Microsoft Excel, Word, Powerpoint 2010

Simple Interactive Statistical Analysis, **http://www.quantitativeskills.com/sisa/**

Human Genome Project, **http://genome.ucsc.edu/**

NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS 2008 Statistical Software (Utah, USA)

3.2. YÖNTEM

Bu çalışmada, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'na diş tedavileri için başvuran sendromik olmayan dudak ve/veya damak yarıklı çocukların ve ailelerinin tükürük örnekleri kullanılmıştır. Çalışma kapsamınca Helsinki Deklarasyonu kurallarına uyularak, İÜ. İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı tarafından onay alınmıştır. Anne ve babalara yapılacak çalışma ile ilgili bilgi verilerek, aydınlatılmış onam formu okutulmuş ve kabul eden ailelerden onam alınarak tükürük alma işlemi gerçekleştirilmiştir (Ek 1. Gönüllü Bilgilendirilmiş Onam Formu). Kontrol grubu tükürükleri, herhangi bir sistemik sağlık sorunu olmayan, aile hikayelerinde dudak-damak yarığı bulunmayan, aynı yaş ve cinsiyetteki çocuklar olmak üzere sadece olgu-kontrol bazında alınmış, aileler kontrol çalışmasına dahil edilmemiştir. Çalışma iki basamaklı olarak planlanmıştır. Birinci basamakta en büyüğü 1988, en küçüğü 2009 doğumlu 158 dudak ve/veya damak yarıklı çocuk ile sistemik sağlık sorunu bulunmayan aynı yaş ve cinsiyetteki 161 sağlam çocuktan oluşan kontrol grubu, dental anomaliler ve DDY'ye neden olduğu düşünülen çevresel faktörler dikkate alınarak karşılaştırılmış; ikinci basamakta ise anne-baba-çocuk-kardeş şeklinde çekirdek aile olarak kabul edilen

toplam 356 bireyden oluşan 102 aile kendi içinde genetik ve çevresel faktörlere göre değerlendirilmiştir.

Araştırmaya katılan çocukların ve ailelerinin ağız sağlığını değerlendirmek ve çocukların dental anomali sıklığını belirlemek amacıyla anamnez formu oluşturulmuştur (Ek 2. Dudak-Damak Yarığı Anamnez Formu). Bu forma çocuğun yaşı, cinsiyeti, dudak-damak yarığının tipi, oronasal fistül varlığı, yarık hattı dışında kalan bölgelerde dental anomalilerin (diş eksikliği, fazla sayıda dişler, mikrodonti, makrodonti, yapısal anomaliler) varlığı, df, dfs, DMF, DMFS değerlerini içeren kriterler kayıt edilmiştir. Etyolojik değerlendirme için ise olguda sistemik hastalık bulunup bulunmadığı, akraba evliliği olup olmadığı, ailede dudak damak yarığı hikayesi olup olmadığı, annenin hamilelik yaşı, annede herhangi bir sistemik hastalık bulunup bulunmadığı, annenin normalde ve hamile iken sigara kullanıp kullanmadığı, annenin hamilelik döneminde bulaşıcı, ateşli hastalık geçirip geçirmediği, hamilelikte ilaç kullanıp kullanmadığı ve ailede kanser hastası bulunup bulunmadığı gibi dudak-damak yarıklarının etyolojisi ile ilgili sorular yöneltilmiş ve forma kaydedilmiştir (Ek 3. Dudak-damak Yarığı Etyoloji Formu).

Dudak damak yarığı tipleri (Şekil 2-7),

1.Dudak yarığı

2.Damak yarığı

3.Tek taraflı dudak damak yarığı

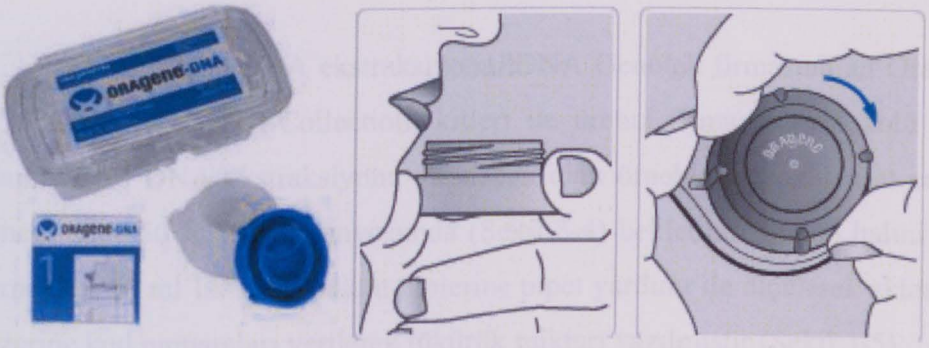
4.Çift taraflı dudak damak yarığı olarak sınıflandırılmıştır.

Ağız içi muayene, dental ünitlerde, oturur pozisyonda, reflektör ışığı altında ayna ve sond kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca dental anomalilerin saptanması için olgulardan panoromik radyografi ve ölçü alınarak alçı model elde edilmiştir.

Genetik incelemelerin yapılması için Pittsburgh Üniversitesi Oral Biyoloji Departmanı, Kraniofasiyal ve Dental Genetik laboratuarında tüm laboratuar incelemeleri 3 ay süreyle tarafımdan gerçekleştirilmiştir (Ek 4. İlgili merkez tarafından hazırlanan referans mektubu).

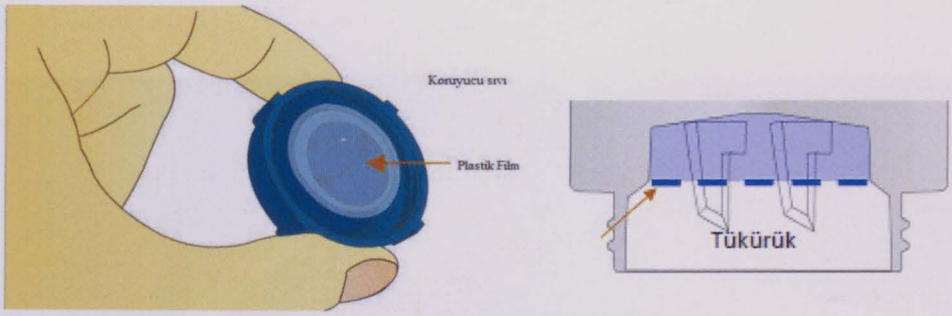
3.2.1. Örneklerin Alınması

Çalışmaya dahil edilen bireylerin steril ve tek kullanımlık Oragene® DNA Self-Collection (DNA Genotek, Ottawa, Ontario, Kanada) tükürük kaplarına (Şekil 3-1) tükürmeleri sağlanmıştır. Tüküremeyecek kadar küçük olan çocuklardan tükürük alma işlemi uçları sünger olan steril eküvyonların (Oragene® DNA Assisted Collection kit) ağız içine sürülmesi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3-2). Tükürük alma işleminde fırçalama ve ağız çalkalama gibi aktivitelerin üzerinden en az 10 dk geçmiş olmasına dikkat edilmiştir. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda kaplarda belirlenen yere kadar tükürük örneği biriktirilmiştir (Şekil 3-3). Alınan örnekler DNA koruma özelliğine sahip özel kaplarda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilene kadar oda sıcaklığında saklanmıştır.



Şekil 3-1: Örnek toplanması

Şekil 3-2: Bebeklerden örnek toplanması



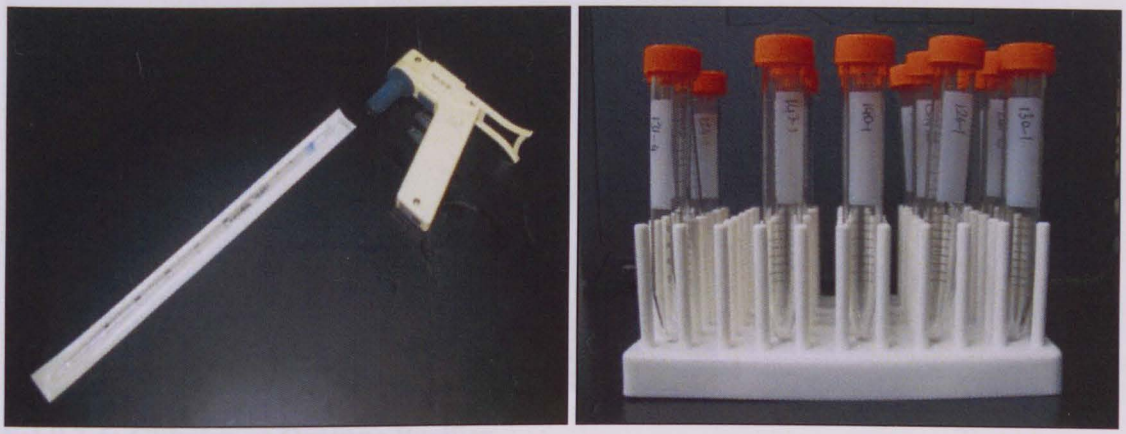
Şekil 3-3: Gerekli örnek miktarı

3.2.2. Örneklerin İncelenmesi

3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu

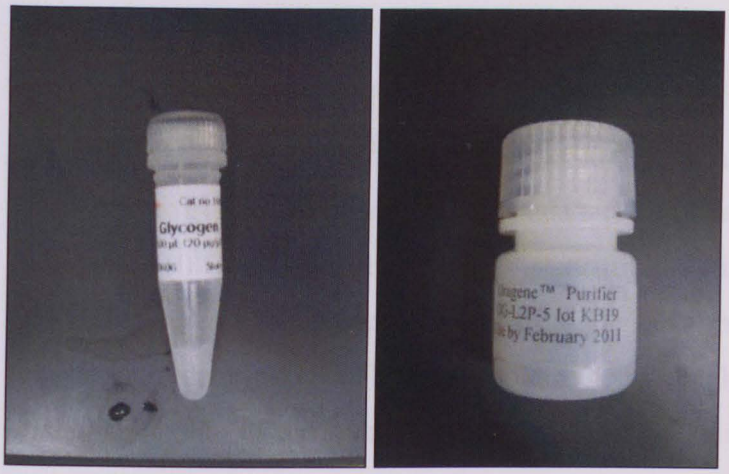
Tükürükten DNA ekstraksiyonu, DNA Genotek firmasına ait Oragene ^{TM} (OG-250 Disk, DNA Self-Collection) kitleri ile üretici firmanın protokolü doğrultusunda yapılmıştır. DNA ekstraksiyonu yapılacak olan örnekler en az 1 saat en fazla 1 gece öncesinden 50 ^{0}C'lik su banyosunda (Şekil 3-4) bekletilmiştir. Jel halini almış tükürük örnekleri 15 ml'lik steril falkon tüplerine pipet yardımı ile ölçülerek aktarılmış, tüplerin üzerine kod numaraları verilerek tükürük miktarı yazılmıştır (Şekil 3-5).

Şekil 3-4: Su banyosu



Şekil 3-5: Pipet ve falkon tüpleri

Çocuk kitlerinde, 15 ml'lik deney tüplerinin ağızına steril enjektör yerleştirilerek sünger peletler steril presel yardımı ile bu bölmeye yerleştirilmiş, saklama kutusunda arta kalan tükürük pipet yardımı ile tüpe aktarılmıştır. Hassas tartıda tüpler dengelendikten sonra 10^0C de 1 rpm devirde 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra sünger peletler atılmış elde edilen tükürük miktarı ölçülerek tüpün üzerine kod numarası ile kaydedilmiştir. DNA ipliklerinin ayrıştırılabilmesi için buz içerisinde bekletilen glikojen ajandan ölçülen tükürük miktarı kadar tüplere eklenmiş ve vortekste 1 dk kadar karıştırılmıştır (Şekil 3-6, Şekil 3-7). Çocuk kitinden elde edilen örnekler bu ekstra işlemden geçtikten sonra tüm örnekler üretici firmanın belirlediği formüle uyularak (1/25) Oragene^{TM} Purifier (DNA Genotek, Ottawa, Ontario, Kanada) eklenmiş ve DNA izolasyonu sağlanmaya çalışılmıştır (Şekil 3-6). Oragene^{TM} Purifier'ın tükürük içerisine tam olarak karışabilmesi için örnekler vortekste 3-4 sn kadar karıştırılmıştır (Şekil 3-7). Daha sonra elde edilen karışım 10 dk buz içerisinde bekletilmiştir. Örnekler hassas tartıda dengelendikten sonra 10^0C de 4 rpm hızda 10 dk santrifüj edilmiştir (Şekil 3-8). Santrifüjden sonra tüplerin içerisinde biriken çökeltinin ayırışımını yapmak için kod numaraları yazılarak 15 ml'lik yeni deney tüpleri hazırlanmıştır. Yeni tüplere pipetler yardımı ile dipte çökelmiş tortu kaldırılmadan saf tükürük örneği aktarılmıştır.

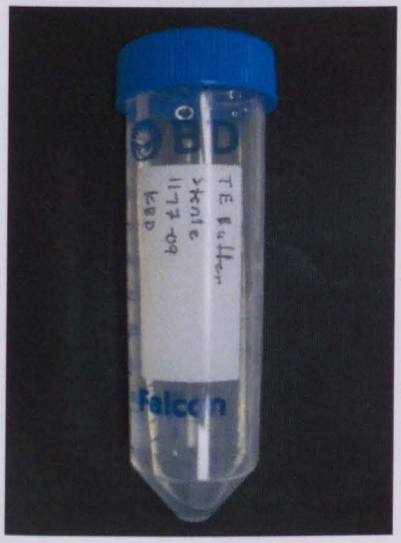


Şekil 3-6: Glikojen ve Oragene Purifier

Şekil 3-7: Vorteks cihazı

Şekil 3-8: Hassas tartı, santrifüj cihazı

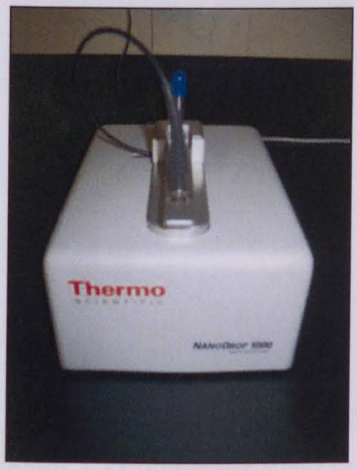
Her bir örneğe, ölçülmüş tükürük miktarı kadar %95-100'lük etil alkol ayrı ayrı eklenmiştir. Etil alkolün tam karışımı için tüpler kapakları kapatılarak birkaç sn elde çevirilmiştir. Elde edilen yeni örnekler, oda sıcaklığında steril ortamda 5 dk bekletilmiş daha sonra 10^0C de 4 rpm hızda 10 dk santrifüj edilmiştir. Çökelen kısım incelenecek DNA'yı oluşturmuştur ve pipetler yardımı ile çökelmemiş alkollü tükürük steril bir şekilde tüplerden uzaklaştırılmıştır. Tüplerin nemi ve alkolü dağılsın diye steril ortamda oda sıcaklığında 30 dk kadar kapakları açık ve dik bir şekilde bekletilmiştir. Her bir tüpe 1000 ml önceden hazır halde bulunan TE Buffer solüsyonu ilave edilmiş ve deney tüpleri kapakları kapalı bir şekilde oda sıcaklığında 1 gece bekletilmiştir (Şekil 3-9).



Şekil 3-9: TE Buffer sulüsyonu

1 gece bekletilen örneklerin her biri, gece boyunca çökelmiş olan tortu berraklaşana kadar vortekste karıştırılmıştır. Hassas tartıda tüpler dengelenmiş ve 21^0C de 2 rpm hızda 15 dk santrifüj edilmiştir. Pipet yardımı ile santrifüj edilen örneklerden çökelen tortuya dokunmadan kalan kısım, 2 ml'lik ependorf tüplerine kod numaraları yazılarak aktarılmıştır. Elde edilen örnekler +4 ^{0}C ta 1 ay kadar, -20^0C ta uzun süreli olarak saklanabilmektedir.

Elde edilen örneklerin saflığını ve nükleikasit konsantrasyonunu belirlemek amacıyla Spektrofotometre (Thermo Scientific, Nano Drop 1000, USA) cihazı ile 260 ve 280 nm dalga boylarında ölçümler yapılmıştır (Şekil 3-10). Ölçüm yapmadan önce her bir örnekten önce üretici firmanın önerileri doğrultusunda cihazın balans ayarı yapılmıştır. 2ml'lik pipetler ile cihazın ucuna distile su damlatılmış spektrofotometre programı (ND-1000 3.7.0) ile ölçümü yapılıp kaydedilmiş arkadasından TE Buffer solüsyonu yine 2 ml olacak şekilde damlatılmış ve kalibrasyon sağlanmıştır. Kalibrasyon işleminden sonra örneklerin nükleik asit konsantrasyonu steril pipetler ile 2 ml örnek hacmi olacak şekilde cihazda ölçülmüş ve kaydedilmiştir.



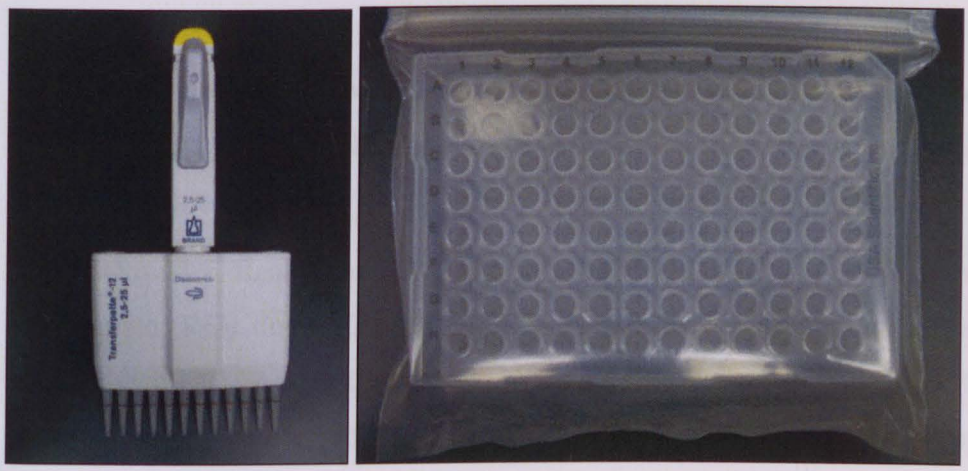
Şekil 3-10: Spektrofotometre (Thermo Scientific, Nano Drop 1000, USA) cihazı

3.2.2.2. Örneklerin Seyreltilmesi

Nükleik asit konsantrasyonu belirlenen örneklerin hacmi 50µl/10ng olacak şekilde TE Buffer solüsyonu ile dilue edilmiştir. Bu işlem için öncelikle 96'lık platede örneklerin koyulacağı yerler boş bir kağıt üzerinde belirlenmiş daha sonra örnek hacmi 10 ng değerinin altında kalan yerler kalem yardımı ile platenin tabanında işaretlenmiştir. Kağıt üzerindeki şemaya uygun olarak plateye dizilecek örnekler epondorflarla tablaya dizilmiştir. Örnek hacmi 50'den çıkarılarak oluşturulan sayı eklenecek TE Buffer solüsyonunu belirtmektedir. Önceden belirlenen formüle uyarak, çoklu pipet tutucu yardımı ile tükürük örneği hacmini belirten sayının ondalık kısmı kadar tükürük örneği, TE Buffer solüsyonunun değerini belirten sayının ondalık kısmı kadar TE Buffer

solüsyonu eklenerek örnekler 10 ng hacme kadar seyreltilmiştir. Tüm platenin üzeri kapaklar yardımı ile kapatılmış ve hava kabarcığı kalmaması için 21^{0}C de 1 rpm hızda 5 dk santrifüj edilmiştir (Şekil 3-11).

Örnekleri 100µl/2ng'a seyreltme işlemi için yeni steril plateler hazırlanmış üzerlerine kod numaraları ve konsantrasyon değeri kaydedilmiştir. Çoklu pipet yardımı ile her örnekten 20ng hacminde tükürük alınmış ve üzerine 80 ng TE Buffer solüsyonu eklenmiştir. Platelerin kapakları kapatılmış ve hava kabarcığı kalmaması için 21^{0}C de 1 rpm hızda 5 dk santrifüj edildikten sonra +4^{0}C de buz dolabında saklanmıştır.



Şekil 3-11: Otomatik Pipet ve 96'lık plate

3.2.2.3. PZR Testleri

DNA ekstraksiyonu yapılan örneklerden spesifik primerlerle amplifikasyon sağlamak amacıyla Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) kullanılmıştır (Şekil 3-12). Bu işlem için önceden belirlenen 29 marker (SNPs) ile çalışılmıştır. 1. kromozomdan 11 marker (rs481931, rs560426, rs4844880, rs2235371, rs2013162, rs861019, rs2073487, rs642961, rs658860, rs13041247, rs11696257), 2. kromozomdan 2 marker (rs930655, rs377122), 6. kromozomdan 10 marker (rs10943944, rs7753918, rs9449648, rs117114, rs512140, rs1171105, rs217325, rs10943957, rs1325474, rs6940766), 8. kromozomdan 2 marker (rs16903544, rs987525), 11. kromozomdan 1 marker (rs522616), 17. kromozomdan 1 marker (rs8179096), 19. kromozomdan 2 marker (rs1058402,

rs35385129) seçilmiştir (Tablo 3-1). Bu markerlar, Uluslararası HapMap projesi (http://hapmap.org) bilgi bankasından seçilmiştir. PZR için 112'lik platelere incelenecek marker numarası ve örneklerin kod numaraları kaydedilmiştir. Çoklu pipetler yardımı ile önceki platenin 1. dikey sırası, 112'lik platenin A hizasına gelecek şekilde, eski platenin 2. dikey sırası 112'lik platenin B hizasına gelecek şekilde tükürük örnekleri yeni plateye aktarılmıştır. Üretici firmanın protokolüne uygun formüle göre (1.5/örnek µl TaqMan, örrnekx0.075 µl marker, örnekx0.425 µl distile su) 586.5µl TaqMan, 14.66 µl incelenecek marker, 180.8 µl distile su ayrı bir ependorf tüpüne hazırlanarak vortekste karıştırılmış ve üzerine incelenen markerin kod numarası yazılarak tükürük örneğine ilave edilinceye kadar buz içerisinde saklanmıştır. Negatif kontrol için son örnekten sonra plateye 1.2 µl distile su koyulmuştur. Tüm bu örnek hazırlama işlemlerinden sonra çoklu pipetler yardımı ile ependorf tüpünde hazırlanmış olan karışım, 2 µl negatif kontrol boşluğuda dahil tüm örneklere ilave edilmiş ve hava kabarcığı kalmaması için 21^{0}C de 1 rpm hızda 5 dk santrifüj edilmiştir.

Örnekler, Real Time PZR cihazında çalışılıncaya kadar +4^{0}C de buz dolabında saklanmıştır. Real time PZR cihazı reaksiyondan önce en az yarım saat ısıtılmıştır (ön denatürasyon). PZR döngü programı 95^{0}C de 10 dk (denatürasyon), 92^{0}C de 15 sn (eşleşme) ve son 60^{0}C 1dk (sentez) olacak şekilde 40 döngü olarak uygulanmıştır. Yaklaşık 2 saat süren amplifikasyon işlemini takiben örneklerin SDS 2.2.2 bilgisayar programında allelik diskriminasyonu yapılarak genotip ve haplotipleri belirlenmiştir (Şekil 3-12).

Şekil 3-12: Polimeraz Zincir Reaksiyonu cihazı

3.2.3. İstatistik

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Student t test, normal dağılım göstermeyen parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı.

DDY-kontrol grupları arasında, çevresel faktörlerin ve dental anomalilerin karşılaştırmasında Ki-kare ve Fisher's exact testi; ailelerin çevresel faktörler açısından kendi içinde incelenmesinde ki-kare, regresyon analizi ve Fisher's exact testi; olgu ve kontrol gruplarının genetik özellikler açısından istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Transmission Disequilibrium Test (TDT); ailelerin genetik açıdan kendi içinde incelenmesinde linkage analizi ve Family Based Association Test (FBAT); Haplotip analizinde Haplotype Based Association Testi (HBAT) kullanıldı

Allel frekansının analizinde Hardy-Weinberg dengesinden (HWE) ve Minör allel sıklığı analizinden (MAF) faydalanıldı. Tutarsızlıkları önlemek için PedCheck testi herbir allel dağılımı için yapıldı.

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007, PASS 2008 Statistical Software, HWE, MAF, FBAT, TDT ve olgu kontrol analizlerinde PLINK 1.06 software (software for the analysis of genotype/phenotype data); Regresyon ve ki-kare restlerinde SAS (Statistical Analysis Software) istatistiksel analiz programları kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya yaşları 0-18 arasında değişen 158 dudak-damak yarıklı birey ile yaşları 0-18 arasında değişen 161 dudak-damak yarığına sahip olmayan birey ve anne-baba-DDY'den etkilenen çocuk-kardeş şeklinde çekirdek aile olarak kabul edilen 356 bireyden oluşan 102 aile çalışmaya dahil edilmiştir.

Tablo 4-1: DDY ve kontrol gruplarının ortalama yaşları

Yaş	Ortalama	Standart sapma	Minumum	Maksimum	*p*
DDY (n=158)	10.89	4.53	3	23	0.839
Kontrol (n=161)	10.79	4.57	3	23	

DDY grubunun ortalama yaşları 10.89, kontrol grubunun ortalama yaşları 10.79 olarak bulunmuştur. Grupların yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 4-1).

Çalışmaya dahil edilen dudak-damak yarıklı bireylerden 89'i erkek, 69'i kız; sağlıklı bireylerden 91'i erkek, 70'i kızdır (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: DDY ve kontrol gruplarının cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
Erkek	89	91	1.00
Kız	69	70	

Cinsiyet açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0.01) (Tablo 4-2).

Dudak-damak yarığına sahip bireylerin Veau sınıflandırmasına göre yarık tiplerinin cinsiyete göre dağılımı Tablo 4-3'de gösterilmiştir.

Tablo 4-3: DDY tiplerinin cinsiyete göre dağılımı

	Kız	**Erkek**	***Toplam***	
	n (%)	**n (%)**	***n (%)***	***p***
Dudak-Damak yarığı				
Çift taraflı	23 (%37,7)	35 (%41,7)	*58 (%40,0)*	
Tek taraflı sol	32 (%52,5)	32 (%38,1)	*64 (%44,1)*	0,122
Tek taraflı sağ	6 (%9,8)	17 (%20,2)	*23 (%15,9)*	
Dudak yarığı	2 (%3,3)	1 (%1,2)	*3 (%2,1)*	0,573
Damak yarığı	7 (%11,5)	3 (%3,6)	*10 (%6,9)*	0,064

Cinsiyete göre DDY tiplerinin görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05) (Tablo 4-3).

Dudak-damak yarığına sahip bireylerin tümü dudak ve/veya damak operasyonu geçirmiştir. Ancak 53 bireyde (%33.5) oronazal fistül gözlenirken, 105 (%66.5) bireyde fistül gözlenmemiştir (Tablo 4-4).

Tablo 4-4: DDY grubunda oronazal fistül görülme durumu

DDY	Var	Yok
Oronazal Fistül	53 (%33.5)	105 (%66.5)

DDY grubundan 41, kontrol grubundan 32 bireyin anne babaları arasında akraba evliliği tespit edilmiştir (Tablo 4-5).

4.1. Çevresel Faktörlere Bağlı Bulgular

Tablo 4-5: Akraba evliliğinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Akraba Evliliği	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
Var	41	32	0.23
Yok	117	129	

DDY ve kontrol grupları arasında akraba evliliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.01$) (Tablo 4-5).

DDY grubunda 10, kontrol grubunda 7 annenin hamilelik yaşı 35'den büyük olarak saptanmıştır. DDY grubundaki annelerin ortalama hamilelik yaşı 26.2, kontrol grubundaki ortalama hamilelik yaşı 27.04 olarak bulunmuştur (Tablo 4-6).

Tablo 4-6: Annenin hamilelik yaşının DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Annenin Hamilelik Yaşı	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
<35	148	154	0.43
≥35	10	7	

Gruplara göre annelerin hamilelik yaşı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 4-6).

DDY grubundaki annelerin 26'sında, kontrol grubundaki annelerin 23'ünde sistemik hastalık olduğu bulunmuştur (Tablo 4-7).

Tablo 4-7: Annede sistemik hastalık durumunun DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Annede sistemik hastalık	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
Var	26	23	0.64
Yok	132	138	

Annede sistemik hastalık olup olmamasının DDY-kontrol gruplarına göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır ($p>0.01$) (Tablo 4-7).

DDY grubundaki 158 annenin 45'i, kontrol grubundaki 161 annenin 6'sı hamilelik döneminde enfeksiyon geçirdiklerini belirtmişlerdir (Tablo 4-8).

Tablo 4-8: Annenin hamilelik döneminde enfeksiyon geçirmesinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Annenin hamilelikte enfeksiyon geçirmesi	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
Var	45	6	**0.001**
Yok	113	155	

DDY grubundaki annelerin hamilelik döneminde enfeksiyon geçirme oranları, kontrol grubundaki annelerden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı şekilde yüksektir ($p\leq0.01$) (Tablo 4-8).

DDY grubundaki annelerin 39'u hamilelik öncesinde, 20'si hamilelik süresince sigara kullandığını belirtirken; kontrol grubundaki annelerin 18'i hamilelik öncesinde, 3'ü hamilelik süresince sigara kullandığını belirtmiştir (Tablo 4-9, Tablo 4-10).

Tablo 4-9: Annenin hamilelik öncesi sigara kullanmasının DDY ve kontrol gruplarına göre değerlendirilmesi

Annenin hamilelik öncesi sigara kullanması	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
Var	39	18	0.002
Yok	119	143	

Tablo 4-10: Annenin hamilelik süresince sigara kullanmasının DDY ve kontrol gruplarına göre değerlendirilmesi

Annenin hamilelik süresince sigara kullanması	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
Var	20	3	0.0002
Yok	138	158	

Annenin hamilelik öncesi ve hamilelik süresince sigara kullanmasının dudak-damak yarıklı grup ile kontrol grubundaki sağlıklı bireylerin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmiştir (Tablo 4-9, Tablo 4-10) ($p<0.05$).

DDY'lı gruptaki annelerin 45'i, kontrol grubundaki annelerin 6'sı hamilelik süresince ilaç kullandığını belirtmişlerdir (Tablo 4-11).

Tablo 4-11: Annenin hamilelik süresince ilaç kullanımının DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Annenin hamilelik süresince ilaç kullanması	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
Var	45	6	**4E-10***
Yok	113	155	

**p= 0,0000000004*

Annenin hamilelikte ilaç kullanmasının dudak-damak yarıklı bireyler ile kontrol grubundaki sağlıklı bireyler açısından karşılaştırılmasında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlılık bulunmuştur ($p<0.001$) (Tablo 4-11).

DDY grubundaki çocukların %32.3'ünün ailesinde DDY hikayesi görülürken, kontrol grubundaki hiçbir olgunun ailesinde DDY görülmemiştir (Tablo 4-12).

Tablo 4-12: Ailede DDY görülmesinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Ailede DDY hikayesi	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
Var	51	0	**0.001**
Yok	107	161	

DDY grubundaki çocukların ailelerinde DDY hikayesi görülme oranı, kontrol grubundan istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı şekilde yüksektir ($p\leq0.01$) (Tablo 4-12).

DDY grubundaki bireylerin 74'ünün, kontrol grubundaki bireylerin 12'sinin ailesinde kanser hikayesi saptanmıştır (Tablo 4-13).

Tablo 4-13: Ailede kanser hikâyesinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Ailede kanser hikâyesi	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
Var	74	12	**4E-16***
Yok	84	149	

*$p= 4.10^{-16}$

DDY grubundaki bireylerin ailelerinde kanser görülme oranı, kontrol grubundan istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı şekilde yüksektir ($p<0.001$) (Tablo 4-13).

4.2. Dental Bulgular

DDY ve kontrol gruplarının ortalama dmf, dmfs, DMF ve DMFs değerleri Tablo 4-14'de gösterilmektedir.

Tablo 4-14: Gruplara göre dmf,dmfs, DMF, DMFs değerlendirilmesi

	DDY (n=158)		Kontrol (n=161)		*p*
	Ort±SS	Medyan	Ort±SS	Medyan	
Dmf	1,81±2,46	0	1,35±1,75	0	0.438
Dmfs	2,95±4,51	0	2,41±3,38	0	0.827
DMF	2,00±2,01	2	1,28±1,38	1	**0.003**
DMFS	2,62±2,93	2	1,88±2,50	1	**0.015**

DDY grubu ile kontrol grubunun dmf ve dmfs değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). DDY grubu ile kontrol grubunun DMF ve DMFs değerleri karşılaştırıldığında, DDY grubunun DMF değeri, kontrol grubundan istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunurken ($p<0.05$), DDY grubunun DMFs değeri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır ($p<0.05$) (Tablo 4-14).

Dudak-damak yarığına sahip 158 bireyden 63'ünde 1. sınıf, 11'inde 2. sınıf, 84'ünde 3. sınıf azı kapanışı; kontrol grubundaki 161 bireyden 124'ünde 1. sınıf, 30'un da 2. sınıf, 7'sinde 3. sınıf kapanış saptanmıştır (Tablo 4-15).

Tablo 4-15: Oklüzyonun DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Oklüzyon	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
C1	63	124	
C2	11	30	**8E-24***
C3	84	7	

*$p= 8.10^{-24}$

DDY grubunda, 3. sınıf azı kapanışının kontrol grubundaki bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.001$) (Tablo 4-15).

Oklüzyon ile çevresel ve dental değişkenlerin birlikte değerlendirilmesi Tablo 4-16'da görülmektedir.

Tablo 4-16: Oklüzyon ile çevresel ve dental değişkenlerin karşılaştırılması

Akraba evliliği	Hamilelikte sigara kullanımı	Hamilelikte ilaç kullanımı	Ailede DDY hikayesi	Ailede kanser hikayesi	Makrodonti	Mikrodonti	Süpernümerer
p=0.54	p=0.71	p=7E-05	**p=5E-08***	**p=0.0012**	p=0.32	p=0.0002	**p=0.004**

*$p= 5.10^{-8}$

Çoklu regresyon analizine göre, DDY'li bireylerde oklüzyonun, ailede dudak damak yarığı hikayesi, ailede kanser hikayesi, süpernümerer varlığı ile negatif ilişkili

olduğu bulunmuştur. Oklüzyonun diğer değişkenlerle ilişkisi ise pozitif yönde saptanmıştır (Tablo 4-16).

DDY ve kontrol gruplarındaki hipoplazi dağılımı Tablo 4-17 de görülmektedir.

Tablo 4-17: Hipoplazinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Hipoplazi	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
Var	30	21	0.13
Yok	128	140	

Gruplar hipoplazi görülüp görülmemesi yönünden değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0.01) (Tablo 4-17).

DDY grubundaki 158 bireyden 2'sinde makrodonti, 38'in de mikrodonti; kontrol grubundaki 161 bireyden 4'ün de makrodonti, 5'in de mikrodonti saptanmıştır (Tablo 4-18, Tablo 4-19) .

Tablo 4-18: Makrodontinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Makrodonti	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*p*
Var	2	4	0.69
Yok	156	157	

Tablo 4-19: Mikrodontinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Mikrodonti	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*Fisher's exact* *p*	*Regresyon* *p*
Var	38	5	0.00000001	0.10
Yok	120	156		

DDY ve kontrol grupları arasında makrodonti ve mikrodonti sıklığının karşılaştırılması istatistiksel olarak fisher's exact testine göre anlamlı görülürken, regresyon analizine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0.01) (Tablo 4-18, Tablo 4-19).

DDY grubunda 31, kontrol grubunda 7 bireyde hipodonti izlenirken; DDY grubunda 127, kontrol grubunda 154 bireyde hipodonti saptanmamıştır (Tablo 4-20).

Tablo 4-20: Hipodontinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Hipodonti	**DDY (n=158)**	**Kontrol (n=161)**	***Fisher's exact p***	***Regresyon p***
Var	31	7	0.000009	0.06
Yok	127	154		

DDY ve kontrol grupları arasında yarık hattı dışındaki bölgede hipodonti varlığının değerlendirilmesinde fisher's exact testine göre istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuşken resgresyon analizine göre anlamlı bir sonuç saptanmamıştır (p>0.01) (Tablo 4-20).

DDY ve kontrol gruplarında süpernümerer diş varlığı Tablo 4-21'de görülmüştür.

Tablo 4-21: Süpernümerer diş görülüp görülmemesinin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Süpernümerer	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*Fisher's exact* *p*	*Regresyon* *p*
Var	26	1	0.00000004	0.08
Yok	132	160		

Gruplar arasında süperrnümerer diş görülüp görülmemesi açısından istatistiksel olarak fisher's exact testine göre anlamlı doluğu görülürken regresyon analizine göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0.01) (Tablo 4-21).

DDY grubunda 6 bireyde meziodens görülürken, kontrol grubundaki hiçbir bireyde meziodens görülmemiştir (Tablo 4-22).

Tablo 4-22: Meziodensin DDY ve kontrol gruplarına göre dağılımı

Meziodens	DDY (n=158)	Kontrol (n=161)	*Fisher's exact* *p*	*Regresyon* *p*
Var	6	0	0.01	0.02
Yok	152	161		

Meziodens görülüp görülmemesi gruplar arasında fisher's exact testine göre anlamlı bir sonuç görülürken regresyon analizine göre istatistiksel bir farklılığa neden olmamıştır (p>0.01) (Tablo 4-22).

4.3. Genetik Bulgular

1. kromozomdan 11 marker (rs481931, rs560426, rs4844880, rs2235371, rs2013162, rs861019, rs2073487, rs642961, rs658860, rs13041247, rs11696257), 2. kromozomdan 2 marker (rs930655, rs377122), 6. kromozomdan 10 marker (rs10943944, rs7753918, rs9449648, rs117114, rs512140, rs1171105, rs217325, rs10943957, rs1325474, rs6940766), 8. kromozomdan 2 marker (rs16903544, rs987525), 11. kromozomdan 1 marker (rs522616), 17. kromozomdan 1 marker (rs8179096), 19. kromozomdan 2 marker (rs1058402, rs35385129) olmak üzere toplam 29 marker (SNPs) ile çalışılmıştır (Tablo 3-1).

DDY grubunun genotipik incelemesinde kromozom 6 rs1171114 (p=0.00074 genotip=23/83/21) ve kromozom 6 rs1325474 (p=0.0009 genotip=1/64/77) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.008) (Tablo 4-23). Kontrol grubunun genotipik incelemesinde herhangi bir anlamlı sonuç saptanmamıştır (Tablo 4-24).

Tablo 4-23: DDY grubunun genotipik incelemesi

Kromozom	SNP	Lokus	Allel	GENOTİP	O(HET)	E(HET)	P
1	rs13041247	1p22.1	C / T / CT	17/76/62	0,4903	0,4579	0,4826
1	rs11696257	1p22.1	C / T / CT	19/74/59	0,4868	0,4654	0,727
1	rs560426	1p22.1	C / T /CT	17/59/44	0,4917	0,4747	0,8474
1	rs481931	1p22.1	G / T /GT	9/69/65	0,4825	0,4233	0,1163
1	rs4844880	1q32.2	A / T /AT	5/48/103	0,3077	0,3027	1
1	rs2235371	1q32.2	C / T / CT	0/5/151	0,03205	0,03154	1
1	rs2013162	1q32.2	A / C /AC	13/69/72	0,4481	0,4266	0,7051
1	rs861019	1q32.2	A / G /AG	31/83/42	0,5321	0,4975	0,4249
1	rs2073487	1q32.2	C / T /CT	15/68/73	0,4359	0,4309	1
1	rs642961	1q32.2	A / G /AG	5/47/104	0,3013	0,2986	1
1	rs658860	1q32.2	C / T /CT	3/47/106	0,3013	0,282	0,5713
2	rs930655	2p13.3	A / G /AG	35/65/53	0,4248	0,4931	0,1006
2	rs377122	2p13.3	C / T /CT	36/62/55	0,4052	0,4923	0,03254
6	rs10943944	6q14.2	C / T /CT	6/38/112	0,2436	0,2691	0,2342
6	rs7753918	6q14.2	A / G /AG	2/22/128	0,1447	0,1564	2,92E-01
6	rs9449648	6q14.2	A / G /AG	3/45/103	0,298	0,2807	0,5724
6	**rs1171114**	**6q14.2**	**C / T /CT**	**23/83/21**	**0,6535**	**0,4999**	**0,00074***
6	rs512140	6q14.2	A / G /AG	16/56/68	0,4	0,431	0,4326
6	rs1171105	6q14.2	T / C /TC	23/69/61	0,451	0,4692	0,6092
6	rs217325	6q14.2	C / G /CG	12/51/62	0,408	0,42	0,8311
6	rs10943957	6q14.2	A / T /AT	1/11/87	0,3091	0,42	0,0558
6	**rs1325474**	**6q14.2**	**A / G /AG**	**1/64/77**	**0,4507**	**0,3568**	**0.0009***
6	rs6940766	6q14.2	A / G /AG	3/17/120	0,1214	0,1508	0,04844
8	rs16903544	8q24.21	C / T /CT	5/36/112	0,2353	0,2555	0,3387
8	rs987525	8q24.21	A / C /AC	21/58/75	0,3766	0,4385	9,69E-02
11	rs522616	11q22.2	A / G /AG	9/48/99	0,3077	0,3336	0,338
17	rs8179096	17q25.3	C / T /CT	2/14/122	0,1014	0,1219	0,09731
19	rs1058402	19q13.31	A / G /AG	1/23/131	0,1484	0,1483	1
19	rs35385129	19q13.31	A /C /AC	2/33/121	0,2115	0,2091	1

Tablo 4-24: Kontrol grubunun genotipik incelemesi

Kromozom	SNP	Lokus	Allel	GENO	O(HET)	E(HET)	P
1	rs13041247	1p22.1	C / T /CT	15/56/30	0,5545	0,489	0,2246
1	rs11696257	1p22.1	C / T /CT	19/80/50	0,5369	0,4784	0,1713
1	rs560426	1p22.1	C / T /CT	26/65/43	0,4851	0,492	0,8618
1	rs481931	1p22.1	G / T /GT	73/61/20	0,3961	0,4408	0,2045
1	rs4844880	1q32.2	A / T /AT	4/45/100	0,302	0,2924	1
1	rs2235371	1q32.2	C / T /CT	0/9/140	0,0604	0,05858	1
1	rs2013162	1q32.2	A / C /AC	23/51/75	0,3423	0,4391	0,008633
1	rs861019	1q32.2	A / G /AG	39/65/46	0,4333	0,4989	0,1047
1	rs2073487	1q32.2	C / T /CT	20/48/85	0,3137	0,4098	0,005197
1	rs642961	1q32.2	A / G /AG	4/40/110	0,2597	0,2631	0,7653
1	rs658860	1q32.2	C / T /CT	4/40/117	0,2484	0,2537	0,7567
2	rs930655	2p13.3	A / G /AG	44/63/41	0,4257	0,4998	0,07191
2	rs377122	2p13.3	C / T /CT	37/60/49	0,411	0,4966	0,04494
6	rs10943944	6q14.2	C / T /CT	3/51/101	0,329	0,3001	0,2942
6	rs7753918	6q14.2	A / G /AG	1/28/119	0,1892	0,1822	1
6	rs9449648	6q14.2	A / G /AG	3/33/112	0,223	0,2288	0,7188
6	rs1171114	6q14.2	C / T /CT	32/76/38	0,5205	0,4992	0,7399
6	rs512140	6q14.2	A / G /AG	21/66/63	0,44	0,4608	0,5964
6	rs1171105	6q14.2	T / C /TC	31/69/50	0,46	0,492	0,4117
6	rs217325	6q14.2	C / G /CG	19/57/73	0,3826	0,4343	0,185
6	rs10943957	6q14.2	A / T /AT	1/37/45	0,2857	0,3941	0,04948
6	rs1325474	6q14.2	A / G /AG	2/21/123	0,1438	0,1566	0,2748
6	rs6940766	6q14.2	A / G /AG	2/21/126	0,1409	0,1537	0,2665
8	rs16903544	8q24.21	C / T /CT	4/33/109	0,226	0,2414	0,4863
8	rs987525	8q24.21	A / C /AC	13/52/86	0,3444	0,3831	0,2071
11	rs522616	11q22.2	A / G /AG	7/46/106	0,2893	0,3062	0,4445
17	rs8179096	17q25.3	C / T /CT	2/9/135	0,06164	0,08508	0,02343
19	rs1058402	19q13.31	A / G /AG	1/21/130	0,1382	0,1399	0,5933
19	rs35385129	19q13.31	A /C /AC	3/29/129	0,1801	0,1938	0,4023

DDY ve kontrol gruplarının genotipik karşılaştırılmalarına göre (Tablo 4-25) kromozom 1 ABCA4 geni rs481931'in DDY oluşumu (p=2.07E-14 OR=4.7); süpernümerer görülmesi (p=0.0007 OR=2.9); maloklüzyon oluşumu (p=1.82E-09 OR=3.4); ailede DDY hikayesi (p=1.84E-05 OR=3.1); ailede kanser hikayesi (p=2E-06 OR=2.5) ile anlamlı derecede ilişkili olduğu; kromozom 6 rs1325474'ün DDY oluşumu (p=1E-06 OR=4.7); mikrodonti görülmesi (p=0.0006 OR=2.6) ile anlamlı derecede ilişkili olduğu; kromozom 1 HSD11B1 geni rs4844880'in meziodens oluşumu (p=0.008 OR=4.7) ile anlamlı derecede ilişkili olduğu saptanmıştır (Şekil 4-1).

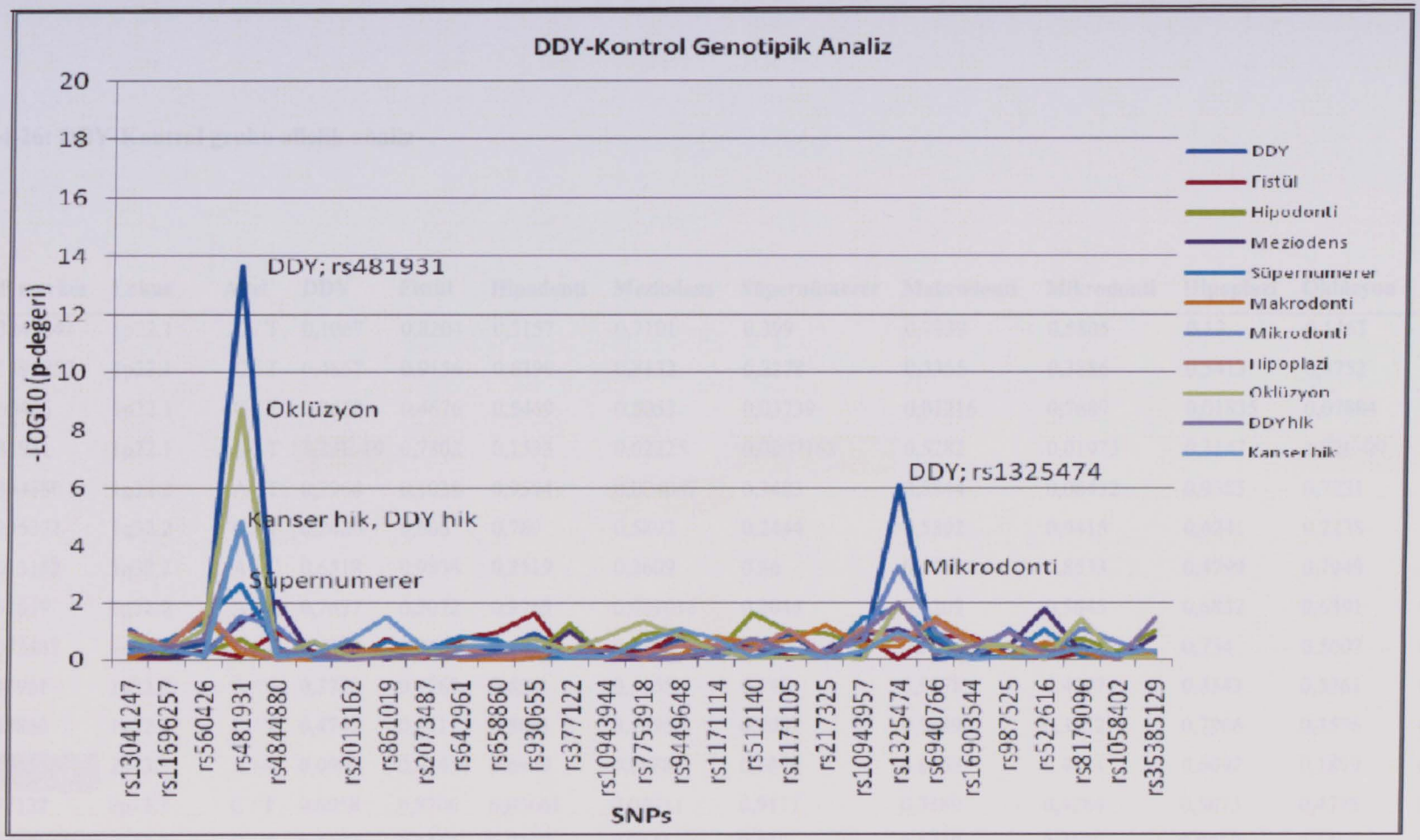
DDY ve kontrol gruplarının allelik karşılaştırmaları sonucunda (Tablo 4-26), kromozom 1 ABCA4 geni rs481931'in DDY oluşumu (p=3.24E-19 OR=4.9); süpernümerer görülmesi (p=0.0007 OR=2.9); maloklüzyon oluşumu (p=1.82E-09 OR=3.4); ailede DDY hikayesi (p=1.99E-06 OR=3.1); ailede kanser hikayesi (p=2.32E-06 OR=2.6) ile anlamlı derecede ilişkili olduğu; kromozom 6 rs1325474'ün DDY oluşumu (p=1.37E-06 OR=4.8); mikrodonti görülmesi (p=0.0006 OR=2.6) ile anlamlı derecede ilişkili olduğu, kromozom 1 HSD11B1 geni rs4844880'in meziodens oluşumu (p=0.004 OR=3.8) ile anlamlı derecede ilişkili olduğu, kromozom 1 IRF6 geni rs861019'un meziodens oluşumu (p=0.001 OR=2.5) ile ilişkili olduğu; kromozom 11 MMP3 geni rs522616'nın meziodens oluşumu (p=0.007 OR=4.3) ile anlamlı derecede ilişkili olduğu bulunmuştur (Şekil 4-2).

Hem allelik hem de genotipik analiz sonucunda 2. kromozom TGFα geni rs930655, 6. Kromozom PRSS35 geni rs10943944, 6. Kromozom CYB5R4 geni rs6940766 markerlarında mendel hatasına (ME=%6-7) rastlanmıştır (Tablo 4-25, Tablo 4-26).

Tablo 4-25: DDY-Kontrol grubu genotipik analiz

Aday Gen	SNP marker	Lokus	Allel	DDY	Fistül	Hipodonti	Meziodens	Süpernümerer	Makrodonti	Mikrodonti	Hipoplazi	Oklüzyon	DDY Hikayesi	Kanser Hikayesi
---------	rs13041247	1p22.1	C / T	0,09205	0,8138	0,2923	0,6975	0,3781	0,7847	0,5628	0,1056	0,1463	0,3041	0,2185
---------	rs11696257	1p22.1	C / T	0,4678	0,9136	0,6246	0,8054	0,2105	0,3225	0,3691	0,3217	0,4752	0,3546	0,4719
ABCA4	rs560426	1p22.1	C / T	0,2615	0,4604	0,5485	0,5137	0,04089	0,02586	0,7682	0,01962	0,07884	0,1828	0,6434
ABCA4	rs481931	1p22.1	G / T	2,07E-14	0,7636	0,181	0,05286	0,0007	0,5545	0,03011	0,3442	1,82E-09	1,84E-05	2E-06
HSD11B1	rs4844880	1q32.2	A / T	0,7944	0,1043	0,9589	0,008976	0,3448	0,8831	0,06442	0,9377	0,7231	0,4668	0,734
IRF6	rs2235371	1q32.2	C / T	0,2444	0,5116	0,7667	0,9979	0,9977	0,9979	0,9408	0,6214	0,2238	0,6303	0,6018
IRF6	rs2013162	1q32.2	A / C	0,6649	0,9834	0,2731	0,2935	0,8652	0,4699	0,8587	0,497	0,7949	0,9434	0,1904
IRF6	rs861019	1q32.2	A / G	0,7709	0,193	0,9771	0,9893	0,2152	0,4334	0,5716	0,6895	0,6391	0,8304	0,03209
IRF6	rs2073487	1q32.2	C / T	0,495	0,8551	0,5208	0,3503	0,4553	0,3958	0,7053	0,7468	0,5007	0,6058	0,3934
--------	rs642961	1q32.2	A / G	0,3742	0,1781	0,8598	0,994	0,1552	0,9879	0,4328	0,3575	0,3261	0,8342	0,3645
--------	rs658860	1q32.2	C / T	0,4692	0,1022	0,885	0,9942	0,2028	0,9343	0,3326	0,7946	0,3576	0,6009	0,3125
TGFα	rs930655	2p13.3	A / G	0,1147	0,02375	0,7168	0,878	0,8212	0,878	0,5189	0,6347	0,1899	0,4828	0,3122
TGFα	rs377122	2p13.3	C / T	0,6341	0,8806	0,05648	0,09441	0,9186	0,3847	0,4661	0,5415	0,4775	0,6831	0,7985
PRSS35	rs10943944	6q14.2	C / T	0,4347	0,3502	0,9361	0,9439	0,4587	0,4139	0,4733	0,9018	0,1488	0,4812	0,8291
PRSS35	rs7753918	6q14.2	A / G	0,5091	0,5938	0,1326	0,9534	0,8922	0,9957	0,9218	0,5877	0,04516	0,9009	0,2262
PRSS35	rs9449648	6q14.2	A / G	0,2013	0,1129	0,09067	0,876	0,8211	0,6504	0,27	0,3152	0,1604	0,842	0,08766
PRSS35	rs1171114	6q14.2	C / T	0,4687	0,6625	0,6136	0,5785	0,4123	0,1489	0,8161	0,2815	0,4696	0,4937	0,1881
PRSS35	rs512140	6q14.2	A / G	0,2593	0,3018	0,02481	0,3596	0,8959	0,2603	0,377	0,4858	0,8869	0,1842	0,8052

----------	rs1171105	6q14.2	T / C	0,1387	0,8387	0,1081	0,9432	0,4123	0,2323	0,4086	0,09055	0,9288	0,4641	0,4076
SNAP91	rs217325	6q14.2	C / G	0,6485	0,7706	0,1177	0,4448	0,9259	0,06125	0,5342	0,773	0,7651	0,6474	0,929
----------	rs10943957	6q14.2	A / T	0,6495	0,1519	0,3375	0,124	0,03365	0,3108	0,2179	0,07268	0,9655	0,1184	0,4928
----------	rs1325474	6q14.2	A / G	1E-06	0,9382	0,1706	0,08765	0,01492	0,3502	0,0006	0,2044	0,01228	0,01109	0,1033
CYB5R4	rs6940766	6q14.2	A / G	0,943	0,1539	0,1352	0,2281	0,163	0,03651	0,09844	0,04555	0,4774	0,648	0,4598
---------	rs16903544	8q24.21	C / T	0,7399	0,16	0,7313	0,8286	0,8396	0,1902	0,8625	0,282	0,3249	0,3483	0,9719
---------	rs987525	8q24.21	A / C	0,09061	0,7664	0,9212	0,3682	0,8312	0,7765	0,09325	0,3204	0,3207	0,106	0,8286
MMP3	rs522616	11q22.2	A / G	0,488	0,8708	0,327	0,01681	0,09067	0,2473	0,7887	0,5922	0,948	0,4968	0,8281
TIMP2	rs8179096	17q25.3	C / T	0,3289	0,5923	0,1865	0,5746	0,717	0,5746	0,08173	0,4265	0,03909	0,3727	0,4312
PVR	rs1058402	19q13.31	A / G	0,8185	0,5244	0,5131	0,9961	0,6306	0,9961	0,2474	0,9207	0,8569	0,9916	0,7033
PVR	rs35385129	19q13.31	A /C	0,6988	0,5599	0,1002	0,1611	0,6486	0,5794	0,5662	0,9284	0,8015	0,03449	0,4538

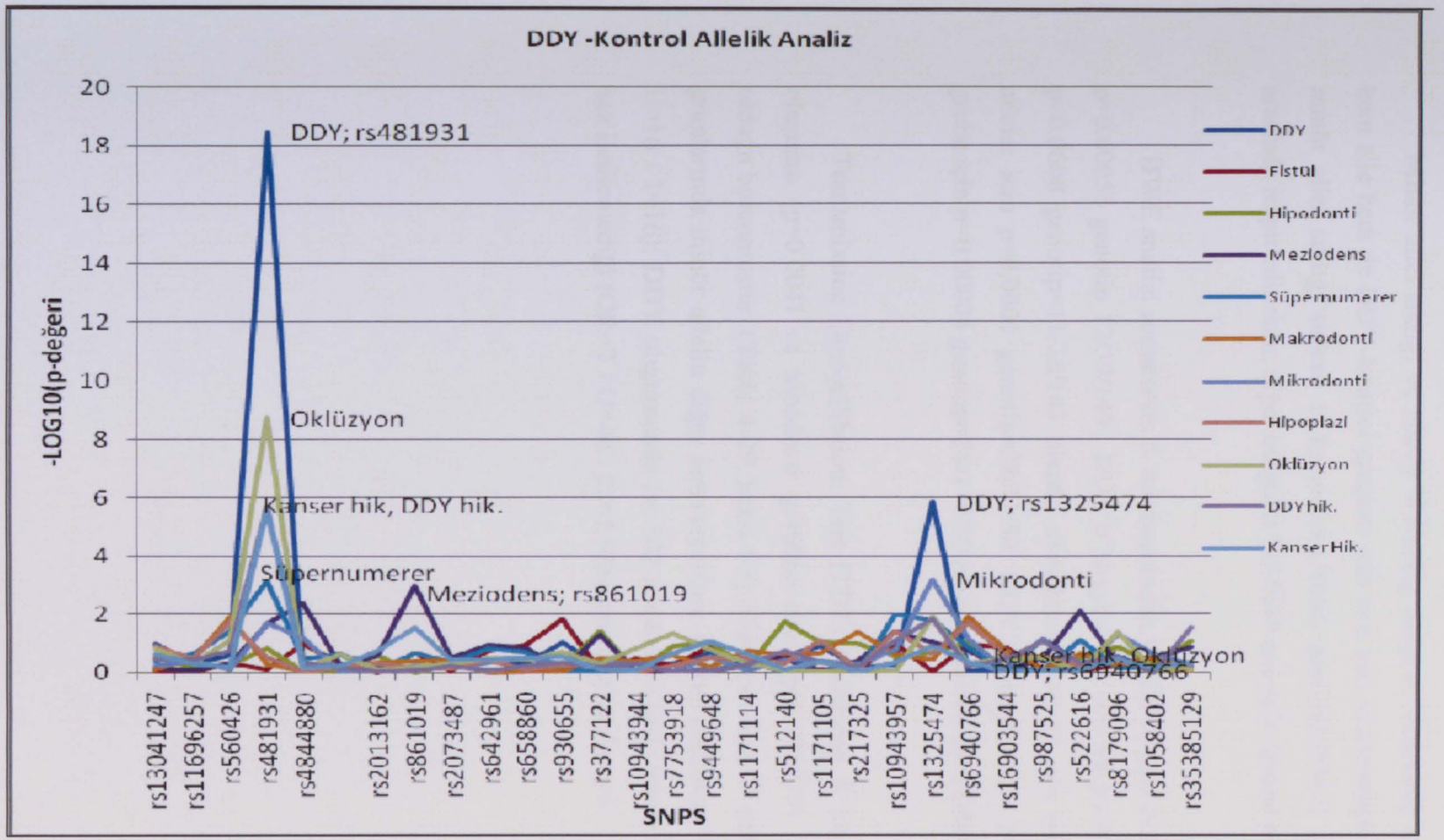


Şekil 4-1: DDY-Kontrol grubu genotipik analiz grafiği

Tablo 4-26: DDY-Kontrol grubu allelik analiz

Aday Gen	SNP marker	Lokus	Allel	DDY	Fistül	Hipodonti	Meziodens	Süpernümerer	Makrodonti	Mikrodonti	Hipoplazi	Oklüzyon	DDY hikayesi	Kanser Hikayesi
---------	rs13041247	1p22.1	C / T	0,1067	0,8204	0,3157	0,7101	0,399	0,7939	0,5805	0,12	0,1463	0,3262	0,2396
---------	rs11696257	1p22.1	C / T	0,4867	0,9156	0,6399	0,8132	0,2278	0,3355	0,3886	0,3413	0,4752	0,3747	0,4907
ABCA4	rs560426	1p22.1	C / T	0,2622	0,4676	0,5469	0,5053	0,03739	0,01216	0,7689	0,01835	0,07884	0,1823	0,6444
ABCA4	rs481931	1p22.1	G / T	3,24E-19	0,7802	0,1533	0,02225	0,0007163	0,5282	0,01973	0,3147	1,82E-09	1,99E-06	2,32E-06
HSD11B1	rs4844880	1q32.2	A / T	0,7968	0,1038	0,9594	0,004067	0,3483	0,8844	0,06432	0,9385	0,7231	0,4715	0,737
IRF6	rs2235371	1q32.2	C / T	0,2425	0,506	0,769	0,5892	0,2444	0,5892	0,9415	0,6241	0,2238	0,633	0,6045
IRF6	rs2013162	1q32.2	A / C	0,6518	0,9838	0,2519	0,2609	0,86	0,4489	0,8533	0,4799	0,7949	0,9411	0,1713
IRF6	rs861019	1q32.2	A / G	0,7677	0,2072	0,9768	0,001018	0,2046	0,4209	0,5645	0,6842	0,6391	0,828	0,02864
IRF6	rs2073487	1q32.2	C / T	0,4724	0,8559	0,4977	0,3139	0,4309	0,3656	0,6906	0,734	0,5007	0,5867	0,3684
--------	rs642961	1q32.2	A / G	0,3728	0,1769	0,8591	0,1155	0,146	0,9878	0,4297	0,3543	0,3261	0,834	0,3629
--------	rs658860	1q32.2	C / T	0,4742	0,111	0,8861	0,1295	0,2007	0,9349	0,3352	0,7966	0,3576	0,6051	0,3173
TGFα	rs930655	2p13.3	A / G	0,0903	0,01459	0,6969	0,8688	0,8079	0,8688	0,4874	0,6092	0,1899	0,4518	0,2783
TGFα	rs377122	2p13.3	C / T	0,6058	0,8706	0,03661	0,04811	0,9117	0,3389	0,4284	0,5073	0,4775	0,6579	0,7819
PRSS35	rs10943944	6q14.2	C / T	0,4352	0,3262	0,9367	0,9441	0,459	0,4017	0,4739	0,9022	0,1488	0,4815	0,8294
PRSS35	rs7753918	6q14.2	A / G	0,5053	0,5793	0,1245	0,953	0,8914	0,258	0,9212	0,5844	0,04516	0,9001	0,22

PRSS35	rs9449648	6q14.2	A / G	0,2044	0,121	0,08922	0,8771	0,8227	0,6505	0,2721	0,3176	0,1604	0,8436	0,08853
PRSS35	rs1171114	6q14.2	C / T	0,5076	0,7162	0,6466	0,6126	0,4553	0,1777	0,8326	0,3264	0,4696	0,5313	0,2277
PRSS35	rs512140	6q14.2	A / G	0,2448	0,2834	0,01835	0,337	0,893	0,2379	0,3627	0,4732	0,8869	0,1696	0,7995
----------	rs1171105	6q14.2	T / C	0,1272	0,8356	0,09334	0,9414	0,3965	0,2073	0,3931	0,07886	0,9288	0,4514	0,3944
SNAP91	rs217325	6q14.2	C / G	0,6357	0,7673	0,09815	0,4223	0,923	0,03902	0,5174	0,7641	0,7651	0,6345	0,9263
----------	rs10943957	6q14.2	A / T	0,6082	0,09911	0,2712	0,03705	0,01047	0,2344	0,1609	0,0382	0,9655	0,07394	0,4381
----------	rs1325474	6q14.2	A / G	1,37E-06	0,9469	0,1913	0,08887	0,01683	0,3688	0,0006226	0,2268	0,01228	0,01436	0,1221
CYB5R4	rs6940766	6q14.2	A / G	0,9393	0,1106	0,09352	0,1781	0,1292	0,01239	0,07223	0,01971	0,4774	0,6258	0,4289
---------	rs16903544	8q24.21	C / T	0,731	0,1404	0,7202	0,8218	0,8334	0,1567	0,8572	0,2615	0,3249	0,3298	0,9709
---------	rs987525	8q24.21	A / C	0,07129	0,7509	0,9162	0,328	0,8209	0,7627	0,07234	0,29	0,3207	0,08415	0,8182
MMP3	rs522616	11q22.2	A / G	0,4733	0,8659	0,3146	0,007433	0,07988	0,2268	0,7844	0,5842	0,948	0,482	0,8225
TIMP2	rs8179096	17q25.3	C / T	0,2778	0,5609	0,1342	0,5284	0,6887	0,5284	0,04692	0,3748	0,03909	0,3211	0,382
PVR	rs1058402	19q13.31	A / G	0,818	0,5233	0,5086	0,3103	0,628	0,3103	0,2411	0,9204	0,8569	0,9916	0,7023
PVR	rs35385129	19q13.31	A /C	0,6947	0,5615	0,08635	0,1389	0,6436	0,5712	0,5603	0,9275	0,8015	0,02882	0,4465



Şekil 4-2: DDY-Kontrol grubu allelik analiz grafiği

Minör allel sıklığı ve Hardy Weinberg dengesi etkilenmiş aile bireyleride dahil edilerek hem aile hem de DDY-kontrol grupları için ayrı ayrı incelenmiştir. DDY ve kontrol grubunda minör allel sıklığı sadece 1. kromozom IRF6 geni rs2235371 (V274I) markerında %2-%5 arasında tespit edilirken, diğer bulgular %7-%49 arasında normal bulunmuştur (Tablo 4-27).

HWE analizi sonucunda 6. kromozomdan PRSS335 geni rs10943944 markerı aileler için p=0.00058 genotip 12/39/149, DDY'lı bireyler için p=0.48 genotip=1/3/6, kontrol grubu için p=0.0008 genotip=11/36/143 olarak; aynı kromozom ve gen üzerindeki rs1171114 markerı aileler için p=0.0001 genotip=28/11/30, DDY'lı bireyler için p=1.0 genotip=1/3/3, kontrol grubu için p=0.00004 genotip=28/110/30 olarak saptanmıştır (Tablo 4-28).

Transmission Disequilibrium Test (TDT) sonucunda 8. kromozom rs987525'in DDY oluşumu (p=0.004) ve hipodonti görülme riski (p=0.000275) ile anlamlı derecede ilişkili olduğu bulunmuştur (Tablo 4-29, Şekil 4-3). Hipodonti için 27 çekirdek, 14 daha kalabalık aile gruplarında minör allelin diğer jenerasyonlara 16 kez iletilirken 1 kez iletilemediği (OR=T / U=16 / 1=16); DDY oluşumunda ise 102 aileden 54'ünde minör allelin 48 kez iletilirken, 25 kez iletilemediği (OR=T / U=48 / 25=1.92) sonucuna varılmıştır.

Tablo 4-27: DDY-kontrol grubu minör allel sıklığı (MAF) ve Hardy Weinberg dengesi (HWE) sonuçları

Krom.	Aday Gen	SNP marker	Lokus	Kromozom lokasyonu	Alleller	DDY-Kontrol MAF	DDY-Kontrol HWE
1	---------	rs13041247	1p22.1	39269074	C / T	0,3828	0,1855
1	---------	rs11696257	1p22.1	39270816	C / T	0,3821	0,1792
1	ABCA4	rs560426	1p22.1	94553438	C / T	0,4134	1
1	ABCA4	rs481931	1p22.1	94570016	G / T	0,4949	0,03645
1	HSD11B1	rs4844880	1q32.2	209870916	A / T	0,182	0,8473
1	IRF6	rs2235371	1q32.2	209964080	C / T	0,02295	1
1	IRF6	rs2013162	1q32.2	209968684	A / C	0,3168	0,1447
1	IRF6	rs861019	1q32.2	209975386	A / G	0,4706	0,6463
1	IRF6	rs2073487	1q32.2	209976646	C / T	0,301	0,059
1	--------	rs642961	1q32.2	209989270	A / G	0,1694	1
1	--------	rs658860	1q32.2	209990549	C / T	0,1593	0,8341
2	TGFα	rs930655	2p13.3	70684451	A / G	0,4751	0,01103
2	TGFα	rs377122	2p13.3	70767025	C / T	0,4482	0,002412
6	PRSS35	rs10943944	6q14.2	84211936	C / T	0,172	1
6	PRSS35	rs7753918	6q14.2	84217168	A / G	0,09333	0,7311
6	PRSS35	rs9449648	6q14.2	84223760	A / G	0,1505	1
6	PRSS35	rs1171114	6q14.2	84227646	C / T	0,4927	0,007794
6	PRSS35	rs512140	6q14.2	84230653	A / G	0,3379	0,2968
6	----------	rs1171105	6q14.2	84240865	T / C	0,4059	0,3414
6	SNAP91	rs217325	6q14.2	84350654	C / G	0,3102	0,2039
6	----------	rs10943957	6q14.2	84516524	A / T	0,2839	0,005597
6	----------	rs1325474	6q14.2	84539425	A / G	0,158	0,07607
6	CYB5R4	rs6940766	6q14.2	84615504	A / G	0,08304	0,03419
8	---------	rs16903544	8q24.21	129645234	C / T	0,1455	0,2405
8	---------	rs987525	8q24.21	129946154	A / C	0,2918	0,02697
11	MMP3	rs522616	11q22.2	102715048	A / G	0,2	0,2207
17	TIMP2	rs8179096	17q25.3	76921649	C / T	0,05458	0,005649
19	PVR	rs1058402	19q13.31	45150614	A / G	0,07818	0,7045
19	PVR	rs35385129	19q13.31	45162189	A /C	0,1136	0,576

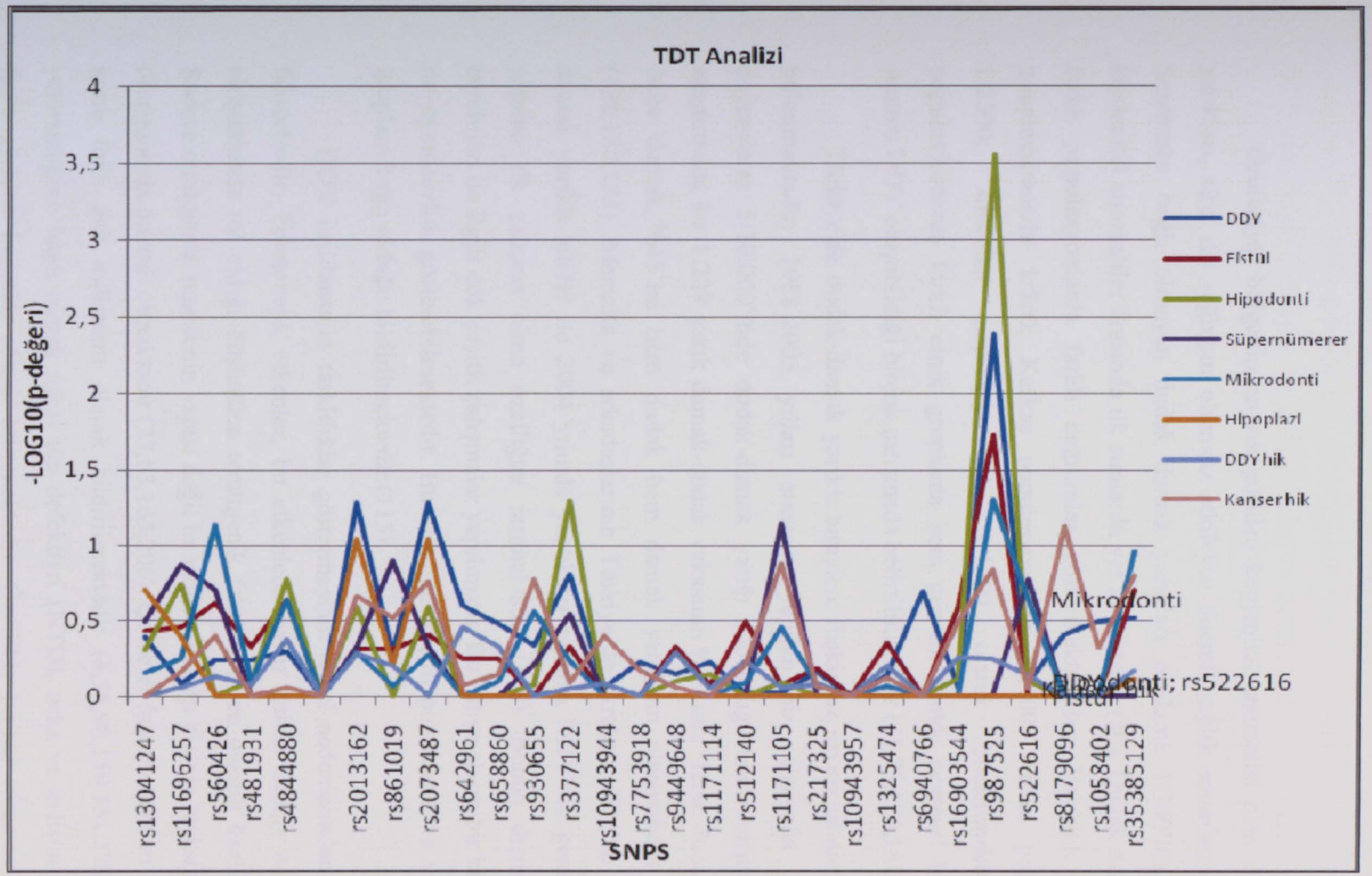
Tablo 4-28: Aile grubu minör allel sıklığı (MAF) ve Hardy Weinberg dengesi (HWE) sonuçları

Krom.	Aday Gen	SNP marker	Lokus	Kromozom lokasyonu	Alleller	Aile MAF	Aile HWE
1	---------	rs13041247	1p22.1	39269074	C / T	0,3699	0,4452
1	---------	rs11696257	1p22.1	39270816	C / T	0,3705	0,537
1	ABCA4	rs560426	1p22.1	94553438	C / T	0,3939	0,531
1	ABCA4	rs481931	1p22.1	94570016	G / T	0,2809	0,7124
1	HSD11B1	rs4844880	1q32.2	209870916	A / T	0,1667	1
1	IRF6	rs2235371	1q32.2	209964080	C / T	0,0198	1
1	IRF6	rs2013162	1q32.2	209968684	A / C	0,33	0,749
1	IRF6	rs861019	1q32.2	209975386	A / G	0,455	0,06404
1	IRF6	rs2073487	1q32.2	209976646	C / T	0,3175	0,747
1	--------	rs642961	1q32.2	209989270	A / G	0,1475	1
1	--------	rs658860	1q32.2	209990549	C / T	0,1475	0,5817
2	TGFα	rs930655	2p13.3	70684451	A / G	0,4721	0,04551
2	TGFα	rs377122	2p13.3	70767025	C / T	0,4611	0,6637
6	PRSS35	rs10943944	6q14.2	84211936	C / T	0,1575	0,00058
6	PRSS35	rs7753918	6q14.2	84217168	A / G	0,08586	0,6391
6	PRSS35	rs9449648	6q14.2	84223760	A / G	0,1477	0,7733
6	PRSS35	rs1171114	6q14.2	84227646	C / T	0,494	0,0001007
6	PRSS35	rs512140	6q14.2	84230653	A / G	0,3468	0,4187
6	----------	rs1171105	6q14.2	84240865	T / C	0,4332	0,3754
6	SNAP91	rs217325	6q14.2	84350654	C / G	0,2807	0,3454
6	----------	rs10943957	6q14.2	84516524	A / T	0,3043	0,1555
6	----------	rs1325474	6q14.2	84539425	A / G	0,2368	0,005275
6	CYB5R4	rs6940766	6q14.2	84615504	A / G	0,1022	0,005171
8	---------	rs16903544	8q24.21	129645234	C / T	0,1308	0,3363
8	---------	rs987525	8q24.21	129946154	A / C	0,2718	0,8566
11	MMP3	rs522616	11q22.2	102715048	A / G	0,1825	0,09968
17	TIMP2	rs8179096	17q25.3	76921649	C / T	0,08791	0,6313
19	PVR	rs1058402	19q13.31	45150614	A / G	0,06818	1
19	PVR	rs35385129	19q13.31	45162189	A /C	0,13	0,7517

Tablo 4-29: Transmission Disequilibrium Test (TDT)

Aday Gen	SNP marker	Lokus	Allel	DDY	Fistül	Hipodonti	Süpernümerer	Mikrodonti	Hipoplazi	DDY hikayesi	Kanser Hikayesi
---------	rs13041247	1p22.1	C / T	0,403448	0,369171	0,491297	0,317311	0,694887	0,196706	1	1
---------	rs11696257	1p22.1	C / T	0,820847	0,347558	0,179713	0,133614	0,563703	0,405381	0,87278	0,68583
ABCA4	rs560426	1p22.1	C / T	0,567938	0,239317	1	0,196706	0,071861		0,738883	0,396144
ABCA4	rs481931	1p22.1	G / T	0,56654	0,466854	0,794761		0,808365		0,84739	1
HSD11B1	rs4844880	1q32.2	A / T	0,500184	0,225253	0,165518		0,225253		0,414216	0,869417
IRF6	rs2235371	1q32.2	C / T								
IRF6	rs2013162	1q32.2	A / C	0,052259	0,4795	0,251349	0,466854	0,512691	0,089555	0,516412	0,216368
IRF6	rs861019	1q32.2	A / G	0,517634	0,4795	1	0,126631	0,852684	0,617075	0,630954	0,296718
IRF6	rs2073487	1q32.2	C / T	0,052259	0,384088	0,251349	0,466854	0,531615	0,089555	1	0,173568
--------	rs642961	1q32.2	A / G	0,248213	0,563703			1		0,345779	0,84739
--------	rs658860	1q32.2	C / T	0,326989	0,563703			0,796253		0,466854	0,715001
TGFα	rs930655	2p13.3	A / G	0,458542	1	0,834827	0,617075	0,275234		1	0,165518
TGFα	rs377122	2p13.3	C / T	0,153952	0,465209	0,04986	0,285049	0,577469		0,881497	0,808365
PRSS35	rs10943944	6q14.2	C / T	0,869417						0,827259	0,393769
PRSS35	rs7753918	6q14.2	A / G	0,590014							0,669815
PRSS35	rs9449648	6q14.2	A / G	0,711673	0,466854	0,796253				0,512691	0,865772
PRSS35	rs1171114	6q14.2	C / T	0,591737	0,841481	0,715001	1	1		0,888638	1
PRSS35	rs512140	6q14.2	A / G	0,951562	0,317311	1		0,808365		0,577469	0,61209

----------	rs1171105	6q14.2	T / C	0,956429	0,84739	0,808365	0,070701	0,345779		0,869417	0,131668
SNAP91	rs217325	6q14.2	C / G	0,68583	0,654721			0,818546		0,841481	0,852684
----------	rs10943957	6q14.2	A / T								
----------	rs1325474	6q14.2	A / G	0,721815	0,438578			0,852684		0,621873	0,745603
CYB5R4	rs6940766	6q14.2	A / G	0,200825							
---------	rs16903544	8q24.21	C / T	0,87278	0,251349	0,763025				0,548506	0,317311
---------	rs987525	8q24.21	A / C	0,004059	0,018603	0,000275		0,049535		0,563703	0,144273
MMP3	rs522616	11q22.2	A / G	0,808365	1	0,796253	0,165518	0,225253		0,723674	0,884376
TIMP2	rs8179096	17q25.3	C / T	0,384266							0,073638
PVR	rs1058402	19q13.31	A / G	0,317311							0,47056
PVR	rs35385129	19q13.31	A /C	0,296718	0,196706			0,10881	0,763025	0,669815	0,157299



Şekil 4-3: Transmisson Disequilibrium Test (TDT) grafiği

5. TARTIŞMA

Orofasiyal bölgenin en sık görülen konjenital anomalisi olan dudak- damak yarıkları, ağız diş sağlığını olumsuz etkileyen önemli sağlık sorunlarından birisidir. Sendroma bağlı olmayan dudak damak yarıkları ortalama 1/700'lük insidansıyla konjenital anomaliler arasında ilk sıralarda yer almaktadır (30). Dudak damak yarıkları farklı populasyonlarda farklı dağılımlar göstermektedirler: Yaklaşık olarak Asya pouplasyonunda 1/500; Kafkas populasyonunda 1/1100; Afrika populasyonunda 1/2500; Amerika populasyonunda 1/1000 olarak bildirilmektedir. Farklı populasyonlarda farklı etnik gruplarda hem genetik hemde çevresel birçok etkinin sonucu DDY oluşabildiği birçok çalışmada belirtilmektedir (45,73,124,181,185).

Türkiye'de dudak-damak yarıklı bireylere ilişkin az sayıda istatistiksel çalışma bulunmaktadır. 1988-2005 yılları arasında yapılan bir çalışmada 17.259 canlı doğumların 5/10.000'inde dudak-damak yarığı saptandığı bildirilmiştir. Başka bir araştırmada ise 1.229 yarık damak-dudak vakasının %19'unu izole dudak, %35.6'sını izole damak, %45'ini hem dudak hem damak yarığının oluşturduğu bildirilmiştir (178,180,181). Marazita ve arkadaşlarının Türkiye'de akraba evliliğine sahip dudak-damak yarıklı aileler ile 2004 yılında yaptıkları çalışma DDY'nin genetiği ile ilgili yapılan ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır (100). Bunun dışında DDY'nin etyolojisi ile ilgili çok çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların bir kısmı birbirleri ile uyumsuzluk gösterebilmektedir. Bu durumun çeşitli populayonlara ve farklı etnik gruplara bağlı olduğu bildirilmektedir (115).

DDY insidansının farklılıklar göstermesinin temel nedenlerinden biri çevresel faktörlerdir. Teratonejik etkenler, bu etkenlere maruz kalma sıklığı ve süresi DDY oluşumunda rol aldığı düşünülen teratojenik faktörlerin en önemli özelliklerindendir. Sadece teratojenik maddenin yapısı değil bu maddeye karşı bireyin reaksiyonu da DDY oluşumunda önemli olmaktadır (23,63,163,206). Çevresel faktörlerden en fazla çalışılan konu folik asit kullanımı olarak bildirilmektedir (4,58,90,150,151,179). Folik asit yetersizliğine bağlı olarak nöral tüp defektleri (NTD), zeka ve gelişim gerilikleri en fazla görülen kusurlar olarak bilinmektedir. Özellikle birinci trimester fetüsün oral yapılarının gelişiminde etkin olduğundan gebeliğin ilk aylarında folik asit veya

multivitamin kullanımı oldukça önemli olmaktadır. Maternal günlük 400 μg folik asit kullanımının NTD insidansını %60'a kadar düşürebileceği (119,164,206), düzenli olarak günlük 200 μg kullanımının da hastalığı tamamen önleyebileceği bildirilmiştir (205,206). ABD'de yapılan bir çalışmada 1993 yılından başlayarak tahılların folik asitle zenginleştirilmesini takip eden 6 yıllık zamanda NTD prevalansının 1,89/1000'den 0,95/1000'e düştüğü gösterilmiştir (176). Ancak yapılan başka bir çalışmada folik asit içeren (<1mg) multivitamin takviyesinin DDY gelişiminin önlenmesinde etkili olmadığı gösterilmiştir (18,19,47). Bu çalışmaların yanında folik asit metabolizmasında rol alan enzimlerin etkinliği ve folik asit takviyelerini karşılaştıran çalışmalar da yapılmıştır (48,57,90,104,117,172,177,185,205).

Yapılan randomize kontrollü bir çalışmada hamilelik öncesinde ve hamilelik süresince yüksek doz (2.5mg) ve düşük doz (1.0mg) folik asit kullanan anne adaylarının çocuklarında DDY oluşma prevalansının yüksek doz kullananlarda düşük doz kullananlara göre daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır (183). Bu durum çoğu çalışmanın aksine folik asit kullanımının belirli dozlarda olması gereğini ileri sürmektedir.

Folik asit kullanımının yanı sıra ileri maternal yaşın (≥35yaş) konjenital anomalilerin oluşumunda önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Abramowicz ve arkadaşlarının (1) yapmış oldukları çalışmada annenin hamilelik yaşı ile DDY arasında bir ilişki bulunmamıştır. Bu çalışmada da, Abramowicz ve ark. yapmış oldukları çalışma ile paralellik göstererek DDY oluşumu ve hamilelelik yaşı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Son dönem çalışmalarında annenin hamilelik yaşının yanı sıra babanın yaşının da DDY oluşumda etkili olabileceği bildirilirken 40 yaş ve üstü çocuk sahibi olmuş babaların çocuklarında da DDY riskinin arttığı bildirilmektedir (114,133).

Sigara ve alkol kullanımı günümüzde birçok sorunun başlıca kaynağı olarak gösterilmektedir. Günümüz verilerine göre gelişmiş ülkelerde kadınların sigara tüketimi %24 olarak bulunurken, her yıl bu oranın %3.4 olarak arttığı bildirilmektedir. Bu verinin yanı sıra yaklaşık 12 milyon kadının hamilelikte sigara kullandığı bilinmektedir. Alkol kullanımı, diyet ve diğer yaşam şekillerinin sigara kullanımı ile birlikte DDY oluşma riskini artırıcı olduğu bildirilmektedir (89,208). Romitti ve arkadaşları 1. trimesterde günde 10'dan fazla sigara kullanımı ile ayda 4 bardaktan fazla alkol tüketiminin DDY oluşma riskini artırdığını bildirmektedirler (136).

Sigaranın oluşturduğu hücresel toksisiteye yönelik çalışmalar giderek yaygınlaşmaktadır. Fetüsün 12. gestasyonel haftaya kadar kraniyofasiyal gelişiminin çoğunu tamamlaması bu dönemin önemini vurgulamaktadır. Annenin hamile iken sigara kullanımının DDY riskini %20 oranında arttırdığı belirtilirken sigara dumanına pasif olarak maruz kalmanın hesaplanamaması nedeni ile bu riskin artmış olabileceği kaynaklarda belirtilmektedir (58). Bu çalışmada da annenin hamilelik öncesi ve hamilelik esnasında sigara kullanmasının dudak-damak yarıklı bireyler ile kontrol grubundaki sağlıklı bireyler açısından karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır. Bu durum sigaranın dudak damak yarığı oluşumda en önemli çevresel faktörlerden biri olabileceğini göstermektedir. Hamilelikte sigara kullanımının ve ayrıca son dönem çalışmalarda belirtildiği üzere birinci trimesterde annelerin pasif içici olduğu durumlarda çocukta DDY oluşma riskini artırdığı pek çok çalışma ile kanıtlanmıştır (64,117,163,203). DDY'nin yanı sıra doğum ağırlığında azalma, doğum boyu, fetal distres ile sigaranın ilişkili olduğu da bazı araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (136).

Günlük hayatta alınana ilave olarak; diyet içeriğindeki alkol tüketiminin DDY oluşumunda, beslenme, sigara ve ilaç kullanma, stresin etkilerinin üzerine artırıcı etki gösterdiği bildirilmektedir. Alkol kullanımının düşük folat, yüksek hemotoksin düzeyi ile ilişkili olduğu dolayısıyla DDY oluşumda rol oynacağı bildirilmektedir (137). Maternal alkol kullanımının en önemli sonucu fetal alkol sendromu olarak bilinmektedir. Günde 5 bardak veya daha fazla alkol alımının DDY oluşumunda önemli bir risk faktörü olduğu bildirilmektedir (1,114). Alkol tüketimi ile DDY oluşumunda pozitif ilişki saptanan çalışmalar bulunduğu gibi (16,17,116,135,136,149), bazı çalışmalarda herhangi bir ilişki bildirilmemiştir (64,109,137).

Bazı yazarlar kanser ve DDY gibi konjenital malformasyonların aynı etyolojik temellere dayandığını savunmaktadırlar. Bu görüşün altında yatan temel, normal gelişimde etkili olan bazı genlerin malign gelişimde de etkili olması olarak yorumlanmaktadır (107). DDY' li bireylerde belli kanser tiplerinin görülme sıklığının, sağlıklı bireylere göre daha fazla olduğu belirtilmektedir. Bille ve ark. dudak-damak yarığı ile doğmuş kız çocuklarında göğüs ve beyin kanseri, erkek çocuklarda akciğer kanseri gelişme riskinin arttığını bildirmişlerdir (17). Menezes ve arkadaşları 2009 yılında yayınladıkları bir raporda sırasıyla kolon kanseri, beyin kanseri, lösemi, göğüs

kanseri, prostat kanseri, deri kanseri, akciğer ve karaciğer kanserinin DDY'li ailelerde görülme riskinin olduğunu bildirmişlerdir (107).

Christensen ve arkadaşları da dudak damak yarıklı bireylerde ve ailelerinde görülen yüksek ölüm oranını psikiyatrik bozukluklara ve diğer bireylere göre kanser olma riskinin fazla olması olasılığına bağlı olabileceğini bildirmişlerdir (30).

Filho ve arkadaşlarının çalışmasında dudak damak yarıklarına neden olan bazı genler ile oral kanserlerin gelişme riskinin arttığı bildirilirken, dudak damak yarıklı bireylerde aile hikayesinde kanser olma sıklığının, dudak damak yarığı görülmeyenlere göre fazla olduğu bildirilmektedir (41). Bu çalışmada da DDY'den etkilenmiş çocukların aile bireylerinde kanser öyküsü olup olmadığı sorgulanmış ve kanser hikayesinin DDY grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla olduğu bulunmuştur. Bu sonuç diğer çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

DDY görülmesinde bazı çalışmalara göre ailede DDY öyküsü bulunanlarda büyük bir risk faktörü olduğu bildirilirken (100), bazı çalışmalar ailede DDY öyküsü ile ilgili anlamlı bir sonuç bildirmemişlerdir (1). Bu çalışmada da ailede DDY öyküsünün olmasının DDY oluşumunda önemli bir etken olduğu sonucuna varılmıştır.

DDY'li çocuklarda dental anomalilerin sıklığının yarık şiddetine göre arttığı bildirilmektedir (129). DDY'li çocuklarda dental anomalilerin sıklığı ile ilgili çok çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Tablo 5-1). Bu durumun dudak, damak ve dişlerin embriyolojik gelişiminde ortak genetik faktörlerin etkili olması ile ilgili olduğu düşünülmektedir (129,195).

Araştırmacılar, DDY'li hastalarda dental anomaliler araştırılırken özellikle yarık alanındaki diş eksikliğinin, o bölgedeki yapıların gelişimsel eksikliğine bağlı olarak oluşabileceğini göz önünde bulundurarak yarık hattı dışındaki dental anomalilerin kayıt olarak tutulması gerektiğini savunmaktadırlar (81,108,129,130). Buna neden olarak araştırmacılar diş eksikliğinin cerrahi tedavi sırasında diş germlerinin etkilenmesine bağlı olabileceğini göstermektedirler (106,160). Bu çalışmada da dental anomalileri incelerken yarık hattı dışında kalan bölgelerden kayıt alınmıştır.

Pedro ve arkadaşlarının 2011 yılında yapmış oldukları bir araştırmada incelenen DDY'li çocuklarda mikrodonti, diş eksikliği, fazla sayıda ve malpozisyonlu dişler gibi anomalilerin kız ve erkeklerde görülme olasılıklarının istatistiksel bir

anlamlılık taşımadığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada DDY'li çocuklarda en sık görülen dental anomalinin diş eksikliği olduğu belirtilmiştir (129). Yarık bölgesinde süpernümerer diş görülmesi sıklıkla süt dişlerinde sürekli dişlere göre fazla görülmüştür. Buna karşılık hipodonti sürekli dişlerde daha sık görülmektedir (130). Menezes ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada üst yan kesici ve küçük azıların dental anomalilerden özellikle etkilenen dişler oldukları belirtilmektedir (108).

Genel populasyonda hipodonti sıklığı %3-10 arasında bildirilirken dudak-damak yarıklı bireylerde yarık hattı dışında kalan bölgede premolar eksikliğinin %18-27.8 arasında bir oranda olduğu belirtilmektedir (160). Bu çalışmada, yarık hattı dışında hipodonti %19.6 olarak bulunmuştur.

Vieira ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada DDY'li bireylerde en sık karşılaşılan dental anomalinin diş eksikliği olduğunu bildirmişler ve küçük azıları takiben 3. büyük azıların eksikliğine sık rastlanıldığını belirtmişlerdir (196).

Letra ve arkadaşları, DDY'li bireylerde kontrol grubuna göre dental anomalilerin varlığını istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulmuşlardır. Özellikle diş eksikliği, mikrodonti, malpozisyon, transpozisyon ve süpernümerer dişler DDY grubunda görülen en önemli dental anomaliler olarak belirtilmektedir (80). Bu çalışmada ise DDY'li çocuklarda dental anomaliler ile ilgili herhangi anlamlı bir sonuca ulaşılamamıştır.

Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda orbikularis oris kasının subepitelyal defektinin izlenmesinde diş anomalilerinin varlığı ya da yokluğunun, yarık fenotipinin genel bir değerlendirmesine dahil edilmesi gerektiği bildirilmektedir (65,80,202).

DDY'da diş formasyonu ve diş sürme zamanları gecikebilmektedir . Pedro ve ark, Letra ve ark, DDY'li çocuklarda dişsel malpozisyonlara ve buna bağlı olarak gömük dişlere sıklıkla rastlandığını bildirmişlerdir. Bu durumun yarık onarımı nedeniyle büyüme gelişmeyi takiben üst arkın yetersiz kalması ile oluştuğu düşünülmektedir (80,129).

Yapılan bir çalışmada yarık alanında çapraz kapanış görülme olasılığının etkilenmemiş alana göre istatistiksel olarak fazla olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada gelişimsel maksiller hipoplazi nedeniyle bu tip hastaların ön çapraz kapanışa geçtikleri ve yaş ile birlikte bu kapanışın sınıf 3 oklüzyona neden olabildiği bildirilmiştir (130).

Galie ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada yarıktan etkilenmiş bölgede sınıf 2 oklüzyon izlemişlerdir. Ancak dudak damak yarıklarının maksillanın sagital iskeletsel gelişimini etkilediğini öne sürerek diş eksiklikleri ve dental malpozisyonlar nedeniyle sınıf 2 veya sınıf 1 oklüzyonun nadirde olsa görülebileceğini belirtmişler ve bu tip hastalarda sıklıkla sınıf 3 maloklüzyonun görüldüğünü savunmuşlardır (45). Bu çalışmada dudak-damak yarığına sahip 158 olgudan 63'ünde 1. sınıf, 11'inde 2. sınıf, 84'ünde 3. sınıf azı kapanışı saptanmıştır. 3. sınıf azı kapanışının kontrol grubundaki bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde fazla olduğu bulunmuştur. Bu durumun yarık hattının meydana geldiği maksiller bölgenin gelişemeyip mandibula gelişiminin daha hızlı gerçekleşmesi nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Olin., DDY'li çocuklarda üst orta kesicilerin bukkal yüzeylerini mine defekti yönünden incelemiş; yarık olan tarafta mine değişikliklerinin fazla olduğunu bulmuştur (122). Pegelow ve arkadaşları, yarık hattındaki kalıcı dişlerde özellikle orta kesicilerde mine opasitesi ve hipoplazisine rastlanma riskini %48.1 olarak vermişlerdir. Bu durumun cerrahi işlem sırasında amelogenezisin gelişimsel ve patolojik bozukluklardan etkilenmesine veya mine maturasyonunun mekanik travmaya maruz kalmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir (130). Bu çalışmada ise hipoplaziye dair anlamlı bir bulgu saptanmamıştır.

DDY'lı çocukların normal çocuklara kıyasla kötü ağız hijyenine bağlı olarak gingival ve periodontal rahatsızlıklara sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (55). Buna karşılık Lucas ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada DDY'li çocuklar ile normal çocuklar arasında plak, gingivitis ve çürük açısından herhangi bir farklılık olmadığı belirtilmiştir (93).

Hazza'a ve arkadaşlarının, 4-12 yaş arası, 98 DDY'li çocuk ve 98 kontrol grubu ile yapmış oldukları çalışmada DDY grubunda dmft 4.28 ve DMFT 4.58; kontrol grubunda dmft 1.66 ve DMFT 2.25 olarak bildirilmiştir (55). Bu çalışmada ise DDY grubunda dmft 1.81, DMFT 2.00; kontrol grubunda dmft 1.35 ve DMFT 1.28 olarak bulunmuştur. Bu durum Hazza'a ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmanın tersine gruplar arasında istatistiksel bir fark olmadığını göstermektedir. DDY'li çocuklarda ağız hijyeninin kötü olmasının çocukların çok küçük yaşlardan itibaren oprerasyonlar geçirmelerine bunun yanısıra bazı kompleks hastalıklar ile mücadele etmelerine, ağızdan solunum nedeniyle dişlerin ve ağız içi dokuların kuru kalmasına, morfolojiye

bağlı olarak fırçalama zorluğuna, oklüzal problemlerden dolayı fonksiyon bozukluğuna ve farklı beslenme ve diyet alışkanlıklarına bağlanabilmektedir (55,93). Ayrıca ailelerin çocuğun diğer medikal ve cerrahi tedavilerine yönelerek ağız bakımına gereken önemi vermemeleri de başka bir sebep olarak bildirilmektedir. Ancak özellikle bu tip hastaların annelerine/bakıcılarına gelişmiş ülkelerde özel hemşireler tarafından beslenme eğitiminin içerisinde ağız hijyeni eğitimi de verildiği bilinmektedir (113,114).

İnsanlarda dudak ve damak gelişiminin moleküler temelleri tam olarak anlaşılamamıştır. Aday genleri belirleme çalışmaları genelde kusurların görüldüğü ailelerde bağlantı analizleri, ilgili gen bölgelerinin belirlenmesi, model organizmalarda knock- out ve fonksiyon analizleri ile model organizmalardaki fenotip değişimlerinin gözlenmesi prensiplerine dayanmaktadır (114,117,190). İkiz çalışmaları, hayvan deneyleri, mutant fare modelleri, insan genom çalışmaları ve polimeraz zincir reaksiyonu gibi gelişen yeni teknikler ile birlikte hastalığın genetik temellerinin aydınlatılmasında hız kazanılmıştır (159).

Genetik bileşenleri belirlemek amacıyla sıklıkla assosiasyon ve linkage çalışmaları yapılmaktadır. Öncelikle klasik Mendel tipi kalıtım özelliği gösteren hastalıklar incelenmeye başlanmış ve bazı gen mutasyonları saptanmıştır. Aday gen araştırmaları farklı populasyonlarda farklı genlerin etkili olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte IRF6 geninin tüm populasyonlarda önemli bir risk faktörü olduğu ortak görüş olarak bildirilmektedir (212).

IRF6 genindeki mutasyonun transkripsiyon faktörü kodlaması ile otozomal dominant hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Bunlardan en yaygın olanı dudak-damak yarıkları ile karakterize Van der Woude sendromu olarak belirtilmektedir. VWS sendromuna sahip çoğu olguda alt dudakta da yarık benzeri girinti bulunduğu bildirilmektedir. Ayrıca dudak-damak yarıklarının oluşumunda sadece bir gen değil birden fazla gen ve çevrenin de etkili olduğu belirtilirken bu sendromda tek bir gende mutasyon görüldüğü bildirilmiştir. Dudak-damak yarıklarının tüm tiplerinde yaklaşık olarak %12 gibi bir oranda IRF6 geninindeki mutasyonların etken olduğu son yıllardaki çalışmalarla saptanmıştır (138).

Jugessur ve arkadaşları, incelemiş olduğu IRF6 genine ait marker rs642961'in sadece dudak yarıkları görülen olgular ile sadece damak yarıkları görülen olgularda karşılaştırıldığında geçiş paterninde ciddi farklılıklar olduğunu belirtmişlerdir (68). Bu

fenotipin izole dudak yarıkları için spesifik bir risk faktörü olduğu genom bağlantı tarama analizleri ile saptanmış ve izole dudak yarığından etkilenmiş bireylere sahip aileler için IRF6 geninin önemli olduğu bildirilmiştir (101). Bu çalışmada rs642961'in herhangi bir çevresel faktör veya DDY oluşumu ile ilişkili olabileceğine dair anlamlı bir sonuca ulaşılmamıştır.

Zucchero ve arkadaşları, IRF6 genindeki rs2235371'in (V274I) DDY oluşumda güçlü etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir (212). Park ve arkadaşları, IRF6 geninin DDY oluşumda önemli bir gen olduğu görüşünü yapmış oldukları çalışmalar ile desteklerken özellikle rs2235371, rs599021, rs2235373 ve rs2013162'nin Çinli populasyonda, rs2294408'in de Koreli trioslarda etken SNP'ler olduğunu belirtmişlerdir (126). Bu çalışmada rs2235371'in yalnızca DDY-kontrol grubunun MAF değerlerinde anlamlı bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

Jia ve arkadaşlarının, yayınladıkları bir çalışmada marker rs861019, rs4844880 ve rs2073485'in DDY oluşma riskini önemli derecede artırdığı bildirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada bu markerlara ait haplotiplerin bazılarının sendroma bağlı DDY oluşumunda diğer haplotiplere göre daha güçlü rol oynadıklarını savunmuşlardır (64). Bu çalışmada kullanılan bütün markerlerin haplotip sonuçları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak ilişkili olabilecek herhangi bir haplotip saptanmamıştır.

Almanya'da yapılan ilk genome boyu assosiasyon çalışması 8. kromozomun 8q24.21 lokusunun DDY oluşumunda major duyarlılık gösterdiğini bildirmiştir. Bu bağlantı daha sonra bağımsız örnekler ile çalışılmış olan Avrupa topluluklarında da rs987525 markerinin önemini ortaya koymuştur (51,120). Grant, Nikopensius, Blanton ve arkadaşları, kromozom 8q24 bölgesinde lokalize rs987525 markerin Avrupa populasyonunda dudak damak yarıklarına neden olan en önemli bölgelerden biri olduğunu bildirmişlerdir (13,18,51,120). Malgold ve ark., ise 8. kromozomdan rs987525'in hem Asya ve hem de Avrupa populasyonu için önemli polimorfizmler olduğunu bildirmişlerdir (98). Bu çalışmada da rs987525'in DDY oluşumunda ve buna bağlı olarak hipodonti görülmesinde anlamlı olduğu görülmüştür.

Mostowska ve ark., Polonya'da yaptıkları çalışmada rs642961 ve rs987525 in DDY oluşumda anlamlı derecede önemli olduğunu belirtmişlerdir (115). rs642961 ve rs987525'in DDY oluşumunda anlamlı bulan diğer çalışmalar, Grant ve ark, Nikopensius ve ark, Blanton ve ark. tarafından da bildirilmiştir (18,19,51,120). Bu

çalışmada rs642961'in anlamlı bir etkiye sahip olmadığı ancak rs987525'in hipodonti oluşumu ile DDY oluşumunda anlamlı etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Dudak damak yarıklarının oluşumunda rol aldığı düşünülüp üzerinde en çok çalışılan genlerden diğeri MSX1 genidir. Bu genin analizini içeren bir çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan bazılarında doğrudan gen dizilemesi (63,66,82,170,184), bazılarında bağlantı analizleri (39,191), bazılarında ise geniş populasyonlar üzerinde SNP analizleri uygulanmıştır (Tablo 5-2) (128,170,179).

DDY oluşumu ve MSX1 geni arasındaki ilişkinin belirlenmesindeki en temel yaklaşım MSX1 geninin dizilenmesidir. Çalışma ve kontrol grupları arasındaki farkların belirlenmesi genin bu malformasyon üzerindeki önemini göstermektedir. Bazı çalışmalarda izole DDY'li bireylerde herhangi bir MSX1 varyasyonu belirlenememiştir (63,190). Bazı çalışmalarda ise farklı varyasyonlar bulunmuş, ancak oran hep %2 civarında kalmıştır (23,117,163).

MSX1 geni üzerinde günümüze kadar bazı SNP'ler ve protein fenotipini değiştiren missens mutasyonlar bulunmuştur (63,110,170,187). Bu mutant profillerden bazıları DDY' ler ile bağlantılı çıkmış ancak aynı genotipler farklı bir populasyonda anomali üzerinde aynı etkiyi göstermemiştir. Bu tip sonuçlar çok etkenli kalıtım kalıbına sahip olan anomaliler için sık rastlanılan bir durumdur. Aynı mutasyon tiplerinin aynı veya farklı populasyonlarda aynı etkiyi göstermemeleri hem kusurun ortaya çıkmasında diğer genlerin de etkili olduğunu göstermekte hem de çevresel faktörlerin önemini artırmaktadır. MSX1 geninin etkileşimde olduğu diğer proteinler de DDY oluşumunda MSX1 geni kadar etkilidir. Bugüne kadar aynı metabolik yolakta yer alan proteinleri ve onların kodlandığı genlerdeki mutasyonları içeren çalışma bulunmamaktadır (23,117). İzole DDY ile MSX1 gen ilişkisini saptamaya yönelik çalışmalar ilk olarak Lidral ve ark. tarafından başlatılmıştır. Sonraki çalışmalar da MSX1 geni ve izole DDY oluşumu ile intron bölgesindeki tekrarların varlığına göre allelik varyasyon analizleri yapılmış ve aralarında ilişkiler bulunmuştur (82).

Hamilelik sırasında sigara ve alkol kullanımı ile MSX1 gen polimorfizmine yönelik çalışmalardan pozitif sonuçlar alındığı bildirilmektedir (135). Romitti ve arkadaşlarının çalışmalarında MSX1, TGFα, TGFβ3'ün sigara kullanımı ile birlikte DDY oluşumda yüksek risk faktörü olduğu bildirilmiştir (137). Bu çalışmalara ek olarak MSX1 mutasyonlarının diş kaybı (184,187), izole yarık damak ve izole DDY

(63) ile ilişkilendirilmesinden sonra gerek izole formlarda gerekse sendromik formlarda DDY oluşumunda MSX1'in önemli bir faktör olduğu belirtilmiştir. Jezewski (63) Filipin populasyonunda, Suzuki (170) Vietnam populasyonunda ve Vieira (190) Filipin populasyonunda yaptıkları çalışmalarda MSX1 geninde missens mutasyonların varlığını saptamışlar ve genin önemini vurgulamışlardır. MSX1 geninin kraniyofasiyal gelişimindeki görevi diğer homeobox proteinlerini regüle etmektir. Bu regülasyon DNA düzeyinde olabileceği gibi protein düzeyinde de olabilmektedir (190).

Jezewski ve arkadaşları, dudak damak yarıklı hastalarda MSX1 geninde yaklaşık olarak %2 gibi bir değerde nokta mutasyonu saptadıklarını bildirmişlerdir (63). MSX1 genindeki mutasyona bağlı olarak oluşan ve dudak damak yarıkları ile karakterize Wolf-Hirschorn sendromu da kromozomal anomaliler içerisinde yaygın olarak yer alan bir sendrom olarak tanımlanmaktadır (56).

Yapılan bir başka çalışmada Kafkas ırkında MSX1 geni ile dudak-damak yarığı ve sadece damak yarığı oluşum riski açısından pozitif ilişki tespit etmişlerken, Filipinliler için negatif ilişki saptamışlardır. Ayni şekilde TGFB3 ile damak yarığı arasında Kafkas ırkında pozitif, Filipinlilerde negatif ilişki bulunduğu bildirilmektedir. Dudak damak yarığına ship Kafkaslı ırkta RARA geni ile pozitif ilişki, sadece damak yarığına sahip Kafkas populasyonunda negatif ilişki bildirilmiştir. BCL3 geni ile sadece damak yarıklı Kafkaslarda negatif, Brezilya populasyonunda dudak-damak yarıkları ile bu gen arasında pozitif ilişki tespit edilmiştir (100).

Günümüzde halen MSX1 geninin rolü net olarak anlaşılamasa da izole DDY oluşumunda tek başına değil, diğer genler ile etkileşerek etki gösterdiği düşünülmektedir (190). İnsanlarda diş eksikliğinde, MSX1 geninin, bir homeobox geni olan PAX9 ve Van Der Woude sendromunun etmeni olarak bilinen IRF6 genleri ile beraber rol oynadığı bildirilmiştir (39,123). Oral yarıklar düşünüldüğünde de MSX1 geninin TGF ailesinin üyeleri ile etkileşime girerek etkili olduğu gözlenmiştir (31,39,66,82). Ancak hücre farklılaşmasını ve proliferasyonunu tetikleme fonksiyonları halen kesinlik kazanmamıştır. Vieira'nın TGFA ile yapılmış tüm çalışmaları incelediği yazısında TGFα'nın bazı çalışmalarda dudak-damak yarığına neden olabilecek mutasyona sahip olduğu bazı çalışmalarda da herhangi bir mutasyona rastlanılmadığını bildirilmiş ve TGFα nın dudak damak yarığı oluşumunda küçük ama önemli bir etkiye sahip genlerden biri olduğu sonucuna varılmıştır (189).

Yine Vieira dudak-damak yarıklarına neden olan aday genler ve gen-gen, gen-çevre ilişkisini inceleyen tüm araştırmaları değerlendirdiği makalesinde MSX1 ve TGFβ3 ile MSX1 ve TGFA, IRF6 ve MSX1 ile IRF6 ve TGFα arasındaki gen-gen etkileşiminin dudak-damak yarıkları riskini arttırdığını belirtmektedir (191).

Lideral ve arkadaşları, yapmış oldukları geniş bir araştırma ile 5 farklı aday gen tanımlamışlardır. Bunlar TGFα, BCL3, DLX2, MSX1, TGFβ3 dır. Dudak ve/veya damak yarıkları ile MSX1 ve TGFβ3 genleri arasında, damak yarıkları ile MSX1 geni arasında anlamlı bağlantı saptamışlardır (82,84,85). Özellikle TGFβ3, hem hayvan çalışmaları hem de bağlantı dengesizliği çalışmaları baz alındığında güçlü bir aday gen olarak bildirilmektedir (22,117,118,181,201,210).

Tanabe, 43 DDY'li Japon hastadan DNA örneği elde etmiş ve bu örnekleri 73 kontrol hastası ile karşılaştırarak TGFβ3'ü de içeren 4 aday gen incelemişlerdir. Sonuçta DDY ve kontrol grupları arasında TGFβ3 geninin değişkenleri için anlamlı bir farklılık gözlemediklerini bildirmişlerdir (173). Diğer yandan son zamanlardaki DDY-kontrol çalışmaları, aile bazlı çalışmalar ve gen araştırmaları yarık gelişiminde TGFβ3 ün etkisini ortaya çıkartmıştır (22,61,77,80,108,192).

Ichikawa ve arkadaşları, dudak -damak yarıklarına neden olduğu düşünülen 7 aday geni Japon populasyonunda incelemişlerdir. Bu genler TGFβ3, DLX3, PAX9, CLPTM1, TBX10, PVRL1, TBX22 dir. 112 çocuk ve aileleri ile 192 kontrol hastası arasında yaptıkları araştırmada DDY-kontrol analizleri ve aile bazlı dengesizlik testi kullanılmıştır. Sonuç olarak TGFβ3 markerlarında dudak-damak yarığı riski oluşturabilecek anlamlılık saptamışlardır (61).

Kantaputra ve arkadaşları, dudak damak yarıkları ile birlikte izlenen ankiloglossinin TBX22 adlı gendeki mutasyon sonucu oluştuğunu saptamışlar aynı zamanda bu genin diş ve dudak gelişiminde önemli rol oynadığını ve TBX22 geninde meydana gelebilecek mutasyon sonucu diş eksikliği ile birlikte dudak-damak yarıklarının görülme sıklığının arttığını bildirmişlerdir (69).

Kromozom 1,2,4,14,16,17,19'dan başka (75,122,139) son dönem çalışmalarda kromozom 6'nın kısa kolunda bazı lokuslarda dudak-damak yarıklarına neden olabilecek aday bölgeler tespit edilmiştir (79,139,142189). Letra ve arkadaşlarının (79), 6. kromozomda inceledikleri rs7553918'in Brezilya populasyonunda, rs10943957'nin Kafkas populasyonunda DDY oluşumunda önemli markerlar olduğu bildirilirken. bu

çalışmada Türk çocuklarında 6. kromozomdan sadece marker rs1325474'ün DDY oluşumu ile ilişkili olduğu diğer markerlerin Letra ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma ile paralellik göstermediği görülmektedir.

Ayrıca birincil damak oluşumunda etkisi olduğu bilinen kromozom 11q23 (MMP1, MMP3, MMP7, MMP8, MMP10, MMP12, MMP20)'ün henüz kanıtlanmış olmasa da DDY oluşumda rol oynadığı ileri sürülmektedir. Özellikle MMP3 geninin DDY oluşumuna en büyük etkiyi yaptığı belirtilmiştir (81). Bu çalışmada MMP3 geninden incelenen marker rs522616'nın DDY oluşumunda herhangi bir anlamlı etkisinin bulunmadığı görülürken, sadece meziodens oluşumunda anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

Dudak-damak yarıklarının genetik risk faktörlerine ilişkin yapılan çalışmalarda iki tip eksiklik saptanmıştır. Bunlardan birincisi hem dudak hem de damak yarıklarının ailesel agregasyon tipi analizleri içinde her iki durumda da, hem bir çok lokustaki artan etki tarafından hem de tek bir lokustaki etkinin hastalığın oluşumunda toplam riske oranı belirlenebilmektedir ve buradaki oran çok azdır. Bu nedenle bu gibi aday lokusları saptamak için gerekli örnek sayıları çok geniş tutulmaktadır ve çalışmalarda bir ilişkiyi saptamanın başarısılızlığı hatalara neden olabilmektedir. İkinci olarak DDY-kontrol çalışmaları etnik olarak farklı gruplardan oluşturulduğunda gerçek olmayan hastalık-marker ilişkisi ile sonuçlanabilmektedir. Yarıklar ve o hastalığa yatkın lokuslar arasındaki ilişkiyi ortaya koyan çalışmalarda bu iki tip hata ortaya çıkabilmektedir. Buna bağlı olarak sigara ve alkol alımı gibi hamilelik döneminde maruz kalınan çevresel etkenlerin yarık oluşumunda tek başına güçlü bir risk faktörü olduğu söylenememekte ancak bu tip çevresel faktörlerin ölçülebilir çalışmalar yapılabilmesi ile gen-çevre etkileşim çalışmalarında kesin sonuçlara varılabilinmektedir (78)

Genom boyu uzatma çalışmalarının kompleks hastalıkların araştırılmasına güçlü bir teknik olduğu son dönem araştırmalarda daha netlik kazanırken, sendromik olmayan DDY oluşumunda bu teknik sayesinde iki önemli duyarlı lokus saptanmıştır. Bunlardan biri MAFB geni üzerindeki rs13041247, diğeri ise ABCA4 genindeki rs560426 bölgeleridir (10). Pan ve ark, yapmış oldukları çalışmada Çin populasyonununda rs560426 markerının sendromik olmayan DDY ile herhangi bir ilişkisi olmadığı sonucuna varılmıştır (124). Bununla birlikte minor allel sıklığı her iki çalışmadada bu marker için yakın değerlerde verilmiştir. Bu çalışmada rs560426 MAF değerleri DDY-

kontrol grubu için 0.4134; aile grubu için 0.3939 olarak saptanmış ve bu değerlerin DDY oluşumunda anlamlı olmadığı görülmüştür. Assosiasyon çalışmaları Avrupa ve Asya topluluklarındaki aile kökenlerinde MAFB ve ABCA4 genlerindeki SNP'lerin ilişkisini saptamışlardır (10). ABCA4 geninin iki önemli markerindan biri olan rs560426'nın Asya populasyonunda Avrupa populasyonuna göre daha güçlü bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (p=0.0003)(37). Gen haritalama çalışmalarında ise 9q22-q33 bağlantı bölgesi ile 9q21 üzerindeki FOXE1 geninin IRF6 ve 8q24.21 ile birlikte üçüncü önemli lokus olduğu ve DDY oluşumda önemli etkitiye sahip olduğu bildirilmiştir (101,112,120).

Malformasyonun etyolojisinin çok etkenli olması bu olgularda tek bir genin değil gen gruplarının analizlerini gerekli kılmaktadır. Aynı zamanda genler ile çevresel faktörlerin etkileşimleri de çok etkenli olan olgular için önemli bir noktayı oluşturmaktadır (159). Genetik ve epidemiyolojik araştırmalar kullanılarak, dudak damak yarıklarının fenotipinin tanımlanması 60 yıl kadar önce yapılmıştır (Fogh-Andersen,1942). Günümüzde bu fenotipe neden olan genlerin ve gizli mutasyonların tespiti daha sık çalışılan bir konu haline gelmiştir. Genetik tanıya ek olarak superior orbikularis oris kasında izlenebilecek gizli defektlerin ultrason ile saptanması ise dudak damak yarığı oluşum riskinin subklinik tanısında önemli bir adım olarak kabul edilmektedir (171,202).

TGFα, TGFβ3 ve MSX1 genlerinin dudak-damak yarıklarına neden olduklarına dair tek başına yapılan çalışmaların yanı sıra gen-çevre etkileşimi gözönüne alınarak annenin hamilelik sırasında sigara ve/veya alkol kullanması da dikkate alınarak yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (78). Gen–çevre etkileşimlerinin değerlendirilmesi henüz başlangıç aşamasındadır. Sigara kullanımının TGFα ve MSX1 üzerindeki rolü bu genleri etkileyen değişken faktörlerden sadece biri olarak kabul edilmektedir (22,83).

TGFα'da mutasyon olması, bununla birlikte annenin hamilelikte sigara kullanmasının damak yarığı oluşma riskini 6-8 kat, dudak ve/veya damak yarığı oluşma riskini ise 2 kat arttırdığı bildirilmiştir. Hamileliğin 1. trimesteri süresince multivitamin alınmamasının ve bebeğin TGFα alleli taşımasının dudak ve/veya damak yarığı oluşma riskini 3-8 kat arası arttırdığı belirtilmektedir (78,84,87,142). Buna karşılık annenin 1. trimesterde alkol kullanmasının bazı araştırmacılar tarafından yarık oluşturma riskini arttırmadığı bazıları tarafından da sigara kullanımı kadar etkili olduğu bildirilmektedir.

Romitti ve arkadaşları, alkol kullanımı ve MSX1 alleleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir etkileşim saptamışlardır ayrıca yaptıkları çalışmanın sonucuna göre hamilelikte günde 10 ve daha fazla sigara kullanımı, ayda 4 ve daha fazla alkol alınmasının yarık riskini arttırdığını bildirmişlerdir (78,194).

Folik asit metobalizma enzimleri noral tüp defektlerinin oluşumunda büyük role sahip olmakla birlikte ilave folik asit kullanımının sendroma bağlı olmayan dudak damak yarıklarının sıklığını azalttığı ileri sürülmektedir (43,95). Buna karşın, TGFα2 geninde folik asit eksikliğine neden olan mutasyon sonucu dudak-damak yarığı oluşma riskinin arttığı bildirilmektedir (23).

Bufalino ve arkadaşlarının, yapmış olduğu çalışmada MTHFR geni rs2274976 markeri ile hamileliliğin erken dönemlerinde vitamin kullanılmamasının DDY oluşma riskini arttırdığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada MTHFR geninde DDY ile ilişkili en önemli bölgenin rs1801133 olduğu belirtilmiştir (21).

Sonuç olarak; çok etkenli hastalıklar, tanı konması ve hastalığın temelinin anlaşılması açısından en karmaşık hastalıklardır. Hastalığın nedeni birden fazla gen grubu ve bu genlerin ekspresyon düzeylerini etkileyen çevresel faktörlerin oluşturduğu düzensizliklerdir. Yapılacak olan çalışmalar ile sadece DDY gibi kusurların değil, diğer çok etkenli hastalıkların da nedenleri anlaşılmaya çalışılacaktır.Türk toplumunu içeren daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Farklı merkezler tarafından yürütülebilecek ortak çalışmalarla toplumumuz hakkında daha fazla bilgiye ulaşabilecektir. Özellikle her toplumda olduğu gibi Türk toplumunda da DDY'li olguların incelenmesinde çevresel faktörlerin ve bundan sonraki araştırmalarla ortaya çıkarılabilecek moleküler etmenlerin göz önünde bulundurulduğu genetik danışma birimlerine gereksinim vardır.

Modern moleküler biyolojideki gelişmeler ve genetik manipülasyonda uygulanan yeni yöntemler sayesinde genom dizilişlerinin bilinmesinin ve mutasyonların genler üzerindeki moleküler karakterizasyonunun saptanmasının orofasiyal kompleksin embriyojenik gelişim ile ilişkisinde rol oynayan genlerin belirlenmesinde önemli olacağı; çevresel faktörlerin ve genlerin bilinmesinin sorumlu genler üzerine yapılacak olan çalışmalarda kolaylık sağlayacağı, özellikle multigenik temeli olan kanser gibi diğer hastalıkların tedavisinde gelecek yıllarda sadece hasta bazında değil aile bazında hastalığın etkisini yok etmek açısından büyük önem taşıdığı düşünülen gen terapileri için önemli bir basamak oluşturacaktır.

Tablo 5-1: DDY'li bireylerde dental anomali sıklığı (174)

İlk yazar	Ülke	Ortalama yaş	DDY grubu sayı	Kontrol grubu sayı	Dental Anomali tipi	Metot	Bulgular
Jordan 1966	ABD	Fetus: 10-40 haftalık DDY-kontrol 3-12 yaş	Fetus 10 Model 105	Fetus 800 Model 87	Süpernümerer dişler, diş eksikliği, kuron morfolojisi bozuklukları	fetus dental model	Anlamlı ilişki
Schroeder 1975	ABD	DDY 11 yaş 12 ay Kontrol 13 yaş 1 ay	56	94	Süpernümerer dişler, diş eksikliği, kuron morfolojisi bozuklukları	dental model, radyografi, medikal ve dental anamnez	Anomali çeşitliliğinde artış
Quezada 1988	Hollanda	DDY 6.5 yaş Kontrol 8.75 yaş	100	38	Süpernümerer dişler, diş eksikliği, kuron morfolojisi bozuklukları	dental model, radyografi, aile anamnezi	Yarık şiddetine bağlı olarak anomalide artış
Dahlof 1989	İsveç	5.5 yaş	49	49	Hipoplazi, hipomineralizasyon, süpernümerer dişler, diş eksiklikleri, çapraşıklık	klinik çalışma, ısırma radyografisi	Hipomineralize ve süpernümerer dişler, çapraşıklıkta artış
Budai 2001	Macaristan	10-12 yaş arası	31	31	Süpernümerer dişler, diş eksikliği	klinik çalışma, radyografi, dental model	En sık konjenital eksik dişler, en az süpernümerer dişler
Ecrens 2001	Belçika	DDY 8 yaş 11 ay Kontrol 9 yaş 10 ay	54	250	Diş eksikliği, asimetrik dental gelişim	panoromik röntgen	Diş eksikliği ve dental asimetride artış
Letra 2007	Brazilya	DDY 17.3 yaş Kontrol 36.8 yaş	500	500	Diş ekikliği, mikrodonti, süpernümerer ve gömük dişler, malpozisyon, malformasyon, transpozisyon	klinik çalışma, radyografi, medikal anamnez	Anlamlı ilişki
Rawasdeh 2009	Ürdün	DDY 13.4 yaş Kontrol 14.6 yaş	100	60	Kuron morfolojisi bozuklukları	dental model	Anlamlı ilişki

Tablo 5-2: DDY'ye neden olan aday genler ve lokusları (98)

Lokus	SNP	Gen
Onaylanmış gen ve lokuslar		
1q32	rs642961	IRF6
8q24	rs987525	-
Tek bir Genom çalışması ile önemli olduğu düşünülen gen ve lokuslar		
1p22	rs560426	ABCA4
		ARHGAP29 (PARG1)
10q25	rs7078160	KIAA1598
		VAX1
		KCNK18
17q22	rs227731	NOG
		C17orf67
		DGKE
20q12	rs13041247	MAFB
Tek bir çalışma ile mutasyon saptanmış ancak kesin olmayan gen ve lokuslar		
1p36	rs742071	PAX7
2p21	rs7590268	ZFP36L2
		THADA
13q31	rs9574565	-
15q14	rs1258763	SCG5
		GREM1
		FMN1
17p13	rs9788972	PIK3R6, PIK3R5
		NTN1

SONUÇLAR

Yaşları 0-18 arasında değişen 158 dudak ve/veya damak yarıklı çocuk (89 erkek, 69 kız) ile sistemik sağlık sorunu bulunmayan aynı yaş ve cinsiyetteki 161 sağlam çocuk (91 erkek, 70 kız) ile anne-baba-DDY'den etkilenen çocuk-kardeş şeklinde çekirdek aile olarak kabul edilen 102 aile toplam 356 birey kendi içinde genetik ve çevresel faktörlere göre değerlendirilmiştir.

158 olgunun 3'ünde sadece dudak yarığı, 10'un da sadece damak yarığı saptanırken; 145 dudak/damak yarıklı çocuğun 58'inde çift taraflı, 64'ünde tek taraflı sol, 23'ünde tek taraflı sağ DDY izlenmiştir.

DDY grubunda 41, kontrol grubunda 32 anne ile baba arasında akraba evliliği olduğu saptanmıştır.

DDY grubundaki annelerin 10'un, kontrol grubundaki annelerin 7'sinin doğum yaşı 35 yaş ve üzerinde olduğu bulunmuştur.

Annenin hamilelik döneminde enfeksiyon geçirme oranı DDY grubunda 45, kontrol grubunda 6 olarak bulunurken; DDY grubundaki 26 annede, kontrol grubundaki 23 annede sistemik hastalık olduğu bulunmuştur. Bu bulgu doğrultusunda annenin hamilelikte ilaç kullanması DDY grubunda kontrol grubuna göre anlamlı deredece yüksek olarak saptanmıştır.

Annenin hamilelik öncesi ve hamilelik süresince sigara kullanmasının DDY grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır.

Ailede kanser ve dudak-damak yarığı hikayesinin dudak/damak yarığı oluşuma etki eden en önemli çevresel belirleyiciler olduğu bulunmuştur. 2. derece belirleyicilerin ise annenin hamilelikte ilaç, sigara kullanması ve hamilelikte enfeksiyon geçirmesi olarak belirlenmiştir.

DDY ve kontrol gruplarının dmf, dmfs değerleri arasında fark bulunmazken, DMF ve DMFS değerleri DDY grubunda anlamlı derecede fazla bulunmuştur.

Dudak/damak yarıklı bireylerde yarık hattının gelişememesine bağlı olarak sınıf 3 maloklüzyona yatkınlık saptanmıştır.

DDY'li bireylerde en sık karşılaşılan dental anomaliler; mikrodonti, hipodonti ve hipoplazi olarak saptanmıştır.

Kromozom 1, ABCA4 geni, marker rs481931'in dudak/damak yarığı oluşumu, süpernümerer dişlerin görülmesi, maloklüzyon oluşumu, ailede dudak damak yarığı ve kanser oluşması riski ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

Kromozom 6, marker rs132547'nin dudak damak yarığı oluşumu ve mikrodonti ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Kromozom 1, IRF6 geni, marker rs2235371'in dudak damak yarığı oluşumu ve hipodonti ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

Kromozom 1, HSD11B1 geni, marker rs4844880; kromozom 1, IRF6 geni, marker rs861019; kromozom 11, MMP3 geni, marker rs522616'nın meziodens oluşumda etkili olduğu bulunmuştur.

Tüm genetik bulgular birbiri ile karşılaştırıldığında rs987525'in TDT analizinde anlamlı bulunurken HWE ve MAF değerlerinde anlamlı çıkmaması ayrıca tüm anlamlı DDY-kontrol bulgularının TDT analizinde anlamlı olmamasının benzer çalışmalara göre farklı bir bulgu olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, DDY oluşumunda genetik faktörlerin önemli bir role sahip olduğu, çevresel faktörlerin tek başına etkili olmadığı, bu iki faktörün birlikte DDY riskini arttırdığı saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Abramowicz S, Cooper ME, Bardi K, Weyant RJ, Marazita ML. Demographic and prenatal factors of patients with cleft lip and cleft palate: A pilot study. *JADA* 2003;**134**(10):1371-6.
2. Akimenko MA, Johnson SL, Westerfield M, Ekker M. Differential induction of four MSX homeobox genes during fin development and regeneration in zebrafish. *Development.* 1995;**121**(2):347-57.
3. Alkuraya FS, Saadi I, Lund JJ, Turbe-Doan A, Morton CC, Maas RL. SUMO1 haploinsufficiency leads to cleft lip and palate. *Science.* 2006;**313**(5794):1751.
4. Arruda VR, Siqueira LH, Goncalves MS, Von Zuben PM, Soares MP, Menezes R. et al. Prevalance of the Mutation C677/T in the Methylene Tetrahydrofolate reductase Gene Among Distinct Ethnic Groups in Brazil. *Am J Med Genet* 1998;**78**(4):332-35.
5. Badovinac RL, Werler MM, Williams PL, Kelsey KT, Hayes C. Folic-Acid Containing Supplement Consumption during Pregnancy and Risk for Oral Clefts: A Meta-Analysis. *Birth Defects Res.* 2007;**79**(1):8-15.
6. Baggott JE, Morgan SL, Ha T, Vaughn WH, Hine RJ. Inhibition of folate dependent enzymes by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Biochemical Journal* 1992;**282**(Pt1):197-202.
7. Bailey SW, Ayling JE. The extremely slow and variable activity of dihydrofolate reductase in human liver and its implications for high folic acid intake. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;**106**(36):15424–29.
8. Beaty TH, Hetmanski JB, Fallin MD, Park JW, Sull JW, McIntosh I. et al. Analysis of candidate genes on chromosome 2 in oral cleft case-parent trios from three populations. *Hum Genet* 2006:**120**(4);501-18.
9. Beaty TH, Hetmanski JB, Zeiger JS, Fan YT, Liang KY, VanderKolk CA. et. al. Testing candidate genes for non-syndromic oral clefts using a case-parent trio design. *Genet Epidemiol.* 2002;**22**(1):1-11.
10. Beaty TH, Murray JC, Marazita ML, Munger RG, Ruczinski I, Hetmanski JB. et. al. A genome-wide association study of cleft lip with and without cleft

palate identifies risk variants near MAFB and ABCA4. *Nat Genet.* 2010;**42**(6):525-9.

11. Belloni E, Muenke M, Roessler E, Traverso G, Siegel-Bartelt J, Frumkin A. et.al. Identification of Sonic hedgehog as a candidate gene responsible for holoprosencephaly. *Nature Genet.* 1996;**14**(3):353-6.

12. Bendall AJ, Abate-Shen C. Roles for Msx and Dlx homeo-proteins in vertebrate development. *Gene.* 2000;**247**(1-2):17-31.

13. Bendall AJ, Ding J, Hu G, Shen MM, Abate-Shen C. MSX1 antagonizes the myogenic activity of PAX3 in migrating limb muscle precursors. *Development.* 1999;**126**(22):4965-76.

14. Bendall AJ, Rincon-Limas DE, Botas J, Abate-Shen C. Protein complex formation between Msx1 and Lhx2 homeoproteins is incompatible with DNA binding activity. *Differentiation.* 1998;**63**(3):151-7.

15. Bender PL. Genetics of cleft lip and palate. *J Pediatr Nurs* 2000;**15**(4):242-9.

16. Bille C, Skytthe A, Vach W, Knudsen LB, Andersen AMN, Murray JC. et.al. Parent's Age and the Risk of Oral Clefts. *Epidemiology.* 2005;**16**(3):311-6.

17. Bille C, Winther JF, Bautz A, Murray JC, Olsen J, Christensen K. Cancer risk in persons with oral cleft- a population-based study of 8,093 cases. *Am J Epidemiol* 2005;**161**(11):1047-55.

18. Blanton SH, Kolle BS, Hecht JT. No evidence supporting MTHFR as a risk factor in the development of familial NSCLP. *Am J Med Genet.* 2000;**92**(5):370–1.

19. Blanton SH, Patel S, Hecht JT, Mulliken JB. MTHFR Is Not a Risk Factor in The Development of Isolated Nonsyndromic Cleft Lip and Palate. *Am J Med Genet.* 2002;**110**(4):404-5.

20. Blin-Wakkach C, Lezot F, Ghoul-Mazgar S, Hotton D, Monteiro S, Teillaud C. et.al. Endogenous MSX1 antisense transcript: *in vivo* and *in vitro* evidences, structure, and potential involvement in skeleton development in mammals. *Proc Natl Acad Sci. U S A* 2001;**98**(13):7336-41.

21. Bufalino A, Paranaiba LMR, Nascimento de Aquino S, Martelli-Junior H, Swerts MSO, Coletta RD. Maternal polymorphisms in Folic Acid Metabolic genes are associated with nonsyndromic cleft lipand/or palate in the Brazilian

population. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* (Part A) 2010;**88**(11):980-6.

22. Carinci F, Pezetti F, Scapoli L, Martinelli M, Carinci P, Tognon M. Genetics of nonyndromic cleft lip and palate: A Review of international studies and data regarding the Italian population. *Cleft Palate Craniofac J* 2000;**37**(1):133-40

23. Carinci F, Scapoli L, Palmieri A, Zollino I, Pezzetti F. Human genetic factors in nonsyndromic cleft lip and palate: An update. *Int J of Pediatr Otorhinolaryngol* 2007;**71**(10):1509-19.

24. Catron KM, Iler N, Abate C. Nucleotides flanking a conserved TAAT core dictate the DNA binding specificity of three murine homeodomain proteins. *Mol Cell Biol.* 1993;**13**(4):2354-65.

25. Catron KM, Wang H, Hu G, Shen MM, Abate-Shen C. Comparison of MSX-1 and MSX-2 suggests a molecular basis for functional redundancy. *Mech Dev.* 1996;**55**(2):185-99.

26. Catron KM, Zhang H, Marshall SC, Inostroza JA, Wilson JM, Abate C. Transcriptional repression by MSX-1 does not require homeodomain DNA-binding sites. *Mol Cell Biol* 1995;**15**(2):861-71.

27. Chen Y, Kostetskii I, Zile MH, Solursh M. Comparative study of MSX-1 expression in early normal and vitamin A-deficient avian embryos. *J Exp Zool* 1995;**272**(4):299-310.

28. Chiang C, Litingtung Y, Lee E, Young KE, Corden JL, Westphal H. et.al. Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking Sonic hedgehog gene function. *Nature.* 1996;**383**(6599):407-13.

29. Chiquet BT, Henry R, Burt A, Mulliken JB, Stal S, Blanton SH. et.al. Nonsyndromic cleft lip an palate: CRISPLD genes and the folate gene pathway connection. *Birth Defects Res. A Clin Mol Teratol.* 2011;**91**(1):44-9.

30. Christensen K, Juel K, Herskind AM, Murray JC. Long term follow up of survival associated with cleft lip and palate birth. *BMJ* 2004;**328**(7453):1405.

31. Christensen K, Olsen J, Norgaard-Pedersen B, Basso O, Støvring H, Milhollin-Johnson L. et.al Cefts, transforming-growthfactor-alpha gene variants, and maternal smoking: a population based case-control study in Denmark, 1991-1994. *Am J Epidemiol* 1999;**149**(3):248–55.

32. Chung KC, Kowalski CP, Kim HM, Buchman SR. Maternal cigarette smoking during pregnancy and the risk of having a child with cleft lip/palate. *Plast Reconstr Surg.* 2000;**105**(2):485–91.

33. Cobourne MT. The complex genetics of cleft lip and palate. *Eur J Orthod* 2004;**26**(1):7-16

34. Curtis EJ, Fraser F, Warburton D. Congenital cleft lip and palate. *Am. J. Dis. Child.* 1961;**102**:853-7.

35. Davidson D. The function and evolution of MSX genes: pointers and paradoxes. *Trends Genet.* 1995;**11**(10):405-11.

36. Davidson DR, Hill RE. Msh-like genes: A family of homeo-box genes with wideranging expression during vertebrate development. *Sem in Dev Biol.* 1991;**2**:405-12.

37. Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet.* 2011;**12**(3):167-78.

38. Dobias SL, Ma L, Wu H, Bell JR, Maxson R. The evolution of MSX gene function: expression and regulation of a sea urchin MSX class homeobox gene. *Mech Dev.* 1997;**61**(1-2):37-48.

39. Feng H, Sassani R, Bartlett SP, Lee A, Hecht JT, Malcom S. ve ark. Evidence, from Family Studies, for Linkage Disequilibrium between TGFA and a Gene for Nonsyndromic Cleft Lip With or Without Cleft Palate. *Am J Hum Genet.* 1994;**55**(5):932-6.

40. Field LL, Ray AK, Cooper ME, Goldstein T, Shaw DF, Marazita ML. Genome scan for loci involved in nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in families from West Bengal, India. *Am J Med Genet.* 2004;**130A**(3):265-71.

41. Filho PAA, Letra A, Cramer A, Prasad JL, Garlet GP, Vieira AR, Ferris RL, Menezes R. Insights from Studies with Oral Cleft Genes Suggest Associations between WNT-pathway Genes and Risk of Oral Cancer. *J Dent Res* 2011;**90**(6):740-6.

42. Fraser FC. The genetics of ceft lip and cleft palate. *Cleft Palate J.* 1989;**26**(3):255-7.

43. Frazier-Bowers SA, Guo DC, Cavender A, Xue L, Evans B, King T et al. A novel mutation in human PAX9 causes molar oligodontia. *J Dent Res* 2002;**81**(2):129-33

44. Fujita H, Nagata M, Ono K, Okubo H, Takagi R. Linkage analysis between BCL3 and nearby genes on 19q13.2 and non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in multigenerational Japanese families. *Oral Dis* 2004;**10**(6):353–9.

45. Galie N, Enache M, Podoleanu L, David D, Podoleanu E, Spinu T. et.al. Evaluation of dental and maxillary development in patients with cleft lip alveolus. *Rom J Morphol Embryol* 2009;**50**(1):91-5.

46. Gaspar DA, Matioli SR, Pavanello RC, Araújo BC, André M, Steman S, et al. Evidence that BCL3 plays a role in the etiology of nonsyndromic oral clefts in Brazilian families. *Genet Epidemiol* 2002;**23**(4):364–374.

47. Gaspar DA, Pavanello RC, Zatz M. Role of the C677T polymorphism at the MTHFR gene on risk to non-syndromic cleft lip with/without cleft palate: results from a case-control study in Brazil. *Am J Med Genet* 1999;**87**(2):197–9.

48. Gaspar DA, Pavanello RC, Zatz M, Passos-Bueno MR, Andre M, Steman S. et.al. Role of the C677T Polymorphism at the MTHFR Gene on Risk to Nonsyndromic Cleft Lip with/without Cleft Palate: Results From a Case-Control Study in Brasil. *Am J Med Genet* 1999;**87**(2):197-9.

49. Girardi A, Martinelli M, Carinci F, Morselli PG, Caramelli E, Scapoli L. No evidence for a role of CRISPLD2 in non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in an Italian population. *Eur J Oral Sci* 2011;**119**(1):102-5.

50. Goh YI, Koren G. Folic acid in pregnancy and fetal outcomes. *J. Obstet. Gynaecol.* 2008;**28**(1):3-13.

51. Grant SFA, Wang K, Zhang H, Glaberson W, Annaiah K, Kim CE. et.al. A Genome Wide Association study identifies a locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate on 8q24. *J Pediatr* 2009;**155**(6):909-13.

52. Gupta V, Bei V. Modification of MSX1 by SUMO-1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006;**345**(1)74-77.

53. Hartsfield JK, Hickman TA, Everett ET. Analysis of the EPHX1 113 polymorphism and GSTM1 homozygous null polymorphism and oral clefting associated with maternal smoking, *Am J Med Genet.* 2001;**102**(1):21–4.

54. Havens JR, Simmons LA, Shannon LM, Hansen WF. Factors associated with substance use during pregnancy: Results from a national sample. *Drug Alcohol Depend.* 2009;**99**(1-3):89-95.

55. Hazza'a AM, Rawashdeh MA, Al-Nimri K, Al-Habashneh R. Dental and oral hygiene status in Jordanian children with cleft lip and palate: acomparison between unilateral and bilateral clefts. *Int J Dent Hyg* 2011;**9**(1):30-6.

56. Heinonen S, Ryynänen M, Kirkinen P. The effects on fetal development of high alpha-fetoprotein and maternal smoking. *Am J Public Health* 1999;**89**(4):561–3.

57. Hernandez –Diaz S, Werler MM, Walker AM, Mitchell A. Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects. *N Engl J Med* 2000;**343**(22):1608-14.

58. Honein MA, Rasmussen SA, Reefhuis J, Romitti PA, Lammer EJ, Sun L. et.al. Maternal smoking and environmental tobacco smoke exposure and the risk of orofacial clefts. *Epidemiol* 2007;**18**(2):226-33.

59. Hovde S, Abate-Shen C, Geiger JH. Crystal structure of the MSX-1 homeodomain/DNA complex. *Biochemistry* 2001;**40**(40):12013-21.

60. Hu G, Vastardis H, Bendhal JA, Wang Z, Logan M, Zhang H et al. Haploinsufficiency of MSX1: A mechanism for selective tooth agenesis. *Mol Cell Biol* 1998;**18**(10):6044-51

61. Ichikawa E, Watanabe A, Nakano Y, Akita S, Hirano A, Kinoshita A et al. PAX9 and TGFB3 are linked to susceptibility to nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in the Japanese: population-based and family-based candidate gene analyses. *J Hum Genet.* 2006;**51**(1):38-46.

62. Jennings E. Folic acid as a cancer-preventing agent. *Med Hypotheses* 1995;**45**(3):297-303.

63. Jezewski PA, Vieira AR, Nishimura C, Ludwig B, Johnson M, O'Brien SE et al. Complete sequencing shows a role for MSX1 in non-syndromic cleft lip and palate. *J Med Genet* 2003;**40**(6):399-407

64. Jia ZL, Li Y, Li L, Wu J, Zhu LY, Yang C, Chen CH, Shi B. Association among IRF6 polymorphism environmental factors and nonsyndromic orofacial clefts in Western China. *DNA Cell Biol* 2009;**28**(5):249-57.

65. Jugessur A, Farlie PG, Kilpatric N. The genetics of isolated orofacial clefts: from genotypes to subphenotypes. *Oral Dis* 2009;**15**(7):437-53.

66. Jugessur A, Lie RT, Wilcox AJ, Murray JC, Taylor JA, Saugstad OD. et.al. Variants of Developmental Genes (TGFA,TGFB3,and MSX1) and Their Association With Orofacial Clefts:A Case-Parent Triad Analysis. *Genet Epidemiol* 2003;**24**(3):230-9.

67. Jugessur A, Shi M, Gjessing HK, Lie RT, Wilcox AJ, Weinberg CR. et.al. Genetic determinants of facial clefting: analysis of 357 candidate genes using two national cleft studies from Scandinavia. *PLoS One*. 2009;**4**(4):e5385.

68. Jugessur A, Shi M, Gjessing HK, Lie RT, Wilcox AJ, Weinberg CR. et.al. Fetal Genetic Risk of Isolated Cleft Lip Only versus Isolated Cleft Lip and Palate: A Subphenotype Analysis using Two Population- Based Studies of Orofacial Clefts in Scandinavia. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2011;**91**(2):85-92

69. Kantaputra PN, Paramee M, Kaewkhampa A, Hoshino A, Lees M, McEntagart M. et.al. Cleft Lip with Cleft Palate, Ankyloglossia and Hypodontia are Associated with TBX22 Mutations. *J Dent Res* 2011;**90**(4):450-5.

70. Kapadia H, Mues G, D'Souza R. Genes affecting tooth morphogenesis. *Orthod Cranifacial Res* 2007;**10**(4):237-44.

71. Kerrigan J, Mansell JP, Sengupta A, Brown N, Sandy JR. Palatogenesis and potential mechanisms for clefting. *J.R.Coll.Surg.Edinb*. 2000;**45**(6):351-8.

72. Kim JW. Novel MSX1 frameshift causes autosomal- dominant oligodontia. *J. Dent. Res*. 2006;**85**(3):267-71.

73. Kim S, Kim JW, Oh C, Kim JC. Cleft lip and palate incidence among the live birts in the republic of Korea. *J Korean Med Sci.* 2002;**17**(1):49-52.

74. Kim YI. Will mandatory folic acid fortification prevent or promote cancer? *Am J Clin Nutr* 2004;**80**(5):1123–8.

75. Koillinen H, Lahermo P, Rautio J, Hukki J, Peyrard-Janvid M, Kere J. A genome-wide scan of non-syndromic cleft palate only (CPO) in Finnish multiplex families. *J. Med. Genet.* 2005;**42**(2):177-84.

76. Koillinen H, Ollikainen V, Rautio J, Hukki J and Kere J. Linkage and linkage disequilibrium searched for between non-syndromic cleft palate and four candidate loci. *J. Med. Genet.* 2003;**40**(6):464-8.

77. Krapels IP, Vermeij-Keers C, Müller M, de Klein A, Steegers-Theunissen RP. Nutrition and genes in the development of orofacial clefting. *Nutr Rev.* 2006;**64**(6):280-8.

78. Lees M. Familial risks of oral clefts. *BMJ* 2008;**336**(7641):396-9.

79. Letra A, Menezes R, Fonseca RF, Govil M, McHenry T, Murphy MJ. et.al. Novel Cleft Susceptibility Genes in Chromosome 6q. *J Dent Res* 2010:**89**(9):927-32.

80. Letra A, Menezes R, Granjeiro JM, Vieira AR. Defining Subphenotypes for oral clefts based on dental development. *J Dent Res* 2007;**86**(10):986-91.

81. Letra A, Silva RA, Menezes R, Astolfi CM, Shinohara A, deSouza AP. et.al. MMP gene polymorphisms as contributors for cleft lip/palate: Association with MMP3 but not MMP1. *Arch Oral Biol* 2007;**52**(10): 954-60

82. Lidral AC. Studies of the candidate genes TGFB2, MSX1, TGFA, and TGFB3 in the etiology of cleft lip and palate in the Philippines. Cleft *Palate Craniofac J.* 1997;**34**(1):1- 6.

83. Lidral AC, Moreno LM. Progress toward discerning the genetics of cleft lip. *Curr Opin Pediatr.* 2005;**17**(6):731-9.

84. Lidral AC, Murray JC. Genetic approaches to identfy disease genes for birth defects with cleft lip/palate as a model. *Birth Defects Res.* 2004;**70**(12):893-901

85. Lidral AC, Murray JC, Buetow KH, Basart AM, Schearer H, Shiang R et al. Studies of the candidate genes TGFB2, MSX1, TGFA, and TGFB3 in the etiology of cleft lip and palate in the Philippines. *Cleft Palate Craniofac J.* 1997;**34**(1):1-6.

86. Lidral AC, Reising BC. The role of MSX1 in human tooth agenesis. *J Dent Res* 2002;**81**(4):274-8.

87. Lidral AC, Romitti PA, Basart AM, Doetschman T, Leysens NJ, Daack-Hirsch S et al. Association of MSX1 and TGFB3 with nonsyndromic clefting in humans. *Am J Hum Genet.* 1998;**63**(2):557-68.

88. Lieff S, Olshan AF, Werler M, Straus RP, Smith J, Mitchell A. Maternal Cigarette Smoking during Pregnancy and Risk of Oral Clefts in Newborns. *Am J Epidemiol* 1999;**150**(7):683-94.

89. Little J, Cardy A, Munger RG. Tobacco smoking and olral clefts: a meta-analysis. *Bull World Health Organ* 2004;**82**(3):213-8.

90. Loffredo LC, Souza JM, Freitas JA. Oral clefts and vitamin supplementation. *Cleft Palate Craniofac J.* 2001;**38**(1):76–83.

91. Lorente C, Cordier S, Goujard J. Tobacco and alcohol use during pregnancy and risk of oral clefts. Occupational Exposure and Congenital Malformation Working Group. *Am J Public Health.* 2000;**90**(3):415–9.

92. Lorenzo D, Yang B, Yang Q. 5,10- Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Variants and Congenital Anomalies: A Huge Review. *Am J of Epidemiol* 2000;**151**(9):862-77.

93. Lucas VS, Gupta R, Ololade O, Gelbier M, Roberts GJ. Dental health indices and caries associated microflora with unilateral cleft lip and palate. *Cleft Palate Craniofacial J* 2000;**37**(5):447-5.

94. Maas R, Bei M. "The Genetic Control of Early Tooth Development". *Crit. Rev.Oral Biol Med* 1997;**8**(1):4-39

95. Maestri NE, Beaty TH, Hetmanski J, Smith EA, McIntosh I, Wyszynski DF. et al. Application of transmission disequilibrium tests to nonsyndromic oral clefts: including candidate genes and environmental exposures in the models. *Am J Med Genet.* 1997;**73**(3):337-44.

96. Malinowski RH. A Qualitative Description of receving a diagnosis of clefting in the prenatal or postnatal period. University of Pitssburgh Graduate School of Public Health 2001

97. Malloy MH, Kleinman JC, Bakewell JM, Schramm WF, Land GH. Maternal smoking during pregnancy: no association with congenital malformations in Missouri 1980 –83. *Am J Public Health* 1989;**79**(9):1243-6.

98. Mangold E, Ludwig KU, Nöthen MM. Breakthroughs in the genetics of orofacial clefting. *Trends Mol Med.* 2011;**17**(12):725-33.

99. Marazita ML, Field LL, Cooper ME, Tobias R, Maher BS, Peanchitlertkajorn S. et al. Nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in China: Assessment of candidate regions. *Cleft Palate-Craniofacial J.* 2002;**39**(2):149-156

100. Marazita ML, Field LL, Tunçbilek G, Cooper ME, Goldstein T, Gürsu KG. Genome Scan for Loci Involved in Cleft Lip with or without Cleft Palate in Consanguineous Families from Turkey. *Am J Med Genet A* 2004;**15**(2):111-22.

101. Marazita ML, Lidral AC, Murray JC, Field LL, Maher BS, Goldstein McHenry T. et al. Genome Scan, Fine Mapping and Candidate Gene Analysis of Non-Syndromic Cleft Lip with or without Cleft Palate Reveals Phenotype-Specific Differences in Linkage and Association Results. *Hum Heredity* 2009;**68**(3):151-170.

102. Marazita ML, Murray JC, Lidral AC, Arcos-Burgos M, Cooper ME, Goldstein T et al. Meta-analysis of 13 genome scans reveals multiple cleft lip/palate genes with novel loci on 9q21 and 2q32-35. *Am J Hum Genet.* 2004;**75**(2):161-73.

103. Martinelli M, Scapoli L, Pezzetti F, Carinci F, Francioso F, Baciliero U. et.al. Linkage analysis of three candidate regions of chromosome 1 in nonsyndromic familial orofacial cleft. *Ann Hum Genet.* 2001;**65**(Pt 5):465–71.

104. Martinelli M, Scapoli L, Pezzetti F, Carinci F, Carinci P, Stabellini G. et.al. C677T Variant Form at the MTHFR Gene and CL/P: A Risk Factor for Mothers. *Am J Med Genet* 2001;**98**(4):357-60.

105. Maxam A, Gibert W. A new method of sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;**74**(2):560-4.

106. Menezes R, Letra A, Ruff J, Granjeiro JM, Vieira AR. Studies of Genes in the FGF Signaling Pathway and Oral Clefts With or Without Dental Anomalies. *Am J Med Genet* 2008;**146A**(12):1614–7.

107. Menezes R, Marazita ML, McHenry TG, Cooper ME, Bardi K, Brandon C. et.al. AXIS inhibition protein 2, orofacial clefts and a family history of cancer. *J Am Dent Assoc* 2009;**140**(1);80-4.

108. Menezes R, Vieira AR. Dental anomalies as part of the cleft spectrum. *Cleft Palate-Craniofacial J* 2008;**45**(4):414-9.

109. Meyer KA, Werler MM, Hayes C, Mitchell AA. Low maternal alcohol consumption during pregnancy and oral clefts in offspring: the Slone Birth Defects Study. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2003;**67**(7):509-14.

110. Mitchell LE, Murray JC, O'Brien S. Evaluation of two putative susceptibility loci for oral clefts in the Danish population. *Am J Epidemiol* 2001;**153**(10):1007–15.

111. Mitchell LE, Risch N. Mode of inheritance of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: A reanalysis. *Am J Hum Genet* 1992;**5**(2):323-32.

112. Modesto A, Moreno LM, Krahn K, King S, Lidral AC. MSX1 and orofacial clefting with and without tooth agenesis. *J Dent Res*. 2006;**85**(6):542-6.

113. Molsted K.. Treatment outcome in cleft lip and palate: Issues and perspectives. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999;**10**(2):225-39.

114. Mossey PA, Little J. Epidemiology of oral clefts: an international perspective. In: Wyszynski DF, ed. Cleft lip & palate: From origins to treatment. New York: Oxford University Press 2002:127-158.

115. Mostowska A, Hozyasz KK, Wojcicki P, Biedziak B, Paradowska P, Jagodzinski PP. Association between genetic variants of reported candidate genes or regions and risk of cleft lip with or without cleft palate in the Polish population. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2010;**88**(7):538-45.

116. Munger RG, Romitti PA, Daack-Hirsch S. Maternal alcohol use and risk of orofacial cleft birth defects. *Teratol* 1996;**54**(1):27–33.

117. Murray JC. Gene/ environment causes of cleft lip and/ or palate. *Clin. Gen.* 2001;**61**(4):248-256.

118. Murray JC and Schutte BC. Cleft palate: players, pathways, and pursuits. *J Clin Invest* 2004;**113**(12):1676-8

119. Natsume N, Kawai T, Ogi N. Maternal risk factors in cleft lip and palate: Case control study. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2000;**38**(1):23–5.

120. Nikopensius T, Kempa I, Ambrozaityte L, Jagomagi T, Saag M, Matuleviciene A. et.al. Variation in FGF1, FOXE1 and TIMP2 genes is associated with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2011;**91**(4):218-25.

121. Nugent P, Greene R. MSX-1 gene expression and regulation in embryonic palatal tissue. *In Vitro Cell Dev Biol. Anim* 1998;**34**(10):831-5.

122. Olin WH. Dental anomalies in celft lip and palate patients. *Angle Orthod* 1964;**34**:119-23.

123. Padanilam BJ, Stadler HS, Mills KA, McLeod LB, Solursh M, Lee B. et.al. Characterization of the human HOX 7 cDNA and identification of polymorphic markers. *Hum Mol Genet* 1992;**1**(6):407-10.

124. Pan Y, Zhang W, Du Y, Tong N, Han Y, Zhang H. et.al. Different roles of two novel susceptibility loci for nonsyndromic orofacial clefts in a Chinese Han population. *Am J Med Genet* 2011;**155**(9):2180-5.

125. Park BY, Sull JW, Park JY, Jee SH, Beaty TH. Differential Parental Transmission of Markers in BCL3 among Korean Cleft Case-parent Trios. *J Prev Med Public Health.* 2009;**42**(1):1–4.

126. Park JW, Mclntosh I, Hetmanski JB, Jabs EW, Vander Kolk CA, Wu-Chou YH. et.al. Association between IRF6 and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in four populations. *Genet Med* 2007;**9**(4):219-27.

127. Park-Wyllie L, Mazotta P, Pastuszak A, Moretti ME, Beique L, Hunnisett L. et.al. Birth Defects After Maternal Exposure to Corrticosteroids:prospective Cohort Study and Meta-Analysis of Epidemiological Studies. *Teratol.* 2000;**62**(6):385-92.

128. Pawlowska E, Janık-Papıs K, Jarosinska M, Szcpzepanska J, Blasiak J. Mutations in the human homeobox MSX1 gene in the congenital lack of permanent teeth. *Tohoku J Exp Med.* 2009;**217**(4):307-12.

129. Pedro RL, Faria MD, Costa MC, Vieira AR. Dental Anomalies in Children Born with Clefts: A Case-Control Study. *Cleft Palate Craniofac J.* 2011;**8:**[Epub ahead of print].

130. Pegelow M, Alqadi N, Linder-Aronson Karsten A. The prevalence of various dental characteristics in the primary and mixed dentition in patients born with non-syndromic unilateral cleft lip with or without cleft palate. *Eur J Orthod.* 2011;**12**:[Epub ahead of print].

131. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 1998;**49**(1):31–62.

132. Riley BM, Mansilla MA, Ma J, Daack-Hirsch S, Maher BS, Raffensperger LM. et.al. Impaired FGF signaling contributes to cleft lip and palate. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;**104**(11):4512-17.

133. Rittler M, Lopez-Camelo J, Castilla EE. Sex ratio and associated risk factors for 50 congenital anomaly types: clues for casual heterogeneity. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2004;**70**(1):13-9.

134. Robitaille J, Hamner C, Cogswell M, Yang Q. Does the MTHFR 677CT variant affect the Recommended Dietary Allowance for folate in the US population? *Am J Clin Nutr.* 2009;**89**(4):1269-73.

135. Romitti PA. Candidate genes for nonsyndromic cleft lip and palate and maternal cigarette smoking and alcohol consumption: evaluation of genotype-environment interactions from a population-based case-control study of orofacial clefts. *Teratol* 1999;**59**(1):39-50.

136. Romitti PA, Lidral AC, Munger RG, Daack-Hirsch S, Burns TL, Murray JC. Candidate genes for nonsyndromic cleft lip and palate and maternal cigarette smoking and alcohol consumption: Evluation of genotype-environment interactions from a population based case-control study of orofacial clefts. *Teratol* 1999;**59**(1):39-50

137. Romitti PA, Sun L, Honein MA, Reefhuis J, Correa A, Rasmussen SA. Maternal Periconceptional Alcohol Consumption and Risk of Oral Clefts. *Am J Epidemiol* 2007;**166**(7):775-85.

138. Rutledge KD, Barger C, Grant JH, Robin NH. IRF6 Mutations in Mixed Isolated Familial Clefting. *Am J Med Genet A* 2010;**152A**(12):3107-9.

139. Safak T, Akyürek M. Cleft Lip and Palate [Dudak Damak Yarıkları] *Turkiye Klinikleri J E.N.T.* 2003;**3**(2):110-23

140. Sanjoaquin MA, Allen N, Couto E, Roddam AW, Key TJ. Folate intake and colorectal cancer risk: A meta-analytical approach. *Int J Cancer* 2005;**113**(5):825.

141. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain- terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;**74**(12):5463-7.

142. Sato F, Natsume N, Machido J, Suzuki S, Kawai T. Association between transforming growth factor beta 3 and cleft lip and/or palate in the Japanese population. *Plast Reconstr Surg.* 2001;**107**(7):1909-10.

143. Satokata I, Maas R. Msx1 deficient mice exhibit cleft palate and abnormalities of craniofacial and tooth development. *Nat Genet.* 1994;**6**(4):348-56.

144. Scapoli L. Strong evidence of linkage disequilibrium between polymorphisms at the IRF6 locus and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate, in an Italian population. *Am. J. Hum. Genet.* 2005;**76**(1):180-3.

145. Scapoli L. Study of the PVRL1 gene in Italian nonsyndromic cleft lip patients with or without cleft palate. *Ann. Hum. Genet.* 2006;**70**(Pt 3):410-3.

146. Scapoli L, Palmieri A, Martinelli M, Vaccari C, Marchesini J, Pezzetti U. et.al. Study of the PVRL1 gene in Italian Nonsyndromic Cleft Lip Patients with or without Cleft Palate. *Ann Hum Genet* 2006;**70**(Pt 3):410-3.

147. Scott E, Woods MD, Raju U. Maternal Smoking and the Risk of Congenital Birth Defects: A Cohort Study. *J Am Board Fam Pract.* 2001;**14**(5):330-4.

148. Sharp L, Little J. Polymorphisms in Genes Involved in Folate Metabolism and Colorectal Neoplasia: A Huge Review. *Am J Epidemiol* 2004;**159**(5):423-43.

149. Shaw GM, Lammer EJ. Maternal periconceptional alcohol consumption and risk for orofacial clefts. *J Pediatr* 1999;**134**(3):298–303.

150. Shaw GM, Lammer EJ, Wasserman CR, O'Malley CD, Tolarova MM. Risks of orofacial clefts in children born to women using multivitamins containing folic acid periconceptionally. *Lancet* 1995;**346**(8972):393-6.

151. Shaw GM, Rozen R, Finnel RH, Todoroff K, Lammer EJ. Infant C677T Mutation in MTHFR, Maternal Periconceptional Vitamin Use and Cleft Lip. *Am J Med Genet* 1998;**80**(3):196-8.

152. Shaw GM, Wasserman CR, Lammer EJ, O'Malley CD, Murray JC, Basart AM et al. Orofacial clefts, parental cigarette smoking, and transforming growth factor-alpha gene variants. *Am J Hum Genet* 1996;**58**(3):551–61.

153. Shaw GM, Wasserman CR, Murray JC, Lammer EJ. Infant TGF- alpha genotype, orofacial clefts, and maternal periconceptional multivitamin use. *Cleft Palate Craniofac J.* 1998;**35**(4):366–70.

154. Shen R, Chen Y, Huang L, Vitale E, Solursh M. Characterization of the human MSX-1 promoter and an enhancer responsible for retinoic acid induction. *Cell Mol Biol Res* 1994;**40**(4): 297-312.

155. Shiang R, Lidral AC, Ardinger HH, Buetow KH, Romitti PA, Munger RG. et.al. Association of Transforming Growth-Factor Alpha gene polymorphisms with Nonsyndromic Cleft Palate Only (CPO). *Am J Hum Genet* 1993;**53**(4):836-43.

156. Shimeld SM, McKay IJ, Sharpe PT. The murine homeobox gene Msx-3 shows highly restricted expression in the deve-loping neural tube. *Mech Dev* 1996;**55**(2):201-10.

157. Sivertsen A, Wilcox AJ, Skajaerven R, Vindenes HA, Abyholm F, Harville E. et al. Familial risk of oral clefts by morphological type and severity: population based cohort study of first degree relatives. *BMJ* 2008;**336**(7641):432-4.

158. Slavkin HC. Molecular biology experimental strategies for craniofacial-oral-dental Dysmorphology. *Connect Tissue Res* 1995;**32**(1):233-9.

159. Slavkin HC. Entering the era of molecular dentistry. *JADA* 1999;**130**(3):413-7.

160. Slayton RL, Williams L, Murray J, Wheeler JJ, Lidral AC, Nishimura CJ. Genetic Association Studies of Cleft Lip and/or Palate With Hypodontia Outside the Cleft Region. *Cleft Palate-Craniofacial J* 2003;**40**(3):274-9.

161. Sözen M, Suzuki K, Tolarova MM, Bustos T, Fernández Iglesias JE, Spritz RA. Mutation of PVRL1 is associated with sporadic, non- syndromic cleft lip/ palate in northern Venezuela. *Nat Genet* 2001;**29**(2):141-2.

162. Spritz RA. The Genetics and Epigenetics of Orofacial Clefts. *Curr Opin Pediatr*. 2001;**13**(6):556-60.

163. Stainer P, Moore GE. Genetics of cleft lip and palate: syndromic genes contribute to the incidance of non- syndromic clefts. *Hum Mol Genet* 2004;**13**(1):R73-R81

164. Stegmann K, Ziegler A, Ngo ET, Kohlschmidt N, Schröter B, Ermert A. et.al. Linkage Disequilibrium of MTHFR Genotypes 677C/T-1298A/C in the German Population and Association Studies in Probands With Neural Tube Defects (NTD). *Am J Med Genet* 1999;**87**(1):23-9.

165. Stelter P, Ulrich H. Control of spontaneous and damage- induced mutagenesis by SUMO and ubiquitin conjugation. *Nature* 2003;**425**(6954):188-91.

166. Stockton DW, Das P, Goldenberg M, D'Souza RN, Patel PI. Mutation of PAX9 is associated with oligodontia. *Nature Genet* 2000;**24**(1):18-29.

167. Su MW, Suzuki HR, Solursh M, Ramirez F. Progressively restricted expression of a new homeobox-containing gene during Xenopus laevis embryogenesis. *Development.* 1991;**111**(4):1179-87.

168. Suazo J, Santos JL, Carreno H, Jara L, Blanco R. Linkage disequilibrium between MSX1 and non-syndromic cleft lip/palate in the Chilean population. *J Dent Res.* 2004;**83**(10):782-5.

169. Suzuki K, Hu D, Bustos T, Zlotogora J, Richieri- Costa A, Helms JA, Spiritz RA. Mutations of PVRL1, encoding a cell- cell adhesion molecule/herpesvirus receptor, in cleft lip/ palate actodermal dysplasia. *Nat Genet* 2000;**25**(4):427-30.

170. Suzuki S. In a Vietnamese population MSX1 variants contribute to cleft lip and palate. *Genet. Med.* 2004;**6**(3):117- 25.

171. Suzuki S, Marazita ML, Cooper ME, Miwa N, Hing A, Jugessur A. et.al. Mutations in BMP4 are associated with subepithelial, microform, and overt cleft lip. *Am J Hum Genet* 2009;**84**(3):406-11.

172. Sylvia A, Zhang AZ, Chen YP. *Msx* homeobox gene family and craniofacial development. *Cell Res* 2003;**13**(6):429-42.

173. Tanabe A, Taketani S, Endo-Ichikawa Y, Tokunaga R, Ogawa Y, Hiramatos M. Analysis of candidate genes responsible for non-syndromic cleft lip and palate in Japanese people. *Clin Science* 2000;**99**(2):105-11.

174. Tannure PN, Oliveira CA, Maia LC, Vieira AR, Granjeiro JM, Costa MC. Prevalence o f dental anomalies in non-syndromic individuals with cleft lip and palate: a systematic review and meta-analysis. *Cleft Palate Craniofac J.* 2011;8:[Epub ahead of print].

175. Tolarova MM. Periconceptional supplementation with vitamins and folic acid to prevent recurrence of cleft lip. *Lancet.* 1982;**2**(8291):217.

176. Tolarova MM, Harris J. Reduced recurrence of orofacial clefts after periconceptional supplementation with high-dose folic acid and multivitamins. *Teratol* 1995;**51**(2):71-8.

177. Tolarova MM, Van Rooij AM, Pastor M, Van Der Put MJ, Goldberg AC, Capozzi A. et.al. A common mutation in the MTHFR gene is a risk factor for nonsyndromic cleft lip and palate anomalies. *Am J Hum Genet* 1998;**63**:A27.

178. Tomatir AG, Demirhan H, Sorkun HC, Köksal A, Ozerdem F, Cilengir N. Major congenital anomalies: A five year retrospective regional study in Turkey. *Genet Mol Res* 2009;**8**(1):19-27.

179. Tongkobpetch S, Siriwan P, Shotelersuk V. MSX1 mutations contribute to nonsyndromic cleft lip in a Thai population. *J. Hum Genet* 2006;**51**(8):671-6.

180. Tunçbilek E. Türkiye'deki yüksek nöral tüp defekti sıklığı ve önlemek için yapılabilecekler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Derg.* 2004;**47**:79-84.

181. Tunçbilek E, Özgür F, Balcı S. Yarık dudak ve damak hastasında görülen ek malformasyon ve sendromlar. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Derg.* 2004;**47**:172-6.

182. Turecková J, Sahlberg C, Aberg T, Ruch JV, Thesleff I, Peterkova R. Comparison of expression of the MSX-1, MSX-2, BMP-2 and BMP-4 genes in the mouse upper diastemal and molar tooth primordia. *Int J Dev Biol.* 1995;**39**(3):459-68.

183. Ulrich M, Kristoffersen K, Rolschau J, Grinsted P, Schaumburg E, Foged N. The Influence of folic acid supplement on the outcome of pregnancies in the country of Funen in Denmark, part II: congenital anomalies-a randomised study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999;**87**:111-3.

184. Van den Boogaard MJ. MSX1 mutation is associated with orofacial clefting and tooth agenesis in humans. *Nat Genet.* 2000;**24**(4):342-3.

185. Van Rooj IA, Vermeij-Keers C, Kluijtmans LJ, Ocke MC, Zielhuis GA, Goorhuis-Brouwer SM. et.al. Does the Interaction between Maternal Folate Intake and the Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphisms Affect the Risk of Cleft Lip with or without Cleft Palate? *Am J Epidemiol* 2003;**157**(7):583-591.

186. Van Rooj IA, Wegerif MJ, Roelofs HM. Smoking, genetic polymorphisms in biotransformation enzymes, and nonsyndromic oral clefting: a gene–environment interaction. *Epidemiol* 2001;**12**(5):502–7.

187. Vastardis H. A human MSX1 homeodomain missense mutation causes selective tooth Agenesis. *Nat. Genet.* 1996;**13**(4):417-421.

188. Vastardis H. The genetics of human tooth agenesis. New discoveries for understanding dental anomalies. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 2000;**117**(6):650-6

189. Vieira AR. Association between the Transforming Growth Factor alpha gene and nonseyndromic oral clefts: A huge review. *Am J Epidemiol* 2006;**163**(9):790-810

190. Viera A.R. Medical sequencing for candidate genes for nonsyndromic cleft lip and Palate. *PLoS Genet* 2005;**1**(6):e64.

191. Vieira A.R. MSX1 and TGFB3 contribute to clefting in South America. *J. Dent. Res.* 2003;**82**(4):289-292.

192. Vieira AR. Oral Clefts and Syndromic Forms of tooth agenesis as models. *J Dent Res* 2003;**82**(3):162-5

193. Vieira A.R. Unraveling Human Cleft Lip and Palate Research. *J Dent Res* 2008;**87**(2):119-125.

194. Vieira AR, Avila JR, Daack-Hirsch S, Dragan E, Félix TM, Rahimov F et al. Medical sequencing of candidate genes for nonsyndromic cleft lip and palate. *PLoS Genet.* 2005;**1**(6):64-5.

195. Vieira AR, McHenry TG, Daack-Hirsch S, Murray JC, Marazita ML. A genome wide linkage scan for cleft lip and palate and dental anomalies. *Am J Med Genet* 2008;**146**(11):1406-13.

196. Vieira AR, McHenry TG, Daack-Hirsch S, Murray JC, Marazita ML. Candidate gene/loci studies in cleft lip/palate and dental anomalies finds novel susceptibility genes for clefts. *Genet Med* 2008;**10**(9):668-74.

197. Vieira AR, Modesto A, Meira R, Barbosa AS, Lidral AC, Murray JC. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) and fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) contribute to human tooth agenesis. *Am J Med Genet A* 2007;**143**(6):538-45.

198. Vieira AR, Orioli IM. Candidate genes for nonsyndromic cleft lip and palate. *ASDC J Dent Child.* 2001;**68**(4):272-9.

199. Vieira AR, Orioli IM, Castilla EE, Cooper ME, Marazita ML, Murray JC. MSX1 and TGFB3 contribute to clefting in South America. *J Dent Res* 2003;**82**(4):289-92.

200. Vieira AR, Romitti PA, Orioli IM, Castilla EE. Complex segregation analysis of 1,792 cleft lip and palate families in South America: 1967-1997. *Pesqui Odontol Bras* 2003;**17**(2):161-5.

201. Vintiner GM, Lo KK, Holder SE, Winter RM, Malcolm S. Exclusion of candidate genes from a role in cleft lip with or without cleft palate: Linkage and association studies. *J Med Genet* 1993;**30**(9):773-8.

202. Weinberg SM, Neiswanger K, Martin RA, Mooney MP, Kane AA, Wenger SL. et.al. The Pittsburgh Oral-Facial Cleft study: expanding the cleft phenotype. Background and justification. *Cleft Palate Craniofac J.* 2006;**43**(1):7-20.

203. Werler M, Lammer EJ, Rosenberg L, Mitchell AA. Maternal cigarette smoking during pregnancy in relation to oral clefts. *Am J Epidemiol* 1990;**132**(5):926–32.

204. Wilcox AJ, Lie RT, Solvoll K, Taylor J, McConnaughey DR, Abyholm F. et.al. Folic acid supplements and risk of facial clefts: National population based case-control study. *BMJ* 2007;**334**(7591):464.

205. Wong FK, Hagg U. An update on the aetiology of orofacial clefts. *Hong Kong Med J* 2004;**10**(5):331-6.

206. Wyszynski DF, Beaty TH. Review of the role of potential teratogens in the origin of human nonsyndromic oral clefts. *Teratol* 1996;**53**(5):305-17.

207. Wyszynski DF, Diehl SR. Infant C677T mutation in MTHFR, maternal periconceptional vitamin use, and risk of nonsyndromic cleft lip. *Am J Med Genet* 2000;**92**(1):79–80.

208. Wyszynski DF, Duffy DL, Beaty TH. Maternal cigarette smoking and oral clefts: A meta-analysis. *Cleft Palate Craniofac J* 1997;**34**(3):206–10.

209. Xuan K, Jin F, Liu YL, Yuan LT, Wen LY, Yang FS. et.al. Identification of a novel missense mutation of MSX1 gene in Chinese family with autosomal-dominant oligodontia. *Arch Oral Biol.* 2008;**53**(8):773-9.

210. Zhang H, Hu G, Wang H, Sciavolino P, Iler N, Shen MM. et.al. Heterodimerization of Msx and Dlx homeoproteins results in functional antagonism. *Mol Cell Biol* 1997;**17**(5):2920-32.

211. Zhang Z, Song Y, Zhao X, Zhang X, Fermin C, Chen Y. Rescue of cleft palate in MSX1-deficient mice by transgenic Bmp4 reveals a network of

BMP and Shh signaling in the regulation of mammalian palatogenesis. *Development.* 2002;**129**(17):4135-46.

212. Zucchero TM, Cooper ME, Maher BS, Daack-Hirsch S, Nepomuceno B, Ribeiro L. et.al. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) gene variants and the risk of isolated cleft lip and palate. *N Engl J Med* 2004;**351**(8):769-80.

FORMLAR

EK 1: Gönüllü Bilgilendirilmiş Onam Formu

Araştırma Yürütücüsü: Prof. Dr. Figen Seymen
Yardımcı Araştırıcı: Mine Yıldırım
Araştırma Adı: Türk Çocuklarında Dudak Damak Yarıklarına Neden Olan Aday Genlerin Araştırılması

Sizin ve çocuğunuzun İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi tarafından yürütülen bu çalışmaya katılmasını arzu ediyoruz. Aşağıda bu çalışmalar ile ilgili bazı bilgiler bulacaksınız. Bu bilgiler çocuğunuzun çalışmaya katılmasının kolaylaştırılması ve öneminin anlaşılabilmesi için hazırlanmıştır. Bu çalışmada, dudak damak yarıklarına neden olan genetik faktörlerin araştırılması ve klinik bulgularının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.
Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirilmektedir.

1. Gerçekleştirilecek İşlemler

Çocuğunuzun bu çalışmaya katılması halinde mevcut dişsel rahatsızlık ile ilgili her türlü dişhekimliği muayeneleri yapılacaktır. Dişler konumları, şekil ve boyutları, çürük var olup olmaması gibi özellikleri açısından incelenecek ve tükürük örneği vermesi istenecektir. Tükürük örneği verme işlemi: 25 ml'lik dereceli tükürük kaplarına 5 dakika süre ile tükürme şeklinde olacaktır. Ayrıca anamnez bilgileri alınırken size ve çocuğunuza bazı sözlü sorular sorulacaktır. Bu çalışmaya çocuğunuzun katılıp katılmaması tamamen sizin kendi iradeniz ile vereceğiniz karara bağlıdır.
Alınan tükürük örneklerinin DNA analizleri Pittsburgh Üniversitesi Oral Biyoloji Bölümü'nde gerçekleştirilecektir. Örnekler, çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için Pittsburgh Üniversitesi Oral Biyoloji Bölümü'ne götürülecek ve çalışma tamamlandıktan sonra İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'na geri getirilecektir.
Tükürük örneklerinin DNA ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilecektir. DNA ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra her bir örnek içerisindeki DNA hacmi belirlenecektir. Standart hacimde DNA içeren örnekler, çalışılacak olan genlere uygun olan primerler uygulandıktan sonra PCR'da incelenecektir.

2. Katılımın Süresi

Bu çalışmaya katılmaya karar verirseniz işlemler yaklaşık olarak 15 dakika civarında sürecektir.

3. Potansiyel Risk ve Sorunlar

Bu çalışmada kullanılan klinik muayene yöntemleri rutin dişhekimliği muayene yöntemleri ile aynıdır.

4. Hastaların Olası Yararları

Tüm klinik muayene işlemleri ve tükürük testleri ücretsiz olarak gerçekleştirilecektir ve bulgular size iletilecektir. Mevcut rahatsızlıkla ilgili olarak yapılması gereken tedaviler konusunda bilgi verilecektir. Gereken tedaviler randevu düzenine uyarak gerçekleştirilecektir.

5. Alternatif Tedavi Yöntemleri

Tükürük örneği alınması esnasında karşılaşılabilecek herhangi bir olumsuz durum karşısında ve dişsel tedavi ihtiyaçlarınız için dişhekiminiz ve fakültemizin ilgili klinikleri size yardımcı olacaktır. Çalışma esnasında deneklerden bir defaya mahsus olmak üzere uyarılmamış tükürük örneği alınacağından çalışmanın herhangi bir riskinin söz konusu olmayacağı düşünülmektedir.

6. Gizlilik

Bu konudaki tüm kayıtlar gizli tutulacaktır. Çocuğunuzun herhangi bir yayında isimle veya benzeri şekilde anılmayacaksınız. Her örneğe verilecek bir kod numarası olacaktır. Bu kod numaraları ve isimler tarafımızdan saklanacaktır.

7. Kurumumuzun Sorumluluk Sınırları

Herhangi bir fiziksel yaralanma oluşmaması için gereken her türlü özen ve hassasiyet gösterilecektir. Muayene işlemleri tükürük örneği alma esnasında oluşacak herhangi bir fiziksel travmadan dolayı kurumumuz sorumluluk kabul etmemektedir. Fakat oluşacak zararlar konusunda yardımcı olmak için elimizden gelen gayret gösterilecektir.

8. Çalışmadan Çıkmak

Çocuğunuz istediğiniz takdirde çalışma kapsamı dışında kalabilirsiniz. Çalışma kapsamı dışında kalmanız Dişhekimliği Fakültesinin tedavi hizmetlerinden yararlanmanızı etkilemeyecektir.

9. Sorularınız

Sizin ve çocuğunuzun çalışma ile ilgili sorularınız en kısa sürede yanıtlanacaktır. Sorularınızı doğrudan Prof. Dr. Figen Seymen'e ve Dt. Mine Yıldırım'a (05327746488) sorabileceğiniz gibi gerekirse 0-212-414 20 20 - 30283 no'lu telefonu da kullanabilirsiniz.

Bu proje İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Etik Kurul komitesi tarafından incelenmiş ve onaylanmıştır. Bu proje ile ilgili sorularınız gerekirse önceden telefon ile randevu alarak komiteye de yöneltebilirsiniz.

Onay:

Yukarıda yazılı bilgileri okudum. İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesinin bu araştırma projesine özgürce ve herhangi bir baskı altında kalmadan gönüllü olarak katılmak istiyorum.

Projeye katılan kişinin İmzası

Adı-Soyadı, Yaşı, Cinsiyeti

Araştırmacının imzası Tarih

EK 2: Dudak- Damak Yarığı Anamnez Formu

Ad-Soyad: **Kod no:** **Tarih:**

Yaşı: **Cinsiyeti:**

Adres-Telefon:

DDY tipi:

Oronasal fistül: **var** **yok**

Panoramik radyografi **var** **yok**

Dental anomaliler:	***Yok***	***Var/ Diş numarası***
Konjenital eksik dişler:		
Sürnümerer:		
Meziodens:		
Makrodont:		
Mikrodont:		
Füzyon:		
Geminasyon:		
Hipoplazi:		
Mineralizasyon defekti:		
Erozyon:		
Amelogenezis İmperfeka:		
Dentinogenezis İmperfekta:		
Dentin Displazisi:		
Maloklüzyon tipi:		
DMF, DMFs, df, dfs		

EK 3: Dudak – Damak Yarığı Etyoloji Formu

1. Vakada sistemik hastalık var mı?

☐ **Evet** ☐ **Hayır**

1.1 Evet ise hastalık ismi? .....

2. Ailede akraba evliliği var mı?

☐ **Evet** ☐ **Hayır**

2.1Evet ise yakınlık derecesi? .....

3.Ailede Dudak damak yarığı var mı?

☐ **Evet** ☐ **Hayır**

3.1Var ise Yakınlığı ve yarık tipi?.....

4. Annenin hamilelik yaşı.....

5.Annede sistemik hastalık var mı?

☐ **Evet** ☐ **Hayır**

5.1Evet ise hastalık ismi?.....

6.Anne sigara kullanıyor mu?

☐ **Evet** ☐ **Hayır**

6.1Evet ise Günde/Haftada kaç adet kullanıyor?.....

7. Anne hamilelikte sigara içti mi?

☐ **Evet** ☐ **Hayır**

7.1Evet ise Günde/Haftada kaç adet?.....

8.Anne hamilelik döneminde bulaşıcı, ateşli hastalık geçirdi mi?

☐ **Evet** ☐ **Hayır**

9.Hamilelik döneminde herhangi bir ilaç kullanımı oldu mu?

☐ **Evet** ☐ **Hayır**

10.Ailede kanser hikayesi var mı?

☐ **Evet** ☐ **Hayır**

10.1Evet ise hangi tip ve yakınlık derecesi?.....

EK 4: Referans Mektupları

University of Pittsburgh

School of Dental Medicine
Department of Oral Biology

Suite 500
Cellomics Building/Bridgeside Point
100 Technology Drive
Pittsburgh, PA 15219
412-648-8381
Fax: 412-648-8779

January 14, 2009

TO: WHOM IT MAY CONCERN

FROM: Dr. Alexandre R. Vieira

SUBJECT: Collaboration on the project "Candidate genes investigation of clefts in Turkish children"

Dear Sir or Madame:

This letter is to express my support to the above stated project that will be conducted by Drs. Figen Seymen and Mine Yıldırım. As part of our collaborative effort, I will provide kits for saliva collection and cover all the costs with shipment of specimens. I will also support the genetic experiments and data analysis.

Please do not hesitate in contacting me in case you need further information.

My best regards,

Alexandre R. Vieira, DDS, MS, PhD
Assistant Professor and Director of Clinical Research
614 Salk Hall
Department of Oral Biology
Center for Craniofacial and Dental Genetics
Department of Pediatric Dentistry
School of Dental Medicine
Department of Human Genetics
Graduate School of Public Health
Clinical and Translational Science Institute
University of Pittsburgh
3501 Terrace Street
Pittsburgh, PA 15261
Phone (412) 383-8972
FAX (412) 624-3080
E-mail: arv11@pitt.edu
http://www.dental.pitt.edu/vieira_lab/index.php

University of Pittsburgh
School of Dental Medicine

614 Salk Hall
3501Terace Street
Pittsburgh, PA 15261

February 17, 2010

Subject: Dr. Mine Yildirim Short Term Experience at the Vieira Lab

TO WHOM IT MAY CONCERN:

This letter describes Dr. Yildirim's activities in my laboratory between December 2009 and February 2010. My laboratory aims to identify genetic variation that contributes to craniofacial defects and oral conditions, with particular emphasis on the genetics of cleft lip and palate. We use the unique approach of analyzing the data using dental development to subphenotype the common multifactorial clefts to create new opportunities of gene identification for this condition. Dr. Yildirim worked with samples from a population from Istanbul, which she recruited for her studies. Dr. Yildirim has performed DNA extractions, organized all her samples and data, has performed polymerase chain reactions, has learned how to interpret these experiments, and has learned how to analyze and interpret the results from both family-based and case-control studies.

Dr. Yildirim has mastered the genotyping approach using TaqMan chemistry and end-point analysis, as well as the use of the statistical analysis package FBAT (Family-Based Association Test). She learned the basic concepts underlying the transmission disequilibrium test and was exposed to the process of planning human genetics studies.

Dr. Yildirim is extremely hard working with an incredible work ethic. The quality of her data is a demonstration of her attention to detail. Her amenable personality allows her to interact well with everyone. Although not being here for too long, she was well liked by everyone and considered part of the group and will certainly be missed.

In summary, Dr. Yildirim is highly professional, and an exceptional individual. It was my privilege to have her in my laboratory and I appreciate the opportunity given to me by the Department of Pedodontics, Istanbul University and the TUBITAK agency that allowed me to host Dr. Yildirim.

Please do not hesitate in contacting me if you need further clarification.

My best regards,

Alexandre R. Vieira, DDS, MS, PhD
Assistant Professor and Director of Clinical Research
Department of Oral Biology and Center for Dental and Craniofacial Genetics
614 Salk Hall
School of Dental Medicine
University of Pittsburgh
3501 Terrace Street
Pittsburgh, PA 15261
Phone # 412 383-8972
FAX # 412 624-3080
Email:arv11@pitt.edu

EK 5: Genetik Sözlük

Aday Gen: Hastalık genlerinin haritalanmasında hastalığı oluşturabileceğine dair ipuçları veren genler

Allel: Genlerin belli bir lokusta yer alan alternatif kopyalarından biri. Bir birey bir bölgede iki farklı allele sahiptir. Eğer bir toplulukta bir özel gen çok farklı allellere sahipse gen veya bölge için polimorfik olduğu söylenir.

Amplifikasyon: Moleküler biyolojide bir DNA dizisinin kopyalarının üretilmesi

Apoptozis: Mitokondri parçalanması ve kromozom yıkımı ile karakterize programlı hücre ölümü

Assosiasyon: Etkilenmiş kişilerde genel toplumdaki frekansa kıyasla belli bir allelin bulunma sıklığının önemli bir ölçüde artması veya azalması

Bağlantı analizi (linkage): ebeveyn ve çocukların genotip ve fenotiplerinin incelenerek iki veya daha çok sayıda lokusun bağımsız olarak dağıldığının veya mayoz sırasında bağlantılı kaldığının kanıtlanması için kullanılan istatistiksel metod

Bağlantı dengezisliği (linkage disequilibrium): Şansa bağlı olmaktan daha yüksek bir oranda belli allellerin birlikte hareket etmesi

Baz çifti: Çift iplikli DNA'da komplementer nükleotid çifti

Case-Parent Trios: Etkilenmiş olgu ile anne ve babasını içine alan üçlü grup

Delesyon: Bir kromozomdan DNA dizisinin yok olması

Denatürasyon: DNA'nın çift iplikli durumdan tek iplikli duruma geçmesi

Determinasyon: Gelişim sırasında, hücrenin embriyonun farklı bir yerine transplante edilse bile kendi gelişim programını takip etmesi

Diploid: Bir organizmada herhangi iki eş kromozomdan birinde var olan bir gen veya DNA dizisinin alternatif formu

DNA: Canlı organizmaların yapı ve fonksiyonlarından sorumlu genleri kodlayan ve genetik bilginin kuşaktan kuşağa aktarılmasını sağlayan molekül

DNA Dizi Analizi: DNA dizi analizi ya da "sequencing" DNA'nın nükleotid dizisinin saptanması anlamına gelmektedir. Bu işlem bazı aşamalardan oluşmaktadır. Öncelikle DNA'nın restriksiyon enzimleriyle parçalanmaları gerekmektedir. Sonra Klonlama aşaması gelmektedir. Bu aşamada DNA 2-200 kb'lık diziler halinde çoğaltılır. Daha sonra fluoresan maddeler ve jelelektroforezi kullanılarak DNA dizisinin okunmasını

sağlayan Dizileme aşaması gelmektedir. En son olarakta bu dizilerin bilgisayarda bir araya getirilmesi işlemleri sonlandırır.

DNA izolasyonu: Bazı kimyasal maddeler ve enzimler ile canlı hücrelere ait hücre zarı veya canlı hücre duvarının yıkılıp DNA nın ortaya çıkarılması

Dominant: Heterozigotlarda fenotipik olarak eksprese olabilen hastalık özelliği

Ekzon: Gen üzerinde bulunan ve protein kodlamakta kullanılan parçalara verilen ad

Epigenetik: Genotipi değiştirmeden fenotipi etkileyen herhangi bir faktör

Fenotip: Genotip ve bunun içinde bulunduğu çevrede ifade edilmesi sonucu belirlenmiş ve gözlenen biyokimyasal, fizyolojik ve morfolojik karakterler. Genetik ve çevresel etkileşimlerin yarattığı özelliklerin canlının dış görünüşünde yansıması. Fenotip çoğunlukla genler tarafından belirlenir ancak bazı koşullarda diğer etkenler fenotipin genotipe yüzde yüz uymasını engelleyebilir. Bu duruma hipomorfizm denir. Fenotip zaman içinde değişebilir. Birden çok genle kontrol edilen özelliklerin fenotipleri de karmaşıklık gösterir. Genlerin durumuna göre çeşitlilik gösteren fenotip sınıflarına pleitropik fenotipler denir. Herhangi bir mutasyonun yarattığı değişime de mutant fenotip denir.

Gen: Bir polipeptidin veya m-RNA ve t-RNA yapısını tayin eden nükleotid dizisidir. Gen, kalıtımın temel fiziksel ve işlevsel birimidir.

Genom: Bir eşey hücrenin, kişinin, toplumun veya türün organizmada bulunan genlerin tamamı

Genomik DNA: Kodlayan ve kodlamayan DNA dizilerini içeren, gen veya gen parçasının DNA dizisi. Hücrelerden veya kromozomlardan doğrudan izole edilmiş DNA veya böyle bir DNA'nın klonlanmış kopyaları

Genotip: Fenotipten ayrı olarak bir kişinin genetik yapısı, bir lokustaki tüm alleler. Bir hücrede birden fazla gen DNA vardır. Aynı DNA üzerindeki genlere bağlı genler, ayrı DNA lar üzerindeki genlere ise bağımsız genler denir. Baskın genler bireyin fenotipinde kendini gösterir.

Gen haritası: Kromozom üzerinde genlerin karakteristik yerleşimleri. Genlerin kromozomal pozisyonlarını haritalamak İnsan Genom Projesinin hedeflerinden biridir.

İnsan Genom Projesi: İnsan ve bazı model organizma genomlarının genetik şifresini çözmek için yürütülmüş olan uluslar arası boyutlu proje. 13 yıllık bir çalışmanın sonunda 3,2 milyar kimyasal harfin şifresinden 2,2 milyar harflik kısmı tamamlandı. Bu harflerin her biri bir molekülü temsil etmekte olup, insan vücudunun, kaslarının,

derisinin, karaciğerinin vs.(kırmızı kan hücreleri hariç, çünkü kırmızı kan hücrelerinin çekirdekleri yoktur ve dolayısıyla hiçbir genetik materyal taşımazlar) her hücresi aynı DNA nın bir kopyasını barındırır. 25.000 kadar sayıda gene sahibiz ve hepimiz %99,9 oranında özdeşiz. İnsan araştırmacıları, hastalığı erken teşhis ve tedavi etme yollarını geliştirmek için İnsan Genom Projesinden elde edilen bilgileri kullanmaktadırlar. Bazıları genleri ilaç olarak kullanma yollarını ararken, bazıları da hastalıklı genleri değiştirmeye veya eleyerek yok etmeye çalışıyorlar.

Gen Tedavisi: Tedavi etkisi olacak bir DNA dizisinin kişiye aktarılmasına bağlı tedavi şekli

Genetik: Genler tarafından belirlenen

Genetik belirleyici (marker): Genetik çalışmalarda kullanılabilir kolay sınıflandırılabilen allelere sahip bir lokus. Bir lokusun farklı tiplerini birbirinden ayırt eden ve ailelerde aktarımı takip etmeye yarayan gen, restriksiyon enzim kesim bölgesi veya DNA'nın bir karakteristiği olabilir.

Genetik kod: Proteinlerde bulunan 20 aminoasiti tanımlayan 64 adet üçlü baz

Haploid: Kromozom çiftinin bir tanesini taşıyan normal bir eşey hücresinin kromozom sayısı. İnsanlarda haploid sayısı 23'tür.

Haplotip: Bağlı lokuslarda bir birim olarak kalıtılan birbirine bağlı bir grup allel

Hardy-Weinberg yasası: Gen frekansını genotip frekansı ile ilişkilendiren bir yasa. Hastalığın insidansı biliniyorsa populasyon genetiğinde allel frekansını ve heterezigot frekansını tesbit etmek için kullanılır.

Homozigot: Homolog kromozomlar üzerinde belli bir lokusta aynı alleleri taşıyan kişi veya genotip.

İntron: DNA üzerinde yerleşik bulunan genler üzerindeki kodlama bazı durumlarda süreksizlik gösterir. yani genin tamamı protein kodlamakta kullanılmaz. protein kodlamada kullanılmayan ama genin bir parçası olan bu kod bosluklarına intron adı verilir.

Konjenital: Doğumda var olan, genetik kökenli olmayabilir

Kromatid: DNA sentezi sonrası kromozomu oluşturan, sentromerden tutunmuş iki paralel kromotin iplikçiği

Kromatin: Kromozomları oluşturan protein ve DNA bileşimi

Kromozom: Kromatinden oluşan, genetik bilgi taşıyan, hücre çekirdeğinde ipliksi yapılar

Lokus: Bir genin kromozom üzerindeki pozisyonu

MAF: Minör allel sıklığı- Belirli bir nüfusta daha az yaygın olan allel frekansını belirtir.

Maternal Kalıtım: Genetik bilginin sadece anneden aktarılması

Multifaktöriyel kalıtım: Çevresel veya genetik olarak çeşitli etkenlerin etkileşimine bağlı olarak gelişen özelliklerin nonmendelyen kalıtım şekli. Kompleks kalıtım olarakta tanımlanır.

Mutasyon: Genomik DNA dizisinde kalıcı ve kalıtılan değişiklik

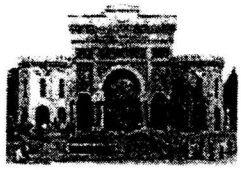
Proband: Ailenin tanımlanmasına yardımcı olmuş etkilenmiş aile bireyi

Sendrom: Nedensel açıdan birbirleri ile ilişkili olan anomalinin karakteristik paterni

SNP: Single Nucleotid Polymorphism: Tek nükleotid polimorfizmi: tek bir baz dizisi değişikliğine bağlı DNA'da ki polimorfik diziler

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI
Yerel Etik Kurulu



Sayı : 430 **Tarih : 11/02/2009**

Konu : Prof.Dr.Figen SEYMEN hk,

Sayın, Prof.Dr.Figen SEYMEN
Diş Hekimliği Fakültesi
Pedodonti Anabilim Dalı, Öğretim Üyesi

İlgi : 18.12.2008 tarihli, 5508 sayılı yazınız,

Sorumlu araştırıcılığını üstlendiğiniz ve Doktora Öğrencisi Dt.Mine YILDIRIM'ın yürüteceği 2009/158 dosya numaralı "Türk çocuklarında Dudak Damak Yarıklarına neden olan aday genlerin araştırılması" başlıklı tez çalışması kurulumuzun 21.01.2009 tarihli 01 sayılı toplantısında onaylanmış olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.

Prof.Dr. Güher SARUHAN DİRESKENELİ
İstanbul Tıp Fakültesi
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
YEREL ETİK KURUL TUTANAĞI

Toplantı Tarihi : 21/01/2009

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Etik Kurul Toplantı Salonu

Toplantı Sayısı : 1

Sorumlu araştırıcılığını Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Bilimleri Bölümü Pedodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Figen SEYMEN'in üstlendiği ve Doktora Öğrencisi Dt.Mine YILDIRIM'ın yürüteceği 2009/158 protokol numaralı "Türk çocuklarında Dudak Damak Yarıklarına neden olan aday genlerin araştırılması" başlıklı tez çalışması kurulumuzda incelendi etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr. Rukiye EKER ÖMEROĞLU
Etik Kurul Başkan Vekili (Dekan Yardımcısı)

Prof.Dr. A.Yağız ÜRESİN
Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Prof.Dr. Ümit TÜRKOĞLU
Biokimya A.D

Prof.Dr. Ahmet GÜL
İç Hast. A.D, Romatoloji Bilimdalı

Prof.Dr. Neşe ÇOLAK (T.Katılmadı)
İç Hast.A.D. End. Ve Metabolizma Hast. B.D.

Prof.Dr. Berrin UMMAN
Kardiyoloji A.D.

Prof.Dr. Nurhan ENGİNAR
Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Prof.Dr. Kamil PEMBECİ (T. Katılmadı)
Anesteziyoloji A.D.

Prof.Dr. Pınar SAİP
İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Sevinç EMRE
Çocuk Sağ. Ve Hast. A.D

Prof.Dr.İlgin ÖZDEN (T.Katılmadı)
Genel Cerrahi A.D.

Prof.Dr. Nuran YILDIRIM
Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D.

Fatma Ceyda DÖNMEZER
Sivil Toplum Örgütü Üyesi

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN
Nöroloji A.D.

Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK
Hukukçu

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Mine	**Soyadı**	(Yıldırım) Koruyucu
Doğ.Yeri	Karabük	**Doğ.Tar.**	04.05.1982
Uyruğu	T.C	**TC Kim No**	75577003228
Email	mine.yildirim@istanbul.edu.tr	**Tel**	0532 7746488

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora	İÜ. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı	2012
Yük.Lis.	İÜ. Diş Hekimliği Fakültesi	2005
Lisans	İÜ. Diş Hekimliği Fakültesi	2005
Lise	Demir Çelik Yabancı Dil Ağırlıklı Lise	2000

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer)..... Puanı**
İngilizce	İyi	İyi	İyi	72	
Fransızca	Orta	Orta	Zayıf		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	76.927	75.716	62.978
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Windows Office	Çok iyi
SPSS	Orta
Photoshop	İYİ

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

A- ULUSLARARASI YAYIN VE ETKİNLİKLER

1. SCI Expanded kapsamındaki dergilerde yayınlanmış yayınlar

1. Shimizu T, Bao H, Deeley K, Briseno-Ruiz J, Faraco IM, Schupack BI, Brancher JA, Pecharki GD, Küchler EC, Tannure PN, Lips A, Vieira TCS, Patir A, **Yildirim M**, Poletta FA, Mereb JC, Resick JM, Brandon CA, Orioli IM, Castilla EE, Marazita ML, Seymen F, Costa MC, Granjeiro JM, Trevilatto PC, Vieira AR. New insights from genetic variation of enamel formation genes in caries. PLoS ONE 2012 (Accepted)
2. **Yildirim M**, Seymen F, Deeley K, Cooper ME, Vieira AR. Defining Predictors of Cleft Lip and Palate Risk. JDR 2012;9(6):556-61.
3. Cho SH, Seymen F, Lee KE, Lee SK, Kweon YS, Kim KJ, Jung SE, Song SJ, **Yildirim M**, Bayram M, Tuna EB, Gencay K, Kim JW. Novel FAM20A Mutations in Hypoplastic Amelogenesis Imperfecta. Hum Mutat. 2011 Oct 11. doi: 10.1002/humu.21621. [Epub ahead of print]
4. Tuna EB, Shimizu T, Seymen F, **Yildirim M**, Gencay K, Maeda T. Mutations of the SH3BP2 gene in two families of Cherubism. Pediatric Dentistry 2012;34(3):198-202.
5. Sook-Kyung Lee, Figen Seymen, Kyung-Eun Lee, Hee-Yun Kang, **Mine Yildirim**, Elif Bahar Tuna, Koray Gencay, Yun-Hee Hwang, Kyung Hee Nam, Ricardo Jose De La Garza, Jan C-C. Hu, James P. Simmer, Jung-Wook Kim. Novel WDR72 Mutation and Intracellular Localization. J Dent. Res 2010:89:1378
6. Kang HY, Seymen F, Lee SK, **Yildirim M**, Tuna EB, Patir A, Lee KE, Kim JW. Candidate Gene Strategy Reveals ENAM Mutations. J Dent Res. 2009 Mar;88(3):266-9.
7. Patir A, Seymen F, **Yildirim M**, Deeley K, Cooper ME, Marazita ML, Vieira AR. Enamel formation genes are associated with high caries experience in Turkish children. Caries Research 2008; 42(5):394-400.

2. SCI Expanded kapsamı dışındaki dergilerde yayınlanmış yayınlar

1. Alexandre R. Vieira, Kathleen B. Deeley, Nicholas F. Callahan, Jacqueline B. Noel, Ida Anjomshoaa, Wendy M. Carricato, Louise P. Schulhof, Rebecca S. DeSensi, Pooja Gandhi, JudithM. Resick, Carla A. Brandon, Christopher Rozhon, Asli Patir, **Mine Yildirim**, Fernando A. Poletta, Juan C. Mereb, Ariadne Letra, Renato Menezes, Steven Wendell, Jorge S. Lopez-Camelo, Eduardo E. Castilla, I'edaM. Orioli, Figen Seymen, Robert J.Weyant, Richard Crout, DanielW.McNeil, AdrianaModesto, andMary L.Marazita. Detection of Streptococcusmutans Genomic DNA in Human DNA Samples Extracted from Saliva and Blood. ISRN Dentistry 2011 (Accepted)
2. Tuna EB, Orino D, Ogawa K, **Yildirim M**, Seymen F, Gencay K, Maeda T. Craniofacial and andetal characteristic of Goldenhar Syndrome: report of two cases. J Oral Sci. 2011;53(1):121-4
3. **M. Yıldırım**, F.Seymen, N.Keklikoğlu. The Evaluation of the Vector Sytem in Removal of Carious Tissue. International Journal of Dentistry 2010;82:1357
4. E.B.Tuna, **M. Yıldırım**, F. Seymen, M. Özgen, K. Gençay. Fused Tooth: A review of the treatment options. Journal of Dentistry for Children. 2009:76:74-80.

3.Uluslararası Kongrelerde sunulmuş yayınlar

1. F Seymen, M Bayram, SC Trasola, **M. Yildirim**, E Uslu. Saliva profiles in children with hearth disease: apilot study. 11 th Congress of the European Academy of Paediatric Dentistry Strasbourg, France, 24-27 th May 2012.
2. F Seymen, **M. Yildirim,** M. Torunoglu, N. Bekiroglu. Reasons for extraction of tooth in 3-8 year-old Children. 23.rd Congress of the International Association of Paediatric Dentistry Greece, Athens 15-18 June 2011.
3. **Mine Yildirim**, Merve Bayram, Nurullah Keklikoglu, Burak Cankaya, Figen Seymen. Sealing ability of different root-end filling materials: An in-vitro study. 7th European Academy of Paediatric Dentistry 31 March-1 April 2011, İstanbul
4. Figen Seymen, **Mine Yıldırım**, Merve Bayram, Burak Çankaya, Nurullah Keklikoğlu. Investigation of surface topography of different root-end filling materials: An in vitro study. 7th European Academy of Paediatric Dentistry 31 March-1 April 2011, İstanbul
5. Merve Bayram, **Mine Yıldırım**, Burak Cankaya, Nurullah Keklioglu, Koray Gencay, Figen Seymen. A stereomicroscopy study of root canal morphologies of human maxillary central incisors and mandibular second premolars 7th European Academy of Paediatric Dentistry 31 March-1 April 2011, İstanbul
6. K. Deeley, N. Callahan, J. Noel, I Anjomshoaa, W. Carriacato, L. Schulhof, R. Desensi, P. Ghandi, J. Resick, C. Brandon, C. Rozhon, A. Patır, **M. Yıldırım**, F.A Poletta, J. Mereb, AMG. Letra, R. Menezes, S. Wendell, J. Lopez,-Camelo, E. Castilla, I. Orioli, F. Seymen, R. Weyant, RJ. Crout, DW. McNeil, A. Modesto, ML. Marazita and AR: Vieira. Quantifying Streptococcus Mutans Infection from Human DNA Samples. IADR General Session San Diego, California 16-19 :March 2011
7. F. Seymen, **M. Yildirim**, M. Torunoglu, EB. Tuna. Clinical Evaluation and Oral Rehabilitation of Children with Amelogenesis Imperfecta. IADR General Session San Diego, California 16-19 :March 2011
8. I. Anjomshoaa, A. Patir, F. Seymen, **M. Yıldırım,** and A.R. Vieira. Aquaporin-5 is associated with higher caries experience in Turkish Children. IADR General Session Barcelona –Spain 14-17 July 2010
9. F. Seymen, F. Yalcın, A. Patır, and **M. Yıldırım,** Incidence Of Oral Habits Among 8-12 Year Old Children. 88th General Session and Exhibition of IADR, Barcelona, Spain,14-17 July, 2010.
10. M. Torunoğlu, **M. Yıldırım,** F.Seymen, K. Gencay. Multidisciplinary treatment to a fused tooth: a case report. 16th Congress of International Association for Dental Traumatology The International Association of Dental Traumatology (IADT), 11-13 June 2010, Verona, Italy.
11. E.B. Tuna, T. Shimizu, F.Seymen, **M. Yıldırım,** T. Maeda. Mutations of the SH3BP2 gene in two families with Cherubism. 22.nd Congress of the International Association of Paediatric Dentistry Munich,Germany, 17-20 June 2009. 012-87
12. **M. Yıldırım,** A.Patır, F.Seymen. Risk factors for early childhood caries in 2-5 year-old children. 22.nd Congress of the International Association of Paediatric Dentistry Munich,Germany, 17-20 June 2009. P15-234a
13. F.Seymen, **M.Yıldırım,** A.Patır, EB.Tuna, G.Acar. Orthodontic treatment needs of children: Comparison of three indices. 22.nd Congress of the International Association of Paediatric Dentistry Munich,Germany, 17-20 June 2009. P19-296
14. H.-Y. Kang, F. Seymen, S.-K. Lee, **M. Yıldırım,** E.B. Tuna, K.-E. Lee, and

J.-W. Kim. A Novel ENAM mutation in Autosomal Dominant Amelogenesis Imperfecta. 87th General Session & Exhibition of the IADR, 32nd Meeting of the CADR, Metro Toronto Convention Centre, ON, Canada 2-5,July 2008.0689

15. E.B.Tuna, **M. Yıldırım,** F. Seymen, M. Özgen, K. Gençay. Intentional Treatment of a Fused Tooth. 9th Congress of the European Academy of Paediatric Dentistry (EAPD), Dubrovnik, Croatia, May 29th – June 1st, 2008.P42.

16. **M. Yıldırım,** A. Patır, K. Gençay, F. Seymen. Surface Characteristics of Esthetic Restorative Materials After Polishing Procedures. 9th Congress of the European Academy of Paediatric Dentistry (EAPD) Dubrovnik, Croatia, May 29th – June 1st, 2008.P89

B- ULUSAL YAYIN ve ETKİNLİKLER

1. Yurt içi hakemli dergilerdeki yayınlar

1. **Mine Yildirim,** Burak Çankaya, Figen Seymen, Koray Gençay. Travmaya bağlı yatay kök kırığında MTA uygulaması: Olgu sunumu Turkiye Klinikleri J Dental Sci-Special Topics 2012;3(1):18-25.
2. Köse A, Bayram M, **Yıldırım M**, Seymen F. Pedodonti Anabilim Dalı'nda Başlangıç Muayenesinde Alınan Panoromik Radyografilerin Değerlendirilmesi İÜ Dişhek Fak Derg 2012,45(3):41-7.
3. **Yıldırım M**, Bayram M, Patır A, Yalçın F, Seymen F. 8-12 Yaşarası Çocuklarda Görülen Kötü Ağız Alışkanlıklarının Sıklığı İÜ Dişhek Fak Derg 2012;45(3):29-40.
4. **Yıldırım M**, Seymen F.Travmanın Pulpa dokusu Üzerine Etkileri Türk Dişhekimliği Dergisi (Kabul edildi)
5. **Yıldırım M**, Seymen F. Dudak Damak Yarıklarına Neden Olan Aday Genler Türkiye Klinikleri (Kabul edildi)
6. **Yıldırım M**, Seymen F. Adli Diş Hekimliği Akademik Dental (Kabul edildi)
7. Kürklü E, **Yıldırım M,** Tuna EB, Topçuoğlu N, Marşan G, Kuşkucu A, Külekçi G. Prader-willi Sendromu olan hastaya multidisipliner yaklaşım: Bir olgu sunumu. Türk Dişhekimliği Dergisi 2011;81(19):66-70.
8. **Yıldırım M**, Seymen F, Gencay K. Diş eksikliği olgusunda protez uygulaması. TDB Çanakkale Diş Hekimleri Odası Dergisi 2010;8(2):7-8
9. Demirtaş A, Patır A, **Yıldırım M**, Seymen F. Pedodonti hastalarına verilen dişhekimliği hizmetlerinin yaş gruplarına göre dağılımı. Akademik Dental Dişhekimliği Dergisi.2009:10(1-2):46-53.
10. **Yıldırım M**, Seymen F. Ağız Kokusunun Etyolojisi ve Tedavisi. Dişhekimliği Dergisi 2008;84(19):48-53
11. Tokmak E, Patır A, **Yıldırım M**, Seymen F. Türk çocuklarında altı yaş dişinin sürme zaman aralığının değerlendirilmesi. Türk Dişhekimliği Dergisi 2007;14(70):237-240.
12. **Yıldırım M**, Aktören O. Çocuklarda Ağızdan Solunumun Ağız Diş Sağlığına ve Çevre Dokulara Etkilerinin Değerlendirilmesi. İ.Ü. Dişhek Fak Derg 2007;41(3):65-74

2.Yurtiçi Kongrelerde sunulmuş yayınlar

1. **Mine Yıldırım,** Merve Bayram, Figen Seymen. Simpson-Golabi Behmel

Sendromu: Olgu Sunumu. 18. Türk Pedodonti Derneği Bilimsel Kongresi 1-2 Nisan 2011 İstanbul

2. Elif Bahar Tuna, **Mine Yıldırım,** Koray Gencay, Figen Seymen. Williams Sendromu: ağız ici ve kraniofasiyal gorunum. 18. Türk Pedodonti Derneği Bilimsel Kongresi 1-2 Nisan 2011 İstanbul

3. Tuna EB, Ogawa K, **Yıldırım M,** Orino D, Abdallah F, Seymen F, Gençay K, Maeda T. Goldenhar Sendromu'nun kraniofasiyal ve dental bulguları: İki olgu sunumu. 16. Türk Pedodonti Derneği Kongresi, 21-24 Mayıs 2009 Çeşme, İzmir.

4. Çankaya B, Torunoğlu M, **Yıldırım M**, Seymen F. Üst çenede Kompleks Odontom: Olgu Bildirimi. 16. Türk Pedodonti Derneği Kongresi, 21-24 Mayıs 2009 Çeşme, İzmir.

5. **Yıldırım M,** Patır A, Yalçın F, Seymen F. 8 -12 yaş arası çocuklarda görülen kötü ağız alışkanlıklarının sıklığı. 16. Türk Pedodonti Derneği Kongresi, 21-24 Mayıs 2009 Çeşme, İzmir.

6. **M. Yıldırım,** F. Seymen. Çürük diş dokusunun uzaklaştırılmasında geleneksel döner aletler ile Vektör sistemin karşılaştırılması. Türk Pedodonti Derneği 15. Bilimsel Kongresi Özet Kitapçığı, 2007.

7. **M. Yıldırım**, A Patır, F Seymen. Roland Desbuquis Tipi Dissegmental Displazi.: Bir olgu bildirimi Türk Pedodonti Derneği 15. Bilimsel Kongresi Özet Kitapçığı: 2007.

ULUSLARARASI KATILDIĞI BİLİMSEL TOPLANTI VE SEMİNERLER:

1. 7 th European Academy of Paediatric Dentistry 31 March-1 April 2011 İstanbul

2. 16. Uluslararası TDB Kongresi, 25-27 Haziran 2009. Lütfi Kırdar Kongre ve Sergi Sarayı, İstanbul

3. 22nd Congress of the International Paediatric Dentistry. 17-20 June 2009, Munich, Germany.

4. 9th Congress of the European Academy of Paediatric Dentistry (EAPD), May 29th – June 1st, 2008 Dubrovnik, Croatia.

5. 14. Uluslararası TDB Kongresi Kongresi, , 14-16 Haziran 2007. Lütfi Kırdar Kongre ve Sergi Sarayı, İstanbul

6. 12^{th} Congress of the Balkan Stomatological Society (BASS) 12-14 April, 2007. İstanbul, Turkey

ULUSAL KATILDIĞI BİLİMSEL TOPLANTI VE SEMİNERLER

1. 18. Türk Pedodonti Derneği Bilimsel Kongresi 1-2 Nisan 2011 İstanbul

2. ITOP - kişiye özgü ağız hijyeni kursu 1-2 Ekim 2010 İstanbul

3. Türk Pedodonti Derneği 16. Bilimsel Kongresi, 21-24 Mayıs 2009 Çeşme, İzmir

4. 14. Uluslararası Türk Dişhekimleri Birliği kongresi 11-16 Haziran 2007 İstanbul

5. 7. Ege bölgesi Dişhekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel kongresi, 9. Kariyoloji sempozyumu 27-29 Nisan 2007 İzmir

6. Türk Pedodonti Derneği 15. Bilimsel Kongresi, 17-21 Ekim 2007 Antalya

7. Yeditepe Üniversitesi mini implant sempozyumu Mayıs 2005 İstanbul

8. 8.Uluslararası Estetik Diş Hekimliği Kongresi 24-26 Eylül 2004 İstanbul

9. 2.Uluslar arası Quintessence Sempozyumu 17-18 Nisan 2004 İstanbul

DOKTORA DÖNEMINDE SUNULAN SEMINERLER

1. Çölyak Hastalığı 2011-2012
2. Adli Diş Hekimliği, 2010-2011
3. Dudak Damak Yarıklarına Neden Olan Aday Genler, 2009-2010
4. Travmanın Pulpa Dokusu Üzerine Etkileri, 2008-2009
5. Ağız Kokusunun Etyolojisi ve Tedavisi, 2007-2008
6. Roland Desbuquois Tipi Dissegmental Displazi; Bir Olgu Bildirimi, 2006-2007

İLGİ ALANLARI

1. Sendromlar
2. Genetik
3. Dudak damak yarıkları
4. Diş dokusunda meydana gelen anomaliler (AI-DI)
5. Koruyucu - önleyici ortodonti