

**T.C.
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI**

**SENDROMSUZ DUDAK DAMAK YARIKLI HASTALARDA
MSX1 GEN POLİMORFİZMİNİN YARIK BÖLGESİNDEKİ
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

**Dr. Rana KIZILTEKİN
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Dr. Mehmet İrfan KARADEDE

YARDIMCI DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Dr. Dr. Beyza KARADEDE ÜNAL

2019-İZMİR

T.C.
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI

SENDROMSUZ DUDAK DAMAK YARIKLI HASTALARDA MSX1 GEN
POLİMORFİZMİNİN YARIK BÖLGESİNDEKİ ETKİNLİĞİNİN
İNCELENMESİ

Dt. Rana KIZILTEKİN
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Dr. Mehmet İrfan KARADEDE

YARDIMCI DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Dr. Dr. Beyza KARADEDE ÜNAL

2019-İZMİR

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

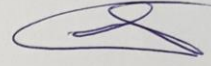
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ortodonti Anabilim Dalı
Doktora Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora
Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 12 / 09 / 2019

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Dr. M. İrfan KARADEDE
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti A.B.D.



Üye : Prof. Dr. Cumhuri TUNCER
Gazi Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti A.B.D.



Üye : Doç. Dr. Enver YETKİNER
Ege Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti A.B.D.



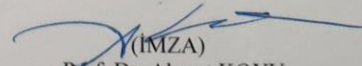
Üye : Doç. Dr. İlnur VELİ
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti A.B.D.



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Burçin AKAN
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti A.B.D.



ONAY : Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'na belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri
tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.



(İMZA)
Prof. Dr. Ahmet KOYU
Enstitü Müdürü

* (Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA) kısımları silinerek ilgili öğretim üyelerine ait bilgiler bilgisayar ortamında yazılarak imzalatılmalıdır.

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini İzmir Katip Çelebi Üniversitesi'ne verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

o Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.

(Bu seçenekte teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

o Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını istemiyorum (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç)

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.)

o Tezimin/Raporumun..... tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.

o Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi

12/09/2019

Rana KIZILTEKİN

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Tez Danışmanım Prof. Dr. Dr. Mehmet İrfan KARADEDE danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

12/09/2019

Rana KIZILTEKİN

1227

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

Sayın Prof. Dr. Dr. Mehmet İrfan KARADEDE

Karar No: 395
Tarih : 28.08.2019

KARAR

Diş Hekimi Rana KIZILTEKİN'İN doktora tez çalışması olarak planlanan SENDROMSUZ DUDAK DAMAK YARIKLI HASTALARDA MSXI GEN POLİMORFİZMİNİN YARIK BÖLGESİNDEKİ ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ adlı araştırma başvuru dosyasınız kurulumuzda gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiştir. İnceleme sonucunda çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Orhan ÇOKALP
Kurul Başkanı

T. KATILMADI
Doç. Dr. Serdar BAYATA
Başkan Yardımcısı

T. KATILMADI
Prof. Dr. Yasemin TOKEM
Üye

Prof. Dr. Belde Kasap DEMİR
Üye

Prof. Dr. Özgür TOSUN
Üye

T. KATILMADI
Doç. Dr. Aslı BAYSAL
Üye

Uzm. Dr. Ayşenur ATAY
Üye

Dr. Mehmet ERTAN
Üye

T. KATILMADI
Uzm. Dr. D. Barış KILIÇCIOĞLU
Raportör Üye

Dr. Öğr. Üyesi Gülşay OYUR ÇELİK
Üye

KARŞI OY _____ :

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda olduğunu bildiğim, ayrıca bana bu çalışmayı vererek kendimi geliştirmemde büyük katkısı olan başta değerli danışman hocam Prof. Dr. Dr. Mehmet İrfan KARADEDE'ye ve yardımcı danışmanın Dr. Öğretim Üyesi Dr. Dr. Beyza KARADEDE ÜNAL'a,

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocalarım, Doç. Dr. Aslı BAYSAL, Doç. Dr. İlknur VELİ, Dr. Öğretim Üyesi Dr. Burçin AKAN'a,

Genetik analiz aşamasında ki yardım ve desteğini hiç esirgemeyen araştırma danışmanım Prof. Dr. Afig Huseyinov BERDELİ'ye

İstatiksel analiz aşamasında ki katkı ve emeklerinden dolayı Doç. Dr. Ferhan ELMALI'ya,

Doktora eğitimim boyunca birlikte çalıştığım mesai arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemde en büyük katkıyı sağlayan, hayatımın her döneminde desteklerini hep yanımda hissettiğim, başarımın gerçek sahipleri ve benim için herşeyden kıymetli sevgili aileme,

SONSUZ TEŞEKKÜR EDERİM...

Dt. Rana KIZILTEKİN

Eylül 2019

ÖZET

SENDROMSUZ DUDAK DAMAK YARIKLI HASTALARDA MSX1 GEN POLİMORFİZMİNİN YARIK BÖLGESİNDEKİ ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ

Bu çalışmada, herhangi bir sendromu bulunmayan yalnızca damak yarıklı (YDA) veya dudak damak yarıklı (DDY) hastalardan alınan tükürük örneklerinin DNA analizinin yapılması, taranan örneklerdeki MSX1 gen varyantları tespit edilip, değişkenlerin yarık bölgesinin fenotipine bir etkisinin olup olmadığını incelenmesi hedeflenmiştir.

Çalışmaya İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı'na başvurmuş, ortodontik tedavi ihtiyacı olan toplam 40 birey dahil edildi. Bireyler dişsel sınıflamaya göre Sınıf 1, Sınıf 2 ve Sınıf 3 fenotipli olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Yine aynı bireyler yarık bölgesi sınıflamasına göre YDA, tek taraflı DDY ve çift taraflı DDY fenotipi olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Tüm bireylerden çalışma öncesinde gönüllü onam formu alındı. Daha sonra tükürük örnekleri alınarak, örnekler analiz testi için Ege Üniversitesi Moleküler Tıp ve Genetik Tanı Araştırma merkezine götürüldü. MSX1 geni için her ekzona ayrı ayrı Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) amplifikasyonu uygulanmıştır. Gen çalışması yapılan tüm bireylerin ortodonti tedavilerine kliniğimizde başlanılmıştır.

Çalışmamızda YDA ve DDY fenotipli bireylerde MSX1 gen etkisi değerlendirilmiş ve bu gende saptanan değişiklikler incelenmiştir. Dahil edilen hastalarda tespit edilen MSX1 değişkenlerinin deformasyon alanına etkisinin risk değerlendirilmesi Odds oranı ve güven aralığı ile belirlenmiştir. Araştırma bulgularımıza göre 40 hastanın 36'sında MSX1 geninin 6 ayrı bölgesinde varyantlar (G26E, c.77G>A; A40G, c.119C>G; G116G, c.348C>T; IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG; c.452-15delT; c.*6C>T, c.1152 C>T) saptanmıştır. Tespit ettiğimiz bu 6 varyantın 4'üne ait bulguların, gerek doğrudan gerek transkripsiyonu etkileyen faktörleri dolaylı etkileyerek dudak damak yarıkları ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Elde ettiğimiz sonuçlar dudak damak yarıklarının oluşmasına neden olabilecek değişkenlerle ilgili yapılacak gen çalışmaları için yeni bir kaynak oluşturacak niteliktedir. Görüşümüz çalışmamızın dudak damak yarıklarının oluşmasına engel olabilecek yeni araştırmalara ve toplumdaki sıklıklarını azaltacak muhtemel gen tedavilerine ışık tutacağını yönündedir.

Anahtar Kelimeler: Dudak Damak Yarıkları, Genetik, MSX1



ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFICACY OF MSX1 GENE POLYMORPHISM ON CLEFT REGION IN PATIENTS WITH NON- SYNDROMIC CLEFT LIP AND PALATE

Within this study, salivary samples were obtained from the individuals with non-syndromic cleft palate (CP) or cleft lip and palate (CLP). It was aimed to analyse DNA from the samples, to detect MSX1 gene variants in the samples and to investigate whether the variables had an effect on the phenotype of the cleft region.

A total of 40 individuals with non-syndromic cleft lip palate, who applied for treatment to the Orthodontics Department of the Faculty of Dentistry of İzmir Katip Çelebi University and who needed orthodontic treatment were included in this study. Individuals were divided into 3 groups according to dental classification as Class 1, Class 2 and Class 3 phenotypes. The same individuals were divided into three groups according to cleft region classification: cleft palate, unilateral cleft lip and palate and bilateral cleft lip and palate phenotype. Voluntary consent forms were obtained from all individuals before the study. Then, saliva samples were obtained from individuals and samples were taken to Ege University Molecular Medicine and Genetic Diagnosis Research Center for analysis test. Polymerase Chain Reaction (PCR) amplification was applied one by one to each exons for MSX1 gene. Orthodontic treatments of all individuals who selected for this gene study were started in our clinic.

In our study, the effect of MSX1 gene was evaluated in individuals with cleft palate and cleft lip and palate phenotype and the changes detected in this gene were examined. In the included patients, the risk assessment of the effect of detected MSX1 variables on the deformation area was determined by the Odds ratio and confidence interval. According to our findings, in 36 patients among 40, variants (G26E, c.77G>A; A40G, c.119C>G; G116G, c.348C>T; IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG; c.452-15delT; c.*6C>T, c.1152 C>T) were detected in 6 different regions of MSX1 gene. The findings of four of these six variants were found to be related to cleft lip and palate and it made us thought that the MSX1 gene can directly or indirectly be in

relation with the formation of cleft lip and palates by affecting the transcription factors.

These results may provide a new source for gene studies on the variables that may cause cleft lip and palate to occur. We believe that our findings may shed light to the further researches for avoiding the occurrence of cleft lip and palates as well as may develop potential gene therapies for reducing the frequency of the cleft lip and palates among the population.

Key words: Cleft lip and palate, Genetic, MSX1



İÇİNDEKİLER

Onay	i
Yayımlama ve Fikri Mülkiyet Beyanı	ii
Etik Beyan Sayfası	iii
Tesekkür	iv
Özet	v
Abstract	vi
İçindekiler	ix
Simgeler ve kısaltmalar	xii
Şekiller	xiii
Tablolar	xv

İçindekiler

1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Dudak ve Damağın Embriyolojik Gelişimi	4
2.1.1. Damağın Embriyolojik Gelişimi	5
2.1.2. Dudağın Embriyolojik Gelişimi	11
2.2. Dudak ve Damak Yarıklarının Sınıflandırılması ve Embriyolojisi	11
2.2.1. Davis ve Ritchie Sınıflaması, 1922	12
2.2.2. Veau Sınıflaması, 1931	12
2.2.3 Moore Sınıflaması, 1988	13
2.2.4. Kernahan ve Stark-Striped Y Klasifikasyonu, 1971.....	14
2.2.5. Milard'ın Modifiye Kernahan Striped Y Sınıflaması, 1977	15
2.2.6. Schutte ve Murray sınıflaması.....	17
2.2.7. Uluslararası Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Sınıflaması.....	17
2.3. Dudak Damak Yarıklarının Epidemiyolojisi.....	17
2.4. Dudak ve Damak Yarıklarının Etiyolojisi	19
2.5. Sendromsuz (Non- Sendromik) Dudak ve Damak Yarıklarında Çevre ve Kalıtımın Rolü	20
2.5.1. Çevrenin Rolü	20
2.5.2. Genetiğin Rolü.....	21
2.6. Genetik Polimorfizmlerin ve Mutasyonların Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler	38

2.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	38
2.6.2. Dizi Analizi (Sanger Metodu)	40
2.7. MSX1 Geni (Muscle Segment Homolog Proteini 1)	42
2.7.1. MSX1 Gen Yapısı	42
2.7.2. MSX1 Gen İfadesi	44
2.7.3. MSX1 Geninin Apoptozise Etkisi	44
2.7.4. MSX1 Geninin Epitel-Mezenşim Etkileşimindeki Rolü	45
2.7.5. MSX1 Geninin Diş Gelişimi ve Palatogenezisteki Rolü	46
2.7.6. MSX1 Geninin Hücre Proliferasyonu ve Morfogenezine Etkisi	47
2.7.7. MSX1 Gen Proteini	48
2.8. Tükürük	49
2.8.1. Tükürük İçeriği	50
2.8.2. Diagnostik Tükürüğün Önemi	50
2.8.3. Tükürük Toplama Yöntemleri	51
2.8.4. Tükürük Saklama Koşulları	51
3. MATERYAL VE METOD	53
3.1 Materyal	53
3.1.1 Hasta Sayısının Belirlenmesi	54
3.1.2 Hasta Seçimi	54
3.1.3 Biyokimyasal Örnek Alınması	55
3.1.4 DNA İzolasyonu	55
3.1.5 DNA'nın kontrolü	57
3.1.6 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	58
3.1.7. PCR Purifikasyonu	60
3.1.8 BigDye Döngü Sekanslaması	60
3.1.9. DNA Dizileme	61
3.2. İstatistik Değerlendirme	62
4. BULGULAR	63
4.1 MSX1 Geninde Tespit Edilen Varyantlar (Değişkenler)	66
4.2. G26E (c.77G>A)	69
4.3. A40G (c.119C>G)	70
4.4. G116G (c.348C>T)	70
4.5. c.*6C>T, c.1152 C>T	71
4.6 Delesyon Varyantları	71

5. TARTIŞMA.....	83
5.1 Gen Polimorfizmlerinin Değerlendirilmesi.....	84
5.2. G26E (c.77G>A)	85
5.3 A40G (c.119C>G).....	86
5.4. G116G (c.348C>T)	89
5.5. 3' UTR (c.*6C>T, c.1152 C>T)	91
5.6. IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG	93
5.7. c.452-15delT.....	96
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	98
KAYNAKLAR	106
EKLER	
EK-1 (DDY'li Hastalarda MSX1 Gen Çalışması İçin Alınan Onam)	119
EK-2 (Ortodondi AD Hasta ve Aile Bilgilendirme Formu (DDY))	121
EK-3 (Ortodontik Tedaviler İçin Aydınlatılmış Onam Formu)	122
EK-4(OrtodontikTedavi İçin Hasta Sözleşmesi Formu)	124
EK-5 (Ortodonti AD Anamnez Formu)	126
EK-6 (iTenticate Similarity Index)	127
ÖZGEÇMİŞ	128

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	Adenine
BMP	Bone Morfogenetic Protein
C	Cytosine
CAT	Nucleotides with GGCCAATCT consensus sequence
cDNA	Complementary DNA
CL	Cleft Lip
CT	Computed Tomography
CYP1A1	Cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1
dbSNP	The Single Nucleotide Polimorphism Database
ddATP	Dideoxynucleotides Adenine
ddCTP	Dideoxynucleotides Cytosine
ddGTP	Dideoxynucleotides Guanine
ddTTP	Dideoxynucleotides Timine
DDY	Dudak Damak Yarığı
DNA	Deoxyribonucleic acid
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
EEC	Ectrodactyly–ectodermal dysplasia
EPHX1	Epoxide hydrolase 1
EXON	EXpressed regiON
FGFR	Transforming Growth Factor Receptors
G	Guanine
GSTM1	Glutathione S-transferase Mu 1
HET	Heterozigot
HGMD	The Human Gene Mutation Database
HGMD ID	The Human Gene Mutation Database Identification Number
HOX	Homeobox

IRF6	Interferon Regulator Factor 6
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
mRNA	Messenger ribonucleic acid
MSX1	Muscle Segment Homebox 1
MTHFR	Methylenetetrahydrofolate Reductase
MUT	Mutant
NAT	N-Acetyltransferase
OMİM	Online Mendelian Inheritance in Man
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PTCH1	Protein patched homolog 1
PVRL	Polio virus receptor-like
RARA	Retinoic Acid Receptor Alpha
RFC1	Replication Factor C Subunit 1
RNA	Ribonucleic acid
rRNA	Ribosomal ribonucleic acid
rs	Reference SNP ID Number
SH	Sonic Hedgehog
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
T	Timin
TATA	The binding of a transcription factor blocks the binding of a histone and vice versa
TBP	TATA-Box Binding Protein
TBX22	T box transcription factor gene
TGF	Transforming Büyüme Faktörü
TP63	Transformation-related protein 63
tRNA	Transfer ribonucleic acid
U	Uracile
USG	Ultrasonografi
WT	Wild Type
YDA	Yalnız Damak Yarığı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Hamileliğin 4. ve 5. haftalarında yüz gelişimi

Şekil 2: Yüz gelişiminde 6. 7. ve 8. Haftalar

Şekil 3: 4. ve 8. haftalar arasındaki insan embriyosunun frontal ve lateral görünümü

Şekil 4: 5. ve 8. haftalar arasındaki insan embriyosunun frontal ve lateral görünümü

Şekil 5: Palatal bölgenin gelişimleri ve süreçleri

Şekil 6: Dudak ve damağın embriyolojik gelişimi, sert damağın kaynaşması

Şekil 7: Palatogenesis sırasındaki sinyalsal etkileşimler

Şekil 8: Davis & Ritchie sınıflaması

Şekil 9: Veau Sınıflaması

Şekil 10: Moore Sınıflaması

Şekil 11: Kernahan ve Stark-Striped Y

Şekil 12: Milard'ın Modifiye Kernahan Striped Y sınıflaması

Şekil 13: Kernahan'ın Y skalasına göre dudak ve damak yarıklarının oluşumu

Şekil 14: Genin kromozomlar üzerinde dizilimi

Şekil 15: DNA'nın kimyasal yapısı

Şekil 16: Gen Ekspresyonu (transkripsiyon ve translasyon işlemi)

Şekil 17: Transkripsiyon ve translasyon

Şekil 18: Kromozom mutasyonları (delesyon)

Şekil 19: Kromozom mutasyonları (duplikasyon)

Şekil 20: Kromozom mutasyonları (inversion ve translokasyon)

Şekil 21: Normal kromozom ve İzokromozom

Şekil 22: Nokta mutasyon şeması

Şekil 23: Çerçeve kayması mutasyon şeması

Şekil 24: Delesyon mutasyon şeması

Şekil 25: PCR reaksiyon zinciri

Şekil 26: Dideksinükleotit (ddNTP) ve deksinükleotit (dNTP) kimyasal yapısı

- Şekil 27:** Sanger dizi analizi belirleme şeması
- Şekil 28:** Msh Homebox 1
- Şekil 29:** MSX1'in 4. Kromozom üzerindeki yeri
- Şekil 30:** Hücre Döndüsü Regülasyonu
- Şekil 31:** Diş hücresinde genetik yolak modeli
- Şekil 32:** MSX1, Homedomain, DNA kompleksi
- Şekil 33:** Hastadan tükürük alınması
- Şekil 34:** Tükürük örneğinin enjektöre aktarımı
- Şekil 35:** İnvitrogen Genomic DNA izolasyon kiti
- Şekil 36:** NanoDrop Spektrofotometre
- Şekil 37:** Nucleic Acids Cleargraph ekranı
- Şekil 38:** Veriti Thermal Cyclers cihazları
- Şekil 39:** ABI 3130XL Genetic Analyser Otomatik DNA Dizileme Cihazı
- Şekil 40:** mRNA'nın yapısı
- Şekil 41:** MSX1 geninin saptanan mutasyonların yeri ile yapısı

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Baş ve yüz gelişiminde rol oynayan faktörler

Tablo 2: Etnik kökene göre dudak damak yarıklarının görülme sıklığı

Tablo 3: Dudak-damak yarığında etkili olan genler

Tablo 4: Genetik kod tablosu

Tablo 5: Araştırmaya katılan birey sayıları ve yaş dağılımları

Tablo 6: Çalışmada kullanılan DNA dizisinin primer dizilimi

Tablo 7: Hazırlanan oligonükleotid primer protokol içeriği

Tablo 8: Reaksiyon ürünlerinin sekanslama protokol içeriği

Tablo 9: Non-sendromik dudak damak yarıklı hastaların dişsel sınıflama listesi

Tablo 10: Non-sendromik dudak damak yarıklı hastaların DDY sınıflama listesi

Tablo 11: Tespit edilen varyantların yeri, tipi ve hasta sayıları

Tablo 12: MSX1 geninde ekzonlardaki tespit edilen varyantlar

Tablo 13: MSX1 geninde varyasyon belirlenen bölgeler ve Gen veri tabanı tanımlamaları

Tablo 14: MSX1 gen varyantlarının, dudak damak yarıklarına olan etkisi bakımından kontrol grubu ile karşılaştırması

Tablo 15: MSX1 gen varyantlarının, dişsel sınıflamaya olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi, kontrol grubu ile karşılaştırması

Tablo 16: MSX1 gen varyantlarının, dişsel sınıf 1 ve sınıf 2 fenotipine olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi

Tablo 17: MSX1 gen varyantlarının, dişsel sınıf 1 ve sınıf 3 fenotipine olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi

Tablo 18: MSX1 gen varyantlarının, Damak Yarığı (YDA) ve Dudak Damak Yarığı (DDY) fenotipine olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi

Tablo 19: MSX1 gen varyantlarının, Damak Yarığı (YDA) ve Tek Taraflı Dudak Damak Yarığı (T-DDY) fenotipine olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi

Tablo 20: MSX1 gen varyantlarının, Damak Yarığı (YDA) ve Çift Taraflı Dudak Damak Yarığı (Ç-DDY) fenotipine olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi

Tablo 21: MSX1 gen varyantlarının, Tek Taraflı Damak Yarığı (T-DDY) ve Çift Taraflı Dudak Damak Yarığı (Ç-DDY) fenotipine olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi

Tablo 22: *MSX1* A40G (c.119 C> G) varyantı bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi, kontrol grubu ve 1000 genom çalışması verileri ile karşılaştırması

Tablo 23: *MSX1* G116G (c.348 C> T) varyantı bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi, kontrol grubu ve 1000 genom çalışması verileri ile karşılaştırması

Tablo 24: *MSX1* c.*6C>T (c.1152 C> T) varyantı bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi, kontrol grubu ve 1000 genom çalışması verileri ile karşılaştırması

1. GİRİŞ

Dudak damak yarıkları (DDY/CLP: Cleft Lip and Palte), kraniofasiyal bölgede, toplumda en sık karşılaşılan kongenital anomalidir ve 700 canlı doğumda 1 ile 1000 canlı doğumda 1 oranında malformasyonları görülmektedir¹. Murray ve Schutte yaptıkları epidemiyolojik çalışmada, dünya çapında, etnik ve coğrafi değişkenlere bağlı olarak, DDY vakalarının her 500-1000 doğumda 1 görüldüğünü bildirmişlerdir². Görülme sıklığı, coğrafik köken, ırk, etnik geçmiş ve sosyoekonomik duruma göre değişmektedir. DDY, ağız tavanı ve üst çene kemiğini oluşturan yumuşak ve sert dokuların intrauterin dönemde kaynaşmasında meydana gelen anomalik durumlardan ve yetersizliklerden dolayı ortaya çıkmaktadır³. Dudak ve damak gelişimi karmaşık olaylar dizisidir ve normal gelişim için hücrel büyüme, migrasyon, differansiasyon, apoptozis gibi karmaşık olayların sorunsuz ve yakın koordinasyon ile ilerlemesi gereklidir⁴.

Embriyonik dönemde iki boyutlu ultrasonografi (USG), üç boyutlu manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve bilgisayarlı tomografi (CT) teknolojileri ile tanısı konulan dudak damak yarıkları, doğumla birlikte bireyin ömür boyu yüzünde taşıyacağı bir deformasyondur. DDY'li bireylerin yüz özellikleri kolaylıkla normal yüz yapısından ayrılabilir⁵. DDY'li bebeğin doğumundan itibaren aile için oldukça zorlu bir süreç başlar⁶. DDY, başlangıçta yüz bölgesinde estetik bir problem gibi görülmesine rağmen, ciddi fonksiyonel problemleri de beraberinde getirmektedir. DDY ile doğan bebeklerde beslenme problemleriyle başlayan süreç; konuşma problemleri, yumuşak doku problemleri ve deformitelerin düzeltilmesi, dentisyonun düzeltilmesini takiben optimal kapanışın sağlanması gibi tedavi adımlarıyla devam eder. DDY'li birey, doğumundan itibaren yetişkinliğe kadar multidisipliner bir tedavi yaklaşımına ihtiyaç duymaktadır. Bu multidisipliner ekipte, ortodontist, çene cerrahı, plastik cerrah, genetik uzmanı, psikolog, konuşma terapisti gibi uzmanlar bulunmalıdır⁴.

Embriyonik dönemde iki boyutlu ultrasonografi (USG), üç boyutlu manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve bilgisayarlı tomografi (CT) teknolojileri ile tanısı konulan dudak damak yarıkları, doğumla birlikte bireyin ömür boyu yüzünde taşıyacağı bir deformasyondur. DDY'li bireylerin yüz özellikleri kolaylıkla normal yüz yapısından

ayrılabilir⁵. DDY'li bebeğin doğumundan itibaren aile için oldukça zorlu bir süreç başlar⁶. DDY, başlangıçta yüz bölgesinde estetik bir problem gibi görülmesine rağmen, ciddi fonksiyonel problemleri de beraberinde getirmektedir. DDY ile doğan bebeklerde beslenme problemleriyle başlayan süreç; konuşma problemleri, yumuşak doku problemleri ve deformitelerin düzeltilmesi, dentisyonun düzeltilmesini takiben optimal kapanışın sağlanması gibi tedavi adımlarıyla devam eder. DDY'li birey, doğumundan itibaren yetişkinliğe kadar multidisipliner bir tedavi yaklaşımına ihtiyaç duymaktadır. Bu multidisipliner ekipte, ortodontist, çene cerrahı, plastik cerrah, genetik uzmanı, psikolog, konuşma terapisti gibi uzmanlar bulunmalıdır⁴.

Dudak damak yarıklarının yaklaşık %30'unu oluşturan kısmında sendromlarla birlikte görülen patolojiden sorumlu olan genler rapor edilmiştir⁷. Non-Sendromik karakterde olan ve dudak damak yarıklarının meydana gelmesinde etkili olan genetik varyantların belirlenmesi amacıyla birçok çalışma yapılmıştır⁷.

Sekanslama ve genotiplendirme gibi teknoloji alanındaki gelişmelerle biyoteknoloji ve genetik alanlarında araştırmalar çoğalmış, sendromsuz dudak damak yarıklarının etiolojisinde rol oynadığı düşünülen pek çok aday gen tespit edilmiş ve bildirilmiştir⁸.

Sendromsuz DDY burun ve ağız boşluğunun başka anomaliyle ilişkisi olmadan, tam olarak ayrılmaması ile karakterizedir⁹. DDY ve damak yarığı (YDA) ayrımı ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalar, %25-35'i dudak damak yarığı, %10-20'sinin sadece damak yarığı patolojisine sahip olduğunu göstermektedir. Ancak yarık fenotipi ile anamnez ve mendelyan kalıtım modelinin ilişkisini kanıtlamak için yapılan araştırmalar yetersiz kalmaktadır¹⁰. Embriyolojik olarak iki kategori birbirinden farklı olsa da, hem DDY hem YDA vakalarının erken embriyolojik evrede oluşumunun etkilendiği değişkenler aynıdır¹¹.

Bugüne kadar Avrupa, Asya, Amerika ve Afrika gibi dünyanın birçok bölgesinde, sendromsuz DDY'li bireylerde aday genlerin saptanması ve haritalanması konusunda araştırmalar yapılmıştır¹². *MSXI* genindeki varyantlar haritalanmış ve görülme sıklıkları (frekansları) çeşitli gen veritabanlarında rapor edilmiştir¹².

Bu çalışmada, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Ortodonti Anabilim Dalı'na tedavi olmak üzere başvurmuş, herhangi bir sendromu bulunmayan DDY'li toplam 40 hastadan alınan tükürük örnekleri üzerinde *MSXI* geninin ekzonları taranmıştır.

Taranan gen örneklerinde “sendromsuz DDY’li hastalarda *MSX1* gen polimorfizminin yarık bölgesindeki etkinliğinin incelenmesi” araştırmasının yapılması hedeflenmiştir.

Bu tez çalışmasının sıfır hipotezi, “Sendromsuz dudak damak yarıklı hastalarda *MSX1* gen polimorfizminin yarık bölgesindeki etkinliği açısından fark yoktur ” olarak belirlenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dudak ve Damağın Embriyolojik Gelişimi

Baş ve yüz gelişimi, çeşitli sinyal iletim sistemlerini, büyüme faktörlerini ve reseptörlerini, transkripsiyon ve transisyon faktörlerini, hücre adezyon moleküllerini ve ekstrasellüler matriks komponentlerini içeren metabolik gelişim sistemlerinin karmaşık bir bütününden oluşmuştur¹³.

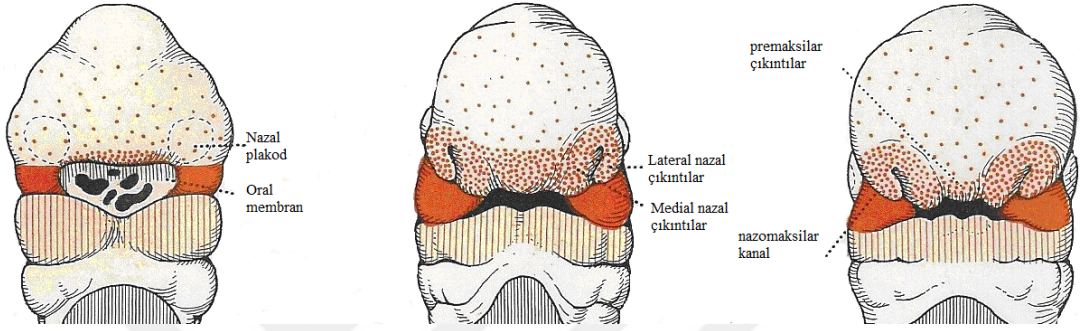
Tablo 1. Baş ve yüz gelişiminde rol oynayan faktörler (Stainer ve Moore 2004)

<i>Büyüme Faktörleri ve Reseptörleri</i>	<i>Egf, Egfr, Tgf, Fgf2, Fgf8, Fgf1, Fgf1r, Fgf2r</i>
<i>Sinyal Yolakları</i>	<i>Shh, Bmp2, Bmp4, Bmp7, Wnt5a, Smad2-4</i>
<i>Transkripsiyon Faktörleri</i>	<i>Ap2, Dlx1-6, Gli2-3, Hoxa2, Irf6, Lhx8, Pax9, Pitx2, Prx1, Msx1, Tbx1, Tbx22</i>
<i>Hücre Adezyon Molekülleri</i>	<i>Pvr1, Conn43, E- Kadherin</i>
<i>Ekstrasellüler Matriks</i>	<i>Col2A1, Col11A1, Col11A2, Mmp2-3, Mmp9, Mmp13, Timp1-3, Fibronektin</i>

Dudak ve damağın gelişim aşamasında; hücrelerin göçü, büyümesi, farklılaşması ve apoptoze (programlı hücre ölümü) uğraması gibi olaylar zinciri arka arkaya meydana gelir¹⁴. Embriyonik yaşamın başlangıç haftalarında anterior nöral tüpün dorsalinden köken alan nöral krest hücreleri mezenşim hücreleriyle yüz taslağını (fasiyal primordia) meydana getirmek için biraraya gelirler. Fasiyal primordia oluşum safhasında, anteriorda nöropodun kapanmasından önce, oral plaka çevresinde yapılar oluşmaya başlar. Stomedium kapanırken, oral membrana rostral ve notokordal plakanın eklendiği bölge başın orta noktası olarak geçmekte ve ileride burun, ağız, damak ve dudakları oluşturacak olan nazal, maksiller ve mandibular çıkıntıları (prominens) bulundurmaktadır¹⁵.

2.1.1. Damağın Embriyolojik Gelişimi

Embriyonel dönem, döllenmeyi izleyen ilk üç ayda organ taslaklarının yumuşak doku olarak meydana geldiği prenatal hayattır. Ön beyin hücre mitozu ile büyüyerek aşağı doğru eğimlenir ve alttaki birinci yutak kavisi ile arasında bir boşluk oluşur. 3 haftalık embriyoda stomedium olarak bilinen ilkel ağız boşluğu meydana gelmiş olur(Şekil 1)¹⁶.



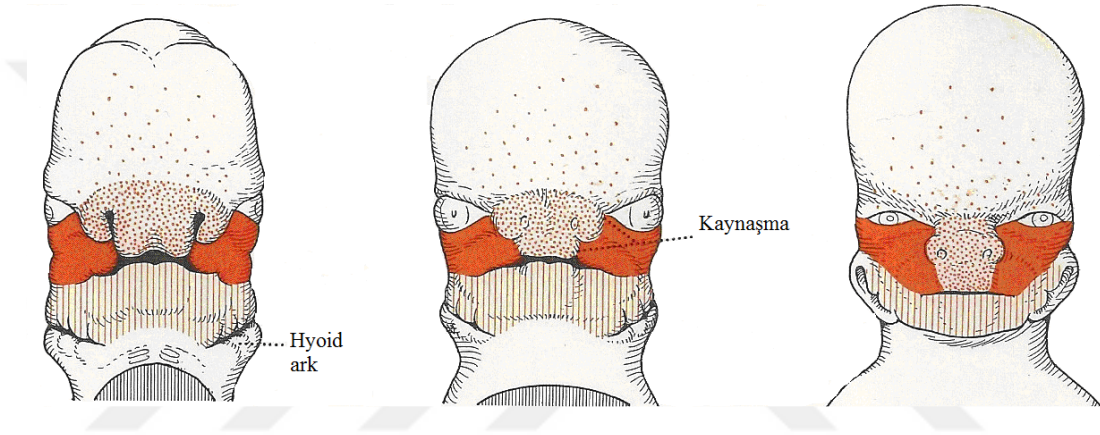
Şekil 1: Hamileliğin 4. ve 5. haftalarında yüz gelişimi

(Smith, C. P. ve ark., 1984. *Basic Human Embryology 3rd edition*. Pitman Publishing, 68, London)

Brankial arklar gelişimin 4. ve 5. haftalarında ortaya çıkmaktadırlar. Embriyonun dış görünümünde önemli etkileri bulunmakta ve boynun sağ ve sol bölgesinde çift halinde olmak üzere altı çifttir. En üstten başlayarak sırayla; birinci brankial ark (mandibular ark), ikinci brankial ark (hyoid ark), üçüncü brankial ark (hyotroid ark)'tır. 5. ve 6. arklar, 4. ve 5. haftalarda küçüktürler ve embriyonun yüzeyinde görülmezler¹⁷. Öte yandan birinci ve ikinci brankial arklar en gelişmiş olanlardır¹⁷.

Yüz gelişiminin önemli bir bölümü 4. ve 8. haftalar arasında gerçekleşmektedir. Dördüncü haftanın sonunda, 1. brankial arklar ile oluşturulan stomadeumun çevresinde beş adet fasiyal çıkıntı görülmektedir (Şekil 1). Stomadeumun lateral kısımlarında mandibular çıkıntılar meydana gelirken, kaudalinde maksiller çıkıntı oluşmuştur. Stomadeumun üzerinde ise fronto nazal (median nazal) çıkıntı ve fronto nazal çıkıntının ventrolateral kısımlarında olfaktif plakod denilen iki ektoderm kalınlaşması meydana gelmiştir¹⁸.

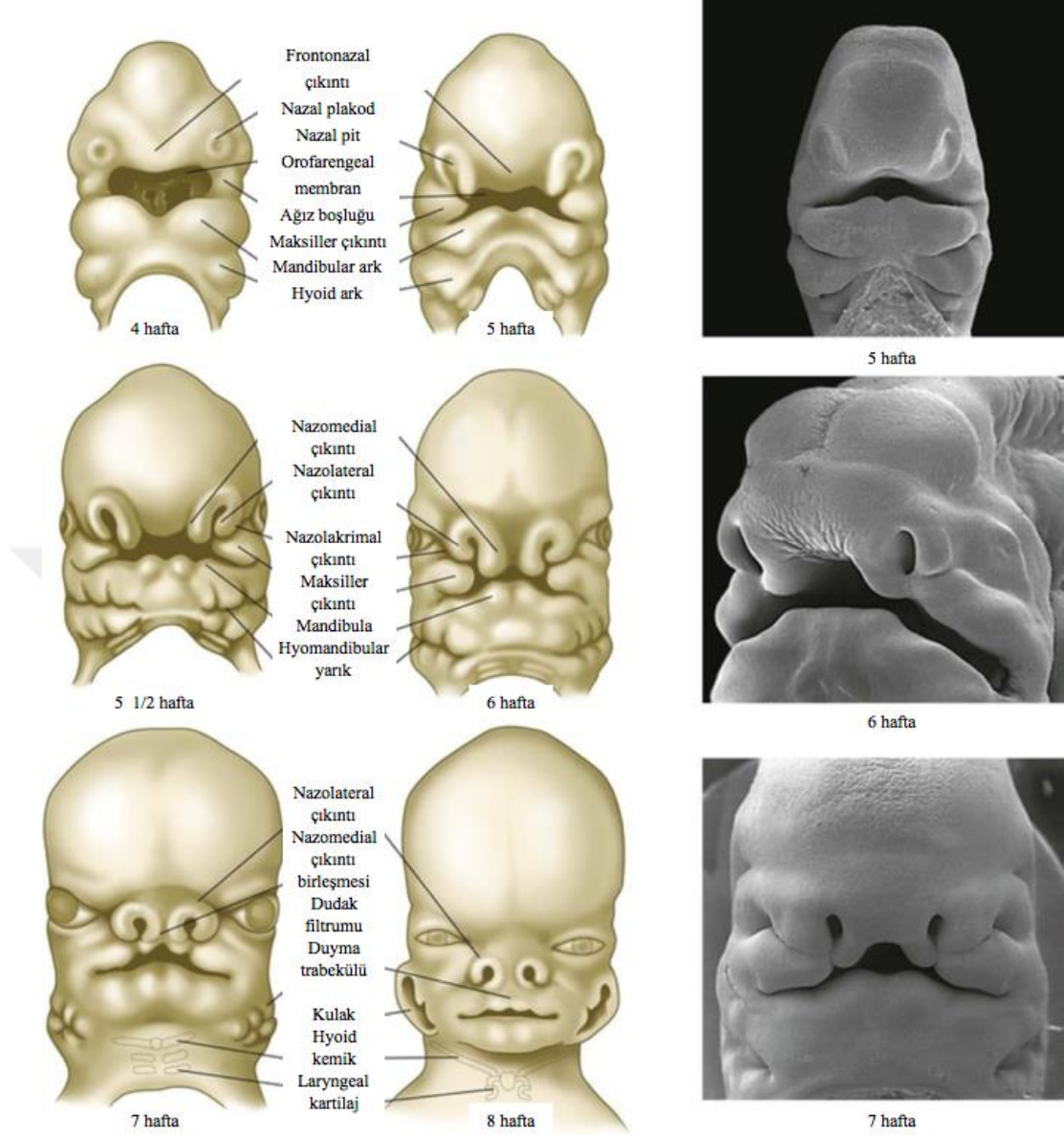
İlerleyen embriyonik evrede, mezoderm tabakası içerisine doğru girintiler (invaginasyon) ilerler ve nazofrontal çıkıntıyı üçe ayırır; sağ ve sol dış nazal çıkıntı, iç nazal çıkıntı. Olfaktif plakod invaginasyonları ilkel burun boşluğu başlangıcı olan nazal pitleri oluşturur. Gebeliğin 6-7. haftaları süresince nazal çukurun premaksillar ve lateral kısımları, burun deliklerine doğru (anterior, ön kısma) kaynaşır ve nazal çıkıntıların ve maksillar primordianın premaksillar kısımları primer damağın her bir kısmı ile kaynaşmaya başlar. (Şekil 2) Nazal kaviteleri oluşturacak iki nazal çukur meydana gelmeye başlar. Bu sırada iç nazal çıkıntı da burun septumu ve premaksillayı meydana getirecektir¹⁸.



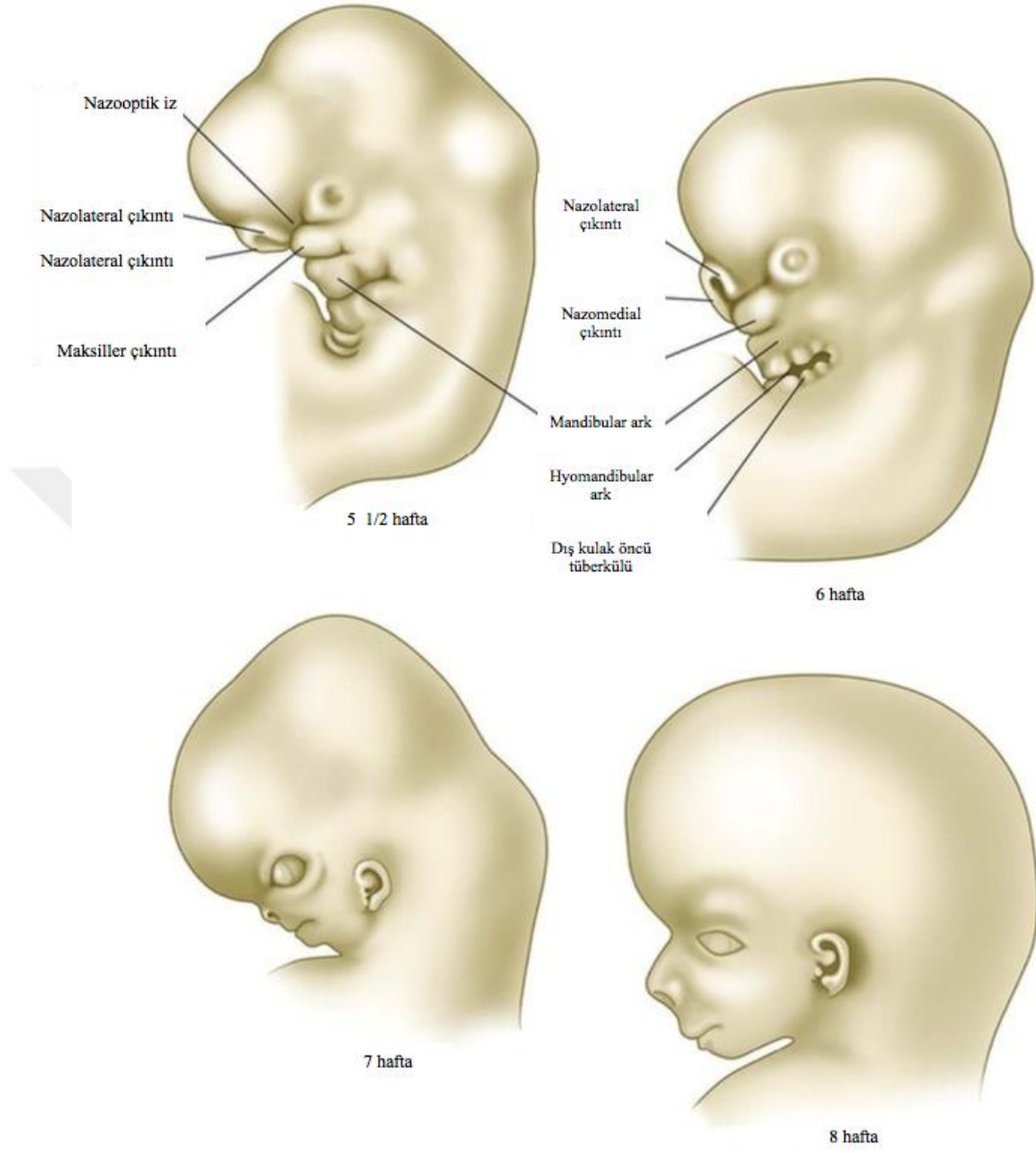
Şekil 2: Yüz gelişiminde 6.7. ve 8. Haftalar

(Smith, C. P. W., Williams, P.L. and Treadgold, S. 1984. Basic Human Embryology 3rd edition.

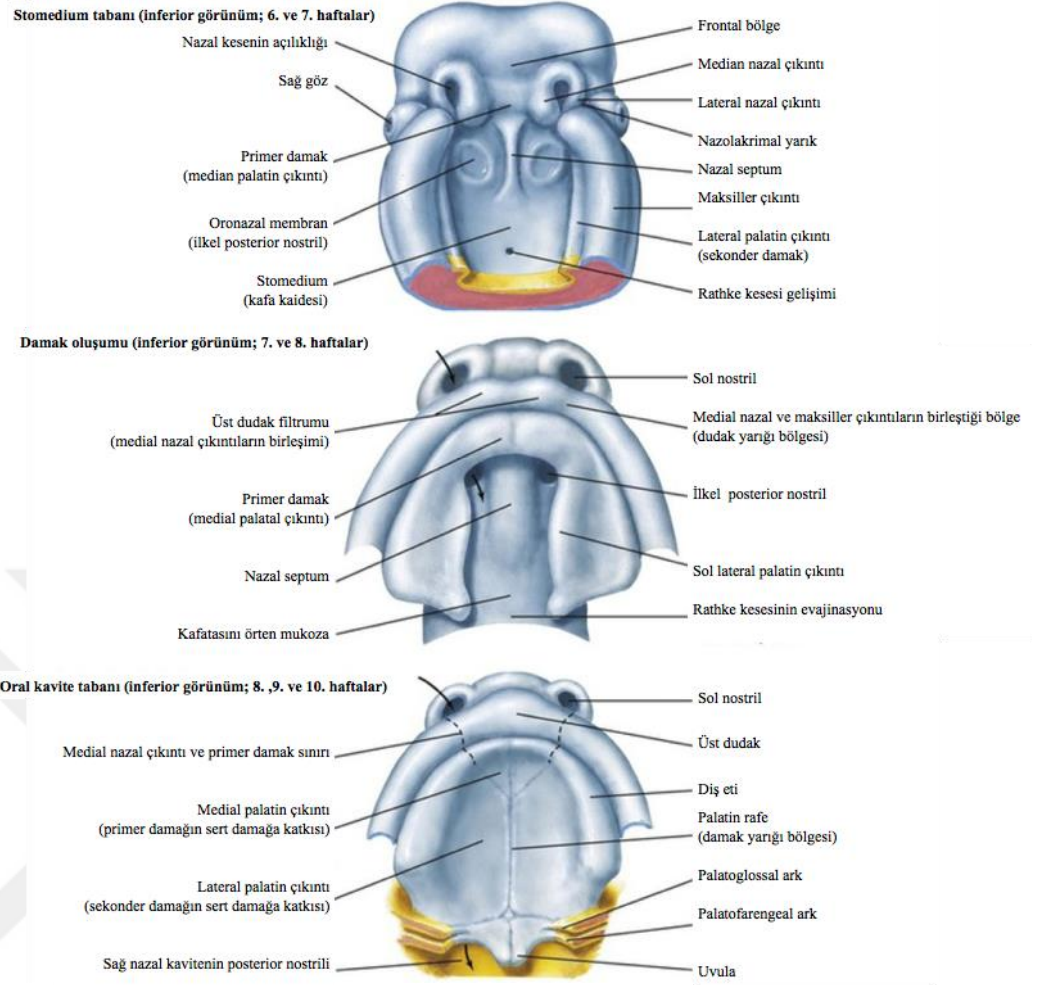
Damak gelişimi (palatogenezis) primer damak ve sekonder damak olmak üzere iki taslaktan meydana gelir. Embriyo 5 haftalık iken, maksiller çıkıntılar içlerinde yer alan mezodermin çoğalmasıyla mediala doğru ilerlerler ve nazal çıkıntı orta hat bölgesinde birleştirmeye başlar. Böylece nazal çıkıntı ve maksiller çıkıntılar üst dudak oluşturmaya başlar ve üst dudakın tümü, intermaksiller segment ile her iki maksiller çıkıntının birleşmesi oluşturur¹⁸.(Şekil 3-4). Alt dudak ise mandibular çıkıntılarının ise orta hat bölgesinde birleşmesiyle oluşmaya başlar¹⁹. Primer damak (foramen insizivum anterior) maksillanın kama şeklinde mezenkim tabakası olan intermaksiller segmentinden gelişmeye başlar. Primer damak üç kısımdan meydana gelmektedir, bunlar; üst dudakın filtrumunu oluşturacak olan kısım, dört kesici dişi içeren alveoler kısım (premaksilla) ve primer damağın bu dört keser dişi taşıyan kısımdır²⁰.



Şekil 3. 4. ve 8. haftalar arasındaki insan embriyosunun frontal ve lateral görünümü (<http://clinicalgate.com/head-and-neck-6/>)



Şekil 4. 4. ve 8. haftalar arasındaki insan embriyosunun frontal ve lateral görünümü (<http://clinicalgate.com/head-and-neck-6/>)(<http://clinicalgate.com/head-and-neck-6/>)

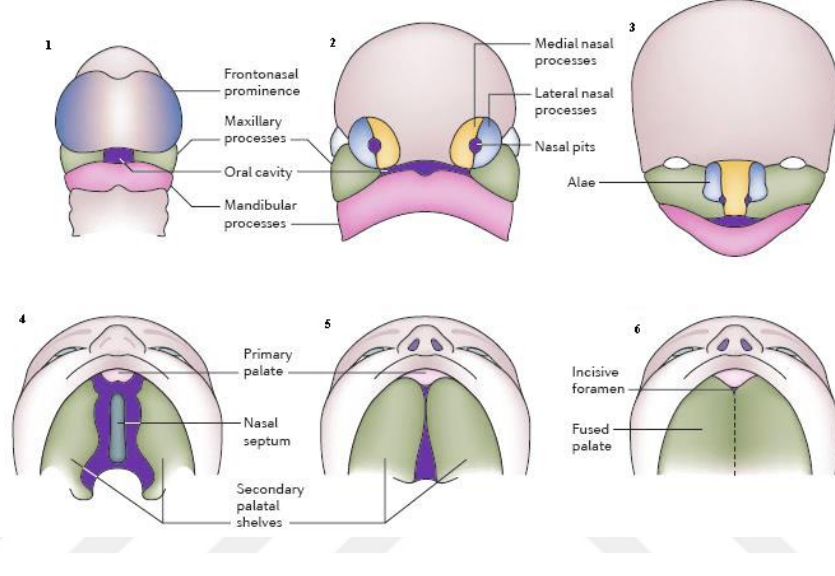


Şekil 5: Palatal bölgenin gelişimleri ve süreçleri
(www.netterimages.com.)

En kritik dönemin 6. haftanın sonundan 9. haftanın başına kadar olan dönem olduğu rapor edilmiştir. 6. haftanın sonunda maksiller çıkıntılar lateral nazal çıkıntılar ile birleşir ve nazolakrimal sulkus meydana gelir^{23,27}.

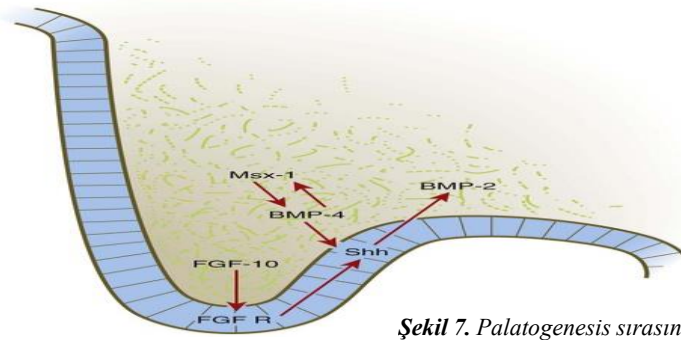
Sekonder damak, sert ve yumuşak damağın %90'ını meydana getirir (Şekil 5,6). Foramen incisivumun posteriorundaki sert ve yumuşak damak bölgelerinde çıkıntıların mediale doğru uzanan kısımlarının (palatal sehelves, palatin proçes, maksiller çıkıntı, maksiller uzantı) birleşmesiyle meydana gelir^{23,27}. Sekonder damak gelişimi üç evreden oluşur. I. evrede (6. gestasyonel hafta) maksiller kısımlardan uzanan iki mezenkim çıkıntısı (palatin proçes), gelişen dilin her iki yanında dikey yönde hareketleriyle başlamaktadır. II. evrede (7 ve 8. gestasyonel haftalar) lateral

çıkıntılarının ilerlemesiyle dilin üzerinde yatay konumda yerleşirler^{24,27}. III. evrede ise (9-10. gestasyonel haftalar) yatay konumdaki hücreler birbirine doğru ilerleyerek birleşirler bu hücresel aktiviteye mezodermizasyon da denilmektedir, ayrıca nazal septum ve primer damağın posterior kısımlarıyla da kaynaşarak sekonder damağı (foramen insizivum posterior) meydana getirirler.



Şekil 6. Dudak ve damağın embriyolojik gelişimi, sert damağın kaynaşması (Koyuncu M. 2012.)

10.haftada tüm çıkıntılar arasında birleşerek ve oronazal bölgeyi, oral ve nazal boşluklara ayırır^{26,27}. Palatal gelişim embriyonik hayatın 5. haftasında başlar ve yaklaşık olarak 12. haftaya kadar devam eder²⁷. Dudak, damak ve nazal dokular oluşurken fibroblastik büyüme faktörleri ve sonic hedgehog (shh) sinyal yolağı oldukça önemlidir^{27,28}. (Şekil 7).



Şekil 7. Palatogenesis sırasındaki sinyalsal etkileşimler (BMP, bone morphogenetic protein; FGF, fibroblast growth factor; FGF R, fibroblast growth factor receptor; Shh, sonic hedgehog). (<http://clinicalgate.com/head-and-neck-6/>)

Hedgehog yolağı, intrauterin dönemin gelişim safhalarında hücrelerin yönlendirilmesinde oldukça etkili sinyal iletim sistemi ile yakından ilişkilidir. Bu sinyal iletim yolağının düzenlediği süreçlere örnek olarak, hücre türünün belirlenmesi ve organların, sinir sisteminin, iskeletin, akciğerlerin, saçların, dişlerin ve gonadların gelişimi esnasındaki hücrelerin yapımlarından bahsedilebilir²⁹.

2.1.2. Dudağın Embriyolojik Gelişimi

Dudağın embriyolojik gelişimi damakla kıyasladığımız zaman daha basittir. Alt dudak, yaklaşık 11.-12. Haftalar arasında mandibular çıkıntı kısımlarından oluşmaktadır³⁰. Üst dudağı, maksillar çıkıntı kısımları meydana getirir. Maksillar çıkıntıların mediyale doğru göçü esnasında lateral ve mediyal nazal çıkıntılarında mediyale doğru hareket etmesine neden olur³⁰. Nazal çıkıntılar mediyalde kaynaşarak üst dudak filtrumunu ve Cupid yayını, burun ucunu ve ön kısmı oluşturur. Hareketlerine devam eden maksillar çıkıntılar üst dudak ve üst yanak gelişimine de devam eder³⁰.

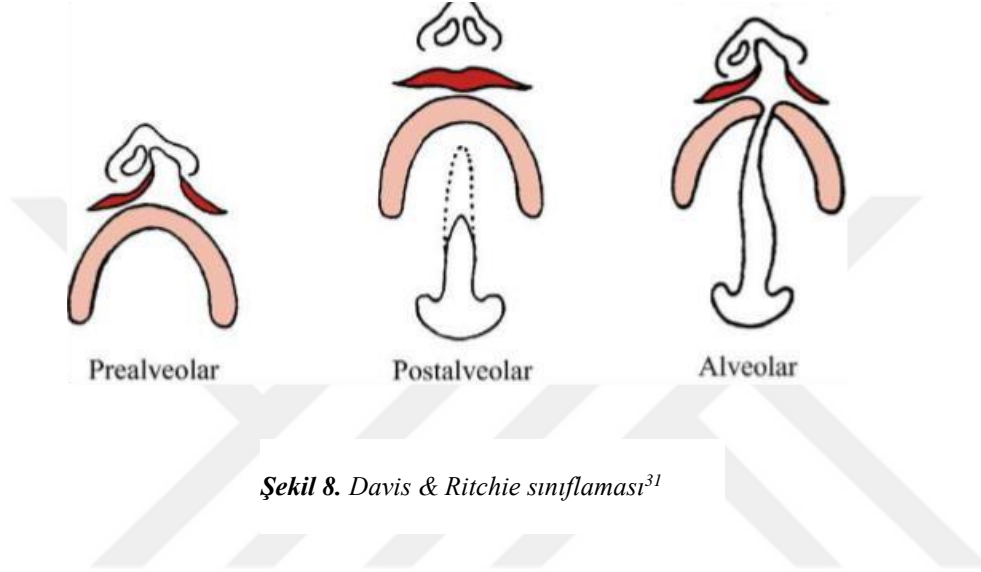
2.2. Dudak ve Damak Yarıklarının Sınıflandırılması ve Embriyolojisi

Dudak ve damak yarıkları günümüze kadar pek çok farklı açıdan sınıflandırılmış olmasına rağmen klasik bir sınıflandırma henüz rapor edilmemiştir. Dudak damak yarıkları başka bir sendroma eşlik edebileceği gibi (sendromik yarıklar), sendromlardan bağımsız (non-sendromik yarıklar) olarak da görülebilmektedir. Sendromsuz/non-sendromik veya Sendromlu/sendromik olmasının dışında oral yarıklar lokalizasyonlarına bağlı olarak da sınıflandırılabilirler.

2.2.1. Davis ve Ritchie Sınıflaması, 1922

Alveol ark temel alınarak sınıflandırma yapılan sınıflandırmadır. (Şekil 8)

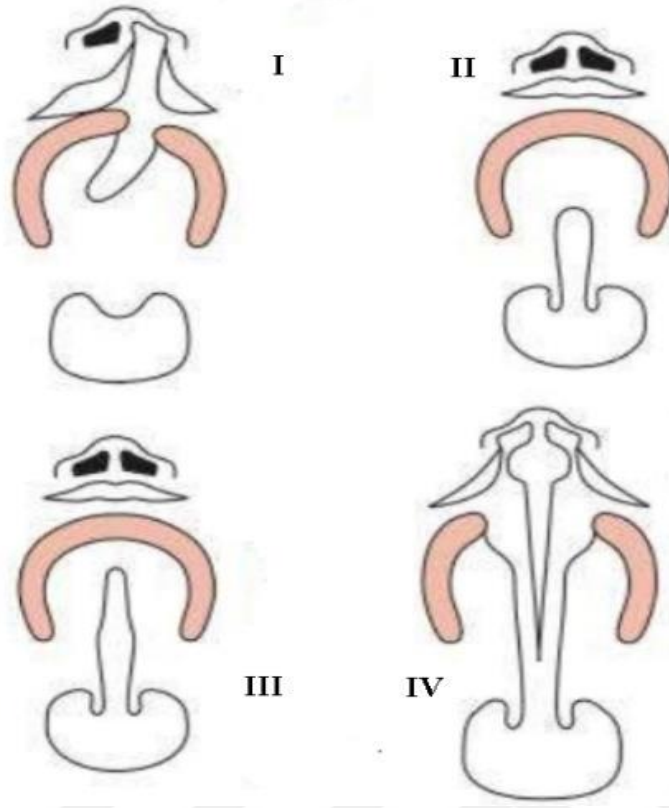
- Grup I: Prealveolar yarıklar
- Grup II: Postalveolar yarıklar
- Grup III: Tam yarıklar (damak, alveol, dudak yarıkları)³¹



2.2.2. Veau Sınıflaması, 1931

Bu sınıflama yerleşim yeri ve yarık tipine göre yapılmış basit sınıflamadır.(Şekil 9)

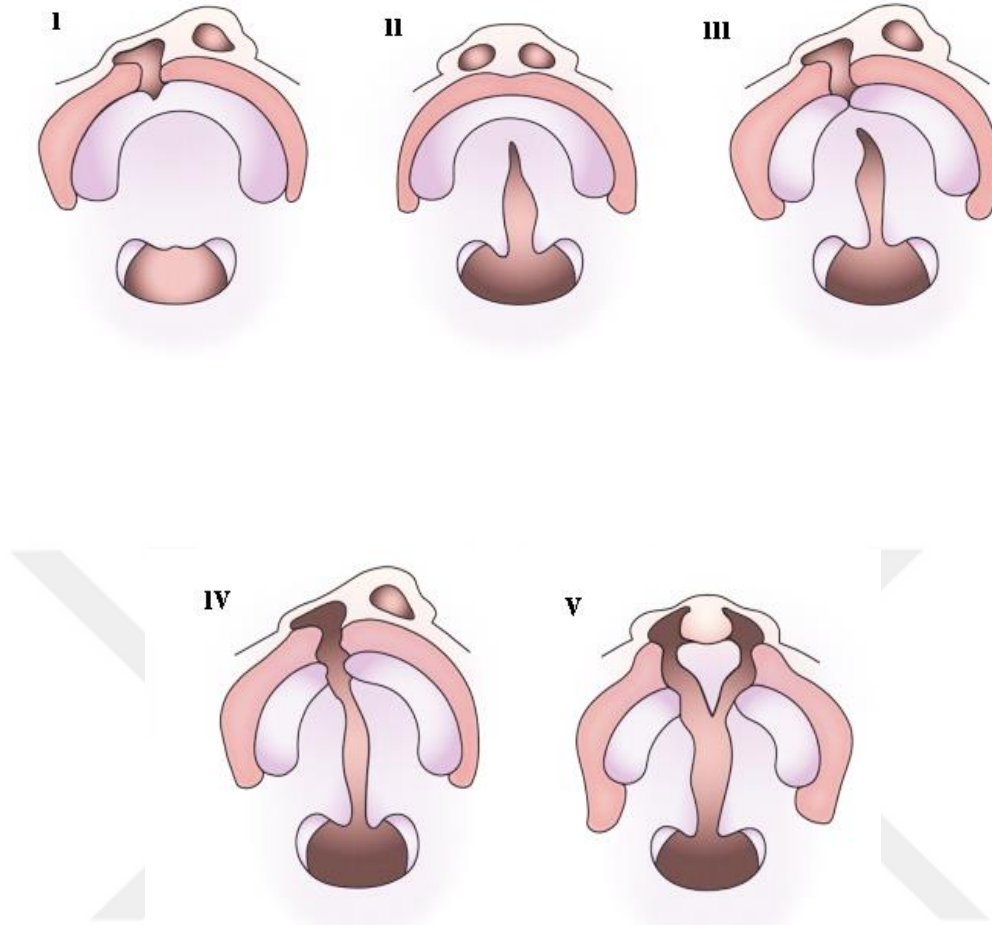
- Veau I: İzole yumuşak damak yarıkları
- Veau II: Yumuşak ve sert damağı içine alan yarık alanı (foremen incisivusun posteriorunda yer alır)
- Veau III: Tek taraflı yumuşak damak, sert damak, alveol ve çoğunlukla dudağı içeren yarık bölgeleri
- Veau IV: Çift taraflı yumuşak damak, sert damak, alveol ve çoğunlukla dudağı içeren yarıklar³².



Şekil 9. Veau Sınıflaması
(<https://www.researchgate.net/figure/Veau-classification>)

2.2.3 Moore Sınıflaması, 1988

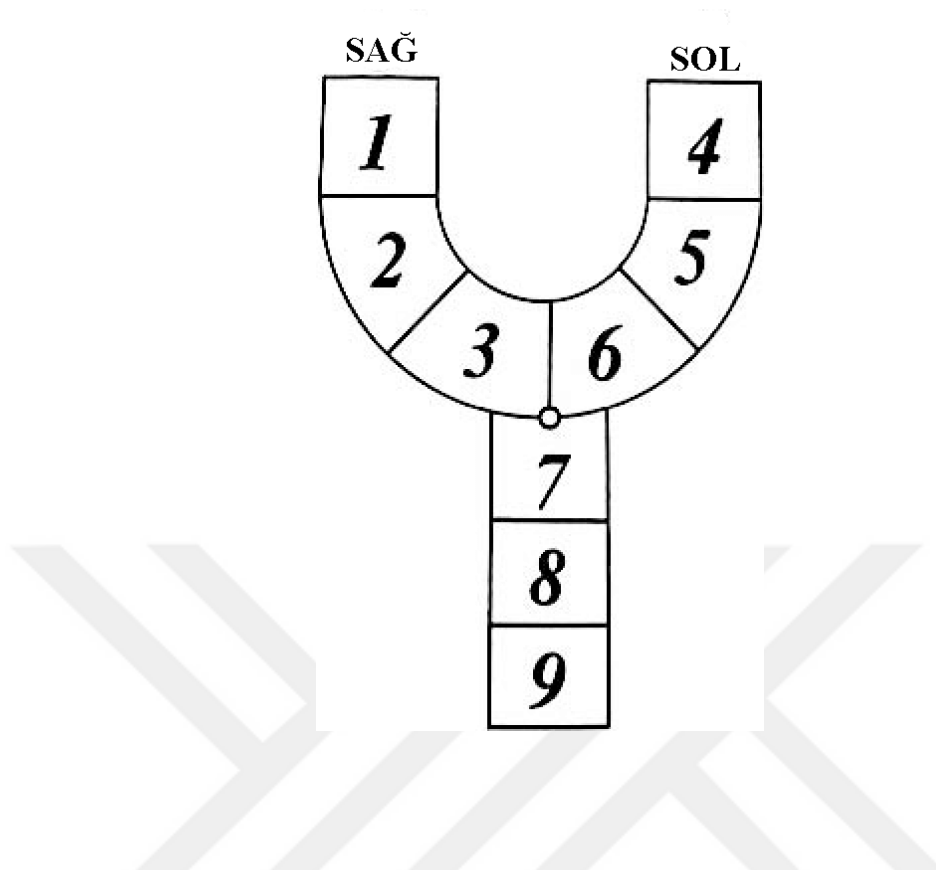
- I. Primer (Anterior/ön) damak yarıkları
- II. Sekonder (Posterior/arka) damak yarıkları
- III. Primer-Sekonder damak yarıkları
- IV. Tek taraflı (unilateral) damak yarıkları
- V. İki taraflı (bilateral) damak yarıkları (Şekil 10)³³



Şekil 10. Moore Sınıflaması
(<https://www.researchgate.net/figure/Nonsyndromic-orofacial-clefts>)

2.2.4. Kernahan ve Stark-Striped Y Klasifikasyonu, 1971

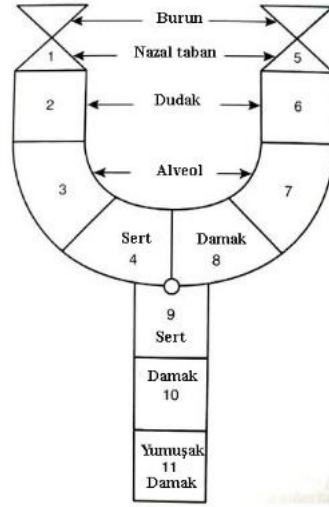
Embriyoloji göre yapılmış olan bir sınıflama çeşididir. Dudak damak yarıklarını sınıflandırırken insiziv foremenin anatomik ve embriyolojik önemini dikkate alıp, Y şeklinde bir şema kullanmışlardır³⁴. 1. ve 4. bölgeler sağ ve sol dudağı temsil eder. 2. ve 5. bölgeler sağ ve sol alveolü, 3. ve 6. bölgeler foremen incisivusun anteriorunda kalan primer damağı, 7 ve 8. bölgeler foremen incisivusun posteriorunda kalan sert damağı, 9. bölge ise yumuşak damağı temsil etmektedir. (Şekil 11)



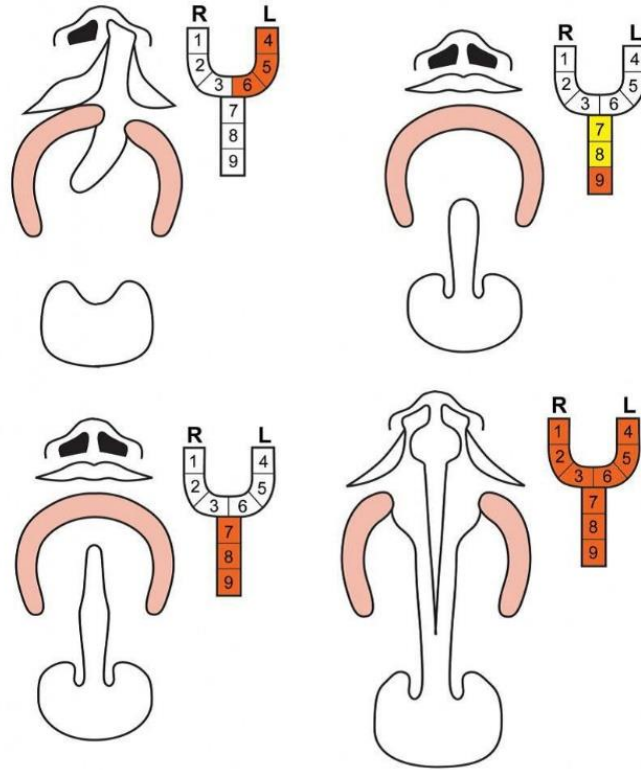
Şekil 11. Kernahan ve Stark-Striped Y <https://www.researchgate.net/figure/The-striped-Y-logo-designed-by-Kernahan>

2.2.5. Millard'ın Modifiye Kernahan Striped Y Sınıflaması, 1977

Daha sonra şemanın yetersiz olduğunu düşünerek Millard 1977'de bu sınıflandırmayı modifiye etmiştir³⁵. Kernahan Y şemasının üzerine eklediği üçgenimsi alanlar burnu ve nazal tabanı temsil eder. (Şekil 12)



Şekil 12. Milard'ın Modifiye Kernahan Striped Y sınıflaması
<http://www.yarikdudak.com/genelbilgiler/siniflandirma/> (2010)



Şekil 13. Kernehan'ın Y skalasına göre dudak ve damak yarıklarının oluşumu
<https://emedicine.medscape.com/article/837347>

2.2.6. Schutte ve Murray sınıflaması

1999 yılında sendrom ile birlikte görülüp görülmemesine göre yapılmış bir sınıflandırmadır.

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

2.2.7. Uluslararası Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Sınıflaması

Grup I – Dudak veya alveol defektleri

Grup II – Sekonder damak defektleri (sert damak, yumuşak damak veya hem sert hem yumuşak damak)

Grup III –Primer ve sekonder damağı içeren yarık kombinasyonları (unilateral veya bilateral olarak alt gruplara ayrılmaktadır.)

2.3. Dudak Damak Yarıklarının Epidemiyolojisi

Dudak damak yarığının insidansı etnik kökene bağı olarak değışiklik gösterse de, 1:500 oranla, en sık Asya kökenli bireylerde görülür. Beyaz ırkta görülme oranı 1:800 iken, siyah ırkta 1:1000 görülme oranı tespit edilmiştir³⁶.

Amerikada sendromsuz dudak ve damak yarık olgularının görülme oranı 1000 doğumda 1,5-2,5 arasında değışmektedir³⁸. İzole damak yarıklarının görülme insidansı canlı doğumlar arasında 0,5:1000 olduğunu ve bu durumun etnik kökene göre farklılık göstermediğini bildirmişlerdir. Kim ve ark. Kore’de dudak ve damak yarık fenotipi görülme insidansını tespit etmek için yapılan ülke çapında bir çalışmada bu oranı 1,81:1000 olarak rapor etmişlerdir³⁹. Tunçbilek ve arkadaşlarının ülkemizde yaptığı retrospektif çalışmada; 1229 hastanın kayıtları taranmış 793’ünde (%64.4) dudak damak yarığı, 436’sında (%35.6) izole damak yarığı rapor edilmiştir⁴⁰. İzole dudak yarığı ya da dudak damak yarığı vakalarının insidansı, Latin Amerika ve Asya

(Çin, Japonya) bölgelerinde yüksek; İsrail, Güney Afrika ve Güney Avrupa bölgelerinde düşük bulunmuştur. İzole damak yarık fenotipi ise en fazla Kanada ve Kuzey Avrupa'da, en az ise Latin Amerika ve Güney Afrika'da görüldüğü bildirilmiştir⁴¹. Afrikalılarda görülme sıklığı 0,43:1000; Asyalılarda görülme sıklığı 3,2:1000 ve Kafkaslılarda görülme sıklığı ise 1,4:1000'dir⁴².

Tablo 2. *Etnik kökene göre dudak damak yarıklarının görülme sıklığı (Birth Defect Risk Factor Series: Oral Clefts, Oral Clefts: 1-10 (2005))*

<i>Etnik Köken</i>	<i>İnsidans</i>
Asya	2.02: 1000
Kafkaya	1.43-1.86: 1000
Afrika	0.18-1.67: 1000
Amerika	1: 1000
Latin Amerika	1.04: 1000
Avrupa	1.2: 1000
Türkiyede	0.95: 1000

İzole dudak yarığı ya da dudak damak yarığı vakalarının insidansı, Latin Amerika ve Asya (Çin, Japonya) bölgelerinde yüksek; İsrail, Güney Afrika ve Güney Avrupa bölgelerinde düşük bulunmuştur. İzole damak yarık fenotipi ise en fazla Kanada ve Kuzey Avrupa'da, en az ise Latin Amerika ve Güney Afrika'da görüldüğü bildirilmiştir⁴¹. Afrikalılarda görülme sıklığı 0,43:1000; Asyalılarda görülme sıklığı 3,2:1000 ve Kafkaslılarda görülme sıklığı ise 1,4:1000'dir⁴².

İzole dudak yarığı ve dudak damak yarığı fenotiplerinin erkeklerde görülme insidansı daha yüksek iken, izole damak yarık fenotipinin kadınlardaki insidansının daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Ancak bu durumun farklı etnik gruplarda farklı olabileceği de bildirilmiştir⁴³.

Göyenç ve Karadede 1984-1991 yılları arasında Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalına başvuran 91 bebeğin dahil edildiği çalışmada; 6 kız (% 6,59), 3 erkek (% 3,30), toplam 9 bebekte (% 9,89) primer yarık, 17 kız (% 18,68), 16 erkek (% 17,58), toplam 33 bebekte (% 36,26) sekonder yarık, 9

kız (% 9,89), 40 erkek (%43,96), toplam 49 bebekte (% 53,85) total yarık gözlemediklerini rapor etmişlerdir⁴⁴. Bu vakalarda izole damak yarıklarının görülme insidansı, izole dudak yarığı ya da dudak damak yarıklarının görülme insidansından yüksek olduğu rapor edilmiştir.

2.4. Dudak ve Damak Yarıklarının Etiyolojisi

Oral yarıkların oluşum nedenleriyle ilgili yapılan oldukça fazla çalışma bulunmasına rağmen etiyojisi ve patojenitesi hala tam anlamıyla açıklığa kavuşturulamamıştır⁴⁵. Ancak dudak damak yarıklarının, genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle meydana geldiği bilinen bir durumdur^{45,46}. Genetik ve moleküler biyoloji alanlarındaki çalışmalar dudak damak yarıklarının genetik temelini aydınlatmak için araştırmalara devam etmektedir⁴⁶.

Dudak damak yarıklarının %30'luk kısmı kromozom anomalileri olarak bilinen ve genotipleri tanımlanamayan sendromlara bağlı olarak (sendromik dudak damak yarıkları) gelişirler. Mendelyen tipte bir kalıtım gösteren; Stickler Sendromu, fetal alkol sendromu, DiGeorge Sendromu damak yarıklarıyla birlikte gözlemlenmiş sendromlardır⁴⁵. DDY ile birlikte en fazla görülen sendrom ise Van der Woude Sendromudur⁴⁶. Sendromlu dudak damak yarıklarına neden olduğu bilinen mutasyon genlerinden bazıları *FGFR1*, *TP63*, *MSX1*, *TBX22*, *PVRL1* ve *PTCH1* olduğu söylenebilir. 4. kromozom üzerinde yer alan (4p16.3-p16.1) *MSX1* genindeki mutasyonlar oral yarık, hipodonti ve tırnak displazisi ile görülen otozomal dominant geçişli Witkop sendromundan sorumludur⁴⁷. Yarık dudak damakları %70 oranında, Mendelyen tipi kalıtım göstermez ve sendromik bir bileşeni olarak ortaya çıkmaz.

Tek yumurta ikizlerinde dudak damak yarık oluşumunun %100 uyumlu olmaması (diskordans) genetik faktörlerin tek başına etkili olmadığını göstergesidir⁴⁸. Yapılan başka ikiz çalışmalarında monozigot karakterdeki ikizlerin %40-60, dizigot karakterdeki ikizlerin %5 oranında patolojiyi beraber taşıdıkları rapor edilmiştir⁴⁸. Monozigot karakterli ikizlerdeki yüksek insidans genetik etiyojiji desteklerken, oranın %100 olmaması genetik faktörlerin dışında çevresel faktörlerin de etkisi olduğunu kanıtlamıştır. Çevresel faktör olarak; gebelik döneminde uygulanan beslenme diyeti, anti-epileptik ilaç, alkol ve sigara kullanımı; folik asit ve

multivitamin eksiklikleri, viral enfeksiyonlar ve teratojenlere maruz kalma gibi durumlar yapılan araştırmalarda ön plandadır⁴⁹.

Klinik olarak saptanan yarık fenotipi, bahsedilen etkenlerin toplamının belirli bir eşiği aşmasıyla meydana gelmektedir. Bu multifaktöriyel eşik modeli olarak da tanımlanmaktadır. Fakat son yıllarda, segregasyon analiz yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalar, hastalığın ortaya çıkmasını düşük derecelerde etki eden çok sayıda faktörün etkilerinin toplamının bir eşiği aşabilmesine değil; daha majör etki gösteren daha az sayıdaki genetik faktörün hastalık riskini artırma etkisine de bağlı olduğunu rapor etmişlerdir^{48,49,50}.

2.5. Sendromsuz (Non- Sendromik) Dudak ve Damak Yarıklarında Çevre ve Kalıtımın Rolü

2.5.1. Çevrenin Rolü

Dudak damak yarıklarının meydana gelmesine neden olan birçok teratojen ile ilgili araştırma yapılmıştır. Danimarka' daki Fogh-Andersen'a göre, dudak ve damak yarıklarının insidansı son 50 yıl içinde iki kat ve son 100 yıl içinde üç kat artmıştır⁵¹. Finlandiya'da, Rintala ve arkadaşlarının yapmış olduğu 30 yıllık takip çalışmasında ise yarık damak ve dudak fenotipinin hızla artış eğiliminde olduğu açıkça rapor edilmiştir⁵². Yapılan bu çalışmalar gösteriyor ki, çevresel faktörler giderek artmaktadır. Bu faktörler arasında en etkili olanlar; izotretinoin, fenitoin, valproik asit ve primidon gibi bazı antikonvülsanlar, maternal sigara ve alkol tüketimi, maternal diyabet, kortikosteroidler, folik asit antagonistleri ve beslenme yetersizliği ve bazı viral enfeksiyonlar olduğu belirtilmiştir⁵³. Araştırmacılar gebeliğin ilk dönemlerinde folik asit kullanımı ve multivitaminlerin hiç kullanılmamasının dudak damak yarığı oluşumunda 3 kat daha fazla etkili olabileceğini tespit etmişlerdir⁵⁴. Bunun yanında çinko eksikliği ve kolesterol dudak damak yarıkları ile ilişkilendirilirken, multivitamin kullanımı koruyucu olduğu tespit edilmiştir.

Dudak damak yarıklarına yatkınlığa neden olan bazı genetik varyantların, bir takım çevresel faktörlerle bağlantılı olduğu yönünde de raporlar vardır. Sigara kullanımının *TGF α* genindeki varyantlarla bir araya geldiğine, bireylerde damak

yarığı oluşumunu 6 ile 8 kata kadar, dudak damak yarığı oluşumunu ise 2 kata kadar artırdığı tespit edilmiştir⁵⁵. Benzer şekilde sigara ve alkol kullanımının *TGFb3* ve *MSXI* genindeki varyantlarla, vitamin A alımının *RARA* genindeki değişikliklerle ve folat eksikliğinin *MTHFR* ve *RFC1* genlerindeki değişikliklerle bir arada bulunmasının DDY oluşma riskini arttırdığı yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir⁵⁶. *TGFα* ve *MSXI* genlerindeki değişkenlerin bir arada bulunmasının yarık damak insidansını 9,7 kat artırdığını Jugessur ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları araştırmada rapor etmişlerdir⁵⁷.

2.5.2. Genetiğin Rolü

Farklı popülasyonlardan hastaların %20'sinin hereditesi olumlu olsa bile, genetik faktörlerin bu konjenital faktörün ortaya çıkmasında çok önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir. Non-sendromik dudak damak yarıklarının meydana gelmesinde etken olan genetik varyantlarla ilgili çalışmalar pek çok aday geni ortaya çıkarmıştır. Bunlar arasında büyüme faktörlerini (*TGFα*, *TGFβ*) kodlayan genler; *MSXI*, *TBX22* transkripsiyon faktörlerini kodlayan genler; *CYP1A1*, *GSTM1*, *NAT2*, *MTHFR*, *RARA* gibi genler örnek olarak gösterilebilir⁵⁸. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda DDY için birçok aday gen gösterilmiştir bazıları ise ön plana çıkmıştır. Ön planda olan bu aday genlerden bazıları *Tablo 3*'te verilmiştir.

2.5.2.1. Genetikte Genel Tanımlar

Dudak damak yarığına neden olduğu düşünülen genlerle yapılan, ilişkilendirme çalışmalarında birçok aday bölge, farklı insan popülasyonlarında araştırılmıştır⁵⁸. Genetik, canlılarda fenotipin oluşumunu, nesilden nesile geçişini, geçiş aşamasındaki izlenen sırayı, canlının atalarına benzemesini ve onlardan farklılık göstermesinin nedenlerini ve çeşitliliği araştırır⁵⁹.

Canlılarda metabolik olaylar, protein molekülleri tarafından biyokimyasal reaksiyonlar sonucu oluşur. Her bir protein, yüzlerce aminoasitin özgül diziliminden meydana gelmiştir. Genetik bilgi, bir hücrenin içinde proteinlerin üretilmesi için

yapılan dizilimdir. Hücrelerin hepsi üretilmesi gereken tüm proteinleri oluşturamaz hücre tipine bağlı olarak gerekli özgül proteinleri oluşturur. Bu yönlendirmelerin hepsi ayrı birimler olan genlerde şifrelenmektedir^{59,63}.

Tablo 3. Dudak-damak yarığında etkili olan genler

(Carinci ve ark.,2007, Wong ve ark.,2004., Lidral ve ark.,2008, Vieira ve ark.,2005, Mangold ve ark.,2012, Sahoo ve ark.,2011, Ghassibe-Sabbagh ve ark.,2011, Hong ve ark.,2012)

Non-sendromik DDY Genleri	Lokusları	Tanımlandıkları Yıl
OFC2	2p13	1989
OFC1	6p24-p23	1990
RARa	17q21.1	1992
OFC6/IRF6	1q32.3-q41	1992
OFC4	4q21-q31	1994
OFC3/MTHFR	19q13	1995
MSX1	4q16	1997
OFC7/PVRL1/TGFB3	11q23.3	1998
OFC8/TP73L	3q28	1999
OFC9	13q33.1-q34	2002
OFC10/SUMO1	2q33	2006

Tablo 4. Genetik kod tablosu⁶⁰ (biyodoc.com%2FProtein sentezi.html&psig=AOvVaw3FEkkpTx_5TpiYQC1rQyVH&ust=1567691541635269)

		İKİNCİ BAZ SIRASI									
		U		C		A		G			
BİRİNCİ BAZ SIRASI	U	UUU	Fenilalanin	UCU	Serin	UAU	Triozin	UGU	Sistein	U	ÜÇÜNCÜ BAZ SIRASI
		UUC	Fenilalanin	UCC	Serin	UAC	Triozin	UGC	Sistein	C	
		UUA	Lösin	UCA	Serin	UAA	Stop kodon	UGA	Stop kodon	A	
		UUG	Lösin	UCG	Serin	UAG	Stop kodon	UGG	Triptofan	G	
	C	CUU	Lösin	CCU	Prolin	CAU	Histidin	CGU	Arjinin	U	
		CUC	Lösin	CCC	Prolin	CAC	Histidin	CGC	Arjinin	C	
		CUA	Lösin	CCA	Prolin	CAA	Glutamin	CGA	Arjinin	A	
		CUG	Lösin	CCG	Prolin	CAG	Glutamin	CGG	Arjinin	G	
	A	AUU	İzolosin	ACU	Treonin	AAU	Asparajin	AGU	Serin	U	
		AUC	İzolosin	ACC	Treonin	AAC	Asparajin	AGC	Serin	C	
		AUA	İzolosin	ACA	Treonin	AAA	Lizin	AGA	Arjinin	A	
		AUG	Metionin	ACG	Treonin	AAG	Lizin	AGG	Arjinin	G	
	G	GUU	Valin	GCU	Alanin	GAU	Aspartik asit	GGU	Glisin	U	
		GUC	Valin	GCC	Alanin	GAC	Aspartik asit	GGC	Glisin	C	
		GUA	Valin	GCA	Alanin	GAA	Glutamik asit	GGA	Glisin	A	
		GUG	Valin	GCG	Alanin	GAG	Glutamik asit	GGG	Glisin	G	

Canlılarda bulunan 20 aminoasitin her biri ayrı bir şifre ile kodlanır. Bunlar büyük bir molekül olan DNA'nın (Deoksiribonükleik asit) nükleotit bazlarıdır. DNA, genetik şifre olarak adlandırılan genetik bilgi sisteminin hafıza molekülüdür. Canlılardaki bu genetik şifre; -A (Adenin), G (Guanin), T (Timin), C (Sitozin)-harfleri ile başlayan kimyasal isimleri olan, yapay zekadaki sıfır ve bir rakamlarından oluşan ikili sistemin aksine; dört nükleotit bazından oluşan dörtlü bir sistem kullanmaktadır. Bu dörtlü şifre, üçlü kodon adı verilen yapı taşı kullanmaktadır. (Tablo 4.). Bu genetik şifre evrensel olup bitki ve virüsler dahil olmak üzere tüm canlılarda kullanılmaktadır^{63,64}.

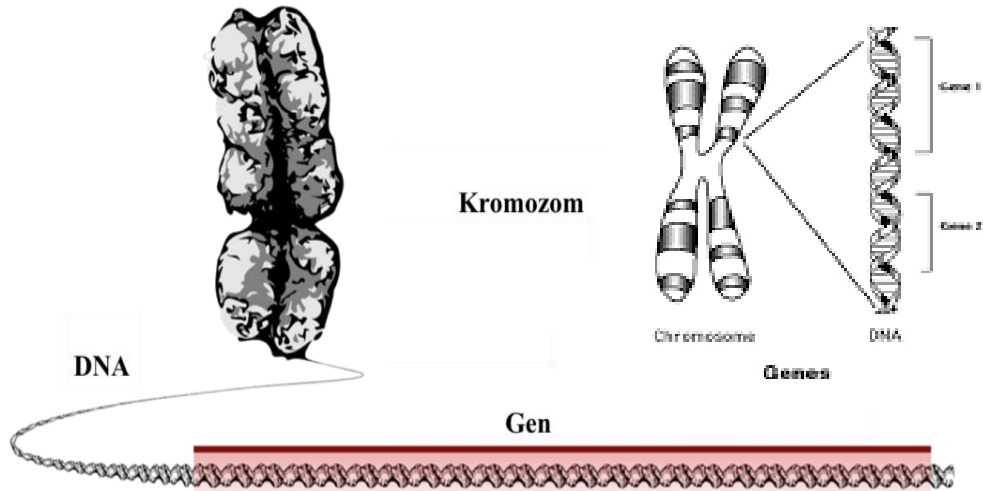
Genler kromozomların üzerine dizilmiştir. Kromozomlar ise hücre çekirdeğinde biri anneden diğeri babadan gelen homolog çiftler halindedirler. Genler her kromozomun üzerinde doğrusal bir şekilde dizilmiştir (Resim 24). Her genin,

lokus olarak adlandırıldığı belirli bir pozisyonu vardır. Genler ekzon (kodlayan) ve intron (kodlamayan) diziler olarak adlandırılan bölümden meydana gelmiştir⁶³.

2.5.2.2. DNA

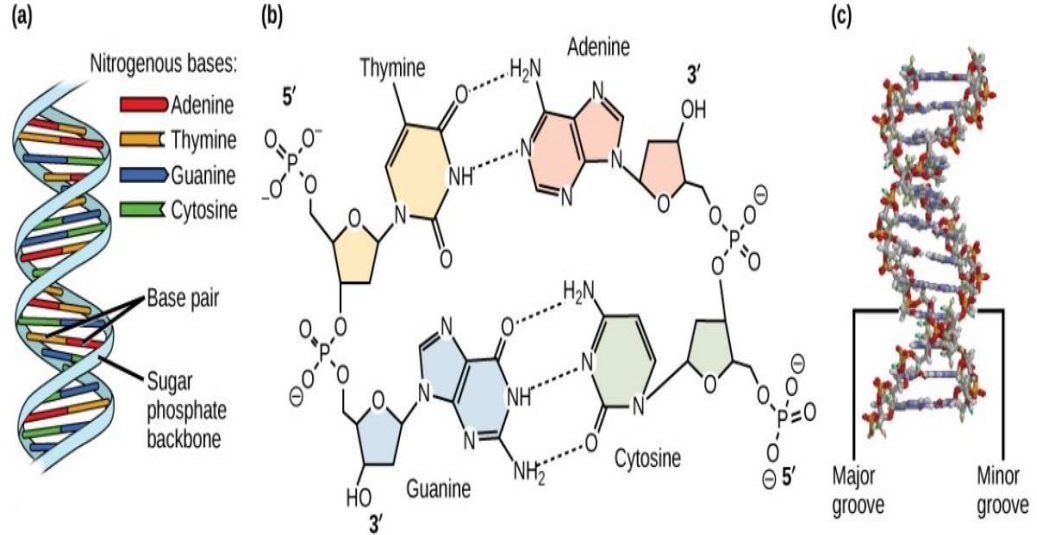
Deoksiribonükleik asit, “DNA” bir nükleik asittir ve genetik şifre olarak adlandırılan genetik bilgi sisteminin bir hafıza molekülüdür. Yirminci yüzyılın en büyük keşfi 1953’te James Watson ve Francis Crick tarafından yapılmıştır^{63,64}.

İki uzun polinükleotit zinciri bir merkez etrafında kıvrılarak sarmal yapıyı meydana getirir. Bu iki zincir birbirine ters yönde ilerler. Yani C-5’ ucu ile C-3’ ucunun yönleri birbirlerine göre terstir. Azotlu bazlar birbirlerine hidrojen bağları ile bağlıdır. DNA’da dört farklı nükleotit vardır. Her bir DNA nükleotitinde dört azotlu bazdan “A, G, T, C” bir tanesi bulunur. Bu eşleşme $A=T$ veya $G=C$ arasında gerçekleşmektedir. Bu dört baz çeşitli kombinasyonlarla, sonunda proteinin aminoasit dizilimini belirleyen genetik kodu oluşturur⁶⁶.



Şekil 14. Genin kromozomlar üzerinde dizilimi
(https://en.wikipedia.org/wiki/File:Chromosome_DNA_Gene.svg)

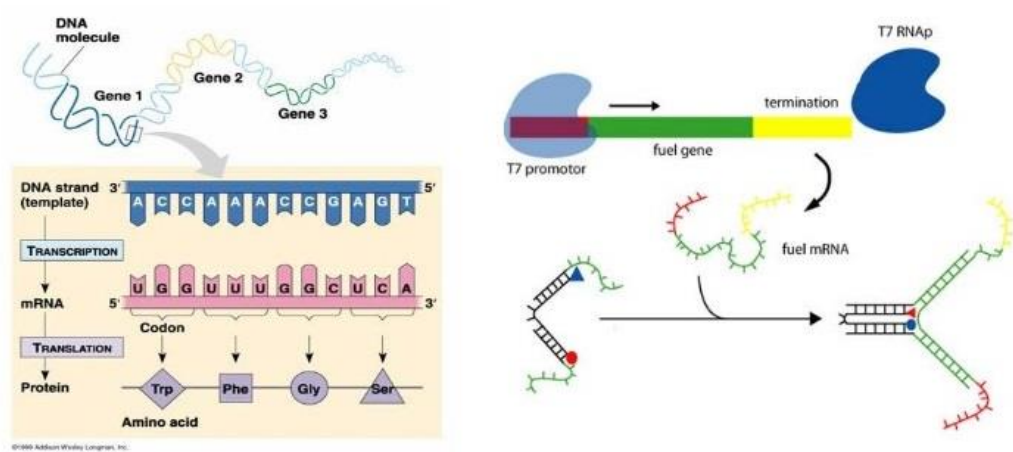
Baz çiftleri arasında olan birbirini tamamlama özelliği DNA replikasyonu ve gen ifadesi için temeldir. DNA iplikleri tamamlayıcı moleküllerin sentezi için kalıp görevi görmektedir⁶³.



Şekil 15. DNA'nın kimyasal yapısı a) duble heliks yapısı b) fosfodiester bağlar c) büyük ve küçük oluklar, transkripsiyon (DNA'dan RNA'nın kopyalanması) ve çoğaltma gibi işlemler sırasında DNA bağlayıcı proteinler için bağlanma bölgeleridir. (<https://courses.lumenlearning.com/wm-biology1/chapter/reading-structure-of-dna/>)

2.5.2.3. Gen Ekspresyonu

Bir organizmanın genetik yapısını DNA da bulunan dNTP dizileri belirler ve bu bilginin ifade edilmesi ise (protein sentezi) RNA'lar aracılığı ile sağlanır. Gen ekspresyonu da haberci RNA (mRNA) molekülünün senteziyle yani transkripsiyon işlemi ile başlar. Transkripsiyonda DNA çift sarmalından birisi kalıp olarak kullanılır ve bu kalıbın da belli bölgesi kopyalanır. Gen ekspresyonu transkripsiyon ve translasyon işlemlerinin bütünüdür⁶⁴. (Şekil 16)

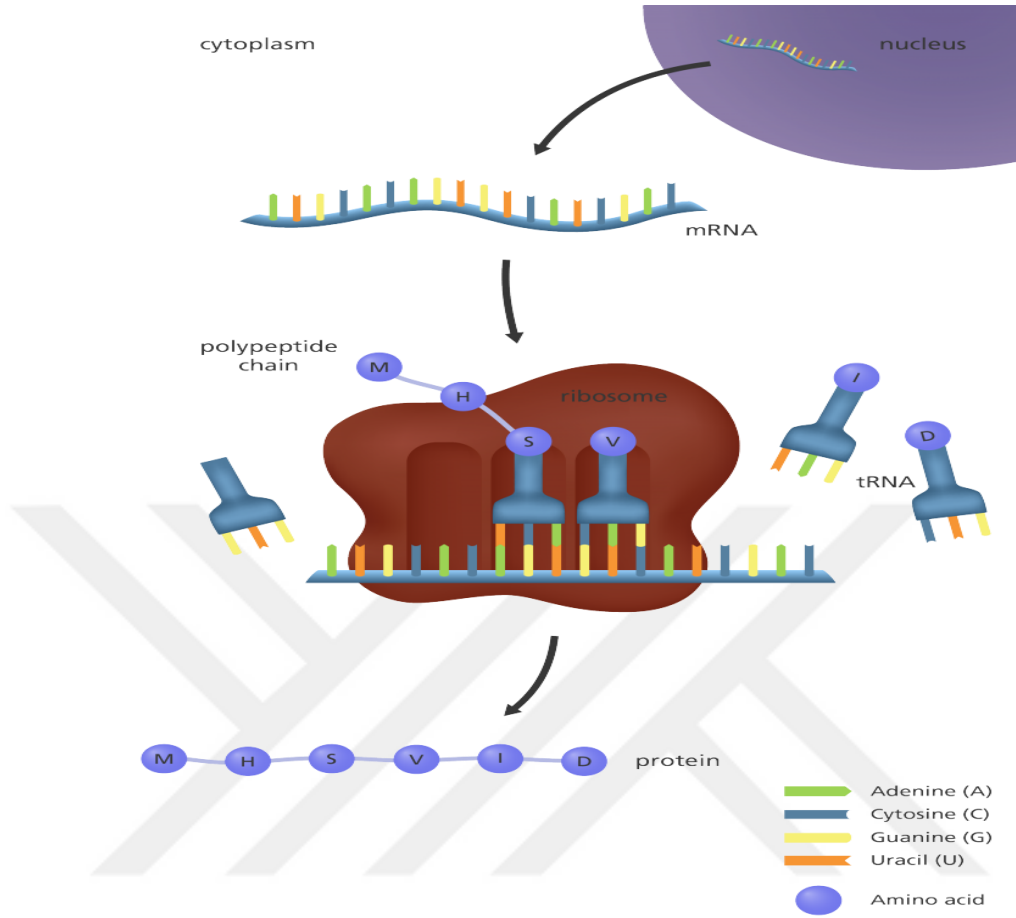


Şekil 16. Gen Ekspresyonu (transkripsiyon ve translasyon işlemi)⁶⁵
(<https://studylibtr.com/doc/1080107/gen-ekspresyonunun-kontrolü-ve-düzenlenmesi>)

Genin transkripsiyonu, kodlayan dizinin 5' ucundaki kromozomal DNA'daki başlangıç bölgesi ile başlar ve kromozomda ekzon ve intronlar boyunca devam eder. Primer RNA transkriptinin 5' ve 3' modifikasyonlarından introna karşılık gelen kısımları çıkartıldıktan (splicing) sonra ekzona karşılık gelen parçalar birleştirilir⁶⁵ (Şekil 16)

Primer RNA transkripti, 5' ucuna kimyasal bir başlık (cap) yapısı eklenmesi, kodlayan bölgenin sonundaki özgül bir noktadan 3' ucunun kesilmesi ile işlenir. Bu kesilmeyi RNA'nın stabilitesini artıran polyA kuyruğunun 3' ucuna eklenmesi izler. Poliadenilasyon noktasının yeri genellikle RNA transkriptinin 3' ucunda bulunan ve proteine çevrilmeyen kısmında yer alır. Kodu kopyalayan mRNA çekirdekte sitoplazmaya geçer ve protein yapım işlemi başlar⁶⁶.

Genlerin son ürünü olan protein polimeri insan vücudunda 20 farklı çeşidi bulunan aminoasit monomerlerinden oluşur. mRNA molekülündeki üçlü nükleotit baz dizisinden oluşan genetik kod, DNA'da depolanan bilgiyi yansıtır ve protein zincirine dahil olması gereken özgül aminoasitin girişinin belirlenmesini sağlar. Transkripsiyonla (Şekil 17) RNA'ya kopyalanan, protein polimerine ait genetik bilgilerin okunması veya protein polimeri haline çevrilmesine translasyon (Şekil 17)denilir. Bu işlemler moleküler genetiğin santral dogmasını oluşturur⁶⁴.



Şekil 17. Transkripsiyon ve translasyon (Genome Research Limited)

2.5.2.4. Mutasyon Tanımı ve Çeşitleri

DNA, orijinal genetik bilgiyi koruma eğiliminde de olsa maruz kalabilmektedir. ‘Mutasyon’ DNA dizisindeki (genotipte) meydana gelen kalıtsal değişiklikler olarak tanımlanabilir. Mutasyon bir baz çiftinin yer değişiminden, bir delesyondan (çıkma) ya da daha fazla baz çiftinin insersiyonundan (girme) oluşabilir ve protein yapısında değişikliğe ya da o proteinin hiç yapılamamasına neden olabilir⁶⁴.

Bu, nükleotit dizisindeki bir değişiklik veya DNA dizilerinde yeni bir yapılanma anlamına gelmektedir. Genotipte meydana gelen bu değişiklik fenotipe

yansıyabilir veya yansımayabilir. Bu, mutasyonun nerede meydana geldiğine ve geni ne denli etkilediğine bağlı olarak değişir⁶⁴.

Mutasyonlar, germ hücrelerinde (soyhattı) ya da somatik hücrelerde görülebilmektedir. Germ hücrelerde gerçekleşen mutasyonlar, nesilden nesile aktarılabilir ve kalıtımlaşabilir. Bunlar kalıtımla geçebilir, genetik çeşitliliğin ve evrimin de temelini oluşturur. Somatik hücrelerde oluşanlar ise lokalize hücre ölümlerine, hücre fonksiyon değişikliğine ya da tümör oluşumuna neden olabilirler⁶⁴.

Mutasyonlar kendiliğinden, (doğal mutasyonlar-Spontane mutasyonlar) oluşabilir ya da organizmanın çevresel koşullardan etkilenmesi sonucu indüklenebilirler (yapay/yönlendirilmiş)⁶⁸.(Suni mutasyonlar-Deneysel mutasyonlar)

Mutasyonları kalıtsal madde değişikliğinin yapısına göre 3 gruba ayırmışlardır⁶⁸.

1. Kromozom mutasyonları: Kromozom yapılarını etkiler.
2. Genom mutasyonları: Kromozom sayısını etkiler.
3. Tek gen mutasyonları: Her bir genin değişimine neden olur.

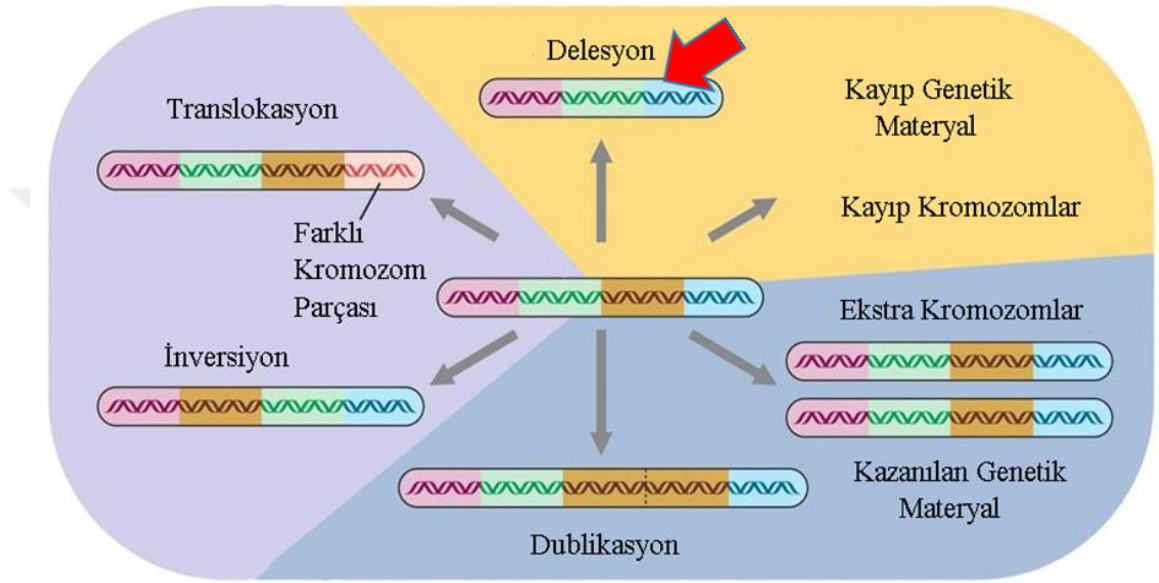
2.5.2.4.1. Kromozom Mutasyonları

Kalıtsal yapıdaki değişikliklerden kaynaklanan bir değişim sonucu ortaya çıkan mutasyonlara, kromozom mutasyonu denir. Kromozomun yapısında bulunan bağın kopmasıyla oluşur, kopma tek kromatitte olursa kromatit kopması her iki kromatit gerçekleşirse kromozom kopması meydana gelir. Fragmentasyon kromozamda meydana gelen kopma olayıdır, kopan kromozom parçasına ise fragment denir⁶⁸.

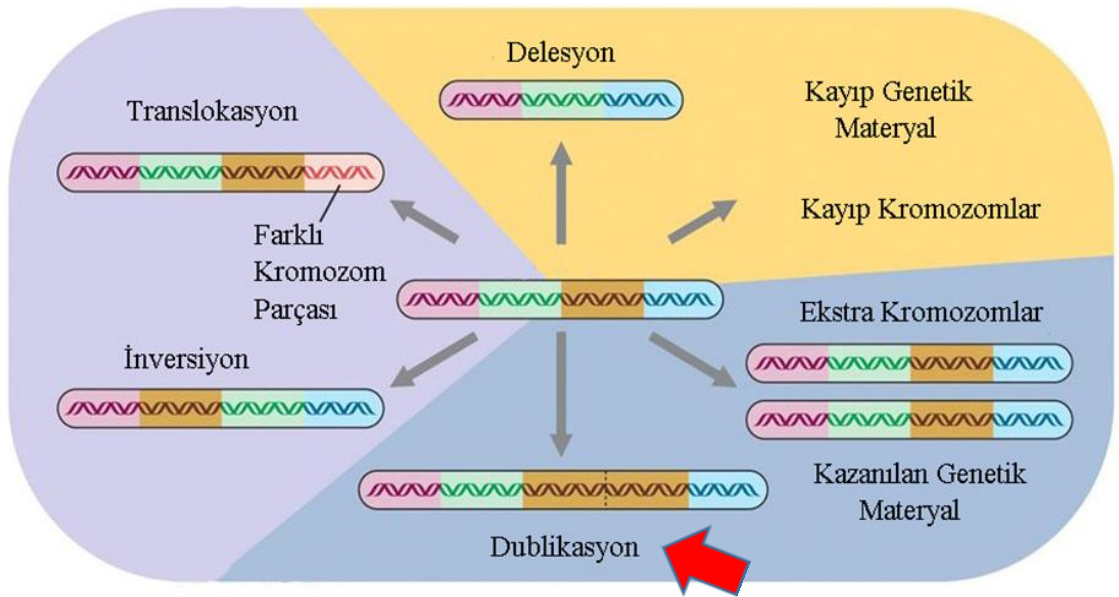
Kopan kromatit ya da kromozom parçası koptuğu yere yeniden bağlanırsa yani kopma tamir edilirse mutasyon meydana gelmez. Ancak tamir edilmezse kopan kromozom parçası başka bir kopuk kromozomun ucuna yapışabilir, kromozomun ortasından kopan bir parça 180° dönüp tekrar yapışabilir^{66,69}.

Kromozomun herhangi bir bölgesinden bir parçasının kopmasına ve geri bağlanmamasına delesyon (eksiklik) denilmektedir (*Şekil 18*). Kopan parçanın hangi bölgede meydana gelmesine göre, terminal delesyon (uç delesyon) ya da interkalar delesyon (ara delesyon) olarak adlandırılır⁶⁶.

Eğer kromozomun iki ucundan da segment kopup kaybolursa ve kopuk kısımlar birbiri ile kaynaşıp halka kromozomu meydana getirebilir. Halka şeklinde kromozom ile karşılaşılırsa bu kromozomun her iki ucunda delesyon olduğunu bildirmektedir. Eğer kardeş kromatit kaynaşması (sister chromatid union-SCU) görülürse, kromozomun bir ucunda delesyon olduğunu gösterir^{66,68}.



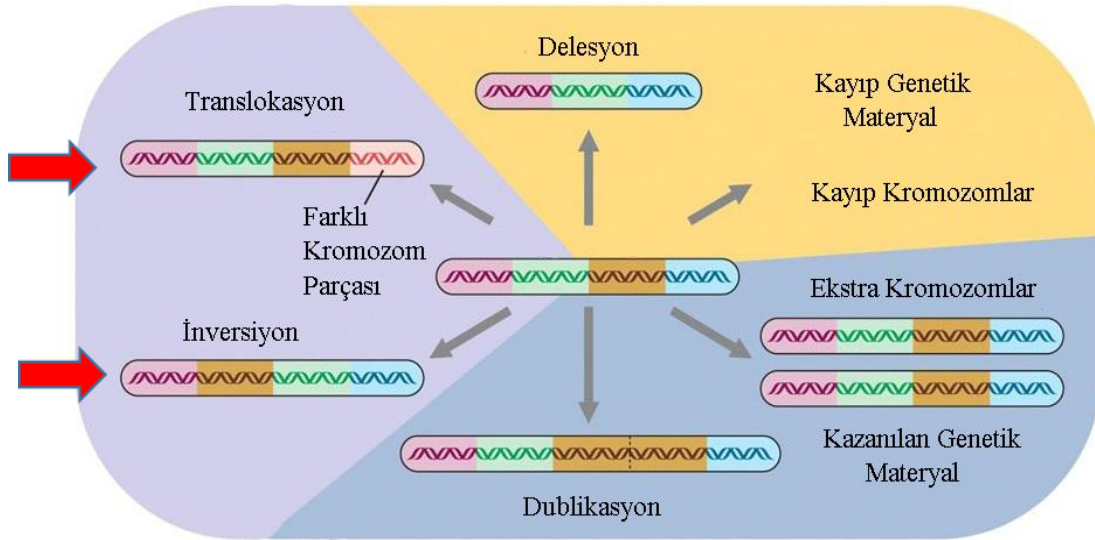
Şekil 18. Kromozom mutasyonları⁶⁹ (delesyon) (<https://slideplayer.com/user/9953497/>)



Şekil 19. Kromozom mutasyonları (dublikasyon)

Duplikasyon, kromozom üzerindeki bir gen lokusunun birden fazla bulunması durumudur (Şekil 19). Duplikasyon mayozda simetrik olmayan parçalar arasında krossingover sonucunda oluşur. Böyle bir krossingover sonucunda duplikasyonlu kromozomun yanında delesyonlu bir kromozom da oluşur. Duplikasyon sonucu kromozomun yapısında ve şeklinde değişiklik meydana gelir⁶⁶.

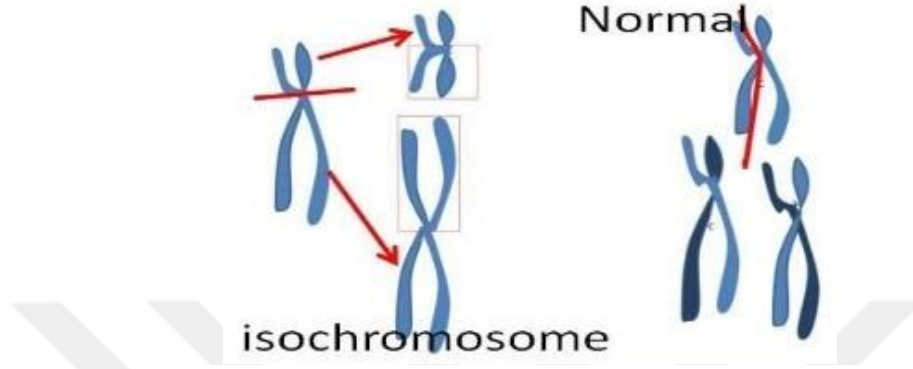
İnversiyon, bir kromozomun tam ortasından kopan parçanın 180° ters dönüp tekrar yapışması olayıdır. (Şekil 20). İnversiyon ile kromozomdaki gen sayısında bir değişiklik olmazken genlerin yerleri ve yapısı değişir. Kısaca inversiyonda başlangıçtaki gen sayısında bir değişiklik olmazken gen dizilişi değişir⁶⁹.



Şekil 20. Kromozom mutasyonları⁶⁹ (inversion ve translokasyon)
(<https://slideplayer.com/user/9953497/>)

Bir kromozomdan kopan segmentin homolog olmayan başka bir kromozoma ile birleşmesine translokasyon denir (Şekil 20). İnversiyon (transpozisyon) bir kromozomun arasından kopan segmentin başka bir kromozomun arasındaki bir bölgeye girmesi durumudur. İnversiyon translokasyona benzer ancak inversiyonda kopan parça diğer kromozomun arasındaki bir bölgeye girer. Kromozomun hem yapısını hem de şeklini değiştiren mutasyonlara inversiyon denilir⁶⁹.

Her iki dizisi de taşıdığı genler bakımından birbirinin aynısı olan kromozomlara izokromozom adı verilir. (Şekil 21). İzokromozomun meydana gelmesi için kromozomunun primer bölgesinde bir kopma olur ve kardeş kromatit birleşmesi (SCU;sister chromatid union) meydana gelir. Bu tip kromozom mutasyonlarında o bölgede gen değişikliği meydana gelir.



Şekil 21. Normal kromozom ve İzokromozom
(https://scholar.cu.edu.eg/?q=m_ismail_alqnishy/files/2-_genetics.pdf)

2.5.2.4.2. Genom Mutasyonu

Gendeki kromozom sayısında değişiklik meydana geldiğinde bu tip mutasyonlar genom mutasyonu olarak adlandırılır. Mayoz ya da mitoz bölünme sırasında kromozomlardaki ayrılma problemlerinden kaynaklanır⁷¹.

Genom mutasyonları anöploidi meydana getirir ve canlılardaki kromozom sayısının bir veya daha fazlasının değişmesi durumudur. Anöploidi durumunda organizma tam bir kromozom takımı değil, bir veya birden fazla kromozom kazanır ya da kaybeder. Kromozom sayısındaki değişime bağlı olarak hipoploidi veya hiperploidi olmak üzere ikiye ayrılır⁶⁶. Haploid kromozom takımının ikiden fazla bulunduğu durum poliploidi olarak adlandırılır⁶⁶.

Canlılardaki kromozom sayısının, diploid canlıdaki kromozom sayısına oranla bir genom ya da genomun katları şeklinde artışına poliploidi denilir. Poliploidler sahip oldukları kromozom sayısına göre adlandırılırlar⁶⁶.

Triploid: 3n kromozoma sahip olan poliploid

Tetraploid: 4n kromozoma sahip olan poliploid

Pentaploid: 5n kromozoma sahip olan poliploid

Heksaploid: 6n kromozoma sahip olan poliploid

Heptaploid: 7n kromozoma sahip olan poliploid

Oktoploid: 8n kromozoma sahip olan poliploid

2.5.2.4.3. Tek Gen Mutasyonları

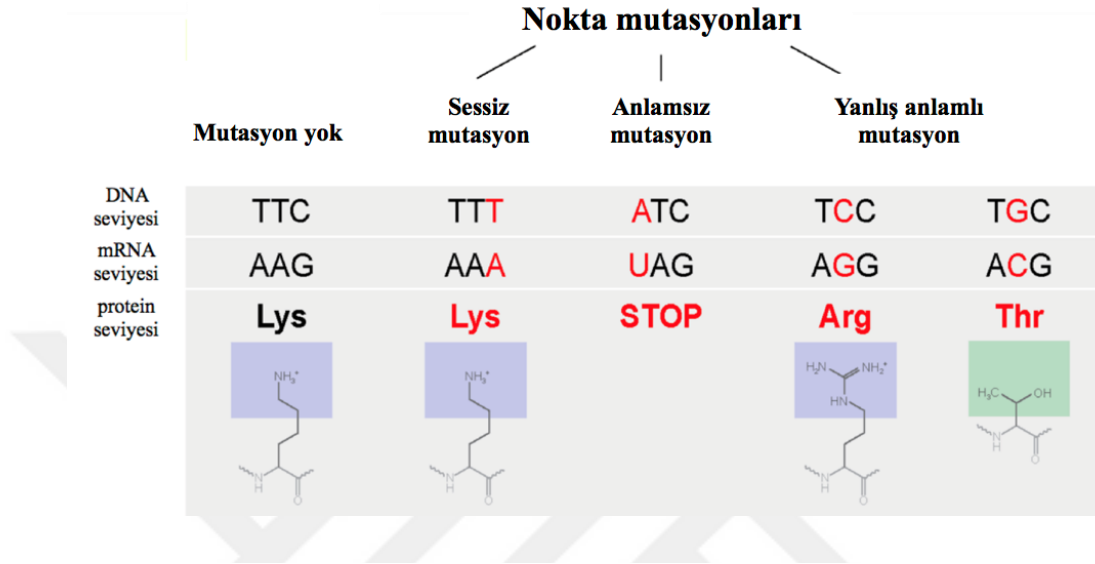
Bir DNA molekülünde bir baz çiftinin diğer bir baz çiftine dönüşümü baz yer değiştirme ya da nokta mutasyonu olarak adlandırılmaktadır. Tek gen mutasyonları, bir gen içerisindeki DNA diziliminin yer değişimidir ve bu değişiklikler bir veya birden fazla nükleotidin bu diziye eklenmesi veya çıkarılması ile meydana gelir⁶⁶.

2.5.2.4.3.1. Nokta Mutasyonları

Nokta mutasyonları, DNA nükleotit dizisinde oluşan ve gelecek nesile aktarılabilen değişikliklerdir. Nükleotit çifti gende bir birim olarak kabul edilir. Nokta mutasyonlar, genellikle bir veya birkaç nükleotitte meydana gelen mutasyonlardır. Genin nükleotit sayısı değişmeden bir nükleotit çiftinin farklı bir nükleotit çiftine dönüşmesi durumu nokta mutasyonu olarak kabul edilir⁶⁸. (*Şekil 22*).

Tüm mutasyon durumlarında olduğu gibi nokta mutasyonlar sonucu meydana gelen fenotipik değişimler de, nokta mutasyonun neresinde gerçekleştiğine bağlıdır. Yer değiştirmenin gerçekleştiği bazlara göre de isimlendirilirler. Karşılıklı olan bir pürin-pirimidin (A-T) çiftiyle başka bir pürin-pirimidin (G-C) çiftinin yer değiştirmesiyle oluşabileceği gibi, bir pirimidin-pürin (C-G) ile bir pürin-pirimidin (G-C) bazının çaprazlama olarak yer değiştirmesiyle de oluşabilir. Bu tür mutasyonlar kendiliğinden oluşabileceği gibi, bazı nükleotidlerin benzerleriyle yer değiştirmesiyle de meydana gelebilirler⁷².

Nokta mutasyonları genellikle tek bir kodonu etkilediğinden çok büyük değişimlere sebep olmaz. Örneğin, mutasyona uğramış bir kodon aynı aminoasidi kodlamaya devam eder ya da proteinin işlevini değiştirmeyen başka bir aminoasit kodlanabilir.



Şekil 22. Nokta mutasyon şeması

(https://en.wikipedia.org/wiki/Point_mutation#/media/File:Point_mutations-en.png)

2.5.2.4.3.1.1. Sessiz Mutasyonlar (Silent Mutation-Synonymous mutation)

Nokta mutasyonu bir kodonu değiştirir fakat proteinin o pozisyonda bir aminoasit değişikliğine yol açmazsa sessiz (synonymous) mutasyon meydana gelir. Baz dizisindeki her nükleotit değişimi, genin kodlamış olduğu protein üzerinde bir aminoasit değişimine sebep olmaz. Bu tip mutasyonlarda, değişen baz çifti, yine aynı aminoasite karşılık gelen farklı bir kodonun oluşmasına neden olur ve sonuç olarak aminoasit dizisi değişmeden kalmaktadır. Eğer bir pirimidin bir pirimidinle ya da bir pürin diğer bir pürinle yer değiştirirse transisyon (geçiş), Pürinle pirimidin karşılıklı yer değiştirirse transversiyon (değişim) olmuştur⁶⁶.

2.5.2.4.3.1.2. Yanlış Anlamlı Mutasyonlar (Missense Mutation-Nonsynonymous mutation)

Bir DNA molekülünde, bir baz çiftinin diğer bir baz çiftine dönüşümü nokta mutasyonu veya baz yer değiştirme olarak adlandırılmaktadır. Bir genin protein kodlayan kısmındaki bir tripletteki bir nükleotitin değişmesi yeni bir aminoasit oluşumuna yol açar. Bu oluşan duruma da yanlış anlamlı (missense mutation) denilmektedir. Missense mutasyonlar, kodlama bölgelerindeki mutasyonların %73'ünü oluşturmaktadır⁶⁶.

2.5.2.4.3.1.3. Anlamsız Mutasyonlar (Nonsense Mutation)

Translasyon işlemi esnasında mRNA bir terminasyon kodonuna (UGA, UAA ve UAG) denk geldiği zaman işlem durmaktadır. Anlamsız dediğimiz, nonsense mutasyonlar stop kodonu oluşumuna neden olan mutasyonlardır. Böylece translasyonun tamamlanmadan prematüre olarak kalmaktadır. Bir de bu işlemin tam tersi olarak stop kodonunu ortadan kaldıran mutasyonlar vardır. Bunlarda translasyonun bir sonraki stop kodonuna kadar sürdürülmesine sebep olur. Transkripsiyon üzerinde herhangi bir etkisi bulunmayan bu mutasyonlara anlamsız mutasyonlar denir. Anlamsız mutasyonlar, kodlama bölgelerindeki mutasyonların %4'ünü meydana getirir⁶⁶.

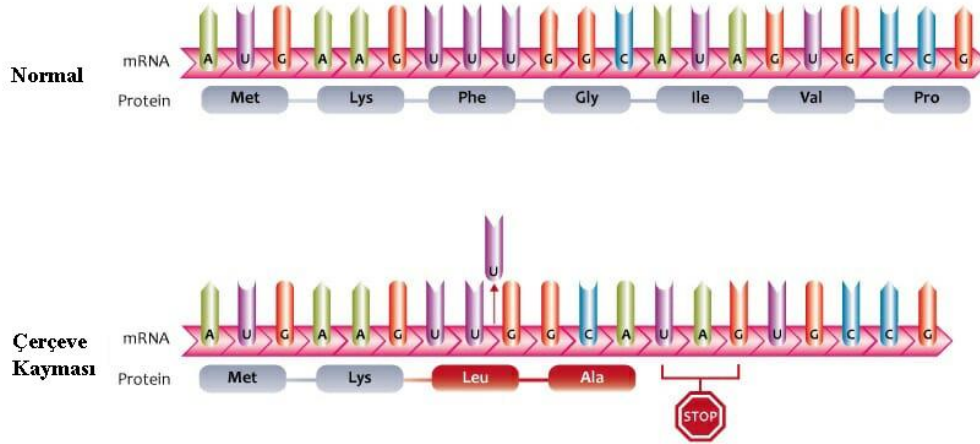
2.5.2.4.3.2. RNA İşlenmesi Mutasyonları (RNA Splicing Mutation)

RNA işlenmesi sırasında, intron bölgelerinde oluşan mutasyonlar veya poliadenilasyon bölgelerinin delesyona uğraması gibi mutasyonlar anormal RNA işlenmesine yol açar. Anormal splicing (RNA işlenmesi) sıklıkla “çerçeve kayması” mutasyonlarını meydana getirmektedir. Bu işlem RNA splicing mekanizması olarak geçmektedir. Bu olayda, intron/ekzon (akseptör tarafı) ve ekzon/intron (donor tarafı) sınırında, belirli nükleotit baz dizileri yer alır. Bu mutasyon sonucunda, alternatif donor veya akseptör taraflar ortaya çıkmaktadır⁶⁶.

2.5.2.4.3.3. Delesyonlar ve İnsersiyonlar

2.5.2.4.3.3.1. Çerçeve Kayması Mutasyonları (Frameshift Mutation)

DNA dizisinde, bir nükleotitin eklenmesi veya çıkarılması sonucu nükleotit sayıları için katları olmaz. Bu kayma sonucu dizisinde meydana gelen mutasyon, translasyon kodlama işlemi, mutasyon gelişen noktadan, terminale kadar değiştirir. “Çerçeve kayması mutasyonları” olarak tanımlanmış olan bu mutasyonlar aminoasit dizisini değiştirir (Şekil 23). Yani, ribozom başlangıçta AAA yerine AAG veya AGG ile aynı hizada ise, nükleotit polimeri farklı bir şekilde okunur. Çoğu DNA, tamamlayıcı çift iplikten oluştuğu için, yalnızca biri son protein için doğru amino asit dizisine neden olan, toplam 6 farklı “okuma çerçevesine” yol açar. DNA dizisine katılan ya da diziden ayrılan nükleotit sayıları üç ve üçün katları olduğunda ise Yalnızca mutasyonun gerçekleştiği noktadaki aminoasit kaybına veya ilavesine neden olarak aminoasit zincirinin bir kısmını etkilemektedir⁶⁶.

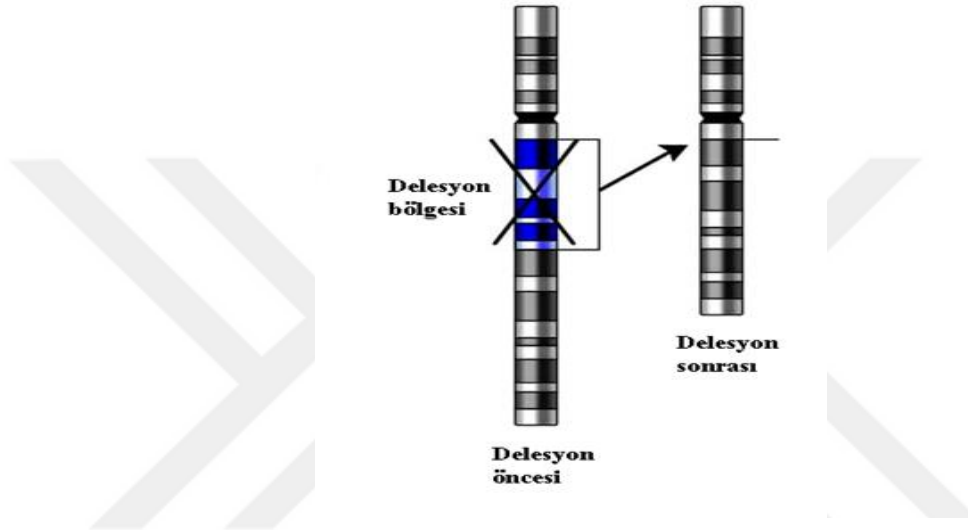


Adapted from Campbell NA (ed). Biology, 2nd ed, 1990.

Şekil 23. Çerçeve kayması mutasyon şeması⁷³
(Adapted from Campbell NA(ed.) biology, 2nd ed,1990)

2.5.2.4.3.3.2. Büyük Delesyonlar ve İnsersiyonlar

Delesyon mutasyonu, DNA'dan nükleotidleri replikasyon esnasında çıkarma/silme işlemi olarak tanımlanır. (Şekil 24) Büyük delesyonlar genomun tamamını veya ard arda olan birkaç geni etkileyebilir. Polimeraz enziminin replikasyon için kalıp DNA'ya bağlandığında delesyonların oluştuğu düşünülmektedir⁶⁶.



Şekil 24. Delesyon mutasyon şeması⁷⁴
(<https://biologydictionary.net/deletion-mutation/>)

2.5.2.4.3.3.3. Trinükleotid Tekrar Artışları

Trinükleotid tekrar artışları yeni bir mutasyon işlemidir, transkripsiyona engel olur veya fonksiyonunu kaybetmiş proteinlerin sentezlenmesine yol açabilir⁶⁶.

2.5.2.5. Polimorfizm ve Tanımı

Genetik polimorfizm bireyler, gruplar veya populasyonlar arasında DNA dizilimindeki farktır. İnsanı insan yapan genomik özellikleri arasındaki benzerlik, bireyler arasında %99,9'dur; dolayısıyla, bireyleri farklı yapan sadece %0,1'lik kısmıdır. Hastalıkların temeli de bireyler arasındaki bu çeşitlilikten doğar⁷⁵.

DNA'lar arasındaki %0,1'lik değişikliğin %80'lik bölümünü, SNP (Single Nücleotid Polymorphism) oluşturmaktadır. SNP'ler, genlerin içinde veya genlere yakın bir bölgede yer alırlar⁷⁶.

DNA üzerinde meydana gelen bir varyantın, SNP mi yoksa mutasyon mu olduğunun belirlenme sürecinde, ayırıcı özellikler dikkate alınmalıdır. Polimorfizmler mutasyonlarla ortaya çıkar. Mutasyon, bir nükleotid tipinden diğerine bir değişiklik yapılırken, bir ekleme, silme, nükleotidlerin yeniden düzenlenmesi nedeniyle oluşmuş olabilir. Oluştuktan sonra, herhangi bir DNA sekansı gibi bir polimorfizm kalıtılabilir, böylece kalıtımın nesilden nesile geçmesi saęlanır⁷⁷.

Polimorfizmler, protein yapımı için kodlanmayan çok miktarda DNA genlerinde de bulunur. Ayrıca, proteinleri kodlamayan DNA bölgeleri daha fazla polimorfizme sahip olma eğilimindedir. Bunun nedeni, proteinleri kodlayan DNA dizilerindeki bir değişimin, onu taşıyan kişi üzerinde zararlı bir etkisi olabileceğidir. Mutasyonlar sıklıkla polimorfizmlere göre daha nadir görülür⁷⁷.

Farklı popülasyonlarda polimorfizm insidansı da farklı olabilmektedir. Aslında polimorfizmler sıklıkla hastalığa neden olmayan değişiklikler olarak düşünülebilir. Mutasyonlar ise çoğunlukla hastalığa neden olurlar. Polimorfizmlerin bir hastalık faktörü olabilmesi için diğer polimorfizmler ya da uygun çevresel koşullara bağlıdır. Bazı durumlarda hastalığa neden olmasa da, bulgularını hafifletir ya da artırır. Kısaca mutasyon ve polimorfizm arasındaki sınırın çok belirgin olmadığı söylenebilir^{77,78}.

Transversiyonun değişkenlerinin sayısı transisyon varyant sayısının iki katından fazla olduğu halde, transisyon sıklığı transversiyonun sıklığından daha yüksektir. G>A ve C>T transisyonları, insan genomundaki SNP'lerin %25'ini oluřturmaktadır⁷⁸.

Alel frekansı, bir alelin toplumdaki insidansıdır. Allel insidansı hesaplanırken her genin iki aleli olduğu göz önüne alınmalıdır. Homozigot bir bireyde bir değişiklik her iki alelde de vardır ancak heterozigot bir bireyde iki alelin yapısı birbirinden farklıdır.

2.6. Genetik Polimorfizmlerin ve Mutasyonların Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler

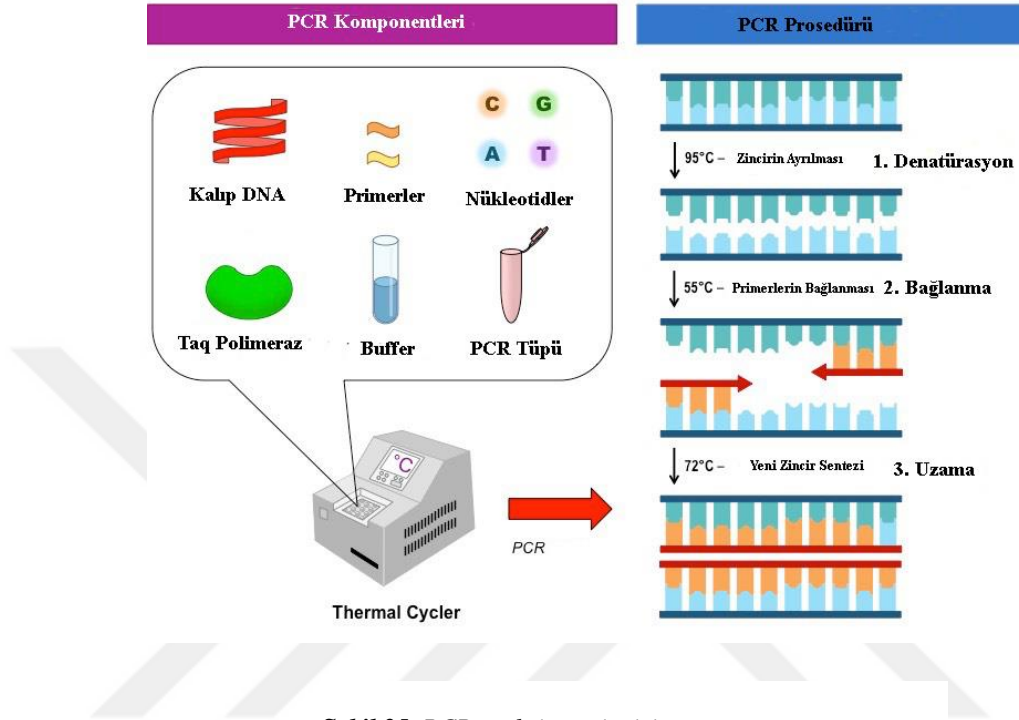
2.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR/PCR) bir in vitro ve in vivo DNA amplifikasyon yöntemidir. Reaksiyonlar farklı sıcaklıklardaki işlemlerin sikluslar halinde tekrarı halinde devam eder. PCR ile DNA fragmentleri çoğaltılabilir ve analizler için küçük miktarlardan bile yeterli miktarda örnekler elde edilebilir⁷⁹. İleri rekombinant DNA yöntemi olan polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction; PCR) adı verilen teknik, moleküler biyoloji, insan genetiği, evrim, gelişim, koruma ve adli tıp gibi birçok alanda kullanılmak için seçilen bir metottür⁶³.

PCR, DNA zincirinde yer alan ve dizisi bilinen iki segment arasındaki özgün bir bölgeyi enzimatik olarak çoğaltmak için uygulanan tepkimeler bütünüdür ve en önemli özelliği amplifiye edilecek kalıp DNA'nın nükleotit dizisinin belirlenmesidir⁸⁰. PCR reaksiyonu için; DNA molekülü, bu molekülün tamamlayıcı zincirini sentezlemek için gerekli "primerler", "Taq polimeraz enzimi" ve "nükleotidler" mevcut olmalıdır⁸⁰.

DNA polimeraz enzimleri, kalıp zincire komplementer bir DNA zinciri meydana getirmek üzere, orijinal zincirdeki baz dizilimini kullanarak primer çiftine bir enzim yardımı ile dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) ekleyerek zincirin sentezini gerçekleştirmek ile sorumludur. Enzim sentezinin başlayabilmesi için kalıp moleküldeki tamamlayıcı diziye bağlanan primer çiftine gereklidir. DNA polimeraz enzimlerinden *Thermus Aquaticus*'tan elde edilen *Taq DNA* polimeraz enzimi PZR'da en sık kullanılan enzim çeşididir. Enzimlerin çoğu hızlı ve geriye dönüşümsüz olarak bozulmasına rağmen, Taq DNA polimeraz enzimi termostabildir ve 95°C sıcaklığa dayanıklıdır^{80,81}.

PZR’da belirlenen hedef bölgenin amplifiye edilmesinde, “tek bir siklus” denildiğinde üç aşama temel alınmaktadır. Bunlar sırasıyla; denatürasyon, bağlanma (annealing) ve uzama (extension) aşamalarıdır (Şekil 25)



Şekil 25. PCR reaksiyon zinciri

(https://YDAbusw2.wpmucdn.com/blogs.baylor.edu/dist/5/8067/files/2017/04/pcrcomponents_med-2672qsy.jpg)

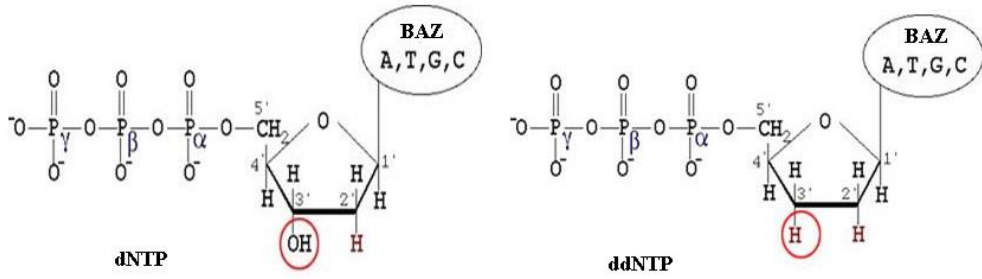
1. **Denatürasyon:** DNA molekülünün iki zinciri de birbirlerine hidrojen bağları ile bağlıdır. Isının yükseltilmesi ile (92-94°C) bu bağlar koparılır ve iki zincir birbirlerinden ayrılması sağlanır⁸⁰.
2. **Bağlanma (Annealing):** Isının aniden düşürülmesi (37-65°C arasındaki ideal sıcaklık 55°C) ile reaksiyona ilave edilmiş olan primerler, ayrılmış olan DNA zincirlerinin komplementer bölgelerine bağlanırlar⁸⁰.
3. **Uzama (Ekstensiyon):** Isının 72°C'ye yükseltilmesi ile reaksiyondaki Taq polimeraz enzimi reaksiyona eklenen nükleotidleri kullanarak yeni ve komplementer DNA zincir sentezini gerçekleştirir⁸⁰.

Bu siklus bittikten sonra yeni oluşan DNA zincirinin eksik kalan bölgeleri olma ihtimaline karşı 70 °C ile 75 °C'de 2-15 dakika bekletilir. Yeni DNA segmentlerinin degrade olmaması için işlem sonunda sıcaklık 12 °C olarak ayarlanır⁸⁰.

2.6.2. Dizi Analizi (Sanger Metodu)

Sıklıkla kullanılan DNA dizi analiz yöntemi olan Sanger metodu, James Sanger ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş bir methodur. Bu yöntemle DNA molekülünün dizisi belirlenir sonrasında ısı yükseltilecek komplementer zincirinin sentezlenebilmesi için denatürasyon sağlanır ve DNA tek zincirli hale dönüştürülür⁸².

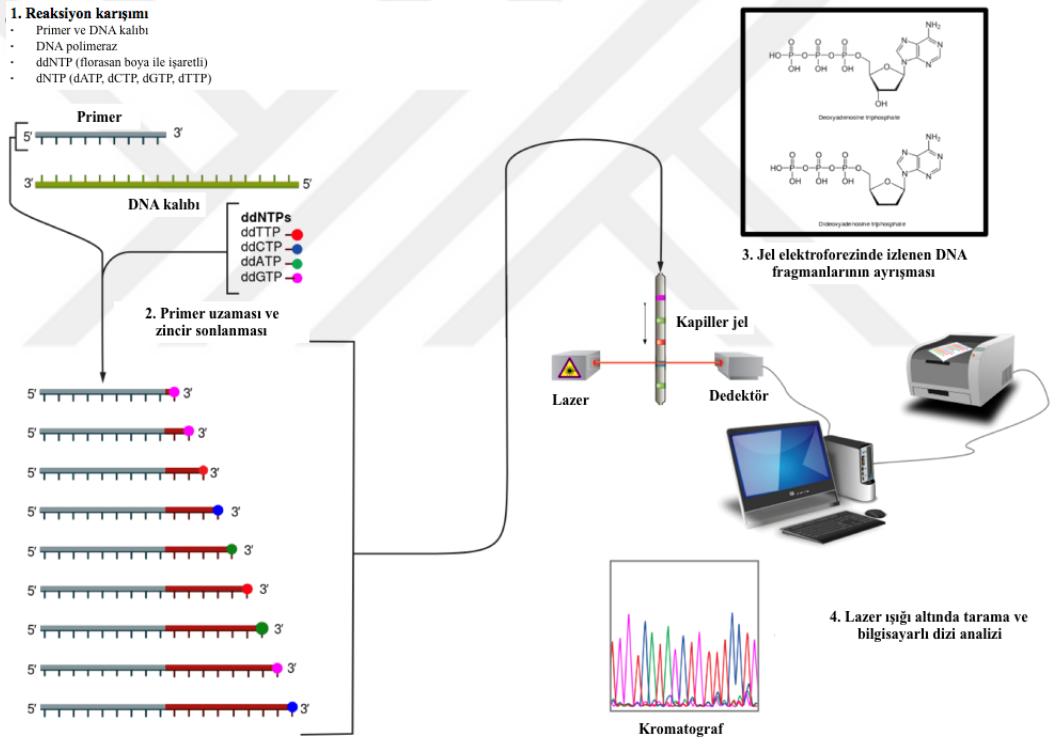
Tek zincirli DNA 3' ucuyla birleşecek olan uygun primer ile karşılaştırılır ve karışıma DNA polimeraz, dört tip deoksiribonükleotit trifosfat (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) ve dideoksinükleotit (ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP) ilave edilir⁸².



Şekil 26. Dideoksinükleotit (ddNTP) ve deoksinükleotit (dNTP) kimyasal yapısı (https://images.slideplayer.com/18/6133934/slides/slide_14.jpg)

DNA polimeraz, DNA sentezi sırasında uzayan zincire deoksiribonükleotitlerin yerine bazen dideoksinükleotitleri de ekleyebilmektedir. Dideoksinükleotitlerin yapısında 3'-OH bulunmadığından dolayı kendinden sonra gelecek nükleotit ile bağ kuramaz ve DNA sentezi durur (Şekil 26). Aynı anda birbiri ile bağlantılı olmayan birçok reaksiyon gerçekleşir. Sonuçta peamatüre sonlanmaların olduğu bölgeler de dahil olmak üzere çeşitli uzunlukta DNA segmentleri meydana gelir⁸². DNA dizi analizi büyük genom dizi siklüslerinde geliştirilen cihazlarla yüz binlerce nükleotit dizisi taranabilmektedir (Şekil 27). Otomatik DNA dizi analizinde de Sangerin dizi analizi kullanılmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, DNA dizi analizi için yöntemi olarak elektroforez yerine otomatik cihazlar ve radyoaktif izotoplar yerine de floresan boyalar tercih edilmektedir⁸². Bu işlemde dört ddNTP'lerin analoglarından her biri farklı renkte floresan boya ile işaretlenir ve böylece adenin ile sonlananlar bir renk, sitozin ile sonlanan DNA zinciri başka bir renktedir^{82,83}. Tüm işaretli ddNTP'ler tek bir tüpte toplanır ve DNA polimeraz ile primerlerin uzatılma işlemi yapılır. Dedektörler lazer ışığı sayesinde farklı özellikteki floresan boyaları algılar. Farklı nükleotid tipleri için kromatografda farklı renklerde pik oluşturularak nükleotid dizisini belirler. Nükleotitlerin türüne göre farklı renkteki pikler yazıcıdan elde edilir⁸³.



Şekil 27. Sanger dizi analizi belirleme şeması

(https://en.wikipedia.org/wiki/Sanger_sequencing#/media/File:Sangersequencing.svg)

2.7. MSX1 Geni (Muscle Segment Homolog Proteini 1)

MSX1 geni (ayrıca HOX7, OFC5 ve HYD1 olarak da bilinir), non-sendromik dudak ve/veya damak yarığı ile ilişkisi rapor edilen aday genlerin en önemlilerinden biridir⁸³. Dizileme ve ilişkilendirme çalışmaları, *MSX1*'in non-sendromik yüz yarıklarının etiolojisinde rolü olduğunu bildirmiştir⁸⁴. *MSX1*, Drosophila segment homeobox (msh) genlerinden izole edilen ve bu genle olan benzerliğinden kaynaklı olarak MSX kodunu almıştır. İlk kez farelerden klonlanmışlardır. Daha sonraları denizyıldızı, kurbağa, balık ve insanlarda izole edilmiştir^{85, 86, 87, 88}. *Msx* gen ailesi *MSX1*, *MSX2* ve *MSX3* olarak tanımlanmış 3 genden meydana gelmiştir⁸⁹. *MSX3* geni dorsal nöral tüpte, *MSX2* ve *MSX1* ise epitel-mezenşim etkileşiminin olduğu her dokuda, en önemlisi de kafa ve yüz kemiklerinin gelişim gösterdiği bölgelerde rapor edilmiştir^{90, 91}.

2.7.1. MSX1 Gen Yapısı

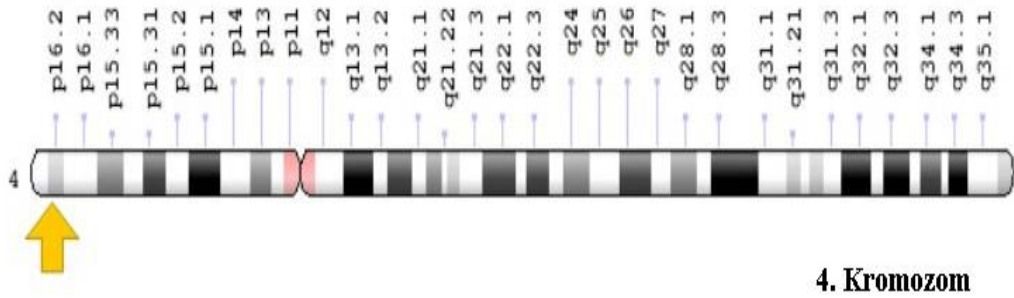
Msx1 geni 4. kromozom üzerindedir 42,71 kb uzunluğundadır, 704 bp ve 1229 bp uzunluğunda iki ekzon ve 2332 bp uzunluğunda bir intron içermektedir⁹². Genin resmi adı *Homeobox 1*'dir (Şekil 28). Ayrıca *MSX1* geni başka isimlerle de bilinmektedir. Bunlar; *Msh Homeobox 1*, *HOX7*, *Msh Homeobox 1-Like Protein*, *Homeobox Protein Hox-7*, *STHAG1*, *ECTD3*, *HYD1*, *Msh* (Drosophila) *Homeo Box Homolog 1* (Formerly *Homeo Box 7*), *Msh Homeobox Homolog 1* (Drosophila), *Homeobox Protein MSX-1*, *Msh Homeobox Homolog 1*, *Msh Homeo Box 1*, *Homeobox 7*, *OFC5*'tir⁹².



Şekil 28. *Msh Homeobox 1*
(Hovde, S. ve ark.,(2001).)

MSX1 geni, yaklaşık olarak 4kb ve 303 aminoasit kodlayarak, 60 aminoasit uzunluğundaki özel homeobox alanını meydana getirir. DNA'ya bağlanan ve 170'den 234'e uzanan homeodomeini kodlayan iyi korunmuş homeobox dizisi içerir. Lokus bölgesi 4p16.3-p16.1 olan *MSX1* geninin üzerinde bulunan ekzon uzunlukları 590 ve 1214 baz çiftinden ve 2332 baz çifti uzunluğunda da 1 introndan meydana gelmiştir (Şekil 29). 2. ekzon homeobox dizisi içerir. İki ekzon yaklaşık 1.6 kb intron ile birbirinden ayrılır ve intron homeobox'ın 40 baz çifti upstreaminde yer alır⁹³.

Guanin ve Sitozinden zengin olan dizi elemanlarının, özgül transkripsiyon faktörlerinin bağlanma bölgesi olduğu düşünülür. TATA-box bağlayıcı protein (TBP), tirotoplarda etkileşime giren bir proteindir. TBP'nin *MSX1* ile etkileşimi, *MSX1*'in aGSU gen ekspresyonu üzerindeki inhibitör etkisini, DNA'ya bağlanmasından bağımsız bir şekilde zayıflatır⁹⁴. Kodlamanın yapıldığı yönde Adenin ve Timin bazlarından zengin olan CCAAT box (CAT dizisi) bölgesi bulunmaktadır. TATA dizisi, CAT dizisi veya daha da önde bulunan regülatör dizilerde deneysel olarak indüklenerek oluşturulan veya doğal olarak oluşan mutasyonlar transkripsiyonda düşüş olduğunu gösterir. Bu da bu dizilerin gen ekspresyonundaki önemini belirtir⁶⁶.



Şekil 29. *MSX1*'in 4. Kromozom üzerindeki yeri
(<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MSX1#location>)

2.7.2. MSX1 Gen İfadesi

MSX1 gen ifadesinin düzenleyici bir mekanizma gibi diğer proteinleri baskılamış olabileceği tahmin edilmektedir. *MSX1* ve *MSX2*'nin DNA'daki bağlanma yeri benzer özelliktedir ancak transkripsiyonu baskılayan N-terminal etki sayesinde biyokimyasal özellik farklılıkları saptanabilir. *MSX1*'in DNA ile benzeşmesi daha fazla olduğu için daha güçlü bir baskılayıcı olduğu düşünülür⁹⁵. Embriyonik gelişim sırasında *MSX1* geni çoğunlukla kafa ve yüz kemiklerinin morfogenezisi esnasında epitel-mezenşim hücre tiplerinin farklılaştığı embriyonik dokularda gözlemlenir⁹⁵.

Msx gen ailesinin protein molekülleri başlıca kafa ve yüz kemiklerinin gelişim yerlerinde, odontoblast ve ameloblast hücrelerinin çoğalma evrelerinde, damak yapısını meydana getirecek olan hücrelerde, kafatası kemikleri ve meninks oluşumunu indükleyen nöral krest kökenli hücrelerde yüksek olduğu belirtilmiştir^{95, 96}.

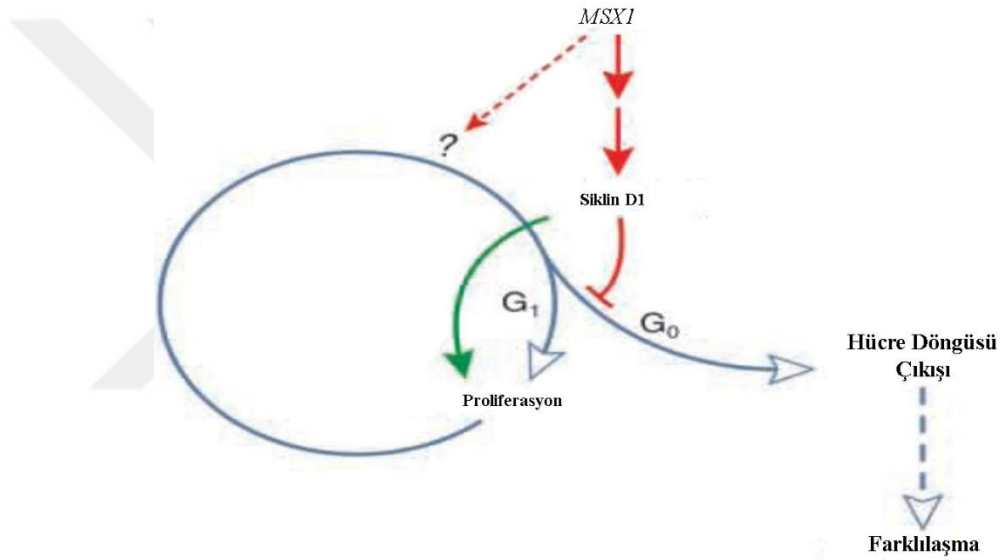
MSX1 geni hücredeki siklusun düzenlenmesi yoluyla, epitel ve mezensimal hücrelerdeki farklılaşmayı ve büyümeyi koordine ederek morfogenezide, organların gelişiminde ve büyümede önemli görevlere sahiptir. Büyüme ve gelişim sürecinde hücre proliferasyon ve farklılaşması bu şekilde denge içerisinde⁹⁶.

2.7.3. MSX1 Geninin Apoptozise Etkisi

Yapılan çalışmalar, *MSX1*'in hücre ölümünde programlı bir mekanizma ile pek çok genin transkripsiyonunu kontrol ettiğini bildirmiştir^{97,99}. Büyüme ve gelişim sürecinde hücre proliferasyonu ve apoptozisi denge içerisinde. Pek çok *in vivo* ve *in vitro* çalışma *MSX1* ve *MSX2*'nin bazı organizmalar üzerinde (fare ve civciv), nöral krest hücre ve nöronal öncü hücrelerin oluşumu sırasında hücre ölümüne neden olabildiğini ve kontrol ettiğini bildirmiştir^{98, 99, 100, 101}.

2.7.4. MSX1 Geninin Epitel-Mezenşim Etkileşimindeki Rolü

Yapılan bir çalışmada, *MSX1* fonksiyonunun etkisi araştırılmıştır¹⁰². Hücre kültürü ve in vivo model sistemleri kullanılarak, *MSX1*'in ifade eksikliğinin çoklu mezenşimal ve epitelyal hücre tiplerinin morfogenezisi inhibe ettiği rapor edilmiştir. *MSX1*'in siklin D1 ifanesini koruyarak hücrenin siklustan çıkışını engellediği bir model düşünülmüştür¹⁰². Mandibular çıkıntılar ve ekstremitelerde *MSX1* transkriptlerinin ektodermal-mezenşimal hücre kontaklarında birikmesi, *MSX1*'in etkisi olduğunu da düşündürmüştür¹⁰³



Şekil 30. Hücre Döngüsü Regülasyonu

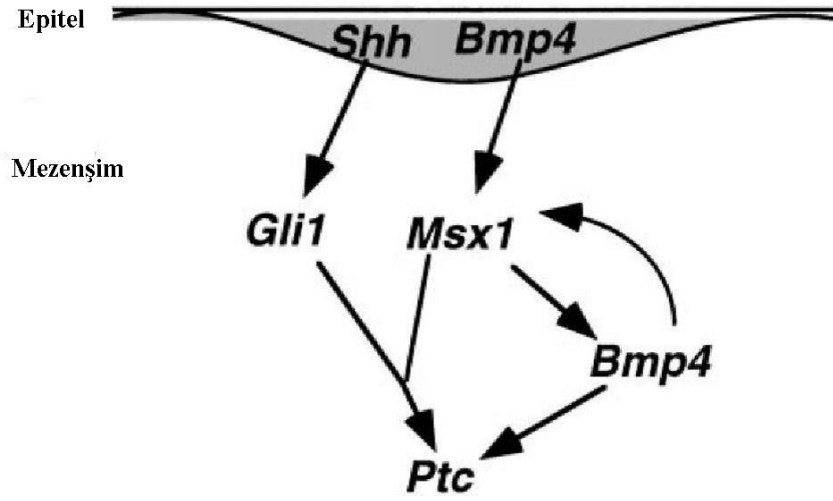
(Hu, G, Lee, H, Price, S. M, Shen, M. M., Abate-Shen, C., " *Msx homeobox genes inhibit differentiation through upregulation of cyclin D1*", *Development*, 128(12): 2373-2384 (2001).)

2.7.5. MSX1 Geninin Diş Gelişimi ve Palatogenezisteki Rolü

Odontogenesis epitel doku ve mezenşim hücrelerinin karşılıklı metabolik reaksiyonları ile düzenlenmektedir¹⁰⁴⁻¹¹⁰. Hollandalı bir ailede *MSX1* genindeki mutasyonun diş gelişimini durdurması ve yüz yarıklarıyla ilişkili olması ile *MSX1*'in insanlardaki yarık fenotipi ve dental dokuyu etkisi için aday gen olduğu onaylanmıştır¹¹¹. Litaratürde greftleme ve doku rekombinasyonu ile ilgili yapılmış olan çalışmalar, diş gelişimi için dental epitelin sinyaller içerdiğini göstermiştir ve *MSX1* epitelden gelen sinyallere cevap olarak mezenşimde kodlanır¹⁰⁴⁻¹⁰⁷. Epitelde tanımlanan *Bmp4* (*bone morphogenetic factor*) ve *Fgf8* (*fibroblast growth factor*) genleri mezenşimdeki *MSX1* gen kodlanmasını indükler^{106,107}.

Daha sonra *MSX1*, *BMP4* geninin dental mezenşimdeki kodlanmasını artırır. *BMP4* sinyalinin mezenşimde artışı ise tomurcuklanma fazından cap safhasına geçişte mine oluşumunda rol alır. Bu aşama diş gelişimi için önemli bir safhadır¹⁰⁷.

Epitel-mezenşim etkileşimi palatogenezisde de rol alır. Zhang ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada, Patched (Ptc) indüksiyonunda Sonic hedgehog (Shh) sinyalinin iletimini tanımlayabilmek için demo model sistemi olarak faredeki diş hücrelerini kullanmışlardır. *MSX1*, palatinal mezenşimdeki hücre proliferasyonunu stimüle eden *BMP* ve *Shh* sinyalleri arasındaki ağ örgüsünde de etkilidir¹¹². Primer ön damak mezenşiminde tespit edilen *MSX1*, *BMP4*'ün mezenşimde ifadenmesi için gereklidir. *BMP4* ise benzer şekilde *MSX1* geninin kodlanmasını stimüle eder (*Şekil 31*). Epitel Shh, mezenşimdeki Gli1' in ifadenmesini sağlar. Gli1, epitel hücreden gelen Bmp4 sinyali aracılığıyla mezenşimde indüklenen Msx1' in ürünüyle etkileşime girmesi ile Ptc ifadesini aktifleştirebilir. Ptc ifadesi böylece fare odontogenesis gelişiminin erken aşamasında en az iki farklı yolak tarafından düzenlenmiş olur¹¹³.



Şekil 31. Diş hücresinde genetik yolak modeli
(Zhang, Y., Zhao, X., Hu, Y., St Amand, T., Zhang, M., Ramamurthy, R., Qiu, M., Chen, Y.,
“*Msx1 is required for the induction of Patched by Sonic hedgehog in the mammalian tooth germ*”, *Developmental Dynamics*, 215(1):45-53 (1999).)

Civcivler üzerinde yapılmış çalışmalarda *Shh* sinyallerinin bloke edildiği durumlarda fasiyal primordiumda büyüme ve gelişimin inhibe olduğu rapor edilmiştir. *Shh* sinyallerinin artırıldığı durumlarda ise hücre proliferasyonunun arttığı görülmüştür¹¹⁴. Yapılan bir başka çalışmada ise, farelerde palatinal rafların gelişimi sırasında palatal epitelde *Shh* geninin ifadelendiğini rapor edilmiştir¹¹⁵.

2.7.6. MSX1 Geninin Hücre Proliferasyonu ve Morfogenezine Etkisi

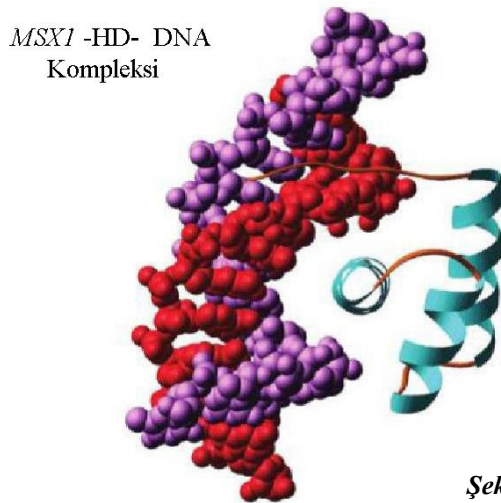
İnsanlarda diş gelişimi, diş morfogenezisi veya odontogenezis adı da verilen kompleks bir süreçtir. Bu süreç, embriyo henüz 6 haftalıkken başlamaktadır¹¹⁶. Embriyodaki organ gelişimleri epitel ile mezenkim arasında gerçekleşen indükleyici doku etkileşimleriyle meydana gelmektedir. Gelişen dişte de, hem morfogenezis hem de hücre farklılaşması bu tür etkileşimlerle yönetilmektedir¹¹⁷. MSX1 ve MSX2 vücutta, kesici, küçük azı ve büyük azı diş germeleri dahil hemen hemen bütün epitel-mezenkial doku etkileşimlerinde bulunmaktadır¹¹⁸. *MSX1* geni, hücreler farklılaşmanın inhibisyonunun önemli olduğu mezodermal projenitör hücrelerde ifadelanmaktadır. Örneğin *MSX1*'in fare ekstremitelerinin gelişen bölgelerindeki proliferatif ve farklılaşmamış hücrelerinde arttığı bildirilmiştir. Ekstremitelerin

gelişimi ve farklılaşması tamamlandıkça *MSX1* hücrelerinde azalma gözlenir¹¹⁹.(down-regülasyon) *MSX1*'in hücre farklılaşmasındaki kritik rolü hücre kültür datasıyla da desteklenmiştir¹¹⁹.

2.7.7. *MSX1* Gen Proteini

MSX1'in fonksiyonlarından en önemlilerinden biri de hücre morfogenezinin inhibasyonudur. Tahmin edilen çalışma mekanizması ise hücre farklılaşmada görev alan *Cbfa1* gibi bazı genlerin down regülasyonu, *cyclin D1* gibi genlerin ise upregülasyonudur¹²⁰. Bu genin biyolojik fonksiyonu transkripsiyonel regülasyondur. DNA'nın belirlenen bir dizisine bağlanarak transkripsiyonu baskılar. Transkripsiyonu baskı altına almayı yapısındaki homeodomain aracılığıyla protein etkileşimleri ile gerçekleştirir. *MSX1 homeobox* gen ürünü proteinler 297 ve 303 aminoasite sahiptir. N-terminal domaini prolin tekrarları içermektedir, bu da proteinin daha dengeli bir yapıya sahip olmasını sağlar. Bu sayede de daha sıkı bir şekilde DNA'nın minor oluğuna tutunmasını sağlar¹²¹.

Msx1 Homeodomaini DNA binding, protein-protein etkileşimleri, protein stabilitesi ve transkripsiyon baskılayıcısı gibi çoklu fonksiyonların arabuluculuk merkezi konumundadır¹²². *MSX1* protein ile DNA-bound aktivatörünün arasındaki etkileşim de transkripsiyon represyonunun nedeni olabilir. *MSX1*, transkripsiyonu aktive eden DNA-bound aktivatörünün fonksiyonunu bloke ederek represyon sağlamaktadır¹²².



Şekil 32. *MSX1*, Homeodomain, DNA kompleksi (Hovde, S., ve ark. (2001).)

MSX1 proteinlerinin başka homeoproteinlerle etkileşerek, onların DNA'ya bağlanmasını engelleyerek transkripsiyonal aktivasyonu inhibe eder. *MSX1*; *Dlx2*, *Dlx5*, *Lhx* ve *Pax3* gibi diğer homeodomain proteinlere de bağlanarak transkripsiyonu düzenler¹²³. *MSX1* proteininin, DNA'ya olan affinitesi *MSX2*'ye göre daha düşüktür. O yüzden *MSX1* proteininin modüle edici etkisini diğer homeodomain proteinler üzerinden sürdürdüğü rapor edilmiştir¹²⁴.

Yapılan bir çalışmada *MSX1*'in homeodomain bölgesinde Arg196pro missense mutasyonu tespit edilmiştir. En çok etkilenen dişlerin ikinci premolar ve üçüncü molar olduğu rapor edilmiştir. *MSX1* homeodomain bölgesindeki mutasyonların sonucunda molar ve premolar dişlerin agenezisi, damakta ise yarık fenotipi oluşabileceğini bildirmişlerdir¹²⁵.

Günümüze kadar yapılan fare çalışmalarında *MSX1* gende meydana gelen varyantların damak yarığına, yetersiz mandibular ve maksiller alveolar kemiklere ve diş agenezine neden olduğu rapor edilmiştir¹²⁶. Yapılan bir başka çalışmada ise diş agenezisiyle birlikte gözlenen veya gözlenmeyen orofasiyal yarığın *MSX1* kodlayıcı bölge mutasyonu ile ilişkisini incelemişler ve bu fenotiplerle *MSX1* geninin ilişkili olması, *MSX1* düzenleyici elemanlarında mutasyon olabileceğini bildirmişlerdir¹²⁷.

2.8. Tükürük

Ağız içinde ve mukozal dokularda bulunan minör ve major tükürük bezlerinden ağız boşluğuna salgılanan biyolojik sıvı tükürük olarak tanımlanmaktadır¹²⁸. Major tükürük bezleri parotis, submandibular ve sublingual bezleri olarak bilinmektedir. Sayıları yaklaşık 700-1000 kadar olup tükürüğün % 10'unu oluşturan minör tükürük bezleri ise, ağız içinde yanak, damak, dudak, dil ve oral mukozanın farklı bölgelerine dağılmıştır¹²⁹.

Tükürük akış hızı ikiye ayrılır. Uyarılmış tükürük akış hızı, 1 ml/dk'dır. İstirahat halindeki tükürük akış hızı 0,3-0,5 ml/dk'dır¹³⁰. Sağlıklı bir bireyde dakikada ortalama 0,5 ml/dk akış hızı ile günlük 0,5-1,5 lt tükürük üretilmektedir¹²⁹. Tükürük akış hızı gün içinde yüksek, akşam yavaş ve uyurken sifira yakın bir seviyede olduğu

tespit edilmiştir¹³⁰. Tükürük pH seviyesi 6,7-7,4 arasındadır¹³¹. Fizyolojik ve patolojik durumlar da tükürüğün kalite ve kantitesini etkileyebilmektedir.

2.8.1. Tükürük İçeriği

Tükürüğün %99 sudan oluşmaktadır kalan %1'lik kısmı ise inorganik iyonlar, glikoproteinler, serum elemanları ve enzimlerden oluşur. Renksiz, kokusuz, hafif bulanık, viskoz ve tatsız bir sıvıdır^{132,133}. Tükürüğün organik yapısı ise protein, protein olmayan maddeler, lipid ve hormonları içermektedir. Bunlardan bazıları; α -amilaz, lipaz, laktat, glikoz, kolesterol, immünoglobulin A (IgA), gama globulin, serum, albumin, kan grubu antijenleri olarak özetlenebilir. İnorganik kısmında ise sodyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum, klor gibi güçlü ve zayıf iyonlar (Na^+ , K^+ , Mg^+ , Ca^{2+} , Cl^-), fosfat (HPO_3^-), klorür (HCO_3^-), sodyum karbonat, kalsiyum karbonat, potasyum sülfosiyanür gibi maddeler ve çözülmüş karbondioksit, oksijen ve nitrojen bulunmaktadır¹³²⁻¹³⁷.

Tükürük, total ve spesifik olarak sınıflandırılmaktadır. Spesifik tükürük; parotis, submandibular ve sublingual bezlerinden salgılan tükürüğü belirtir. Total tükürük; tükürük bezi salgılarının yanında bakteriler ve ürünleri, virüsler, mantarlar, gıda artıkları, deskuamatif hücreler, lökositler, serum ve kandan kaynaklanan çeşitli hücreler, dişeti oluğu sıvısı, nazal ve bronşiyal sıvılar ve mukozal transudayı da içeren ağızda toplanan tüm biyolojik sıvıları ifade eder^{131,132,138}.

2.8.2. Diagnostik Tükürüğün Önemi

Son yıllarda yapılan çalışmalarda teşhis materyali olarak tükürüğe olan ilgi kan ile karşılaştırıldığında artmıştır¹³⁹. Çeşitli enzim, sitokin gibi biyokimyasal markerler içermesi, çalışmalara daha çok bireyin dahil edilebilmesi, çeşitli hastalıkların teşhisi, tedavi sonuçları ve prognozunun değerlendirilmesi, örnek toplanmasının oldukça kolay ve ucuz bir metod olması, noninvaziv bir metod olması sayesinde minimal enfeksiyon riski olması ile tükürük analiz yöntemi olarak oldukça sık kullanılmaktadır^{140,141}.

Spesifik tükürükten, tükürük bezlerine ait patolojilerin belirlenmesinde, total tükürükten ise sistemik hastalıkların değerlendirilmesi için yararlanılmaktadır¹³¹. Sistemik açıdan genetik testler ve teşhisler, sistemik hastalıklar, ilaç kullanımı, psikiyatrik tedaviler gibi birçok alanda tükürük analizi kullanılabilir. Lokal açıdan ise oral ve periodontal hastalıkların patolojisi ve çürük riski belirlenmesinde önemli bir teşhis aracı olarak kullanılmaktadır^{131,135,142, 143}.

2.8.3. Tükürük Toplama Yöntemleri

Tükürük toplama yöntemleri ikiye ayrılmaktadır^{169,144}.

1. Uyarılmış Tükürük Toplama Yöntemleri:

- Hastaya nötral sakız, kauçuk bant, parafin mum gibi tükürüğü aktive eden maddeler çiğnettirilir. Bu şekilde toplanan tükürük bir tüp içerisinde toplanır.
- Dilin laterodorsal yüzeylerine 120 saniye boyunca her 30 saniyede bir olmak üzere % 2' lik sitrik asit uygulanmasıyla oluşturulan tükürük yine bir tüp içinde biriktirilir.

2. Uyarılmamış Tükürük Toplama Yöntemleri:

- Hasta hafif öne doğru eğik şekilde oturtularak ağızda biriken tükürüğün bir tüpte birikmesi sağlanır. Pamuk peletler dişlere değdirilmeden ağız boşluğunda mukozal dokuya doğru tutularak tükürük emdirilir.

Günün çoğu kısmında, ağız dokularını kaplayarak, bu dokuların korunmasını sağlayan uyarılmamış tükürüğün salınımı gerçekleşmektedir. Uyarılmış tükürük ise sindirimle ilgili fonksiyonlarda görevlidir¹⁴⁵. Tükürüğün toplama yöntemleri farklılığı, içeriğini de etkileyebilmektedir. Sempatik uyarılar akış hızını azaltıp, protein ve potasyumdan zengin tükürük üretimini sağlarken parasempatik uyarılar akış hızını artırıp, organik ve inorganik içeriğin azalmasını sağlamaktadır^{146,147}.

2.8.4. Tükürük Saklama Koşulları

Yapılacak olan araştırma için bireylerden toplanan tükürük örneklerinin nasıl saklanacağı, çalışılması planlanan biyokimyasal marker yapısına göre değişmektedir. Bazı molekül ve marker örneklerinin bozulma süresi kısıyken, bazıları uzun süre

bozulmadan tükürük içinde kalabilmektedir^{148,149}. Tükürük örneği alındıktan sonra en ideal saklama koşulu, örneğin hemen dondurulmasıdır. Tükürük örnekleri analizin yapılacağı güne kadar buzdolabında saklanarak moleküllerin konsantrasyonu ve içeriğinin korunması sağlanır ve ayrıca bakteriler çoğalması da engellenmiş olur. Örneklerin saklandığı buzdolabının sıcaklık derecesi, molekülün konsantrasyonu ve yapısında değişiklik meydana gelebileceği için önemlidir. Tükürüğün içeriğinin bozulmaması için 30-90 dk içinde analiz yapılacaksa oda sıcaklığında saklanabilir. Analiz 3-6 saat içinde yapılacaksa +4 derecede, günler veya aylar sonra analiz yapılacaksa -20 ile -80 derece arasında saklanması gerekmektedir^{147,148}.

Tüm bu bilgiler ışığında çalışmamızın;

- Sıfır hipotezi, “Sendromsuz dudak damak yarıklı hastalarda MSX1 gen polimorfizminin yarık bölgesindeki etkinliği açısından fark yoktur ”
- İkinci hipotezi ise “Sendromsuz dudak damak yarıklı hastalarda MSX1 gen üzerinde tespit edilen varyantların, yarık fenotipine etkisi açısından fark yoktur” olarak belirlenmiştir.

3.MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

Çalışmamıza, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı'na 2015- 2018 yılları arasında başvuran ve yaşları 6 ile 22 arasında değişen herhangi bir sendrom bulgusu bulunmayan 12'si kız ve 28'i erkek toplam 40 dudak damak yarıklı birey dahil edilmiştir.

Araştırmamız İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Etik Kurulu izni (Toplantı sayısı:1223) ile gerçekleştirilmiş ve İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri (BAP) koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

Araştırmada yer alan tüm hastalara araştırma amacı ve yöntemi hakkında bilgi verildikten sonra katılmak isteyen hastaların kendileri ve ebeveynlerinden yazılı aydınlatılmış onamları alındı (Ek 1). Ayrıca çalışmaya dahil edilen hastaların ortodontik tedavilerine de başlamak için İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Etik Kurulu'nun onayladığı, "Hasta aydınlatılmış onam formu" 18 yaş üstü olanlar için kendilerine 18 yaş altı olanların ise yakınlarına imzalatılmıştır (Ek 2). Çalışmaya dahil edilecek bireyler gönüllüler arasından seçilmiştir. Hastalardan aile özgeçmişleri (Ek 3; anamnez formu) ve 5ml tükürük örnekleri alınmıştır.

Çalışmaya dahil olan bireylerin herhangi bir sendrom taşıyıp taşımadıkları bilgisine Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Moleküler Tıp ve Genetik Tanı Araştırma ve Uygulama alanında Prof. Dr. Afig Huseynov Berdeli ile yapılan konsültasyonlar ve yapılan genetik değerlendirmeler neticesinde ulaşılmıştır.

Tablo 5. Araştırmaya katılan birey sayıları ve ortalama yaş değerleri

	Kız	Erkek	Toplam	Ortalama Yaş
Deney Grubu	12	28	40	11,4±1,6
Kontrol Grubu	16	24	40	12,5±1,5

Çalışma için elde edilen kontrol grubu verileri ise Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Moleküler Tıp ve Genetik Tanı Araştırma ve Uygulama merkezine başvurmuş bireylere ait veri havuzundan oluşturulmuştur.

3.1.1 Hasta Sayısının Belirlenmesi

G*Power 3.1.3 (Franz Faul, Universität Kiel, Germany) yazılım programı ile yapılan power analizi sonucunda, 0,18 etki genişliğinde ve $\alpha=0,05$ anlamlılık seviyesinde 37 hastadan oluşan örneklem sayısının %95 güç oluşturduğu tespit edildi. Bu nedenle toplam 40 hastanın çalışma kapsamına dahil edilmesi uygun görüldü.

3.1.2 Hasta Seçimi

Çalışmaya dahil edilecek bireylerin seçiminde aşağıdaki dahil edilme ve dahil edilmeme kriterleri göz önünde bulunduruldu:

Dahil edilme kriterleri

- Sendromu olmayan unilateral dudak damak yarıklı bireyler
- Sendromu olmayan bilateral dudak damak yarıklı bireyler
- Sendromu olmayan damak yarıklı bireyler

Dahil edilmeme kriterleri

- Herhangi bir Sendromu bulunanlar
- Kontrol altına alınamayan sistemik hastalığın olanlar (Diyabet, kardiyak problemler vb.)

Kontrol grubu

Genetik veritabanından, sağlıklı hasta grubunun varyant bulunmayan DNA gen dizilimi kullanılarak gruplararası değişkenler karşılaştırılmıştır.

3.1.3 Biyokimyasal Örnek Alınması

Çalışmamızda hastalardan uyarılmamış tükürük örneği toplandı. Tükürük örneği alımında hasta dik oturtulup, başını öne doğru eğmesi söylenerek ağız boşluğunda tükürüğünü biriktirmesi sağlandı. Bu şekilde oluşan tükürük steril bir plastik kaptaki biriktirildi (Şekil 33). Plastik kaptaki biriken tükürükte herhangi bir yabancı madde (besin artığı vb.) gözlemlendiğinde alınan örnek atılarak hastanın ağzını su ile çalkalaması istendi ve örnek alımı tekrarlandı. Ardından tükürük örnekleri steril bir enjektör yardımıyla Eppendorf tüpüne tamamiyle dolacak miktarda aktarıldı. (Şekil 34).



Şekil 33. Hastadan tükürük alınması



Şekil 34. Tükürük örneğinin enjektöre aktarımı

3.1.4 DNA İzolasyonu

Hastalardan alınan tükürükten 500µl alınarak genomik DNA elde edildi. Bu yöntem için *Invitrogen Purelink Genomic DNA Purification* DNA izolasyon mini kiti (Şekil 33) kullanıldı. *Invitrogen Purelink Genomic DNA Purification* (K1820-01) DNA izolasyon mini kit prosedürü:

Hazırlama



- Su banyosu 55⁰C'ye ayarlanır.
- Her hasta için 1,5 ml'lik eppendorf, spin ve kolon tüpler hazırlanır.
- Etil alkol saf olması için yeni olarak hazırlanır. (%95>)

Şekil 35. Invitrogen Genomic DNA izolasyon kiti

Prosedür

- Steril bir eppendorf tüpüne 500µl tükürük konulur.
- Üzerine 1000 µl PBS konulur ve vortekslenir.
- 1.800g'de 5 dakika santrifüj edilir.
- Örnekler santrifüjden alınarak supernatantı atılır. Pellet üzerine tekrar 180µl PBS eklenir ve vortekslenir.
- Vortekslenen ürünün üzerine 20 µl Proteinaz-K eklenir.
- 20 µl Rnase-A eklenir ve vortekslenir, oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilir.
- 200 µl Genomik/Lysis tamponundan eklenir ve homojen olana kadar vortekslenir.
- Protein sindirimini hızlandırmak için 55⁰C'de 10 dk. su banyosunda inkübe edilir.
- 200 µl %96-100'lük etil alkol eklenir, 5 saniye kadar vortekslenir.
- Eppendorftaki lizattan toplama tüplerine ~640 µl eklenir.
- 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir. Kolonları atılır ve temiz tüpe yerleştirilir.

- 500 µl Wash Buffer 1 ilave edilir.
- 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir. Kolonları atılır ve temiz tüpe yerleştirilir.
- 500 µl Wash Buffer 2 ilave edilir.
- 3 dakika maksimum hızda santrifüj edilir. Kolonları atılıp, temiz tüpe yerleştirilir.
- 25-200 µl (ort. 100 µl) Elution Buffer eklenir, 1-2 dakika oda ısısında bekletilir.
- Maksimum hızda 1 dakika santrifüj edilir.

Elde edilen DNA toplama tüpünde birikmiştir, burdan mikropipetle eppendorfa aktarılarak +4C⁰'de ya da -20⁰C'de saklanılarak, gerekirse dilüe edilerek kullanılır.

Genomik DNA eldesinin aşamalarında kullanılan solüsyonların amaçları şu şekildedir;

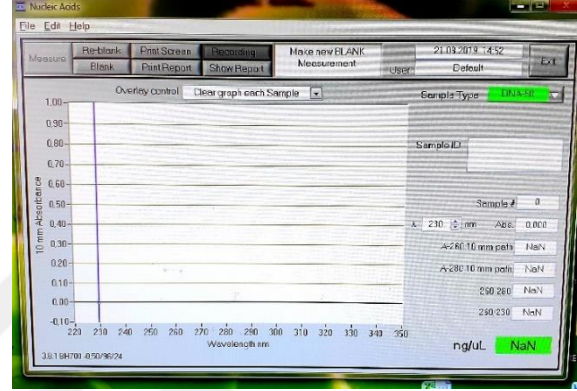
- Hücre lizis solüsyonu ile hücre zarının uzaklaştırılıp hücre içeriklerinin açığa çıkmasını sağlar.
- Proteinaz-K ile tüm hücresel ve nükleer histon proteinlerin ve RNA'nın uzaklaştırılmasını sağlar.
- Alkole, DNA'nın membranda presipitasyon basamağı ile yıkaması gerçekleştirilir. Membrana bağlama basamakları sonucunda alkol, protein ve membran lipid kontaminasyonlarından uzaklaştırılmış halde, en son uygulanan elüsyon basamağında DNA'nın saf olarak eldesi sağlanır. Elüsyon tampon çözeltisi ile membrana bağlı kalan nükleik asidin %85-100'ü elde edilir.

3.1.5 DNA'nın kontrolü

Elde edilen 2 µl (100 ng) DNA çözeltisi %1'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu. DNA saflığının ölçülmesi için, *NanoDrop Spektrofotometre* (Şekil 36) cihazında 260/280nm dalga boyunda ölçüm yapıldı. Saflık ölçüm sonuçları *Nucleic Acids Cleargraph* cihazından kaydedildi. (Şekil 37) Kontrolü tamamlanan DNA molekülleri, DNA sekans analizine başlanmak üzere +4C'de saklandı.



Şekil 36. NanoDrop Spektrofotometre



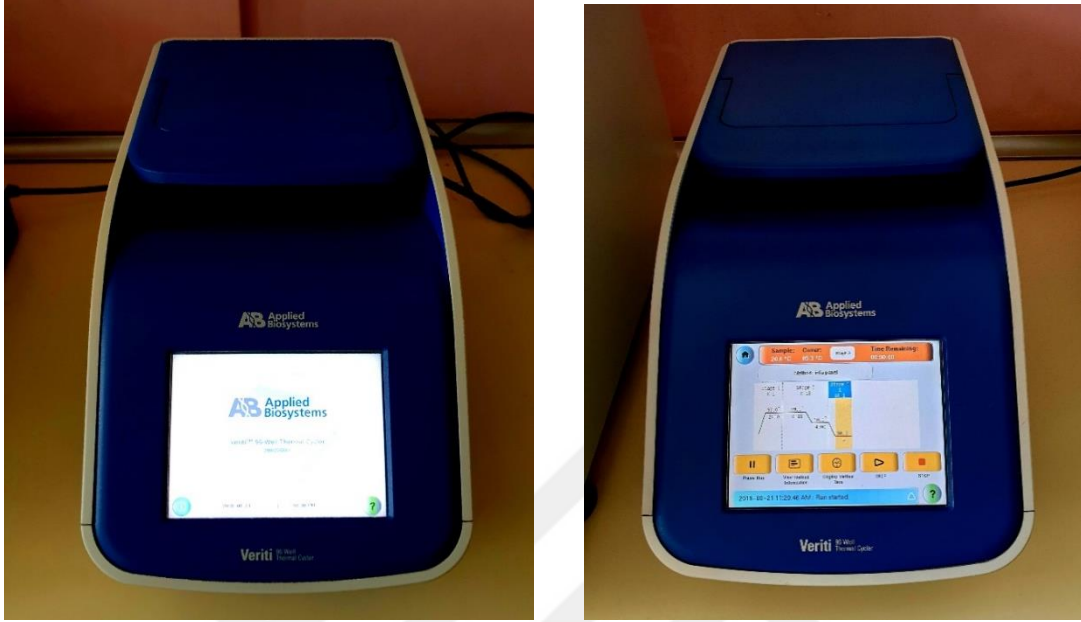
Şekil 37. Nucleic Acids Cleargraph ekranı

3.1.6 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

MSX1 geni için, ayrı ayrı her ekzona özgül olan oligonükleotid primerler ile PCR amplifikasyonu gerçekleştirildi.

PCR reaksiyonu 1 ul (100 ng) genomik DNA, Enhancer Buffer (20 mM Tris (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂) 2.5 uL, d NTP mix karışımı 0.5 uL (0.2 mM), forward primer 1 uL (10 pmol/ul), reverse primer 1 ul (10 pmol/ul) (Invitrogen) , 1.0 U PlatinumTaq DNA Polymerase (Invitrogen, Carlsbad, CA), deiyonize su ile 25 uL total volüme tamamlandı.

Veriti Thermal Cycler cihazında gradient programında PCR amplifikasyonu gerçekleştirildi.



Şekil 38. Veriti Thermal Cycler cihazları

Tablo 6. Çalışmada kullanılan DNA dizisinin primer dizilimi

Gen	Ekzon	Oryantasyon	Sekans (5'->3')
<i>MSX1</i>	1	İleri	GTGCTCCCGGGAACTCTG
<i>MSX1</i>	1	Geri	AGGTCTGGAACCTTXXTCCTG
<i>MSX1</i>	2	İleri	tttgctattattACTACTTCTTGGG
<i>MSX1</i>	2	Geri	GTAAAGGGAAGGCGGCTG

Tablo 7'de gösterilen protokole uygun olarak her bir örnek için ekzon 1 ve ekzon 2 ayrı ayrı olacak şekilde 2 adet PCR amplifikasyonu hazırlanmıştır.

Tablo 7. Hazırlanan oligonükleotid primer protokol içeriği

Protokol içeriği	Reaksiyon Başına Miktar (µl)
Genomik DNA (100 ng/µl)	1
Arttırıcı Tampon (20 mM Tris (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl ₂ .)	2,5
d NTP mix (0.2 mM)	0,5
İleri Primer (10 pmol/ul)	1
Geri Primer (10 pmol/ul)	1
PlatinumTaq DNA Polymerase (Invitrogen, Carlsbad, CA)	1
Deiyonize su (dH ₂ O)	18
Toplam	25

3.1.7. PCR Purifikasyonu

PCR'ı başarılı olan hastaların ürünlerin exo-sap ile purifikasyonu yapıldı. İnkübasyon aşaması *Veriti Thermal Cycler* cihazında gerçekleştirildi. Üreticinin tavsiye ettiği protokole bağlı kalınarak uygulama yapıldı.

3.1.8 BigDye Döngü Sekanslaması

Purifikasyonu tamamlanmış olan ürünlerin BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit ve *MSX1* geni özgül primerler kullanılarak BigDye işlemi yapıldı. BigDye aşaması *Veriti Thermal Cycler* cihazında gerçekleştirildi. Üreticinin tavsiye ettiği protokole bağlı kalınarak uygulama yapıldı.

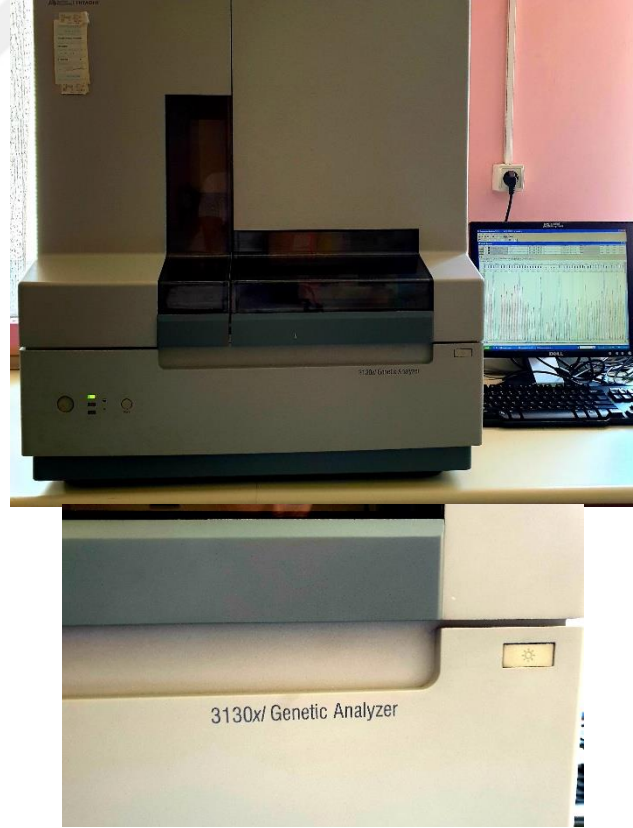
Tablo 8. Reaksiyon ürünlerinin sekanslama protokol içeriği

Protokol içeriği	Reaksiyon başına miktar (µl)
Purifikasyonu tamamlanmış ürün	1
Tepkime Tamponu	2,5
BigDye 3.1 Reaksiyon Karışımı	2
Primer (İleri veya Geri) (10 µM)	2
Deiyonize su (dH ₂ O)	12,5
Toplam	20

BigDye aşamasından sonra BigDyeXTerminator kiti kullanılarak BigDye purifikasyon işlemi gerçekleştirildi.

3.1.9. DNA Dizileme

Purifikasyonu tamamlanmış olan ürünler *ABI 3130XL Genetic Analyser Otomatik DNA Dizileme* cihazına (*Şekil 39*) konulmuştur ve piklere göre nükleotid dizileri okunmuştur.



Şekil 39. ABI 3130XL Genetic Analyser Otomatik DNA Dizileme Cihazı

Otomatik DNA dizi analiz cihazları basit olarak, sabit bilgisayarda yüklü programlar ile bu programların yönettiği elektroforez sistemini içerir. Elektroforetik ünitelerde bulunan lazer ışık kaynağı ile monokromatik bir ışık oluşturulur. Söz konusu DNA' nın bulunduğu jelmatriks bu monokromatik ışık ile taranır. Elektroforez süresince DNA' ya bağlanan floresan boya ışık ile taranan bölgeye geldiğinde uyarılır. Uyarılan boya kendi için karakteristik olan dalga boyunda ışığı geri yansıtır. Yansıyan bu ışık demeti bir dedektör tarafından kaydedilir. Kaydedilen veriler bilgisayar programları ile değerlendirilir ve sonuçlar grafiksel olarak bilgisayar ekranına aktarılarak değerlendirilir.

DNA dizileme sonucunda nükleotid değişimleri, National Institute of Health'in web sayfasındaki (www.ncbi.nih.gov) genbank ve protein database referans dizileri ile karşılaştırılmıştır.

3.2. İstatistik Değerlendirme

Yapılan bu araştırmanın istatistik değerlendirmesi, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Biyoistatistik Anabilim Dalında yapılmıştır.

Tüm veriler IBM SPSS Statistics Standard Concurrent User V 25 (IBM Corp. ,Armonk, New York, ABD) istatistik paket programında değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler birim sayısı (n) ve yüzde değer (%) olarak verilmiştir. Kategorik değişkenler arası ilişkiye $r \times c$ tablolarında Pearson kıkare testinin exact yöntemi ile bakılmıştır.

Araştırmamızda, *MSX1* değişkeni görülen dudak damak yarıklı hastalarda, DNA zincindeki varyantların deformasyon alanına etkisinin risk değerlendirilmesinde odds oranları güven aralıkları ile birlikte verilmiştir.

İstatistik veri sonuçları yorumlanırken ve gruplar arası farklılık değerlendirilirken anlamlılık düzeyi olarak 0,05 kabul edilmiştir. Değerlendirme yapılırken $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilirken, $p > 0,05$ olması durumunda ise anlamlı bir farklılığın olmadığı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Araştırmamıza, herhangi bir sendromu bulunmayan, 40 dudak ve damak yarık fenotipine sahip hasta dahil edilmiştir. Hastalar fenotiplerine göre; dişsel Sınıf 1, Sınıf 2, Sınıf 3 fenotipli, unilateral dudak ve damak yarığı, damak yarığı, bilateral dudak damak yarığı olmak üzere 6 ayrı gruba ayrılmıştır. Çalışmaya dahil edilen DDY fenotipine sahip hastalardan, 10'u Sınıf 1, 15'i Sınıf 2, 15'i Sınıf 3 maloklüzyona sahip olan bireylerin 8'inde damak yarığı, 19'unda unilateral (tek taraflı) dudak ve damak yarığı, 13'ünde ise bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı tespit edilmiştir. Bu gruplardaki hastaların dağılımları *Tablo 9-10*'da verilmiştir.

Tablo 9. Non-sendromik dudak damak yarıklı hastaların dişsel sınıflama listesi

	FENOTİP KODU	FENOTİP	HASTA KODU	CİNSİYET
1	FENOTİP 1	SINIF 1	111102	E
2	FENOTİP 1	SINIF 1	111206	K
3	FENOTİP 1	SINIF 1	111208	E
4	FENOTİP 1	SINIF 1	111210	E
5	FENOTİP 1	SINIF 1	111217	K
6	FENOTİP 1	SINIF 1	111219	E
7	FENOTİP 1	SINIF 1	111224	E
8	FENOTİP 1	SINIF 1	111126	E
9	FENOTİP 1	SINIF 1	111133	E
10	FENOTİP 1	SINIF 1	111134	E
11	FENOTİP 2	SINIF 2	121207	E
12	FENOTİP 2	SINIF 2	121011	E
13	FENOTİP 2	SINIF 2	121113	K
14	FENOTİP 2	SINIF 2	121115	E
15	FENOTİP 2	SINIF 2	121016	E
16	FENOTİP 2	SINIF 2	121118	E
17	FENOTİP 2	SINIF 2	121020	E
18	FENOTİP 2	SINIF 2	121125	K
19	FENOTİP 2	SINIF 2	121128	E
20	FENOTİP 2	SINIF 2	121030	K
21	FENOTİP 2	SINIF 2	121231	K
22	FENOTİP 2	SINIF 2	121235	E
23	FENOTİP 2	SINIF 2	121237	E
24	FENOTİP 2	SINIF 2	121039	E
25	FENOTİP 2	SINIF 2	121040	E

26	FENOTİP 3	SINIF 3	131201	E
27	FENOTİP 3	SINIF 3	131003	E
28	FENOTİP 3	SINIF 3	131004	E
29	FENOTİP 3	SINIF 3	131105	K
30	FENOTİP 3	SINIF 3	131209	E
31	FENOTİP 3	SINIF 3	131112	K
32	FENOTİP 3	SINIF 3	131114	K
33	FENOTİP 3	SINIF 3	131121	K
34	FENOTİP 3	SINIF 3	131222	E
35	FENOTİP 3	SINIF 3	131123	K
36	FENOTİP 3	SINIF 3	131127	K
37	FENOTİP 3	SINIF 3	131129	E
38	FENOTİP 3	SINIF 3	131132	E
39	FENOTİP 3	SINIF 3	131136	E
40	FENOTİP 3	SINIF 3	131138	E

Tablo 10. Non-sendromik dudak damak yarıklı hastaların DDY sınıflama listesi

	FENOTİP KODU	FENOTİP	HASTA KODU	CİNSİYET
1	FENOTİP 4	Damak Yarığı	131003	E
2	FENOTİP 4	Damak Yarığı	131004	E
3	FENOTİP 4	Damak Yarığı	121011	E
4	FENOTİP 4	Damak Yarığı	121016	E
5	FENOTİP 4	Damak Yarığı	121020	E
6	FENOTİP 4	Damak Yarığı	121030	K
7	FENOTİP 4	Damak Yarığı	121039	E
8	FENOTİP 4	Damak Yarığı	121040	E
9	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	111102	E
10	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131105	K
11	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131112	K
12	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	121113	K
13	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131114	K
14	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	121115	E
15	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	121118	E
16	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131121	K

17	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131123	K
18	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	121125	K
19	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	111126	E
20	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131127	K
21	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	121128	E
22	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131129	E
23	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131132	E
24	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	111133	E
25	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	111134	E
26	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131136	E
27	FENOTİP 5	Unilateral (Tek Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131138	E
28	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131201	E
29	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	111206	K
30	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	121207	E
31	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	111208	E
32	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131209	E
33	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	111210	E
34	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	111217	K
35	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	111219	E
36	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	131222	E
37	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	111224	E
38	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	121231	K
39	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	121235	E
40	FENOTİP 6	Bilateral (Çift Taraflı) Dudak Damak Yarığı	121237	E

4.1 MSX1 Geninde Tespit Edilen Varyantlar (Değişkenler)

Sendromsuz dudak ve/veya damak yarıklı hastalarla yapmış olduğumuz bu polimorfizm çalışmasında, 4. kromozomun 4p16'sında yer alan MSX1 geninin ekzon bölgeleri üzerindeki varyantların deformasyon bölgesine olan etkisi incelenmiştir. Araştırma verilerine göre 40 hastanın *MSX1* geninin 1. ekzonunda 4 bölgede, 2. ekzonunda 2 bölgede değişiklikler belirlenmiştir. *Tablo 11'* da bu bölgelerde gen değişimleri ve varyantlarla ilgili detaylar verilmiştir.

Tablo 11. Tespit edilen varyantların yeri, tipi ve hasta sayıları

Kromozom	4		
Kromozom lokusu	4p16		
Ekzon	1		2
Protein	G26E	A40G	G116G
A.a mutasyon tipi	missense		synonym
Delesyon (del)	IVS1+35_46		C452-15
cDNA	c.77G>A	c.119C>G	c.*6C>T
Heterozigot (HT)	29		17
Homozigot (HM)	8		1
Wild type (wt)	6		22

Tablo 12. MSX1 geninde ekzonlardaki tespit edilen varyantlar

FENOTİP	HASTA KODU	EKZON 1				EKZON 2	
		G26E	A40G	G116G	IVS1 del	C452-15 del	c.*6C>T
1-5	111102	wt	wt	wt	HT	wt	wt
1-6	111206	HT	wt	wt	HT	wt	wt
1-6	111208	wt	wt	HT	HT	wt	wt
1-6	111210	wt	HT	HT	HT	wt	wt
1-6	111217	wt	HT	wt	HT	HT	wt
1-6	111219	wt	HT	wt	HT	HT	wt
1-6	111224	wt	wt	wt	HT	HT	wt
1-5	111126	wt	HT	wt	HT	HT	HT
1-5	111133	wt	HM	wt	HM	HM	HM
1-5	111134	wt	HT	wt	HM	HT	wt
2-6	121207	wt	HT	wt	HT	HT	wt

2-4	121011	wt	wt	wt	wt	wt	wt
2-5	121113	wt	wt	wt	HT	wt	wt
2-5	121115	wt	wt	HT	wt	HT	wt
2-4	121016	wt	wt	HT	wt	wt	wt
2-5	121118	wt	HT	wt	HT	HT	wt
2-4	121020	wt	wt	wt	wt	wt	wt
2-5	121125	wt	wt	wt	HT	wt	wt
2-5	121128	wt	wt	wt	wt	wt	wt
2-4	121030	wt	wt	wt	HT	wt	wt
2-6	121231	wt	wt	wt	HT	wt	wt
2-6	121235	wt	HT	wt	HT	wt	wt
2-6	121237	wt	wt	HT	HT	HT	wt
2-4	121039	wt	HT	wt	wt	HT	wt
2-4	121040	wt	wt	wt	HT	wt	wt
3-6	131201	wt	wt	wt	HT	wt	wt
3-4	131003	wt	wt	wt	wt	wt	wt
3-4	131004	wt	wt	wt	wt	wt	wt
3-5	131105	wt	wt	wt	wt	HT	wt
3-6	131209	wt	HT	HT	HT	HT	wt
3-5	131112	wt	wt	HT	wt	wt	wt
3-5	131114	wt	wt	wt	HT	wt	wt
3-5	131121	wt	HT	wt	HT	HT	wt
3-6	131222	wt	HT	wt	HT	HT	wt
3-5	131123	wt	wt	wt	HM	wt	wt
3-5	131127	wt	HT	wt	HM	HT	HT
3-5	131129	wt	wt	wt	HM	wt	wt
3-5	131132	wt	wt	HT	HT	wt	wt
3-5	131136	wt	wt	wt	HM	wt	wt
3-5	131138	wt	wt	wt	HM	HT	wt

Wt : Wild type, yabancıl tip, yaygın allel, genin mutasyon içermeyen normal hali

HET : Bir lokustaki genin iki allelinden birinin wild type diğeriinin mutant allel taşıması durumu

HM : Her iki allelin mutant olma durumu

Değişkenlerin dört tanesi (Gly26Glu, Ala40Gly, Gly116Gly, IVS1+35_46del) *MSX1* geninin 1. ekzonunda, ikisi (c.452-15del, c.*6C>T) genin 2. ekzonunda tabloda belirtilen allellerde olduğu tespit edilmiştir. Gly26Glu ve Ala40Gly değişkenleri sentezlendikleri proteinde varyant meydana getirmekte ancak, Gly116Gly varyantı

sentezlendiği proteinde bir değişiklik meydana getirmemektedir. Belirtilen değişikliklerin hastalardaki wild type, heterozigot ve homozigot dağılımları (HOMO: bir lokustaki gen için taşıdığı allelerin ikisinin de wild type ya da mutant olma durumu) *Tablo 11* 'de detaylı olarak verilmiştir.

Tablo 13. *MSX1* geninde varyasyon belirlenen bölgeler ve Gen veri tabanı tanımlamaları

HASTA KODU	FENOTİP	EKZON	PROTEIN	cDNA	HGMD KİMLİK	DBSNP KİMLİK	HGMD YILI	HGMD TANIMI	SIFT SKORU							
111206	1-6	1	G26E	c.77G>A	-	-	-	-	-							
111210 111217 111219	1-6		A40G	c.119C>G	CM045070	rs36059701	2006	Cleft lip and palate with tooth agenesiis, association with	-							
111126 111133 111134	1-5															
121207 121235	2-6															
121118 121039	2-5 2-4															
131222 131209	3-6															
131127 131121	3-5															
111208 111210	1-6									G116G	c.348C>T	CM135386	rs34165410	2013	Oligodontia	-
121016	2-4															
121115	2-5															
121237	2-6															
131112 131132	3-5															
131209	3-6															

Tablo 13. MSX1 geninde varyasyon belirlenen bölgeler ve Gen veri tabanı tanımlamaları (devam)

111126 111133	1-5	2	-	c.*6C>T	CR067843	rs8670	2006	Cleft lip with or without cleft palate, association	-
131127	3-5								

cDNA : Complementary DNA (komplementer DNA)

HGMD : The Human Gene Mutation Database (İnsan Gen Mutasyonu Veritabanı)

HGMD kimlik : The Human Gene Mutation Database Identification Number

DBSNP : The Single Nucleotide Polymorphism Database (Tek Nükleotit Polimorfizm Veritabanı)

SIFT SKORU : Bir aminoasit değişikliğinin protein fonksiyonunu etkileyip etkilemediğini öngörür. SIFT puanı, 0.0 (zararlı) ile 1.0 (tolere edilmiş) arasında değişir.

MSX1 geninin ekzonları üzerinde saptanan varyantların, buldukları gen konumları, varyantların neden olduğu nükleotid değişimleri, değişimine neden oldukları veya değiştirmedikleri proteinler, HGMD (the Human Gene Mutation Database) insan gen mutasyonu veri tabanındaki numaraları, ilişkilendirildiği malformasyon ve yılları, dbSNP (The Single Nucleotide Polymorphism database) tek nükleotit polimorfizm veritabanındaki kayıt numaraları, hastakarin fenotipleri ve daha önceki tablolarda da belirtilen hasta kodları ve fenotipleri *Tabloda* belirtilmiştir.

4.2. G26E (c.77G>A)

MSX1 geninin 1. Ekzon dizisinde tespit edilen bu bölgede Guanin bazının Adenin bazına dönüşümü ile gözlenen bu transversiyon, 40 araştırma hastasından, sınıf 1 maloklüzyona sahip, bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip sadece 1 kız hastada tespit edilmiştir. (*Tablo 13*). Tespit edilen bu protein varyantı missense/ non-synonymous (yanlış anlamlı) bir mutasyondur. 1. Ekzon dizisinin 26. üçlü kodonu olan GGG kodonunun 77.nükleotiti olan Guanin bazının Adenin bazına transferiyle GAG kodonuna dönüştüren bir mutasyondur. Yani Glycine (Gly/G) aminoasitini, Glutamic acid'e (Glu/E) dönüştürmüştür. Glutamik asit, protein biyosentezinde hemen hemen bütün canlılar tarafından kullanılan bir a-amino asittir. Organizma kendi kendine sentezleyebilir. Ayrıca, omurgalı sinir sisteminde, aslında

en bol bulunan, uyarıcı bir nörotransmitterdir. Bu G26E mutasyon varyantı henüz dbSNP ve HGMD veritabanlarında kayıtlandırılmamıştır.

4.3. A40G (c.119C>G)

MSX1 geninin 1. Ekzon dizisinde tespit edilen bu bölgede ise Sitozin bazının Guanin bazına dönüşümü ile gözlenen bu transversiyon, 40 araştırma hastasından, sınıf 1 maloklüzyona sahip, unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 3 hastada tespit edilmiştir. Sınıf 1 ve bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 3 hastada, sınıf 2 ve unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 1 hastada, sınıf 2 ve bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 3 hastada tespit edilmiştir. Sınıf 3 ve unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 2 hastada ve yine sınıf 3 ve bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 2 hastada tespit edilmiştir. Toplamda 40 bireyin 14ünde bu varyanta rastlanmıştır ve sadece damak yarığına sahip hastalardan hiçbirisinde bu varyanta rastlanmamıştır.

Tespit edilen bu protein varyantı da missense/ non-synonymous (yanlış anlamlı) bir mutasyon proteindir. 119. nükleotit olan, Sitozinin ile Guanin arasındaki bu yer transversiyonu ile GCG kodonu GGA kodonuna, Alanine (Ala/A) aminoasitini Glycine (Gly/G) aminoasitine transver olmuştur. Alanin, protein yapımında en yaygın kullanılan aminoasitlerden biridir. Kaslar ve merkezi sinir sistemi için önemli bir enerji kaynağıdır. 40. aminoasit olan Alanine şempanzelerde, farelerde, domuzlarda, ratlarda ve insanlarda korunmuş bir aminoasit olarak geçmektedir. Bu varyant HGMD veritabanında 'CM045070' olarak ve dbSNP veritabanında "rs36059701" varyantı olarak kodlanmıştır.

4.4. G116G (c.348C>T)

MSX1 geninin 1. Ekzon dizisinde tespit edilmiş olan bu varyantta ise Sitozin bazının Timin bazına dönüşümü gözlenmiştir. Bu transisyon, silent / synonymous bir mutasyondur. 40 bireyden sınıf 1 ve bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 2 hastada, sınıf 2 ve sadece damak yarığı fenotipine sahip 1 hastada.,

sınıf 2 ve unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 1 hastada, sınıf 2 ve bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 1 hastada, sınıf 3 ve unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 2 hastada, , sınıf 3 ve bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 2 hastada tespit edilmiştir. Toplamda 40 bireyin 8'inde bu varyanta rastlanmıştır. 348. nükleotit olan Sitozinin ile Timin arasındaki bu yer değişikliği GGC kodonunu GGT kodonuna dönüştürmekte ve Glycine (Gly/G) aminoasitinde herhangi bir değişiklik yaratmamaktadır. Bu varyant HGMD veritabanında 'CM135386' olarak ve dbSNP veritabanında "rs34165410" varyantı olarak kodlanmıştır.

4.5. c.*6C>T, c.1152 C>T

DNA dizisinin transkripsiyonu ile oluşan mRNA dizisi, translasyon ile protein oluştururken meydana gelen varyanttır. Bu varyantta ise Sitozin bazının Timin bazına dönüşümü gözlenmiştir. Değişim 1152. nükleotidde meydana gelmiştir. Bu transversiyon, 40 araştırma hastasından, sınıf 1 maloklüzyona sahip, unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 2 hastada, sınıf 3 maloklüzyona sahip, unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 1 hastada tespit edilmiştir. Bu varyant HGMD veritabanında 'CR067843' olarak ve dbSNP veritabanında "rs8670" varyantı olarak kodlanmıştır.

4.6 Delesyon Varyantları

MSX1 geninin ekzon bölgelerinde meydana gelen kromozomun bir parçasının kopup kaybolmasıyla meydana gelen kromozom anomalileridir. 1. İntron bölgesinde bulunan 35. ve 46. nükleotidler arasındaki 11 bazlı bir nükleotid zincirinde delesyon meydana gelmiştir. Bu delesyon IVS (intervening sequence) olarak tanımlanmıştır. Heterozigot ve homozigot olarak ayrılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 40 bireyden 29'unda 1. intron bölgesinde *IVS1+35_46 delCCGGGTGGGGG* delesyonu tespit edilmiştir. 2. Ekzon bölgesinde ise 146. nükleotid kodonunda (ATG/ Methionine) yer alan Timin bazının delesyonuyla *c.452-15delT* varyantı tespit edilmiştir. Toplamda 40 araştırma hastasından 18'inde bu delesyona rastlanmıştır.

Tablo 14. MSX1 gen varyantlarının, dudak damak yarıklarına olan etkisi bakımından kontrol grubu ile karşılaştırması

	DDY		kikare p	Risk		
	VAR n (%)	YOK n (%)		Odds	%95 AS	%95 ÜS
E1_G26E	1 (2,5)	0 (0)	1,000	1,026	0,976	1,078
I1_IVS1del_HM	7 (17,5)	0 (0)	0,012	1,212	1,051	1,398
I1_IVS1del_HT	22 (55,0)	0 (0)	<0,001	2,222	1,578	3,130
E1_A40G_HM	1 (2,5)	0 (0)	1,000	1,026	0,976	1,078
E1_A40G_HT	13 (32,5)	0 (0)	<0,001	1,481	1,195	1,837
E1_G116G_HT	8 (22,5)	0 (0)	<0,001	1,290	1,092	1,525
E2_ATG_delT_HM	1 (2,5)	0 (0)	1,000	1,026	0,976	1,078
E2_ATG_delT_HT	17 (42,5)	0 (0)	<0,001	1,739	1,332	2,270
E2_c.*6C>T_HM	1 (2,5)	0 (0)	1,000	1,026	0,976	1,078
E2_c.*6C>T_HT	2 (5,0)	0 (0)	0,494	1,053	0,980	1,130

E1_G26E: Ekzon1 c.77G>A

I1_IVS1del_HM: İtron1 IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG homozigot

I1_IVS1del_HT: İtron1 IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG heterozigot

E1_A40G_HM: Ekzon1 c.119 C> G homozigot

E1_A40G_HT: Ekzon1 c.119 C> G heterozigot

E1_G116G_HT:öEkzon1 c.348 C> T heterozigot

E2_ATG_delT_HM: Ekzon2 c.452-15delT homozigot

E2_ATG_delT_HT: Ekzon2 c.452-15delT heterozigot

E2_c.*6C>T_HM: Ekzon2 c.*6C>T (c.1152 C>T) homozigot

E2_c.*6C>T_HT: Ekzon2 c.*6C>T (c.1152 C>T) heterozigot

MSX1 G26E, A40G (c.119 C> G), G116G (c.348 C> T), IVS1+35_46 delCCGGGTGGGGG, c.452-15delT, c.*6C>T (c.1152 C>T). varyantları bakımından çalışma grubu ve kontrol grubu verileri ile karşılaştırılması *Tablo 14'* de verilmiştir.

IVS1+35_46 delCCGGGTGGGGG HT, A40G (c.119 C> G) HT, G116G (c.348 C> T) HT, c.452-15delT HT varyantlarının, kikare testine göre dudak damak yarığı fenotipine neden olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.05).

IVS1+35_46 delCCGGGTGGGGG HT, A40G (c.119 C> G) HT, G116G (c.348 C> T) HT, c.452-15delT HT varyantlarının MSX1 geninde tespit edilmesi, dudak damak yarıkları ile diğer gruplar arasında, genotiplerin görülme risklerinin oranları (odds ratioları) ve güven aralıkları tabloda yer almaktadır. Gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Tablo 15. MSX1 gen varyantlarının, dişsel sınıflamaya olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi,

	DDY			Kikare p
	SINIF 1 n (%)	SINIF 2 n (%)	SINIF 3 n (%)	
E1_wt	0 (0)	4 (26,7)	4 (26,7)	0,255
E1_G26E	1 (10)	0 (0)	0 (0)	0,250
I1_IVS1del_HM	3 (30)	0 (0)	4 (26,7)	0,063
I1_IVS1del_HT	7 (70)	9 (60)	6 (40)	0,314
E1_A40G_HM	1 (10)	0 (0)	0 (0)	0,250
E1_A40G_HT	5 (50)	4 (26,7)	4 (26,7)	0,439
E1_G116G_HT	2 (20)	3 (20)	3 (20)	0,796
E2_wt	3 (30)	10 (66,7)	9 (60)	0,212
E2_ATG_delT_HM	1 (10)	0 (0)	0 (0)	0,250
E2_ATG_delT_HT	6 (60)	5 (33,3)	6 (40)	0,432
E2_c.*6C>T_HM	1 (10)	0 (0)	0 (0)	0,250
E2_c.*6C>T_HT	1 (10)	0 (0)	1 (0)	0,712

MSX1 geninin Ekzon1, Ekzon2 ve İntron bölgelerinde meydana gelen varyasyonların dişsel malformasyon sınıflamasına istatistiksel olarak anlamlı bir katkısı bulunmamaktadır.

, Ancak dişsel olarak sınıf 2 ve sınıf 3 maloklüzyonlu bireylerde sınıf 1 maloklüzyonlu bireylere nazaran, MSX1 geninin 1. Ekzon zincirinde nükleotid yer değişimi görülme olasılığının daha az olduğu görülmüştür. DDY ve Sınıf 1, Sınıf 2 ve Sınıf 3 maloklüzyona sahip bireylerde ise en sık deformasyon görülen bölgenin 1. İntrondaki delesyondan kaynaklı IVS1+35_46 delCCGGGTGGGGG HT olduğu gözlemlenmiştir. Dişsel sınıflama fenotipinde, MSX1 geninin 2. Ekzon dizisi karşılaştırıldığında ise en sık karşılaşılan varyantın c.452-15delT HT olduğu

gözlemlenmiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir. Dudak damak yarıklı hastalarda *MSX1* geninin tüm varyantlarının, dişsel sınıflama fenotipine olan etkisine bakıldığında ise dizide meydana gelen delesyon varyantlarının etkisinin aminoasit varyantlarının etkisinden 2 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 16. *MSX1* gen varyantlarının, dişsel sınıf 1 ve sınıf 2 fenotipine olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi

	DDY		Kikare p	Risk		
	SINIF 1 n(%)	SINIF 2 n (%)		Odds	%95 AS	%95 ÜS
E1_wt	0 (0)	4 (26,7)	0,125	1,364	1,005	1,850
E1_G26E	1 (10)	0 (0)	0,400	0,900	0,732	1,107
I1_IVS1del_HM	3 (30)	0 (0)	0,051	0,700	0,467	1,050
I1_IVS1del_HT	7 (70)	9 (60)	0,691	0,750	0,242	2,325
E1_A40G_HM	1 (10)	0 (0)	0,400	0,900	0,732	1,107
E1_A40G_HT	5 (50)	4 (26,7)	0,397	0,632	0,342	1,361
E1_G116G_HT	2 (20)	3 (20)	0,653	0,875	0,542	1,411
E2_wt	3 (30)	10 (66,7)	0,111	2,100	0,922	4,781
E2_ATG_delT_HM	1 (10)	0 (0)	0,400	0,900	0,732	1,107
E2_ATG_delT_HT	6 (60)	5 (33,3)	0,241	0,600	0,259	1,389
E2_c.*6C>T_HM	1 (10)	0 (0)	0,400	0,900	0,732	1,107
E2_c.*6C>T_HT	1 (10)	0 (0)	0,400	0,900	0,732	1,107

MSX1 geninin Ekzon1, Ekzon2 ve İntron bölgelerinde meydana gelen varyasyonların dişsel malformasyon fenotipine etkisi incelendiğinde, istatistiksel olarak gruplar arası anlamlı bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen DDY fenotipine sahip tüm Sınıf 1 bireylerin *MSX1* gen haritalarının ekzon1 diziliminde varyant gözlenmiş olup, bu varyantların çoğunluğunu A40G (c.119 C> G) değişkeni oluşturmaktadır. DDY deformasyonlu tüm sınıf 1 hastaların intron1 bölgesinde *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG* delesyonu gözlenirken çoğunluğunu heterozigot olanlar oluşturmaktadır (%70). Yine Sınıf 1 bireylerin hiçbirinde Ekzon1 dizilimi normallik (Wt: mutasyon içermeyen normal hali) göstermezken Sınıf 2 bireylerin %26,7sinde Ekzon 1 diziliminde herhangi bir varyanta rastlanmamıştır. Dudak damak yarıklı bireylerde *MSX1* geninin Ekzon 1 bölgesindeki normal dizilimi, sınıf 2 fenotip görülme riskini Sınıf 1 gruba oranla (odds ratioları) artırmaktadır. Sınıf 2 fenotip

görülme risklerinin oranları (odds ratioları) ve güven aralıkları tabloda yer almaktadır. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmasada hastalığın görülme riskinin anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Gruplardaki Ekzon 2 dizilimindeki genetik varyantlardan, fenotipe en çok etkisi olan *c.452-15delT heterozigot* delesyon varyantı olarak gözlemlense de istatistiksel olarak ve fenotipte gözlenme riski açısından gruplar arası bir anlam bulunamamıştır.

Tablo 17. MSX1 gen varyantlarının, dişsel sınıf 1 ve sınıf 3 fenotipine olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi

	DDY		Kikare p	Risk		
	SINIF1 n (%)	SINIF 3 n (%)		Odds	%95 AS	%95 ÜS
E1_wt	0 (0)	4 (26,7)	0,125	1,364	1,005	1,850
E1_G26E	1 (10)	0 (0)	0,400	0,900	0,732	1,107
I1_IVS1del_HM	3 (30)	4 (26,7)	1,000	0,955	0,575	1,586
I1_IVS1del_HT	7 (70)	6 (40)	0,126	0,500	0,178	1,405
E1_A40G_HM	1 (10)	0 (0)	0,400	0,900	0,732	1,107
E1_A40G_HT	5 (50)	4 (26,7)	0,397	0,632	0,342	1,361
E1_G116G_HT	2 (20)	3 (20)	0,653	0,875	0,542	1,411
E2_wt	3 (30)	9 (60)	0,226	1,750	0,834	3,671
E2_ATG_delT_HM	1 (10)	0 (0)	0,400	0,900	0,732	1,107
E2_ATG_delT_HT	6 (60)	6 (40)	0,428	0,667	0,281	1,582
E2_c.*6C>T_HM	1 (10)	0 (0)	0,400	0,900	0,732	1,107
E2_c.*6C>T_HT	1 (10)	1 (6,7)	1,000	0,964	0,753	1,234

MSX1 geninin Ekzon1, Ekzon2 ve İntron bölgelerinde meydana gelen varyasyonların dişsel malformasyon fenotipine etkisi incelendiğinde, istatistiksel olarak gruplar arası anlamlı bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Ancak yine Sınıf 1 bireylerin hiçbirinde Ekzon1 diziliminde normallik (Wt:mutasyon içermeyen normal hali) görülmezken Sınıf 3 bireylerin %26,7sinde Ekzon 1 diziliminde herhangi bir varyanta rastlanmamıştır. Dudak damak yarıklı bireylerde *MSX1* geninin Ekzon 1 bölgesindeki normal dizilimi, sınıf 3 fenotip görülme riskini Sınıf 1 gruba oranla (odds ratio) artırmaktadır. *MSX1* geninin ekzon 1 dizilimindeki aminoasit varyantlarının Sınıf 3 fenotipine olan etkisi, delesyon varyantlarına oranla daha az olduğu tespit edilmiştir.

Delesyon bölgelerinden fenotipe en çok etkisi olan varyant ise %40 oranla *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG heterozigot* olduğu görülmektedir. Gruplardaki Ekzon 2 dizilimindeki genetik varyantlardan, fenotipe en çok etkisi olan *c.452-15delT heterozigot* delesyon varyantı olarak gözlemlense de istatistiksel olarak ve fenotipe gözlenme riski açısından gruplar arası bir anlam bulunamamıştır.

Tablo 18. *MSX1* gen varyantlarının, Damak Yarığı (YDA) ve Dudak Damak Yarığı (DDY) fenotipine olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi

	YDA n (%)	DDY n (%)	Kikare p	RISK		
				Odds	%95 AS	%95 ÜS
E1_G26E	0 (0)	1 (3,1)	1,000	1,032	0,970	1,099
I1_IVS1del _HM	0 (0)	7 (21,9)	0,309	1,280	1,066	1,538
I1_IVS1del _HT	2 (25)	20 (62,5)	0,110	2,000	1,097	3,645
E1_A40G_ _HM	0 (0)	1 (3,1)	1,000	1,032	0,970	1,099
E1_A40G_ _HT	1 (12,5)	12 (3,5)	0,236	1,400	0,962	2,037
E1_G116G_ _HT	1 (12,5)	7 (21,9)	0,655	1,167	0,839	1,622
E2_ATG_d elT_HM	0 (0)	1 (3,1)	1,000	1,032	0,970	1,099
E2_ATG_d elT_HT	1 (12,5)	16 (50,0)	0,107	1,750	1,133	2,702
E2_ c.*6C>T_HM	0 (0)	1 (3,1)	1,000	1,032	0,970	1,099
E2_ c.*6C>T_HT	0 (0)	2 (6,3)	1,000	1,067	0,975	1,166

Tablo 18 incelendiğinde, *MSX1* geninin Ekzon 1, Ekzon 2 ve İntron1 bölgelerinde meydana gelen varyasyonların, damak yarığı (YDA) fenotipi ile dudak ve damak yarığı (DDY) fenotipine olan etkisi karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak gruplar arası anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Fakat, YDA fenotipli bireylerin hiçbirinde İntron1 diziliminde *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG homozigot* delesyonu görülmezken, DDY fenotipli bireylerin %21,9'unda İntron1 diziliminde bu delesyon varyantına rastlanmamıştır. Bu da gösteriyor ki, *MSX1* geninin İntron1 bölgesindeki *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG homozigot*

delesyonu, DDY fenotip görülme riskini YDA grubuna oranla (odds ratio) artırmaktadır. Odds ratio ve güven aralığı oranları gruplar arası karşılaştırmada anlamlıdır.

IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG heterozigot delesyonu için gruplar arası karşılaştırma yapıldığında ise, bu delesyon genotipinin DDY fenotipine yansımaya riskinin YDA grubuna oranla fazla olduğu tespit edilmiş olup, odds ratio ve güven aralığı oranları da karşılaştırmada anlamlı bulunmuştur.

MSX1 geninin Ekzon2 bölgesindeki *c.452-15delT heterozigot* delesyonu da, bireylerde DDY fenotip görülme riskini YDA fenotipine oranla artırdığı, odds ve güven aralığı oranlarına bakılarak anlamlı bulunmuştur.

Kısaca Intron1'deki *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG homozigot ve heterozigot* ve Ekzon2'deki *c.452-15delT heterozigot* delesyon genotipleri YDA ve DDY fenotipleri karşılaştırıldığında, DDY fenotipiyle anlamlı ilişkiye sahiptir ve bu fenotipin nedenini oluşturmada etkili olduğu bulunmuştur.

Tablo 19. *MSX1* gen varyantlarının, Damak Yarığı (YDA) ve Tek Taraflı Dudak Damak Yarığı (T-DDY) fenotipine olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi

	YDA n (%)	T-DDY n (%)	Kikare P	RİSK		
				Odds	%95 AS	%95 ÜS
E1_G26E	0 (0)	0 (0)	-	-	-	-
I1_IVS1del_HM	0 (0)	7 (36,8)	0,049	1,583	1,123	2,232
I1_IVS1del_HT	2 (25)	7 (36,8)	0,576	1,188	0,701	2,012
E1_A40G_HM	0 (0)	1 (5,3)	1,000	1,056	0,949	1,174
E1_A40G_HT	1 (12,5)	5 (26,3)	0,533	1,188	0,816	1,728
E1_G116G_HT	1 (12,5)	3 (15,8)	1,000	1,039	0,750	1,440
E2_ATG_delT_HM	0 (0)	1 (5,3)	1,000	1,056	0,949	1,174
E2_ATG_delT_HT	1 (12,5)	9 (47,4)	0,190	1,663	1,008	2,743
E2_c.*6C>T_HM	0 (0)	1 (5,3)	1,000	1,056	0,949	1,174
E2_c.*6C>T_HT	0 (0)	2 (10,5)	0,567	1,118	0,958	1,304

Tablo 19 incelendiğinde, *MSX1* geninin Ekzon1, Ekzon2 ve İntron1 bölgelerinde meydana gelen varyasyonların, damak yarığı (YDA) fenotipi ile tek taraflı dudak ve damak yarığı (T-DDY) fenotipine olan etkisi karşılaştırıldığında, *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG homozigot* delesyon genotipinin T-DDY fenotipine yansıdığı gruplar arası karşılaştırılmada istatistiksel olarak anlamlı

bulunmuştur. Ayrıca bu delesyon, T-DDY fenotip görülme riskini YDA grubuna oranla artırmaktadır. Odds ratio ve güven aralığı oranları gruplar arası karşılaştırmada anlamlıdır.

MSX1 geninin Ekzon2 bölgesindeki *c.452-15delT heterozigot* delesyonu da, bireylerde T-DDY fenotip görülme riskini YDA fenotipine oranla artırdığı, odds ve güven aralığı oranlarına bakılarak anlamlı bulunmuştur. Kısaca Intron1'deki *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG* *homozigot* ve Ekzon2'deki *c.452-15delT heterozigot* delesyon genotipleri YDA ve T-DDY fenotipleri karşılaştırıldığında, DDY fenotipiyle anlamlı ilişkiye sahiptir ve bu fenotipin nedenini oluşturmakta etkili olduğunu söyleyebilmekteyiz.

Tablo 20. *MSX1* gen varyantlarının, Damak Yarığı (YDA) ve Çift Taraflı Dudak Damak Yarığı (Ç-DDY) fenotipine olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi

	YDA n (%)	Ç-DDY n (%)	Kikare p	RİSK		
				Odds	%95 AS	%95 ÜS
E1_G26E	0 (0)	1 (7,7)	1,000	1,083	0,926	1,267
I1_IVS1del_HM	0 (0)	7 (36,8)	0,049	1,583	1,123	2,232
I1_IVS1del_HT	2 (25)	7 (36,8)	0,576	1,188	0,701	2,012
E1_A40G_HM	0 (0)	1 (5,3)	1,000	1,056	0,949	1,174
E1_A40G_HT	1 (12,5)	5 (26,3)	0,533	1,188	0,816	1,728
E1_G116G_HT	1 (12,5)	3 (15,8)	1,000	1,039	0,750	1,440
E2_ATG_delT_HM	0 (0)	1 (5,3)	1,000	1,056	0,949	1,174
E2_ATG_delT_HT	1 (12,5)	9 (47,4)	0,190	1,663	1,008	2,743
E2_c.*6C>T_HM	0 (0)	1 (5,3)	1,000	1,056	0,949	1,174
E2_c.*6C>T_HT	0 (0)	2 (10,5)	0,567	1,118	0,958	1,304

Tablo 20 incelendiğinde, *MSX1* geninin Ekzon1, Ekzon2 ve İntron1 bölgelerinde meydana gelen varyasyonların, damak yarığı (YDA) fenotipi ile çift taraflı dudak ve damak yarığı (Ç-DDY) fenotipine olan etkisi karşılaştırıldığında, *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG* *heterozigot* delesyon genotipinin Ç-DDY fenotipine yansıdığı gruplar arası karşılaştırılmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p < 0,001$) Bu delesyon, Ç-DDY fenotip görülme riskini YDA grubuna oranla artırmaktadır. Odds ratio ve güven aralığı oranları gruplar arası karşılaştırmada anlamlıdır. Çalışmamıza dahil edilen çift taraflı dudak damak yarıklı bireylerin İntron1 bölgesindeki dizilimin tamamında (%100) bu heterozigot delesyon zinciri gözlenmiştir.

MSX1 geninin Ekzon1 bölgesindeki *A40G (c.119 C> G)* heterozigot missense aminoasit varyantı için gruplar arası karşılaştırma yapıldığında ise, bu varyant genotipinin Ç-DDY fenotipine yansıma riskinin YDA grubuna oranla fazla olduğu tespit edilmiş olup, odds ratio ve güven aralığı oranları da karşılaştırmada anlamlı bulunmuştur. Ekzon2 bölgesindeki *c.452-15delT* heterozigot delesyonu da, bireylerde Ç-DDY fenotip görülme riskini YDA fenotipine oranla artırdığı, odds ve güven aralığı oranlarına bakılarak anlamlı bulunmuştur.

Tablo 21. *MSX1* gen varyantlarının, Tek Taraflı Damak Yarığı (T-DDY) ve Çift Taraflı Dudak Damak Yarığı (Ç-DDY) fenotipine olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi

	T-DDY n (%)	Ç-DDY n (%)	Kikare P	RİSK		
				Odds	%95 AS	%95 ÜS
E1_G26E	0 (0)	1 (7,7)	0,406	1,083	0,926	1,276
I1_IVS1del_HM	7 (36,8)	0 (0)	0,025	1,632	1,448	1,890
I1_IVS1del_HT	7 (36,8)	13 (100,0)	0,001	1,250	1,750	1,830
E1_A40G_HM	1 (5,3)	0 (0)	1,000	0,947	0,852	1,053
E1_A40G_HT	5 (26,3)	7 (53,8)	0,150	1,596	0,837	3,045
E1_G116G_HT	3 (15,8)	4 (30,8)	0,219	1,368	0,854	2,193
E2_ATG_delT_HM	1 (5,3)	0 (0)	1,000	0,947	0,852	1,053
E2_ATG_delT_HT	9 (47,4)	7 (53,8)	0,085	1,140	0,552	2,356
E2_c.*6C>T_HM	1 (5,3)	0 (0)	1,000	0,947	0,852	1,053
E2_c.*6C>T_HT	2 (10,5)	0 (0)	0,502	0,895	0,767	1,044

Tablo 21. incelendiğinde, *MSX1* geninin Ekzon1, Ekzon2 ve İntron1 bölgelerinde meydana gelen varyasyonların, T-DDY fenotipi ile Ç-DDY fenotipine olan etkisi karşılaştırıldığında, *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG* homozigot delesyon genotipinin T-DDY fenotipine yansıdığı gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG* heterozigot delesyon genotipinin ise Ç-DDY fenotipine yansıdığı gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p< 0,001$). Bu delesyon genotiplerinin fenotipi etkilediği Odds ratio ve güven aralığı oranları gruplar arası karşılaştırmada anlamlı bulunmuştur.

MSX1 geninin Ekzon1, Ekzon2 ve İntron1 bölgelerinde tespit edilen diğer varyasyonlarda ise gruplar arası karşılaştırma yapıldığında istatistiksel anlamda, hastalığın görülme riski oranında ve güven aralığı oranlarında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Tablo22. *MSX1* A40G (c.119 C> G) varyantı bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi, kontrol grubu ve 1000 genom çalışması verileri ile karşılaştırması

(http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:48595184860518;v=rs36059701;vdb=variation;vf=250820170)

	Dudak Damak Yarıkları	Kontrol Grubu Türkiye	1000 Genom Dünya	1000 Genom Avrupa	1000 Genom Amerika	1000 Genom Güney Asya	1000 Genom Doğu Asya	1000 Genom Afrika
Wild Type (CC)	26 (%65)	146 (%84,39)	2015 (%80,5)	350 (%69,6)	279 (%80,4)	390 (%79,8)	448 (%88,9)	548 (%82,9)
Heterozigot (CG)	13 (%32,5)	24 (%13,87)	459 (%18,3)	140 (%27,8)	64 (%18,4)	92 (%18,8)	55 (%10,9)	108 (%16,3)
Homozigot (GG)	1 (%2,5)	3 (%1,73)	30 (%1,2)	13 (%2,6)	4 (%1,2)	7 (%1,4)	1 (%0,2)	5 (%0,8)
Toplam Denek Sayısı	40 (%100)	173 (%100)	2504 (%100)	503 (%100)	347 (%100)	489 (%100)	504 (%100)	661 (%100)
C	65 (%81,3)	316 (%91,33)	4489 (%89,6)	840 (%83,5)	622 (%89,6)	872 (%89,2)	951 (%94,3)	1204 (%91,1)
G	15 (%18,7)	30 (%8,67)	519 (%10,4)	166 (%16,5)	72 (%10,4)	106 (%10,8)	57 (%5,7)	118 (%8,9)
Toplam Allel Sayısı	80 (%100)	346 (%100)	5008 (%100)	1006 (%100)	694 (%100)	978 (%100)	1008 (%100)	1322 (%100)

Çalışmamızda, *MSX1* A40G (c.119 C> G) WT (Mutasyon içermeyen) wildtip görülme yüzdesi; Türkiye, Avrupa, Güney ve Doğu Asya, Afrika, Amerika ve Dünya yüzdesinden düşük çıkmıştır.

MSX1 A40G (c.119 C> G) HM (Homozigot CG) yüzdesi; Türkiye, Güney ve Doğu Asya, Afrika, Amerika ve Dünya yüzdesinden yüksek, fakat Avrupa yüzdesinden düşük çıkmıştır.

Dünya genellemesine bakıldığında ise, *MSX1* A40G (c.119 C> G) HM (Homozigot CG) varyantının görülme yüzdesi Avrupa başta olmak üzere Türkiye, Güney Asya, Amerika, Afrika ve Doğu Asya yüzdeleri takip etmektedir.

Tablo 23. *MSX1* G116G (c.348 C> T) varyantı bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi, kontrol grubu ve 1000 genom çalışması verileri ile karşılaştırması

(http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:4859518-4860518;v=rs36059701;vdb=variation;vf=250820170)

	Dudak Damak Yarıkları	Kontrol Grubu Türkiye	1000 Genom Dünya	1000 Genom Avrupa	1000 Genom Amerika	1000 Genom Güney Asya	1000 Genom Doğu Asya	1000 Genom Afrika
Wild Type (CC)	32 (%80)	157 (%90,75)	2061 (%82,3)	455 (%90,5)	311 (%89,6)	325 (%66,5)	422 (%83,7)	548 (%82,9)
Heterozigot (CT)	8 (%20)	16 (%9,24)	408 (%16,3)	46 (%9,2)	35 (%10,1)	147 (%30,1)	76 (%15,1)	104 (%15,7)
Homozigot (TT)	0 (%0)	0 (%0)	35 (%1,4)	2 (%0,4)	1 (%0,3)	17 (%3,1)	6 (%1,2)	9 (%1,4)
Toplam Denek Sayısı	40 (%100)	173 (%100)	2504 (%100)	503 (%100)	347 (%100)	489 (%100)	504 (%100)	661 (%100)
C	72 (%90)	330 (%95,37)	4530 (%90,5)	956 (%95)	657 (%94,7)	797 (%81,5)	920 (%91,3)	1200 (%90,8)
T	8 (%10)	16 (%4,62)	478 (%9,5)	50 (%5)	37 (%5,3)	181 (%18,5)	88 (%8,7)	122 (%9,2)
Toplam Allel Sayısı	80 (%100)	346 (%100)	5008 (%100)	1006 (%100)	694 (%100)	978 (%100)	1008 (%100)	1322 (%100)

Çalışmamızda, *MSX1* G116G (c.348 C> T) WT (Mutasyon içermeyen) wildtip görülme yüzdesi; Türkiye, Avrupa, Amerika, Doğu Asya, Afrika ve Dünya yüzdelerinden düşük, Güney Asya yüzdesinden ise yüksektir.

MSX1 G116G (c.348 C> T) HT (Heterozigot CT) görülme yüzdesi; Güney Asya'dan düşük diğerlerinden ise yüksektir. *MSX1* G116G (c.348 C> T) HM (Homozigot TT) varyantı çalışmamızda ve Türkiye genelinde hiç gözlenmemiştir.

Dünya genellemesine bakıldığında ise, *G116G* (c.348 C> T) HM (Homozigot TT) görülme yüzdesi; Güney Asya başta olmak üzere, Afrika ve Doğu Asya, Avrupa ve Amerika yüzdeleri takip etmektedir.

Tablo 24. *MSX1* c.*6C>T (c.1152 C> T) varyantı bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelenmesi, kontrol grubu ve 1000 genom çalışması verileri ile karşılaştırması

(http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:48595184860518;v=rs36059701;vdb=variation;vf=250820170)

	Dudak Damak Yarıklar 1	Kontrol Grubu Türkiye	1000 Genom Dünya	1000 Genom Avrupa	1000 Genom Amerika	1000 Genom Güney Asya	1000 Genom Doğu Asya	1000 Genom Afrika
Wild Type (CC)	37 (%92,5)	154 (%89,01)	1651 (%65,9)	290 (%57,7)	245 (%70,6)	313 (%64)	443 (%87,9)	360 (%54,5)
Heterozigot (CT)	2 (%5)	19 (%10,98)	756 (%30,2)	192 (%38,2)	92 (%26,5)	151 (%30,9)	60 (%11,9)	261 (%39,5)
Homozigot (TT)	1 (%2,5)	0 (%0)	91 (%3,9)	21 (%4,2)	10 (%2,9)	25 (%5,1)	1 (%0,2)	40 (%6,1)
Toplam Denek Sayısı	40 (%100)	173 (%100)	2504 (%100)	503 (%100)	347 (%100)	489 (%100)	504 (%100)	661 (%100)
C	76 (%95)	327 (%94,5)	4058 (%81)	772 (%76,7)	582 (%83,9)	777 (%79,4)	946 (%93,8)	981 (%74,2)
T	4 (%5)	19 (%5,49)	950 (%19)	234 (%23,3)	112 (%16,1)	201 (%20,6)	62 (%6,2)	341 (%25,8)
Toplam Allel Sayısı	80 (%100)	346 (%100)	5066 (%100)	1006 (%100)	694 (%100)	978 (%100)	1008 (%100)	1322 (%100)

Çalışmamızda, *MSX1* c.*6C>T (c.1152 C> T) *WT* (Mutasyon içermeyen) wildtip görülme yüzdesi; Türkiye, Avrupa, Amerika, Güney ve Doğu Asya, Afrika ve Dünya yüzdelerinden yüksektir.

MSX1 c.*6C>T (c.1152 C> T) *HT* (Heterozigot *CT*) görülme yüzdesi tüm Dünya ve Türkiye yüzdelerinden düşüktür.

Çalışmamızda *MSX1* c.*6C>T (c.1152 C> T) *HM* (Homozigot *TT*) görülme yüzdesi ise, Türkiye ve Doğu Asya'dan yüksek, diğerlerinden düşüktür.

Dünya genellemesine bakıldığında ise, c.*6C>T(c.1152 C> T) *HM* (Homozigot *TT*) varyantının görülme yüzdesi ise; Afrika başta olmak üzere, Güney Asya, Avrupa, Amerika, ve Doğu Asya yüzdeleri takip ederken *Ensemble* veri tabanına göre bu varyanta Türkiye'de hiç rastlanmamıştır.

5. TARTIŞMA

Sendromsuz dudak damak yarığı, ortalama 1/ 700'lük görülme sıklığı ile konjenital (doğuştan) bozukluklar arasında en sık görülen konjenital malformasyonlardandır¹⁵⁰. Bu sıklık oranları; etnik köken, coğrafi köken, yaşam tarzı, çevresel koşullar, sosyoekonomik durumla da ilişkilidir¹⁵¹. Dudak damak yarıklarına neden olduğu düşünülen genetik faktörler üzerine yapılan çalışmalar, bir aday gen haritası oluşturmuş olsa bile, henüz dudak damak yarıklarının embriyolojik gelişimi aydınlatılmadığı için kesinlik sağlanamamıştır¹⁵². Dudak damak yarıkları farklı populasyonlarda farklı dağılım oranlarına neden olmaktadır; Asya popülasyonunda yaklaşık 1/500; Kafkas popülasyonunda 1/1100; Afrika popülasyonunda 1/2500; Amerika popülasyonunda 1/1000 oranlarında görüldüğü rapor edilmiştir. Farklı populasyonlarda farklı etnik gruplarda hem genetik hem de çevresel birçok etkinin sonucunda DDY fenotipinin meydana geldiği çoğu çalışmada bildirilmiştir¹⁵³. DDY malformasyonu bu etkilerin toplamının belirli bir eşiği aştığında meydana gelmektedir. Bu multifaktöriyel eşik modeli olarak da bildirilmiştir. Fakat son yıllardaki çalışmalar, hastalığın ortaya çıkmasını; düşük derecelerde etki eden çok sayıda faktörün etkilerinin toplamının bir eşiği aşabilmesine değil, daha majör etki sağlayan daha az sayıdaki genetik faktörün hastalık riskini arttırmasıyla ilişkilendirmişlerdir¹⁵⁴.

Etiyolojik açıdan bakıldığında, genetik faktörlerin rol oynadığı dudak damak yarıklarının tedavisinde, genetik tanı ve genetik tedavi yöntemlerinin gelecekte daha da fazla önem kazanacağı görülmektedir. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda farklı toplumlarda yapılan çalışmalar dudak damak yarıklarının genetik temelini aydınlatılmasına yardımcı olurken, toplumsal farklılığın önemini de vurgulamaktadır. Bu nedenle dudak damak yarıklarının etiyojisinde rol aldığı düşünülen aday genlerin düzenleyici bölgelerini saptamaya ve spesifik varyasyonlarını tespit etmeye yönelik çalışmalar gittikçe artmaktadır. Bu sayede gelecekte dudak damak yarıklarının, toplumdaki genetik risk haritasını oluşturup katkı sağlamak gittikçe kolaylaşacaktır.

Yapmış olduğumuz bu çalışmanın amacı, herhangi bir sendroma sahip olmayan, dudak damak yarıklı bireylerde *MSX1* gen üzerindeki varyantların yarık bölgesine olan etkisini ortaya koymaktır.

Dudak damak yarıklarına yol açan veya yatkınlık arttıran genetik değişikliklerin tespitinde farklı genetik yaklaşımlardan faydalanılabilir¹⁵⁵.

1. Geniş ve multipleks ailelerde veya küçük ve kendi içinde eşleşen ailelerde bağlantı analizi yapılması,
2. Vaka kontrol örneklerinde veya hasta ebeveyn eşleştirmelerinde ilişkilendirme (assosiyasyon) çalışmaları,
3. Etkilenmiş kişilerde kromozom anomalilerinin ve mikrodelesyonların incelenmesi,
4. Etkilenmiş bireylerde aday genlerde dizi (sekans) analizlerinin yapılması.

Araştırmamızda 40 dudak damak yarıklı bireyden alınan tükürük örnekleri üzerinde genetik değerlendirme yapmak için DNA sekans analiz yöntemlerinden Sanger dizi analizi yöntemi (dideoksi nükleotit yöntemi) kullanılmıştır. Bu yöntemde; “p” işaretli primer, kalıp DNA’ya bağlanır ve DNA sentezi başlar. DNA polimeraz dNTP’nin yeni sentezlenen DNA’ya polimerizasyonunu gerçekleştirir¹⁵⁶.

5.1 Gen Polimorfizmlerinin Değerlendirilmesi

Yapmış olduğumuz çalışma bulgularımıza göre, 40 hastanın *MSX1* geninin 6 ayrı bölgesinde varyantlar tespit edilmiştir. Örneklerde yapılan dizi analizi çalışmalarında saptanmış olan varyantlar ilk olarak Human Genome Mutation Database (HGMD), NCBI dbSNP database, Pubmed, OMIM, GenAtlas, COSMIC, Polyphen-2 gibi veritabanları kullanılmıştır. Bilinen veya önceden hastalıkla ilişkisi gösterilen varyant tipleri olup olmadığı incelenmiştir. Tespit edilen değişkenlerin aminoasitte spesifik bir bölgede değişikliğe neden olup olmadığı değerlendirilmiştir. Farklı canlı türlerinde bu bölgenin korunmuş bölge olup olmadığı, mRNA dizisinde bir değişikliğe yol açıp açmadığı araştırılmıştır. Varyantların bulunduğu bölgenin yakınlarında daha önce malformasyona neden olan bir mutasyon bildirilip bildirilmediği, oluşan aminoasit değişikliğinin kimyasal açıdan önemli bir değişime

neden olup olmadığı (büyük aminoasitten küçük aminoasite, polardan nonpolara dönüşüm gibi) incelenmiştir.

Daha sonra bu varyantların neden olduğu genotiplerin, oluşturulan fenotip tiplerine bir etkisinin olup olmadığı karşılaştırılmıştır.

5.2. G26E (c.77G>A)

MSX1 geninin 1. ekzonunda tespit edilen bu varyanta COSMIC veritabanında ulaşılmıştır ve COSMIC Mutasyon ID'si: COSM475881 olarak tanımlanmıştır¹⁵⁷. Tespit edilen bu protein varyantı missense/ non-synonymous (yanlış anlamlı) bir mutasyondur ve Guanin bazının Adenin bazına dönüşümü ile gözlenen bir transversiyon varyantıdır. 1. Ekzon dizisinin 26. üçlü kodonu olan GGG kodonunun 77.nükleotiti olan Guanin bazının Adenin bazına transferiyle GAG kodonuna dönüştüren bir mutasyondur. Patojenik skoru 0.98 olarak belirtilmiştir. Bu variant ile ilişkili hastalıklar arasında Kas Distrofisi, Otozomal Resesif, Kardiyomiyopati ve Üçgen Dil ve Otozomal Resesif Ekstremiter Kas Distrofisi Tip 2 bulunur¹⁵⁸.

Kanada Ottawa üniversitesinde, Chardon ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, üçgen dil ve ek olarak biventriküler kardiyak disfoksiyonu özellikleriyle iki kardeş üzerinde yapılan çalışmada, LIMS2'de patojenik olduğu tahmin edilen bileşik heterozigot missense mutasyonlarını tanımlanmıştır¹⁵⁹.

Bizim çalışmamızda da, 40 araştırma grubundan yalnızca 1 kız bireyde tespit edilen G26E varyantı da heterozigot olarak tanımlanmıştır. *Chardon ve ark* yapmış olduğu çalışmada araştırma grubunu oluşturan kardeşler, üçgen bir dilin ayırt edici özelliğine sahipti. Bizim çalışmamızın ayırt edici özelliği ise, varyantın tespit edildiği bireyde sınıf I maloklüzyon fenotipi ve çift taraflı dudak damak yarığı fenotipinin tanımlanmış olmasıdır.

Bir başka çalışmaya göre de *C.elegans*'taki LIMS ortoloğundaki mutasyonlar kas yırtılması ile karakterize felce neden olmaktadır¹⁶⁰. İnsanlarda; PINCH2, C-terminal (sonlandırma) ucunda 11 amino asit uzantısı içermesine rağmen, iki LIMS paralogu da, LIMS1 ve LIMS2, % 82 homolog özelliği göstermektedir. LIMS2'nin aşırı ekspresyonu, İLK PINCH1 etkileşimlerini inhibe eder ve hücre göçünü ve

yayılmasını azaltır; bu, PINCH2 'nin, ILK-PINCH1 etkileşimlerini düzenlediğini gösterir ¹⁶¹.

Yeni varyant keşfi için altın standart, *MSX1* geninde benzer fenotip ve patojenik mutasyonlara sahip ilave aile ve bireyler tanımlamak olacaktır.

5.3 A40G (c.119C>G)

MSX1 geninin 1. Ekzonun dizisinde tespit edilen ve Sitozin bazının Guanin bazına dönüşümü ile gözlenen bu varyant, missense/ non-synonymous (yanlış anlamlı) bir mutasyon proteindir. 119. nükleotit olan, Sitozinin ile Guanin arasındaki bu yer tansversiyonu ile GCG kodunu GGA kodonuna, Alanine (Ala/A) aminoasitini Glycine (Gly/G) aminoasitine transver olmuştur. HGMD veritabanında 'CM045070' olarak ve dbSNP veritabanında "rs36059701" varyantı olarak kodlanmıştır. Alanin, protein yapımında en yaygın kullanılan aminoasitlerden biridir.

Bu mutasyon daha önce farklı populasyonlarda pek çok kez tespit edilip, rapor edilmiştir¹⁶². Jezewski ve ark. (2003) ile Suzuki ve ark. (2004), yapmış oldukları çalışmalarda bu mutasyonu benign (non-patojenik) olarak bildirmişlerdir.

Butali ve ark. (2011), 88 erkek ve 78 kadın olmak üzere 166 dudak damak yarıklı Nijeryalı bireylerde yaptıkları çalışmada 59 bireyde *MSX1* geni ve 9 bireyde bu mutasyonu tespit etmişlerdir. Bu varyantın 9 bireyden 5'inde homozigot (GG) karakterde, 4'ünde heterozigot (CG) karakterde olduğunu bildirmişlerdir. Varyantın saptandığı bu 9 bireyin 3'ü çift taraflı dudak damak yarığı, 1'i tek taraflı (sağ) dudak damak yarığı 5'i tek taraflı (sol) dudak damak yarığı fenotipine sahip bireylerdir.

Banerjee-Basu ve Baxevanis (2001), yapmış oldukları çalışmalarında, 129 insan homeodomain proteininin evrimsel sınıflandırmasını yapmış olup, polialanin alanlarının belirli protein ailelerinde daha sık görüldüğünü ve homeobox süper ailesinden proteinlerinin %17'sinde var olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak bu çalışmalarında doğrudan bir kanıt olmamakla birlikte 2, 7, 12 ve 17 nolu kromozomlarda görülen majorHOX gen kümesinde bu mutasyonların görülme sıklığının daha fazla olması ihtimalini bildirmişlerdir.

Catron ve ark. (1995), *Msx-1* geninin in vivo ve in vitro güçlü bir transkripsiyonel baskılayıcı olduğunu belitmişlerdir. Bununla birlikte, *Msx-1*'in

bastırıcı fonksiyonu, alanin, glisin ve prolinden zengin N- ve C-terminal bölgelerini içeren çoklu alanlar içinde bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Lavoie ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada 604 poliamin alan içeren 494 açıklamalı insan proteini tanımlamışlardır. Yediden fazla alanin kodlayan %32'sinin (31/98) test edilmiş dizilerini polimorfik bulmuşlardır. Çalışmalarında polialanin kodlama dizisinin uzunluğu ve GCG veya GCC tekrar içeriği polimorfizmin ana belirleyicileri olmuştur. Polialanin bölgelerinin sekans kodlaması açısından polimorfizme yatkınlıklarının, onları kalıtsal hastalıklar için ilk sıradaki aday olarak düşünüleceğini ve polialanin bölgelerinin konverjan evrim sürecinde birçok farklı protein ailesinde yer alabileceğini öngörmüşlerdir. Ek olarak, protein aileleri içindeki polialanin gruplarının mevcudiyeti ve korunmasını araştırmak için ilk önce hangi protein ailelerinin polialanine sahip olduğunu incelemişlerdir. İnsan veri setinde üç veya daha fazla üye tarafından temsil edilen 21 protein ailesini rapor etmişlerdir; bunlardan 13'ü transkripsiyon faktörü aileleridir: CLCN, DMRT, GATA, FOX, GPR, HOX, IRX, KCN, MAPK, NRG, PBX, POU, PPP1R, PRDM, RPL, SLC, SMARC, SOX, TBX, TLE ve ZIC.

Tongkobetch ve ark. (2006), Taylandlı dudak damak yarıklı bireylerde yaptıkları çalışmada 8 bireyde bu mutasyonu tespit etmişlerdir. Bu varyantın 8 bireyden 4'ünde homozigot (GG) karakterde, 4'ünde ise heterozigot (CG) karakterde olduğunu bildirmişlerdir.

Modesto ve ark. (2006), MSX1 mutasyonlarının ayrıca kalıtsal diş agenezisine de neden olduğunu düşünüyorlardı. Msx1 gen mutasyonuna sahip ancak diş agenezi bulunmayan 33 DDY'li birey ile diş agenezi ve DDY fenotipi bulunan 19 bireyi karşılaştırmışlardır. Polimorfizm ve hastalık arasında anlamlı bir fark olduğunu ve bu varyantın hem orafasiyal yarıklı hem de diş agenezi olan grupta kontrol grubuna göre daha fazla bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Ceyhan ve ark. (2014), non-sendromik dental agenezisi ve dental anomalisi olan, SNP genotipleme yönteminden elde edilen verilerin değerlendirilmesiyle araştırmalarına dahil ettikleri 70 birey arasından, altı tanesinde (% 8,6) MSX1 geninde nükleotid değişiklikleri olduğunu, diğerlerinde ise bu gende nükleotid değişikliği olmadığını tespit etmişlerdir¹⁶³. Yapmış oldukları bu çalışmada mandibular sağ ikinci premolar diş eksikliği olan ve taurodontizm gösteren bir hastada, *MSX1* geninin

birinci ekzonunun 119. nükleotitinde (119C>G) bir sitozin-guanin değişikliği tespit etmişler; 40. konumundaki kodlayıcı kodonunun kodlayan başka bir kodona (Ala116Gly) dönüştüğünü rapor etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda Sitozin bazının Guanin bazına dönüşümü ile gözlenen bu transversiyon 40 araştırma hastasından, sınıf I maloklüzyona sahip, unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 3 hastada, sınıf I ve bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 3 hastada, sınıf II ve unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 1 hastada, sınıf II ve bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 3 hastada, sınıf III ve unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 2 hastada ve yine sınıf III ve bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 2 hastada tespit edilmiştir. Toplamda 40 bireyin 14ünde bu varyanta rastlanmıştır.

Tespit edilen 14 bireyin 13'ünde bu varyant heterozigot karakterdedir (CG). 1'inde Homozigot karakterde (GG) varyant tespit edilmiştir. Heterozigot (CG) varyantların, 5'i Sınıf I, 4'ü Sınıf II ve kalan 4'ü de Sınıf III maloklüzyon fenotipi göstermektedir. Homozigot (GG) olan varyant ise Sınıf I maloklüzyon fenotipinde görülmüştür.

Heterozigot (CG) karakterde olan bu varyantın görüldüğü 13 bireyden, 1'inin sadece damak yarığı fenotipinde, 5'inin tek taraflı dudak damak yarığı fenotipinde, 7'sinin ise çift taraflı dudak damak yarığı fenotipinde olduğu rapor edilmiştir.

Homozigot (GG) karakterde olan varyant ise tek taraflı dudak damak yarığı fenotipine sahip 1 bireyde saptanmıştır.

MSX1 geninin Ekzon1 bölgesindeki *A40G (c.119 C> G) heterozigot* missense aminoasit varyantı için gruplar arası karşılaştırma yapıldığında ise, bu varyant genotipinin çift taraflı DDY fenotipine yansıma riskinin DY grubuna oranla fazla olduğu tespit edilmiş olup, odds ratio ve güven aralığı oranları da karşılaştırmada anlamlı bulunmuştur.

Dudak damak yarığıklı hasta grubunda tespit edilen A40G heterozigot varyantının görülme yüzdesi Doğu Asya ve Afrika popülasyonu hariç diğer tüm 1000 Genom popülasyon gruplarında görülme yüzdesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Görüşümüz, kesin bir genotip-fenotip korelasyonu teyit edilmeden önce daha fazla klinik ve fonksiyonel çalışmaya ihtiyaç duyulacağı ancak yapılacak olan bu

çalışmalarda, MSX1 geninin 1. Ekzon dizinde yer alan alanin aminoasidine dikkat edilmesi gerektiği şeklinde dir.

5.4. G116G (c.348C>T)

MSX1 geninin 1. Ekzon dizisinde tespit edilmiş olan bu varyantta, Sitozin bazının Timin bazına dđnüşümü gözlenmiştir. Bu transisyon, silent / synonymous bir mutasyondur. 348. nükleotit olan Sitozinin ile Timin arasındaki bu yer değişikliği GGC kodonunu GGT kodonuna dđnüşürmekte ve Glycine (Gly/G) aminoasitinde herhangi bir değişiklik yaratmamaktadır. Bu varyant HGMD veritabanında 'CM135386' olarak ve dbSNP veritabanında "rs34165410" varyantı olarak kodlanmıştır.

Bu mutasyon daha önce farklı populasyonlarda pek çok kez tespit edilip, rapor edilmiřtir¹⁴.

Butali ve ark. (2011), Nijeryalı populasyonda yaptıkları bir çalışmada 88 erkek ve 78 kadın olmak üzere 166 dudak damak yarıklı bireyin 59' unda MSX1 geni ve 3 bireyde bu mutasyonu tespit etmişlerdir. Rapor edilen 3 bireyden 1'inde Homozigot (TT) variant karakteri, 2' sinde ise Heterozigot (CT) varyant karakteri tespit edilmiştir.

Revet ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada *MSX1* geninin embriyonik nöral kret gelişimi için önemli bir homeobox geni olduğunu vurgulamıştır. Periferik SNS farklılaşması için ana regülatör genlerden biri olan homeobox transkripsiyon faktörü PHOX2B'nin nöroblastomlarda mutasyona uğradığını araştıran çalışmalarında, MSX1 SNP'leri, 73 nöroblastom tümörünün ve hücre çizgisinin genomik DNA dizilimi ile tespit etmişlerdir. Tespit ettikleri SNP aminoasitlerinden birisi de "rs34165410" varyantı olarak rapor edilmiştir.

Qin ve ark. (2013), Homeobox genleri ve diş gelişimi alanında biyolojik ve rejeneratif yollar ve uygulamalarını anlatan çalışmalarında, 8 oligodontili hastadan 2' sinde heterozigot karakterde c.348C>T sinonim mutasyonunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Polyphen-2 yazılımı ile nükleotit değişikliğinin MSX1 proteininin yapısı ve işlevi üzerindeki olası etkisini incelemişler ve değişimin benign olduğunu düşünmüşlerdir. Ayrıca ESE Finder 3.0 software yazılımı ile Sitozinin Timine değişiminin herhangi bir eksonik splicing bölgesini etkilemediğini rapor etmişlerdir.

Ceyhan ve ark. (2014), sendromlu olmayan dental agenezisi ve dental anomalisi olan Türk çocuklarda yaptıkları çalışmalarında 1. Grup bireylerde maksiller yan kesici ve ikinci premolar diş eksikliği olan ve taurodontizm gösteren bir hastada, MSX1 geninin birinci ekzonda 116 konumundaki glisin kodlayıcı kodonunun glisin kodlayan başka bir kodona (Gly116Gly) dönüştüğü tespit etmişlerdir. MSX1 geninde saptanan bu heterozigot değişikliğin çeşitli eksik diş tiplerinin muhtemel nedeni olma potansiyeli taşıdığını ve bu aminoasit değişikliklerinin, üç boyutlu yapıda MSX1 proteininin katlanmasında değişikliklere neden olarak, fenotip üzerinde bir etkisi olabileceğini rapor etmişlerdir.

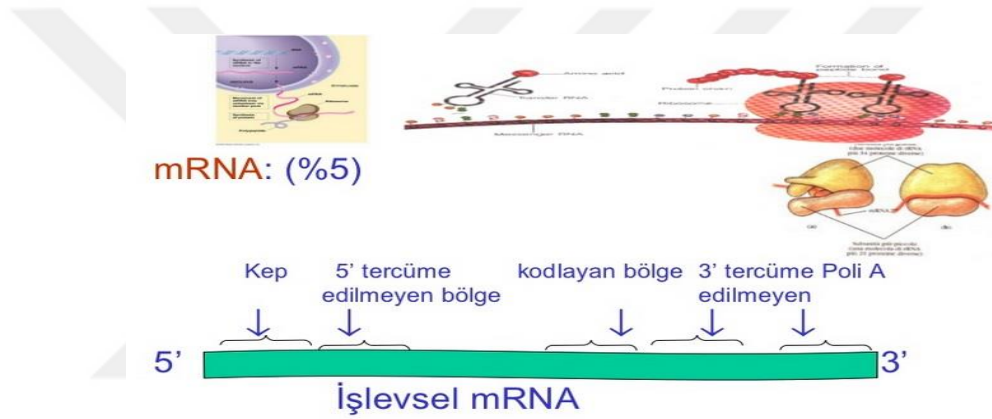
Bizim çalışmamızda ise MSX1 geninin bu bölgesinde Sitozin bazının Timin bazına dönüşümü ile gözlenen bu transisyon, 40 bireyden; Sınıf I ve bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 2 hastada, Sınıf II ve sadece damak yarığı fenotipine sahip 1 hastada., Sınıf II ve unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 1 hastada, Sınıf II ve bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 1 hastada, sınıf III ve unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 2 hastada, sınıf III ve bilateral (çift taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 2 hastada tespit edilmiştir. Toplamda 40 bireyin 8'inde bu varyanta rastlanmıştır. 8 bireyde de saptanan bu varyant heterozigot karakterdedir (CT). Homozigot karakterde varyant tespit edilmemiştir.

Araştırmamızda *MSX1* G116G (c.348C>T) varyantı açısından dudak damak yarıklı hastaların oluşturduğu grup ile diğer gruplar arasında CT veya TT genotiplerinin görülme riskinin wild type genotip olan CC genotipi görülme yüzdeleri incelenmiştir. Dudak damak yarıklı bireylerde tespit edilen homozigot ve heterozigot genotiplerinin görülme yüzdeleri Güney Asya ve Afrika dışında tüm popülasyon verilerine göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda bu varyantlarının, kikare testine göre dudak damak yarığı fenotipine neden olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Ancak, gruplar arası karşılaştırmada fark anlamlı değildir. Bu durum bize popülasyon özelliği ve miktarından kaynaklanabileceğini düşündürmüştür. Bu nedenle araştırmanın detaylandırılmaya ve popülasyon sayısı açısından geliştirilmeye ihtiyacının olabileceğini düşündürmüştür.

5.5. 3' UTR (c.*6C>T, c.1152 C>T)

RNA proses işlemi, transkripsiyon ile sıkı bir şekilde bağlantılıdır. Bu işlem, 5' cap yapısının eklenmesini, intronların eklenerek çıkarılmasını, RNA düzenlemesini, endonükleolitik bölünme ve 3'end'in poly(A)denilasyonunu içerir. mRNA transkriptlerinin 3' ucundaki çevrilmemiş bölgeler (UTR'ler), mRNA'nın hedefini ve dolayısıyla protein sentezini etkileyen önemli diziler içerir. Ancak mRNA'nın tüm bölgeleri protein kodlamaz. 5' cap, 5' untranslated region, 3' untranslated region ve poly(A) tail protein kodlamayan mRNA bölgeleridir.(Şekil 40)



Şekil 40: mRNA'nın yapısı.

(<https://www.slideshare.net/prettygirll/transkripsiyon>)

Bir RNA molekülü, DNA'yı kalıp olarak kullanarak nükleotidlerin polimerizasyonu sonucunda 5'→3' yönünde sentezlenir. 3'-UTR, genin yapısını etkileyecek düzenleyici bölgeler içerir. Bu bölgelerden sağlanan sinyallerle RNA polimerazın nerede, ne sıklıkla transkripsiyona başlayacağını ve transkripsiyonun nerede sonlanacağını belirler. 3'-UTR, microRNAs gibi düzenleyici proteinler için bağlanma bölgelerini bulundurulur. miRNA'lar hedef mRNA'ya tam ya da kısmi şekilde bağlanarak mRNA'ların parçalanmasına ya da protein üretiminin baskılanmasına yol açarlar¹⁶⁴.

Bu varyant HGMD veritabanında 'CR067843' olarak ve dbSNP veritabanında "rs8670" varyantı olarak kodlanmıştır. Bu varyantta Sitozin bazının Timin bazına dönüşümü gözlenmiştir. Değişim 1152. nükleotidde meydana gelmiştir.

Özkepir (2013), sendromik olmayan hipodonti olgularında gen polimorfizmlerini değerlendirdiği çalışmasında, *MSX1* genindeki c.*6C>T polimorfizminin gözleendiği bölge aminoasit kodlamayan bir bölge olmasına rağmen, diş gelişiminde değişiklik yaratacak etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. Ayrıca *MSX1* polimorfizminin maksiller lateral diş eksikliğinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkili olduğunu rapor etmiştir.

Modesto ve ark. (2006), *MSX1* c.*6C>T varyantının dudak damak yarıkları ile yakından ilişkili olduğunu bildirmiştir. Tespit ettikleri c.119C>G değişkeninin yarık dudak damak ve diş agenezisine neden olan spesifik bir genetik faktör olarak belirtirken, c.*6C>T polimorfizminin dudak damak yarıklarına özgü olduğunu rapor etmişlerdir.

Ceyhan ve ark.(2014), non-sendromik dental agenezisi ve dental anomalisi olan Türk çocuklarda yaptıkları çalışmalarında, çok sayıda diş eksikliği olan, taurodontizm, şekil anomalileri ve infraoklüzyonu olan bir hastada, *MSX1* geninin 3' UTR kodlamayan bölgesinde c.*6C >T polimorfizmini rapor etmişlerdir.

Boeira ve Echeverrigaray (2012), yapmış oldukları bir çalışmada, maksiller lateral diş agenezisi gözlenen bir aileyi incelemişler ve agenezis bulunan 3 bireyde homozigot *MSX1* c.*6C>T polimorfizmini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda bu transversiyon, 40 araştırma hastasından, sınıf 1 maloklüzyonlu, unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 2 hastada, sınıf 3 maloklüzyona sahip, unilateral (tek taraflı) dudak damak yarığı fenotipine sahip 1 hastada tespit edilmiştir.

Tespit edilen 3 bireyin 2'sinde bu varyant heterozigot karakterdedir (CT). 1'inde Homozigot karakterde (TT) varyant tespit edilmiştir. Heterozigot (CT) varyantların, 1'i Sınıf 1, 1'i Sınıf 3 fenotip göstermektedir. Homozigot (TT) olan varyant ise Sınıf 1 maloklüzyon fenotipinde görülmüştür. *MSX1* geninde görülen bu varyanta sahip 3 hasta da tek taraflı dudak damak yarığı fenotipine sahiptir.

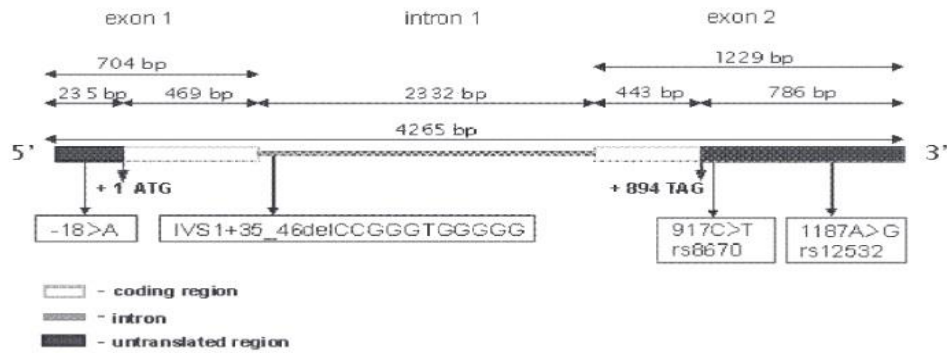
Çalışmamızda, *MSX1* c.*6C>T (c.1152 C> T) varyantı bakımından gruplar arasındaki farklılıkların karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak Dudak damak yarıklı hastalarda tespit edilen homozigot varyant TT genotipinin görülme yüzdesi Türkiye kontrol ve 1000 Genom çalışmasından alınan Doğu Asya popülasyon verilerindeki görülme yüzdesine göre anlamlı bir fark oluşturmuştur.

Görüşümüz, kesin bir genotip-fenotip korelasyonu teyit edilmeden önce daha fazla klinik ve fonksiyonel çalışmaya ihtiyaç duyulacağı ancak şimdiye kadar yapılmış olan tüm bu çalışmalar MSX1 c.*6C>T polimorfizminin dudak ve damak yarıkları, dental agenezis ve dental anomalilerin etiolojisinde primer etkenlerden birisi olduğunu düşündürmektedir.

5.6. IVS1+35_46delICCGGGTGGGGG

MSX1 geninin ekzon bölgelerinde meydana gelen kromozomun bir parçasının kopup kaybolmasıyla meydana gelen kromozom anomalilerine “delesyon” denilmektedir. 1. İntron bölgesinde bulunan 35. ve 46. nükleotidler arasındaki 11 bazlı bir nükleotid zincirinde delesyon meydana gelmiştir. (Şekil 41) Bu delesyon IVS (intervening sequence) olarak tanımlanmıştır. HGMD veritabanında ‘CD093257’ kodu ile kayıtlıdır.

Pawlowska ve ark. (2009), Daimi dişlerin konjenital eksikliğine *MSX1* gen mutasyonlarını değerlendirdiği çalışmada bu delesyonu bildirmiştir. İntron bölgesinde 11 nükleotidli bir homozigotik delesyon rapor etmiştir. 2 hastada ise aynı delesyon zincir dizisinin heterozigot karakterlisi rapor edilmiştir.



Şekil 41: *MSX1* geninin saptanan mutasyonların yeri ile yapısı (Barret ve ark.,2012)

Vastardis ve ark. (1996), Boogaard ve ark. (2000), Jumlongras ve ark. (2001), Muynck ve ark. (2004), Kim ve ark. (2006), *MSX1* geninin diş ve kraniofasial iskeletin gelişimi için anahtar bir faktör olduğunu ve *MSX1* geninde meydana gelen varyantların diş agenezisi ile ilişkili olduğunu bildirilmişlerdir¹⁶⁵.

Pawlowska ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada en çarpıcı sonucun, 3 hastanın 2'sinde de aynı intron bölgesinde 11 nükleotidlik bir homozigot delesyonu tespit etmeleri olduğunu vurgulamışlardır. Hasta 1 ve 2'nin, 3. hastaya kıyasla dişlerde daha az negatif etkiler olduğu belirtilmiştir. Bu hastalarda 6 diş mevcut değildir, oysa 3. hastada üçüncü molarlar hariç 13 adet diş eksikliği mevcuttur.

Nieminen ve ark. (2003), yaptıkları bir çalışmada Wolf-Hirschhorn sendromunun bir parçası olarak oligodontili hastalarda *MSX1* geninin tamamen silindiğini rapor etmişlerdir. Ancak bu 11 nükleotidli delesyon varyantı, PubMed bazında bir polimorfizm olarak listelenmemiştir.

Pawlowska ve ark. (2009), 3 hastanın ikisinde eklenme bölgesinin yakınında 11-nükleotidlik bir delesyon varlığının, *MSX1* geninin nihai ürününü etkileyebileceğini ve daha fazla çalışmaya yapmak gerektiğini bildirmiştir. Bununla birlikte, tespit etmiş oldukları mutasyonların pozisyonları, özellikle 11-nükleotid delesyonu, mutasyonun *MSX1* proteininin ekspresyon seviyesini azaltabileceğini rapor etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda, 40 bireyden 29'unda 1. İtron bölgesinde 11 nükleotidlik *IVS1+35_46 delCCGGGTGGGGG* delesyonu tespit edilmiştir. Bu delesyonların 22'sinin Heterozigot karakterli, 7'sinin Homozigot karakterli olduğu görülmüştür.

Homozigot karakterli olan 7 varyantın, 3'ü sınıf I maloklüzyona sahip, 4'ü ise sınıf III maloklüzyona sahip bireylerden oluşmaktadır. Homozigot karakterli olan bu 7 bireyin tamamını tek taraflı dudak damak yarık fenotipi oluşturmaktadır.

Heterozigot karakterli olan 22 varyantın, 7'si sınıf I, 9'u ise sınıf II, 6'sı ise sınıf III maloklüzyona sahip bireylerden oluşmaktadır. Heterozigot karakterli olan 22 bireyin 2'sini damak yarığı, 7'sini tek taraflı dudak damak yarığı, 13'ünü ise çift taraflı dudak damak yarığı fenotipli bireyler oluşturmaktadır.

İntron bölgelerinde meydana gelen bu 11 nükleotidli delesyon varyasyonunun dişsel malformasyon sınıflamasına istatistiksel olarak anlamlı bir katkısı bulunmamaktadır. Ancak, YDA fenotipli bireylerin hiçbirinde Intron1 diziliminde *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG* homozigot delesyonu görülmezken, DDY fenotipli bireylerin %21,9'unda Intron1 diziliminde bu delesyon varyantına rastlanmıştır. Bu da gösteriyor ki, *MSX1* geninin Intron1 bölgesindeki *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG* homozigot delesyonu, DDY fenotip görülme

riskini YDA grubuna oranla (odds ratio) artırmaktadır. Odds ratio ve güven aralığı oranları gruplar arası karşılaştırmada anlamlıdır.

Yine çalışmamızda İntron1 bölgelerinde meydana gelen varyasyonların, damak yarığı (YDA) fenotipi ile tek taraflı dudak ve damak yarığı (T-DDY) fenotipine olan etkisi karşılaştırıldığında, *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG* *homozigot* delesyon genotipinin T-DDY fenotipine yansıdığı gruplar arası karşılaştırılmada istatikselsel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca bu delesyon, T-DDY fenotip görülme riskini YDA grubuna oranla artırmaktadır. Odds ratio ve güven aralığı oranları gruplar arası karşılaştırmada anlamlıdır.

İntron1 bölgelerinde meydana gelen bu delesyonun, damak yarığı (YDA) fenotipi ile çift taraflı dudak ve damak yarığı (Ç-DDY) fenotipine olan etkisi karşılaştırıldığında, *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG* *heterozigot* delesyon genotipinin Ç-DDY fenotipine yansıdığı gruplar arası karşılaştırılmada istatikselsel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p < 0,001$) Bu delesyon, Ç-DDY fenotip görülme riskini YDA grubuna oranla artırmaktadır. Odds ratio ve güven aralığı oranları gruplar arası karşılaştırmada anlamlıdır. Çalışmamıza dahil edilen çift taraflı dudak damak yarıklı bireylerin İntron1 bölgesindeki dizilimin tamamında (%100) bu heterozigot delesyon zinciri gözlenmiştir.

Tek taraflı dudak damak yarığı (T-DDY) fenotipi ile çift taraflı dudak ve damak yarığı (Ç-DDY) fenotipine olan etkisi karşılaştırıldığında, *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG* *homozigot* delesyon genotipinin T-DDY fenotipine yansıdığı gruplar arası karşılaştırılmada istatikselsel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG* *heterozigot* delesyon genotipinin ise Ç-DDY fenotipine yansıdığı gruplar arası karşılaştırılmada istatikselsel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Bu delesyon genotiplerinin fenotipi etkilediği Odds ratio ve güven aralığı oranları gruplar arası karşılaştırmada anlamlı bulunmuştur.

Özellikle heterozigot *IVS1+35_46delCCGGGTGGGGG* delesyon varlığının dudak damak yarıklı hastalarda, yarık bölgesine olan etkisinin bu denli yüksek oluşu bu varyantı dudak damak yarıklı hasta grubu için önemli kılmaktadır. Görüşümüz, genotip-fenotip korelasyonunun teyit edilmesi için daha fazla klinik ve fonksiyonel çalışma yapılması gerektiği yönündedir.

5.7. c.452-15delT

MSX1 geninin 2. Ekzon bölgesinde ise 146. nükleotid kodonunda (ATG/Methionine) yer alan Timin bazının delesyonuyla c.452-15delT varyantı tespit edilmiştir. Mostowska ve ark. (2006), *MSX1*'in yüksek oranda korunmuş bir homeobox dizisinde lokalize edilmiş c.581C>T geçişinin oligodonti'den sorumlu olup olmadığını araştırdıkları çalışmalarında, *MSX1*'in bilinen 2 polimorfizmini bulmuşlardır (c.452-15delT, c. * 6C> T). *MSX1*'in homeobox dizisinde, seçici diş agenezisinin moleküler temeli üzerine ışık tutabilecek yeni bir geçiş belirlemişlerdir.

Bizim çalışmamızda, 40 bireyden 18'inde 2. ekzon bölgesinde c.452-15delT delesyonu tespit edilmiştir. Bu delesyonların 17'sinin Heterozigot karakterli, 1'inin Homozigot karakterli olduğu görülmüştür.

Homozigot karakterli olan 1 varyant, sınıf 1 maloklüzyona sahip, tek taraflı dudak damak yarık fenotipi oluşturmaktadır.

Heterozigot karakterli olan 17 varyantın, 6'sı sınıf I, 5'i sınıf 2, 6'sı ise sınıf 3 maloklüzyona sahip bireylerden oluşmaktadır. Heterozigot karakterli olan 17 bireyin 1'i damak yarığı, 9'unu tek taraflı dudak damak yarığı, 7'sini ise çift taraflı dudak damak yarığı fenotipli bireyler oluşturmaktadır.

Dişsel sınıflamaya olan etkisi bakımından gruplar arasındaki farklılıkların incelendiğinde anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Ekzon2 bölgesinde meydana gelen bu delesyonun, damak yarığı (YDA) fenotipi ile dudak ve damak yarığı (DDY) fenotipine olan etkisi karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak gruplar arası anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Fakat *MSX1* geninin Ekzon2 bölgesindeki c.452-15delT heterozigot delesyonu, bireylerde DDY fenotip görülme riskini YDA fenotipine oranla artırdığı, odds ve güven aralığı oranlarına bakılarak anlamlı bulunmuştur. Bireylerde T-DDY fenotipinin görülme riskini YDA fenotipine oranla artırdığı, odds ve güven aralığı oranlarına bakılarak anlamlı bulunmuştur.

Görüşümüz, genotip-fenotip korelasyonunun teyit edilmesi için daha fazla klinik ve fonksiyonel çalışma yapılması gerektiği yönündedir.

Bu bulgular ışığında, ikinci hipotez reddedilmiş ve “Sendromsuz dudak damak yarıklı hastalarda MSX1 gen üzerinde tespit edilen varyantların, yarık fenotipine etkisi açısından fark anlamlıdır” sonucuna ulaşılmıştır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda dudak damak yarıklı bireylerden alınan tükürük örneklerinde MSX1 geninin her iki ekzonu da taranmış, *MSX1*'in varyantlarının yarık bölgesindeki etkinliğinin incelenmesi araştırılmıştır. Türkiye kontrol grubu ve 1000 genom çalışmasına ait verilerle de karşılaştırılarak tespit edilen varyantların farklı popülasyonlar arasındaki değişimleri incelenmiştir.

1. Araştırma bulgularımıza göre 40 hastanın 36'sında MSX1 geninin 6 bölgesinde değişiklikler saptanmıştır.
2. MSX1 geninin 1. ekzonunda izlenen ve COSMIC veritabanında "COSM475881" varyantı olarak kayıtlı olan değişikliklerden biri missense mutasyondur. MSX1 geninin bu bölgesinde Guanin bazının Adenin bazına dönüşümü ile gözlenen bu transversiyon (c.77G>A) 40 bireyden yalnızca 1 kız bireyde heterozigot karakterde tespit edilmiştir. Ayırt edici özelliği ise, varyantın tespit edildiği bireyde sınıf I maloklüzyon fenotipi ve çift taraflı dudak damak yarığı fenotipinin tanımlanmış olmasıdır.
3. *MSX1* geninin 1. ekzonunda izlenen ve dbSNP veritabanında "rs36059701" varyantı olarak kodlanan varyantlardan diğeri de yine bir missense mutasyondur. Sitozinin ile Guanin arasındaki bu yer transversiyonu ile Alanine (Ala/A) aminoasitini Glycine (Gly/G) aminoasitine transver olmuştur(A40G, c.119C>G). Toplamda 40 bireyin 14'ünde bu varyanta rastlanmıştır. 14 bireyin 13'ünde bu varyant heterozigot (CG), 1'inde Homozigot (GG) karakterdedir. Heterozigot (CG) karakterli varyantların görüldüğü 13 bireyden, 1'inin sadece dudak yarığı (YDA), 5'inin tek taraflı dudak damak yarığı (T-DDY), 7'sinin ise çift taraflı dudak damak yarığı (Ç-DDY) fenotipinde olduğu rapor edilmiştir. Homozigot (GG) varyant, tek taraflı dudak damak yarığı(T-DDY) fenotipine sahip 1 bireyde saptanmıştır. MSX1 geninin Ekzon1 bölgesindeki A40G (c.119 C>G) heterozigot missense varyantı için gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, bu varyant genotipinin Ç-DDY fenotipine yansıma riskinin YDA grubuna oranla fazla olduğu tespit edilmiş olup, odds ratio ve güven aralığı oranları da karşılaştırmada anlamlı bulunmuştur.

4. *MSX1* geninin 1. ekzonunda yer alan ve dbSNP veri tabanında “rs34165410” varyantı olarak kayıtlı olan değişikliklerden diğeri sessiz (synonymous mutation) mutasyondur. Toplamda 40 bireyin 8’inde bu varyanta rastlanmış ve 8 bireyde de heterozigot (CT) karakterde olduğu ayrıca Homozigot (TT) karaktere rastlanmadığı rapor edilmiştir. Çalışmamızda bu varyantlarının, kıkare testine göre dudak damak yarığı fenotipine neden olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.($p < 0.05$) Ancak, gruplar arası karşılaştırmada fark anlamlı değildir.
5. *MSX1* geninin kodlamayan 3’UTR bölgesinde izlenen varyant veritabanında “rs8670” olarak kayıtlıdır. *MSX1* geninin 3’ UTR bölgesinde Sitozin bazının Timin’e dönüşümü ile gözlenen bu transisyon (c.*6C>T, c.1152 C>T) 40 bireyden 3’ünde tespit edilmiştir. 3 bireyden 2’si Heterozigot (CT), 1’i Homozigot (TT) karakterdedir. Çalışmamızda, *MSX1* c.*6C>T (c.1152 C>T) varyantı bakımından gruplar arasındaki farklılıkların karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır.
6. *MSX1* geninin 1. İntron bölgesinde bulunan 35. ve 46. nükleotidler arasındaki 11 bazlı bir nükleotid zincirinde meydana gelen bu delesyon (*IVS1+35_46 delCCGGGTGGGGG*) HGMD veritabanında “CD093257” kodu ile kayıtlıdır. Çalışmamızda 40 bireyden 29unda rastladığımız bu delesyonların 22’sinin Heterozigot, 7’sinin Homozigot karakterli olduğu tespit edilmiştir. Heterozigot karakterli olan 22 bireyin 2’sini damak yarığı (YDA), 7’sini tek taraflı dudak damak yarığı(T-DDY), 13’ünü ise çift taraflı dudak damak yarığı (Ç-DDY) fenotipli bireyler oluşturmaktadır. Homozigot karakterli olan 7 bireyin tamamını T-DDY fenotipi oluşturmaktadır.
 - YDA fenotipli bireylerin hiçbirinde homozigot delesyonu görülmezken, DDY fenotipli bireylerin %21,9’unda bu delesyon varyantına rastlanmıştır. Bu da gösteriyor ki, *MSX1* geninin İntron1 bölgesindeki Homozigot karakterli bu delesyon, DDY fenotip görülme riskini YDA grubuna oranla (odds ratio) artırmaktadır. Odds ratio ve güven aralığı oranları gruplar arası karşılaştırmada anlamlıdır.
 - YDA fenotipi ile T-DDY fenotipine olan etkisi karşılaştırıldığında, homozigot delesyon genotipinin T-DDY fenotipine yansıdığı gruplar

arası karşılaştırılmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca bu delesyon, T-DDY fenotip görülme riskini YDA grubuna oranla artırmaktadır. Odds ratio ve güven aralığı oranları gruplar arası karşılaştırmada anlamlıdır.

- YDA fenotipi ile Ç-DDY fenotipine olan etkisi karşılaştırıldığında, heterozigot karakterde olan bu delesyon genotipinin Ç-DDY fenotipine yansıdığı gruplar arası karşılaştırılmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p < 0,001$) Bu delesyon, Ç-DDY fenotip görülme riskini YDA grubuna oranla artırmaktadır. Odds ratio ve güven aralığı oranları gruplar arası karşılaştırmada anlamlıdır.
- T-DDY fenotipi ile Ç-DDY fenotipine olan etkisi karşılaştırıldığında, homozigot karakterde olan delesyon genotipinin T-DDY fenotipine yansıdığı gruplar arası karşılaştırılmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Heterozigot delesyon genotipinin ise Ç-DDY fenotipine yansıdığı gruplar arası karşılaştırılmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Bu delesyon genotiplerinin fenotipi etkilediği Odds ratio ve güven aralığı oranları gruplar arası karşılaştırmada anlamlı bulunmuştur.

7. *MSX1* geninin 2. Ekzon bölgesinde ise 146. nükleotid kodonunda (ATG/ Methionine) yer alan Timin bazının delesyonuyla c.452-15delT varyantı tespit edilmiştir. 40 bireyden 18'inde c.452-15delT delesyonu tespit edilmiştir. Bu delesyonların 17'sinin Heterozigot karakterli, 1'inin Homozigot karakterli olduğu görülmüştür. Heterozigot karakterli olan 17 bireyin 1'i YDA, 9'unu T-DDY, 7'sini ise Ç-DDY fenotipli bireyler oluşturmaktadır. Homozigot karakterli olan 1 varyant, T-DDY fenotipini oluşturmaktadır.

- *MSX1* geninin Ekzon2 bölgesindeki c.452-15delT heterozigot delesyonu, bireylerde DDY fenotip görülme riskini YDA fenotipine oranla artırdığı, odds ve güven aralığı oranlarına bakılarak anlamlı bulunmuştur. Bireylerde T-DDY fenotipinin görülme riskini YDA fenotipine oranla artırdığı, odds ve güven aralığı oranlarına bakılarak anlamlı bulunmuştur.

8. *MSX1* geninde tespit ettiğimiz 3 değişkene ait verilerin Türkiye kontrol grubu ve 1000 genom çalışma verileri ile karşılaştırıldığında *MSX1* geninin transkripsiyonu etkileyen değişkenlerle dolaylı bir şekilde etkileyerek dudak damak yarıkları ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Genel olarak, *MSX1* geni üzerinde tespit ettiğimiz varyant genotiplerinden bazılarının, YDA/DDY fenotipi üzerine etkisi ve gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde fark anlamlıdır. Bu varyantlardan fenotip üzerinde en çok etkisi olan değişkenlerin ise *delesyonlar* olduğu tespit edilmiştir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, nükleotit zinciri üzerinde saptadığımız *delesyonların* fenotipe etkisinin bu kadar fazla olduğunun keşfedilmesi oldukça önem taşımaktadır.

Fenotip üzerinde en çok etkisi olan genotip değişkenlerinin ise genelde heterozigot karakterde olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeninin ise *MSX1* geninin otozomal dominant bir gen olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Genetik biliminin bu alanda yapacağı koruyucu ve önleyici tedavi çalışmalarında ulaştığımız bu sonuçların oldukça etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Yaptığımız bu çalışmada, Ortodonti Anabilim Dalı, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Moleküler Tıp ve Genetik Tanı Araştırma Bilim Dalı'nın ortak araştırması olarak edindiğimiz sonuçlar bizi hem sevindirmiş hem de heyecanlandırmıştır. Araştırma sonucunda edindiğimiz bulguların, dudak damak yarıklarının oluşmasına neden olabilecek değişkenlerin tespitinde yardımcı olacağı ve gelecekte yapılacak gen çalışmaları için çok önemli bir kaynak oluşturacağını düşünmekteyiz. Görüşümüz bu çalışmamızın, dudak damak yarıklık malformasyonlarının, toplumda görülen sıklığının azalması yönünde yapılan gen tedavi araştırmalarına ışık tutacağı ve genetik biliminin bu alanda yaptığı çalışmalara katkı sağlayacağı yönündedir.

KAYNAKLAR

1. Prescott, N. J., Winter, R. M., S. Malcolm, S., Nonsyndromic cleft lip and palate: Complex genetics and environmental, *Ann Hum Genet*, 65(6): 505-515 (2001)
2. Hoşnüter, M.(2002). "Yarık damak dudak aile rehberi." SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi 9(1).
3. Murray, J. C. and B. C. Schutte (2004). "Cleft palate: players, pathways, and pursuits." *The Journal of clinical investigation* 113(12): 1676-1678.
4. Mossey, P. and J. Little (2009). "Addressing the challenges of cleft lip and palate research in India." *Indian journal of plastic surgery: official publication of the Association of Plastic Surgeons of India* 42(Suppl): S9.
5. Dixon, M. J. (2011). "Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences." *Nature Reviews Genetics* 12(3): 167.
6. Wehby, G. and C. H. Cassell (2010). "The impact of orofacial clefts on quality of life and healthcare use and costs." *Oral diseases* 16(1): 3-10.
7. Leslie ej, Marazita ml (2013). Genetic of cleft lip and palate. *American Journal Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetic*, 163: 246-58.
8. Stainer p, Moore ge (2004). Genetics of cleft lip and palate: syndromic genes contribute to the incidence of non- syndromic clefts. *Human Molecular Genetics*, 13: (1) 73-81.
9. Gorlin R.J., Cohen M.M.C, Levin L.S., —*Syndromes of the Head and Neck* Oxford University Press, Oxford (2001).

10. Fogh-Andersen P., "Inheritance of harelip and cleft palate" Nyt Nordisk Forlag Arnold Busck Copenhagen (1942).
11. Burdick AB., Bixler D., Puckett C.L., "Genetic analysis in families with Van de Woude syndrome" Journal Craniofacial Genetics, 5: 181-208 (1985).
12. Lidral, A.C., Romitti, P.A., Basart, A.M., et.al., 1998. Association of MSX1 and TGFB3 with nonsyndromic clefting in humans. Am. J. Hum. Genet., 63 :557–568.
13. Beaty, T.H., Wang, H., Hetmanski, J.B., et.al. 2001. Case-control study of nonsyndromic oral clefts in Maryland. Annals of Epidemiology, Volume 11, Issue 6, 434-442.
14. Mossey pa, Little j, Munger rg, Dixon mj, et.al. (2009). Cleft lip and palate. Lancet, 374: 1773-1785.
15. Jirasek, J.E. 2004. An Atlas of Human Prenatal Developmental Mechanics. Taylor and Francis Group, pp. 118-121, United Kingdom.
16. Wyszynski, D.F. 2002. Cleft Lip & Palate: From Origin to Treatment, 1st Edition. Oxford University Press, 619, Oxford.
17. Vanderas A.P. "Incidence of cleft lip, cleft palate, and cleft lip and palate among races: a review" Cleft palate J., 24:216-25 (1987).
18. Sadler t (2003). Head and Neck. In: Sadler TW, ed. Langman's Medical Embriology. 9th ed. Lippincott Williams& Wilkins. 363-402.
19. Mossey pa, little j, munger rg, dixon mj, shaw wc (2009). Cleft lip and palate. Lancet, 374: 1773-1785.
20. Kerrigan J, Mansell JP, Sengupta A, et.al. Palatogenesis and potential mechanisms for clefting. J.R.Coll.Surg.Edinb. 2000;45(6):351-8.
21. (10.08.2019)Erişim:(<http://clinicalgate.com/head-and-neck-6/>)(<http://clinicalgate.com/head-and-neck-6/>)
22. (10.08.2019)Erişim: (www.netterimages.com.)
23. Helms ja, Nacamuli rp, Salim a, et.al. (2006). Embriyology of the Craniofacial Complex. In: Mathes SJ, ed. Plasstic Surgery. 2nd edion. Elsevier. 1-14.

24. Lorenzo D, Yang B, Yang Q. 5,10- Metylenetetrahydrofolate Reductase Gene Variants and Congenital Anomalies: A Huge Review. *Am J of Epidemiol* 2000;151(9):862-77.
25. Koyuncu M. 2012.- Türk Çocuklarında Dudak Damak Yarıklarına Neden Olan Aday Genlerin Araştırılması, İstanbul
26. Sperber G (2002). Formation of the Primery and Secondary Palate. In: Wzsynski D, ed. *Cleft Lip and Palate: from Origin to Treatment*. 5-24.
27. Ketani, M.A., Balcı, K., Ketani, Z.M., Deniz, M., Karadede, M.İ. : “Sıçanlara neonatal dönemde uygulanan kortizon’un primer damak gelişimine etkisi“, XVI. Gevher Nesibe Tıp Günleri, I. Deneysel ve Klinik Araştırma Kongresi ve “Workshop”u, 18-21 Mayıs, KAYSERİ, 1998.
28. Kerrigan J, Mansell JP, Sengupta A, et.al. Palatogenesis and potential mechanisms for clefting. *J.R.Coll.Surg.Edinb.* 2000;45(6):351-8.
29. Belloni, E., Muenke, M., Roessler, et.al. “Identification of Sonic hedgehog as a candidate gene responsible for holoprosencephaly”, *Nature Genetics*, 14(3):353-356 (1996).
30. (12.08.2019) Erişim: (<http://clinicalgate.com/head-and-neck-6/>)
31. Stainer P, Moore Ge (2004). Genetics of cleft lip and palate: syndromic genes contribute to the incidence of non- syndromic clefts. *Human Molecular Genetics*, 13: (1) 73-81.
32. Davis Js, Ritchie Hp (1922). Classification of congenital cleft of the lip and palate. *JAMA*, 79: 1323–1327
33. Veau V (1931). *Division Palatine*. Paris: Masson & Cie.
34. Moore Kl (1988). *The Developing Human*. 3rd Ed. WB Saunders, Philadelphia. p.: 197- 213.
35. Kernahan Da (1971). The striped Y- a symbolic classification for cleft lip and palate. *Plast. Reconstr. Sur.*, 47: (5) 469-470.
36. Millard Dr (1977). *Jr Cleft Craft*. Vol 1. Boston: Little, Brown.

37. Kasten, E. F., et al. (2008). "Team care of the patient with cleft lip and palate." *Current problems in pediatric and adolescent health care* 38(5): 138-158.
38. Birth Defect Risk Factor Series: Oral Clefts, Oral Clefts: 1-10 (2005)
39. Rajesh P, Rajesh R, Narayanan V, et al. (2000). A Clinical profile to assess the potential risk factors for cleft lip and palate. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 18: (4) 147-150.
40. Kim S, Kim Wj, Oh C, et al. (2002). Cleft lip and palate incidence among the live births in the republic of Korea. *Journal of Korean Medical Science*, 17: (1) 49-52.
41. Tunçbilek E, AlikaşİfoğLu M, Akadli B, et al. (1996). Türkiye’de Konjenital Malformasyon Sıklığı, Dağılımı, Risk Faktörleri ve Yenidoğanların Antropometrik Değerlendirmesi. Ankara: TÜBİTAK Matbaası, 94-95.
42. Thorna Ch (2010). *Grab Smith’s Plastic Surgery*. Lippincott Williams and Wilkins.
43. Weinzeig J (2007). *Plastic Surgery Secrets*. Hanley Belfus.
44. Moosey, P. and J. Little (2002). Epidemiology of oral clefts: An international perspective In: Wyszynski DF, editor *Cleft lip and palate: From origin to treatment*, Oxford: Oxford University Press.
45. İ. Karadede and Y. Göyenc, (1993). "Unilateral dudak damak yarıklı bebeklerde “Hotz” tipi pasif preoperatif apareyin etkileri." *Türk Ortodonti Dergisi* 6: 82-89.
46. Calzolari, E., et al. (2004). "Epidemiology of cleft palate in Europe: implications for genetic research." *The Cleft Palate-Craniofacial Journal* 41(3): 244-249.
47. Schutte Bc, Sander A, Malik M, et al. (1996). Refinement of the van der Woude gene location and construction of a 3.5-Mb YAC contig and STS map spanning the critical region in 1q32-q41. *Genomics*, 36: 507–514.

48. Jumlongras D, Bei M, Stimson Jm, et al. (2001). A nonsense mutation in MSX1 causes Witkop syndrome. *Am J Hum Genet.*, 69: (1) 67-74. Epub 2001 May 16.
49. Vieira Ar (2008). Unraveling Human Cleft Lip and Palate Research. *J Dent Res*, 87: (2) 119- 125.
50. Wyszynski Df, Beaty Th (1996). Review of the role of potential teratogens in the origin of human nonsyndromic oral clefts. *Teratology*, 53: (5) 305-317.
51. Jones M (2009). Lips. In: Stevenson RE, Hall JG, eds. *Human Malformations and Related Anomalies*, 2nd Ed. New York: Oxford University Press, 391-403.
52. Fogh-Andersen, P. , “Genetic and non-genetic factors in the etiology of facial clefts”, *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery*, 1: 22-29 (1967).
53. Rintala, A., Ponka, A., Sarna, S., et al. ” Cleft lip and palate in Finland in 1948-75: correlations to infections, seasonal and yearly variations”, *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery*., 17(3): 197-201 (1983).
54. Spritz, R.A. 2001. The genetics and epigenetics of orofacial clefts. *Current Opinion in Pediatrics*, 13; 556-560.
55. Tolarova, M.M., Van Rooj, A.M., Pastor, M., et al. “Theunissen, R.M. 1998. A common mutation in the MTHFR gene is a risk factor for nonsyndromic cleft lip and palate anomalies.” *Am J Hum Genet*, 63; Abstract 27.
56. Hwang Sj, Beaty Th, Panny Sr, et al.(1995). Association study of transforming growth factor alpha (TGF alpha) TaqI polymorphism and oral clefts: indication of gene-environment interaction in a population-based sample of infants with birth defects. *Am J Epidemiol*, 141(7):629-36.
57. Romitti Pa, Lidral Ac, Munger Rg, et al.(1999). 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. *Teratology*, 59(1): 39-50.

58. Jugessur A, Lie Rt, Wilcox Aj, et al.(2003). Cleft palate, transforming growth factor alpha gene variants, and maternal exposures: assessing gene-environment interactions in case-parent triads. *Genet Epidemiol*, 25(4): 367-74

59. Marazita MI, Murray Jc, Lidral Ac, et al.(2004). Meta-Analysis of 13 Genome Scans Reveals Multiple Cleft Lip/Palate Genes with Novel Loci on 9q21 and 2q32-35. *American Journal of Human Genetics*, 75: (2) 161–173.

60. Topaktaş M. *Genetik*. (2014) 1. Baskı. Nobel Akademik Yayıncılık. Ankara.

61. (08.08.2019)Erişim:biyodoc.com%2FProteinsentezi.html&psig=AOvVaw3FEkkpTx_5TpiYQC1rQyVH&ust=1567691541635269

62. Erişim: (10.08.2019)
(https://en.wikipedia.org/wiki/File:Chromosome_DNA_Gene.svg)

63. Erişim:(<https://courses.lumenlearning.com/wm-biology1/chapter/reading-structure-of-dna/>) (10.08.2019)

64. Klug, W.S. and Cummings, M.R. 2003. *Genetik Kavramlar*. Palme Yayıncılık, pp. 683-690, Ankara.

65. Klug Ws, Cummings Mr, Spencer Ca (2011). *Genetik Kavramlar*. 8. Baskı. Ed: Öner C, Sümer S, Öner R, Öğüş A, Açık L. Palme Yayıncılık.

66. Erişim: (10.08.2019) (<https://studylibtr.com/doc/1080107/gen-ekspresyonunun-kontrolu-ve-duzenlenmesi>)

67. Thompson Mw, Mcinnes Rr, Willard Hf (1991). *Thompson & Thompson: Genetics in Medicine*. 5th Ed., Philadelphia: Saunders Company.

68. Erişim: *Genome Research Limited* (20.08.2019)

69. Topaktaş M. *Genetik*. (2014) 1. Baskı. Nobel Akademik Yayıncılık. Ankara.

70. Erişim: (<https://slideplayer.com/user/9953497/>) (15:08.2019)

71. Erişim:(https://scholar.cu.edu.eg/?q=m_ismail_alqnishy/files/2-_genetics.pdf)
72. Erişim:
(https://en.wikipedia.org/wiki/Point_mutation#/media/File:Point_mutations-en.png) (15:08.2019)
73. Beaudet Al, Scriver Cr, Sly Ws, et al. (1995). Genetics, biochemistry and molecular basis of variant human phenotypes. In: The Molecular and Metabolic Bases of Inherited Disease. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Eds. 7th Ed., New York: McGraw-Hill, p. 53-118.
74. Erişim: Adapted from Campbell NA(ed.) biology, 2nd ed,1990 (15:08.2019)
75. Erişim: (15:08.2019) (<https://biologydictionary.net/deletion-mutation/>)
76. Wang Dg, Fan Jb, Siao Cj (1998). Large-scale identification, mapping, and genotyping of single nucleotide polymorphisms in the human genome. Science, 280: 1077-1082.
77. Kwok Py (2003). Methods in Molecular Biology, Volume 212: Single Nucleotide Polymorphisms: Methods and Protocols. Totowa, New Jersey: Humana Press.
78. Genetic polymorphism studies in humans Ismail, Somaia; Essawi, Mona Middle East Journal of Medical Genetics: July 2012 - Volume 1 - Issue 2 - p 57-63 doi: 10.1097/01.MXE.0000415225.85003.47
79. Sönmezoğlu ÖA, Yildirim A, Güleç Te (2010). Tek Nükleotid Farklılıkları (Snp) ve Buğdayda Kullanımı. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 3: (2) 55-66
80. Klug, W. S., Cummings, M. R., “Genetik Kavramlar 6. Baskı”, Öner C. ,Palme Yayıncılık, Ankara, 515-516 (2003).
81. Sanjoaquin MA, Allen N, Couto E, et al. Folate intake and colorectal cancer risk: A meta-analytical approach. Int J Cancer 2005;113(5):825.
82. Maxam A, Gibert W. A new method of sequencing DNA. Proc Natl Acad Sci U S A. 1977;74(2):560-4.

83. Öner AD, Taştan H (2016). Association of MSX1 c.*6C>T Variant with Nonsyndromic Cleft Lip With or Without Cleft Palate in Turkish Patients. *Genet Test Mol Biomarkers*, 20: (7) 402-5.
84. Roderick R., MCLNNEs, Jaques Michaud. —Yarık dudak ve/veya damakhastalığının çevresel ve genetik sebepleri Clinical genetic (2002).
85. Lidral A.C., Romitti P.A., Basart A.M., et al. “Association of MSX1 and TGFB3 with Nonsyndromic Clefting in Humans” *Am. J. Hum. Genet.*, 63:557–568 (1998).
86. Dobias, S. L., Ma, L., Wu, H., et al.” The evolution of Msx gene function: expression and regulation of a sea urchin Msx class homeobox gene”, *Mechanisms of Development*, 61(1-2):37-48 (1997)
87. Su, M.W., Suzuki, H. R., Solursh, M., et al, “Progressively restricted expression of a new homeobox-containing gene during *Xenopus laevis* embryogenesis”, *Development*, 111: 1179- 1187 (1991).
88. Akimenko, M. A., Johnson, S. L., Westerfield, M., et al., “Differential induction of four msx homeobox genes during fin development and regeneration in zebrafish”, *Development* ,121(2):347-357 (1995).
89. Padanilam, B. J., Stadler, H. S., Mills, et al., “Characterization of the human HOX 7 cDNA and identification of polymorphic markers”, *Human Molecular Genetics*, 1(6):407-410 (1992).
90. Davidson Dr, Hill Re (1991). Msh-like genes: family of homeobox genes with wide-ranging expression during vertebrate development. *Semin Dev Biol*, 2: 405–412.
91. Davidson, D., “The function and evolution of Msx genes: pointers and paradoxes”, *Trends in Genetics*, 11(10):405-411 (1995).
92. Shimeld, S. M., McKay, I. J., Sharpe, P. T., “The murine homeobox gene Msx-3 shows highly restricted expression in the developing neural tube”, *Mechanisms of Development*, 55(2):201-210 (1996)
93. Pawlowska, E., Janik-Papis, K., Jarosinska, M., et al., “Mutations in the human homeobox MSX1 gene in the congenital lack of

permanent teeth”, *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 217(4):307-312 (2009).

94. Hewitt Je, Clark Ln, Ivens A, et al. (1991). Structure and sequence of the human homeobox gene HOX7. *Genomics*, 11: (3) 670-8.

95. Kim S, Kim Wj, Oh C, Kim J (2002). Cleft lip and palate incidence among the live births in the republic of Korea. *Journal of Korean Medical Science*, 17: (1) 49-52.

96. Zhang H., Hu G., Wang H., et al. “Heterodimerization of Msx and Dlx homeoproteins results in functional antagonism” *Mol. Cell Biol.*, 17:2920–32 (1997).

97. Newberry E.P., Latifi T., Battaile J.T., et al. “Structurefunction analysis of Msx2-mediated transcriptional suppression” *Biochemistry*, 36:10451–62 (1997).

98. Marazzi G, Wang Y, Sassoon D (1997). Msx2 is a transcriptional regulator in the BMP4-mediated programmed cell death pathway. *Dev Biol*, 186: 127–138.

99. Takahashi K, Nuckolls Gh, Tanaka O, et al.(1998). Adenovirus-mediated ectopic expression of Msx2 in even-numbered rhombomeres induces apoptotic elimination of cranial neural crest cells in ovo. *Development*, 125: 1627–1635.

100. Tribulo C, Aybar Mj, Sánchez Ss, et al. (2004) A balance between the anti-apoptotic activity of Slug and the apoptotic activity of msx1 is required for the proper development of the neural crest. *Dev Biol*, 275: 325-342.

101. Liu Y, Helms A W, Johnson J E (2004). Distinct activities of Msx1 and Msx3 in dorsal neural tube development. *Development*, 131: 1017-1028.

102. Ramos C, Robert B (2005). Msh/Msx gene family in neural development. *Trends in Genet*, 21: 624-632.

103. Hu, G., Lee, H., Price, S. M., et al.,” Msx homeobox genes inhibit differentiation through upregulation of cyclin D1”, *Development* , 128(12): 2373-2384 (2001).

104. Robert B, Sassoon D, Jacq B, et al. Buckingham (1989). Hox-7, a mouse homeobox gene with a novel pattern of expression during embryogenesis. *EMBO J*, 8: 91–100.
105. Mina M, Kollar Ej (1987). The induction of odontogenesis in non-dental mesenchyme combined with early murine mandibular arch epithelium. *Arch Oral Biol*, 32: 123–127.
106. Lumsden Ag (1988). Spatial organization of the epithelium and the role of neural crest cells in the initiation of the mammalian tooth germ. *Development*, 103: 155–169.
107. Jowett Ak, Vainio S, Ferguson Mw, Sharpe Pt, Thesleff I (1993). Epithelial-mesenchymal interactions are required for msx 1 and msx 2 gene expression in the developing murine molar tooth. *Development*, 117: 461–470.
108. Maas R, Bei M (1997). The genetic control of early tooth development. *Crit Rev Oral Biol Med*, 8: 4–39.
109. Stock Dw, Weiss Km, Zhao Z (1997). Patterning of the mammalian dentition in development and evolution. *Bioessays*, 19: 481–490.
110. Thesleff I, Sharpe P (1997). Signalling networks regulating dental development. *Mech Dev*, 67: 111–123.
111. Peters H, Balling R (1999). Teeth. Where and how to make them. *Trends Genet*, 15: 59–65.
112. Vander Boogard MJ., Dorland M., Beemer FA., Van Amstel H.K., "MSX1 mutation is associated with orofacial clefting and tooth agenesis in humans" *National Genetics*, 24: 342-348 (2000).
113. Zhang Z, Song Y, Zhao X, et al. (2002). 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*, 129: 4135-4146.
114. Zhang, Y., Zhao, X., Hu, Y., St Amand, et al., "Msx1 is required for the induction of Patched by Sonic hedgehog in the mammalian tooth germ", *Developmental Dynamics*., 215(1):45-53 (1999).

115. Hu D, Helms Ja (1999). The role of sonic hedgehog in normal and abnormal craniofacial morphogenesis. *Development*, 126: 4873-4884.
116. Bitgood Mj, McMahon Ap (1995). Hedgehog and Bmp genes are coexpressed at diverse sites of cell-cell interaction in the mouse embryo. *Dev. Biol.*, 172: 126-138.
117. Davis WL. Oral histology: cell structure and function. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1986, p.37-54.
118. Thesleff I, Vaahtokari A, Kettunen P, Aberg T. Epithelial-mesenchymal signaling during tooth development. *Connect Tissue Res*, 1995; 32(1-4): 9-15.
119. Maas R, Bei M. The genetic control of early tooth development. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1997; 8(1): 4-39.
120. Hill Re, Jones Pf, Rees Ar, et al. (1989). A new family of mouse homeo box-containing genes: molecular structure, chromosomal location, and developmental expression of Hox-7.1. *Genes Dev*, 3: 26–37.
121. Blin-Wakkach C, Lezot F, Ghoul-Mazgar S (2001). Endogenous Msx1 antisense transcript: in vivo and in vitro evidences, structure, and potential involvement in skeleton development in mammals. *Proc Natl Acad Sci*, 98: 7336-7341.
122. Hovde, S., Abate-Shen, C., Geiger, J. H., “Crystal structure of the Msx-1 homeodomain/DNA complex”, *Biochemistry*, 40(40):12013-12021 (2001).
123. Tureckova, J., Sahlberg, C., Aberg, et al., “Comparison of expression of the msx-1, msx-2, BMP-2 and BMP-4 genes in the mouse upper diastemal and molar tooth primordia”, *The International Journal of Developmental Biology*, 39(3): 459-468 (1995).
124. Bendall Aj, Rincon-Limas De, Botas J, Abate-Shen C (1998). Protein complex formation between Msx1 and Lhx2 homeoproteins is incompatible with DNA binding activity. *Differentiation*, 63: 151-157.
125. Hovde S, Abate-Shen C, Geiger Jh (2001). Crystal structure of the Msx-1 homeodomain/DNA complex. *Biochemistry*, 40: 12013-21.

126. Vastardis H, Karimbux N, Guthua Sw, Seidman Jg, Seidman Ce (1996). A human MSX1 homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nat Genet*, 12: 417-421.
127. Satokata I, Maas R (1994). MSX1 deficient mice exhibit cleft palate and abnormalities of craniofacial and tooth development. *Nat Genet*, 6: 348-356.
128. Modesto A, Moreno Lm, Krahn K, King S, Lidral Ac (2006). MSX1 and orofacial clefting with and without tooth agenesis. *J Dent Res.*, 85: (6) 542-546.
129. Zhang J, Zhou S, Zheng H, et al. Magnetic bead-based salivary peptidome profiling analysis during orthodontic treatment durations. *Biochem Biophys Res Commun* 2012;421(4):844-849.
130. Mobarak EH, Abdallah DM. Saliva nitric oxide levels in relation to caries experience and oral hygiene. *J Adv Res* 2011;2(4):357-362.
131. Almeida Pdel V, Gregio AM, Machado MA, de Lima AA, Azevedo LR. Saliva composition and functions: a comprehensive review. *J Contemp Dent Pract* 2008;9(3):72-80.
132. Mandel ID. Relation of saliva and plaque to caries. *J Dent Res* 1974;53(2):246-266.
133. Edgar W. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J* 1992;172(8):305-312.
134. Roussa E. Channels and transporters in salivary glands. *Cell Tissue Res* 2011;343(2):263-287.
135. Iannitti T, Rottigni V, Palmieri B. Role of free radicals and antioxidant defences in oral cavity-related pathologies. *J Oral Pathol Med* 2012;41(9):649-661.
136. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol* 2002;29(3):189-194.
137. Nagler RM, Klein I, Zarzhevsky N, Drigues N, Reznick AZ. Characterization of the differentiated antioxidant profile of human saliva. *Free Radic Biol Med* 2002;32(3):268-277.

138. Holsinger FC, Bui DT. Anatomy, function, and evaluation of the salivary glands. Kaynak: Myers EN, Ferris RL, editors. Salivary gland disorders. Berlin: Springer; 2007:1-16.
139. Lamy E, Mau M. Saliva proteomics as an emerging, non-invasive tool to study livestock physiology, nutrition and diseases. *J Proteomics* 2012;75(14):4251-4258.
140. Sahingur SE, Cohen RE. Analysis of host responses and risk for disease progression. *Periodontol 2000* 2004;34:57-83.
141. Khalili J, Biloklytska HF. Salivary malondialdehyde levels in clinically healthy and periodontal diseased individuals. *Oral Dis* 2008;14(8):754-760.
142. Streckfus CF, Bigler LR. Saliva as a diagnostic fluid. *Oral Dis* 2002;8(2):69-76.
143. Gopinath V, Arzreanne A. Saliva as a diagnostic tool for assessment of dental caries. *Arch Orofac Sci* 2006;1:57-59.
144. Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta* 2004;343(1-2):1-16.
145. Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci* 1993;694:72-77.
146. Sreebny LM. Saliva in health and disease: an appraisal and update. *Int Dent J* 2000;50(3):140-161.
147. Petoumenou E, Arndt M, Keilig L, et al. Nickel concentration in the saliva of patients with nickel-titanium orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2009;135(1):59-65.
148. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin Chim Acta* 2007;383(1-2):30-40.
149. Garde AH, Hansen AM. Long-term stability of salivary cortisol. *Scand J Clin Lab Invest* 2005;65(5):433-436.
150. Morris M, Cohen B, Andrews N, Brown D. Stability of total and rubella-specific IgG in oral fluid samples: the effect of time and temperature. *J Immunol Methods* 2002;266(1-2):111-116.

151. Christensen, K., Juel, K., Herskind, A.M. and Murray, J.C. 2004. Long term follow up of survival associated with cleft lip and palate birth. *BMJ*, 328; 1405-9.

152. Van den Boogaard, M. J. H., De Costa, D., Krepels, I. P. C., Liu, F., Van Duijn, C., Sinke, R. J., Lindhout, D., Steegers-Theunissen, R. P. M., “The MSX1 allele 4 homozygous child exposed to smoking at periconception is most sensitive in developing nonsyndromic orofacial clefts”, *Human Genetics*, 124: 525-534 (2008).

153. Jugessur A, Lie Rt, Wilcox Aj, Murray Jc, et al., (2003). Cleft palate, transforming growth factor alpha gene variants, and maternal exposures: assessing gene-environment interactions in case-parent triads. *Genet Epidemiol*, 25(4): 367-7

154. Murray, J.C. and Schutte, B.C. 2004. Cleft palate players, pathwats, and pursuits. *The Journal of Clinical Investigation*, 113:1676-1678

155. Van Rooj IA, Vermeij-Keers C, Kluijtmans LJ, 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 Epidermiol* 2003;157(7):583-591.

156. Dixon Mj, Marazita Ml, Beaty Th, Murray Jc (2011). Cleft lip and palate: synthesizing genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet*, **12**(3): 167–178.

157. Pan Y, Zhang W, Du Y, 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.

158. Erişim : (<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/mutation/overview>) (15.09.2019)

159. Erişim: (genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=LIMS2) (15:09:2019)

160. Jodi Warman Chardon, MSc, MD, FRCPC, Children’s Hospital of Eastern Ontario, Regional Genetics Program 401 Smyth Road, Ottawa, Ontario, Canada, K1H 8L1

161. Norman KR, Cordes S, Qadota H, et al. UNC-97/PINCH is involved in the assembly of integrin cell adhesion complexes in *Caenorhabditis elegans* body wall muscle. *Developmental biology*. 2007;9:45-55.160
162. Zhang Y, Chen K, Guo L, Wu C. Characterization of PINCH-2, a new focal adhesion protein that regulates the PINCH-1-ILK interaction, cell spreading, and migration. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277:38328-38.
163. Lidral 1998; Jezewski ve ark., 2003; Vieira ve ark., 2004; Suzuki ve ark., 2004; Tongkobpetch ve ark., 2006; Revet ve ark., 2008, Butali ve ark., 2011
164. Revet I, Huizenga G, Chan A, et al. (2008). The MSX1 homeobox transcription factor is a downstream target of PHOX2B and activates the Delta–Notch pathway in neuroblastoma. *Experimental Cell Research*, **314**: 707–719.
165. Barrett Lw, Fletcher S, Wilton Sd (2012). Regulation of eukaryotic gene expression by the untranslated gene regions and other non-coding elements. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **21**: 3613–3634.
166. Vastardis H, Karimbux N, Guthua Sw, Seidman Jg, Seidman CE (1996). A human MSX1 homeodomain missense cause selective tooth aganesis. *Nat Genet*,12:417-421

EKLER

EK-1

İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ ORTODONTİ
ANABİLİM DALI

Dudak Damak Yarıklı hastalarda MSX1 gen polimorfizminin yarık bölgesindeki etkinliğinin incelenmesi (Hastalığa neden olan mutasyonların tespit edilebilmesi) isimli çalışma hakkında bilgilendirildim. Anlatılanları anladım. Çalışmaya katılmaya karar verdim. Alınacak tükürük örneklerinin istenilen zamanda verilmesini kabul ediyorum.

Hasta Adı Soyadı:
Adı Soyadı

Velisi

(yakınlık derecesi)

İmza:

imza:

EK-2

 TS EN ISO 9001:2015	T.C. IZMIR KATIP ÇELEBI UNİVERSİTESİ Diş Hekimliği Fakültesi	
	ORTODONTİ ANABİLİM DALI HASTA VE AİLE BİLGİLENDİRME FORMU-4	

ORT-4 (DUDAK-DAMAK YARIGI)

Değerli Hastamız,

Sunduğumuz sağlık hizmetlerinden yararlanmak üzere kliniğimize başvurmuş bulunuyorsunuz. Bu belge bilgilendirilme haklarınızdan yararlanabilmenizi amaçlamaktadır.

> Sağlık durumunuz ve size gerçekleştirilebilecek tanı veya tedavi amaçlı girişimler konusunda, tüm seçenekler ile bu girişimlerin yarar ve muhtemel zararları konusunda anlayabileceğiniz şekilde bilgi alma hakkınız ve bir kopyası isteme hakkınız vardır. Bilgilendirme sonrası, sunulan tanı veya tedavi amaçlı girişimlerden birini seçerek size uygulanmasını kabul edebilirsiniz. Karar verebilmek için uygun zaman talep edebilirsiniz.

> Yasal ve tıbbi zorunluluk taşıyan durumlar dışında bilgilendirilmeyi reddedebilirsiniz. Yazılı bildirmek koşulu ile bilgi almama veya yerinize güvendiğiniz bir kimsenin bilgilendirilmesini talep etme hakkına sahipsiniz.

> Size önerilen tanı veya teşhis amaçlı girişimleri kabul etmediğinizi yazılı bir belge ile bildirmeniz gerekmektedir.

> Kliniğimizde verilen hizmetler ve bilgi formları ile ilgili detaylı bilgi için www.dis.ikc.edu.tr web sayfamızı ziyaret edebilirsiniz.

> Hasta tedavi esnasında herhangi bir nedenle tedavi bitiminden önce tedaviyi sonlandırmak isteyebilir. Bu durumu 18 yaşından küçükler için hasta velisi yazılı olarak ifade etmek zorundadır ve oluşabilecek sorunları ve riskleri kabul ettiğini beyan etmektedir. Tedavisini kendi isteği ile sonlandıran hasta, ileriki dönemlerde tedaviye yeniden başlamak istediği durumda yeniden ücretlendirilecektir.

> Tedavimiz sırasında hekiminiz tarafından alınan mevcut tüm kayıtlar (fotoğraf, film, röntgen vb.) ile artan malzemeler kimlik bilgileriniz korunmak koşuluyla eğitimsel ve bilimsel amaçlı olarak kullanılabilir.

> Ortodontik tedaviler uzun süreli olduğu için uygulanan tedavinin şekline göre belirli aralıklarla kontrol randevularına gelmeniz gerekmektedir.

Aşağıda size verilen bilgileri dikkatlice okuyunuz. Daha detaylı bilgi istediğinizde veya bir yakınınızın da bilgilendirilmesini istediğinizde, lütfen sorunuz.

DUDAK DAMAK YARIGI

Dudak damak yarığı ile doğmuş bebeklerde, ağız içindeki yarık parçaların doğru yerine alınması, düzgün bir çene şekli verilebilmesi ve burun kanatlarında meydana gelen bozukluğun düzeltilebilmesi için önce ortodontik tedavi uygulanmaktadır. Tedavi yapılmazsa yarık bölgesinin konumuna göre bebeğin beslenmesi güçleşebilir, ilgili bölgenin gelişimi etkilenebilir, yarığın genişliğine göre daha sonra yapılacak cerrahi işlemlerde sıkıntı oluşabilir. Tedavi, öğretim üyelerinin kontrolü altında uzmanlık ve doktora öğrencileri ile öğretim üyelerinin kendileri tarafından yapılmaktadır. Dudak damak yarığı tedavisi uzun süreli olduğu için bebeğin gelişimine göre ilerleyen süreçlerde farklı tedaviler gerekmekte olup bu tedavilerin ücretleri ile ilgili lütfen hekiminize danışınız. 2013 Tarihli ve 28725 sayılı Resmî Gazetede yayımlanarak yürürlüğe giren Sosyal Güvenlik Kurumu Sağlık Uygulama Tebliği (SUT) gereğince, 18 yaşını doldurmuş kişilerin ortodontik diş tedavilerine ilişkin giderler, kurumca ödenmez (2.4.1).

Ayrıca, SUT EK-2/Ç-1 Madde 8 gereğince ortodontik tedavide kullanılan braket ve ortodontik materyal hasta tarafından karşılanır. SUT gereğince dudak damak yarığına sahip hastaların tedavi ücreti yeni doğan bebekler ve ortodontik tedavi ihtiyacı olan hastalar için farklılık göstermektedir. Yeni doğan bebek için yapılacak aletin güncel laboratuvar ücretini lütfen hekiminize sorunuz. Yeni doğan bebeğin aletin haricindeki kliniğimizde yapılacak tedavi giderleri kurum tarafından karşılanmaktadır.

	T.C. IZMIR KATIP ÇELEBI UNIVERSITESI Diş Hekimliği Fakültesi	
	ORTODONTI ANABİLİM DALI HASTA VE AİLE BİLGİLENDİRME FORMU-4	

Ortodontik tedavi ihtiyacı olan dudak damak yarıklı hastalarda ise yarık bölgesi ile ilgili operasyon öncesi ve sonrası olmak üzere **ortodontik** tedavi giderleri 18 yaşın altındaki bireyler için kurumumuzca karşılanmaktadır.

Dudak damak yarığı tedavisinde, bebeğin ağızına rahat bir şekilde oturan ve damak parçalarını, dudak ve burnu şekillendirmeye yarayan bir apaney kullanılmaktadır. Şekillendirici **ortodontik** apaney yarık damak parçalarının düzgün konumlarına alınabilmesini sağlamaktadır. Bebeğin bu apaneye alışması birkaç gün almaktadır. Apaney başlangıçta bebekte rahatsızlık ve beslenmesinde zorluk oluşturabilmektedir. Bu durum bir iki gün içerisinde düzelmekte ve normal beslenme düzenine geçilmektedir. Ancak iki günden daha uzun süreli beslenme problemi yaşıyorsa lütfen tedaviyi yapan hekiminize (klinikimize) başvurunuz. Bebeğin apaneyi temiz tutulmalıdır. Diş fırçası ile ılık suyun altında temizlenmelidir.

Apaney kaynatılmamalı ve aşırı sıcak su ile yıkanmamalıdır. Apaney yerleştirildikten sonra bebeğin ağızda parmak gezdirilerek dilini acutabilecek yerler olup olmadığı kontrol edilmelidir. Ayrıca küçük bir fenerle ağız içi aydınlatılarak yara olup olmadığı belirlenebilir. Eğer apaneyde keskin, sivri bir kenar ya da ağız içinde yara tespit edilirse hemen klinikimize başvurulmalıdır. Bebek büyüdükçe şekillendirici apaney de bebeğin damağına uyacak şekilde adapte edilecektir. Her randevuda yarık dudak ve damak parçaları birbirine yaklaştırılacak, daha sonraki aşamada apaney burun parçası da eklenecektir. Yanaklara yapıştırılan bantlar apaneyin damağına daha iyi tutunması sağlamaktadır. Yine bu bantlar sayesinde apaney damağına basıncı uygulayarak yarık parçaların birbirine doğru yaklaşmasını kolaylaştıracaktır. Şekillendirici apaney tedavisinde en çok karşılaşılan sorun, yanaklarda ya da dişinde tahrişlerdir.

Acil sayılabilecek durumlar aşağıda belirtilmiştir:

- Bebeğin nefes almada güçlük çekmesi halinde, apaneyi çıkarınız ve hekiminize başvurunuz.
- Bebek yemek yemede zorlanıyor ya da daha az yiyorsa hekiminize başvurunuz.
- Ağız içinde apaneyin neden olduğu tahriş, yara varsa hekiminize başvurunuz.

Şekillendirici apaney tedavisinin süresi çoğu tek taraflı dudak damak yarıklarında 4-5 ay, çift taraflı dudak damak yarıklarında 6-7 ay sürmektedir. Bebeğinizin ameliyata hazır olup olmadığını tedaviyi yapan hekiminiz size bildirecektir. Ameliyat sonrası beslenmede, bebeğiniz apaneyi olmadan beslenmesini öğrenecektir.

Dudak damak yarıklı çocuklarda dişlerin düzgün sıralanmaması veya çeneler arasındaki ilişkide bir bozukluk olduğundan şüphelenilmesi durumunda; çocuğun ağız içi yapıları, dişleri, çene kasları ve çene eklemleri muayene edilecek ve bulgular kaydedilecektir. Yine gerekli görüldüğünde bilginiz **dahilinde** baş, eklem ve diş röntgen filmleri alınacak ve fotoğrafları çekilecektir. Bu kayıtlar klinik takip süresince rutin olarak alınmaktadır. Bu kayıtlar ileride tekrar incelenerek doğru tanı konulmasına yardımcı olacaktır.

EK-3



DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ ORTODONTİ ANABİLİM DALI ANAMNEZ FORMU

Hastanın Adı Soyadı:

Tarih:

Doğum Tarihi:

Doktor:

1. Çocuğun genel sağlık durumu []İYİ []KÖTÜ
2. Herhangi bir sağlık durumu var mı?..... []EVET []HAYIR
Eğer varsa, belirtiniz.....
3. Genel anestezi altında herhangi bir ameliyat geçirdi mi?..... []EVET []HAYIR
Eğer geçirdiyse, açıklayın.....
4. Aşıları tam olarak yapıldı mı?..... []EVET []HAYIR
5. İlaçlar, medikal ürünler(latex),çevresel faktörlere alerjisi var mı?(toz, vs.)... []EVET []HAYIR
6. Daha önce kullanmış olduğu ilaçlar..... []EVET []HAYIR
7. Şuanda devamlı kullandığı ilaçlar.....
8. Aşağıdaki tabloda tespit edilmiş olan herhangi bir sistemik hastalığı mevcut mu? Varsa işaretleyin.

HASTALIK	EVET	HAYIR	HASTALIK	EVET	HAYIR
Doğumsal Problem			Serebral Palsy		
Kalp Üfürümü			Epilepsi		
Kalp Hastalığı			Astım		
Romatizmal Ateş			Dudak Damak Yarığı		
Anemi			Konuşma/Duyuma Problemi		
Kanama Problemi			Göz problemleri		
Kan transfüzyonu			Cilt Problemleri		
Hepatit/Sarılık			Tonsillit-Adenoid/Sinus Problemi		
AIDS/HIV			Psikolojik Bozukluklar		
Tüberküloz			a. Uyku Problemi		
Karaciğer Hastalığı			b. Radyasyon Terapisi		
Böbrek Hastalığı			c. Büyüme Bozuklukları		
Diabet			d. Dikkat Bozuklukları		
Artrit			e. Kanser		

9. Çocuğunda son zamanlarda hızlı bir büyüme atılımı gerçekleşti mi?..... []EVET []HAYIR
10. Babanın Boyu..... Kilosu..... Annenin Boyu.....
Kilosu.....
11. Büyük Kardeşlerimin
(1)Boyu.....Kilosu.....(2)Boyu.....Kilosu.....(3)Boyu.....Kilosu.....
12. Menstrüasyon/Âdet(Bayanlar için) başladı mı?.....Başladıysa ne zaman.....Hamilelik []
13. Doğum kontrol hapı kullanıyor mu?.....
14. Öğrenme seviyesi nasıl? [] İleri Düzeyde [] Orta Düzeyde [] Alt Düzeyde

Hastanın Adı-Soyadı:

Dental Anamnez

15. Dişsel olarak temel şikayeti Nedir?.....
16. Daha önceden diş tedavisi oldu mu?.....Eğer tedavi oldu ise tarihi:.....
17. Aşağıdaki durumları değerlendiriniz.

Doküman No: FR 68 - Yürürlüğe Gir. Tar: 01.01.2014- Revizyon Tarihi: 01.01.2014 - Revizyon No: 00 - Sayfa No: 1/2

DURUM	EVET	HAYIR
a. Daha önceden diş radyografisi çekildi mi?		
b. Diş tedavisi hususunda işbirliği yapabilen uyumlu biri mi?		
c. Diş tedavisi sırasında herhangi bir rahatsızlık geçirdi mi?(Bayılma vs.)		
d. Diş çürüğü var mı?		
e. Sıcağa/Soğuğa ve yiyeceklere karşı diş hassasiyeti var mı?		
f. Fırçalama esnasında diş etleri kanıyor mu?		
g. Flourid jeli, pastası veya çalkalama solüsyonu uygulandı mı?		
h. Çene eklemine ağrı veya açma-kapama esnasında ses oluyor mu?		
ı. Ağız açma-kapama esnasında herhangi bir problem var mı?		
i. Kalıtsal/Ailevi dişsel veya yüz anomalisi var mı?(Alt çene ilerliği) Eğer varsa açıklayın.		
j. Hiç diş traşına /yaralanması geçirdi mi?		
k. Çene-Yüz bölgesini içeren bir kaza geçirdi mi?(Düşme, Çarpma)		
l. Yalancı emzik kullanıyor mu?		
m. Parmak emme, dudak ısırma gibi alışkanlıkları var mı?		

18. Bizim bilmek istediğimiz başka herhangi bir dişsel problemi var mı? []EVET []HAYIR
Eğer varsa belirtin.


Velisinin Adı Soyadı
İmza

SORULARLA İLGİLİ AÇIKLAMALAR

1. Bu madde hastanın ~~çocuk~~-psikolojik durumu ile ilgilidir.
2. Bu madde hastanın dişsel bir ~~traşına~~-kaza geçirip geçirmediği ile ilgilidir.
3. Bu madde alerjenleri tanımlar, örneğin lateks (lastik, kauçuk) alerjisi tedavi esnasında eldiven ve ortodontide kullanılan lastiklere karşı gelişebilir. Yine ortodontide kullanılan Nikel-titanyum tellere karşı alerji gelişebilir.
- 3.b.c.d. Bu hastalar ~~ortodontik~~ ~~bandlama~~, mini vida yerleştirilmesi esnasında antibiyotik profilaksisine ihtiyaç duyarlar.
- 3.e Bu madde lezyon veya tedavi bölgesindeki radyasyon ve kemoterapi sonrası büyüme ve gelişim yönünden etkisini değerlendirir.
- 3.y Bu madde solunum problemini ve diş hassasiyetini değerlendirir.
- 3.g.h.i.j.k Bu hastalarda modern enfeksiyon kontrol yöntemleri uygulanmalıdır.
- 3.n Bu madde alt çene gelişimi ile ilgilidir.
- 3.b Radyoterapi dişsel ve ~~iskeletsel~~ gelişimi etkileyerek zarar verebilir. Bunda radyasyonun dozu ve süresi önemlidir.
- 3.d Dişlet bozukluğunda kullanılan çoğu haplar büyüme ve gelişimi etkileyebilir.
- 9-13 Bu maddeler büyüme ve gelişim zamanlaması içindir. Yine doğum kontrol hapları kullanılan antibiyotikler ile etkileşime geçebilir.
15. Hastanın ana şikâyeti tedavi planlaması ve gidişat açısından önem arz etmektedir.
- 17.a Daha Önceden çekilmiş bir çene filmi hem teşhis açısından hem de çocuğun fazla radyasyon almaması açısından önemlidir.
- 17.f Diş eti hastalıkları ~~ortodontik~~ tedavi açısından bir engel oluşturur. ~~Ortodontik~~ tedaviye başlamadan önce ağız hijyeni en iyi olacak şekilde sağlanmalıdır.
- 17.h Ağız açma ve kapamadaki problemler çene eklemi bölgesindeki bozukluklara işaret eder.
- 17.j Eksik dişler, ~~iskeletsel~~ problemler genetik yatkınlığın / ~~genetiği~~ gösterir.
- 17.k Dental ~~traşına~~ diş hareketi esnasında kök ~~rezorpsiyonu~~ artırır.
- 17.m Bu tür alışkanlıklar dişsel kapanış bozuklukları çapraşıklıklara neden olur.

Doküman No: FR 68 - Yürürlüğe Gir. Tar: 01.01.2014- Revizyon Tarihi: 01.01.2014 - Revizyon No: 00 - Sayfa No: 2/2

EK-4

	T.C. IZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ Diş Hekimliği Fakültesi	
	ORTODONTİK TEDAVİ İÇİN HASTA SOZLEŞMESİ FORMU	Dok. No: FK/234/16 İlk Yayın Tar.: 12.09.2017 Rev. No/Tar.: 00/ Sayfa: 1 / 1

- Tedavi süresi ortalama 2-3 yıl olup, bazı durumlarda daha uzun olabilir. Hastanın tedavisinin tümünün kliniğimizde gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Herhangi bir nedenle, hastanın başka bir kliniğe nakledilmesi söz konusu değildir. (Fen Lisesi, üniversite sınavı, tayin ve başka nedenlerle ikametinin değiştirilmesinin söz konusu olacağı durumlarda tedaviye başlanmayacaktır. Tedavisi başlanmış hastaların kayıtları ise hiçbir şekilde kliniğimiz dışına verilmeyecektir.)
- Randevu günü ve saati dışında gelen hastaya kesinlikle bakılmayacaktır. Onemli mazeretler nedeni ile randevu değişikliği istendiğinde bu isteğin randevu tarihinden önce telefon ile bildirilmesi gerekmektedir.
- Ağız bakımına dikkat etmeyen, sık sık braketlerini koparan, aparatlarını kaybedip kıran, hekimin tavsiyelerine uymayan, randevularına düzenli gelmeyen ve tedavisi için gerekli aparatları kullanmayan hastaların tedavilerine son verilir.
- Tedavi süresince doktorun tüm talimat ve önerilerine uyulması zorunludur.
- Kullanım sırasında kırılan ve kaybolan aparatların yenilenme ücreti, düşen braketlerin ücreti ve yapıştırma ücreti bizzat hastadan tahsil edilecektir. Bu madde resmi hastalar için de geçerlidir. Kurumdan tahsilat yapılmayacaktır.
- Hastanın tedavisi için gerekli olan malzemeleri hasta karşılayacaktır. Malzeme bedelinin hastanın kurumunca karşılanıp karşılanmayacağı kliniğimiz sorumluluğunda değildir.
- 18 yaşından küçük hastalarda hasta uyumu ile ilgili tüm sorumluluk tamamen veliye aittir. Veli hastanın diş fırçalaması ve tedaviye uymasını sağlamakla yükümlüdür.
- Hastanın tüm kayıtları yurtiçi ve yurtdışı bilimsel yayınlarda kullanılabilir.
- Klinik kayıtları (ölçüler, filmler, fotoğraf vb.) alınan hastaların tedavi ücretlerinin tamamı kurumlarına fatura edilmektedir. Bu yüzden her ne sebeple olursa olsun tedaviyi bırakan veya hekim tarafından tedavisine son verilen hastalar, tekrar ortodontik tedavi olmak isterlerse ancak özel hasta olarak tedavi edilebilir.
- Klinik kayıtları alındıktan sonra her ne sebeple olursa olsun tedaviyi terk eden veya tedavisine hekim tarafından son verilen hastaların malzemeleri iade edilmez.

Yukarıdaki yazıları okudum, anladım ve kabul ediyorum.

Tarih:

Hasta Adı / Soyadı:

Velinin Adı / Soyadı:

İmza:



**DIŞ HEKİMLİĞİ FAKULTESİ
ORTODONTİ ANABİLİM DALI
ORTODONTİK TEDAVİLER (TEL İLE DIŞLARI DÜZELTİLMESİ)
AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU**

ÖNEMLİ BİLGİ

Lütfen, size verilen formu dikkatli bir şekilde okuyunuz, açıklamanızı istediğiniz, anlaşılmasın kuzmaları bize sorup öğreniniz. Gerekli yerleri doldurunuz / işaretleyiniz. Teşhis ve tedavi için tarafımızdan yapılması önerilen işlemlerin yapılması kabul ya da reddettiğiniz gösteren yere (+) işareti koyup imzalayınız. İmzaladığınız kını doktorunuz sizden alacaktır.

ÖNEMLİ BİLGİ

Tedavinin estetik amaçlı olması nedeniyle SGK tarafından karşılanmayacağı ve tedavi için verdiğimiz ücretin hiçbir sebeple iade edilmeyeceği tarafımıza bildirildi.

Eğitimsel ve bilimsel amaçlarla hastalığımıza ve tedaviniz hakkındaki mevcut tüm kayıtlar (fotoğraf, film, röntgen vb.), kimlik bilgileriniz korunmak koşuluyla kullanılabilir. Ortodontik tedaviniz aktif ve pasif olmak üzere iki dönemden oluşur ve hastalığın şiddetine bağlı olarak uzun süreli olabilir.

ORTODONTİK TEDAVİ: Teller ve ağız içi ve/veya ağız dışı aygıtlar yardımıyla diş dizisinin düzeltilmesi işlemidir. Tedavi amacıyla kullanılacak aygıt, tel ve yardımcı malzemeler ve bunların kullanılmaları, tedaviniz planlandığında size ayrıntılı şekilde anlatılacaktır. Bazı durumlarda yer darlığı sorununun giderilmesi için alt ve/veya üst çenelerden bir veya birkaç dişin çekilmesi gerekebilir. Diş çekimi ile elde edilen boşluklar diş dizisinin dışarda duran dişlerin yerlerine alınması ile doldurulacaktır. Tedaviye başlamadan önce tüm dişler muayene ettirilmeli, varsa çürük dişler tedavi edilmeli, gereken dişlere kanal tedavisi yapılmalıdır.

2013 Tarihli ve 28597 sayılı Resmî Gazetede yayımlanarak yürürlüğe giren Sosyal Güvenlik Kurumu Sağlık Uygulama Tebliği (SUT) gereğince, 18 yaşını doldurmuş kişilerin ortodontik diş tedavilerine ilişkin giderler kurumca ödenmez (2.4.1). Estetik amaçlı yapıldığı tespit edilen sağlık hizmetlerine ilişkin giderler kurumca karşılanmaz (3.2). Bu sebeple tedavi süreci içerisinde 18 yaşını doldurmuş hastaların ve estetik amaçlı tedavi yapılan hastaların kurumlarımızca ödenmeyen tedavi giderleri hasta tarafından karşılanır. Ayrıca, SUT EK-2/Ç-1 Madde 8 gereğince ortodontik tedavide kullanılan braket ve ortodontik materyal hasta tarafından karşılanır.

TEDAVİ PLANI

(Diş Çekimi, Ağız içi aygıt, ağız dışı aygıt, mini implant, diğer)

TEDAVİDEN BEKLENENLER: Dişlerdeki çarpışıklığın giderilmesi, çene kemiklerinin düzeltilmesi, sağlıklı çiğneme fonksiyonunun kazandırılması, dental estetiğin sağlanması, yüz estetiğinin iyileştirilmesi. **TEDAVİNİN OLASI TEHLİKELERİ:** Ortodontik tedavi sırasında hastalar bazı olumsuzluklar yaşayabilir. Dişlerdeki metal ve lastik aygıtlar geçici yeme-konuşma-yutkunma güçlüğü yaratabilir. Dudak-yanak ve dilde yaralar oluşabilir. Ağız bakımı zorlaşabilir. Kimi zamanda braketlerin kopması, tellerin kırılması gibi istenmeyen durumlar gelişebilir. Bu sıkıntıları kolayca atlatılabilmek için hekimin talimatlarına mutlaka uyulmalıdır.

Tedavi sırasında yeterli fırçalanmayan dişlerde çürük, kalıcı beyaz lekeler, diş etlerinde iltihaplar ve buna bağlı dişeti çekilmesi ve kemik kayıpları gelişebilir. Bu nedenle dişler ana ve ara öğünlerden sonra düzenli olarak, tüm gıda artıklarının uzaklaştırıldığından emin olana kadar fırçalanmalıdır.

Adres: İzmir Kibrit Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Aydınlik Evler Mah., Cemil Menteş Cad. 6780 Şiş. No:48
35640-Çiğli / İZMİR

Tel : (0) 232 325 40 40 (2500)
Faks : (0) 232 325 25 25
Web : <http://disa.izku.edu.tr>

Ortodontik tedavi sırasında bazı hastalarda diş köklerinin boyunda bir kısılma (kök erimesi) meydana gelebilir. Eğer ciddi bir kısılma söz konusu ise hekim tarafından seğlandırılabilir. Yerine uygun tedavi önerilir.

TEDAVİ SONU: Her **ortodontik** tedavinin sonunda, dişlerde hareket etme ve tedavinin başındaki ilk konumuna geri dönme eğilimi söz konusudur. Bu nedenle aktif **ortodontik** tedavi biter bitmez pasif **ortodontik** tedavi olan "pekiştirme tedavisine" başlanmalıdır. Bu tedavide ya dişlerin iç tarafına sabit olarak bir tel yapıştırılır ya da hastanın takip çıkarılabileceği bir pekiştirme aygıtı kullanılır. Takip çıkarılabilecek aygıtın hekimin talimatlarına uygun olarak kullanılması tedavi sonucunun kalıcılığı açısından çok önemlidir.

ÖNERİLEN TEDAVİ UYGULANMAZSA: Sağlıklı çığneme yapamaz, eklem problemleri ortaya çıkabilir, dişlerdeki çapraçlılık artar, istenmeyen hareket ve alışkanlıklar gelişebilir.

DİĞER TEDAVİ YÖNTEMLERİ:

Bana hastalığımın ne olduğu, tedavi yöntemi, bu tedavinin yararları ve olası tehlikeleri, ortaya çıkabilecek sorunlar, diğer tedavi yöntemleri, ücretlendirme, tedavi olmadığım takdirde karşılaşılabileceğim problemler ile tedavinin başarısını arttırmadaki görevim hakkında ayrıntılı bilgi doktorum **Uzm. Dr. Mustafa Kemal Çelebi** verildi. Tedavi sırasında çeşitli medenlerle, tedavi planım değiştirilebileceğini ve böyle bir durumda bana tekrar bilgi verileceğini ve onayımın alınacağını biliyorum. Bana verilen bu bilgileri anladım ve önerilen tedavinin yapılmasını gönüllü olarak **KABUL/RED** ediyorum.

ÖNEMLİ BİR RİCA:

Sevgili Hastamız,
Diş Hekimliği eğitimine katkı vermesi çok önemli ve gereklidir. İyi diş hekimleri yetiştirilebilmesi için uygulamaya ait tüm sorumluluk tedavinizi üstlenmiş olan hekiminizde olmakla birlikte, onun gözlem ve denetimi altında stajyer diş hekiminin de uygulama yapmasına izin verir misiniz? (Lütfen kararınızı daire içine alınız)

EVET HAYIR

TARİH:

HASTANIN
Adı-Soyadı

HEKİMİN
Adı-Soyadı

TANIK
Adı-Soyadı

İMZASI

İMZASI

İMZASI

*Hastanın kara verme yeterliliği bulunmadığında vekil/vasi/öbrevyn'ye E tarafından imçalanır.

EK-6



The screenshot shows a web browser window with the URL app.ithenticate.com/en_us/report/49749629/summary. The page header includes the iThenticate logo with the tagline "Professional Plagiarism Prevention" and a "Document Viewer" button. The document title is "tez" by "rana kızıltekin". The report date is "Sep 9, 2019 12:21:44 PM" and the statistics are "21,066 words - 154 matches - 72 sources". A "Similarity Index" box on the right shows a value of "9%".

iThenticate

[Document Viewer](#)

Similarity Index

9%

tez

By: rana kızıltekin

As of: Sep 9, 2019 12:21:44 PM

21,066 words - 154 matches - 72 sources