

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PAX9 GENİNDEKİ G-1031A VE T-912C POLİMORFİZMLERİ
İLE DİŞ EKSİKLİĞİ (HYPODONTİ VE OLİGODONTİ)
İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

Nurettin Eren İŞMAN

DOKTORA TEZİ

ORTODONTİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Zafer SARI

KONYA – 2009

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PAX9 GENİNDEKİ G-1031A VE T-912C POLİMORFİZMLERİ
İLE DİŞ EKSİKLİĞİ (HYPODONTİ VE OLİGODONTİ)
İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

Nurettin Eren İŞMAN

DOKTORA TEZİ

ORTODONTİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Zafer SARI

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 08202020
proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA – 2009

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Nurettin Eren İŞMAN tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Ortodonti Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

İmza	Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Hasan ACAR Selçuk Üniversitesi
İmza	Danışman:	Doç. Dr. Zafer SARI Selçuk Üniversitesi
İmza	Üye:	Prof. Dr. Serdar ÜŞÜMEZ Gaziantep Üniversitesi
İmza	Üye:	Doç. Dr. Sıddık MALKOÇ Selçuk Üniversitesi
İmza	Üye:	Doç. Dr. Abdullah DEMİR Selçuk Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

İmza
Prof. Dr. Orhan ÇETİN
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Resimler	vii
Şekiller	viii
Tablolar	ix
Grafikler	x
1. GİRİŞ	1
1.1 Konjenital Diş Eksikliği	3
1.1.1 Konjenital Diş Eksikliğinin Tanımı.....	3
1.1.2 Konjenital Diş Eksikliğinin Görülme Sıklığı.....	4
1.1.3 Konjenital Diş Eksikliğinin Etiyolojisi.....	11
1.1.4 Konjenital Diş Eksikliğinin Genetik Kökeni	13
1.1.5 Konjenital Diş Eksikliğine Çevresel Faktörlerin Etkisi	15
1.1.6 Konjenital Diş Eksikliğinin Tedavisi	16
1.2 Mutasyon ve Polimorfizm	18
1.2.1 Mutasyon, Tanımı ve Çeşitleri.....	18
1.2.2 Polimorfizm ve Tanımı.....	20
1.2.3 Genetik Polimorfizmlerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler	21
1.2.4 Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP: Single Nucleotide Polymorphism) ..	22
1.2.5 Kesim Parça Uzunluğu Polimorfizmleri “Restriction Fragment Length Polymorphisms” (RFLP)	22
1.3 Pax9 Geni	23
1.3.1 Pax9 Genin Tanımı.....	23
1.3.2 Pax9 Geninin Yapısı.....	23
1.3.3 Pax9 Geninin Fonksiyonu.....	24
1.4 Konjenital Diş Eksikliği ile Genetik Yapının İlişkisi	25
2. GEREÇ VE YÖNTEM	34
2.1 Hasta Seçimi ve Kontrol Gurubu	34
2.2 DNA İzolasyonu	35
2.2.1 İzolasyon için gerekli malzemeler.....	35
2.2.2 İzolasyon Basamakları.....	36
2.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	37
2.4 Jel elektroforezi.....	40
2.5 Restriksiyon Enzim Kesimi ve Genotipleme.....	41
2.6 İstatistiksel Analizer	42
3. BULGULAR	43
3.1 Birey Başına Düşen Konjenital Eksik Diş Miktarı	43
3.2 Dişlerde Konjenital Eksiklik Görülme Sıklığı.....	44
3.3 Tek ve Çift Taraflı Diş Eksikliği.....	48
3.4 Sağ ve Sol Tarafta Konjenital Diş Eksikliği.....	49
3.5 Konjenital Diş eksikliğinden Etkilenen Bireylerin Daimi Dentisyon Profili ve Genotipleri.....	50

3.6 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) - Restriksiyon Fragment Length Polymorphism (RFLP) Jel Elektroforez Görüntüsü	60
4. TARTIŞMA.....	67
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	75
6. ÖZET.....	77
7. SUMMARY.....	78
8. KAYNAKLAR	79
9. EKLER	84
EK-A Çalışmada Kullanılan Malzemelerin Listesi	84
10. ÖZGEÇMİŞ.....	86
11. TEŞEKKÜR	87

SİMGELER VE KISALTMALAR

G	Guanin
A	Adenin
T	Timin
C	Sitozin
OMIM	Online Mendelian Inheritance of Man
PCR	Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism = Restriksiyon parça uzunluklu polimorfizm
VNTR	Variable Number of Tandem Repeats = değişken ardışık tekrarlar
SSCP	Single Stranded Conformational Polimorphism = tek iplikçik yapısal çeşitlilik
ASO	Allel Spesifik Oligonükleotid
DNA	De-oksi ribo nükleik asit
SNP	Single Nucleotide Polymorphism = tek nükleotidli polimorfizm
FISH	Floresan in-situ hibridizasyon
TAE	Tris, Asetik asit ve EDTA
EDTA	Etilen Di-amino tetra asetik asit

RESİMLER

Sayfa

Resim 1-1 Çalışmamızdaki 11 dişi konjenital olarak eksik olan bir bireyin panoramik ragrafisi.....	3
Resim 1-2 Çeşitli mutasyon tipleri (Wikipedia 2009).....	20
Resim 1-3 Pax9 proteinin çift sarmal yapısı (Chi ve Epstein 2002).....	24
Resim 1-4 İnsan 14. kromozom şeması ve Pax9 geninin 14. kromozom üzerindeki konumu (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez)	25

ŞEKİLLER

Sayfa

Şekil 1-1 Konjenital diş eksikliği gözlenen hasta bireyin Pax9 geninin moleküler analizi (ok işareti Guanin insersiyonunu göstermektedir. Guanin girmesi sonucunda sağa 3' yönüne doğru gelişen çerçeve kayması mutasyonu (frameshift mutation) rahatlıkla izlenebilmektedir. Bunun ardından değişen protein aminoasit zincirleri de görülmektedir. (Stockton ve ark. 2000)	28
Şekil 2-1 Mikrosantrifüj cihazı.....	36
Şekil 2-2 202 bç'lik Pax9 Gen sekansının forward ve reverse dizilimleri ile G-1031A ve C-912T polimorfizm bölgelerinin olduğu baz çiftler.....	39
Şekil 2-3 PCR cihazı.....	40
Şekil 2-4 Kullanılan jel elektroforez sistemi.....	41
Şekil 2-5 U.V. İllüminatör cihazı.....	42
Şekil 3-1Sekiz farklı bireyden spesifik primerler kullanılarak elde edilen 202 bp PCR ürünün <i>BsnI</i> restriksiyon enzim ile kesimi sonucu oluşan genotipler. Kuyucuklar 1 – 3, 7, 8 (vakalar no: 297, 299, 301, 309, 311): GA heterozigot; Kuyucuklar 4 ve 6 (Vaka no: 302,304): GG genotip; Kuyucuk 5 (vaka no: 303): AA gentipi; Kuyucuk 9: 100 bp markır	61
Şekil 3-2 Sekiz farklı bireyden spesifik primerler kullanılarak elde edilen 202 bp PCR ürünün <i>TruI</i> restriksiyon enzim ile kesimi sonucu oluşan genotipler. Kuyucuk 2 (vaka no: 301): CT heterozigot; Kuyucuklar 1, 4 – 7; (Vaka no: 300, 304, 305, 306, 307): CC genotip; Kuyucuk 3, 8 (vaka no: 303, 308): TT gentipi; Kuyucuk 9: 100 bp markır	61

TABLolar

Sayfa

Tablo 1-1 Değişik toplumlardaki konjenital diş eksikliğinin görülme oranları	10
Tablo1-2 Konjenital diş eksikliğinin sendromik ve non-sendromik formları ve ilgili genler.....	15
Tablo 1-3 Pax9 Geninin ekzon ve intron koordinatları ve baz-çifti sayıları (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez).....	25
Tablo 1-4 Rapor edilen Pax9 mutasyonları ve açığa çıkan fenotipleri (Stockton ve ark. 2000, Nieminen ve ark. 2001, Das ve ark. 2002, Frazier-Bowers ve ark. 2002, Lammi ve ark. 2004).....	29
Tablo 1-5 Pan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada kullanılan primerler, enzimler ve ürünler ile alakalı bilgiler (Pan ve ark. 2008)	33
Tablo 2-1 DNA izolasyon kitinin içeriği	36
Tablo 2-2 Çalışmada kullanılan enzimler, enzim kesimi öncesi tanıma bölgeleri ve kesim sonrası durum	38
Tablo 3-1 Birey başına düşen konjenital eksik diş miktarı	43
Tablo 3-2 Konjenital diş eksikliği miktarına göre birey sayısı	44
Tablo 3-3 Dişlerde konjenital eksiklik görülme sıklığı	45
Tablo 3-4 Sağ sol ayrımı gözetilmeksizin dişlerde konjenital eksiklik görülme sıklığı	45
Tablo 3-5 Erkek bireylerin dişlerinde konjenital eksiklik görülme sıklığı	46
Tablo 3-6 Sağ sol ayrımı gözetilmeksizin erkek bireylerin dişlerinde konjenital eksiklik görülme sıklığı.....	46
Tablo 3-7 Kız bireylerin dişlerinde konjenital eksiklik görülme sıklığı.....	47
Tablo 3-8 Sağ sol ayrımı gözetilmeksizin kız bireylerin dişlerinde konjenital eksiklik görülme sıklığı.....	47
Tablo 3-9 Dişlere göre tek ve çift taraflı diş eksiklikleri	48
Tablo 3-10 Erkek bireylerin dişlerinde tek ve çift taraflı diş eksikliği.....	49
Tablo 3-11 Kız bireylerin dişlerinde tek ve çift taraflı diş eksikliği.....	49
Tablo 3-12 Sağ ve Sol tarafta cinsiyetlere göre diş eksiklikleri.....	50
Tablo 3-13 Konjenital Diş eksikliğinden Etkilenen Bireylerin Daimi Dentisyon Profili ve Genotipleri	51
Tablo 3-14 Kontrol ve test gruplarında Pax9, allel ve genotip dağılımı.....	59
Tablo 3-15 Kontrol ve test gurubunda Pax9 Geninin Haplotip Frekansı	60
Tablo 3-16 Pax9 promotor bölgesindeki test edilen G-1031A ve T-912C polimorfizm bölgelerinin genotiplerinin tüm varyasyonlarıyla çeşitli konjenital diş eksikliği görülen diş gruplarının karşılaştırması.....	65
Tablo 3-17 G-1031A bölgesindeki polimorfizmin eksik dişlerle olan ilişkisi.....	66
Tablo 3-18 C-912T bölgesindeki polimorfizmin eksik dişlerle olan ilişkisi	66

GRAFİKLER

	Sayfa
Grafik 1-1943 ile 2007 yılları arasında konjenital diş eksikliğine sahip bireylerin prevalansı (Tablo 1.1)	9

1. GİRİŞ

Diş hekimliğinde konjenital (doğumsal) diş eksikliği olguları çok sık karşılaşılan bir anomali çeşididir. Araştırmacılar bu diş eksikliği oluşumunun görülme sıklığını % 0,027 (Byrd 1943) ile % 11,3 (O'Dowling ve McNamara 1990, Fekonja 2005) olarak bildirmektedirler. Bu olgularda hastaların süt veya sürekli dişlenmelerinde eksiklikler görülmektedir. En fazla konjenital diş eksikliği görülen dişler yirmi yaş dişleridir. Bu dişlerin eksik olma oranı %15-20'dir (Symons ve ark. 1993, Gelgör ve ark. 2005).

Konjenital diş anomalileri gelişim döneminde dişin veya tümüyle embriyonun herhangi bir nedenle zarar görmesi sonucu gelişebildikleri gibi gen veya kromozom bozukluklarına bağlı olarak da ortaya çıkabilirler (Koray 1987).

Konjenital diş eksikliği anomalileri herhangi bir klinik belirti vermeden yıllarca kalabildikleri gibi çürük ve dişeti hastalıklarının seyrini de etkileyebilirler. Ayrıca estetik, fonksiyon ve fonasyon kavramları açısından da önemli sorunlar meydana getirebilirler. Bu nedenle konjenital diş anomalileri tedavi planlamasını doğrudan etkileyen önemli bir faktördür (Koray 1987).

Bu tür bir dişlenme düzensizliği görüldüğünde, yapılacak tedavi seçenekleri arasında ortodontik yer kapatma, ortodontik yer açma sonrası protetik tedavi, implantoloji ve konservatif tedavi yaklaşımları ve multidisipliner yaklaşımlar yer almaktadır. Ancak bu hastalığın etiyolojik temellerine inilmesi ve bu nedensel faktörlerin giderilmesi yöntemiyle dişlenme düzensizliklerinin oluşumunun engellenmesi, her yönüyle daha koruyucu bir yaklaşım olacaktır (Ovari ve ark. 2007).

Konjenital diş eksikliğinin etiyolojisi oldukça karışık olmasına ve halen tam olarak bilinmemesine rağmen genel olarak genetik ve çevresel faktörlerle tarif edilmiştir (Shimizu ve Maeda 2009). Konjenital diş eksikliğine sebebiyet veren çevresel faktörler olarak başlıca gelişimsel anomaliler, endokrin bezi hastalıkları, oral kökenli patolojiler, baş-boyun bölgesi travması, medikal tedaviler, erken yaşta alınan radyoterapi, yüksek ateş, hamilelik esnasında yanlış beslenme, rubella, sifiliz gibi hastalıklar olduğu bildirilmiştir (Book 1950, Brook 1984, Stimson ve ark. 1997, Larmour ve ark. 2005).

Genetik olarak sendromik ve non-sendromik tipleri ile karşılaşılmaktadır. Down sendromunda (Kumasaka ve ark. 1997), X'e bağılı kalıtılan yada otozomal dominant veya resesif olarak kalıtılan hipohidrotik ektodermal displazi (HED) sendromunda (Monreal ve ark. 1999), Witkop sendromunda, Rieger sendromunda ve bunun gibi 60 çeşit sendromda (Online Mendelian Inheritance in Man 2009) konjenital diş eksikliğine rastlamak mümkündür. Non-sendromik veya ailesel konjenital diş eksikliği vakalarından ise son yapılan araştırmalara göre Msx1, Pax9 ve Axin2 genlerinde meydana gelen polimorfizmlerin sorumlu olduğu bildirilmektedir (Vastardis ve ark. 1996, Frazier-Bowers ve ark. 2002, Lammi ve ark. 2004).

Pax 9 geninin keşfi ile konjenital diş eksikliğinin bilinmeyen moleküler genetik alt yapısı üzerine bir ışık tutulmuştur. 14. kromozom üzerinde bulunan bu gen embriyo döneminde faregeal keselerin taslaklık yaptığı oluşumların gelişimini sağlayan bir transkripsiyon faktörü kodlamakla görevlidir. Pax 9 geninde mutasyon bulunan farelerde kraniyofasiyal anomalilere, el-ayak gibi uzuv anomalilerine ve ayrıca tomurcuk safhasını geçemeyen diş oluşum bozukluklarına rastlanılmıştır. Pax 9 geninde çerçeve kayması mutasyonu (frameshift mutation) bulunan bir aile incelenmiş ve bireylerde normal süt dişlerinin sağlıklı bir biçimde ağızda olduğu ancak daimi birinci büyük azı dişlerin her iki çenede de görülmediği saptanmıştır. İnceleme sonucunda da özelliğin dominant bir karakterle kalıtıldığı belirlenmiştir (Peters ve ark. 1998).

Dişlerde görülen doğumsal anomaliler yönüyle bireyler açısından farklılıklar olabildiği gibi toplumlar arasında da karakteristik olarak farklılıklar oluşabilmektedir (Schulze 1970). Bu nedenle Türk toplumunda da konjenital diş anomalilerine değişik genetik varyasyonlarla rastlanması olasıdır.

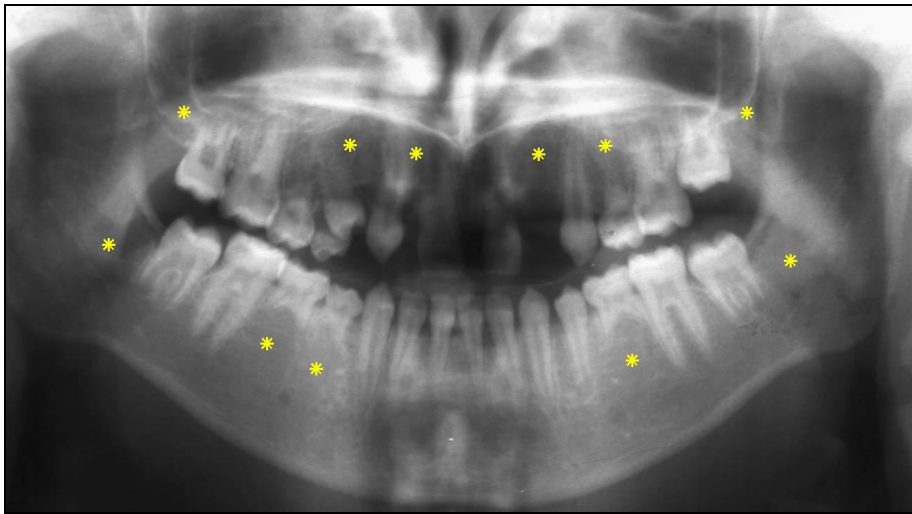
Bu genetik bozukluklar ve varyasyonları yapılacak çalışmalar ile ortaya çıkarılabilecektir. Böylece toplumumuzda da sıkça görülen bu dişsel anomalinin genetik alt yapısının Pax9 genindeki değişimlerle alakasının olup olmadığı ve eğer varsa bu ilişkinin boyutu gözlemlenecek, genetik etiyolojik faktörlerden olduğu belirtilen PAX9 genindeki değişimlerin konjenital diş eksikliği ile olan ilişkisi ışığ altında yeni çalışmalara yön verilebilecektir.

Yukarda da bahsedildiği üzere son yıllarda yapılan çalışmalarda bu anomalinin genetik temelli bir düzensizlik olduğu bildirilmiştir. Ancak toplumumuzda sık görülen bu olgunun genetik yapısını inceleyen bir araştırma planlaması halen bulunmamaktadır. Bu çalışmamızın amacı, Pax 9 geninin promotor bölgesindeki G-1031A ve T-912C polimorfizmleri ile konjenital diş eksikliği (hipodonti ve oligodonti) ilişkisinin Türk toplumunda incelenmesidir.

1.1 Konjenital Diş Eksikliği

1.1.1 Konjenital Diş Eksikliğinin Tanımı

Konjenital Diş Eksikliği anomalisi, insanoğlunda hem süt hem de sürekli dişlenmede diş sayısını ilgilendiren ve en sık görülen polimorfik olgulardan biridir (Book 1950). Konjenital diş eksikliği bir veya daha çok sayıdaki diş germinin hiç gelişmemesidir (Resim 1). Az sayıdaki diş eksikliği (tek diş eksikliği ile beş diş eksikliği arası) “Hipodonti”, altı veya daha fazla sayıdaki diş eksikliği olgularına “Oligodonti”, ağızda daimi dişlerden hiçbirinin olmamasına ise “Anadonti” adı verilir (Nunn ve ark. 2003). Nunn ve arkadaşlarının (2003) araştırmasında “Parsiyel Anadonti” terimi de her ne kadar kullanılıyor olsa da bunun yerine “Oligodonti” terimini kullanmanın daha uygun olduğu bildirilmektedir.



Resim 1-1 Çalışmamızdaki 11 dişi konjenital olarak eksik olan bir bireyin panoramik ragrafisi

1.1.2 Konjenital Diş Eksikliğinin Görülme Sıklığı

Brekhus ve arkadaşları (1944) yılında Minnesota Üniversitesi Diş Kliniği'ne gelen 11,487 hastanın kayıtlarını incelemişler ve toplam 184 hastada konjenital diş eksikliği bulmuşlardır (%1,6). Bu hastalardan 7'sinde 14 ile 19 adet diş eksikliği şeklinde ciddi oligodonti durumu gözlenmiştir. Üst yan keser eksikliği oranı %1 (124 adet), ikinci premolar eksikliği % 0,6 (71 adet), 3. molar eksikliği % 0,6 (75 adet) ve diğer eksik diş oranı da % 0,3 (40 adet) olarak bulunmuştur. Hastalardaki toplam diş eksikliği sayısı 644 olarak bulunmuş ve bunlardan 59'unun kama şekilli olduğu gözlemiştir. Birey başına düşen eksik diş sayısını 3,5 olarak belirlemişlerdir. Alt ve üst arkların sağ tarafı ile sol tarafı arasında diş eksikliği açısından herhangi bir fark bulunamamış ancak alt ön kesici dişlerin üst ön kesicilere nazaran daha sık konjenital diş eksikliğine maruz kaldığı belirlenmiştir. Üst yan keserlerin ise en sık konjenital eksikliğe maruz kalan dişler olduğunu belirlemişlerdir.

Muller ve arkadaşlarının (1970) yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde yaptığı bir çalışmada kendi kliniğine gelen hastalarda diş eksikliği görülme frekansını %3,49 olarak bulmuşlardır. Aynı zamanda en sık konjenital eksikliğe maruz kalan dişler olarak üst yan kesici dişleri göstermişlerdir. Üst çene ve alt çenede diş eksikliği görülebileme ihtimalini değerlendirmeye tabii tutmuşlar ve sonuç olarak da üst çenede alt çeneden daha fazla diş eksikliği görüldüğünü belirtmişlerdir.

Hunstadbraten (1973) yılında yaptığı araştırmada konjenital diş eksikliği prevalansını %10,1 olarak tespit etmiştir. Tek bir dişin konjenital eksik olma oranı bu araştırmacıya göre %44,2, bir veya iki dişin eksik olma oranı ise %75dir. Yazar alt ikinci küçük azı dişlerinin en sık eksik olan dişler olduğunu ileri sürmekte ve alt çenede üst çeneye nazaran daha fazla diş eksikliği görüldüğünü belirtmektedir.

Maklin ve arkadaşları (1979) Amerika Birleşik Devletleri'nde 847 çocuğun kayıtları ile yaptığı çalışmada konjenital diş eksikliği prevalansını % 7,44 olarak bulmuşlardır. Büyük azı dişlerin dahil edilmediği bu çalışmada toplam 119 dişin konjenital olarak eksik olduğu anlaşılmıştır. Cinsiyetler arasında ve vakaların tek taraflı veya çift taraflı olması yönüyle istatistiksel bir ayrım yapılmamıştır. En sık alt ikinci küçük azı dişi, sonra üst yan kesici dişler ve takiben üst ikinci küçük azı dişler

eksik olarak gözlemlenmiştir. Eksik dişlerin üst ya da alt çenede, tek taraflı ya da çift taraflı veya sağ çene ya da sol çenede olması yönüyle herhangi istatistiksel bir fark bulunamamıştır.

Silverman ve Ackerman (1979), 4032 çocuk hasta kayıtları üzerinde yaptıkları çalışmada konjenital diş eksikliği prevalansını % 4,34 olarak bulmuşlardır (175 kişide görülmüştür). Diş eksikliği görülen bu bireylerin %79,82'sinde sadece bir veya iki diş eksikliği söz konusudur. Üst çene ile alt çene arasında diş eksikliği görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak herhangi bir fark görülmemiştir. Çift taraflı diş eksikliği vakalarına tek taraflı diş eksikliği vakalarından daha fazla rastlanmakta olduğunu bildirmişlerdir.

Rolling (1980) , 9 ya da 10 yaşlarında üçüncü sınıfa giden 3325 okul öğrencisinin ortopantomografları üzerinde yaptığı bir prevalans araştırmasında, Danimarkalı çocukların konjenital diş eksikliği prevalansını % 7,4 olarak belirlemiştir. Diş eksikliğine sahip çocukların yarısında sadece tek diş eksikliği bulunurken % 85'inde ise bir ya da iki diş eksikliği gözlemlenmişlerdir. Alt çenede üst çeneden daha fazla diş eksikliğine rastlanmıştır. İkinci küçük azı dişleri % 67'lik eksik olma oranı ile diğer dişler arasında en sık konjenital eksikliğe maruz kalan diş olarak belirtilmiştir. İkinci küçük azıların simetrik eksikliği kızlarda erkeklere nazaran yaklaşık 2 kat fazla görülmekle birlikte erkeklerle kızlar arasında diş eksikliği görülme oranı açısından bir fark bulunamamıştır (erkekler % 7,7, kızlar % 7,8).

Davis'in (1987) Hong Kong'da 12 yaşındaki 1093 Çinli çocuğun panoramik filmleri ile yaptığı çalışmada, Çinli bireylerdeki konjenital diş eksikliği prevalansını %6,9 olarak belirlemiştir. Bayanlarda bu oran % 7,7, erkeklerde ise % 6,1 dir. Birey başına düşen eksik diş sayısının ise 1,5 olduğu tespit edilmiştir. En sık rastlanan eksik dişler % 58,7 oranı ile alt keser dişlerdir.

Nik-Hussein (1989), Malezya'da yaşları 5 ila 15 arasında olan çocuklarda yaptığı prevalans çalışmasında rastgele seçilmiş olan hastaların konjenital diş eksikliği prevalansının % 2,8 olduğunu bildirmiştir. Kızlarda diş eksikliği görülme oranı bu yazara göre % 61,5, erkeklerde ise % 38,5'tir. Çalışmada yazar en sık konjenital olarak eksik olan dişin üst yan kesici dişler olduğunu, bunu takiben alt yan kesici dişler ve ardından da alt ikinci küçük azı dişin gelmekte olduğunu bildirmiştir.

Göyenç (1990) hazırladığı doktora tez çalışmasında ilk defa Türk toplumunda konjenital diş eksikliği vakalarını ele almış, 34'ü kız, 21'i erkek olmak üzere konjenital diş eksikliğine sahip toplam 55 hastanın lateral sefalometrik ve ortopantomografik filmlerini değerlendirmiştir. Dişsel ve iskeletsel değerlendirmeleri yapabilmek amacı ile de toplam 54 bireyden kontrol gurubu oluşturmuştur. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre Türk toplumunda birey başına düşen diş eksikliği oranının % 2,265 olduğu, bireylerin büyük bir çoğunluğunda bir ya da iki diş eksikliğinin görüldüğü, en sık eksikliğe maruz kalan dişlerin sırasıyla üst yan keserler, alt ikinci küçük azılar ve üst ikinci küçük azılar olduğu, konjenital diş eksikliğinin daha çok çift taraflı görüldüğü belirlenmiş; konjenital diş eksikliğine sahip bireylerin geride kalan dişlerinin mezio-distal genişliklerinde azalma eğiliminin olduğu, konjenital diş eksikliğine sahip bireylerde başta üst çenenin sagittal yön boyutu olmak üzere diğer iskeletsel yapılarda da değişiklik olabileceği ortaya konmuştur.

Salama ve Abdul-mecid (1994), Suudi Arabistan'da yaşları 5 ile 10 arasında değişen 1300 çocuğu incelemiştir. Konjenital diş eksikliği prevalansını bu araştırmacılar % 2,6 olarak bulmuşlardır. Yazarlar en sık olarak konjenital eksikliğe maruz kalan dişlerin alt ikinci küçük azı dişler olduğunu bildirmektedirler (eksik dişlerin yaklaşık % 45'i).

Whittington ve arkadaşları (1996), Yeni Zelandalı çocukların panoramik filmleri üzerinde yaptığı araştırmada 1680 birey incelemesi yapmış ve sonuç olarak 6 çocukta (% 0,35) konjenital diş eksikliği anomalisine rastlamıştır. Eksikliğin kızlarda görülme oranı ile erkeklerde görülme oranı eşit çıkmış ve cinsiyetler arasında bir fark bulunmamıştır.

Mattheeuws arkadaşları (2004) bu konu hakkında 1935 yılından 2004 yılına kadar yapılan 42 adet araştırmayı incelemişler ve meta-analiz kriterlerine göre eleme yaparak 19 çalışmanın özetini yayınlamışlardır. Seçim kriterlerinde, incelenen bireylerin hepsinin beyaz ırk olması, üçüncü büyük azılar hariç sadece tüm daimi dişlenmeyi kapsamaması, konjenital eksikliğin klinik ve radyografik olarak teyit edilmesi, çalışması yapılan kişilerin ortodonti kliniklerine başvuran hastalar olmaması ve randomize seçilmiş olması, kişilerin en az 3 yaşında olması ve çalışması yapılan kişi sayısının en az 1000 adet olması şartı aranmıştır. Bu çalışmanın ortaya

koyduğu verilere göre konjenital diş eksikliği prevalansı % 0,027 (Byrd 1943) ile % 10,1 (Hunstadbraten 1973) arasında değişmektedir.

Polder ve arkadaşları (2004) bir meta-analiz çalışması yaparak konjenital diş eksikliğinin prevalansı ile alakalı bilgileri özetlemişlerdir. Bu analiz içinde kuzey Amerika beyaz ırktan bireyler, Avustralyalılar ve Avrupalılar yer almaktaydı. Afro-Amerikan bireylerin, Arapların ve Çinlilerin prevalans bilgileri, sınırlı sayıda araştırmalardan ötürü çok net olmayıp sadece yönlendirmelerden teşekkül etmiştir. Araştırma sonuçlarına göre diş eksikliği vakaları kıtadan kıtaya ve cinsiyetler arasında farklılıklar göstermektedir. Diş eksikliği prevalansı, her iki cinsiyet açısından Avrupa’da (% 4,6 erkek, % 6,3 bayan) ve Avustralya’da (% 5,5 erkek ve % 7,6 bayan), Kuzey Amerika beyazlarından (% 3,2 erkek ve % 4,6 bayan) daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bayanlardaki diş eksikliği vaka oranının, erkeklere nazaran 1,37 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. En sık etkilenen diş alt ikinci küçük azı dişi olup bunu sırasıyla üst yan kesici dişler ve üst ikinci küçük azı dişler izlemektedir. Bu araştırmacılar diş eksikliğini üç ana guruba ayırmışlardır; genelde sıkça görülen grup alt ikinci küçük azı dişleri > üst yan kesiciler > üst ikinci küçük azı dişleri, orta sıklıkla görülen grup alt ön kesiciler > alt yan kesiciler ve üst birinci küçük azı dişleri > üst köpek dişi ve alt ikinci büyük azı dişleri ve seyrek görülen grup üst ikinci büyük azı dişleri ve üst birinci büyük azı dişleri > alt köpek dişi > alt birinci büyük azı ve üst ön kesici dişler. Tek taraflı diş eksikliği, çift taraflı eksikliğe nazaran daha fazla görülmekte olduğu belirtilmiş ancak üst yan kesici dişlerin çift taraflı eksikliği, tek taraflı eksikliğe nazaran daha fazla olduğu bulgusu da dile getirilmiştir. Üst çene ile alt çene arasında pek fark bulunmamakla birlikte eksik dişlerin tipi göz önüne alındığında çeneler arasında önemli derecede fark tespit edilmiştir. Eksiklik bulunan vakaların % 83’ünde bir ya da iki diş eksikliği söz konusu olduğu belirtilmektedir.

Gelgör ve arkadaşlarının (2005) yaptığı bir araştırmada 1086 hastanın (375 erkek, 711 kız) tedavi öncesi ortopantomografileri ve çalışma modelleri incelenmiş ve konjenital hipodontinin görülme sıklığına bakılmıştır. Çalışma sonucuna göre üçüncü büyük azı dişler hariç erkeklerde ve bayanlarda sırasıyla en sık oranda eksiklik görülen dişlerin alt ikinci küçük azılar (% 1,6 ve % 2), üst yan kesici dişler (% 1,1 ve % 1,5), sol alt birinci büyük azı dişleri (% 1,3 ve % 1,4), alt ön keserler (% 0 ve % 1,7) olduğu bulunmuştur.

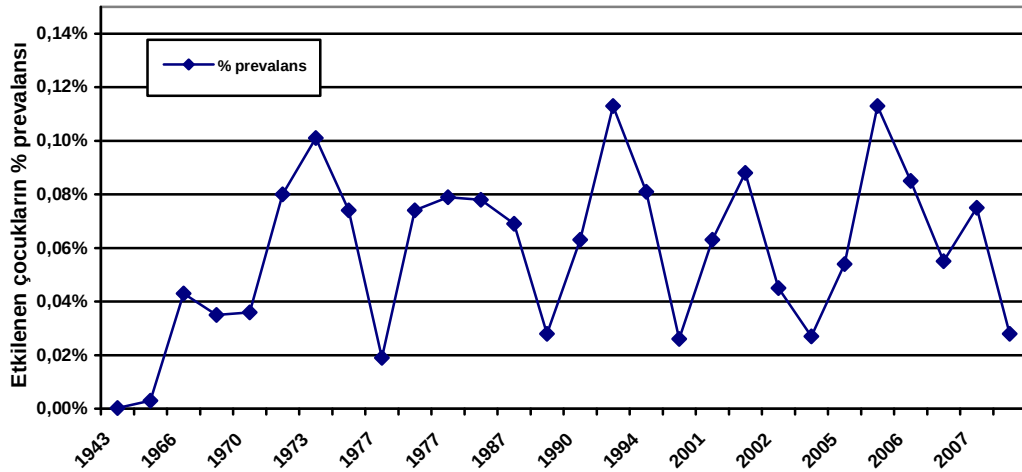
Endo ve arkadaşları (2006) Japonya’da yaşları 5 ila 15 arasında değişen 3358 bireyin panoramik film kayıtlarını incelemişler ve bulgularını paylaşmışlardır. Çalışmalarına 3. büyük azı dişlerini dahil etmemişlerdir. Konjenital diş eksikliği vakalarının Japon toplumundaki prevalansı bu çalışmaya göre % 8,5 olarak bulunmuştur. Erkeklerde bu oran % 7,5 iken bayanlarda ise % 9,3 olarak belirlenmiştir. Kişi başına düşen ortalama diş eksikliği sayısının 2,4 olduğu bildirilmiştir. Dişleri doğuştan eksik olan hastaların çoğunda (% 76,3) 1 ya da 2 diş eksikliğine rastlanmaktadır. Daha ileri hipodonti vaka sayısının prevalansı ise % 10,1 olarak bulunmuştur. En çok görülen eksik dişlerin başında sırasıyla alt ikinci küçük azı dişleri, üst yan kesici dişler, alt yan kesici dişler ve üst ikinci küçük azı dişleri gelmekte olduğu belirtilmiştir. Eksikliklerin genellikle simetrik olarak görülmekte olduğu ve en sık olarak görülen simetrik konjenital diş eksikliğinin ise alt ikinci küçük azı dişinin eksikliği olduğu bildirilmiştir.

Tunç ve Koyutürk (2006) Karadeniz bölgesine özel yaptıkları bir taramada 6 - 12 yaşlar arasındaki 981 çocuk hastanın panoramik radyografilerini inceleyerek konjenital daimi diş eksikliğini değerlendirmişlerdir. Araştırma sonucuna göre konjenital daimi diş eksikliği prevalansı % 8,5 olarak bulunmuştur. Kızlarda bu oran % 9,5 iken erkeklerde % 7,7 idi. Ayrıca cinsiyete göre istatistiksel bir fark da gözlenmemiştir. En sık eksikliğe maruz kalan dişler sırası ile alt ikinci küçük azı, üst yan kesici ve üst ikinci küçük azı dişleridir. Diş eksikliğinin sıklıkla simetrik olarak görüldüğü ve en sık simetrik olarak eksikliği görülen dişlerin ise alt ikinci küçük azılar olduğu tespit edilmiştir.

Şişman ve arkadaşları (2007) 2413 ortodontik hasta arşiv kaydı üzerinde tarama yapmışlar ve bu kayıtlardan yola çıkarak Türk ortodonti hastalarında cinsiyete, eksiklik bölgelerine, spesifik eksikliklere ve dağılıma göre konjenital diş eksikliği durumunu incelemişlerdir. Bulgulara göre Türklerde konjenital diş eksikliği görülme sıklığı %7,54’tür. Erkeklerde %6,54, kızlarda ise %8,09 olarak bulunmuştur. Üst çenede alt çeneye nazaran daha fazla diş eksikliği görülme oranı tespit edilmiştir. Çenelerin sağında ve solunda görülme sıklığı olarak bir eşitlik söz konusudur. En sık eksikliğe maruz kalan dişler sırasıyla üst yan kesici dişler, alt ikinci küçük azılar ve üst ikinci küçük azılardır. Hastaların çoğunda 1 ya da 2 diş eksikliği mevcudiyeti söz konusudur. Üç ya da daha fazla eksiklik görülme durumunun çok nadir olduğu belirtilmiştir.

Altuğ-Atac ve arkadaşları (2007) 3043 Türk hastada yaptıkları araştırmada füzyon, geminasyon, mikrodonti, makrodonti, oligodonti, hipodonti, hiperdonti ve amelogenesis imperfekta hastalıklarının görülme sıklığı ve dağılımlarını incelemişlerdir. Sonuç olarak, 3043 hastanın 166'sında gelişimsel diş anomalisine rastlanmıştır. Bu 166 hastanın 29 erkek ve 51 bayan olmak üzere toplam 80'inde en az 1 adet konjenital diş eksikliği tespit edilmiştir. Sonuç olarak Türklerde konjenital diş eksikliği prevalansının % 2,63 olduğu bulunmuştur.

Rozsa ve arkadaşları da (2009) Budapeşte'de yaptıkları bir çalışmada köpek dişinin konjenital eksikliğini incelemişlerdir. 4417 hasta kaydını incelemiş ve panoramik filmler vasıtasıyla köpek dişinin eksik olduğu vakaları tespit etmişlerdir. Yaşları 6 ile 18 arasında değişen bu hasta grubunda konjenital köpek dişi eksikliği sadece 13 bireyde bulunmuştur. Yazar sonuç olarak o toplumun konjenital köpek dişi eksikliği prevalansının % 0,29 olduğu bildirmektedir. % 0,27 oranında üst çenede, % 0,09 oranında ise alt çenede köpek dişi eksikliği görülmekte olduğu bildirilmiştir.



Grafik 1-1943 ile 2007 yılları arasında konjenital diş eksikliğine sahip bireylerin prevalansı (Tablo 1.1)

1943 yılı ile 2007 yılı arasında konjenital diş eksikliği prevalansı çalışması yapan yazarların elde ettiği sonuçların yıllara göre değişimi Grafik 1'de özet olarak gösterilmiştir. Tablo 1'de Grafik 1'in açıklaması yapılmıştır.

Tablo 1-1 Değişik toplumlardaki konjenital diş eksikliğinin görülme oranları

Yazar	Literatür	Yıl	Ülke	Örnek sayısı	Prevelans
Muller ve ark.	(Muller ve ark. 1970)	1970	ABD beyaz ırk	13,459	% 3,5
Muller ve ark.	(Muller ve ark. 1970)	1970	ABD siyah ırk	1,481	% 3,6
Tavajohi-Kermani ve ark.	(Tavajohi-Kermani ve ark. 2002)	2002	ABD	1,016	% 8,8
Sterzik G ve ark.	(Sterzik ve ark. 1994)	1994	Almanya	3,238	% 8,1
Lynham A.	(Lynham 1990)	1990	Avustralya	662	% 6,3
Davis PJ	(Davis 1987)	1987	Çin	1,093	% 6,9
Rolling	(Rolling 1980)	1980	Danimarka	1,529	% 7,8
Haavikko K.	(Haavikko 1971)	1971	Finlandiya	1,041	% 8,0
Bot PL ve Salmon D	(Bot ve Salmon 1977)	1977	Fransa	5,738	% 1,9
Rose JS	(Rose 1966)	1966	İngiltere	6,000	% 4,3
O'Dowling ve McNamara	(O'Dowling ve McNamara 1990)	1990	İrlanda	3,056	% 11,3
Rosenzweig, Gabarski	(Rosenzweig ve Garbarski 1965)	1965	İsrail	-	% 0,3
Goren S	(Goren ve ark. 2005)	2005	İsrail	280	% 5,4
Bergström	(Bergstrom 1977)	1977	İsveç	2,589	% 7,4
Magnusson TE	(Magnusson 1977)	1977	İzlanda	1,116	% 7,9
Endo ve ark.	(Endo ve ark. 2006)	2006	Japonya	3,358	% 8,5
Thompson ve Popovich	(Thompson ve Popovich 1974)	1974	Kanada	1,191	% 7,4
Ng'ang'a RN ve Ng'ang'a	(Ng'ang'a ve Ng'ang'a 2001)	2001	Kenya	615	% 6,3
Silva Meza R.	(Silva Meza 2003)	2003	Meksika	668	% 2,7
Nordgarden ve ark.	(Nordgarden ve ark. 2002)	2002	Norveç	9,532	% 4,5
Fekonja A.	(Fekonja 2005)	2005	Slovenya	212	% 11,3
Salama	(Salama ve Abdel-Megid 1994)	1994	Suudi Arabistan	1,300	% 2,6
Sisman ve Uysal ve ark.	(Sisman ve ark. 2007)	2007	Türkiye	2,413	% 7,5
Altug-Ataç ve ark.	(Altug-Atac ve Erdem 2007)	2007	Türkiye	3,043	% 2,8
Albashaireh ve Khader	(Albashaireh ve Khader 2006)	2006	Ürdün	1,005	% 5,5
Nik-Hussein NN.	(Nik-Hussein 1989)	1989	Malezya	1,583	% 2,8
Hunstadbraten	(Hunstadbraten 1973)	1973	ABD	1,295	% 10,1
Byrd	(Byrd 1943)	1943	ABD	2,835	% 0,027

Önceki paragraflarda bahsi geçen değişik toplumlara özgü konjenital diş eksikliği prevalans değerleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Buna göre elde edilen kaynaklara dayanarak konjenital diş eksikliği anomalisinin prevalans değeri en düşük % 0,027 (Byrd 1943) ile Amerika Birleşik Devletlerinde ve en yüksek % 11,3

(O'Dowling ve McNamara 1990, Fekonja 2005) ile İrlanda ve Slovenya'da görüldüğü saptanmıştır.

1.1.3 Konjenital Diş Eksikliğinin Etiyolojisi

Konjenital diş eksikliğinin etiyolojisi ile alakalı literatürde oldukça çeşitli bilgi bulunmaktadır. Geçmişten günümüze gelinceye kadar eksikliğin nedenleri değişik vakalar ve değişik araştırmalar vasıtasıyla masaya yatırılmıştır.

Brekhus ve arkadaşları (1944) konjenital diş eksikliğinin etiyolojisini açıklarken bu konu ile alakalı birçok teorinin o zamanlarda da ortaya atıldığını belirtmiştir. Bir araştırmacı konjenital diş eksikliğinin etiyolojisinin konjenital sifiliz olduğu fikrini öne sürmüştü ancak bu teori sifiliz hastası olmayan bireylerin de konjenital diş eksikliğine maruz kaldığı gerçeğinden yola çıkarak Brekhus ve arkadaşları tarafından çürütülmüştür. Brekhus ayrıca bazı araştırmacıların konjenital diş eksikliğinin evrimin bir parçası olduğunu ve eksik olan dişlerin kullanılmadıkları için doğal seleksiyon ile yok olduklarını açıkladığını ancak bu teorinin de ikinci küçük azı dişi gibi çiğneme esnasında son derece işe yarayan bir dişin eksikliğini açıklamakta güçlük çekeceğini belirtmiştir. Yazar, bunun yanında ikinci küçük azı dişinin konjenital olarak eksik olduğu yerde neden birinci küçük azı, ikinci büyük azı ve birinci büyük azı dişlerinin eksik olduğunu açıklayan böyle bir teori ile fonksiyon ve kullanılmama arasında bir ilişki kurmanın gerçekten de çok zor olduğunu söylemektedir. Çok nadir durumlarda köpek dişlerinin de konjenital olarak eksik olduğu gözlenmekte ve bu dişlerin anatomik olarak insanda en mükemmel gelişen dişler olduğu vurgulanarak diş eksikliğinin bu tarzda evrimsel bir yaklaşımla açıklanamayacağını bildirmiştir.

Montagu (1940) üst yan kesici dişlerin eksikliğinin etiyolojisinde bunların üst çene kemikleri ile üst premaksillar kemiklerin tam birleşme yerinde oldukları gerçeği yatmakta ve bu kemik füzyonu sırasında üst yan kesici dişlerin germelerinin zarar gördüğü vurgulanmaktadır. Ancak Brekhus ve arkadaşları (1944), bu teoriyi de doğru bulmamış ve alt ikinci premolar dişlerin böyle bir kemik birleşme bölgesinde olmadığı halde eksik olduğu gerçeği ile bu hipotezin geçerli olmadığını vurgulamıştır. Thadani (1921) ve Wheelon (1925) gibi bazı araştırmacılar, konjenital diş eksikliğinin sebebini endokrin sistem bozuklukları ve erkek üreme organ bozuklukları ile alakalı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak birçok çocuğu olan

bireylerin bile diş eksikliğine sahip olduğu gerçeği ile Brekhus ve arkadaşları (1944) bu teoriyi de geçersiz bulmuşlardır.

Downs (1927), mental geriliği olan hastaların normale oranla daha fazla diş eksikliğine maruz kaldığını ileri sürdüğü çalışmasında normal olan insanlarda en fazla %17 oranında görülen diş eksikliği, mental bozukluğu olan hastalarda %50 oranında görüldüğünü belirtmiştir. Ancak makalenin sonunda Downs dişsel anomalilerin herhangi bir endokrin sistem bozukluğuna özgü olarak değerlendirmenin yanlış olacağını vurgulamıştır.

Book (1950) konjenital küçük azı diş eksikliğine (P), erken beyazlayan saçlara (C) ve Hiperhidrozis hastalığına sahip bir bireyin akrabalarını incelemiş ve sonuçlar doğrultusunda “PHC Sendromu” adını verdiği bir sendrom ortaya koymuştur. Elde ettiği veriler doğrultusunda bu sendromun otozomal dominant bir gen tarafından taşındığını ileri sürmüştür. 18 hastayı klinik olarak incelemiş ve hastaların %50 sinde küçük azı dişlerinin hiçbirinin oluşmadığını, diğer %50’inde ise 1 ile 7 küçük azı dişinin eksik olduğunu gözlemlemiştir. Bu hastaların 12’sinde de ayrıca hiperhidrozis hastalığı tespit edilmiştir. Buradan yola çıkarak konjenital diş eksikliğini genetik temellere dayanan bir hastalık olarak değerlendirmiştir.

Nunn ve arkadaşları (2003), bir dişin konjenital olarak eksik olmasının, şu dört maddenin gelişmesi sonucu olduğunu bildirmişlerdir;

- Dental laminanın fiziksel ve çevresel etkenlerle sıkışması veya parçalanması
- Yer eksikliği
- Dental epitelin fonksiyonel anormallikleri
- Altta bulunan mezenşim hücre proliferasyonunun gerçekleşememesi ya da başlayamaması

Bu hadiselerin nasıl gerçekleştiği sorusunun cevabı hala çelişkili olmasına karşın Nunn ve arkadaşlarına (2003) göre konjenital eksik dişlerin nedeni genel ve lokal faktörler olmak üzere iki başlıkta incelenmelidir. Genel faktörler olarak genetik nedenler vasıtasıyla veya sendromlar ile birlikte görülen diş eksikliğinin etiyojisi kastedilmekte, lokal faktörler olarak da diş germelerinin erken zamanda radyasyona maruz kalması, hormonal ve metabolik etkenler, travma, osteomyelit ve süt dişinin çekimi sırasında yanlışlıkla sürekli diş germinin de çekimine işaret edilmektedir.

Arte ve arkadaşları (1996) da konjenital diş eksikliği vakalarının otozomal dominant geçişli genetik temellere dayanan bir durum olduğunu belirtmişlerdir. Sistemik herhangi bir hastalığı olmayan hastalarda durumu açıklamanın yolu olarak genetik faktörler devreye sokulmaktadır. Kalıtım ve konjenital diş eksikliğine en güzel örneklerinden biri de “kama şekilli” yan kesici dişler ve “tamamlanmamış penetrasyon” dur.

1.1.4 Konjenital Diş Eksikliğinin Genetik Kökeni

Nonsendromik ya da Kalıtsal Diş Eksikliği

Shimizu (2009) ailesel diş eksikliğinin sendromik diş eksikliğinden daha sık görüldüğünü belirtir. Bu durum otozomal dominant olarak (Arte ve ark. 1996, Goldenberg ve ark. 2000, Vastardis 2000), otozomal resesif olarak (Ahmad ve ark. 1998) ya da X’e bağlı olarak (Erpenstein ve Pfeiffer 1967) çok değişken ekspresyon ve penetrasyon modelleriyle kalıtılabilir. Son zamanlarda gen hedefli fare çalışmaları sayesinde konjenital diş eksikliği ile genetik bilimi arasındaki ilişki aydınlanmaktadır.

Msx1 (Muscle segment homeobox 1) geni defektli olan farelerde yapılan araştırmalar sonucunda sekonder damak yarığı, alt ve üst çene alveol kemiğinde yapı bozuklukları ve diş gelişiminde aksaklıklar tespit edilmiştir (Satokata ve Maas 1994). Böylece Msx1 geninin baş-boyun kemiklerinin ve dişlerin gelişimi sırasında epitelyal ve mezenşimal dokuların etkileşimlerini sağlamada ne kadar büyük bir öneme sahip olduğu anlaşılmaktadır (Shimizu ve Maeda 2009). İnsanlarda otozomal dominant karaktere sahip diş eksikliği görülen bir ailede genetik bağlantı analizi yapılmış ve Msx1 geninde mutasyon tespit edilmiştir (Hu ve ark. 1998, De Muynck ve ark. 2004). Bu gendeki mutasyonlar baskın olarak ikinci küçük azıları ve üçüncü büyük azı dişlerini etkilemekte bazen de diğer dişlerle (özellikle birinci büyük azı dişleri) birlikte eksikliğe sebep olmaktadır (Shimizu ve Maeda 2009).

Fareler üzerinde genler bozularak yapılan araştırmalarda (gene knocked out experiment) Pax9 (paired box 9) geninin çeşitli organların ve iskeletsel yapıların gelişimi için önemli ve dental mezenşimin diş tomurcuk epitelinin çevresinde yoğunlaşması için gerekli bir gen olduğu bildirilmiştir (Peters ve ark. 1998). Pax9 geni deforme olan farenin diş gelişim evresi tomurcuk safhasında durmaktadır ve bu bağlamda Pax9’un Msx1’in, Bmp4’ün (bone morphogenetic protein 4) ve Lef1’in

(Lymphoid enhancer binding factor 1) mezenkimal ekspresyonu için gerekli olduğu sonucuna varılmıştır (Peters ve ark. 1998). İnsanda Pax9 genindeki mutasyonlar genellikle arka grup dişleri kapsayan ailesel diş eksikliği ile alakalıdır. Bunun en geniş açıklamasını Stockton ve arkadaşları yapmış, Pax9 geninin çift sarmal bölgesine tek bir baz girmesiyle oluşan çerçeve kayması mutasyonu oluşan bir aile incelemişler ve arka grup dişlerin hemen hepsinin konjenital eksik olduğunu tespit etmişlerdir (Stockton ve ark. 2000).

Otozomal dominant karakterli oligodontiye rastlanan Finli bir ailede yapılan genetik bağlantı ve mutasyonel analizler sonucunda ortaya çıkan ve AXIN2 (Axis inhibition protein 2) adı verilen; kolorektal kanserden sorumlu olduğu bilinen bir gen de tespit edilmiştir (Lammi ve ark. 2004). Mostowska ve arkadaşları (2003) da yaptığı araştırmalar sonunda bu genin konjenital diş eksikliğine sebep olan bir gen adayı olduğunu bildirmiştir.

Sendromlar ve sistemik hastalıklarla ilgili olan diş eksikliği

Konjenital diş eksikliği, sadece dişleri ilgilendiren hastalıkların olmayıp, ektodermden gelişen diğer yapıları da içine alan sendromların primer bir göstergesi durumundadır (Shimizu ve Maeda 2009). OMIM (Online Mendelian Inheritance of Man) diye adlandırılan internet veri tabanlı kaynakta bilinen tüm insan genetik bozukluklarını içeren bilgi, literatürde konuyla ilgili yer almış yayınlara ve bu hastalıkla ilişkili görünen tüm bilinen genleri içeren veritabanlarına otomatik link verecek biçimde yer almaktadır. OMIM listesinde anomalilerin fenotipik göstergesinde konjenital diş eksikliği bulunan 60'tan fazla genetik sendrom yer almaktadır (Online Mendelian Inheritance in Man 2009). Bu hastalıklarla alakalı birçok aday gen bu site sayesinde derlenmiştir. Konjenital diş eksikliğine eşlik eden bazı sendromik hastalıklar ve bu hastalıkların genetik etiyolojisini oluşturan ilgili genlerden bazıları; Down sendromu (Trizomi 21), X'e bağlı kalıtılan Hipohidrotik ektodermal displazi (Eda), otozomal dominant ya da otozomal resesif geçişli hipohidrotik ektodermal displazi (Edar), immün yetmezlik ile görülen hipohidrotik ektodermal displazi (Nemo), incontinentia pigmenti (Nemo), Witkop sendromu (Msx1), Rieger sendromu tip 1 (Pitx2), EEC3 sendromu (p63), AEC sendromu (p63), ADULT sendromu (p63), LMS sendromu (p63), Holoprosensefali 3 (Shh), Van der Woude sendromu (Irf6) dur. Non-sendromik diş eksikliği genlerine örnek olarak Msx1, Pax9 ve Axin2 genlerini verebiliriz (Tablo 1.2).

Shimizu (2009), son yıllarda yapılan genetik bazlı çalışmalar ışığında insanlarda görülen sendromik ve non-sendromik konjenital diş eksikliği ile sorumlu birçok gen tespit edildiğini ancak en sık karşılaşılan diş eksikliği çeşitleri olan üçüncü büyük azı ve yan keser-küçük azı eksikliğinin nedenlerinin halen bulunamadığını belirtmiştir. PAX9 promotor bölgesi ile alakalı polimorfizm çalışmasının yapıldığını ve belkide diğer genlerin promotor bölge polimorfizmlerinin bu tip eksikliklerin etiyolojileri ile alakalı olabileceğini bildirmiştir.

Tablo1-2 Konjenital diş eksikliğinin sendromik ve non-sendromik formları ve ilgili genler

Konjenital diş eksikliği Tipi	İlgili genler	İlgili Yayınlar
Sendromik		
Down Sendromu	Trizomi 21	(Kumasaka ve ark. 1997)
X'e bağlı HED	<i>Eda</i>	(Kere ve ark. 1996)
Atozomal dominant veya resesif HED	<i>Edar</i>	(Monreal ve ark. 1999)
	<i>Edaradd</i>	(Headon ve ark. 2001)
İmmün yetmezlikle görülen HED	<i>Nemo</i>	(Zonana ve ark. 2000)
İncontentia pigmenti	<i>Nemo</i>	(Zonana ve ark. 2000)
Witkop sendromu	<i>Msx1</i>	(Jumlongras ve ark. 2001)
Rieger sendromu (tip1)	<i>Pitx2</i>	(Semina ve ark. 1996)
EEC3 sendromu	<i>P63</i>	(van Bokhoven ve ark. 2001)
AEC sendromu	<i>P63</i>	(McGrath ve ark. 2001)
ADULT sendromu	<i>P63</i>	(Amiel ve ark. 2001)
LMS	<i>P63</i>	(Propping ve ark. 2000)
Holoprosencephaly	<i>Shh</i>	(Belloni ve ark. 1996)
Van der Woude sendromu	<i>Irf6</i>	(Wang ve ark. 2000)
Non-sendromik		
	<i>Msx1</i>	(Vastardis ve ark. 1996)
	<i>Pax9</i>	(Frazier-Bowers ve ark. 2002)
	<i>Axin2</i>	(Lammi ve ark. 2004)

HED: Hipohidrotik ektodermal displazi; EEC: Ektrodaktili, ektodermal displazi, dudak damak yarığı; AEC: Ankiloblefaron - ektodermal bozukluklar-dudak damak yarığı; ADULT: Akro-dermato-ungula-lakrimal-tooth; LMS: Limb Mamary Sendromu

1.1.5 Konjenital Diş Eksikliğine Çevresel Faktörlerin Etkisi

Bu konu hakkında yapılmış çok az sayıda çalışma vardır. İnsanlarda diş sayısındaki azalma üzerine kalıtımın ve çevresel faktörlerin etkileri, kuzey Amerika'daki dindar izole bir popülasyonda % 36,5 oranıyla işaret edilmiştir (Mahaney ve ark. 1990). Gelişimsel anomaliler, endokrin bezi hastalıkları, patoloji, baş-boyun travması ve medikal tedaviler gibi lokal faktörler de çevresel etiyolojik

faktörler arasına girmektedir (Brook 1984). Sinir dokusu, oral mukoza, desteklik yapan dokular ve sert dokular arasında gelişimsel bir ilişki olduğu öne sürülmüştür (Kjaer ve ark. 1994).

Larmour ve arkadaşları (2005) da çevresel faktörlerin enfeksiyon, ilaçlar ve radyasyon olduğunu söylemişlerdir. Stimson ve arkadaşları (1997) ise diş oluşumu esnasında bu süreci önleyecek birçok çevresel faktör olduğunu bildirmiş ve bu faktörlerden başlıcalarının yüksek ateş, hormonal bozukluklar, hamilelik sırasında yanlış beslenme, rubella, sifiliz, radyoterapi ve rikets olduğunu bildirmiştir.

Kemoterapi de konjenital diş eksikliğine sebebiyet veren diğer bir çevresel etkindir (Marec-Berard ve ark. 2005). Marec-Berard ve arkadaşlarının (2005) yaptığı çalışma neticesinde diş gelişiminin kemoterapiden etkilendiği belirtilmektedir. Eğer diş oluşum zamanının 20 yaş dişleri dahil olmak üzere 0 – 20 yaşları arasında gerçekleştiğini kabul edersek erken yaşta kanser tedavisi gören hastaların dişsel anomali oluşturma riski olduğu ve anomali tipiyle kemoterapi zamanının birbiriyle alakalı olduğunu söylemenin doğru olacağını belirtmiştir.

Kaste ve arkadaşları (1998) 452 erken kanser tedavisi gören çocuk üzerinde yaptıkları araştırmada bireylerin % 71’inde dental anomalilere rastlamışlardır. Bu anomaliler içinde mikrodonti, amelogenesis imperfekta, erken kök kapanması ve kısa kökler, diş hipoplazisi ve konjenital diş eksikliği olguları vardır. Genel olarak üçüncü büyük azı diş eksikliği toplumda yüksek oranda görüldüğü için çalışmalarında da yer almamıştır. Kaste ve arkadaşları (1998), toplumda diş eksikliği görülme sıklığını üçüncü büyük azı dişler hariç %1,3 ile %9,3 arasında olduğunu ve çalışmadaki hastaların %17’sinde diş eksikliğine rastlandığını belirtmişlerdir.

1.1.6 Konjenital Diş Eksikliğinin Tedavisi

Nunn ve arkadaşları (2003), konjenital diş eksikliği hastalarında genelde multi-disipliner bir yaklaşım sergilenmesi gerektiğini belirtir. Bu multi-disipliner çalışmayı yapacak takımın amaçları şu şekilde sıralanabilir;

- Var olan dişleri korumak
- Estetiği düzeltmek
- Hastaların birçok yemek çeşidini rahatça yiyebilmelerini temin etmek
- Konuşmayı geliştirmek

- Duygusal ve psikolojik sağlığı iyileştirmek
- Aile ve yaşıtları tarafından kabulü kolaylaştırmak.

Kawakami ve arkadaşlarının (2004) yaptığı bir çalışmada konjenital diş eksikliği olan genç bir hastada önce ortodontik tedavi ile uygun yerler açılmış ve sonra uygun yaş gelince iki kez kemik grefti eklenerek eksik destek dokuların teminini sağlamışlardır. En sonunda da eksik dişlerin olduğu bölgeye uygulanan implant tedavisi başarılı bir şekilde tamamlanmıştır.

Senty (1976), konjenital st yan kesici diş eksikliği tedavisinde yer kapama yöntemi uygulanan hastalarda köpek dişin yerini birinci küçük azı dişinin aldığını, ancak bu durumda köpek dişi koruyuculu oklüzyon olmadığı için lateral kuvvetlerin daha zayıf olan küçük azı köklerine geleceğini ve böylece ideal bir oklüzyonun sağlanamayacağını savunmuştur. Diğer bazı araştırmacıların da bu konuda periodontal sorunların muhtemel oluşma durumu gibi bazı endişeleri olmasına karşın Robertson ve arkadaşlarının (2000) yaptığı uzun dönem takip çalışması sonucunda yer kapama tedavisi hem daha memnun edici olmakta hem de kaplama veya implant tedavisine göre daha az risk taşımakta olduğu sonucuna varmışlardır.

Carter ve arkadaşları (2003), konjenital diş eksikliği durumunda yer kapama veya yer açma tedavisine karar verirken şu faktörlerin göz önünde bulundurulmasını belirtmişlerdir;

- Hastanın yaşı
- Diş eksikliğinin şiddeti
- Doğal apraşıklığın derecesi

Erken yaştaki yaklaşımların, ileri dönemde yapılacak ortodontik müdahaleleri azaltıcı koruyucu ve önleyici tipte yaklaşımlar olması gerektiği bildirilmiştir. Orta dereceli apraşıklıklarda selektif mllemeler ya da diş çekimleri, istenen diş hareketlerini sağlamada yardımcı olacaktır. Ancak tüm bu adımlardan sonra hastanın ailesi ilerde muhtemel ortodontik veya protetik tedavi yaklaşımlarına karşı hazırlanmalıdır. Geç yaşta yapılan müdahaleler genelde çok zor olmakta ve hastanın dolguları, periodontal hasarları ve motivasyon eksikliği nedeniyle ideal tedavi gerekleştirilemeyip kompromise tedavi yaklaşımları kabul edilmektedir. Hastalarda tek diş eksikliği görülebileceği gibi birçok diş eksikliği de görülebilir. Eksik diş sayısı arttıkka, daimi dişlerin yanlış sürme eğilimi, overbite'ın ciddi şekilde artma

eğilimi artmakta (Chung ve ark. 2000) ve hastaların genel ortodontik tedavi ihtiyaçları da artacaktır. Çapraşıklığın minimum olduğu durumlarda yer kapama yerine mevcut yeri koruma ya da süt dişi ağızda ise ve iyi durumdaysa süt dişiyle beraber mevcut durumu koruma planı yapılmalıdır. Eğer orta şiddette bir çapraşıklık var ise, tüm dişler varmış gibi boyut hesabı yapılır ve konjenital eksik olan dişler çapraşıklığı önlemek amacı ile çekilmiş dişler gibi farz edilerek gerekli tedavi opsiyonları düşünülür. Ancak altında daimi ikinci küçük azı diş olmayan durumlarda süt ikinci azı dişinin çekimi daimi birinci büyük azı dişin öne yürümesi ve ön bölge dişlerdeki çapraşıklığın azalması açısından tercih edilebilir. Şiddetli çapraşıklık durumunda ise süt dişleri korunmalı, diğer tüm daimi dişler yerine sürmeli ve ortodontik tedavi planı sağlıklı bir şekilde yapıldıktan sonra diş çekimi yoluna gidilmelidir.

1.2 Mutasyon ve Polimorfizm

1.2.1 Mutasyon, Tanımı ve Çeşitleri

İnternet veri bankalarından “wikipedi” (Copyright (C) 2000, 2001, 2002 Free Software Foundation, Inc, Boston, MA) adlı elektronik ansiklopedinin içerdiği bilgilere göre “Değişim” ya da diğer adıyla “mutasyon”, canlının genetik bilgisinde meydana gelen kalıcı değişimlerdir. Tarihsel olarak "mutasyon" terimi ilk kez 1901 yılında Hugo de Vries tarafından akşamsefası bitkisiyle yaptığı çaprazlamalarda gözlemlediği varyasyonu tanımlamak için kullanılmıştır. Bireyin, kalıtsal özelliklerinin ortaya çıkmasını sağlayan genetik şifre, herhangi bir nedenden dolayı (X ışını, radyasyon, ultraviyole, bazı ilaç ve kimyasallar, ani sıcaklık değişimleri vb. maddelerle) bozulabilir. Bu durumda DNA'nın sentezlediği protein veya enzim bozulur. Böylece canlının, proteinden dolayı yapısı, enzimlerinden dolayı metabolizması değişebilir. Mutasyon terimi genel olarak,

- Kromozom yapısının ve/veya sayısının değişmesini,
- Genlerdeki değişiklikleri kapsar.

Kromozom yapısının değişmesi

Mayoz bölünmenin ilk evrelerinde krossing-overle kromozomlardan kopan parçalar yer değiştirip tekrar kromozomlara bağlanabilirler. Krossing-over, homolog kromatitler arasındaki alışlagelmiş parça değişimidir; ancak genlerin

rekombinasyonlarına neden olur; fakat kromozomlarda yapı değişikliklerine neden olmaz. Bazen kromatitler, krossing-over olmadan parça değişimine, kaybına ya da kazanılmasına neden olur (Rastogi 2003).

Kromozom sayısının değişmesi

Kromozomlar mitoz ve mayoz bölünme sırasında bazen düzenli olarak ayrılmazlar. Sonuçta kromozom sayısı bakımından farklı hücreler meydana gelir ve kalıtsal açıdan bazı sorunlar oluşturur. Birçok bitki doğadaki diploit kökenli diğer bitkilerden türemiştir. Aynı gen lokusunda meydana gelecek öldürücü bir mutasyon, bu şekilde, diğer normal genleri taşıyan poliploit kromozomlar tarafından korunabilir. Başlangıçta öldürücü ya da engelleyici görünen bu genler bir zaman sonra canlının ayakta kalmasını sağlamak bakımından önemli bir duruma geçebilir. Bu tip bitkiler belli bir süre sonra kısır olarak kalırlar ve çelikleme ya da yumru ile çoğaltılırlar. Hayvanlar, vücutlarının belli bir parçasından üretilemedikleri için, triploidi ve tetraploidi bunlarda bir önem arz etmez. İnsanlardaki kromozom sayısı ve yapısı ile ilgili sendromlar;

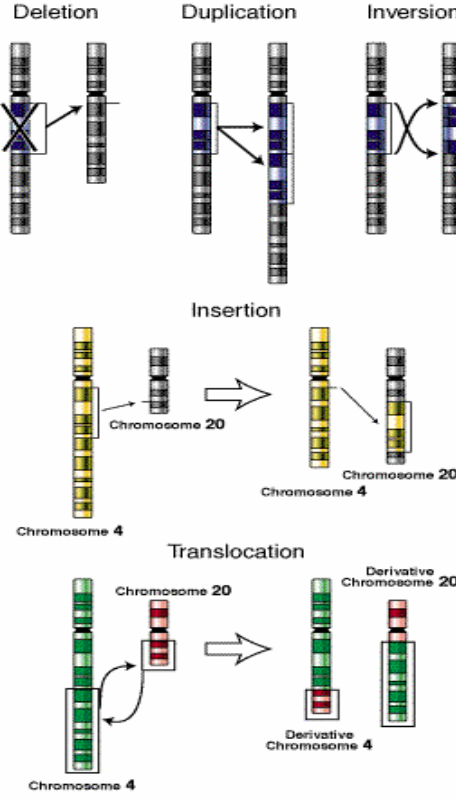
- Down sendromu (Trizomi 21 yani insanda fazladan bir 21. kromozomun bulunması durumu),
- Edward sendromu (Trizomi 18),
- Patau sendromu (Trizomi 13),
- Cri du Chat sendromu (insanda 5. kromozomun bir parçasının kaybıyla ilişkili bir genetik düzensizlik),
- Kronik miyelojenik lösemi gibi hastalıklara neden olur (Rastogi 2003).

Gen (Nokta) mutasyonları

Kromozomların yapısında ya da sayısında herhangi bir değişiklik olmadan, doğal ya da deneysel olarak meydana gelen ve mikroskopta görülmeyen mutasyonlardır. Mutasyonu meydana getiren araçlara "mutajenik faktör" denir. Mutasyona uğramış bir gen nadir olarak eski haline dönebilir (Rastogi 2003).

Gen mutasyonları, hücredeki kalıtsal bilgiyi taşıyan, çift nükleotid zincirinden oluşan, DNA (deoksiribonükleik asit) molekülündeki gen denilen ve belirli bir

özelliği kodlayan bölümündeki değişiklikten kaynaklanır. Mutasyonlar, bir DNA zincirindeki bazın (A, T, G, C) başka bir bazla yer değiştirmesi sonucunda ortaya çıkabileceği gibi, zincire bir ya da daha çok bazın eklenmesi veya zincirdeki bazların eksilmesi sonucunda da ortaya çıkabilir (Resim 1.2) (Wikipedia 2009).



Resim 1-2 Çeşitli mutasyon tipleri (Wikipedia 2009)

1.2.2 Polimorfizm ve Tanımı

Temel Mendel hastalıkları ile kompleks genetik hastalıklar arasındaki farklardan birisi de hastalığı meydana getirmek için gereken gen sayısının yanında ilgili genlerin hastalıklı fenotipin ortaya çıkmasında ne kadar etkili olduklarıdır. Mendel hastalıklarında bir gen lokusunda meydana gelen “mutasyon” ciddi fizyolojik sorunlara yol açabilmekte ve hastalık için belirleyici olarak kabul edilmektedir. Genetik olarak tespit edilen durumun fenotipte ortaya çıkacağına bilinmesi biyolojik sistemin temelinde bulunan genetik problemi dengeleyemediğini gösteren durumları “mutasyon” olarak isimlendirmektedirler. Çevresel faktörler de genetik faktörler kadar bazı hastalıkların ortaya çıkmasında etkili olmaktadır. Kompleks hastalıklarda ise hastalığın görülmesinde bir genin etkisi oldukça azdır. Bu tür genetik varyasyonlar ise “genetik polimorfizmler” olarak adlandırılmaktadırlar. “Poli” ve “morfizmos” kelimelerinden oluşan polimorfizm, eski Yunancada “çok

şekillilik” anlamı taşıyan bir sözcüktür. Genetik polimorfizm, bir popülasyonda, farklı allellere bağlı olarak, genetik olarak belirlenmiş iki ya da daha çok alternatif fenotipin görülmesidir. Mutasyonlardan farklı olarak polimorfizmlerin varlığında hastalık ortaya çıkmaz, ancak hastalıkla ilişkili allelerin hastalarda sağlıklı bireylere nazaran daha sık görüldüğü bilinmektedir. Polimorfizmlerin anlaşılmada hastalıkla ilişkili olduğu bildirilen “alel”lerin sağlıklı kimselerde de bulunabildiği ve hastalıklı bazı bireylerde ise bu “alel”lerin bulunmadığının bilinmesi önemlidir. Etiyolojide çevresel faktörlerin de kritik bir önemi vardır. Etiyolojilerinin karmasık olması birçok etkenin görev aldığı hastalıklarda özel bir etkenin hastalığı ne kadar etkilediğini belirlemeyi güçleştirmektedir. Kronik hastalıklar ilerleyen yaşlarda başlamakta ve gelişmeleri yıllar almaktadır. İmmün cevabı ve enflamasyonu etkileyen genetik faktörler de olaya katılmaktadır. Bu fizyolojik ve biyolojik yolların pek çok dengeleyici mekanizmaları bulunmaktadır ve buna bağlı olarak tek bir genetik varyasyonun hastalık üzerinde ne derece etkili olduğunu saptamak çok güçtür. Eger bir bireyde bir hastalıkla ilişkili polimorfizm gözleniyorsa bunun klinik sonuçlarını sadece polimorfizme bakarak tahmin etmek mümkün değildir (Kornman ve Newman 2000).

Polimorfizm, tüm birey düzeyinde (fenotip), proteinlerin ve kan grubu bileşiklerinin varyant formlarında (biyokimyasal polimorfizm), kromozomların morfolojik özelliklerinde (kromozomal polimorfizm) ya da DNA düzeyinde nükleotid farklılıkları (DNA polimorfizmi) şeklinde görülebilir.

1.2.3 Genetik Polimorfizmlerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler

Genetik polimorfizmlerin belirlenmesinde PCR (Polymerase Chain Reaction), Real-time PCR, DNA dizi analizi, Southern-blot, Dot-blot, Reverse hybridizasyon tekniği, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism: Restriksiyon parça uzunluklu polimorfizm), SSCP (Single Stranded Conformational Polymorphism: tek iplikçik yapısal çeşitlilik), Allel Spesifik Oligonükleotid (ASO) gibi laboratuvar yöntemleri kullanılmaktadır. Polimorfizm çalışmalarında elde edilen bulgular, hastalıklara yatkınlığın veya dirençliliğin belirlenmesinde ve tedavinin yönlendirilmesinde önem taşımaktadır (Lüleci ve ark. 1995).

1.2.4 Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP: Single Nucleotide Polymorphism)

Polimorfizmler için tek bir nükleotidden kromozom seviyesine kadar farklı polimorfik yapılar tanımlanmıştır. Tek nükleotid polimorfizmleri toplumda DNA zincirinin belli bir bölgesindeki nükleotid çiftinin sıklıkla değiştiği bölgeler olarak tanımlanabilir. Örneğin DNA üzerinde belirli bir noktada bulunan T-A baz çifti popülasyondaki diğer bazı bireylerde G-C baz çifti olarak bulunuyorsa bu bölgede bir SNP vardır diyebiliriz. SNP farklı iki allelin bulunduğunu ve buna bağlı olarak da üç farklı genotip oluşacağını göstermektedir. Bunlar homolog kromozomların her ikisinde de T-A baz çiftinin bulunduğu homozigot T-A genotipi, homolog kromozomların birisinde T-A diğerinde G-C olan heterozigot genotip ve homolog kromozomların her ikisinde de G-C nükleotidleri bulunan homozigot G-C genotipidir. SNP'ler bir genin kodlanmayan bölgesinde de bulunabilir. Rastgele seçilen iki insanın DNA'sı protein kodlayan kısımda 1000–3000 bp (base-pair = baz çifti) civarında bir farklılık gösterirken kodlanmayan bölgelerde yaklaşık olarak 500–1000 bp da bir farklılık göstermektedir. DNA dizisindeki bir farklılığın SNP olarak kabul edilebilmesi için popülasyonda %1 den daha sık görülüyor olması gerekmektedir. Daha nadir olarak görülen değişiklikler mutasyon olarak kabul edilmektedir. SNP'ler insanlar arasındaki genetik farklılıkların en genel türleridir ve hem insanlar hem de kromozomlar arasında eşit dağılımlar göstermektedirler. İnsanlarda 2001 yılına kadar 300000 SNP tanımlanmıştır (Lewin 2000).

1.2.5 Kesim Parça Uzunluğu Polimorfizmleri “Restriction Fragment Length Polymorphisms” (RFLP)

Tek nükleotid polimorfizmlerin ortaya çıkışı, yeni bir restriksiyon bölgesinin şekillenmesine ya da var olan bir restriksiyon bölgesinin kaybolmasına neden olabilir. RSP'lerin (Restriksiyon Bölge Polimorfizmleri, RSP: Restriction Site Polymorphism) belirlenmesi için Southern hibridizasyon yöntemi (değişikliğe uğramış restriksiyon fragmentlerini belirlemek için prob kullanılmasını içeren yöntem) kullanılmaktaydı. Bu yöntemin kullanılmasıyla RSP'ler Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism) olarak isimlendirilmişlerdir. Şu anda ise RSP'ler, çok daha basit, PCR kökenli bir yöntemle belirlenmektedir. Bu yöntemde, polimorfik restriksiyon bölgeyi her iki uçtan içine alacak şekilde düzenlenmiş primerler kullanılarak amplifiye edilmiş ürün, uygun restriksiyon enzimlerince kesilir ve agaroz jel

elektroforeziyle kesim ürünleri büyüklüklerine göre tiplendirilir (Hartl ve Jones 2000).

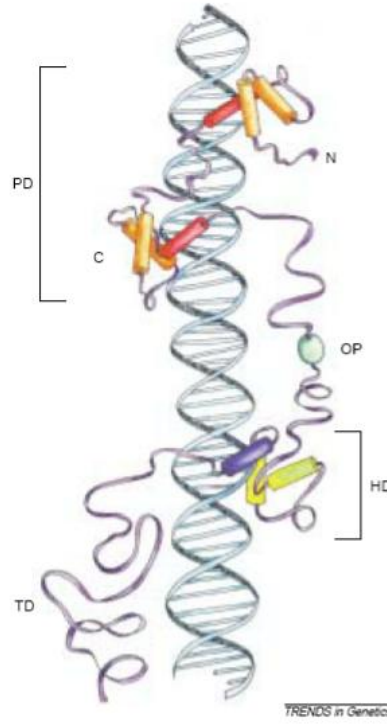
1.3 Pax9 Geni

1.3.1 Pax9 Genin Tanımı

Bu gen, çiftli kutu anlamına gelen “paired box (PAX)” isminin kısaltılmasıyla oluşan ve transkripsiyon faktör ailesine mensup bir gendir. Bu gen ailesinin mensupları, tipik olarak bir çiftli kutu bölgesi (paired box domain), okta-peptid ve çiftli tipte homeodomain (tekrarlanan özel bölgeler) içermektedir. Bu gen, fetal gelişim ve kanser oluşum sürecinde çok önemli görevler almaktadır. Genin spesifik fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber skuamöz epitelyum oluşumu ile birlikte çeşitli organların ve iskelet elemanlarının gelişiminde rol oynamaktadır (Wehr ve Gruss 1996).

1.3.2 Pax9 Geninin Yapısı

Paired box X, Paired box, Paired domain box gibi çeşitli isimler verilen Pax9 geni 14. kromozom üzerinde bulunmaktadır. Erken gelişim basamaklarında rol oynayan transkripsiyon faktörlerini kodlayan Pax gen ailesine mensuptur (Resim 1.3) (Chi ve Epstein 2002).

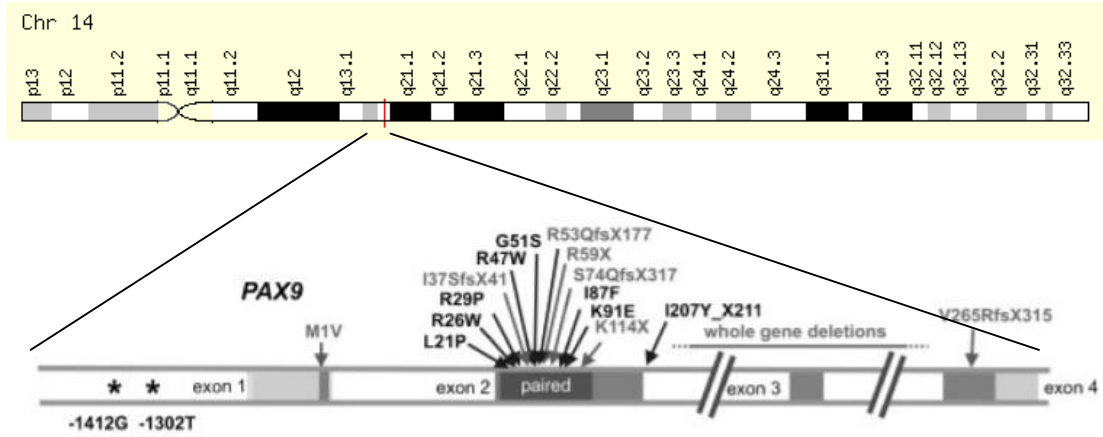


Resim 1-3 Pax9 proteinin çift sarmal yapısı (Chi ve Epstein 2002)

Resim 1.3'te her biri 3 adet helikse sahip amino ve karboksi terminal alt bölgelerinden müteşekkil olan bir eşli-alan (paired domain=PD) içeren Pax9 proteini görülmektedir. Her bir alt bölge DNA ana iskeletine bağlanmış bir şekilde gözükmektedir. Okta-peptid motifini (OP) heliks – döngü – heliks yapılı bir homeodomain (HD) bölgesi takip etmektedir. Karboksil uçlu transaktivasyon bölgesi çift sarmallı yapının en sonunda (TD) görülmektedir. Değişik Pax proteinleri ve izoformları bu bölgelerin çoğunu veya hepsini ihtiva ederek değişik kombinasyonlarda DNA'ya bağlanmaktadır (Chi ve Epstein 2002). Pax9 geninin detaylı yapısı Resim 1.4'te verilmiştir. Bu genin protein kodlayan anlamlı ekzon bölgeleri ile protein kodlamayan intron bölgelerinin koordinatları da Tablo 1.3'te belirtilmiştir.

1.3.3 Pax9 Geninin Fonksiyonu

Timüs, Paratiroid bezler, üst branşiyal yapılar, dişler, kafatası ve larinkisle beraber uç göğüs kafes kemiklerini de içeren iskelet elemanlarının gelişimi ile alakalı protein yapılarının üretiminde rol almaktadır (Wehr ve Gruss 1996).



Resim 1-4 İnsan 14. kromozom şeması ve Pax9 geninin 14. kromozom üzerindeki konumu
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>)

Ekzon		Kodlayan Ekzon		Intron	
Koordinatlar	Uzunluk	Koordinatlar	Uzunluk	Koordinatlar	Uzunluk
1 - 324	324 bp			325 - 4120	3796 bp
4121 - 4517	397 bp	4514 - 4517	4 bp	4518 - 5320	803 bp
5321 - 5947	627 bp	5321 - 5947	627 bp	5948 - 8885	2938 bp
8886 - 9025	140 bp	8886 - 9025	140 bp	9026 - 18621	9596 bp
18622 - 20231	1610 bp	18622 - 18876	255 bp		

Tablo 1-3 Pax9 Geninin ekzon ve intron koordinatları ve baz-çifti sayıları
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>)

1.4 Konjenital Diş Eksikliği ile Genetik Yapının İlişkisi

Konjenital diş eksikliğinin genetik etiyolojisi ile ilgili son yıllarda yapılagelen birçok çalışma mevcuttur. Birçok yazar ailesel ve sporadik görülebilen bu hastalığın genetik nedenlerini araştırmış ve karşılıklarına çeşitli genetik değişiklikler çıkmıştır (Garn ve ark. 1963, Vastardis 2000, Callahan ve ark. 2009).

Öncelikle Garn ve arkadaşları (1963), üçüncü molar polimorfizmini incelemişlerdir. Çalışma sonucuna göre bu durumun eskiden olduğu gibi tek başına bağımsız bir polimorfik yapı olmayıp, bu diş sayısındaki azalmanın diğer dişlerde görülen konjenital diş eksikliğine, diğer arka bölge büyük azı dişlerinin oluşma zamanlamasındaki gecikmeye, diş sekans polimorfizmlerindeki farklılıklara ve

etkilenen hastaların kardeşlerinin üçüncü büyük azı dişlerinin oluşum ve hareketindeki gecikme ve yavaşlamaya bağlı olduğunu belirtmiştir.

Callahan ve arkadaşları (2009) Türk ve Brezilya toplumlarından konjenital diş eksikliği gösteren bireylerin Axin2 genlerini incelemişlerdir. Çalışmalarında, 3 adet gen içi (intragenik) Axin2 markırı (belirteçi) değerlendirilmiştir (rs7591, rs11867417, rs2240308). Markırları International HapMap Project internet sitesinden (<http://www.hapmap.org>) elde edilen bilgilere dayanarak hazırlanan gen yapısı ve dengesiz bağlantı blokları (linkage disequilibrium blocks) sayesinde belirlemiştir. Çalışma sonucunda Axin2 rs2240308 markırı ile en az bir keser dişi konjenital olarak eksik olan gurup arasında kayda değer bir ilişki saptanmıştır. Rs2240308 markırı gendeki kodlama değişimi anlamına gelmekte olduğu için (P50S=50 pozisyonunda prolin amino asitinden serin amino asitine) bunun ne manaya geldiğini anlama adına “Polyphen” denen bir programı kullanıp amino asit değişiminin Axin2 proteininin üzerindeki yapısal ve fonksiyonel etkilerini araştırmışlardır. Program verilerine göre bu amino-asit değişimi faydalı (benign) bir değişim olduğu bildirilmiştir.

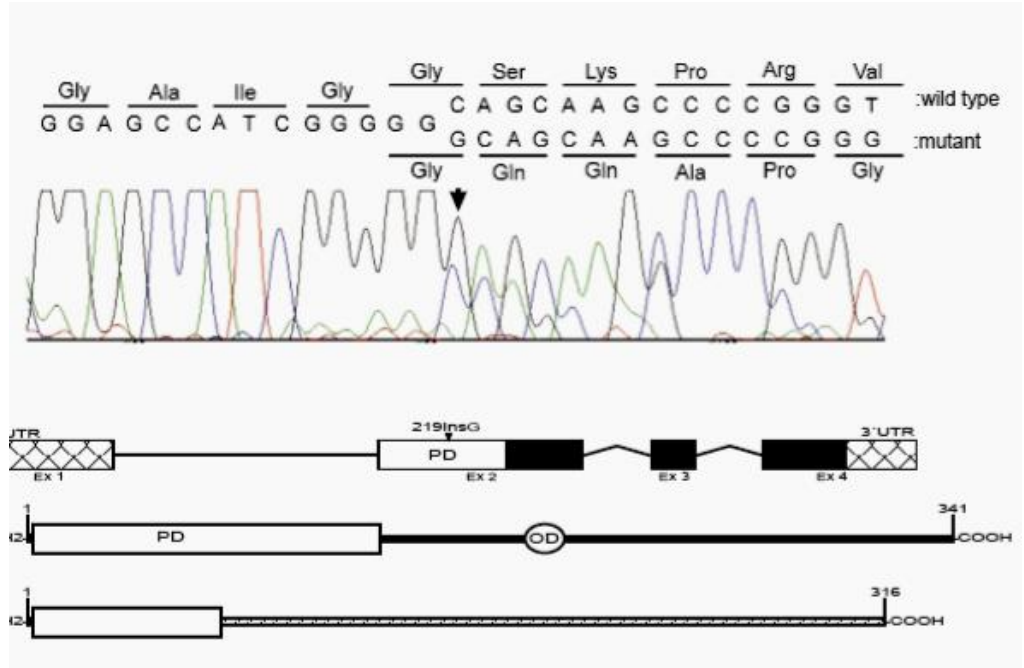
Vastardis ve arkadaşları (1996), homeobox genlerinden Msx1 geninde oluşan bir mutasyonun genel bir gelişim anomalisi olan kalıtsal konjenital diş eksikliğine sebep olduğunu bildirilmişlerdir. İkinci küçük azılarında ve üçüncü büyük azılarında otozomal dominant diş eksikliği bulunan bir ailede genetik bağlantı analizi yapılmış ve analiz sonucunda Msx1 geninin yer aldığı kromozom 4p de bir bölge (lokus) tespit edilmiştir. Sekans analizi sonucunda ailede etkilenen bireylerin hepsinin Msx1 geninde Arg31Pro (R31P) missense mutasyonu gözlenmiştir. Arg31 (31. bölgedeki arginin proteini) hedef DNA’nın riboz-fosfat iskeleti ile bağ kuran çok iyi korunan bir gen bölgesi parçası olduğunu bildirmişler ve Arg31Pro mutasyonunun Msx1 etkileşimlerini içerdiğini ve Msx1 geninin fonksiyonlarının ise insan dişlerinin normal gelişimi açısından çok önemli olduğunu söylemişlerdir.

Bu çalışmanın devamı niteliğindeki diğer bir çalışmayı da Vastardis ve arkadaşları (1996) planlamışlar ve diş eksikliği fenotipinin (bir gen ürününün iş görebilecek yeterlilikte olamaması “Haploinsufficiency” (Tek başına yetersizlik)” sonucu mu yoksa dominant-negatif bir mekanizma sonucu mu geliştiği anlamak için mutasyona uğramış olan Msx1(R31P) proteinin biyokimyasal ve fonksiyonel analizlerini yapmışlardır. Çalışma sonucuna göre Msx1(R31P) proteini karmaşık ve stabil olmayan bir yapıya sahip olup naturel Msx1 proteiniyle kıyaslandığında daha

düşük termo-stabilite özelliğine sahip olduğu anlaşılmıştır. Netice olarak Msx1(R31P) geninin biyokimyasal aktivitelerinde ciddi bir düşüş gözlemlenmiş ve bunların sebebi olarak da DNA ile bağlanıma ya çok az ya da hiç geçememesi, diğer proteinlerle iletişim kuramaması ve de transkripsiyon sürecinin baskılanmasında pek işe yaramaması olarak gösterilmiştir. Msx1(R31P)'in *in vivo* ortamda inaktif olduğu da diğer bir çıkarımdır. Msx1(R31P) geninin bu inaktifliği ve natürel Msx1 geninin faaliyetlerini etkilememesi sebebiyle, yazarların genel görüşü de etkilenen bireylerdeki dış eksikliği fenotipinin nedeni “tek başına yetersizlik yani haploinsufficiency olduğudur (Hu ve ark. 1998).

Stockton ve arkadaşları (2000), Pax9 hakkında yaptıkları çalışmada dış eksikliğine maruz kalan hastalarda, etkilenen genomik DNA üzerindeki mutasyonel analizler sonucunda Pax9 geninin ikinci ve dördüncü exonlarındaki kodlama bölgelerinden biri olan nt219 bölgesinde Guanin bazı insersiyonu (ilavesi) açığa çıkarmışlardır (Şekil 1-1). Araştırmacılar bunu tek sarmallı konformasyonel polimorfizm yöntemini (SSCP=single strand conformational polimorfizm) kullanarak bulmuşlardır. İncelenen tüm hasta bireylerde anormal baz değişimi tespit edilmiştir. Mutasyon etkisini şu şekillerde gösterebilmektedir;

- DNA bağlanma bölge eksikliğinden dolayı fonksiyon kaybı
- Mutant mRNA ve protein instabilitesi sonucunda görülebilen haploinsufficiency “Tek başına yetersizlik”.
- Yeni konformasyon sonucunda yeni bir protein yapısının oluşumu ve farklı bir fonksiyon gelişmesi
- Normal Pax9 allelinin ürününün etkisini engelleyici dominant-negatif etkileri.



Şekil 1-1 Konjenital diş eksikliği gözlenen hasta bireyin Pax9 geninin moleküler analizi (ok işareti Guanin insersiyonunu göstermektedir. Guanin girmesi sonucunda sağa 3' yönüne doğru gelişen çerçeve kayması mutasyonu (frameshift mutation) rahatlıkla izlenebilmektedir. Bunun ardından değişen protein aminoasit zincirleri de görülmektedir. (Stockton ve ark. 2000)

Lammi ve arkadaşları (2003), otozomal dominant olarak kalıtılan konjenital diş eksikliğine sahip geniş bir ailenin genetik yapısını incelemiştir. Pax9 geninin sekans analizine göre ilgili bölgenin başlangıç yerinde bir missense mutasyonu gözlenmiştir. Bu mutasyonun Arjinin-Triptofan amino-asit değişimi olduğu ve Pax9 geninin iyi korunan bölgelerinde yer aldığı rapor edilmiştir.

Pax9 geninde görülen mutasyon çeşitlerinden bazıları, hangi gen bölgesinde olduğu, araştırmaya katılan birey sayısı ve bireylerin fenotipleri tablo 1.4'te özetlenmiştir (Tablo 1.4).

Vieira ve arkadaşları (2004), Msx1, Pax9 ve TGFA genlerinin diş eksikliği ile ilişkisi araştırmışlardır. Çalışmada iki farklı metot (etkilenmeye göre aile kontrolü testi (affected based family control test) ve dengesiz geçiş testi (transmission disequilibrium test TDT)) ile genlerin değişik bölgelerindeki polimorfizmler ve fenotipler arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir. Sonuç olarak tüm ebeveyn ve çocuk gen ağacı (trios veya pedigree) ile aşağıdaki polimorfizmler, birbirleriyle ilişkili bulunmuştur;

- TGFA C-3827T, C alleli,
- MSX-1 C-A 169 baz çifti alleli,

- TGFA haplotip 117 baz çifti C-C alleli.

Tablo 1-4 Rapor edilen Pax9 mutasyonları ve açığa çıkan fenotipleri (Stockton ve ark. 2000, Nieminen ve ark. 2001, Das ve ark. 2002, Frazier-Bowers ve ark. 2002, Lammi ve ark. 2004)

Mutasyon			Hasta																	
Bölgesi	Exon	Kaynak	sayısı		8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
insG219	2	Stockton	11	Ü	100	100	82	82	10							10	82	91	91	100
		2000		A	100	91	45	36				45	55				27	36	91	100
A340T	2	Nieminen	3	Ü	100*	100	67	67			100			100			67	67	100	100*
		2001		A	100*	100	67						33				33	67	100	100*
insC793	4	F-Bowers	9	Ü	100	100	100	55	11		18			11			67	100	100	100
		2002		A	100	100	11	11				18	18				22	22	89	100
Tüm Pax9 geninde		Das	2	Ü	100	100	100	100	100		50	50	50			100	100	100	100	100
delesyon		2002		A	100	100	100	100	100		50	50	50	50		100	100	100	100	100
C76T	2	Lammi	4	Ü	100*	100	100	50	75		50			50	25		75	75	100	100*
		2003		A	100*	100	100		100				50				75		100	100*

Etkilenen aile bireylerinin eksik diş oranı % oran olarak verilmiştir. (*) Erken yaştan dolayı üçüncü büyük azı diş eksikliği dikkate alınmamıştır.

Frazier-Bowers ve ekibinin (2003) Vietnamlı bireyler üzerinde yaptıkları araştırmada diş eksikliğine sahip bireylerin Pax9 ve Msx1 genlerinin sırasıyla ekzon 2–4 ve ekzon 1–3 kodlama bölgelerini incelemiştir. Çalışma sonucunda aile ağacında otozomal dominant ve tamamlanmamış geçirgenlik (incomplete penetrance) özelliği gösteren kalıtsal yapıda belirtilen bölgelerde herhangi bir mutasyon ya da polimorfizme rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Msx1 (eski ismi Hox 7) mutasyonlarının incelemesini Goldenberg ve arkadaşları (2000) da yapmışlardır. Konjenital diş eksikliği olan bir ailenin kan örneklerini alıp DNA'larını izole ettiler. Onunla hiç ilgisi olmayan normal sayıda dişlenmeye sahip bir bireyi de kontrol amaçlı olarak incelemeye aldılar. Çalışma sonucunda Msx1 geninin kodlama bölgelerinde hiçbir mutasyon izlenmediği bildirilmiştir. Yazarlar bu bulgunun sebebi olarak da çalışma planlamasının önceki fareler üzerinde yapılan genetik çalışma tasarımlarına bağlandığını ve kaynak olarak www veri tabanı, <http://honeybee.helsinki.fi/toothexp> internet adresinden yararlanıldığını belirtmiş ve aslında diş gelişiminden sorumlu tutulan Barx1, Otlx2, Lhx6, Lhx7, Dlx1, Dlx2, Pax9 ve Lef1 genlerinin de bu çalışmanın içine dahil edilmesi gereken muhtemel sorumlu genler olabileceğini ileri sürmüştür.

Dr Frazier-Bowers ve arkadaşları (2002) da Pax9 geni ile ilgili araştırmalar yapmışlardır. Özellikle arka bölgede dişlenme eksikliği çeken 11 birey ile sağlam 13 bireyden kan ve yanak mukoza örneklerini toplayarak DNA izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. <http://www.dentalresearch.org/appendix> adresli internet sitesinden de insan Pax9 geninin 2. ve 4. ekzonlarına ait primer bilgileri alınmıştır. D14S288 ve D14S1039 belirteçleri (markır) kullanılarak genotipleme tamamlamışlardır. Pax9 bölgesini çevreleyen polimorfik mikrosatellit markırlarına azı diş oligodontisinin bağlı olup olmadığını anlamak için yapılan bağlantı analizi sonucu oligodonti fenotipiyle D14S288 markırının bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (LOD puanı = 2,29 ; $\Theta=0,1$). Mutasyon analizi de yapılarak etkilenen beş bireydeki Pax9 genlerindeki değişimleri belirlemeye çalışmışlardır. Sekans analizine göre etkilenen tüm bireylerin ekzon 4 bölgesinde nükleotid 793'te bir sitozin insersiyonu (girmesi) olduğunu bulmuşlardır. Bu insersiyon, beraberinde frame-shift (çerçeve kayması) mutasyonu sonucunda 264. aa (amino-asit) bölgesinden 315. aa bölgesine kadar 25 aa artışı ile 51 alakasız aa eklenimini getirmiştir. Bu bulgular ışığında yazar diş eksikliği gösteren ailede görülen diş eksikliğinden Pax9 genindeki bir insersiyon sonucunda oluşan kesik (truncated) aminoasitlerin sorumlu olduğunu bildirmektedir.

Das ve arkadaşları (2003) da yayımladıkları araştırmalarında Frazier-Bowers ve arkadaşları (2002) gibi Pax9 genini incelemişlerdir. Konjenital diş eksikliği görülen 3 ailenin aile ağacı çıkarmışlar, kan örnekleri alarak DNA'larını izole edip önce bağlantı analizi sonra da mutasyon analizi gerçekleştirmişlerdir. Bağlantı analizi için mikrosatellit markırlarından D14S1462, D14S1463 ve D14S1464 kullanılmıştır. Çalışmada incelenen iki büyük aile arasındaki bağlantı analizi sonucunda hipodonti ile Pax9 geni arasında ilişki bulunmuştur. Bu iki ailede Pax9'un eşli bölgesinde (paired-domain) lizin yerine glutamik asit ve lösin yerine de prolin geçişinin olduğu iki adet missense mutasyon bulunmuştur. Üçüncü ailede tanımlanan ikizler incelendiğinde de çerçeve kayması mutasyonu ve prematür stop kodonu ile sonuçlanan A-288 bp insersiyonu gözlemlenmiştir. Bu tarzda mutasyonların tespiti ile de yazar missens mutasyonları da kapsayan Pax9 genindeki mutasyon spektrumunu genişlettiğini belirtmiştir.

Das ve arkadaşlarının (2002) diğer bir araştırmasında küçük bir çekirdek ailede baba ve kızda tüm süt ve sürekli azı dişlerinin eksikliğinden müteşekkil ciddi konjenital diş eksikliği olgusu moleküler genetik kapsamında incelenmiştir.

Etkilenen bireylerin Pax9 lokusundaki hemizigozitenin bulunması, gendeki mutasyonların araştırılması esnasında yapılan sekans sırasında karşılaşılan tek nükleotit polimorfizmi tanımlanması sayesinde olmuştur. Tek nükleotit polimorfizminin de Mendel prensipleri ile uyuşmayan “non-mendelian” kalıtım modeli gösterdiği görülmüştür. Floresan in-situ hibridizasyon (FISH) analizi sadece tek bir kromozom 14 homologu için sinyal vermiş ve Pax9 gen lokusunu çevreleyen bir delesyonun varlığını göstermişlerdir. Bu bulgular ışığında yazar, Pax9 geninin delesyona maruz kalan bölgedeki tek diş gelişim geni olduğunu da öne sürerek bireylerdeki konjenital diş eksikliğinin altında yatan sebebin Pax9 genindeki haploinsufficiency (tek başına yetersizlik) modeline uyduğunu vurgulamışlardır.

Son yıllarda konjenital diş eksikliğinin genetik etiyolojisini araştıran yazarlar Pax9 geninin başlangıç kodonunu içeren promotor bölgesinde mutasyon ve polimorfizmlere rastlamışlardır. İlk olarak Klein ve arkadaşları (2005) yaptıkları bir araştırmada Msx1 geninin 1. ve 2. ekzonlarını ve Pax9 geninin tüm ekzonlarını mutasyon açısından kontrol etmişlerdir. Mutasyon analizinin sonucuna göre Msx1 geninin 1. ve 2. ekzonlarında herhangi bir mutasyon bulunmadığı bildirilmiştir. Ancak konjenital diş eksikliği gösteren bireylerden proband olan çocuk, etkilenen babası ve etkilenen dedesinin Pax9 geninde mutasyona gösterilmiştir. Bu genin 1. ekzonundaki başlangıç kodonu olan “AUG” kodonunda A’dan G’ye tranzisyon (geçiş) mutasyonuna rastlanmıştır.

Peres ve arkadaşları (2005) da konjenital diş eksikliğine sahip bireylerin Msx1 ve Pax9 genlerini analiz etmiştir. 102 hipodonti hastası ve 106 sağlıklı bireyden elde ettikleri kan örneklerinden DNA izolasyonu yapmış, Pax9’un başlangıç kodonlarının bulunduğu promotor bölgesindeki G-1031A ve C-912T polimorfizm analizi için de PCR – RFLP (polimerase chain reaction = polimeraz zincir reaksiyonu ve restriction fragment length polymorphism = restriksiyon parça uzunluklu polimorfizm) yöntemlerini kullanmışlardır. Analiz için seçtikleri primerler ise şu şekildedir;

- 5’-AGCCTGAATCCTGTGTGCAC-3’
- 5’-CTAATCTAAAGTGTACCGTATGC-3’

Çalışma sonucunda elde ettikleri verilere göre diş eksikliği gurubuyla kontrol gurubu arasında dikkate değer farklılık bulunmuştur. Diş eksikliği gurubunda G ve T allelleri önemli oranda yüksek sıklıkta çıkarken A ve C allellerine kontrol gurubunda

daha yüksek sıklıkta rastlanmıştır (sırasıyla $p=0,0094$ ve $p=0,0086$). GT haplotipi diş eksikliği gurubunda daha fazla görülürken, AC haplotipi de kontrol gurubunda daha fazla görülmüştür. Bu sonuçlar yorumlanınca da Pax9 geninin promotor bölgesinin transkripsiyonel aktivitenin başlamasında çok önemli bir yeri olduğu ve burada karşılaşılan polimorfizm ile konjenital diş eksikliği arasında yüksek oranlı bir ilişki mevcudiyeti bulunduğunu söylemişlerdir.

Pan ve arkadaşlarının (2008) yaptıkları çalışma da aynı Peres ve arkadaşlarının (2005) çalışmasına paralel bir bulgu elde etmişlerdir. Pan ve arkadaşlarına (2008) göre de Pax9 geninde protein kodlayan bölge olan ekzon bölgelerinin yanında protein kodlamayan ancak protein kodlama için gerekli olan başlangıç kodonlarının yer aldığı intron bölgelerindeki polimorfizmler ile konjenital diş eksikliğinin bir ilişkisi olduğunu vurgulamışlardır. Çin ırkında bu polimorfik yapıyı 102 sporadik konjenital diş eksikliği hastası ile 116 hiçbir dişi eksik olmayan bireylerden Pax9 geninin promotor bölgesi dahil olmak üzere 4 tek nükleotidli polimorfizmini araştırmışlardır. Araştırmalarında kullanılan primerler, gerektirdikleri ortam ısısı, ilgili restriksiyon enzimleri, ilgili alleller ve enzim kesimi sonucu oluşan ürünler Tablo 1.6'da gösterilmiştir. Sonuç olarak Pan ve arkadaşları (2008) Peres ve arkadaşlarının (2005) bulgularına paralel sonuç elde edememiş ve Çin toplumunda rs2073244 (kodlu polimorfizm bölgesi) ile sporadik (az rastlanan) konjenital diş eksikliği arasında bir bağlantı tespit edememişlerdir. Bunun yanında diğer 3 tek nükleotidli polimorfizm ile diş eksikliği arasında da bir ilişki bulunamamıştır. Pan, Peres ve arkadaşlarının (2005) yaptığı çalışma ile kendi bulgularını karşılaştırmıştır. Bu sonuç uyumsuzluğunu popülasyon farklılığına bağlamışlardır. Genetik polimorfizmlerin etnik varyasyon göstermekte olduğunu belirten Pan ve arkadaşları (2008), rs 2073244 A > G polimorfizminin değişken alleli olan G (guanin) allelinin frekansının Peres ve arkadaşlarının (2005) yaptığı çalışmada incelediği beyaz ırkta %25 iken, kendi çalışmalarında incelediği Çin toplumunda %48 olduğunu vurgulamaktadır. Bu yüzden Pax9 polimorfizmleri ile sporadik konjenital diş eksikliği olguları arasındaki ilişkiden tam emin olmak için değişik etnik gurupların genetik polimorfizm çalışmalarına ihtiyaç duyulduğunu bildirmektedir.

Tablo 1-5 Pan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada kullanılan primerler, enzimler ve ürünler ile alakalı bilgiler (Pan ve ark. 2008)

Polymorphisms	Primers	T (°C)	Enzymes	Products
rs2073244	F 5'-AGCCTGAATCCTGTGTGCAC-3' R 5'-CTAATCTAAAGGTACCGTATGC-3'	56	<i>HaeIII</i> *	A allele: 202 bp G allele: 26 bp, 176 b
rs2073245	F 5'-CTGAATCCTGTGTGCACAAG-3' R 5'-GAGAAATATTTTCGTGAATTGAGA-3'	52	<i>Alw26I</i> †	C allele: 103 bp G allele: 21 bp, 82 bp
rs2073247	F 5'-GGCCCGCATGACAGATTTTGCT-3' R 5'-CCCGAGGAGACCTCCTCCCG-3'	60	<i>HpaII</i> *	C allele: 20 bp, 106 bp T allele: 126 bp
rs4904210	F 5'-TCTCCATCAGTGAGCGACAG-3' R 5'-AAGGGACCCATCACAAAGTG-3'	52	<i>HpaII</i> *	C allele: 230 bp G allele: 97 bp, 133 b

Bu bilgiler ışığında mevcut çalışmada, Pax 9 geninin promotor bölgesindeki G1031A ve T912C polimorfizm sıklığını tespit etmek ve ortaya koymaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Hasta Seçimi ve Kontrol Gurubu

Çalışmamız, Selçuk Üniversitesi, Diş hekimliği Fakültesinin Oral Diagnoz ve Radyoloji A.D.'na, Endodonti A.D.'na, Konservatif Diş Tedavisi A.D.'na, Periodontoloji A.D.'na, Pedodonti A.D.'na, Cerrahi A.D.'na, Ortodonti A.D.'na ve Protetik Diş Tedavisi A.D.'na ağız ve diş sağlığı sorunları nedeni ile ya da kontrol amaçlıyla başvuran hastalar ve bu bölümlerde çalışan personel üzerinde yürütüldü. Öncelikle çalışma için Selçuk Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi etik kurulundan onay alındı (onay no:228; 2007, 13–1). Etik kurul yönetmeliği gereğince çalışmaya klinik ve radyolojik muayeneleri yapılarak uygun şartları taşıdığı düşünülen hastalar, çalışma hakkında bilgilendirilerek herbirinden imzalı bilgilendirilmiş onam formu alındı. Eksik dişlerin belirlenmesi amacıyla Planmeca cihazı ile (Planmeca Promax, Planmeca Oy, 00880, Helsinki, Finland) elde edilen panoramik filmler kullanıldı. Çalışmaya dahil olma kriterlerine uygun bulunan hastalardan ve sağlıklı bireylerden kan örneği alınmıştır. Çalışmaya dahil edilme kriterleri konjenital diş eksikliği gurubu için aşağıdaki gibidir;

1. Alınan panoramik radyografide daimi dişlerinden en az birinin konjenital olarak eksik olması,
2. Hastaların en az 10, en fazla 30 yaşında olması veya mevcutsa en az bir üçüncü molar dişinin görülüyor olması,
3. Hastaların hiçbirinde sistemik hastalık olmaması ve ailesel geçmişlerinde kalıtsal geçişli bir hastalığa rastlanmaması,
4. Hastaların eksik diş bölgelerinde süt dişi hariç herhangi bir diş çekimi yapılmamış olması,
5. Hastaların eksik olan dişlerinin geçmişini tam olarak hatırlaması.

Bu kriterlere uyan toplam 200 birey tespit edilerek çalışma gurubuna alınmıştır.

Kontrol gurubunu oluşturan bireylerin seçiminde ise aşağıdaki kriterler göz önüne alınmıştır;

1. Bireylerin eksik ya da fazla daimi veya süt dişinin olmaması,
2. Bireylerin tüm dişlerinin normal olması ve panoramik filmde gözükmemesi,
3. Bireylerin herhangi bir genetik hastalığı bulunmaması ve ailesel geçmişinde akrabalarında genetik geçişli bir hastalık bulunmaması.

Bu kriterlere sahip 114 hasta çalışmaya alınmıştır. Kan toplama işlemi Selçuk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ortodonti Anabilim Dalı hemşiresi ve Cerrahi Anabilim Dalı hemşiresi tarafından gerçekleştirilmiştir. Toplanan kanlar Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik bilim dalının -20 °C'lık soğuk hava deposunda muhafaza edilmiştir. DNA izolasyonu, Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve restriksiyon enzim kesimi çalışmaları, Selçuk Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Genetik laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

2.2 DNA İzolasyonu

Konjenital diş eksikliği hastalarından ve kontrol gurubu bireylerinden alınan 2 ml'lik periferik kan örneği EDTA'lı tüplere steril olarak alındı.

2.2.1 İzolasyon için gerekli malzemeler

- Mikrosantrifüj (13.000 X g) (Eppendorf North America, Inc. Westbury, N.Y. USA) (şekil 2.1)
- 65 °C su banyosu
- Mikropipet (20 ml ile 500 ml'lik hacim kapasiteli)
- Vortex
- DNA İzolasyon Kiti (UltraClean™ DNA BloodSpin Kit, Mobio lab inc., USA). Kit içeriği Tablo 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2-1 Mikrosantrifüj cihazı

2.2.2 İzolasyon Basamakları

Tablo 2-1 DNA izolasyon kitinin içeriği

İçerik	Miktar	Acıklama
Proteinaz K	6,25 mg	1,2 ml sulandırılmış Proteinaz K solüsyonu
Solüsyon B1	11 ml	Guanidin Hcl/ikiz solüsyon
Solüsyon B1	11 ml	%100 etanol
Solüsyon B1	27,5 ml	Etanol/Guanidin Hcl solüsyonu
Solüsyon B1	30 ml	Etanol, Tris, NaCl
Solüsyon B1	11 ml	10 mM Tris-Hcl
Santrifüj tüpleri	50 adet	2,0 ml tüp içine oturan santrifüj filtre kabı
2,0 ml lik tüpler	150 adet	Mikrosantrifüj tüp

1. Santrifüj tüpünün içine 200 µl tam kanın içine 20 µl Proteinaz K eklendi (Vivantis, Malezya)
2. 200 µl B1 solüsyonu eklendi
3. Santrifüj tüpü vortexte 15 saniye karıştırıldı
4. 65 °C’de 10 dk inkübe edildi
5. Kapakta herhangi bir damla artığı kalmaması için kısaca santrifüj edildi
6. 200 µl B2 solüsyonu eklendi ve 15 sn vortexle çalkalandı

7. Kısaca santrifüj yapılarak kapak üzerinde herhangi bir damla kalmaması temin edildi

8. Tüm karışım santrifüj filtresine aktarıldı

9. 13.000g devirde 1 dk santrifüj edildi

10. Santrifüj filtresi yeni tüpe transfer edildi

11. 500 µl B3 solüsyonu santrifüj filtresine eklendi

12. 13.000g devirde 30 saniye santrifüj edildi

13. Santrifüj filtresi alınarak alttaki sıvı boşaltıldı ve filtre yerine konuldu

14. 500 µl B4 solüsyonu santrifüj filtresine eklendi

15. 30 sn 13.000g devirde santrifüj edildi

16. Filtre kaldırılıp alttaki sıvı boşaltıldı ve filtre yerine konuldu

17. Tekrar 30 sn 13.000xg devirde santrifüj edildi

18. Dikkatli bir şekilde filtre kaldırıldı ve herhangi bir solüsyonla temas etmeksizin başka bir tüpe alındı

19. 200 µl B5 solüsyonu eklendi. Ürünü artırmak için 5 dk 65°C de 5 dk inkübe edildi.

20. 1 dk 13.000xg devirde santrifüj edildi

21. Filtre ayrıldı ve tüpün kapağı kapatıldı. Genomik DNA bu tüpün içinde kullanıma hazır halde tutuldu. Deneyin diğer aşamalarını beklemek amacıyla bu tüpler -20°C de saklandı.

2.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu

202 baz çiftlik (bç) Pax9 gen promotor bölge sekansı ve çalışmamızla ilgili polimorfik bölgeler şekil 2.1’de belirtilmiştir. Promotor bölgenin 1031 ve 912 konumunda bulunan polimorfizmleri belirlemek için PZR - restriksiyon enzim kesim tekniği (RFLP) kullanıldı. *Hae III* ve *MseI* (*Vivantis, Malezya*) enzimlerinin kesim yaptığı “GGCC” ve “TTAA” bölgeleri (tablo 2.1) aşağıdaki primerler vasıtasıyla çoğaltıldı (Peres ve ark. 2005)

- 5'-AGCCTGAATCCTGTGTGCAC-3' ve
- 5'-CTAATCTAAAGTGTACCGTATGC-3' primerleri kullanıldı.

Tablo 2-2 Çalışmada kullanılan enzimler, enzim kesimi öncesi tanıma bölgeleri ve kesim sonrası durum

Kesim Enzimi	<i>Mse I</i>	<i>HaeIII</i>
Kesmeden Önceki Tanıma Bölgesi	. . . TTAA AATT . . .	. . . GGCC CCGG . . .
Kesimden Sonraki Durum	. . . T TAA AAT T . . .	. . . GG CC CC GG . . .

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) total hacmi 50 µl olan 500 ngr'lık genomik DNA kullanılmak suretiyle gerçekleştirildi. Her tüpte şunlar bulunmaktadır;

- 10 mM Tris-HCl (pH 8.3),
- 50 mM KCl,
- her bir primerin 1 µM'si,
- her bir dATP, dCTP, dGTP, dTTP den 200'er µM,
- 2.5 mM MgCl₂ ve
- 2.5 U Tag DNA polimeraz (Amerham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden).

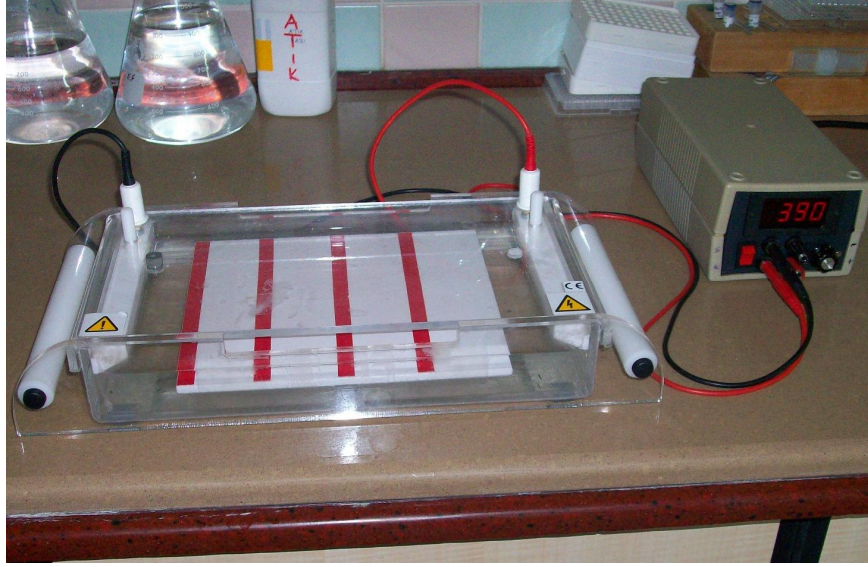
- + 4 °C’de beklemedir.



Şekil 2-3 PCR cihazı

2.4 Jel elektroforezi

Elde edilen polimeraz zincir reaksiyon ürünü olup olmadığını değerlendirmek için %1,5-2’lik agaroz (A5093, Sigma), TAE (Tris, Asetik asit ve EDTA) solüsyonu ile karıştırılıp kaynatılarak agaroz jel hazırlandı. Agaroz TAE içinde eritilip 50–60 °C’ye soğutulduktan sonra EtBr (10µg/ml Ethidium bromür) ilave edildi. Jelde kuyucuklar oluşturmak için jel kabına dökülerek uygun taraklar yerleştirildi. Elde edilen PZR ürününden 5 µl alınıp yükleme boyası (6 x loading dye) ile karıştırılarak kuyucuklara yüklendi. Jel elektroforez cihazında (Horizon 11-14, Life Technologies inc., UK) 45 dakika 120 voltluk elektrik akımına tabii tutuldu.(şekil 2.4) Ayrıca gözlenen bantların beklenen bantlar olup olmadığını belirlemek için 100 baz çiftlik DNA basamakçıkları (DNA ladder) kullanıldı. Jel Ultra Violet (UV) illüminatör altında değerlendirildi. Değerlendirme sonucunda 202 bp büyüklüğünde bantlar görüldü.



Şekil 2-4 Kullanılan jel elektroforez sistemi

2.5 Restriksiyon Enzim Kesimi ve Genotipleme

Değerlendirme sonucunda geriye kalan 15 µl'lik PZR ürününe Restriksiyon Enzim Kesimi yapıldı. Restriksiyon enzim kesimi için 6 µl'lik karışım hazırlandı. 6 µl'lik karışım içinde;

- 3,5 µl steril dH₂O
- 2 µl Restriksiyon enzim buffer
- 0,5 µl Restriksiyon Enzimi (*HaeIII* ya da *MseI*)

içeren karışım ile gerçekleştirildi. Bu 6 µl'lik karışımlar PZR ürününün içersine eklendi ve su banyosunda 37 °C'de 12-16 saat beklendi.

İşlem sonrasında %3'lük Agaroz jel hazırlandı. Elde edilen enzim kesim ürünü jele yüklendi. Jel 45 dk 120 voltluk elektrik akımına tabi tutuldu ve gözlenen bantların beklenen bantlar olup olmadığını tespit etmek için 100 bp'lik DNA merdiveni ya da diğer adıyla (DNA ladder) kullanıldı. Sonuçlar UV illuminator altında UV transiluminatörde (TFX 20M-Vilber Lourmat, Mar- na la Vallee, Fransa) görüntülendi değerlendirildi. (şekil 2.5)



Şekil 2-5 UV illuminatör

2.6 İstatistiksel Analizer

Hasta ve kontrol gurubuna ait özellikler ve PCR-RFLP tekniği ile elde edilen değerler SPSS (version 15.0) programı kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi. Ki-kare testi ile verilerin anlamlılık gücü ölçüldü. Guruplar arası ilişki Odds Ratio (OR) ile değerlendirildi ve sonuçlar tablo halinde düzenlendi. Anlamlılık seviyesi 0,05 olarak alındı.

3. BULGULAR

Çalışmamızda yaşları 14 ile 34 arasında değişen 200 konjenital diş eksikliği hastası ile 114 kontrol grubu bireyden alınan periferik kan örnekleri kullanılarak genomik DNA'lar izole edildi. Hastaların cinsiyetlere ve eksik dişlere göre dağılımı tablo halinde hazırlandı.

3.1 Birey Başına Düşen Konjenital Eksik Diş Miktarı

Araştırmamızda yer alan hastalarda tespit edilen diş eksiklikleri tablo 3.13'de şematize edilmiştir. Toplam ve birey başına düşen konjenital eksik diş miktarı tablo 3.2'de belirtilmiştir. Bu çalışmamızda 200 bireyde toplam 782 konjenital eksik diş görülmüştür. Birey başına ortalama $3,9 \pm 4,3$ konjenital eksik diş düşmektedir.

Konjenital diş eksikliği miktarına göre birey sayısı ise tablo 3.1'de verilmiştir. Araştırmamıza katılan bireylerden 160'ının 1 ila 5, 40'ının ise 6 veya daha fazla konjenital diş eksikliği vardır. 200 hastanın %80'inde hipodonti, %20'sinde ise oligodonti görüldüğü tespit edilmiştir.

Tablo 3-1 Birey başına düşen konjenital eksik diş miktarı

	Birey Sayısı	%	Toplam Eksik Diş Miktarı	Birey Başına Düşen Eksik Diş Miktarı
Kız (n)	122	% 61	466	3,82
Erkek (n)	78	% 39	316	4,05
Toplam (n)	200	% 100	782	3,91

Tablo 3-2 Konjenital diş eksikliği miktarına göre birey sayısı

	Kızlar		Erkekler		Toplam	
	N	%	N	%	N	%
1 – 5 Diş Eksikliği	98	49	62	31	160	80
6 + Diş Eksikliği	24	12	16	8	40	20
Toplam	122	61	78	39	200	100

3.2 Dişlerde Konjenital Eksiklik Görülme Sıklığı

Konjenital eksiklik görülme sıklığı, her bir dişe göre tablo 3.3'te, dişlerde sağ-sol ayrımı gözetilmeksizin ise tablo 3.4'te verilmiştir. Daimi üçüncü büyük azıların konjenital eksiklik prevalansının yüksek olması nedeniyle bu grupta dişler hariç olmak şartıyla eksikliği en sık görülen dişler üst yan kesici dişlerdir. Onu sırasıyla alt ikinci küçük azı dişler ve sonra da üst ikinci küçük azı dişler izlemektedir. Eksikliği en nadir görülen dişler ise, alt ve üst birinci büyük azı dişleridir.

Erkek bireylerin dişlerinde konjenital eksiklik görülme sıklığı tablo 3.5'te, sağ sol ayrımı yapılmadan hesaplanan eksiklik görülme sıklığı ise tablo 3.6'da verilmiştir. Erkek bireylerde eksikliği en sık görülen dişler sırasıyla üst yan kesici dişler, alt ikinci küçük azı dişler ve alt orta kesici dişlerdir.

Kız bireylerin dişlerinde konjenital eksiklik görülme sıklığı tablo 3.7'de sağ sol ayrımı yapılmadan hesaplanan eksiklik görülme sıklığı ise tablo 3.8'de verilmiştir. Kız bireylerde eksikliği en sık görülen dişler de öncelikle üst yan kesici dişlerdir. Ardından alt ikinci küçük azı dişi üçüncü olarak da üst ikinci küçük azı dişlerin eksikliği görülmektedir.

Tablo 3-3 Dişlerde konjenital eksiklik görülme sıklığı

Diş No	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Eksik Sayısı	67	7	1	29	17	11	74	5	4	64	10	13	24	1	6	70
%	8,6	0,9	0,1	3,7	2,2	1,4	9,5	0,6	0,5	8,2	1,4	1,7	3,1	0,1	0,8	9,0
Diş No	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38
Eksik Sayısı	64	9	3	55	8	5	18	21	23	15	6	10	60	2	9	71
%	8,2	1,2	0,5	7,1	1	0,6	2,3	2,7	2,9	1,9	0,8	1,3	7,7	0,3	1,2	9,1

Tablo 3-4 Sağ sol ayrımı gözetilmeksizin dişlerde konjenital eksiklik görülme sıklığı

Diş No	11-21	12-22	13-23	14-24	15-25	16-26	17-27	18-28
Eksik Sayısı	9	138	21	30	53	2	13	137
%	1,2	17,6	2,7	3,8	6,8	0,3	1,7	17,5
Diş No	31-41	32-42	33-43	34-44	35-45	36-46	37-47	38-48
Eksik Sayısı	44	33	11	18	115	5	18	135
%	5,6	4,2	1,4	2,3	14,7	0,6	2,3	17,3

Tablo 3-5 Erkek bireylerin dişlerinde konjenital eksiklik görülme sıklığı

Diş No	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Eksik Sayısı	31	2	0	11	5	2	30	2	2	26	2	5	8	0	1	37
%	4	0,3	0	1,4	0,6	0,3	3,8	0,3	0,3	3,3	0,3	0,6	1	0	0,1	4,7
Diş No	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38
Eksik Sayısı	25	2	1	20	4	2	8	10	11	7	2	4	22	1	3	30
%	3,2	0,3	0,1	2,6	0,5	0,3	1	1,3	1,4	0,9	0,3	0,5	2,8	0,1	0,5	3,8

Tablo 3-6 Sağ sol ayrımı gözetilmeksizin erkek bireylerin dişlerinde konjenital eksiklik görülme sıklığı

Diş No	11-21	12-22	13-23	14-24	15-25	16-26	17-27	18-28
Eksik Sayısı	4	56	4	10	19	0	3	68
%	0,5	7,2	0,5	1,3	2,4	0	0,5	8,7
Diş No	31-41	32-42	33-43	34-44	35-45	36-46	37-47	38-48
Eksik Sayısı	21	15	4	8	42	2	5	55
%	2,7	1,9	0,5	1	5,4	0,3	0,6	7

Tablo 3-7 Kız bireylerin dişlerinde konjenital eksiklik görülme sıklığı

Diş No	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Eksik Sayısı	36	5	1	18	12	9	44	3	2	38	8	8	16	1	5	33
%	4,6	0,6	0,1	2,3	1,5	1,2	5,6	0,5	0,3	4,9	1	1	2	0,1	0,6	4,2
Diş No	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38
Eksik Sayısı	39	7	2	35	4	3	10	11	12	8	4	6	38	1	6	41
%	5	0,9	0,3	4,5	0,5	0,5	1,3	1,4	1,5	1	0,5	0,8	4,9	0,1	0,8	5,2

Tablo 3-8 Sağ sol ayrımı gözetilmeksizin kız bireylerin dişlerinde konjenital eksiklik görülme sıklığı

Diş No	11-21	12-22	13-23	14-24	15-25	16-26	17-27	18-28
Eksik Sayısı	5	82	17	20	34	2	10	69
%	0,6	10,5	2,1	2,6	4,3	0,3	1,3	8,8
Diş No	31-41	32-42	33-43	34-44	35-45	36-46	37-47	38-48
Eksik Sayısı	23	18	7	10	73	3	13	80
%	2,9	2,3	0,9	1,3	9,3	0,5	1,7	10,2

3.3 Tek ve Çift Taraflı Diş Eksikliği

Dişlere göre tek ve çift taraflı diş eksiklikleri tablo 3.9’da verilmiştir. Çift taraflı diş eksikliği, tek taraflı diş eksikliğine göre daha sık görülmektedir. Tek ve çift taraflı eksiklik oranlarına bakıldığında çift taraflı eksiklik en fazla üst ön kesici dişlerde, en az üst birinci büyük azı dişlerinde görülmektedir.

Erkek bireylerin dişlerinde tek ve çift taraflı diş eksikliği miktarları tablo 3.10’da verilmiştir. Tek ve çift taraflı eksiklikler oranına bakıldığında çift taraflı eksiklik en fazla alt ön keser dişlerde, en az üst birinci küçük azı dişlerinde görülmektedir.

Kız bireylerin dişlerinde tek ve çift taraflı diş eksikliği miktarları tablo 3.11’de verilmiştir. Tek ve çift taraflı eksiklikler oranına bakıldığında çift taraflı eksiklik en fazla alt ikinci büyükazı dişlerinde, en az alt birinci büyükazı dişlerinde görülmektedir.

Tablo 3-9 Dişlere göre tek ve çift taraflı diş eksiklikleri

Diş No	11-21	12-22	13-23	14-24	15-25	16-26	17-27	18-28
Tek Taraflı	1	22	3	8	7	0	3	27
Çift Taraflı	8	116	18	22	46	2	10	110
Çift/Tek Oranı %	8,00	5,27	6	2,75	6,22	0,00	3,33	4,07
Diş No	31-41	32-42	33-43	34-44	35-45	36-46	37-47	38-48
Tek Taraflı	6	9	1	4	33	1	2	17
Çift Taraflı	38	24	10	10	82	4	18	112
Çift/Tek Oranı %	6,33	2,66	10	2,50	2,48	4	9	6,58

Tablo 3-10 Erkek bireylerin dişlerinde tek ve çift taraflı diş eksikliği

Diş No	11-21	12-22	13-23	14-24	15-25	16-26	17-27	18-28
Tek Taraflı	0	12	0	4	3	0	1	14
Çift Taraflı	4	44	4	6	16	0	2	54
Çift/Tek Oranı %	0,00	3,67	0,00	1,50	5,33	0,00	2,00	3,86
Diş No	31-41	32-42	33-43	34-44	35-45	36-46	37-47	38-48
Tek Taraflı	1	3	0	2	12	0	1	11
Çift Taraflı	20	12	4	6	30	2	4	44
Çift/Tek Oranı %	20,00	4,00	0,00	3,00	2,50	0,00	4,00	4,00

Tablo 3-11 Kız bireylerin dişlerinde tek ve çift taraflı diş eksikliği

Diş No	11-21	12-22	13-23	14-24	15-25	16-26	17-27	18-28
Tek Taraflı	1	10	3	4	4	0	2	13
Çift Taraflı	4	72	14	16	30	2	8	56
Çift/Tek Oranı	4,00	7,20	4,66	4,00	7,50	0,00	4,00	4,30
Diş No	31-41	32-42	33-43	34-44	35-45	36-46	37-47	38-48
Tek Taraflı	5	6	1	2	21	1	1	6
Çift Taraflı	18	12	6	8	52	2	12	74
Çift/Tek Oranı	3,60	2,00	6,00	4,00	2,48	2,00	12,00	12,33

3.4 Sağ ve Sol Tarda Konjenital Diş Eksikliği

Tablo 3.12’de bireylerin sağ ve sol yarım çenelerindeki konjenital diş eksikliklerinin sayıları verilmiştir. Her iki tarafta da birbirine yakın değerler görülmektedir. Ancak çok az bir farkla da olsa konjenital diş eksikliği sol tarafta daha fazla görülmektedir.

Tablo 3-12 Sağ ve Sol tarafta cinsiyetlere göre diş eksiklikleri

		Kızlar	Erkekler	Toplam
Sağ	Eksik Sayısı	239	155	394
	Yüzde	30,56	19,82	50,38
Sol	Eksik Sayısı	227	161	388
	Yüzde	29,02	20,58	49,62
Toplam	Eksik Sayısı	466	316	782
	Yüzde	59,59	40,41	100,00

3.5 Konjenital Diş eksikliğinden Etkilenen Bireylerin Daimi Dentisyon Profili ve Genotipleri

Çeşitli kombinasyonlar ile birlikte ağızlarında konjenital diş eksikliği görülen hastaların eksik diş profilleri ile Pax9 geninde promotor bölgede -1031’inci ve -912 inci alanlardaki genotip yapısı tablo 3.13’te açık olarak belirtilmiştir. Tablodaki açık bölgeler üst çene bölgesini, koyu bölgeler ise alt çene bölgesini göstermektedir.

Tablo 3-13 Konjenital Diş eksikliğinden Etkilenen Bireylerin Daimi Dentisyon Profili ve Genotipleri

G-1031A	C-912T	Üst/Alt	8R	7R	6R	5R	4R	3R	2R	1R	1L	2L	3L	4L	5L	6L	7L	8L
GG	CC	1							*									
GA	CT	2							*			*						
GA	CT	3													*			
GA	CT	4				*									*			
GA	CT	5							*						*			
GG	CC	6				*			*			*						
GG	CC	7				*			*			*						
GA	CT	8							*									
GA	CC	9				*									*			
GA	CT	10				*												
GA	CT	11				*	*	*	*			*	*					
GA	CT	12				*			*	*	*	*	*		*			
GA	CT	13							*			*						
GG	CC	14							*			*						
GG	CC	15							*			*						
GA	CT	16				*												
GG	CC	17				*			*			*			*			
GG	CC	18				*									*			
GA	CT	19				*								*				
GG	CC	20							*			*						
GG	CT	21							*			*						
GG	CC	22				*												
GA	CT	23				*									*			
GA	CT	24			*				*	*	*	*			*			
GG	CC	25				*			*			*						

G-1031A	C-912T	Üst/Alt	8R	7R	6R	5R	4R	3R	2R	1R	1L	2L	3L	4L	5L	6L	7L	8L
GG	CC	26				*									*			
						*									*			
GA	CT	27																
										*	*							
GG	CT	28							*			*						
GG	CT	29				*												
GG	CC	30										*						
GA	CC	31				*	*		*			*			*			
						*									*			
GG	CC	32				*									*			
GG	CC	33				*	*	*	*			*	*	*	*			
						*	*	*	*	*	*	*	*	*	*			
GG	CC	34							*			*						
GG	CC	35				*	*							*	*			
							*							*				
GG	CC	36				*	*	*	*			*	*	*	*			
						*	*	*	*			*	*	*	*			
GG	CC	37																
						*									*			
GG	CC	38							*			*						
GG	CC	39				*												
															*			
GA	CT	40																
										*	*							
GA	CT	41				*												
															*			
GA	CT	42							*			*						
GA	CT	43							*			*						
GA	CT	44	*															*
			*															*
GA	CT	45							*			*						
			*															*
GA	CT	46							*			*						
GA	CT	47	*	*		*									*		*	*
			*	*		*												
GA	CT	48										*						
GA	CT	49							*			*						
GA	CC	50																
						*									*			

Tablo 3.13 Konjenital Diş eksikliğinden Etkilenen Bireylerin Daimi Dentisyon Profili ve Genotipleri (devam)

G-1031A	C-912T	Üst/Alt	8R	7R	6R	5R	4R	3R	2R	1R	1L	2L	3L	4L	5L	6L	7L	8L
GG	CC	51				*												
GA	CC	52							*			*						
GG	CC	53							*		*							
GA	CT	54							*			*						
GG	CC	55							*									
AA	TT	56	*															*
GA	CT	57	*			*						*						*
GG	CC	58							*			*						*
GA	CT	59	*	*		*									*		*	*
GA	CT	60	*	*		*			*			*			*		*	*
GA	CT	61				*												
GG	CC	62				*									*			
GA	CT	63				*									*			
GA	CT	64				*									*			
GG	CC	65							*						*			
GA	CT	66				*												
GA	CT	67							*									
GA	TT	68							*			*						
GG	CC	69							*									
GG	CC	70							*			*						
GG	CC	71				*												
GG	CC	72								*		*						
GG	CC	73	*															*
GG	CC	74																*
GG	CC	75		*														
										*								

Tablo 3.13 Konjenital Diş eksikliğinden Etkilenen Bireylerin Daimi Dentisyon Profili ve Genotipleri (devam)

G-1031A	C-912T	Üst/Alt	8R	7R	6R	5R	4R	3R	2R	1R	1L	2L	3L	4L	5L	6L	7L	8L
GG	CC	76							*			*						
GA	CT	77							*			*						
			*															*
GA	CT	78				*									*			
						*									*			
AA	TT	79																
						*									*			
GG	CC	80	*						*			*						*
GA	CT	81																
						*									*			
GG	CC	82																
						*									*			
GA	CT	83	*						*			*						*
			*															*
GG	CC	84	*															*
			*															*
GA	TT	85							*			*						
GA	TT	86							*									
						*									*			
GA	CT	87	*															*
			*															*
GG	CT	88							*			*						
GG	CC	89							*									
GA	CC	90	*			*									*			*
			*															*
GA	TT	91							*			*						
GA	CT	92					*	*	*	*		*	*					
						*			*						*			
GA	CT	93	*						*									*
			*															*
AA	TT	94							*			*						
GA	CT	95							*									
															*			
GA	CT	96	*						*			*						*
			*															*
GG	CC	97																
			*	*													*	*
GA	CT	98	*			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
			*			*			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
GA	CT	99	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
GA	CT	100							*									
			*															*

Tablo 3.13 Konjenital Diş eksikliğinden Etkilenen Bireylerin Daimi Dentisyon Profili ve Genotipleri (devam)

G-1031A	C-912T	Üst/Alt	8R	7R	6R	5R	4R	3R	2R	1R	1L	2L	3L	4L	5L	6L	7L	8L
GA	CT	101						*										
GG	CC	102				*							*					
GG	CC	103	*															*
GG	CC	104	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
GA	CC	105	*		*	*	*	*	*	*		*	*	*	*	*	*	*
GA	CT	106	*						*			*			*			*
GA	CT	107				*	*		*			*	*	*	*			*
AA	TT	108							*			*						
GA	CT	109				*												
AA	TT	110				*												
GA	CT	111																
GA	CT	112				*												
GA	CT	113				*	*	*	*			*	*		*			
GA	CT	114							*			*						
GA	CT	115	*															*
GA	CT	116	*						*			*						*
AA	CC	117							*	*	*	*						
GA	CC	118							*			*						*
GA	CC	119				*												
AA	TT	120																
AA	TT	121				*												
GA	CC	122	*						*									*
GG	CC	123							*			*						
GA	CT	124																
AA	TT	125																

Tablo 3.13 Konjenital Diş eksikliğinden Etkilenen Bireylerin Daimi Dentisyon Profili ve Genotipleri (devam)

G-1031A	C-912T	Üst/Alt	8R	7R	6R	5R	4R	3R	2R	1R	1L	2L	3L	4L	5L	6L	7L	8L
GA	CT	126				*												
GG	CC	127							*			*						
GG	CC	128							*			*						*
GG	CC	129	*							*	*							*
GG	CC	130	*												*			*
GA	CT	131				*												
AA	TT	132							*			*						
GA	CT	133				*				*					*			
GG	CC	134																*
GA	CT	135	*															*
GG	CC	136	*			*									*			*
GA	CT	137	*															*
GG	CC	138																*
GG	CC	139	*															*
GA	CT	140							*									*
AA	TT	141							*			*						
GA	CT	142	*				*							*				
GG	CC	143	*			*	*		*			*		*	*	*	*	*
GA	CT	144	*			*					*			*	*	*	*	*
GA	CT	145							*			*						
GA	CT	146	*															*
GG	CC	147							*			*						
GG	CC	148												*				
GA	CT	149	*						*									*
GA	CT	150				*												
															*			

Tablo 3.13 Konjenital Diş eksikliğinden Etkilenen Bireylerin Daimi Dentisyon Profili ve Genotipleri (devam)

G-1031A	C-912T	Üst/Alt	8R	7R	6R	5R	4R	3R	2R	1R	1L	2L	3L	4L	5L	6L	7L	8L
GG	CC	151	*						*			*						*
			*															*
AA	TT	152										*						
										*	*							
GG	CC	153										*						
GG	CC	154																
															*			
GA	CT	155																
						*									*			
GA	CC	156	*															*
			*															
GA	CT	157	*															
			*															*
GG	CC	158																
																		*
GG	CC	159	*															
			*															*
AA	TT	160																
			*															*
GA	CT	161																*
																		*
GA	CT	162																*
GG	CC	163																*
GG	CC	164																
			*															*
GA	CT	165																*
			*															*
GA	CT	166	*															*
			*															*
GG	CC	167							*			*						
GA	CT	168																
															*			
GA	CT	169										*						
									*									
GA	CT	170							*									*
GA	CT	171	*	*			*	*	*			*		*				*
			*	*		*				*		*			*	*	*	*
GG	CC	172	*			*									*			*
			*			*								*				*
GA	CT	173	*															
GA	CT	174							*			*						*
																		*
GG	CC	175	*						*									*
			*															*

Tablo 3.13 Konjenital Diş eksikliğinden Etkilenen Bireylerin Daimi Dentisyon Profili ve Genotipleri (devam)

G-1031A	C-912T	Üst/Alt	8R	7R	6R	5R	4R	3R	2R	1R	1L	2L	3L	4L	5L	6L	7L	8L
GA	CT	176										*						
GA	CT	177				*			*			*		*				
			*			*								*				
GA	CT	178	*			*								*				*
			*	*					*								*	*
GA	CT	179	*	*													*	*
			*	*														*
GA	CT	180	*				*											*
						*								*				*
AA	TT	181							*			*						
GA	TT	182										*						
						*												
GG	CC	183	*															*
			*			*												*
GG	CC	184																
														*				
GA	CT	185	*						*			*						
			*			*					*				*			*
GG	CC	186																*
GG	CC	187																
							*			*	*			*				
GA	CT	188				*			*			*			*			
						*								*				
GA	CT	189																
										*	*							
GG	CC	190	*															
			*															*
GG	CC	191	*															*
			*				*							*				*
GA	CT	192	*						*			*						*
			*															*
GA	CT	193	*	*					*			*					*	*
			*	*													*	*
GA	CT	194	*						*			*						*
			*															*
GG	CC	195	*					*					*					*
			*												*			*
GA	CT	196	*									*						*
															*			*
AA	TT	197																*
GA	CT	198																
			*			*												*
GG	CC	199																
						*			*									
GA	CT	200							*			*						*

Tablo 3.13 Konjenital Diş eksikliğinden Etkilenen Bireylerin Daimi Dentisyon Profili ve Genotipleri (devam)

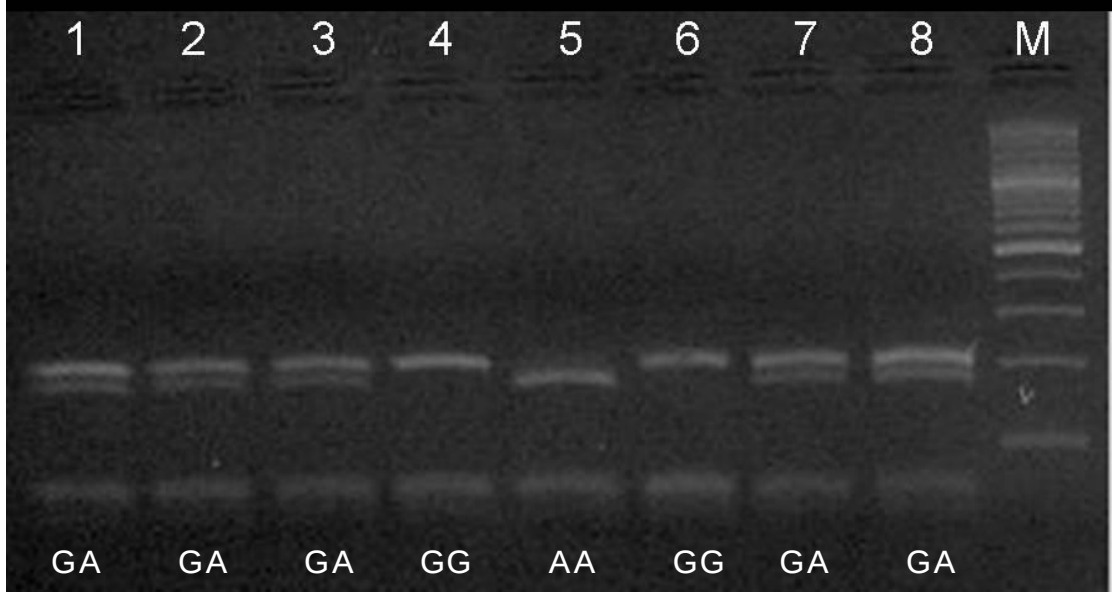
Tablo 3-14 Kontrol ve test guruplarında Pax9, allel ve genotip dağılımı

TNP	Kontrol Gurubu		Hipodonti		3. Büyük Azı Hipodontisi		3. Büyükağı Hariç	
	N	%	n	%	n	%	n	%
G-1031A Alleli								
A	81	35.5	139	34.75	77	37.7	62	31.6
G	147	64.5	261	65.25	127	62.3	134	68.4
p*			0.913		0.705		0.458	
OO (%95GA)			1.03		0.908		1.191	
Genotip								
AA	12	10.5	15	7.5	7	6.8	8	8.2
GA	57	50	109	54.5	63	61.7	46	46.9
GG	45	39.5	76	38	32	31.5	44	44.9
p [#]			0.579		0.207		0.676	
Genotip								
AA	12	10,5	15	7.5	7	7.7	8	8.1
GA/GG	102	89.5	185	92.5	85	92.3	90	91.9
p*			0.477		0.633		0.725	
OO (%95GA)			1.45		1.428		1.323	
GA	57	35.8	109	37	63	42.5	46	33.8
GG/AA	102	64.2	185	63	85	57.5	90	66.2
p*			0.876		0.276		0.809	
OO (%95GA)			0.948		0.753		1.093	
C-912T Alleli								
T	81	35.5	136	34	79	38.3	58	29.5
C	147	64.2	264	66	127	61.7	138	70.5
p*			0.765		0.611		0.232	
OO (%95GA)			1.06		0.885		1.311	
Genotip								
TT	14	12.2	19	9.5	11	10.6	8	8.1
CT	53	46.4	98	49	57	55.3	42	42.8
CC	47	41.4	83	41.5	35	34.1	48	49.1
p [#]			0.730		0.426		0.423	
Genotip								
TT	14	12.2	19	9.5	11	10.6	8	8.1
CT/CC	100	87.8	181	90.5	92	89.4	90	91.9
p [#]			0.561		0.876		0.451	
OO (%95GA)			1.373		1.171		1.575	
CT	53	46.4	98	49	57	55.3	42	42.8
TT/CC	61	53.6	102	51	46	44.7	56	57.2
p*			0.756		0.244		0.695	
OO (%95GA)			0.904		0.701		1.158	
TNP, Tek Nükleotidli Polimorfizm; OO, Odds Oranı; GA, Güvenlik Aralığı								
*, Ki kare testi p değeri								
[#] , Normal SPSS testi								

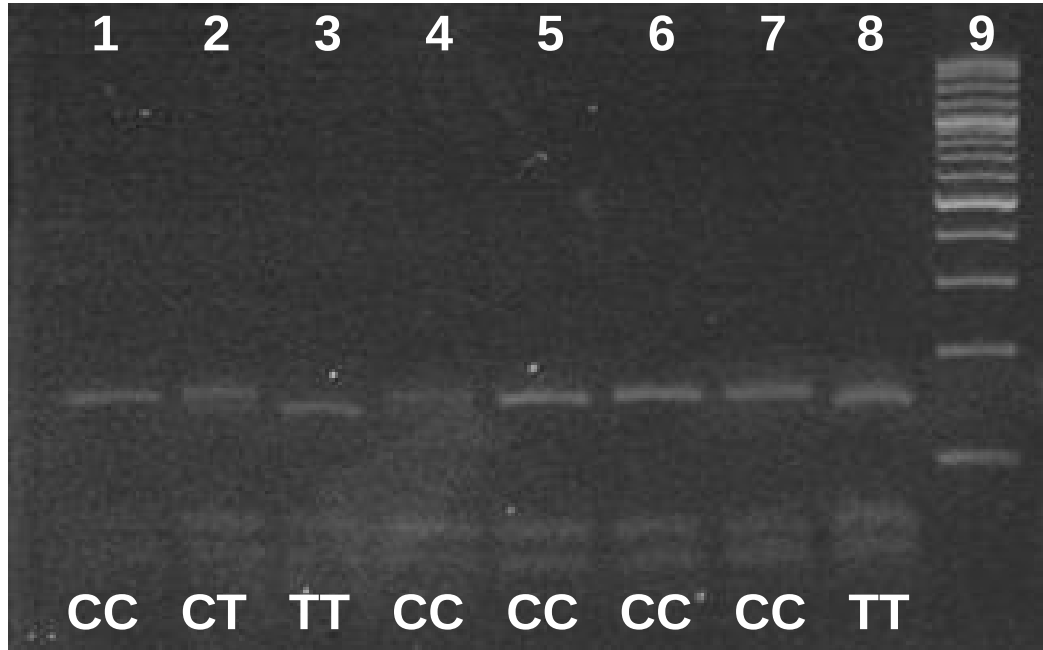
Tablo 3-15 Kontrol ve test gurubunda Pax9 Geninin Haplotip Frekansı

Haplotip G-1031A/C-912T	Kontrol Gurubu		Test Gurubu		p-Değeri
	n	%	n	%	Odds Oranı (GA%)
Allel					
AC	55	54,5	46	45,5	0.05 (ki-kare)
GT	55	34,8	103	65,2	
GC	100	35,7	180	64,3	
AT	67	37,2	113	62,8	
AC	55	31.1	46	10.4	0.001(Ki-kare)
GT+GC+AT	122	68.9	396	89.6	3.88 (Odds)
					GA(2,49 – 6,03)
AC+GC+AT	122	68.9	339	76.6	0.05 (ki kare)
GT	55	31.1	103	23.4	0.673 (Odds)
					GA(0,458 – 0,993)
Genotip					
GT/GT	0	0	0	0	0,622 (ki-kare)
AT/GC	53	43.4	94	43.1	
AC/AC	0	0	1	0.4	
AC/GC	2	1.6	10	4.5	
AT/GT	2	1.6	5	2.3	
AC/GT	53	43.4	94	43.1	
AT/AC	0	0	0	0	
AT/AT	12	9.9	14	6.4	
AC/GT	53	43,4	94	43,1	0.926 (ki-kare)
GT/GT+AT/GC+AC/GC+AT/GT+	69	56,6	125	56,9	
AC/GT+AT/AC+AT/AT					
OO, odds oranı; GA, güvenlik aralığı					

3.6 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) - Restriksiyon Fragment Lenght Polymorphism (RFLP) Jel Elektroferez Görüntüsü



Şekil 3-1 Sekiz farklı bireyden spesifik primerler kullanılarak elde edilen 202 bp PCR ürünün *BsnI* restriksiyon enzim ile kesimi sonucu oluşan genotipler. Kuyucuklar 1 – 3, 7, 8 (vakalar no: 297, 299, 301, 309, 311): GA heterozigot; Kuyucuklar 4 ve 6 (Vaka no: 302,304): GG genotip; Kuyucuk 5 (vaka no: 303): AA genotipi; Kuyucuk 9: 100 bp markır



Şekil 3-2 Sekiz farklı bireyden spesifik primerler kullanılarak elde edilen 202 bp PCR ürünün *TruI* restriksiyon enzim ile kesimi sonucu oluşan genotipler. Kuyucuk 2 (vaka no: 301): CT heterozigot; Kuyucuklar 1, 4 – 7; (Vaka no: 300, 304, 305, 306, 307): CC genotip; Kuyucuk 3, 8 (vaka no: 303, 308): TT genotipi; Kuyucuk 9: 100 bp markır

RFLP yöntemi ile restriksiyon enzim kesimi sonrasında elde edilen jel görüntüleri şekil 3.1 ve şekil 3.2 de her bir polimorfik bölge için ayrı ayrı verilmiştir.

Yapılan PZR analizi ve restriksiyon enzim kesimi sonucunda hastaların Pax9 geninin G-1031A polimorfik bölgesinde A allelinin hipodonti gurubunda bulunma oranı % 34,75 (139 adet), daimi üçüncü büyük azı eksikliği gurubunda % 37,7 (77 adet), üçüncü büyük azılar hariç olan diş eksikliği gurubunda ise %31,60 (62 adet) ve kontrol gurubunda % 35,5 (81 adet), olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizde guruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 3.14). G allelinin kontrol gurubunda bulunma oranı %64,5 (147 adet), hipodonti gurubunda %65,25 (261 adet), daimi üçüncü büyük azı eksikliği gurubunda %62,3 (127 adet) ve üçüncü büyük azılar hariç olan diş eksikliği gurubunda ise %68,40 (134 adet) olarak bulunmuştur. Bu guruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 3,14).

AA, GA ve GG genotip frekansları hipodonti gurubunda sırasıyla %7,5 (15 adet), %54,5 (109 adet) ve %38 (76 adet); 3. büyük azı hipodontisi gurubunda sırasıyla %6,8 (7 adet), %61,7 (63 adet) ve %31,5 (32 adet); üçüncü büyük azı dişi hariç olan diğer eksik dişli gurupta sırasıyla %8,2 (8 adet), %46,9 (46 adet) ve %44,9 (44 adet); kontrol gurubunda ise sırasıyla %10,5 (12 adet), %50 (57 adet), ve 39,5 (45 adet) olarak kayda geçmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmelere baktığımız zaman kontrol gurubuyla hasta gurupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmadığı görülmüştür ($p>0,05$) (Tablo 3.14).

AA genotipi ile GA/GG genotipleri karşılaştırılmış ve tablo 3.14'te belirtilmiştir. Buna göre AA genotipi ile GA/GG genotiplerinin sırasıyla kontrol gurubunda bulunma oranı %10,5 (12 adet) ve %89,5 (102 adet), hipodonti gurubunda olma oranı %7,5 (15 adet) ve %92,5 (185 adet), üçüncü büyük azı hipodontisi gurubunda bulunma oranı %7,7 (7 adet) ve %92,3 (85 adet) ve son olarak üçüncü büyük azı dişi hariç olan diğer eksik dişli gurupta bulunma oranı %8,1 (8 adet), %91,9 (90 adet) olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmelere baktığımız zaman kontrol gurubuyla hasta gurupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmadığı görülmüştür ($p>0,05$)(Tablo 3.14).

GA genotipi ile GG/AA genotipleri karşılaştırılmış ve tablo 3.14'te belirtilmiştir. Buna göre GA genotipi ile GG/AA genotiplerinin sırasıyla kontrol gurubunda bulunma oranı %35,8 (57 adet) ve %64,2 (102 adet), hipodonti gurubunda

olma oranı %37 (109 adet) ve %63 (185 adet), üçüncü büyük azı hipodontisi gurubunda bulunma oranı %42,5 (63 adet) ve %57,5 (85 adet) ve son olarak üçüncü büyük azı dişi hariç olan diğer eksik dişli gurupta bulunma oranı %33,8 (46 adet), %66,2 (90 adet) olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmelere baktığımız zaman kontrol gurubuyla hasta gurupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmadığı görülmüştür ($p>0,05$) (Tablo 3.14).

C-912T polimorfizm bölgesindeki allellerin görülme oranları ve guruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar aşağıdaki gibidir; Bu polimorfik bölgedeki T allelinin kontrol gurubunda bulunma oranı %35,5 (81 adet), hipodonti gurubunda %34 (136 adet), daimi üçüncü büyük azı eksikliği gurubunda %38,3 (79 adet) ve üçüncü büyük azılar hariç olan diş eksikliği gurubunda ise %29,5 (58 adet) olarak bulunmuştur. C allelinin kontrol gurubunda bulunma oranı %64,2 (147 adet), hipodonti gurubunda %66 (264 adet), daimi üçüncü büyük azı eksikliği gurubunda %61,7 (127 adet) ve üçüncü büyük azılar hariç olan diş eksikliği gurubunda ise %70,5 (138 adet) olarak bulunmuştur. Bu guruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 3,14).

TT, CT ve CC genotip frekansları hipodonti gurubunda sırasıyla %9,5 (19 adet), %49 (98 adet) ve %41,5 (83 adet); 3. büyük azı hipodontisi gurubunda sırasıyla %10,6 (11 adet), %55,3 (57 adet) ve %34,1 (35 adet); üçüncü büyük azı dişi hariç olan diğer eksik dişli gurupta sırasıyla %8,1 (8 adet), %42,8 (42 adet) ve %49,1 (48 adet); kontrol gurubunda ise sırasıyla %12,2 (14 adet), %46,4 (53 adet), ve 41,4 (47 adet) olarak gözlenmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmelere baktığımızda zaman kontrol gurubuyla hasta gurupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmadığı görülmektedir ($p>0,05$) (Tablo 3.14).

TT genotipinin CT/CC genotipleri ile ilişkisine bakıldığında her iki gurubunda sırasıyla kontrol gurubunda bulunma oranı %12,2 (14 adet) ve %87,8 (100 adet), hipodonti gurubunda olma oranı %9,5 (19 adet) ve %90,5 (181 adet), üçüncü büyük azı hipodontisi gurubunda bulunma oranı %10,6 (11 adet) ve %89,4 (92 adet) ve son olarak üçüncü büyük azı dişi hariç olan diğer eksik dişli gurupta bulunma oranı %8,1 (8 adet), %91,9 (90 adet) olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmede kontrol gurubuyla hasta gurupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 3.14).

CT genotipi ile TT/CC genotipleri karşılaştırılmış ve sonuçlar tablo 3.14'te belirtilmiştir. Buna göre CT genotipi ile TT/CC genotiplerinin sırasıyla kontrol gurubunda bulunma oranı %46,4 (53 adet) ve %53,6 (61 adet), hipodonti gurubunda olma oranı %49 (98 adet) ve %51 (102 adet), üçüncü büyük azı hipodontisi gurubunda bulunma oranı %55,3 (57 adet) ve %44,7 (46 adet) ve son olarak üçüncü büyük azı dişi hariç olan diğer eksik dişli grupta bulunma oranı %42,8 (42 adet), %57,2 (56 adet) olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda kontrol gurubuyla hasta gurupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$) (Tablo 3.14).

Araştırılan her iki polimorfik bölgenin haplotip dağılımı, Hardy-Weinberg denklığı ile uyumlu olarak bulundu ($p>0,09$). A – C ve G – T allelleri dengesiz bağlanıma (linkage disequilibrium) sahip olduğu anlaşıldı. Araştırmaya katılan 314 bireyden GT/GT, AT/AC haplotipine sahip kimse olmamakla beraber ve AC/AC genotipinden de bir adet vardır. Alleller ve genotipler olarak ayarlanan haplotiplerin dağılımı tablo 3.15'te gösterilmektedir. Alleller olarak ayarlanmış haplotipler karşılaştırıldığında kontrol ve test gurupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($P=0,05$). AC haplotipe sahip bireyler, diğer haplotip guruplarıyla karşılaştırıldıklarında, konjenital diş eksikliği vakalarında kontrol gurubuna nazaran istatistiksel olarak anlamlı bir ölçüde az oranda oldukları görülmektedir ($OO=3,88$; $GA=0,95$; $p = 0,001$). GT haplotipine sahip bireylerin oranına bakıldığı zaman istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde test gurubunda daha az oranda olduğu tespit edilmiştir ($OO=0,67$; $GA=0,458 - 0,993$; $p=0,045$). Haplotipler genotip olarak düzenlenip analiz edildikleri zaman kontrol ve test gurupları arasında istatistiksel açıdan herhangi bir fark bulunamamıştır ($p= 0,622$). AT/GC ve AC/GT haplotipleri de kontrol ve hasta gurubunda sırasıyla % 43.4 ve %43.1 oranında bulunmaktadır. Ancak bu guruplarda çıkan veriler de istatistiksel açıdan önemli değildir. AC/GC haplotipi hasta gurubunda test gurubuna göre 3 kat daha sıklıkta bulunmakta olduğu görülmüştür ancak bu da istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($p>0,05$) (hasta gurubunda % 4,5, kontrol gurubunda % 1,6).

Pax9 promotor bölgesindeki test edilen G-1031A ve T-912C polimorfizm bölgelerinin genotiplerinin tüm varyasyonlarıyla çeşitli konjenital diş eksikliği görülen diş guruplarının karşılaştırması tablo 3.16'da verilmiştir. Yapılan istatistiksel

analiz sonucunda eksik diş gurupları ile genotipik polimorfizm varyasyonları arasında önemli bir farka rastlanmamıştır (P=0,171) (Tablo 3.16). Bunun üzerine G-1031A bölgesindeki polimorfizm ile C-912T bölgesindeki polimorfizmler ayrı ayrı diş eksiklikleri gurubuyla karşılaştırılmış ve sonuçlar tablo 3.17 ve 3.18’de gösterilmiştir. Sonuç olarak C-912T polimorfizmi ile konjenital diş eksikliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken (p = 0,158) (tablo 3.18), G-1031A polimorfizmi ile konjenital diş eksikliği arasında istatistiksel açıdan önemli bir ilişki tespit edilmiştir (p = 0,026) (tablo 3.17).

Tablo 3-16 Pax9 promotor bölgesindeki test edilen G-1031A ve T-912C polimorfizm bölgelerinin genotiplerinin tüm varyasyonlarıyla çeşitli konjenital diş eksikliği görülen diş guruplarının karşılaştırması

	Konjenital diş eksikliği gurupları							total
	12-22	14-24	15-25	35-45	31-32-41-42	18-28-38-48	diğer	
GGCC	57	26	12	41	26	82	52	296
	%19,3	%8,8	%4,1	%13,9	%8,8	%27,7	%17,6	%100
GGCT	6	1	0	0	0	1	0	8
	%75	%12,5	%0	%0	%0	%12,5	%0	%100
GGTT	0	0	0	0	0	0	0	0
	%0	%0	%0	%0	%0	%0	%0	%100
GACC	6	2	1	10	2	11	0	32
	%18,8	%6,3	%3,1	%31,3	%6,3	%34,4	%0	%100
GACT	56	18	13	50	40	124	33	334
	%16,8	%5,4	%3,9	%15	%12	%37,1	%9,9	%100
GATT	4	3	2	4	4	11	4	32
	%12,5	%9,4	%6,3	%12,5	%12,5	%34,4	%12,5	%100
AACC	2	0	0	0	0	0	0	2
	%100	%0	%0	%0	%0	%0	%0	%100
AACT	0	0	0	0	0	0	0	0
	%0	%0	%0	%0	%0	%0	%0	%100
AATT	7	3	2	10	5	22	8	57
	%12,3	%5,3	%3,5	%17,5	%8,8	%38,6	%14	%100
TOTAL	138	53	30	115	77	251	97	761
	%18,1	%7	%3,9	%15,1	%10,1	%33	%12,7	%100
							P=0,171 (X ² testi)	

Tablo 3-17 G-1031A bölgesindeki polimorfizmin eksik dişlerle olan ilişkisi

	Konjenital diş eksikliği grupları							total
	12-22	14-24	15-25	35-45	31-32-41-42	18-28-38-48	diğer	
GG	63	27	12	41	26	84	52	305
	%20,7	%8,9	%3,9	%13,4	%8,5	%27,5	%17	%100
GA	66	23	16	64	36	165	37	407
	%16,2	%5,7	%3,9	%15,7	%8,8	%40,5	%9,1	%100
AA	9	3	2	10	5	22	8	59
	%15,3	%5,1	%3,4	%16,9	%8,5	%37,3	%13,6	%100
TOTAL	138	53	30	115	67	271	97	771
	%18,1	%17,9	%6,9	%3,9	%14,9	%8,7	%35,1	%100
								P= 0,026

Tablo 3-18 C-912T bölgesindeki polimorfizmin eksik dişlerle olan ilişkisi

	Konjenital diş eksikliği grupları							total
	12-22	14-24	15-25	35-45	31-32-41-42	18-28-38-48	diğer	
CC	63	28	13	51	28	93	52	328
	%19,2	%8,5	%4	%15,5	%8,5	%28,4	%15,9	%100
CT	62	19	13	50	40	1134	33	351
	%17,7	%5,4	%3,7	%14,2	%11,4	%38,2	%9,4	%100
TT	11	6	4	14	9	33	12	89
	%12,4	%6,7	%4,5	%15,7	%10,1	%37,1	%13,5	%100
TOTAL	138	53	30	115	67	271	97	771
	%17,7	%6,9	%3,9	%15	%10	%33,9	%12,6	%100
								P= 0,158

4. TARTIŞMA

Konjenital diş eksikliği, insanlarda çok sık karşılaşılan bir anomali olması sebebiyle birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Literatür incelendiği zaman bu anomalinin nedenleri, etiyolojik faktörleri, genetik alt yapısı, herediter geçişleri, hastalara uygulanan tedavi seçenekleri ile alakalı çalışmalara rastlanmaktadır.

Genetik bilimi her geçen gün gelişmekte, yeni çıkan teknolojik imkanlar kullanılarak hastalıkların etiyolojisi daha detaylı olarak incelenip nedenlerinin tam olarak anlaşılması hususunda yol alınmaktadır. İnsan Genom Projesi bittikten sonra hangi genlerin hangi proteinleri kodladığı açığa çıkmış, bu sayede tümünden gelim metodu kullanılarak bir protein ile alakalı bozukluk ve hastalıkların genetik alt yapısına inilmeye başlanmıştır. Günümüzde de bu çalışmalar hızla devam etmektedir.

Bizim çalışmamız konjenital diş eksikliğine sahip bireylerde diş morfogenezinde rol oynayan Pax9 adlı genin 2 bölgesinde oluşan polimorfizmin konjenital diş eksikliği ile ilişkisini incelemekle birlikte; birey başına düşen konjenital eksik diş miktarı, her bir dişin konjenital eksik olarak görülme sıklığı, sağ ve sol tarafta konjenital diş eksikliği yönünden bir ayrım olup olmadığı ve kız ve erkek bireylerdeki diş eksikliklerinin oranlarının incelenmesini kapsayan nadir çalışmalardandır.

Araştırmamızda 200 konjenital eksik dişe sahip bireyde toplam 782 dişin eksik olduğu görülmüştür. Birey başına 3,91 eksik diş düşmektedir. Bu rakam kızlarda 3,82, erkeklerde ise 4,05'tir. Birey başına düşen eksik diş miktarını bazı araştırmacılar tarafından dikkate alınmasa da bazıları da üzerinde durmuşlardır. Magnusson (1977), 1116 kişilik bir gurubun diş eksikliğini incelediği çalışmasında sonuç olarak birey başına 1,9 diş eksikliği tespit etmiştir. Ancak Magnusson ikinci ve üçüncü büyük azı diş eksikliklerini çalışmasına dahil etmediği için kişi başına düşen diş eksikliği bu kadar düşük çıkmış olabilir. Sisman ve arkadaşları (2007) da yaptıkları çalışmada birey başına düşen diş eksikliğini 1,94 olarak bulmuşlardır. Bu oran da kızlarda 2,02, erkeklerde ise 1,76'dır. Bu araştırmacılar da üçüncü molar dişin eksikliğini çalışmalarına dahil etmemişlerdir. Göyenc (1990), yaptığı

araştırmada birey başına düşen eksik diş miktarını kızlarda 2,05, erkeklerde 2,35 ve tüm grup için de 2,345 olarak bulmuştur. Ortalamalarda karşılaşılan farklılığın temelinde araştırmacıların üçüncü büyük azı dişini araştırmaya dahil etmemiş olmaları olabilir.

Literatür incelendiği zaman genel olarak eksikliği en sık görülen dişlerin alt ikinci küçük azı ve üst yan kesici dişler olduğu anlaşılr. Ancak bu dişlerden hangisinin daha fazla eksik olduğu hususunda fikir birliği bulunmamakta, çeşitli yazarlar, çeşitli görüşler öne sürmektedir. Gelgör ve arkadaşlarının (2005) yaptığı bir çalışmaya göre üçüncü büyük azı dişler hariç erkek ve kız değerleri olarak sırasıyla en sık oranda eksiklik görülen dişlerin alt ikinci küçük azılar (%1,6 ve %2), üst yan kesici dişler (%1,1 ve %1,5), sol alt birinci büyük azı dişleri (%1,3 ve %1,4) olduğu bildirilmiştir. Bu bulgulara paralel olarak Haris ve Clark (2008), en sık eksikliği görülen dişlerin alt ikinci premolarlar olduğunu, bunu çok az farkla üst yan kesicilerin izlediğini belirtmişlerdir. Altuğ-Ataç ve Erdem'e (2007) göre Türk toplumunda en sık eksikliği görülen dişler üst yan kesici dişlerdir. Davis'e (1987) göre en sık rastlanan eksik dişler %58,7 oranı ile alt kesici dişlerdir. Nik-Hussein (1989) de Altuğ-Ataç ve Erdem'in (2007) bulgularını doğrulamış ve onlar da en sık konjenital olarak eksik olan dişlerin üst yan kesici dişler olduğunu, bunu takiben alt yan kesici dişler ve ardından da alt ikinci küçük azı dişin gelmekte olduğunu bildirmiştir (Nik-Hussein 1989). Bazı yazarlar da (Hunstadbraten 1973, Maklin ve ark. 1979, Silverman ve Ackerman 1979, Rasmussen 1999, Creton ve ark. 2009, Rolling ve Poulsen 2009) alt ikinci premolarların en sık eksik olarak görüldüğünü bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise eksikliği en sık görülen dişler üst yan kesici dişlerdir. Bunu sırasıyla alt ikinci küçük azı dişler ve üst ikinci küçük azı dişler izlemektedir. Bizim çalışmamızın sonuçları da daha önce Türk toplumunda çalışma yapan Göyenç (1990) ve Altuğ-Ataç ve Erdem'in (2007) çalışmasının sonuçları ile uyumludur. Çalışmamızın sonucu aynı zamanda Brekhus ve arkadaşları (1944) ile Muller ve arkadaşlarının (1970) yaptıkları diğer toplum çalışmalarıyla da uyum göstermektedir.

Rasmussen (1999) en az eksikliği görülen dişin üst santral kesiciler olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda ise en stabil olarak görülen dişler alt ve üst birinci büyük azı dişler olarak karşımıza çıkmaktadır. Garn ve arkadaşları (1963) eksikliği en sık görülen dişlerin bir diş dizisinin en distalindeki diş olduğunu ileri

sürmüşlerdir. Kesici dişler bölgesinde lateral kesicinin, küçük azı dişleri bölgesinde ikinci küçük azıların ve büyük azılar bölgesinde ise üçüncü büyük azı dişlerin eksikliklerinin en sık görülmesi bu teoriyi kanıtlamaktadır. Bizim çalışmamızın sonuçları da bu teoriyi kanıtlar niteliktedir. Tavajohi-Kermani ve arkadaşları (2002) ile Rolling ve Poulsen (2009) da bu görüştedirler. Bu yazarların genel kanısı diş eksikliğinin oluşum mekanizması ile hangi dişlerin eksik olacağının belirlenmesinin aynı genetik temellere dayanıyor olmasıdır. Neden en distal dişlerin etkilendiği hususunda ayrıntılı düşünceler belirtmemektedirler.

Tunç ve Koyutürk'ün (2006) Türk toplumunda yaptığı araştırmada diş eksikliğinin cinsiyete göre dağılımı değerlendirildiğinde kızlarda (%9,5), erkeklerde (%7,7) göre daha fazla diş eksikliği gözleendiği, ancak aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı bildirilmiştir (Tunc ve Koyuturk 2006). Göyenç'e (1990) göre kızlarda (%70) erkeklerle nazaran (%30) daha sık konjenital diş eksikliği görülmektedir. Bizim çalışmamızda ise kızlarda konjenital diş eksikliği görülme sıklığı %61 iken erkeklerde bu oran %39 olmaktadır. Bu da bizim bulgumuzun Göyenç'in (1990) bulgularıyla paralel olduğunu göstermektedir. Muller (1970) ve Polder (2004) de aynı çizgide sonuç bildirmişlerdir. Konjenital diş eksikliğinin erkeklerde daha sık gözleendiğini bildiren araştırmalar da vardır (Whittington ve Durward 1996). Bazı araltırmacılar ise kızlarla erkekler arasında konjenital diş eksikliği yönünden önemli bir fark bulunmadığını söylemektedirler (Maklin ve ark. 1979, Davis 1987, Lynham 1990, Silva Meza 2003, Endo ve ark. 2006).

Literatür incelendiğinde konjenital diş eksikliğine tek taraflı ve ya çift taraflı ya da sağ ve solda eşit olarak rastlamak mümkündür. Göyenç (1990) ve Maklin (1979) konjenital diş eksikliği görülme yönü olarak sağ ve sol tarafta herhangi bir fark görmemiş, her iki tarafta da görülebileceğini bildirmişlerdir. Pinho ve arkadaşları (2005) da sağ tarafta daha fazla diş eksikliği görüldüğünü rapor etmiştir. Tunc ve Koyutürk (2006), Türk popülasyonu üzerinde yaptıkları çalışmada ise diş eksikliğinin sol tarafta daha fazla görüldüğünü belirtirler. Bizim çalışmamızda da sağ tarafta görülen konjenital diş eksikliği oranı %50,38, sol tarafta ise %49,62 olarak tespit edilmiştir. Bu bulguya göre konjenital diş eksikliğinin sağda veya solda görülmesi açısından oranlar arasında büyük bir fark olmadığı, her iki tarafta da birbirine yakın oranlarda diş eksikliği görüldüğü söylenebilir.

Çalışmamızda çift taraflı diş eksikliği, tek taraflı diş eksikliğine göre daha sık görülmektedir. Bu durum Göyenc (1990) ve Chan ve arkadaşlarının (2009) yaptıkları çalışma sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Neden bu eksikliklerin daha çok çift taraflı olarak görüldüğü sorusuyla alakalı olarak pek yorum yapılmamıştır. Biz de bu sorunun muhtemel alt yapısı olarak genetik ve çevresel faktörlerin bir kombinasyonu olduğunu düşünmekteyiz. Baccetti'nin yaptığı ilginç bir araştırma sonucunda tek taraflı konjenital diş eksiklikleri ile diğer tarafta bulunan dişlerde rotasyon mevcudiyeti arasında önemli bir ilişki bulunmuş ve nu ilişkinin temelinde de otozomal kaynaklı genetik etiyolojinin bulunduğu ifade edilmiştir (Baccetti 1998). Bu da tek ya da çift taraflı konjenital diş eksikliği etiyolojisinin herediter alt yapısına ışık tutacak bir bulgu olabilir. Maklin ve arkadaşları (1979) ise aynı Göyenc (1990) ve Altuğ-Ataç ve Erdem (2007) gibi çift ve tek taraflı görülme sıklıkları arasında fark olmadığını bildirmişlerdir. Çift taraflı diş eksikliğinin daha fazla görülmesi, diş eksikliğinin esas kontrol mekanizmasının genetik faktörler olduğunun bir göstergesidir demek için elimizde yeterince kanıt bulunmamaktadır. Oransal olarak meseleye yaklaşmak da yanlış olacaktır. Yani üst lateral keserlerin konjenital olarak eksik görülme yüzdesi çok fazla olduğu için bu diş gurubunun konjenital eksikliğinin etiyolojisine genetik açıdan yaklaşılmasının ve üst kanin dişlerin eksik görülme oranının düşük olması dolayısıyla etiyolosine çevresel olarak bakılmasının doğru olmayacağı kanaatindeyiz.

Çalışmamızda Pax9 geninin protein sentezini aktive etmekle yükümlü bölgesi olan “promotor” bölgesinde görülen 2 adet mutajenik bölge ya da diğer bir deyişle polimorfik bölgenin konjenital diş eksikliği ile olan ilişkisi incelenmiştir. Bu bölgeler sırası ile G-1031A ve T-912C bölgeleri olup “Guanin” gelmesi gereken yere “Adenin” ve “Timin” gelmesi gereken yere “Sitozin” bazının gelmesiyle oluşmuşlardır. Bazı hastalarda bu bölgelerde Guanin veya Timin, Bazı hastalarda Adenin veya Sitozin bazları bulunmaktadır. Bu da temel olarak acaba bu polimorfik yapılar ile hastalık arasında bir ilişki olup olmadığı sorusunu doğurmaktadır.

İnsan Pax9 geninde tarif edilen ilk mutasyon, oligodontiye sahip bir ailenin 14. kromozomunda ilgili genin 2. ekzonunda 219. nükleotid bölgesindeki eşli-kutu sekansına (paired-box sequence) ek bir G alleli (Guanin alleli) ilavesi (insersiyonu)dir (Stockton ve ark. 2000). Bu bulgunun ardından günümüze gelinceye kadar insanlarda görülen oligodonti için birçok kodlama bölgesinde mutasyon ve bir

adet Pax9 lokus delesyonu rapor edilmiştir (Nieminen ve ark. 2001, Das ve ark. 2002, Frazier-Bowers ve ark. 2002, Das ve ark. 2003, Lammi ve ark. 2003, Mostowska ve ark. 2003, Jumlongras ve ark. 2004, Peres ve ark. 2005) Bu mutasyonların büyük bir çoğunluğu ekzon 2 içindeki eşli bölgede (paired-domain) yer almaktadır. Mensah ve arkadaşlarının (2004) yaptığı bir çalışmada 219. bölgeye Guanin insersiyonu (eklenmesi) sonucunda (219InsG) çerçeve kayması mutasyonu (frame-shift) oluşmakta ve bu da Pax9 eşli bölgesinin DNA'ya bağlanma gücünü çarpıcı bir biçimde azaltarak DNA'ya bağlanma kaybı durumunun patojenik mekanizmanın temelini oluşturarak mutasyon vasıtasıyla oligodontiye sebep olma hipotezini desteklemekte olduğunu düşündürmektedir. İnsanlardaki en sık görülen konjenital diş eksikliği çeşidi olan “izole sporadik diş eksikliği”nin genetik orijini halen tam anlamıyla bilinmemektedir.

Çalışmamızda iki polimorfik bölge incelenmiştir. Sonuçlar ele alındığında G-1031A bölgesindeki A (adenin) alleli ya da G (guanin) allellerinin hipodonti gurupları ile kontrol gurubu arasında istatistiksel açıdan belirgin bir fark bulunmamıştır (Tablo 3.14)($p>0.05$). Bizim bulgumuz, Peres ve arkadaşlarının (2005) bulgusu ile örtüşmemektedir. Peres ve arkadaşlarının bulgularında (2005) G (-1031) ve T (-912) allellerine konjenital diş eksikliğine sahip hastalarda sağlıklı bireylere nazaran önemli derecede yüksek frekansta görülmüştür. Bunun yanında homozigot genotipler olan GG (-1031) ve TT (-912) genotipleri çalışmamızdaki kontrol ve test gurupları arasında karşılaştırıldı ve sonuçta guruplar arasında önemli bir fark olmadığı görüldü (Tablo 3.14). Bu sonuçlar ile Pan ve arkadaşlarının (2008) Çin’de yaptığı çalışma sonuçları birbiriyle paralellik göstermektedir. Ancak Peres ve arkadaşlarının (2005) bulguları bir önceki bulgular gibi yine dikkate değer bir biçimde anlamlı çıkmıştır. Bizim sonuçlarımızın Çin’de yapılan çalışma sonuçlarıyla paralellik gösterip Peres ve arkadaşlarının (2005) Avrupa kökenli olan Brezilya toplumunda yaptıkları çalışmayla fark göstermesinin sebebi olarak, Türk ve Çin toplumunun coğrafik kökenleri dolayısıyla genetik varyasyonunun birbirlerine benzeyişleri (Comas ve ark. 1998) ve Avrupa kökenli Brezilya popülasyonunun farklı orijinli olması (Sansone 2003) düşünülebilir.

Çalışmamızda üçüncü molar diş eksikliği gösteren vakalar da incelenmiş ve ne allel bazında ne de genotipler bazında bir hasta bireylerin verileri ile kontrol gurubunun verileri arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Peres ve arkadaşları

(2005), kendi çalışmalarında bu kriterler açısından önemli ilişki bulmuştur. Ayrıca üçüncü molar dişlerin dahil olmadığı hasta gruplarını incelemiş ve bu konjenital eksikliklerin heterozigot fenotiplerle alakalı olduklarını belirtmiştir. Aslında insan aile analizleri Pax9 mutasyonlarının üçüncü molar diş eksikliği ile çok kuvvetli bir ilişkiye sahip olduğunu söylemekle beraber Pax9 mutasyonlarının keser dişler ve premolarlar üzerinde daha az ama belirgin bir etkisi olduğu söylenmektedir.

Çalışmamızda haplotip frekansları ile genotiplerin hasta ve kontrol grupları ile olan ilişkileri de incelenmiştir. GT, GC ve AT allellere sahip hastaların konjenital diş eksikliği vakalarında görülmesi riskinin önemli derecede fazla olduğu tespit edilmiştir. Bir diğer deyişle, AC alleleline sahip bireylerde diş eksikliği görülme riski daha düşük olarak bulundu ($p \leq 0.05$). Bu sonuçtan yola çıkarak konjenital diş eksikliği anomalisi ile AC haplotipi arasında bir ilişkinin olmadığını söylemek mümkündür. Bu bulguya paralel olarak GT, GC ve AT allellerinin tümü ile AC allelini karşılaştırdığımızda AC alleleline sahip bireylerin diş eksikliği görülme riski diğer allellere sahip bireylere oranla 3,88 kat daha düşük olduğu söylenebilir ($p \leq 0,001$; Odds oranı = 3,88; güven aralığı = 2,49–6,03). GT haplotipinin kontrol gurubundaki bireylerdeki oranı önemli derecede yüksek çıkmıştır. Bu allele sahip bireylerin diş eksikliği görülme riskinin daha düşük olduğu söylenebilir ($p = 0,045$; OO=0,674; GA=0,458–0,993). Peres ve arkadaşlarının (2005) bulguları da bizim bulgularımızla paraleldir. G-1031A ve T-912C polimorfik bölgelerinin diş eksikliği ile olan ilişkilerini ayrıca incelersek GG genotipinin GA ve AA genotiplerine oranla üçüncü molar diş eksikliği görülen hastalarda daha düşük oranda olduğunu görülmektedir. Alt-üst köpek dişi, üst santral kesici dişler ve alt-üst birinci ve ikinci büyük azı dişleri eksik olan hasta gurubunda ise GG genotipi daha yüksek frekansta görülmektedir ($p = 0,026$). Böylelikle GG genotipine sahip bireylerin konjenital azı dişi eksikliği gösterme olasılığı düşük, köpek dişi, birinci ve ikinci molar dişler ve üst santral keser diş eksikliği gösterme olasılığının yüksek olduğu söylenebilir. Ancak T-912C bölgesi için bu şekilde bir çıkarım yapmamız mümkün değildir ($p > 0,05$).

Konjenital diş eksikliği birçok değişik faktöre dayalıdır. Bu faktörlerin içersinde çevresel faktörler (örneğin travma), genetik faktörler, kemoterapi, radyoterapi... vs bulunmaktadır (Vastardis 2000). Ancak sporadik konjenital diş

eksikliği mekanizmasını tam anlamıyla açıklamak mümkün değildir. Günümüzde genetik faktörlerin diş eksikliğinin etiyolojik temelleri arasında en önemli yeri teşkil ettiği fikri benimsenmektedir. Hem fare deneyleri ile hem de insan çalışmalarıyla desteklenen Pax9 geni, diş eksikliğinin kuvvetli bir etiyolojik faktörü olduğu görüşü yaygındır. Literatür incelendiğinde, şimdiye kadar kalıtsal non sendromik diş eksikliği anomalisi için Pax9 geninde 14 adet mutasyon ve bir adet delesyon tarif edilmiştir (Stockton ve ark. 2000, Nieminen ve ark. 2001, Das ve ark. 2002, Frazier-Bowers ve ark. 2002, Das ve ark. 2003, Mostowska ve ark. 2003, Jumlongras ve ark. 2004, Lammi ve ark. 2004, Klein ve ark. 2005, Zhao ve ark. 2005, Mostowska ve ark. 2006, Mostowska ve ark. 2006, Kapadia ve ark. 2007).

Günümüze kadar gelindiğinde konjenital diş eksikliğinin moleküler genetik etiyolojisi ile ilgili çok az sayıda çalışma yapıldığı görülmektedir. Peres ve arkadaşları (2005), beyaz ırka mensup Brezilya toplumunda görülen konjenital diş eksikliği ile iki çeşit polimorfik bölge arasında ilişki olduğunu bildirmiştir. Polimorfik gen bölgelerindeki genotipik dağılımın sağlıklı popülasyonlarda toplumdan topluma farklılıklar göstermesi nedeniyle (İnan 2008) biz de Türk popülasyonunda mevcut iki polimorfik bölgenin konjenital diş eksikliği ile ilişkili olup olmadığını inceledik. Allel bazında ve homozigot genotipler bazında Peres ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışma sonuçlarıyla uyumlu bir sonuç bulamadık. Buna rağmen çalışmamızın sonucuna dayanarak haplotipler bazında toplumumuzda AC haplotipine sahip bireylerin konjenital diş eksikliği görülme riski yönünden düşük risk grubunda oldukları ve G-1031A polimorfizmi açısından GG genotipine sahip bireylerin üçüncü büyük azı diş eksikliği görülme riskinin düşük olduğu söylenebilir.

Çalışmamızla Peres ve arkadaşlarının (2005) yaptığı çalışma sonuçları arasındaki farkların temel nedenlerinin şunlar olabileceğini düşünmekteyiz. Öncelikle bulgular arasındaki tutarsızlığın nedeni popülasyon değişkenliği olabilir. Çalışmamızda da kanıtlandığı gibi genetik polimorfizmler çoğunlukla etnik varyasyon gösterirler. Örneğin Peres ve arkadaşlarının (2005) çalışmasında G-1031A polimorfizminde G allelinin frekansı %25 iken bizim çalışmamızda bu frekans % 65,25 olarak bulunmuştur. Pan ve arkadaşlarının (2008) Çin popülasyonu üzerinde yaptıkları çalışmada ise bu frekans değeri % 48 olarak tespit edilmiştir. Bu yüzden Pax9 geninin genetik polimorfizmleri ile konjenital diş eksikliği arasındaki ilişkinin

tam olarak aydınlığa kavuşturulabilmesi için, değişik etnik popülasyonlarda yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu düşünmekteyiz. İkinci bir neden olarak, çalışmalarda incelenen hastalardaki eksik diş fenotiplerinin çeşitliliği değişik sonuçların doğmasına yol açabilir. Örneğin Peres ve arkadaşlarının (2005) çalışmasında hastaların % 70'inde üçüncü molar eksikliği görülürken bu oran çalışmamızda % 55 olarak belirlenmiştir. Pan ve arkadaşları (2008) ise çalışmalarına üçüncü molar dişleri dahil etmemişlerdir. İlerde aynı dişleri eksik olan farklı toplumlardaki hastaların genotiplerinin diş eksikliği ile olan ilişkilerinin karşılaştırılması durumunda az da olsa bu çeşitliliğin ortadan kalkacağını düşünmekteyiz.

Yakın geçmişte yapılan bazı araştırmalar konjenital diş eksikliğinin süreci hakkındaki bilgilerimize bir hayli katkı sağlamıştır. Ancak bu anomalinin altında yatan temel moleküler mekanizma hala tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Çalışmamızın bulguları, incelenen diş eksikliği prevalansına ancak çok küçük miktarda katkı yapabilmektedir. Diş eksikliğinin yüksek insidansı ile yapılan çalışmalardaki düşük değerli bulgular (Mostowska ve ark. 2003, Vieira ve ark. 2004, Gerits ve ark. 2006) arasındaki uyumsuzluk bizlere konjenital diş eksikliğinin beklenenden çok daha heterojenöz bir yapıda olabileceğini ve birçok bağımsız hatalı genin diğer genlerle paralel ya da kombine olarak çalışarak spesifik fenotiplerin oluşmasına sebep olabileceğini çağrıştırmaktadır.

Türk popülasyonu için bugüne kadar konjenital diş eksikliği anomalisinin genetik etiyolojisini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Hem diş eksikliğinin moleküler alt yapısını anlama adına, hem de değişik popülasyonlardaki varyasyonları incelemek ve değişken fenotiplerle genetik varyantlar arasındaki ilişkiyi daha iyi açıklamak adına ilerde yapılacak çalışmalar, hem Pax9 genini hem diğer aday genleri mercek altına almalı, bu çalışmalar daha yüksek örneklem büyüklüğü ve daha net sonuç verdiği kanıtlanan güncel laboratuvar teknikleriyle desteklenmelidir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Eksikliği en sık görülen dişler üst yan kesici dişlerdir. Bunu sırasıyla alt ikinci küçük azı dişler ve üst ikinci küçük azı dişler izlemektedir.
2. Konjenital diş eksikliği yönünden sağ ve sol taraflar arasında belirgin bir fark yoktur. Çift taraflı diş eksikliği, tek taraflı diş eksikliğine göre daha sık görülmektedir.
3. Konjenital diş eksikliği kızlarda erkeklere nazaran daha sık görülmektedir.
4. Konjenital diş eksikliği vakaları çoğunlukla bilateral yani çift taraflı olarak gözlenmiştir.
5. Pax9 geninde G-1031A bölgesindeki A (adenin) alleli ya da G (guanin) allellerinin hipodonti gurupları ile kontrol gurubu arasında istatistiksel açıdan belirgin bir fark yoktur.
6. AC alleleline sahip bireylerin diş eksikliği görülme riski diğer allellere sahip bireylere oranla 3,88 kat daha düşük olduğu söylenebilir.
7. GG genotipine sahip bireylerin konjenital azı dişi eksikliği gösterme olasılığı düşük; köpek dişi, birinci ve ikinci molar dişler ve üst santral keser diş eksikliği gösterme olasılığının yüksek olduğu söylenebilir.
8. GT alleleline sahip bireylerde diş eksikliği görülme riskinin daha düşük olduğu söylenebilir.
9. Hem diş eksikliğinin molkül alt yapısını anlama adına, hem de değişik popülasyonlardaki varyasyonları incelemek ve değişken fenotiplerle genetik varyantlar arasındaki ilişkiyi daha iyi açıklamak adına ilerde yapılacak çalışmalar, hem Pax9 genini hem diğer aday genleri mercek altına almalı, bu çalışmalar daha yüksek örneklem büyüklüğü ve daha net sonuç verdiği kanıtlanan güncel laboratuvar teknikleriyle desteklenmesi gerektiği kanaatindeyiz.
10. Bu polimorfizmin fonksiyonel olup olmadığını ortaya koymak için genotip ve/veya alel frekansı ile ekspresyon çalışmaları için daha ileri araştırmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

11. İlerde sadece bu polimorfik bölgelere bağı olmak dışında DNA dizi analizleri yoluyla konjenital diş eksikliği anomalisi ile genetik bilimi arasındaki ilişkinin aydınlanması yolunda adım atılabileceğı kanaatindeyiz.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Pax9 Genindeki G-1031a Ve T-912c Polimorfizmleri İle Diş Eksikliği (Hypodonti Ve Oligodonti) İlişkisinin İncelenmesi

“Nurettin Eren İŞMAN”

Ortodonti Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2009

Diş hekimliğinde konjenital (doğumsal) diş eksikliği olguları çok sık karşılaşılan bir anomali çeşididir. Bu olgularda hastaların süt veya sürekli dişlenmelerinde eksiklikler görülmektedir. Bu tür bir dişlenme düzensizliği görüldüğünde, yapılacak tedavi seçenekleri arasında ortodontik yer kapatma, ortodontik yer açma sonrası protetik tedavi, implantoloji ve konservatif tedavi yaklaşımları ve multidisipliner yaklaşımlar yer almaktadır.

Konjenital diş eksikliğinin etiyolojisi oldukça karışık olmasına ve halen tam olarak bilinmemesine rağmen genel olarak genetik ve çevresel faktörlerle tarif edilmiştir. Genetik olarak sendromik ve non-sendromik tipleri ile karşılaşılmaktadır. Non-sendromik veya ailesel konjenital diş eksikliği vakalarından ise son yapılan araştırmalara göre Msx1, Pax9 ve Axin2 genlerinde meydana gelen polimorfizmlerin sorumlu olduğu bildirilmektedir. anomalinin genetik temelli bir düzensizlik olduğu bildirilmiştir. Ancak toplumumuzda sık görülen bu olgunun genetik yapısını inceleyen bir araştırma planlaması halen bulunmamaktadır. Bu çalışmamızın amacı, Pax 9 geninin promotor bölgesindeki G-1031A ve T-912C polimorfizmleri ile konjenital diş eksikliği (hipodonti ve oligodonti) ilişkisinin Türk toplumunda incelenmesidir.

Çalışma kriterlerine uyan 200 konjenital diş eksikliğine sahip hasta ile 114 adet 32 dişi tam olan kontrol gurubunu oluşturacak birey tespit edildi. Anamnezleri ve bilgilendirilmiş onam imzaları alındı. Periferik kan toplandı ve Bunlardan DNA izole edildi. G-1031A ve T-912C polimorfizmlerini belirlemek amacıyla PCR – RFLP yöntemi uygulandı. Çalışma sonucunda AC haplotipe sahip bireyler, diğer haplotip guruplarıyla karşılaştırıldıklarında, konjenital diş eksikliği vakalarında kontrol gurubuna nazaran istatistiksel olarak anlamlı bir ölçüde az oranda oldukları görülmektedir (OO=3,88; GA=%95; p = 0,001). GT haplotipine sahip bireylerin oranına bakıldığında istatistiksel olarak diş eksikliği gurubunda daha az oranda olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bulguların ışığında Pax9 geninin promotor bölgesindeki G-1031A ve T-912C polimorfizmleri bu genin transkripsiyonel işlevleri üzerine etki etmekte ve insanlarda konjenital diş eksikliği anomalisi ile ilişkili olmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Hipodonti; Polimorfizm; Pax9 Geni.

7. SUMMARY

Evaluation of Relationship Between G-1031A and T-912C Polymorphisms in Pax9 Gene and Tooth Agenesis (Hypodontia and Oligodontia)

In dentistry, hypodontia, the congenital absence of one or a few teeth is one of the most common alterations of the human dentition. The most common permanent missing teeth are the third molars, second premolars and maxillary lateral incisors. The treatment alternatives of this anomaly consist of space closure, space opening, prosthodontic therapy, dental implants, conservative applications and multidisciplinary approaches.

Although the etiology of the hypodontia is remaining a complex one and there are a lot of unknown features, it is described both with genetical and environmental factors. Syndromic and non-syndromic types were described. Non-syndromic or in other words familial hypodontia is caused by mutations in Pax9, Msx1 and Axin2 genes. However, no studies are present to show any clues about the etiological factors beyond this anomaly in Turkish population. The purpose of this study is to investigate the relationships between the 2 different single nucleotide polymorphisms that are G-1031A and T-912C with hypodontia.

200 individuals having hypodontia anomaly and 114 normal individuals having all their 32 teeth present were selected for the study. Consents were given and their history records were taken. Blood samples were collected from each individual and DNA was extracted. To determine the polymorphisms of G-1031A and T-912C, PCR-RFLP method was used. The outcomes suggest that the individuals having AC haplotype carrying less risk in having hypodontia compared with the rest of the haplotype groups (OR=3,88; CI=95%; p=0,001). The ratio of GT haplotype is found to be less in the hypodontia group meaning that the GT carriers are in risk group in terms of hypodontia risk.

As a conclusion, these results indicate that polymorphisms in the promoter region of Pax9 gene may have an influence on the transcriptional factors and activity of this gene and are associated with hypodontia in humans.

Key Words: Hypodontia; Polymorphism, Pax9 gene

8. KAYNAKLAR

- Ahmad W, Brancolini V, ul Faiyaz MF, Lam H, ul Haque S, Haider M ve ark. A locus for autosomal recessive hypodontia with associated dental anomalies maps to chromosome 16q12.1. *Am J Hum Genet.* 1998;62:987-91.
- Albashaireh ZS, Khader YS. The prevalence and pattern of hypodontia of the permanent teeth and crown size and shape deformity affecting upper lateral incisors in a sample of Jordanian dental patients. *Community Dent Health.* 2006;23:239-43.
- Altug-Atac AT, Erdem D. Prevalence and distribution of dental anomalies in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2007;131:510-4.
- Amiel J, Bougeard G, Francannet C, Raclin V, Munnich A, Lyonnet S ve ark. TP63 gene mutation in ADULT syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2001;9:642-5.
- Arte S, Nieminen P, Pirinen S, Thesleff I, Peltonen L. Gene defect in hypodontia: exclusion of EGF, EGFR, and FGF-3 as candidate genes. *J Dent Res.* 1996;75:1346-52.
- Baccetti T. Tooth rotation associated with aplasia of nonadjacent teeth. *Angle Orthod.* 1998;68:471-4.
- Belloni E, Muenke M, Roessler E, Traverso G, Siegel-Bartelt J, Frumkin A ve ark. Identification of Sonic hedgehog as a candidate gene responsible for holoprosencephaly. *Nat Genet.* 1996;14:353-6.
- Bergstrom K. An orthopantomographic study of hypodontia, supernumeraries and other anomalies in school children between the ages of 8-9 years. An epidemiological study. *Swed Dent J.* 1977;1:145-57.
- Book JA. Clinical and genetical studies of hypodontia. I. Premolar aplasia, hyperhidrosis, and canities prematura; a new hereditary syndrome in man. *Am J Hum Genet.* 1950;2:240-63.
- Bot PL, Salmon D. Congenital defects of the upper lateral incisors (ULI): condition and measurements of the other teeth, measurements of the superior arch, head and face. *Am J Phys Anthropol.* 1977;46:231-43.
- Brekhus CPOaGM. A Study of the Pattern and Combinations of Congenitally Missing Teeth in Man. *Journal of dental Research.* 1944;23:117.
- Brook AH. A unifying aetiological explanation for anomalies of human tooth number and size. *Arch Oral Biol.* 1984;29:373-8.
- Byrd ED. Incidence of supernumerary and congenitally missing teeth. *Journal of Dentistry for Children.* 1943;10:84-86.
- Callahan N, Modesto A, Meira R, Seymen F, Patir A, Vieira AR. Axis inhibition protein 2 (AXIN2) polymorphisms and tooth agenesis. *Arch Oral Biol.* 2009;54:45-9.
- Carter NE, Gillgrass TJ, Hobson RS, Jepson N, Eechan JG, Nohl FS ve ark. The interdisciplinary management of hypodontia: orthodontics. *Br Dent J.* 2003;194:361-6.
- Chan DW, Samman N, McMillan AS. Craniofacial profile in Southern Chinese with hypodontia. *Eur J Orthod.* 2009;31:300-5.
- Chi N, Epstein JA. Getting your Pax straight: Pax proteins in development and disease. *Trends Genet.* 2002;18:41-7.
- Chung LK, Hobson RS, Nunn JH, Gordon PH, Carter NE. An analysis of the skeletal relationships in a group of young people with hypodontia. *J Orthod.* 2000;27:315-8.
- Comas D, Calafell F, Mateu E, Perez-Lezaun A, Bosch E, Martinez-Arias R ve ark. Trading genes along the silk road: mtDNA sequences and the origin of central Asian populations. *Am J Hum Genet.* 1998;63:1824-38.
- Creton MA, Cune MS, de Putter C, Verhoeven JW, Meijer GJ. [A description of a population with severe oligodontia]. *Ned Tijdschr Tandheelkd.* 2009;116:119-23.
- Das P, Hai M, Elcock C, Leal SM, Brown DT, Brook AH ve ark. Novel missense mutations and a 288-bp exonic insertion in PAX9 in families with autosomal dominant hypodontia. *Am J Med Genet A.* 2003;118A:35-42.
- Das P, Stockton DW, Bauer C, Shaffer LG, D'Souza RN, Wright T ve ark. Haploinsufficiency of PAX9 is associated with autosomal dominant hypodontia. *Hum Genet.* 2002;110:371-6.
- Davis PJ. Hypodontia and hyperdontia of permanent teeth in Hong Kong schoolchildren. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1987;15:218-20.
- De Muynck S, Schollen E, Matthijs G, Verdonck A, Devriendt K, Carels C. A novel MSX1 mutation in hypodontia. *Am J Med Genet A.* 2004;128A:401-3.
- Downs WG. Studies in the Causes of Dental Anomalies. *Genetics.* 1927;12:570-80.
- Endo T, Ozoe R, Kubota M, Akiyama M, Shimooka S. A survey of hypodontia in Japanese orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006;129:29-35.

- Erpenstein H, Pfeiffer RA. [Sex-linked-dominant hereditary reduction in number of teeth]. *Humangenetik*. 1967;4:280-93.
- Fekonja A. Hypodontia in orthodontically treated children. *Eur J Orthod*. 2005;27:457-60.
- Frazier-Bowers SA, Guo DC, Cavender A, Xue L, Evans B, King T ve ark. A novel mutation in human PAX9 causes molar oligodontia. *J Dent Res*. 2002;81:129-33.
- Frazier-Bowers SA, Pham KY, Le EV, Cavender AC, Kapadia H, King TM ve ark. A unique form of hypodontia seen in Vietnamese patients: clinical and molecular analysis. *J Med Genet*. 2003;40:e79.
- Garn SM, Lewis AB, Vicinus JH. Third Molar Polymorphism and Its Significance to Dental Genetics. *J Dent Res*. 1963;42:SUPPL1344-63.
- Gelgör IE, Şişman Y, Malkoç S. Daimi Dentisyonda Konjenital Hipodontinin Görülme Sıklığı. *Türkiye Klinikleri Journal of Dental Science*. 2005;11:43-48.
- Gerits A, Nieminen P, De Muynck S, Carels C. Exclusion of coding region mutations in MSX1, PAX9 and AXIN2 in eight patients with severe oligodontia phenotype. *Orthod Craniofac Res*. 2006;9:129-36.
- Goldenberg M, Das P, Messersmith M, Stockton DW, Patel PI, D'Souza RN. Clinical, radiographic, and genetic evaluation of a novel form of autosomal-dominant oligodontia. *J Dent Res*. 2000;79:1469-75.
- Goren S, Tsoizner R, Dinbar A, Levin L, Brezniak N. [Prevalence of congenitally missing teeth in Israeli recruits]. *Refuat Hapeh Vehashinayim*. 2005;22:49-53, 87.
- Goyenc YB (1990). Konjenital Diş Eksikliği Olgularının Dişsel ve İskeletsel Olarak Değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ortodonti Anabilim Dalı. Diyarbakır, Dicle Üniversitesi: 2.
- Haavikko K. Hypodontia of permanent teeth. An orthopantomographic study. *Suom Hammaslaak Toim*. 1971;67:219-25.
- Harris EF, Clark LL. Hypodontia: an epidemiologic study of American black and white people. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2008;134:761-7.
- Hartl D, Jones E (2000). *Genetics*. Boston, Jones and Bartlett Publishers.
- Headon DJ, Emmal SA, Ferguson BM, Tucker AS, Justice MJ, Sharpe PT ve ark. Gene defect in ectodermal dysplasia implicates a death domain adapter in development. *Nature*. 2001;414:913-6.
- Hu G, Vastardis H, Bendall AJ, Wang Z, Logan M, Zhang H ve ark. Haploinsufficiency of MSX1: a mechanism for selective tooth agenesis. *Mol Cell Biol*. 1998;18:6044-51.
- Hunstadbraten K. Hypodontia in the permanent dentition. *ASDC J Dent Child*. 1973;40:115-7.
- İnan Z (2008). Larinks Kanserli Hastalarda DNA tamir gen polimorfizmlerinin PCR-RFLP yöntemiyle araştırılması. Tıbbi Genetik Anabilim Dalı. Konya, Selçuk Üniversitesi: 38.
- Jumlongras D, Bei M, Stimson JM, Wang WF, DePalma SR, Seidman CE ve ark. A nonsense mutation in MSX1 causes Witkop syndrome. *Am J Hum Genet*. 2001;69:67-74.
- Jumlongras D, Lin JY, Chapra A, Seidman CE, Seidman JG, Maas RL ve ark. A novel missense mutation in the paired domain of PAX9 causes non-syndromic oligodontia. *Hum Genet*. 2004;114:242-9.
- Kapadia H, Mues G, D'Souza R. Genes affecting tooth morphogenesis. *Orthod Craniofac Res*. 2007;10:237-44.
- Kaste SC, Hopkins KP, Bowman LC, Santana VM. Dental abnormalities in children treated for neuroblastoma. *Med Pediatr Oncol*. 1998;30:22-7.
- Kawakami S, Yokozeki M, Horiuchi S, Moriyama K. Oral rehabilitation of an orthodontic patient with cleft lip and palate and hypodontia using secondary bone grafting, osseo-integrated implants, and prosthetic treatment. *Cleft Palate Craniofac J*. 2004;41:279-84.
- Kere J, Srivastava AK, Montonen O, Zonana J, Thomas N, Ferguson B ve ark. X-linked anhidrotic (hypohidrotic) ectodermal dysplasia is caused by mutation in a novel transmembrane protein. *Nat Genet*. 1996;13:409-16.
- Kjaer I, Kocsis G, Nodal M, Christensen LR. Aetiological aspects of mandibular tooth agenesis--focusing on the role of nerve, oral mucosa, and supporting tissues. *Eur J Orthod*. 1994;16:371-5.
- Klein ML, Nieminen P, Lammi L, Niebuhr E, Kreiborg S. Novel mutation of the initiation codon of PAX9 causes oligodontia. *J Dent Res*. 2005;84:43-7.
- Koray F. Diş Anomalileri. İ. Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ders Notları. 1987;8.
- Kornman K, Newman M, Eds. (2000). Role of genetics in assessment, risk and management of adult periodontitis. *Periodontal Medicine* Hamilton, BC Decker Inc. .

- Kumasaka S, Miyagi A, Sakai N, Shindo J, Kashima I. Oligodontia: a radiographic comparison of subjects with Down syndrome and normal subjects. *Spec Care Dentist*. 1997;17:137-41.
- Lammi L, Arte S, Somer M, Jarvinen H, Lahermo P, Thesleff I ve ark. Mutations in AXIN2 cause familial tooth agenesis and predispose to colorectal cancer. *Am J Hum Genet*. 2004;74:1043-50.
- Lammi L, Halonen K, Pirinen S, Thesleff I, Arte S, Nieminen P. A missense mutation in PAX9 in a family with distinct phenotype of oligodontia. *Eur J Hum Genet*. 2003;11:866-71.
- Larmour CJ, Mossey PA, Thind BS, Forgie AH, Stirrups DR. Hypodontia--a retrospective review of prevalence and etiology. Part I. *Quintessence Int*. 2005;36:263-70.
- Lewin B (2000). *Genes VII*. Oxford, Oxford University Press.
- Lüleci G, Sakızlı M, Alper Ö (1995). *Renkli Genetik Atlası*.
- Lynham A. Panoramic radiographic survey of hypodontia in Australian Defence Force recruits. *Aust Dent J*. 1990;35:19-22.
- Magnusson TE. Prevalence of hypodontia and malformations of permanent teeth in Iceland. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1977;5:173-8.
- Mahaney MC, Fujiwara TM, Morgan K. Dental agenesis in the Dariusleut Hutterite Brethren: comparisons to selected Caucasoid population surveys. *Am J Phys Anthropol*. 1990;82:165-77.
- Maklin M, Dummett CO, Jr., Weinberg R. A study of oligodontia in a sample of New Orleans children. *ASDC J Dent Child*. 1979;46:478-82.
- Marec-Berard P, Azzi D, Chaux-Bodard AG, Lagrange H, Gourmet R, Bergeron C. Long-term effects of chemotherapy on dental status in children treated for nephroblastoma. *Pediatr Hematol Oncol*. 2005;22:581-8.
- Mattheeuws N DL, Martens G. Has hypodontia increased in Caucasians during the 20th century? A meta-analysis. *European Journal of Orthodontics* 2004;26:99-103.
- McGrath JA, Duijf PH, Doetsch V, Irvine AD, de Waal R, Vanmolkot KR ve ark. Hay-Wells syndrome is caused by heterozygous missense mutations in the SAM domain of p63. *Hum Mol Genet*. 2001;10:221-9.
- Mensah JK, Ogawa T, Kapadia H, Cavender AC, D'Souza RN. Functional analysis of a mutation in PAX9 associated with familial tooth agenesis in humans. *J Biol Chem*. 2004;279:5924-33.
- Monreal AW, Ferguson BM, Headon DJ, Street SL, Overbeek PA, Zonana J. Mutations in the human homologue of mouse dl cause autosomal recessive and dominant hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Nat Genet*. 1999;22:366-9.
- Montagu MFA, Ed. (1940). *The significance of the variability of the upper lateral incisor teeth in man*, Hopkins.
- Mostowska A, Biedziak B, Trzeciak WH. A novel c.581C>T transition localized in a highly conserved homeobox sequence of MSX1: is it responsible for oligodontia? *J Appl Genet*. 2006;47:159-64.
- Mostowska A, Biedziak B, Trzeciak WH. A novel mutation in PAX9 causes familial form of molar oligodontia. *Eur J Hum Genet*. 2006;14:173-9.
- Mostowska A, Kobiela A, Trzeciak WH. Molecular basis of non-syndromic tooth agenesis: mutations of MSX1 and PAX9 reflect their role in patterning human dentition. *Eur J Oral Sci*. 2003;111:365-70.
- Muller TP, Hill IN, Peterson AC, Blayney JR. A survey of congenitally missing permanent teeth. *J Am Dent Assoc*. 1970;81:101-7.
- Ng'ang'a RN, Ng'ang'a PM. Hypodontia of permanent teeth in a Kenyan population. *East Afr Med J*. 2001;78:200-3.
- Nieminen P, Arte S, Tanner D, Paulin L, Alaluusua S, Thesleff I ve ark. Identification of a nonsense mutation in the PAX9 gene in molar oligodontia. *Eur J Hum Genet*. 2001;9:743-6.
- Nik-Hussein NN. Hypodontia in the permanent dentition: a study of its prevalence in Malaysian children. *Aust Orthod J*. 1989;11:93-5.
- Nordgarden H, Jensen JL, Storhaug K. Reported prevalence of congenitally missing teeth in two Norwegian counties. *Community Dent Health*. 2002;19:258-61.
- Nunn JH, Carter NE, Gillgrass TJ, Hobson RS, Jepson NJ, Meechan JG ve ark. The interdisciplinary management of hypodontia: background and role of paediatric dentistry. *Br Dent J*. 2003;194:245-51.
- O'Dowling IB, McNamara TG. Congenital absence of permanent teeth among Irish school-children. *J Ir Dent Assoc*. 1990;36:136-8.

- Online Mendelian Inheritance in Man O (2009). McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>.
- Ovari G, Molnar B, Tarjan I, Hermann P, Gera I, Varga G. Gene polymorphisms in periodontitis and hypodontia: methodological basis of investigations. *Fogorv Sz.* 2007;100:266-72, 259-65.
- Pan Y, Wang L, Ma J, Zhang W, Wang M, Zhong W ve ark. PAX9 polymorphisms and susceptibility to sporadic tooth agenesis: a case-control study in southeast China. *Eur J Oral Sci.* 2008;116:98-103.
- Peres RC, Raquel M. Scarel-Caminaga, Alexandre R. do Espi'rito Santo, Line SrRP. Association between PAX-9 promoter polymorphisms and hypodontia in humans. *Archives of Oral Biology.* 2005;50:861-871.
- Peters H, Neubuser A, Kratochwil K, Balling R. Pax9-deficient mice lack pharyngeal pouch derivatives and teeth and exhibit craniofacial and limb abnormalities. *Genes Dev.* 1998;12:2735-47.
- Peters H, Neubüser A, Balling R. Pax genes and organogenesis: Pax9 meets tooth development *Eur J Oral Sci.* 1998 106 38-43.
- Pinho T, Tavares P, Maciel P, Pollmann C. Developmental absence of maxillary lateral incisors in the Portuguese population. *Eur J Orthod.* 2005;27:443-9.
- Polder BJ, Van't Hof MA, Van der Linden FP, Kuijpers-Jagtman AM. A meta-analysis of the prevalence of dental agenesis of permanent teeth. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2004;32:217-26.
- Propping P, Friedl W, Wienker TF, Uhlhaas S, Zerres K. ADULT syndrome allelic to limb mammary syndrome (LMS)? *Am J Med Genet.* 2000;90:179-82.
- Rasmussen P. Severe hypodontia: diversities in manifestations. *J Clin Pediatr Dent.* 1999;23:179-88.
- Rastogi SC (2003). *Cell And Molecular Biology*. Pilani, New Age International.
- Robertsson S, Mohlin B. The congenitally missing upper lateral incisor. A retrospective study of orthodontic space closure versus restorative treatment. *Eur J Orthod.* 2000;22:697-710.
- Rolling S. Hypodontia of permanent teeth in Danish schoolchildren. *Scand J Dent Res.* 1980;88:365-9.
- Rolling S, Poulsen S. Agenesis of permanent teeth in 8138 Danish schoolchildren: prevalence and intra-oral distribution according to gender. *Int J Paediatr Dent.* 2009;19:172-5.
- Rose JS. A survey of congenitally missing teeth, excluding third molars, in 6000 orthodontic patients. *Dent Pract Dent Rec.* 1966;17:107-14.
- Rosenzweig KA, Garbarski D. Numerical aberrations in the permanent teeth of grade school children in Jerusalem. *Am J Phys Anthropol.* 1965;23:277-83.
- Rozsa N, Nagy K, Vajo Z, Gabris K, Soos A, Alberth M ve ark. Prevalence and distribution of permanent canine agenesis in dental paediatric and orthodontic patients in Hungary. *Eur J Orthod.* 2009;
- Salama FS, Abdel-Megid FY. Hypodontia of primary and permanent teeth in a sample of Saudi children. *Egypt Dent J.* 1994;40:625-32.
- Sansone L, Ed. (2003). *Blackness without ethnicity: constructing race in Brazil*. Sao Paulo, Palgrave Macmillan.
- Satokata I, Maas R. Msx1 deficient mice exhibit cleft palate and abnormalities of craniofacial and tooth development. *Nat Genet.* 1994;6:348-56.
- Schulze, Ed. (1970). *Developmental abnormalities of the teeth and jaws Thoma's Oral Pathology*. St Luis, The C.V. Mosby Co.
- Semina EV, Reiter R, Leysens NJ, Alward WL, Small KW, Datson NA ve ark. Cloning and characterization of a novel bicoid-related homeobox transcription factor gene, RIEG, involved in Rieger syndrome. *Nat Genet.* 1996;14:392-9.
- Senty EL. The maxillary cuspid and missing lateral incisors: esthetics and occlusion. *Angle Orthod.* 1976;46:365-71.
- Shimizu T, Maeda T. Prevalence and genetic basis of tooth agenesis. *Japanese Dental science review.* 2009;
- Silva Meza R. Radiographic assessment of congenitally missing teeth in orthodontic patients. *Int J Paediatr Dent.* 2003;13:112-6.
- Silverman NE, Ackerman JL. Oligodontia: a study of its prevalence and variation in 4032 children. *ASDC J Dent Child.* 1979;46:470-7.
- Sisman Y, Uysal T, Gelgor IE. Hypodontia. Does the prevalence and distribution pattern differ in orthodontic patients? *Eur J Dent.* 2007;1:167-73.
- Sterzik G, Steinbicker V, Karl N. [The etiology of hypodontia]. *Fortschr Kieferorthop.* 1994;55:61-9.

- Stimson JM, Silvers JE, Hlava GL. Features of oligodontia in three generations. *J Clin Pediatr Dent*. 1997;21:269-75.
- Stockton DW, Das P, Goldenberg M, D'Souza RN, Patel PI. Mutation of PAX9 is associated with oligodontia. *Nat Genet*. 2000;24:18-9.
- Symons AL, Stritzel F, Stamation J. Anomalies associated with hypodontia of the permanent lateral incisor and second premolar. *J Clin Pediatr Dent*. 1993;17:109-11.
- Tavajohi-Kermani H, Kapur R, Sciote JJ. Tooth agenesis and craniofacial morphology in an orthodontic population. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2002;122:39-47.
- Thadani KI. A toothless type of man: The "Bhudas" of India-A Case of Sex-linked Inheritance. *J Heredity*. 1921;12:87-88.
- Thompson GW, Popovich F. Probability of congenitally missing teeth: results in 1,191 children in the Burlington Growth centre in Toronto. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1974;2:26-32.
- Tunc ES, Koyutürk AE. Karadeniz bölgesi çocuklarında konjenital daimi diş eksikliği prevalansı. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2006;16:37-40.
- Tunç EŞ, Koyutürk AE. Prevalence of congenitally missing teeth in black sea region children. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2006;16:37-40.
- van Bokhoven H, Hamel BC, Bamshad M, Sangiorgi E, Gurrieri F, Duijf PH ve ark. p63 Gene mutations in eec syndrome, limb-mammary syndrome, and isolated split hand-split foot malformation suggest a genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet*. 2001;69:481-92.
- Vastardis H. The genetics of human tooth agenesis: new discoveries for understanding dental anomalies. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2000;117:650-6.
- Vastardis H, Karimbux N, Guthua SW, Seidman JG, Seidman CE. A human MSX1 homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nat Genet*. 1996;13:417-21.
- Vieira AR, Meira R, Modesto A, Murray JC. MSX1, PAX9, and TGFA contribute to tooth agenesis in humans. *J Dent Res*. 2004;83:723-7.
- Wang H, Zhao S, Zhao W, Feng G, Jiang S, Liu W ve ark. Congenital absence of permanent teeth in a six-generation Chinese kindred. *Am J Med Genet*. 2000;90:193-8.
- Wehr R, Gruss P. Pax and vertebrate development. *Int J Dev Biol*. 1996;40:369-77.
- Wheeler H. Clinical significance of the congenital absence of the upper lateral incisor teeth. *Endocrinology*. 1925;9:35.
- Whittington BR, Durward CS. Survey of anomalies in primary teeth and their correlation with the permanent dentition. *N Z Dent J*. 1996;92:4-8.
- Wikipedia FSFC (2009). Mutations, Copyright (C) 2000,2001,2002 Free Software Foundation, Inc. 59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA Available at <http://tr.wikipedia.org/wiki/Mutasyon>.
- Zhao JL, Chen YX, Bao L, Xia QJ, Wu TJ, Zhou L. [Novel mutations of PAX9 gene in Chinese patients with oligodontia]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2005;40:266-70.
- Zonana J, Elder ME, Schneider LC, Orloff SJ, Moss C, Golabi M ve ark. A novel X-linked disorder of immune deficiency and hypohidrotic ectodermal dysplasia is allelic to incontinentia pigmenti and due to mutations in IKK-gamma (NEMO). *Am J Hum Genet*. 2000;67:1555-62.

9. EKLER

EK-A Çalışmada Kullanılan Malzemelerin Listesi

1. Ortalama 25 nükleotidlik primerler
2. Agaroz (normal)
3. Aerosol bloklı steril pipet
4. Aerosol bloklı steril pipet
5. Taq DNA polimeraz
6. Restriksiyon enzimi
7. Loading dye
8. Borik Asit
9. 100 bp marker
10. Absulate etilalkol
11. Glyserol
12. DNA izolasyon kiti
13. PCR tüpü
14. Aerosol bloklı steril pipet
15. Asetik Asit
16. EDTA lı tüp
17. 1,5 ml ependorf tüpü
18. Kloroform
19. dNTP
20. Tris-CI
21. 2 ml ependorf tüpü
22. EtBr
23. Plastik pastör pipeti

24. 15 ml falkon tüpü

25. Proteinaz K (Vivantis, Malezya)

10. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Alanya’da doğdu. İlkokulu Alanya’da, ortaokulu ve liseyi İstanbul’da bitirdi. 2004 yılında Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinden mezun oldu. 2005 yılı şubat ayında Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti A.D.’na doktora öğrencisi olarak girdi. Yabancı dili ingilizce ve Almanca’dır.

11. TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca her türlü desteğini esirgemeyen ve beş sene boyunca kahrımı çeken danışman hocam sayın Doç.Dr. Zafer SARI'ya, tezimin genetik basamağının beyni, planlayıcısı ve yürütücüsü olan hocam sayın Prof. Dr. Hasan Acar'a, materyal ve metot basamaklarında gecesini gündüzüne katıp bana yardım eden dostlarım Süleyman Nergiz'e ve Bayram Alımcı'ya, istatistik aşamasında tatilinden fedakârlık ederek bana yardımcı olan Prof. Dr. Said Bodur'a, araştırma görevlisi Nuri Çelik'e ve Dr. Lütfü Demir'e, gerek genetik gerekse istatistik hususunda hiçbir zaman yardımını esirgemeyen doktora arkadaşım Aysel Kalaycı'ya, kan toplama aşamasında en sıkışık anında bile yardımdan kaçınmayan Hilal hemşireye, kanlarını benim için akıtan ve bu tez uğruna kanlarını feda eden sevgili doktora arkadaşlarıma ve özellikle kadrosuz geçen bu zorlu beş senelik doktora eğitimim süresince ve ondan önceki hayatımda bir an bile beni yalnız bırakmayan ve yüzlerine bakınca sanki güneşe bakıyor gibi gözlerimin yaşardığı nur-u didem ailem Dt. Sabri İşman'a, Dt. Meral İşman'a ve ablam Elif Altuntaş ve eşi Dr. Zübeyir Altuntaş'a teşekkürlerin en kıymetlisini bir borç bilirim.