

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**SENDROMİK OLMAYAN DUDAK DAMAK YARIĞI
VAKALARININ VAX1 (VENTRAL ANTERİOR HOMEBOX 1)
GENİNİN SEÇİLİ VARYANTLARI İLE İLİŞKİSİ**

Rüveyda Nüket İVACIK

UZMANLIK TEZİ

ORTODONTİ ANABİLİM DALI

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Hatice KÖK

KONYA-2023

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**SENDROMİK OLMAYAN DUDAK DAMAK YARIĞI
VAKALARININ VAX1 (VENTRAL ANTERİOR HOMEBOX 1)
GENİNİN SEÇİLİ VARYANTLARI İLE İLİŞKİSİ**

Rüveyda Nüket İVACIK

UZMANLIK TEZİ

ORTODONTİ ANABİLİM DALI

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Hatice KÖK

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
tarafından 23132002 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2023

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tezimin hazırlanmasında kıymetli bilgilerini, tecrübelerini, zamanını ve desteğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi Hatice Kök'e,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile bana destek olan değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Zehra İleri'ye, sayın Doç. Dr. Zeliha Müge Baka'ya ve sayın Dr. Öğr. Üyesi Esra Ulusoy Mutluol'a,

Tezimin hazırlanmasında genetik alanında değerli bilgilerini paylaşan Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Dr. Öğr. Üyesi Ebru Marzioğlu Özdemir'e,

Ortodonti Anabilim Dalı'nda birlikte çalıştığım değerli asistan arkadaşlarıma ve ortodonti bölüm personeline,

Tezimin hazırlanmasında ve uzmanlık eğitimim süresince yardımını hiç esirgemeyip, en özel ve en zor dönemlerimde yanımda olan, yol arkadaşım, dostum Dilara Odaman'a,

Bu günlere gelmemde en büyük emeğe sahip, beni her anımda, her kararımdaya destekleyen, hiçbir zaman yalnız bırakmayan değerli annem Zerrin Terzioğlu ve babam Metin Terzioğlu'na, çok sevdiğim kardeşlerim Meryem Ayşe Terzioğlu ve Mustafa Said Terzioğlu'na,

Ve her anımda özverisi ve desteğiyle yanımda olan sevgili eşim İsmail Şenol İvacık ve kedim Boncuk'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum..

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iv
ŞEKİLLER.....	vi
TABLolar.....	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY.....	x
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Dudak ve Damağın Embriyolojik Gelişimi.....	4
1.1.1.Damağın Embriyolojik Gelişimi.....	5
1.1.2. Dudağın Embriyolojik Gelişimi.....	6
1.1.3. Yarığın Embriyolojik Süreci.....	7
1.2. Dudak ve Damak Yarıklarının Sınıflandırmaları.....	8
1.2.1. Davis ve Ritchie Sınıflaması.....	8
1.2.2. Veau Sınıflaması.....	8
1.2.3. Fogh-Andersen Sınıflaması.....	9
1.2.4. Kernehan-Stark Sınıflaması.....	9
1.2.5. Uluslararası Sınıflandırma.....	9
1.2.6. Kernahan'ın 'Bölmeli Y' Sınıflaması.....	10
1.2.7. Elsayhy Sınıflaması.....	11
1.2.8. Millard'ın Modifiye Bölünmüş Y Sınıflaması.....	11
1.2.9. Smith Sınıflaması.....	12
1.3. Dudak Damak Yarıklarının Epidemiyolojisi.....	12
1.4. Dudak Damak Yarıklarının Etiyolojisi.....	13
1.4.1. Dudak Damak Yarıklarının Etiyolojisinde Çevresel Faktörler.....	14
1.4.2. Dudak Damak Yarıklarının Etiyolojisinde Genetik Faktörler.....	15
1.5. Genetik Biliminde Kullanılan Temel Kavramlar.....	18
1.5.1. Genetik, Kromozom, DNA, Gen.....	18
1.5.2. Protein Sentezi.....	20
1.5.3. Mutasyon.....	20
1.5.3.1. Genom Mutasyonları.....	21
1.5.3.2. Kromozom Mutasyonları.....	21
1.5.3.3. Tek Gen Mutasyonları.....	22

1.5.4. Polimorfizm.....	23
1.6. Genetik Polimorfizmlerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler.....	24
1.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) – Jel Elektroforezi.....	25
1.6.2. Dizi Analizi (Sanger Metodu).....	26
1.7. Dudak Damak Yarıkları ile İlişkilendirilmiş Genler.....	26
1.7.1. MSX1.....	27
1.7.2. IRF6.....	27
1.7.3. TGF α	28
1.7.4. TBX22.....	28
1.7.5. PVRL.....	28
1.7.6. FOXE1.....	29
1.7.7. VAX1.....	29
2. BİREYLER VE YÖNTEM.....	31
2.1. Bireyler.....	31
2.1.1. Hasta Seçimi ve Kontrol Grubu.....	31
2.2. Yöntem.....	32
2.2.1. Genin Belirlenmesi.....	32
2.2.2. Tükürük Örneklerinin Alınması.....	34
2.2.3. DNA İzolasyonu.....	35
2.2.4. Primer Tasarlanması.....	36
2.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Aşaması.....	37
2.2.6. Agaroz Jel Elektroforezi.....	38
2.2.7. İstatistiksel Yöntem.....	39
3. BULGULAR.....	40
3.1. Genetik Etkiye Ait Bulgular.....	40
3.2. Çevresel Etkiye Ait Bulgular.....	42
4. TARTIŞMA.....	53
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	64
6. KAYNAKLAR.....	66
7.EKLER.....	85

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	: Adenin
BCL	: B-cell lymphoma
C	: Sitozin
CYP1A1	: Cytochrome P450 Family 1 Subfamily A Member 1
ddNTP	: Dideoksinükleotit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksinükleotit
FGFR	: Fibroblast Growth Factor Receptor
FOXE	: Forkhead Box E1
G	: Guanin
GAD	: Glutamate Decarboxylase
GSTM1	: Glutathione S-Transferase Mu 1
GSTT1	: Glutathione S-Transferase Theta 1
H	: Hidrojen
IRF6	: Interferon Regulatory Factor
mRNA	: Messenger Ribo Nükleik Asit
MSX1	: Msh Homeobox
MTHFR	: Methylenetetrahydrofolate Reductase
NOG	: Noggin
OH	: Hidroksil
P	: Fosfat
PAX	: Paired Box
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PVRL1	: Poliovirus Receptor Related
RARA	: Retinoic Acid Receptor Alpha
RNA	: Ribo Nükleik Asit
SNP	: Single Nucleotid Polymorphisms
T	: Timin

TBX22	: T-Box Transcription Factor
TGF	: Transforming Growth Factor
VAX	: Ventral Anterior Homeobox
VNTR	: Variable Number Tandem Repeats
α	: Alfa
β	: Beta



ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Baş boyun bölgesindeki brankial arklar

Şekil 1.2. Primer damağın gelişimi

Şekil 1.3. Yüzün embriyolojik gelişimi

Şekil 1.4. Kerhahan “Bölmeli Y” Sınıflaması

Şekil 1.5. Elsay Sınıflaması

Şekil 1.6. Millard’ın Modifiye Bölünmüş Y Sınıflaması

Şekil 1.7. Smith Sınıflaması

Şekil 1.8. DNA molekül yapısı

Şekil 1.9. Kromozom, DNA, gen

Şekil 1.10. Gen ekspresyonu

Şekil 1.11. Kromozom mutasyonları

Şekil 1.12. Nokta mutasyonları

Şekil 1.13. Çerçeve kayması mutasyonu

Şekil 1.14. MSX1 geninin bulunduğu kromozom

Şekil 1.15. IRF6 geninin bulunduğu kromozom

Şekil 1.16. TGF α geninin bulunduğu kromozom

Şekil 1.17. TBX22 geninin bulunduğu kromozom

Şekil 1.18. FOXE1 geninin bulunduğu kromozom

Şekil 1.19. VAX1 geninin bulunduğu kromozom

Şekil 2.20. VAX1 genine ait varyantlar (<https://www.genecards.org/>)

Şekil 2.21. VAX1 geninin rs387907252 varyantının patojenite skalası

Şekil 2.22. VAX1 geninin rs1554942980 varyantının patojenite skalası

Şekil 2.23. VAX1 geninin rs1554942640 varyantının patojenite skalası

Şekil 2.24. Tükürük numunesinin toplandığı kap

Şekil 2.25. DNA izolasyon protokol adımlarının izlendiği LN 120 nüve marka kabin

Şekil 2.26. A. Protokolde belirtilen inkubasyon için kullanılan BioSan TS-100C marka ısı bloğu

Şekil 2.26.B. Protokolde kullanılan Hettich Zentifugen Mikro 200 marka santrifüj cihazı

Şekil 2.27. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) Cihazı

Şekil 2.28. Agaroz jel elektroforez sonrası izlenen bant oluşumları

Şekil 3.29. rs387907252 dizi analizi görseli

Şekil 3.30. rs1554942980 dizi analizi görseli

Şekil 3.31. rs1554942640 dizi analizi görseli



TABLÖLAR

Tablo 2.1. Primer tasarımı

Tablo 2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) protokolü

Tablo 2.3. Polimeraz Zincir (PZR) Reaksiyonu

Tablo 3.4. Dizileme sonucu elde edilen nükleotitlere örnekler

Tablo 3.5. Çalışma gruplarının cinsiyet dağılımları

Tablo 3.6. Çalışma gruplarının yaş ortalamaları

Tablo 3.7. Ebeveynlerin annelik ve babalık yaş ortalamaları

Tablo 3.8. Hasta grubundaki bireylerin yarık tipinin sınıflaması

Tablo 3.9. Annelerin eğitim düzeylerine göre dağılımı

Tablo 3.10. Annelerin mesleklerine göre dağılımı

Tablo 3.11. Babaların eğitim düzeylerine göre dağılımı

Tablo 3.12. Babaların mesleklerine göre dağılımı

Tablo 3.13. Annelerin gebelik öncesindeki ve gebelik esnasındaki alkol kullanımını

Tablo 3.14. Annelerin gebelik öncesindeki sigara kullanımı

Tablo 3.15. Annelerin gebelik öncesinde teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığı

Tablo 3.16. Annelerin gebelik esnasında sigara kullanımı

Tablo 3.17. Annelerin gebelik esnasında teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığı

Tablo 3.18. Annelerin gebelik esnasında fiziksel travma maruziyeti

Tablo 3.19. Annelerin gebelik esnasında psikolojik travma maruziyeti

Tablo 3.20. Babaların alkol kullanımı

Tablo 3.21. Babaların sigara kullanımı

Tablo 3.22. Babalarda teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığı

Tablo 3.23. Annelerin gebelik esnasında röntgen ışınına maruziyeti

Tablo 3.24. Annelerin gebelik esnasında ateşli bir hastalık geçirmesi

Tablo 3.25. Annelerin gebelik esnasında ilaç kullanımı

Tablo 3.26. Annelerin gebelik dönemini kadın doğum uzmanı kontrolünde geçirmeleri

Tablo 3.27. Annelerin gebelik esnasında vitamin takviyesi alması

Tablo 3.28. Ebeveynler arası akrabalık ilişkisinin varlığı

Tablo 3.29. Ailede dudak ve/veya damak yarığına sahip bireyin bulunması

Tablo 3.30. Ebeveynlerin bebeklerinde dudak ve/veya damak yarığı varlığını gebelik esnasında öğrenme durumları

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

Sendromik Olmayan Dudak Damak Yarığı Vakalarının VAX1 (VENTRAL ANTERİOR HOMEBOX 1) Geninin Seçili Varyantları ile İlişkisi

Rüveyda Nüket İVACIK

Ortodonti Anabilim Dalı

UZMANLIK TEZİ / KONYA-2023

Bu çalışmanın amacı, sendromik olmayan dudak damak yarığı vakalarının etiyolojisinde VAX1 (VENTRAL ANTERİOR HOMEBOX 1) geninin rs387907252, rs1554942980 ve rs1554942640 varyantlarının ve çevresel faktörlerin etkisini araştırmaktır.

Çalışmamız Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalına muayene ve/veya tedavi amacıyla başvurmuş, herhangi bir sendromu olmayan, dudak ve/veya damak yarığı bulunan ve bulunmayan gönüllü katılımcı bireylerden oluşturulan, 70'er kişi içeren hasta ve kontrol grubu üzerinde yürütülmüştür. Etiyolojide VAX1 geninin patojenitesi yüksek üç seçili varyantının etkisini incelemek amacı ile gönüllü katılımcı bireylerden alınan tükürük örnekleri üzerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve DNA dizi analizi yapılmıştır. Etiyolojide çevresel faktörlerin etkisinin incelemek için gönüllü katılımcı bireyler üzerinde anket çalışması yürütülmüş olup elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

DNA dizi analizi sonucu elde edilen diziler ile referans genom kıyaslanmıştır. Hastalarımızda wild (yabani) tip dizilim tespit edilmiş olup, mutant bir genom tespit edilmemiştir. Çevresel bulgulara göre; hasta grubunda gebeliğin ilk trimesterinde psikolojik travmaya maruz kalan anne sayısı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Kontrol grubunda gebeliğini uzman kontrolünde geçiren ve vitamin takviyesi alan annelerin oranı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksektir.

İncelediğimiz genetik alan çerçevesinde popülasyonumuzda VAX1 geninin rs387907252, rs1554942640, rs1554942980 varyantlarının dudak damak yarığı ile ilişkisi olmadığı sonucuna varılmıştır. Çevresel etkiye ait bulgulara göre; gebeliğin ilk trimesterinde annenin psikolojik travmaya maruz kalması ve ailede dudak damak yarığı hikayesinin varlığı dudak damak yarığı için risk faktörüdür. Ayrıca gebeliğin uzman doktor kontrolünde geçirilmesi ve doktor takibi ile multivitamin kullanımı dudak damak yarığına karşı koruyucu bir faktördür.

Anahtar Sözcükler: Dudak yarığı, damak yarığı, VAX 1 geni, sekans analizi, Single nucleotide polymorphisms (SNP)

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY

SELCUK UNIVERSITY FACULTY of DENTISTRY

Association of Non-Syndromic Cleft Lip and Palate Cases with Selected Variants of the VAX1 (Ventral Anterior Homeobox 1) Gene

Rüveyda Nüket İVACIK

Department of Orthodontics

SPECIALIST THESIS/ KONYA-2021

The aim of this study is to investigate the effect of rs387907252, rs1554942980 and rs1554942640 variants of the VAX1 (VENTRAL ANTERIOR HOMEBOX 1) gene and environmental factors on the etiology of non-syndromic cleft lip and palate cases.

Our study was carried out on a patient and control group consisting of 70 people each, consisting of volunteer participants who did not have any syndrome and had or did not have cleft lip and/or palate, who applied to Selçuk University Faculty of Dentistry Department of Orthodontics for examination and/or treatment. In order to examine the effect of the three most pathogenic selected variants of the VAX1 gene in etiology, polymerase chain reaction (PCR) and DNA sequence analysis were performed on saliva samples taken from volunteer participants. To examine the effect of environmental factors on etiology, a survey was conducted on volunteer participants and the data obtained was evaluated statistically.

The sequences obtained as a result of DNA sequence analysis were compared with the reference genome. Wild type sequence was detected in our patients, and no mutant genome was detected. According to environmental findings; The number of mothers exposed to psychological trauma in the first trimester of pregnancy was found to be statistically significantly higher in the patient group. In the control group, the proportion of mothers who had their pregnancies under specialist supervision and took vitamin supplements was statistically significantly higher.

Within the framework of the genetic field we examined, it was concluded that the rs387907252, rs1554942640, rs1554942980 variants of the VAX1 gene were not associated with cleft lip and palate. According to the findings regarding the environmental impact; The mother's exposure to psychological trauma during the first trimester of pregnancy and the presence of a family history of cleft lip and palate are risk factors for cleft lip and palate. In addition, pregnancy under the supervision of a specialist doctor and the use of multivitamins with medical supervision is a protective factor against cleft lip and palate.

Key Words: Cleft lip, cleft palate, VAX 1 gene, sequence analysis, Single nucleotide polymorphisms (SNP)

1. GİRİŞ

Baş boyun bölgesinin en sık karşılaşılan konjenital anomalisi dudak damak yarıklarıdır. Dünya genelinde yarık damağın eşlik ettiği veya etmediği yarık dudak görülme sıklığı yaklaşık olarak 700-1000 canlı doğumda 1'dir. Görülme oranı coğrafik konum, ırk, etnik köken ve sosyoekonomik düzeye göre değişiklik göstermektedir (Murray 2002).

Dudak damak yarığı deformitesinin tedavisinin başarılı bir şekilde yapılabilmesi için yüz bölgesinin embriyolojik gelişim evrelerinin ve anatomisinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Dudak ve damağın embriyolojik gelişim süreci hücrelerin göçü, büyümesi, farklılaşması, apoptozise uğramasını içeren olayların bütünüdür ve embriyogenezisin erken dönemlerinde gerçekleşmektedir (Mossey ve Little 2009). Yüzün oluşumunu temel olarak iki ana yapı üstlenmektedir. Bunlar brankial (faringeal) ark yapıları ve fasiyal çıkıntılardır. Boyun bölgesinde bulunan brankial arklar mandibular ark, hyoid ark ve hyotroid ark olmak üzere üç çifttir (Sadler 2003, Carstens 2017). Yüz gelişiminde rol oynayan beş temel çıkıntı; bir çift mandibuler, bir çift maksiller, bir adet de frontonazal çıkıntıdır (Ülgen 2015). Fasiyal çıkıntılar birleşerek ilgili yapıları oluşturmaktadır. Çıkıntıların birleşmesi ektodermal epitel düzeyinde başlayarak epitelde yer yer porların meydana gelmesi, porlardan çıkıntıların mezodermilerinin birleşmeye başlaması ve zamanla yapışma bölgelerindeki ektodermin ortadan kalkarak mezodermilerin tamamen kaynaşması şeklinde gerçekleşmektedir. Çıkıntılardaki mezodermin devamlılık kazanmasına mezodermizasyon denilmektedir (Ülgen 2015). Mezodermizasyon olayı kısmi olarak gerçekleştiğinde veya hiç gerçekleşmediğinde yarıklar meydana gelmektedir (Gürsoy 1972).

Oral yarıkların meydana gelme sebeplerini konu edinen birçok çalışma olmasına rağmen yarığın etiyolojisi ve patogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamış olup yarığın çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (Vieira 2008). Bir hastalık tablosunun çevresel ve genetik faktörlerin etkisinin bir sonucu olarak karşımıza çıkmasına “multifaktöriyel etki mekanizması” adı verilmektedir. Herhangi bir patolojiye karşı mevcut olan genetik yatkınlık farklı genler tarafından kontrol edilmekte olup patolojinin meydana gelme eşiğini genetik ve çevresel faktörler belirlemektedir. Bu eşik aşıldığında patoloji fenotipik olarak

karşımıza çıkmaktadır. Dudak damak yarığının da bu mekanizma ile oluştuğu düşünülmektedir (Fraser 1989, Bender 2000, Şafak ve Akyürek 2003, Menezes ve Vieira 2008, Altuğ ve Şenol 2015). Ayrıca dudak damak yarığının görülme insidansı coğrafik konum, ırk, etnik köken ve sosyoekonomik düzeye göre değişiklik göstermektedir (Murray 2002). Bahsi geçen bu bilgilerden de anlaşılacağı üzere, karşımıza çok bilinmeyenli bir denklem olarak çıkan dudak damak yarıklarının etiyolojisinin ve patogenezinin anlaşılabilmesi için, farklı popülasyonlarda yürütülen farklı genlerin ve çevresel faktörlerin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca dudak damak yarığı ile dünyaya gelen bireyleri ve ebeveynlerini uzun yıllar sürecek olan maddi-manevi zorlu bir tedavi süreci beklemektedir. Dudak damak yarığının etiyolojisinin ve patogenezinin aydınlatılması sonucunda bu hastalığın oluşmasını engelleyecek önlemlerin alınabilmesi hem bireysel hem de toplumsal alanda çok büyük fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Dudak damak yarığı etiyolojisinde suçlanan çevresel faktörler arasında; annenin yaşı, akraba evlilikleri, maternal sigara ve/veya alkol kullanımı, vitamin eksikleri, gebelikte geçirilen enfeksiyonlar, gebelikte kullanılan bazı ilaçlar ve stres sayılabilmektedir (Boyles ve ark 2010, Wallace ve ark 2011). Orofasiyal yarığa neden olan genetik mekanizmalar ise henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Çalışmalar gen-çevre ve/veya gen-gen etkileşiminin dudak damak yarığı oluşumunda önemli olduğunu göstermektedir (Maestri ve ark 1997, Lees 2008). Genetik hastalıkların patogenezinin anlaşılabilmesi için hastalıktan sorumlu genlerin bilinmesi gerekmektedir. Bir hastalık ile ilişkisi kesinleşmiş genler hastalıktan sorumlu genlerdir. Hastalığın patogenezi ile ilişkilendirilmiş ancak hastalık ile olan ilişkisi tam olarak açıklanamamış genler “aday gen” olarak tanımlanmaktadır. (Litonjua ve Celedon 2006). Modern moleküler biyoloji ve genetik analiz yöntemlerindeki gelişmelerle birlikte dudak damak yarığının oluşumuyla ilişkilendirilen genlerin sayısı artmaktadır. Bu konu ilgili ile araştırmalar hala devam etmektedir. Bu genler arasında MSX1, MSX2, TGF α , TGF β , IRF6, TBX10, PVRL, BCL3, PAX9, VAX1, NOG, MTHFR, RARA, FOXE1 gibi genler bulunmaktadır.

Medial nazal çıkıntılarının, üst dudak yapılarının oluşumunda rolü olan, kraniyofasiyal gelişimden sorumlu VAX1 genindeki mutasyonların sendromik olmayan dudak damak yarığının oluşumuna neden olabileceği düşünülmektedir

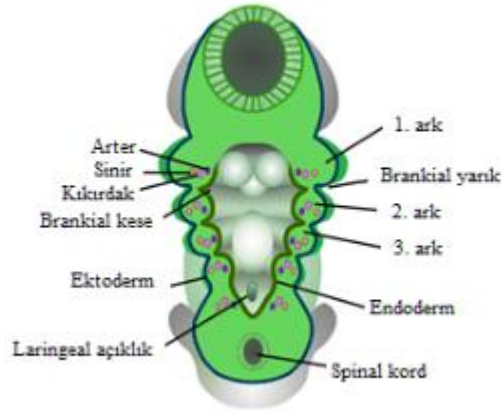
(Machado ve ark 2021). Bugüne kadar Çin, Afrika, Avrupa, Japonya, Polonya ve Güneydoğu Asya popülasyonları dahil olmak üzere farklı ırksal ve etnik popülasyonlarda VAX1 geni ile sendromik olmayan dudak damak yarığı arasındaki ilişkiyi doğrulayan birçok çalışma bulunmaktadır (Mangold ve ark 2010, Wang ve ark 2011, Mostowska ve ark 2012, Butali ve ark 2013, Figueiredo ve ark 2014). İlaveten Kenya, Polonya, Çin, Avrupa popülasyonlarında yürütülmüş dudak damak yarığı ile VAX1 geninin ilişkisiz olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Li ve ark 2017, Pan ve ark 2011, Weatherley ve ark 2011, Zawislak ve ark 2014).

Literatür taramamız sonucu belirlediğimiz dudak damak yarığı aday gen listesi içerisinde yer alan VAX1 geni ile ilgili ülkemiz popülasyonu üzerinde yürütülen herhangi bir yayına rastlanılmamıştır. Çalışmamızda; literatürde aday gen olarak rapor edilmiş, günümüz araştırmacılarının ilgisini çekmekte olan, popülasyonumuzda çalışılmamış, herhangi bir sendromla ilişkisi henüz tespit edilmemiş VAX1 geni üzerinde değerlendirme yapılmasına karar verilmiştir. Bu çalışmanın amacı; ülkemiz popülasyonunda sendromik olmayan dudak damak yarığı vakalarının etiyolojisinde VAX1 geninin rs387907252, rs1554942980, rs1554942640 varyantlarının etkisini araştırmaktır. Aynı zamanda çevresel faktörlerin etkileri de sorgulanacaktır. Çalışmamızın sıfır hipotezi; “ülkemiz popülasyonunda sendromik olmayan dudak damak yarığı vakaları ile VAX1 geninin rs387907252, rs1554942980, rs1554942640 varyantlarının bir ilişkisi yoktur” şeklinde kurulmuştur.

1.1. Dudak ve Damağın Embriyolojik Gelişimi

Dudak damak yarığı deformitesinin tedavisinin başarılı bir şekilde yapılabilmesi için yüz bölgesinin embriyolojik gelişim evrelerinin ve anatomisinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Dudak ve damağın embriyolojik gelişim süreci hücrelerin göçü, büyümesi, farklılaşması, apoptozise uğramasını içeren olayların bütünüdür ve embriyogenezisin erken dönemlerinde gerçekleşmektedir (Mossey ve Little 2009). Bu olayların gerçekleşmesinde birçok sinyal iletim mekanizmaları, transkripsiyon faktörleri, ekstraselüler matriks, büyüme faktörleri ve büyüme reseptörleri görev almaktadır (Stanier ve Moore 2004).

Yüzün oluşumunu temel olarak iki ana yapı üstlenmektedir. Bunlar brankial (faringeal) ark yapıları ve fasiyal çıkıntılardır. Brankial arklar intrauterin hayatın 4. ve 5. haftalarında meydana gelen içi mezoderm ile dolu, dışı ektoderm ile çevrili yapılardır. Boyun bölgesinde bulunan brankial arklar mandibular ark, hyoid ark ve hyotroid ark olmak üzere üç çifttir. Her brankial ark yapısı oluşturacağı iskelet yapısına ait kraniyal sinir, aortik ark arteri ve kıkırdak içermektedir (Sadler 2003, Carstens 2017) (Şekil 1.1). Yüz taslağı olarak ifade edilen fasiyal primordia, embriyolojik dönemin ilk haftalarında nöral krest hücreleri ve mezenşim hücrelerinin birleşmesiyle oluşmaktadır (Bernheim ve ark 2006). Yüz taslağında 4. haftanın sonunda ilkel ağız boşluğu olan stomodeum etrafında mandibular arkta meydana gelen fasiyal çıkıntı olarak adlandırılan oluşumlar görülmektedir. Çıkıntıların içi mezoderm ile dolu olup dış yüzeyleri ektoderm yapısından oluşmaktadır. Yüz gelişiminde rol oynayan beş temel çıkıntı; bir çift mandibuler, bir çift maksiller, bir adet de frontonazal çıkıntıdır (Ülgen 2015). İlkel ağız boşluğunun lateralinde maksiller çıkıntı, kaudalinde mandibular çıkıntı ve üst sınırında frontonazal çıkıntı bulunmaktadır (Sadler 2012). Fasiyal çıkıntılar birleşerek ilgili yapıları oluşturmaktadır. Çıkıntıların birleşmesi ektodermal epitel düzeyinde başlayarak epitelde yer yer porların meydana gelmesi, porlardan çıkıntıların mezodermilerinin birleşmeye başlaması ve zamanla yapışma bölgelerindeki ektodermin ortadan kalkarak mezodermilerin tamamen kaynaşması şeklinde gerçekleşmektedir. Çıkıntılardaki mezodermin devamlılık kazanmasına mezodermizasyon denilmektedir (Ülgen 2015).

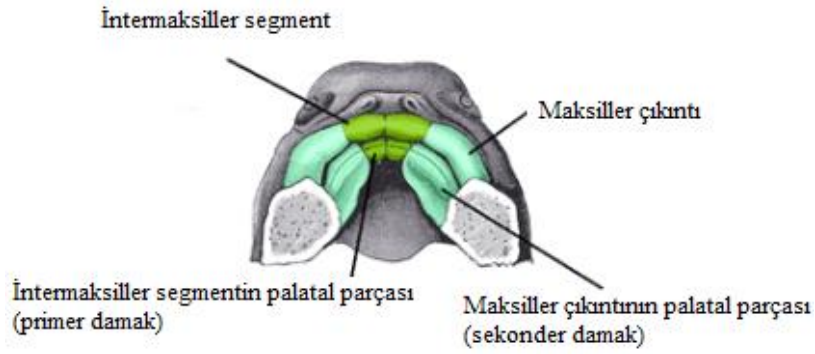


Şekil 1.1. Baş boyun bölgesindeki brankial arklar (prepladder.com)

1.1.1.1. Damağın Embriyolojik Gelişimi

Palatogenez olarak adlandırılan damağın embriyolojik gelişimi intrauterin hayatın 5. ve 12. haftaları arasında meydana gelmektedir. Damak yapısı primer ve sekonder damak olmak üzere iki taslaktan oluşmaktadır (Kerrigan ve ark 2000). Damak oluşumunu anlayabilmek için öncelikle burun oluşumundan kısaca bahsetmek gerekir.

Embriyon üç haftalık iken frontonazal çıkıntının her iki yanında ektoderm yapısının kalınlaşması ile kabartılar meydana gelmektedir. Bu kabartılara “nazal plakod” adı verilmekte olup burun yapısının ilk taslağıdır. Nazal plakodların mitoz sonucu mezoderm içerisine invaginasyonu ile 5. haftada “nazal pitsler” oluşmaktadır. Nazal pitsler burun boşluğunun başlangıcıdır. Plakodların invaginasyonu sonucu frontonazal çıkıntı lateral ve medial parçalara ayrılmaktadır. Medial nazal çıkıntı burun septumunu oluşturmaktadır. Sağ ve sol lateral nazal çıkıntıların, maksiller çıkıntı ve medial nazal çıkıntı ile birleşmesi sonucu burun kanatları ve delikleri oluşmaktadır (Ülgen 2015). Maksiller çıkıntıların mediale doğru hareket ederek medial nazal çıkıntı ile birleşmesi sonucunda intermaksiller segment oluşmaktadır. İntermaksiller segment üç yapının oluşumuna katılmaktadır. Bu yapılar; üst dudak filtrumu, üst keserlerin bulunduğu alveoler parça (premaksilla) ve primer damaktır (Sadler 2012, Ülgen 2015) (Şekil 1.2).

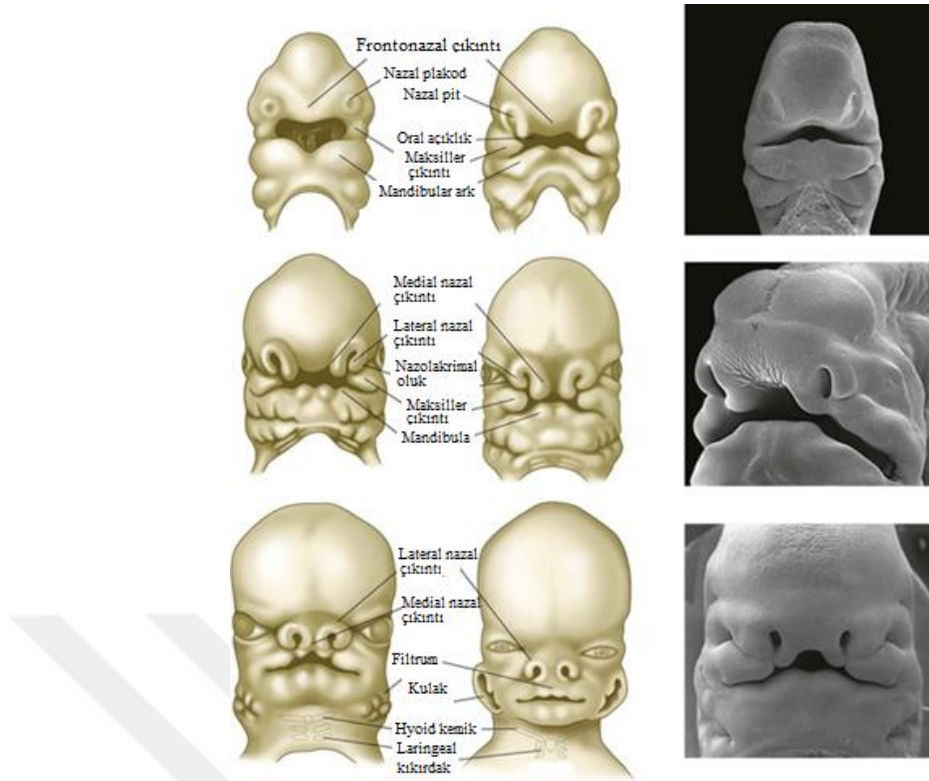


Şekil 1.2. Primer damağın gelişimi (teachmeanatomy.com)

İntermaksiller segmentten gelişmeye başlayan primer damak foramen incisivumun anteriorunda kalan bölgedir, sekonder damak ise foramen incisivumun posteriorunda kalan sert ve yumuşak damağı içine alan bölgedir (Kerrigan ve ark 2000). Burun ve ağız boşluğu 5 haftalık embriyonda sadece ön tarafta ayrılmıştır, bu boşluklar 8. ve 12. haftalar arasında önden arkaya doğru sekonder damağın oluşması ile birlikte arka tarafta da ayrılacaktır. Sekonder damağın oluşumu sağ ve sol maksiller çıkıntının medial yüzeyinde gerçekleşen mitoz sonucu palatal çıkıntıların oluşmasıyla başlamaktadır. Palatal çıkıntılar, 6. haftada dilin her iki yanında aşağı yönde büyümektedir. Mandibulanın büyümesi ve başın ekstansif konuma geçmesi ile 7. haftada dil aşağıya, geriye doğru hareket etmektedir. Dilin bu hareketiyle palatal çıkıntılar yatay konuma geçerek mediale doğru büyümektedir. Büyüme sonucu palatal çıkıntıların nazal septumla birleşmesiyle sekonder damak oluşumu tamamlanmaktadır. Yumuşak damak ve uvula sekonder damaktan köken almaktadır. Sekonder damak gelişiminin tamamlanmasıyla oronazal bölge oral ve nazal olmak üzere iki boşluğa ayrılmaktadır (Natsume ve ark 2000, Sperber ve Wyszynski 2002, Ülgen 2015) (Şekil 1.3).

1.1.2. Dudağın Embriyolojik Gelişimi

Üst dudak gelişimi döllenmeden sonraki 24. ve 37. günler arasında gerçekleşmektedir (Sperber ve ark 2010). Üst dudak oluşumu maksiller çıkıntıların mediale göçü ile başlamaktadır. Maksiller çıkıntılar bu hareket sonucunda medial nazal çıkıntılar ile birleşerek üst dudağı oluşturmaktadır (Sadler 2003, Mossey ve ark 2009). Alt dudak ise 11. ve 12. haftalar arasında sağ ve sol mandibular çıkıntıların medialde birleşmesiyle meydana gelmektedir (Magreni ve May 2015) (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Yüzün embriyolojik gelişimi (teachmeanatomy.com)

1.1.3. Yarığın Embriyolojik Süreci

Mezodermizasyon olayı kısmi olarak gerçekleştiğinde veya hiç gerçekleşmediğinde yarıklar meydana gelmektedir (Gürsoy 1972). Mezodermizasyon tek tarafta tamamlanmaz ise yarık unilateral olarak, hem sağ hem de solda tamamlanmaz ise yarık bilateral olarak görülmektedir (Wantia ve Rettinger 2002). Dudak yarıkları, medial nazal çıkıntı ile maksiller çıkıntının mezodermizasyonundaki aksaklık sonucu meydana gelmektedir (Kerrigan ve ark 2000, Murray 2002). Eğer bu aksaklıklar primer damak ve burun deliklerinin oluşumu sırasında meydana gelirse dudak, burun deliği veya alveol kemiği yarığı oluşabilmektedir. Mezodermizasyon hem sağ hem de solda tamamlanmaz ise bilateral olarak burun deliği, üst dudak ve alveol kemiğini içine alan yarık oluşmakta, premaksilla ve filtrum öne fırlamış olarak görünmektedir. Sekonder damak oluşumu sırasında mezodermizasyon tamamlanmaz ise damak yarıkları oluşmaktadır (Ülgen 2015).

1.2. Dudak ve Damak Yarıklarının Sınıflandırmaları

Dudak damak yarıkları morfolojik olarak çeşitlilik gösteren deformite grubudur. Bu nedenle interdisipliner ortak bir dil oluşturmak için kapsayıcı, pratik ve anlaşılır bir sınıflamaya ihtiyaç duyulmaktadır (Losee 2015). Yarıklar bir sendromun parçası olarak görülebilirken, izole yani sendromik olmayan yarıklar olarak da karşımıza çıkmaktadır (Wyszynski 2002).

Dudak damak yarıklarının sınıflandırılması anatomik, etiyolojik ve embriyogenetik özelliklerine göre yapılabilmektedir. Genetik çalışmalar yürüten araştırmacılar etiyolojik odaklı sınıflamayı tercih ederken, klinisyenler daha pratik ve anatomik odaklı sınıflandırma sistemini tercih etmektedir (Allori 2017). Veau, Fogh-Andersen, Harkins, Davis ve Ritchie, Kernehan ve daha birçok araştırmacının çalışmaları ile çeşitli sınıflandırmalar tanımlanmaktadır (Davis ve Ritchie 1922, Veau 1931, Kernehan ve Stark 1958, Fogh 1971, Elsayhy 1973, Millard 1979, Smith ve ark 1998).

1.2.1. Davis ve Ritchie Sınıflaması

1922 yılında Davis ve Ritchie alveoler krete göre anatomik olarak 3 gruptan oluşan sınıflandırma sistemi tanımlamışlardır (Davis ve Ritchie 1922).

- I. Grup: Dudak Yarığı (Pre-alveoler kret yarığı); 1. Unilateral, 2. Bilateral, 3. Median
- II. Grup: Damak Yarığı (Post-alveoler kret yarığı); 1. Yumuşak Damak, 2. Sert Damak
- III. Grup: Dudak Damak Yarığı (Alveoler kreti içerisine alan her yarığ); 1. Unilateral, 2. Bilateral, 3. Median

1.2.2. Veau Sınıflaması

1931 yılında Victor Veau yarıkların tipini ve yerleşim yerini baz alan, dudak damak yarıklarını dört gruba ayırdığı sınıflama sistemini yayınlamıştır. Veau sınıflaması günümüzde hala kabul gören bir sınıflama çeşitidir (Veau 1931).

- 1. Grup: Yumuşak Damak Yarığı
- 2. Grup: Yumuşak ve Sert Damak Yarığı (Foramen incisivumun posterioru)
- 3. Grup: Tek Taraflı Dudak Yarığıyla Beraber Görülen Damak Yarığı
- 4. Grup: Çift Taraflı Dudak Yarığıyla Beraber Görülen Damak Yarığı

1.2.3. Fogh-Andersen Sınıflaması

1942 yılında Paul Fogh-Andersen embriyolojik açıdan sınıflama yapmıştır. Deformiteleri sınıflandırırken foramen incisivumu sınır olarak kabul etmiştir. Foramen incisivum önündeki premaksilla, prolabium, nazal septum gibi yapılar primer damak, foramen incisivumun arkasında kalan sert ve yumuşak damak bölgesi ise sekonder damak bölgesidir (Fogh 1971).

1. Grup: Dudak Yarığı (Dudak ve primer damak yarığı)
2. Grup: Dudak ve Damak Yarığı
3. Grup: Damak Yarığı (Sekonder damak yarığı)
4. Grup: Atipik Yarıklar (Opsiyonel)

1.2.4. Kernahan-Stark Sınıflaması

1958 yılında Desmond Kernahan ve Richard Stark deformiteyi embriyolojik açıdan 3 ana gruba ayırmışlardır (Kernahan ve Stark 1958).

1. Grup: Primer Damak Yarığı; Unilateral (Total, Subtotal), Median (Total, Subtotal), Bilateral (Total, Subtotal)
2. Grup: Sekonder Damak Yarığı; Total, Subtotal, Submukoz
3. Grup: Primer ve Sekonder Damak Yarığı; Unilateral (Total, Subtotal), Median (Total, Subtotal), Bilateral (Total, Subtotal)

Primer damak yarığında yarık burun tabanına kadar uzanıyorsa total, uzanmıyorsa subtotal yarık olarak tanımlanmaktadır. Sekonder damak yarıklarında yarık, foramen incisivuma kadar uzanıyorsa total yarık olarak tanımlanmaktadır.

1.2.5. Uluslararası Sınıflandırma

Uluslararası Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Derneği'nin 1967 yılında Roma'da gerçekleştirdiği 4. Uluslararası kongresinde dudak damak yarıkları alt komitesi derneğin resmi sınıflandırmasını yayınlamışlardır. Bu sınıflandırma embriyolojik temelli bir sınıflandırmadır.

1. Grup: Anterior (Primer) Damak Yarığı; Dudak, Alveol

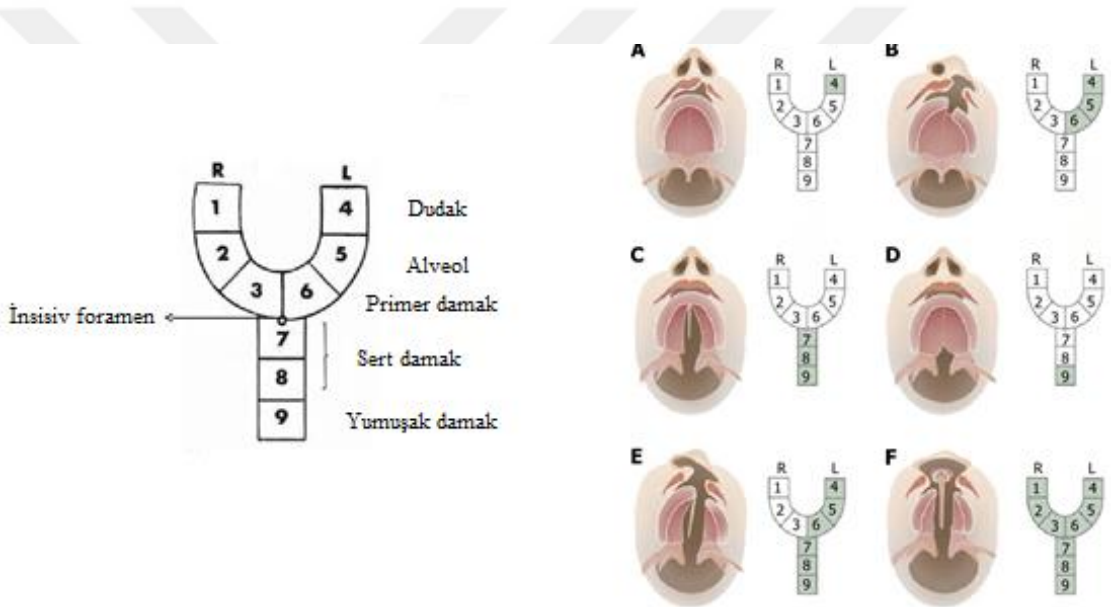
2. Grup: Anterior (Primer) ve Posterior (Sekonder) Damak Yarığı; Dudak, Alveol, Sert Damak

3. Grup: Posterior (Sekonder) Damak Yarığı; Sert Damak, Yumuşak Damak

Nadir Yüz Yarıkları (Topografik bulgu temelli sınıflama); Median Yarık (Premaksilla hipoplazisi veya aplazisi eşlik eden/etmeyen), Transversal Yarık (Oro-auricular), Alt dudak, burun veya diğer nadir Yarıklar

1.2.6. Kernahan'ın 'Bölmeli Y' Sınıflaması

1971 yılında Kernahan, mevcut deformiteleri tıbbi kayıt altına almayı kolaylaştıran pratik bir sınıflandırma yapmıştır. Bu sınıflandırmanın avantajı dijital ortamlara uygun olmasıdır.

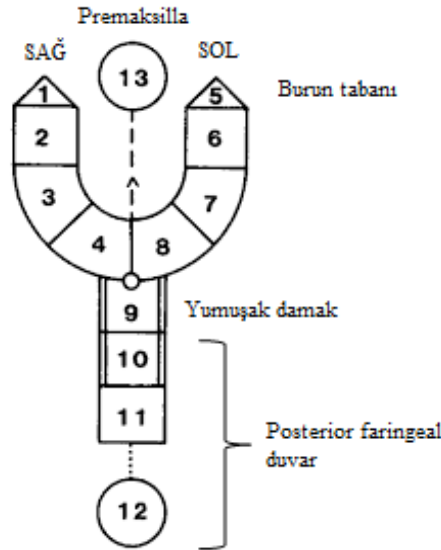


Şekil 1.4. Kernahan "Bölmeli Y" Sınıflaması (Kernahan 1971)

Şekil 1.4 de görülen her numaranın temsil ettiği bir bölge bulunmaktadır. Sırasıyla 1 ve 4 numaralı kare sağ ve sol dudak, 2 ve 5 numaralı kare sağ ve sol alveolü, 3 ve 6 numaralı kare foramen incisivumun sağ ve sol bölgesini, birleşim bölgesindeki yuvarlak foramen incisivumu, 7 ve 8 numaralı kareler sert damağı, 9 numaralı kare ise yumuşak damağı temsil etmektedir. Median dudak yarığı, mikroform dudak yarığı gibi özel durumlar için de eklemeler yapmıştır (Kernahan 1971).

1.2.7. Elsahy Sınıflaması

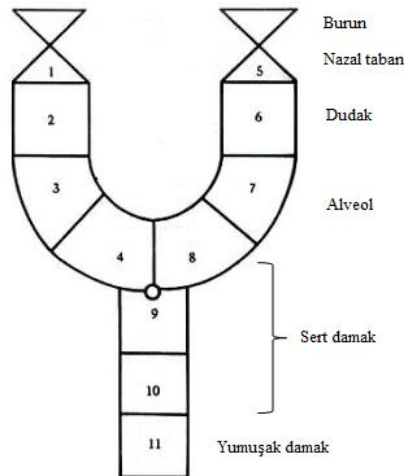
Elsahy, 1973 yılında Kernehan'ın "Bölmeli Y" sınıflamasında modifikasyonlar yapmıştır. Sınıflamaya eklediği üçgen alanlar burun tabanını, burun tabanı hizasına eklediği 13 numaralı bölge premaksillayı, 9 numaralı yumuşak damak bölgesinin sonuna eklediği 10, 11, 12 numaralı alan da posterior faringeal duvarı temsil etmektedir (Elsahy 1973) (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Elsahy Sınıflaması (Elsahy 1973)

1.2.8. Millard'ın Modifiye Bölünmüş Y Sınıflaması

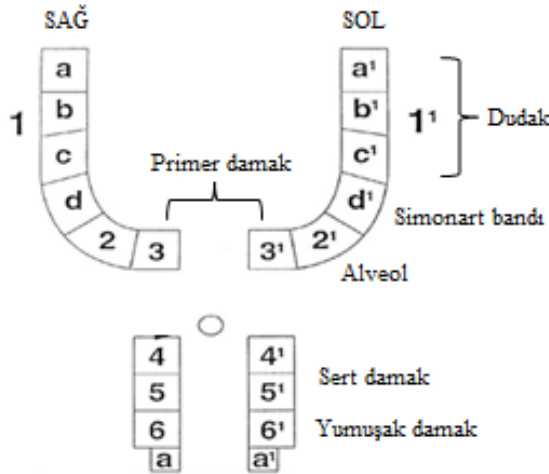
Kernehan'ın "Bölmeli Y" Sınıflamasının yetersiz olduğunu düşünen Millard, burun ve nazal tabanı temsil eden üçgen alanlar ekleyerek sınıflamayı 1976 yılında yeni haliyle yayınlamıştır (Millard 1979) (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. Millard'ın Modifiye Bölünmüş Y Sınıflaması (Millard 1979)

1.2.9. Smith Sınıflaması

Smith 1990 yılında Kernahanın “Bölmeli Y” sınıflaması üzerinde değişiklikler yaparak kendi sınıflamasını yayınlamıştır. Kernahanın sınıflamasını bilateral dudak yarığındaki asimetrik durumlarda ve submukoz damak yarığını tanımlamada yetersiz bulmuştur. Smith modifikasyonunda sol taraftaki yarıklarda rakamın/harfin üzerinde ‘1’ rakamı bulunmaktadır, sağ taraftaki yarıklarda ise bulunmamaktadır. ‘a’ mikroform dudak yarığını, ‘b’ 1/3 incompetent dudak yarığını, ‘c’ 2/3 incompetent dudak yarığını ifade etmektedir, ‘d’ ise Simonart bandını ifade etmektedir. 2 numaralı bölge alveolü, 3 numaralı bölge alveol ve incisiv foramen arasını, 4 numaralı bölge maksiller kemiğin palatin processine kadar olan bölgeyi, 5 numaralı bölge palatin kemiğin palatin processine kadar olan bölgeyi, 6 numaralı bölge yumuşak damağı, a harfi ise submukoz damak yarığını ifade etmektedir (Smith ve ark 1998).



Şekil 1.7. Smith Sınıflaması (Smith ve ark 1998)

Sonuç olarak dudak damak yarıkları dudak, alveol, yumuşak ve sert damağı farklı derecelerde etkileyerek çok çeşitli klinik tablolarla karşımıza çıkmaktadır. Tüm klinik tabloları içine alacak net, pratik, evrensel olan bir sınıflandırma sisteminin varlığı henüz söz konusu değildir. Bu nedenle her klinik tablo ayrı ayrı değerlendirilerek, tedavi prosedürü bireyselleştirilmelidir (Boynuyoğun ve Özgür 2020).

1.3. Dudak Damak Yarıklarının Epidemiyolojisi

Baş boyun bölgesinin en sık karşılaşılan konjenital anomalisi dudak damak yarıklarıdır. Dünya genelinde yarık damağın eşlik ettiği veya etmediği yarık dudak görülme sıklığı yaklaşık olarak 700-1000 canlı doğumda 1’dir. Görülme oranı coğrafik

konum, ırk, etnik köken ve sosyoekonomik düzeye göre değişiklik göstermektedir (Murray 2002).

Birleşik Devletler verilerine göre Amerikada yarık dudak insidansı 7,75:10.000, dünya genelinde ise 7,94:10.000'dir. Bu görülen yarık vakalarının %46'sı yarık dudak damak, %33'ü izole yarık damak, %21'i izole yarık dudak vakasıdır (Tanaka ve ark 2012). Çift taraflı dudak yarığı vakalarının %86'sında, tek taraflı dudak yarığı vakalarının %68'inde yarık damak da görülmektedir. Tek taraflı yarık vakaları, çift taraflı yarık vakalarına göre 9 kat daha fazla, tek taraflı yarık vakalarında sol yarık sağ yarığa göre 2 kat daha fazla gözlenmektedir (Gutowski 2014). Yarık dudak ve damak insidansı coğrafi konumlara göre değişen prevalanslara sahiptir. Yapılan bir çalışmada sırasıyla en düşük ve en yüksek orana sahip ülkeler şu şekilde sıralanmaktadır; Güney Afrika (3,13), İspanya (3,79) ve Küba (3,81); Japonya (19,05), Meksika (13,69) ve Norveç (12,79). Yarık damak vakalarında görülen ırksal varyasyon yarık dudak vakalarında görülen ırksal varyasyondan oldukça düşüktür. Bunun sebebi izole yarık damağın genellikle bir sendromla beraber görülmesidir. Birleşik Devletler verilerine göre izole yarık damak vakalarının ortalama görülme oranı Amerikada 10.000 canlı doğumda 5,03'tür, dünya genelinde ise 10.000 canlı doğumda 4,50'tir (Tanaka ve ark 2012). Yarık dudak ve damak erkeklerde daha sık görülürken, izole yarık damak kadınlarda daha sık görülmektedir (Mossey ve ark 2009). Türkiyede dudak damak yarıklı bireyler arasında yapılan epidemiyolojik çalışmalar ise sınırlıdır. Yiğit ve ark (2015) Türkiyede dudak damak yarığı görülme insidansını 947 canlı doğumda 1 bebek olarak rapor etmişlerdir. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesinde dudak damak yarığı sebebiyle tedavi edilen 1229 hasta üzerinde yapılan çalışmadaki oranlar; %64,4 dudak ve/veya damak yarığı, %35,6 izole damak yarığı şeklinde bildirilmektedir (Tunçbilek ve ark 2004).

1.4. Dudak Damak Yarıklarının Etiyolojisi

Oral yarıkların meydana gelme sebeplerini konu edinen birçok çalışma olmasına rağmen yarığın etiyolojisi ve patogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamış olup yarığın çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (Vieira 2008). İkizler üzerinde yapılan çalışmalarda patolojinin benzerliği tek yumurta ikizlerinde %40-60 arasında iken çift yumurta ikizlerinde %5 oranındadır. Tek yumurta ikizlerinde oranın yüksek olması patogeneizde genetik

faktörlerin etkili olduğunu göstermektedir. Ancak bu oranın %100 olarak karşımıza çıkmaması genetik faktörlerin yanında çevresel faktörlerin de etkisini ortaya koymaktadır (Murray 2002). Bir hastalık tablosunun çevresel ve genetik faktörlerin etkisinin bir sonucu olarak karşımıza çıkmasına “multifaktöriyel etki mekanizması” adı verilmektedir. Herhangi bir patolojiye karşı mevcut olan genetik yatkınlık farklı genler tarafından kontrol edilmekte olup patolojinin meydana gelme eşiğini genetik ve çevresel faktörler belirlemektedir. Bu eşik aşıldığında patoloji fenotipik olarak karşımıza çıkmaktadır. Dudak damak yarığının da bu mekanizma ile oluştuğu düşünülmektedir (Fraser 1989, Bender 2000, Şafak ve Akyürek 2003, Menezes ve Vieira 2008, Altuğ ve Şenol 2015).

Anne adayının etiyolojik faktöre maruz kaldığı zaman aralığı oluşacak yarık tipini belirlemektedir. Maruziyet embriyolojik dönemin 5. haftalarında olursa yarık dudak, 7. haftalarda olursa dudak oluşumu tamamlanmış olacağından izole yarık damak meydana gelmektedir. Etiyolojik faktör aralıksız olarak etki ederse yarık dudak damak oluşmaktadır (Wyszynski ve Beaty 1996, Cocco ve ark 2010).

1.4.1. Dudak Damak Yarıklarının Etiyolojisinde Çevresel Faktörler

Dudak damak yarığının oluşmasına neden olduğu düşünülen teratojenler ile alakalı çalışmalar yapılmaktadır. Araştırmacılar genellikle gebelik sırasında annedeki vitamin düzeyine, kullanılan bazı ilaçlara, maternal sigara ve alkol kullanımına, geçirilen viral enfeksiyolara yönelmişlerdir. Oluşabilecek konjenital anomalinin tipini ve şiddetini teratojene maruz kalma dönemi ve teratojenin dozajı etkilemektedir (Wyszynski ve Beaty 1996, Spritz 2001, Wong ve Hagg 2004). Dudak damak yarığı etiyolojisinde suçlanan annenin yaşı, akraba evlilikleri, maternal sigara ve/veya alkol kullanımı, vitamin eksikleri, gebelikte geçirilen enfeksiyonlar, gebelikte kullanılan bazı ilaçlar ve stres gibi çevresel faktörler vardır (Boyles ve ark 2010, Wallace ve ark 2011).

Artmış ebeveyn yaşı patolojinin oluşma riskini arttırmaktadır. Ancak paternal yaştan etkisi maternal yaşa göre daha fazladır (Berg ve ark 2015, Hermann ve ark 2018). Maternal sigara kullanımının dudak damak yarığı etiyolojisindeki yeri tartışmalı olup, etkili olduğunu bildiren çalışmaların yanında (Wyszynski ve Beaty 1996, Chung ve ark 2000) etkili olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (Malloy ve ark 1989, Lieff

ve ark 1999). Yapılan meta-analizler sonucunda maternal sigara kullanımı sonucu dudak damak yarığı oluşma riskinin iki kat arttığı da söylenmektedir (Little ve ark 2004). Maternal folik asit eksikliği teratojenik etki oluşturmaktadır. Çalışmalar folik asit eksikliğinin genotipten bağımsız olarak dudak damak yarığı oluşumunda etkisinin olduğunu göstermektedir (Tolarova ve Harris 1995, Shaw ve ark 1998, Loffredo ve ark 2001). Gebeliğin erken dönemlerinde multivitamin kullanımının orofasiyal yarık görülme riskini azalttığını söyleyen araştırmacılar bulunmaktadır (Johnson ve Little 2008). Dudak damak yarığı görülen bebeklerin annelerinin kanındaki çinko düzeyi diğer annelerin kanındaki çinko düzeyine göre düşük bulunmuştur (Krapels ve ark 2004). Aynı zamanda deney çalışmaları düşük çinko düzeyinin izole yarık damak oluşumunda etkili olabileceğini göstermektedir (Warkany ve Petering 1972). Gebeliğin ilk dönemlerinde geçirilen bazı viral enfeksiyonlar dudak damak yarığının oluşmasına ortam hazırlamaktadır (Acs ve ark 2005). İlk trimestırda anne adayının antikonvülsan, kortikostreoid, retinoik asit gibi ilaçları kullanması dudak damak yarığı oluşma ihtimalini arttırmaktadır (Park-Wyllie ve ark 2000).

1.4.2. Dudak Damak Yarıklarının Etiyolojisinde Genetik Faktörler

Orofasiyal yarıklarda etiyolojik faktörler arasında genetik faktörlerin büyük bir role sahip olduğu eski yıllardan beri bilinmektedir. Ancak yarığa neden olan genetik mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (Field ve ark 1994, Murray 1995, Schutte ve Murray 1999, Prescott ve ark 2000). Çalışmalar gen-çevre ve/veya gen-gen etkileşiminin dudak damak yarığı oluşumunda önemli olduğunu göstermektedir (Maestri ve ark 1997, Lees 2008). Genetik hastalıkların patogenezinin anlaşılabilmesi için hastalıktan sorumlu genlerin bilinmesi gerekmektedir. Bir hastalık ile ilişkisi kesinleşmiş genler hastalıktan sorumlu genlerdir. Hastalığın patogenezi ile ilişkilendirilmiş ancak hastalık ile olan ilişkisi tam olarak açıklanamamış genler aday gen olarak tanımlanmaktadır. (Litonjua ve Celedon 2006).

Kraniyofasiyal sendromlar baş ve yüz gelişiminin etkilendiği birden fazla problemler ile seyreden patalojilerdir. Dudak damak yarığı herhangi bir kraniyofasiyal sendromun bir bileşeni olabilmektedir ve bu şekilde görülenler sendromik dudak damak yarığı olarak adlandırılmaktadır. Bu grup tek gen hastalıkları, kromozom hastalıkları, çevresel etkenler ile karşımıza çıkabilmektedir. Genellikle izole damak yarığı sendromlar ile beraber görülmektedir. Dudak damak yarıklarının %5-7'sini

mendelyen tipte kalıtım gösteren sendromik dudak damak yarıkları oluşturmaktadır (Stoll ve ark 2008, Mossey ve ark 2009, Chetpakdeechit ve ark 2010, Maarse ve ark 2012). Dudak damak yarığından sorumlu genlerin tespiti ilk olarak mendelyen kalıtım gösteren sendromik dudak damak yarığı hastalarının ailelerinin incelenmesiyle gerçekleşmiştir. Sonrasında ise sendromik olmayan dudak damak yarığına yatkınlık oluşturan genler tespit edilmiştir. Bu genler arasında MSX1, IRF6, TBX22, PVRL1, FGFR1 sayılabilmektedir (Wong ve Hagg 2004, Jugessur ve ark 2009, Utine 2015).

Dudak damak yarığı ile beraber görüldüğü rapor edilen kraniyofasiyal sendromların sayısı 400'den fazladır (Gorlin ve ark 2001). Bu sendromlar arasında en sık gözlenen Van der Woude sendromu olup, IRF6 genindeki mutasyonlar sonucunda oluşmaktadır (Burdick 1986, Murray ve ark 1990, Kondo ve ark 2002). PVRL1 genindeki mutasyonlar yarığın da eşlik ettiği ektodermal displazi denilen sendroma neden olmaktadır (Suzuki ve ark 2000). Yüz yarığı, hipodonti ve tırnak displazisi tablosu ile karşımıza çıkan Witkop sendromu ise MSX1 genindeki mutasyon ile meydana gelmektedir (Jumlongras ve ark 2001). FGFR1'in mutasyona uğraması sonucu Kallmann sendromu görülmektedir (Dode ve ark 2003). Dudak damak yarığı ile görülen diğer sendromlar arasında DiGeorge sendromu, Stickler sendromu, Velokardiyofasiyal sendrom, Pierre Robin, Treacher Collins, Apert, Goldenhar, Crouzon, Fetal Alkol sendromu, Gorlin sendromu bulunmaktadır (Kimonis ve ark 1997, Celli ve ark 1999, Tunçbilek ve ark 2004, Shprintzen 2008).

Sendromik olmayan dudak damak yarıklı vakalar toplam vakaların %93-95'ini oluşturmaktadır. Bu vakaların kalıtım modeli Mendelyen kalıtım modeli ile açıklanamamaktadır. Bundan dolayı vakalarda her zaman aile hikayesi karşımıza çıkmamaktadır. Ancak hastaların birinci derece yakınları normal bireylere göre patolojinin görülmesi açısından 40 kat daha fazla risk taşımaktadır (Lidral ve ark 2008). Araştırmacılar arasında ailesel hikaye ve akraba evliliğinin oral yarıklar ile olan ilişkisi çelişkilidir. Brezilya ve Meksika popülasyonu üzerinde yapılmış çalışmalar aile hikayesi varlığı ve akraba evliliğinin oral yarıklar ile alakası olmadığını söylemektedir (Gonzales ve ark 2008, Paranaiba ve ark 2010). Bazı araştırmacılar ise aile hikayesinin ve akraba evliliğinin oral yarıklar riskini arttığını savunmaktadır. Akraba evliliklerinde benzer gen yapılarının bir araya gelmesinden dolayı hastalık taşıyan resesif genlerin

karşılaşma ihtimalleri yükselmektedir (Uskun 2001, Jamilian ve ark 2007, Aquino ve ark 2011).

Yapılan moleküler ve epidemiyolojik çalışmalar dudak damak yarıklarının oluşumunda gen-çevre etkileşimlerinin de büyük bir role sahip olduğunu göstermektedir. Yani çevresel faktörlerin maternal gen ürünleri ile etkileşime girdiği düşünülmektedir. Maternal sigara ve alkol kullanımı, enfeksiyon, beslenme yetersizliği, teratojen ilaç kullanımı çevresel risk faktörleri arasında olduğu için gen-çevre etkileşimi ile ilgili yapılan çalışmalar bu faktörler üzerine yoğunlaşmaktadır (Rahimov ve ark 2012).

Maternal sigara kullanımı ile gen etkileşimi üzerine yapılan çalışmaların çoğu TGF α üzerinedir. Shaw ve ark (1996) TGF α genindeki mutasyon varlığına maternal sigara kullanımı eşlik ettiğinde dudak damak yarığı oluşma ihtimali 2 kat artarken, dudak yarığının oluşma ihtimalinin 6-8 kat arttığını bildirmişlerdir. Christensen ve ark (1999) TGF α , TGF β 3, BCL3, RARA, MSX1 genlerindeki mutasyon varlığı ile sigara kullanımının dudak damak yarığı oluşumu ile orta dereceli ilişkide olduğunu rapor etmişlerdir. Lammer ve ark (1985) sigara içen annelerde GSTT1 ve GSTM1 genlerinde mutasyon varsa bebeklerinde dudak damak yarığı görülme riskinin 6 kat arttığını yayınlamışlardır. Bir diğer çalışmada ise sigara kullanan annede Glutatyon-S-transferaz geninde mutasyon varsa bebeğinde dudak damak yarığı oluşma olasılığı 4,9 kat artabileceği bildirilmiştir (Van Rooij ve ark 2001). Souza ve ark (2012) ise TGF α /TaqI polimorfizmleri varlığında sigara/alkol kullanımını incelemişlerdir ve aralarında pozitif bir ilişki bulamamışlardır.

Shaw ve ark (1998) ilk trimesterde multivitamin desteği almayan annelerin TGF α geninde mutasyon olan bebeklerinde dudak damak yarığı oluşma olasılığının 3-8 kat arasında artış gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Munger ve ark (1996) MSX1 geninde mutasyon taşıyan ve gebeliğinde düzenli multivitamin kullanmayan kadınlarda düzenli kullananlara göre bebeklerinde izole damak yarığı görülme olasılığının arttığını savunmaktadırlar. Chevrier ve ark (2007) yaptığı çalışma sonucuna göre MTHFR ile RFC1 genindeki mutasyonlarla birlikte folat eksikliğinin varlığı orofasiyal yarık oluşumunu kolaylaştırmaktadır. Farklı araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda RARA geninde değişiklik varlığında vitamin A kullanımının olmasının, ilaç ve madde maruziyetinin EPHX1, NAT1, NAT2, GSTM1, GSTT1, CYP1A1

genlerindeki mutasyonlarla bir arada olmasının dudak damak yarığı oluşumu için ortam hazırladığını rapor etmişlerdir (Christensen ve ark 1999, Van Rooij ve ark 2003, Chevrier 2007, Boyles ve ark 2010). MTHFR (677TT-1298CC) genotiplerini taşıyan kadınların hamilelik dönemlerinde düzenli folik asit kullanması dudak damak yarığı oluşma riskini düşürmektedir (Van Rooij ve ark 2003). Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada da IRF6 geninde mutasyon varlığında multivitamin kullanımının dudak damak yarığı insidansını azalttığı görülmüştür (Wu ve ark 2010).

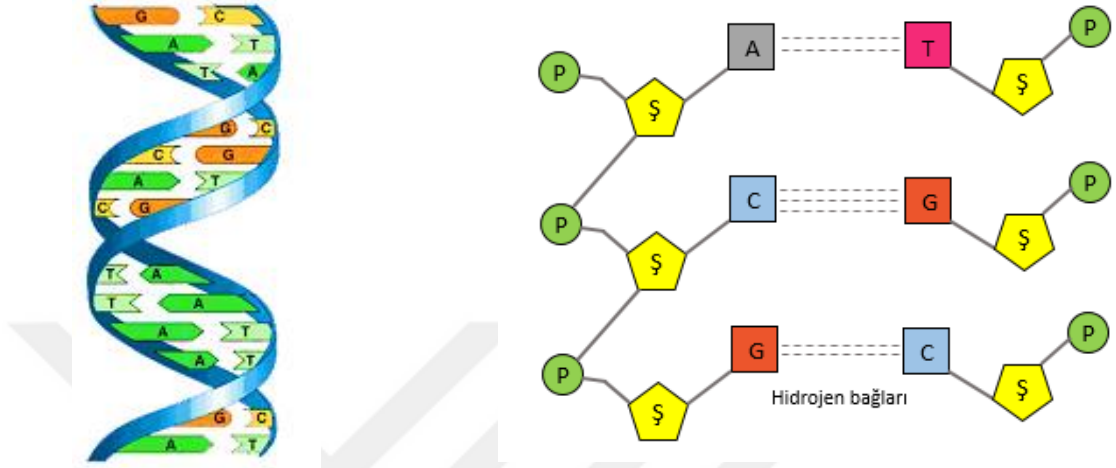
1.5. Genetik Biliminde Kullanılan Temel Kavramlar

1.5.1. Genetik, Kromozom, DNA, Gen

Genetik bilimi doğadaki biyolojik çeşitlenmenin nasıl meydana geldiğini, doğadaki mevcut türlerin kendi içlerindeki benzerliğini, türlerdeki organizmaların morfolojik özelliklerinin oluşumunu, bu özellikleri yavrularına aktarım şeklini inceleyen bilim dalıdır. Organizmadaki genetik materyalin bütününe “genom” adı verilmektedir (Kuru ve Gözükara 2001). Metabolizmayı yürüten temel yapılar proteinlerdir. Proteinlerin yapıtaşları aminoasitlerdir. Aminoasitler belirli dizilimlerle bir zincir oluşturarak proteinleri meydana getirmektedir. Protein yapısını belirleyen bu dizilim genetik bilgidir. Her hücre genetik bilgilerine göre kendine özgü proteinleri üretebilmektedir (Topaktaş 2014).

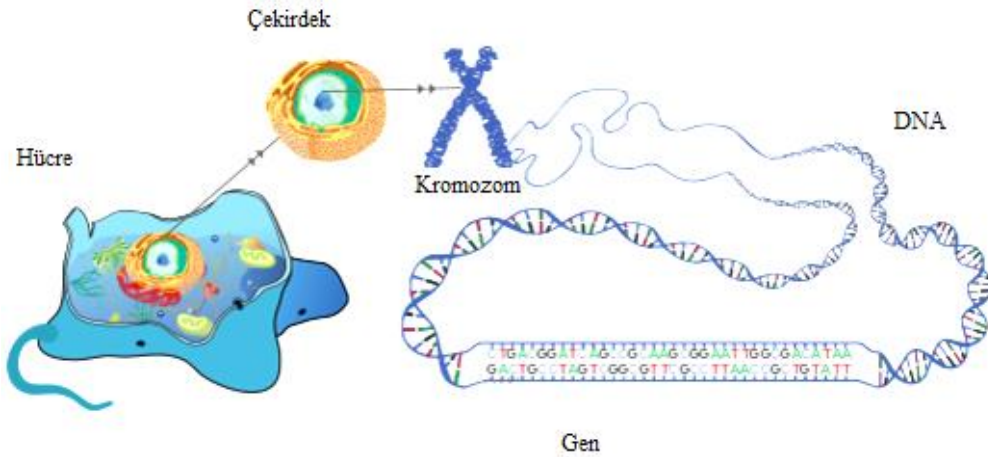
İnsan genomu deoksiribonükleik asit (DNA) yapısı içerisinde yazılımı olan 3 milyardan fazla harf içeren, 100.000’den fazla gen barındıran genetik yazıdır. DNA genetik bilginin depolandığı moleküldür (Lülecı ve ark 2000, Öner 2003). Watson ve Crick modeline göre DNA; çift zincirli sarmal bir yapıda olan, birbirine antiparalel şekilde uzanan bir moleküldür (Watson ve Crick 1953). “Nükleotid” adı verilen yapıtaşlarından oluşmaktadır. Nükleotid yapısı şeker, fosfat ve baz içermektedir. Nükleotidler içerdikleri azot bazının tipine göre adlandırılmaktadır. DNA Adenin, Guanin, Sitozin ve Timin olmak üzere 4 tip baz içermektedir. Karşılıklı zincirin bağlantısı bazlar arasındaki hidrojen bağları ile sağlanmaktadır. Bu bağlar Adenin ile Timin bazı arasında 2 adet, Guanin ve Sitozin arasında 3 adet olacak şekilde kurulmaktadır (Şekil 1.8). Bu nükleotidlerin farklı kombinasyonlarla bir dizi oluşturmaları sonucunda proteinlerin aminoasit dizilimlerini belirleyen genetik kodlar meydana gelmektedir (Alberts ve ark 2002, Giray 2009). Bölünme harici zamanlarda

DNA kromatin ağ denilen uzun ve ipliksi halde bulunmaktadır. Bölünme esnasında kromatin ağ yapısı kısalıp kalınlaşarak kromozom yapısına dönüşmektedir. Kromozom, DNA'nın "histon" adı verilen proteinlerle sarılarak yoğunlaşmasıyla oluşan yapıdır. Bir türün sağlıklı tüm bireylerinde kromozom sayısı aynıdır (Kuru ve Gözükara 2001)



Şekil 1.8. DNA molekül yapısı (forensicscience.com)

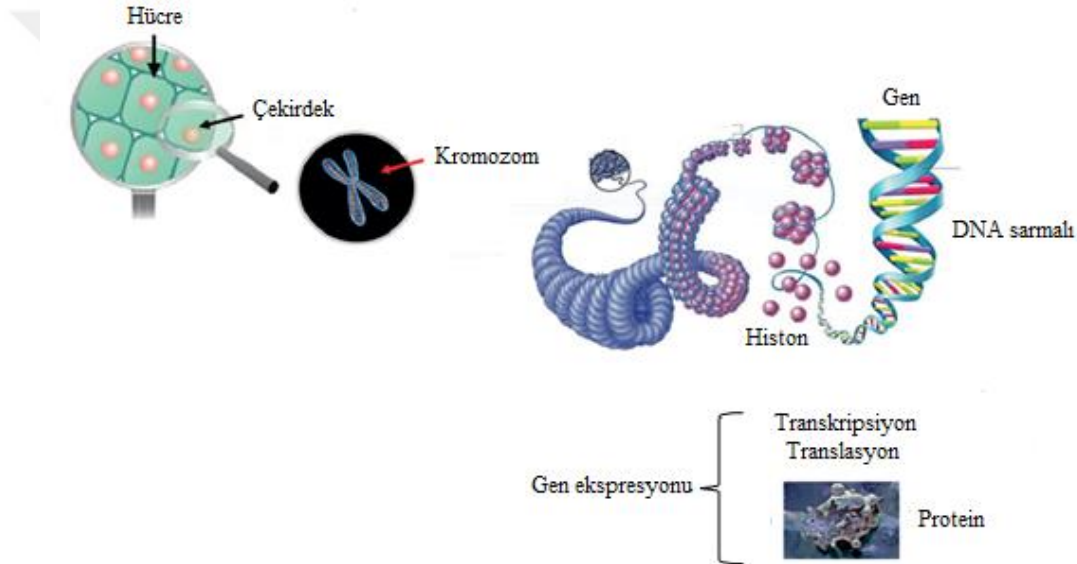
Genetik bilgileri içeren DNA parçalarına "gen" adı verilmektedir (Şekil 1.9). Her bir gen bir protein yapısının oluşumundan sorumludur İnsan genomunda yaklaşık 50.000-80.000 arası gen bulunmaktadır. Genlerin kromozom üzerinde "lokus" denilen özgül yerleri bulunmaktadır. Herhangi bir genin alternatif formlarına "allel" ismi verilmekte olup, aynı karakteristik özelliği kodlayan iki veya daha fazla seçenekli gen çeşitidir. Genler allel genlerden oluşmuş çiftler halinde bulunmaktadır. Allellerin yapısı aynı ise genotip homozigot yapıda, farklı ise genotip heterozigot yapıdadır. Toplumda en sık görülen allel tipine "wild (yabanıl) tip" denilmektedir (Baydar 2002, Nussbaum ve ark 2005).



Şekil 1.9. Kromozom, DNA, gen (fenpedia.com)

1.5.2. Protein Sentezi

Transkripsiyon; DNA'daki genetik bilgiden haberci RNA adı verilen mRNA'nın üretilmesidir. DNA çift sarmalının bir bölgesi açılmaktadır ve ipliklerden birisi ribonükleik asit (RNA) sentezi için kalıp olarak kullanılmaktadır. Sentez tamamlanınca sarmal eski halini almaktadır. Çekirdekte sentezlenen mRNA yapıları sitoplazmaya geçmektedir. mRNA'da bulunan genetik kodlar ribozomda okunarak bu kodlara denk gelen özgül aminoasitler belirlenmekte ve bu aminoasitlerin birleşmesi sonucu protein meydana gelmektedir. Bu olaya “translasyon” denilmektedir. Transkripsiyon ve translasyonu kapsayan bu olayın bütününe “gen ekspresyonu” adı verilmektedir (Pillai ve ark 2007) (Şekil 1.10).



Şekil 1.10. Gen ekspresyonu (books.akademisyen.com)

1.5.3. Mutasyon

Organizmadaki genetik özelliklerin tamamı “genotip” olarak ifade edilmektedir. Genotipin çevresel faktörlere maruziyeti sonucunda oluşan dış görünüş ve fiziksel özellikler ise “fenotip”tir (Lewontin 2015). Mutasyon organizmanın genotipinde meydana gelen kalıtsal değişikliklerdir. Genotipte oluşan mutasyon her zaman fenotipe yansımak zorunda değildir. Mutasyonun yeri, tipi, büyüklüğü gibi faktörler bunu belirlemektedir. Mutasyonlar germ hücrelerinde veya somatik hücrelerde meydana gelebilmektedir. Germ hücrelerinde görülen mutasyon nesilden nesile aktarılabilirken, somatik hücrelerde oluşan mutasyon ilgili organizmadaki fonksiyonları etkilemektedir. Germ hücrelerinde oluşan mutasyonlar sonucunda genetik çeşitlilik meydana gelmektedir (Thompson ve ark 1991, Klug ve ark 2006).

Mutasyon “mutajen” adı verilen dış faktörlerin etkisiyle gerçekleşebileceği gibi spontan da gerçekleşebilmektedir. Radyasyon, ultraviyole ışın, virüs, kemoterapötik ajanlar, pestisitler, ani sıcaklık değişimleri mutajenlere örnek gösterilmektedir. Spontan mutasyonlar DNA replikasyonu esnasında oluşan bazlarda oluşan küçük çaplı değişimler olup genellikle tamir mekanizmaları ile çözülmektedir. (Başoğlu ve Önal 2009).

Mutasyonlar meydana geldikleri kalıtsal yapının tipine göre genom mutasyonları, kromozom mutasyonları ve tek gen mutasyonları olacak şekilde üç grupta incelenmektedir (Thompson ve ark 1991).

1.5.3.1. Genom Mutasyonları

Hücre bölünmesi sırasında kromozomal ayrılmalarda meydana gelen hatalar sonucu kromozom sayısının değişmesi şeklindeki mutasyonlardır. Genom mutasyonu diğer nesillere aktarılabilir. En çok görülen örneği Down sendromudur. Germ hücrelerinde mayoz bölünme sırasında 21. kromozomda ayrılma gerçekleşemez ve bu duruma trizomi 21 adı verilmektedir. Genom mutasyonları kanser hücrelerinde çok fazla görülmektedir (Nussbaum ve ark 2001).

1.5.3.2. Kromozom Mutasyonları

Kromozomun yapısında değişiklik oluşturan mutasyonlardır. Kromozom yapısındaki değişimler delesyon, inversiyon, dublikasyon veya translokasyon sonucu oluşmaktadır. Kromozomun herhangi bir parçasının koparak kaybolmasına “delesyon” denilmektedir. Delesyonun lokasyonu, büyüklüğü ve içerdiği genler mutasyonun derecesini belirlemektedir. Ancak çoğunlukla bu mutasyon tolere edilememektedir (Rimoin ve ark 1997). Kromozomun ortasından bir parçanın koparak ters dönüp aynı yere tekrar yapışması olayı “inversiyon”dur. İnversiyon sonucunda genetik materyal kaybı görülmezken genlerin dizilimi değişmektedir. Eğer kopmalar kromozomların “telomer” adı verilen terminal uçlarında meydana gelirse açığa çıkan iki uç birleşerek halka şeklini almaktadır. Buna “ring” yani “yüzük formasyonu” denilmektedir. Bir kromozomdan kopan parçanın başka bir kromozoma yerleşmesine “translokasyon” adı verilmektedir. Dublikasyon ise kromozomdaki bir parçanın

kendisini eşlemesi sonucu içerisindeki bir bölgenin tekrarlanmasıdır (Rozas ve Aguade 1994, Hartl ve Jones 2002) (Şekil 1.11)



Şekil 1.11. Kromozom mutasyonları (etsu.com)

1.5.3.3. Tek Gen Mutasyonları

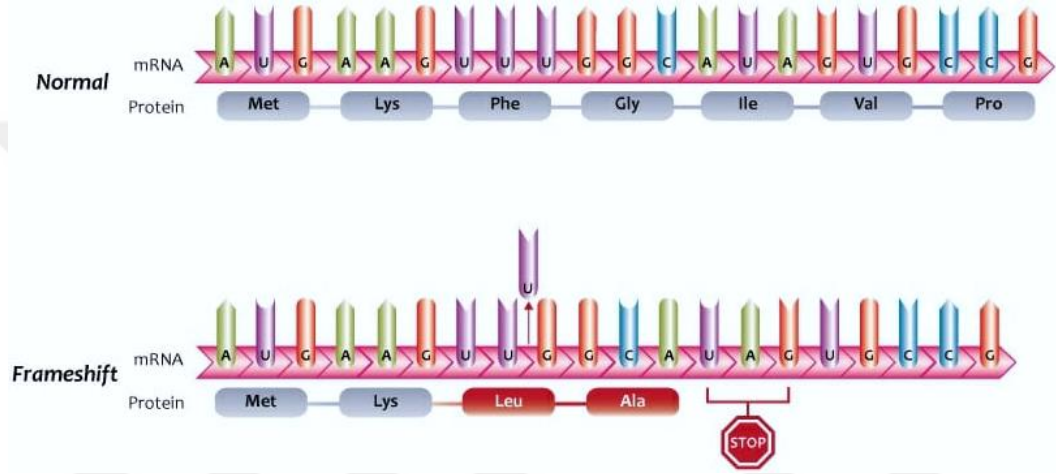
Bir gen içindeki DNA dizisinde değişiklik meydana gelmesidir. Bu değişiklik dizideki baz çiftlerinin değişmesi, diziye nükleotid ilavesi veya diziden nükleotid çıkarılması şeklinde olmaktadır. Mutasyon bir baz çiftinin değişmesi şeklinde ise “nokta mutasyonu”, bir veya daha fazla baz çiftinin eklenmesi/silinmesi şeklinde ise “insersiyon/delesyon” adını almaktadır (Thompson 1991).

Nokta mutasyonunda baz değişiminin pürin-pürin veya pirimidin/pirimidin şeklinde aynı grup içinde gerçekleşmesine “transisyon”, pürin-pirimidin şeklinde farklı gruplar arasında gerçekleşmesine “transversiyon” denilmektedir. Nokta mutasyonları sessiz, anlamlı ve yanlış anlamlı mutasyon olarak gruplandırılmaktadır. Mutasyon sonucunda değişen kodon (üçlü aminoasit grubu) yine aynı aminoasidi ifade ediyorsa bu sessiz mutasyondur. Mutasyonla oluşan yeni kodon başka bir aminoaside karşılık gelip, genin ifadesini değiştiriyorsa yanlış anlamlı mutasyondur. Eğer mutasyona uğrayan kodon bir stop kodonuna dönüşüyorsa bu da anlamsız mutasyondur. Anlamsız mutasyon sonucu oluşan protein fonksiyon görememektedir (Kryukov ve ark 2007) (Şekil 1.12).

		Nokta mutasyonları		
		Sessiz	Yanlış anlamlı	Anlamsız
DNA	TTC	TTT	TCC	ATC
mRNA	AAG	AAA	AGG	UAG
Protein	Lys	Lys	Arg	STOP

Şekil 1.12. Nokta mutasyonları (biyologunesi.com)

İnsersiyon veya delesyon sonucunda bazların sayısı üçün katları büyüklüğünde değiştiğinde “non frame-shift mutasyon” meydana gelmektedir. Bu mutasyon sonucunda bazların eklenip silindiği bölgede aminoasit eklenmesi veya silinmesi meydana gelmektedir. Yani polipeptit zincirinin bir bölümü etkilenmektedir. Ancak bazların sayısındaki değişim üçün katları büyüklüğünde değilse bazın eklenip silindiği noktadan itibaren kodonların okuma çerçevesinde kayma meydana gelmektedir ve bunun sonucu çok ağır olabilmektedir. Bu mutasyona “frame- shift” yani “çerçeve kayması mutasyonu” denilmektedir (Rimoin ve ark 1997, Nussbaum ve ark 2001) (Şekil 1.13).



Şekil 1.13. Çerçeve kayması mutasyonu (weblogographic.com)

1.5.4. Polimorfizm

Latince olarak “poly” ve “morphos” kelimelerinden oluşmaktadır ve çeşitli form manasına gelmektedir. Literatürde “varyant” olarak da kullanılmaktadır. Organizma düzeyindeki polimorfizm fenotipteki çeşitliliktir. Yani göz rengi, saç rengi, yüz şekli gibi farklı fiziksel özelliklerin varoluşu fenotipik polimorfizmdir (Ingram ve ark 2007). Genotipimizdeki çeşitliliklerin bir kısmı ancak laboratuvar şartlarında gözlenmektedir. Kan gruplarındaki, antijen sistemlerinde çeşitlilikler biyokimyasal polimorfizmdir. Kromozomal polimorfizm ise kromozomlardaki morfolojik farklılıklardır (Seymour ve ark 2004). Ancak polimorfizm denilince genellikle DNA düzeyindeki polimorfizmden bahsedilmektedir ve DNA’daki nükleotid farklılıklarını ifade etmektedir. DNA’nın bir kısmında sınırlı değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişikliklerin görüldüğü DNA dizisine polimorfizm denilmektir (Kayser ve ark 2004, Bodmer ve Bonilla 2008).

Polimorfizmler popülasyonda %1 oranından daha sık görülen genetik değişikliklerdir. Mutasyonu polimorfizmden ayıran özellik ise görülme insidansındaki farktır. Mutasyonlar polimorfizmlere kıyasla çok nadir gözlenmektedir. İnsan genomundaki genlerin çoğu polimorfik yapıdadır. Yani bir lokusta birden fazla allel bulunmaktadır ve çeşitli fenotipler oluşmaktadır. Öyle ki iki insanın genetik çeşitliliğin fazla olmasından dolayı genetik olarak aynı olmaları mümkün değildir (tek yumurta ikizleri hariç). Polimorfizmler direkt olarak herhangi bir patoloji veya hastalığın sebebi değildir. Bir dizi polimorfizm bir araya gelir ve çevresel faktörler de tetiklerse bir hastalık nedeni sayılabilmektedirler. Mutasyonlar ise genellikle bir hastalıkla sonuçlanmaktadır (Nussbaum ve ark 2001, Hartl ve Jones 2002).

Polimorfizm; tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphisms-SNP) ve değişken sayılı ardışık tekrarlar (Variable Number Tandem Repeats-VNTR) olmak üzere 2 çeşittir.

SNP yani tek nükleotid polimorfizmi iki birey arasındaki belli bir DNA dizisindeki tek baz farklılıklarıdır. Bir popülasyondaki örnek bireyler arasında yüksek yer değiştirme oranı gösteren bir nükleotid olarak da tanımlanmaktadır (Wang ve ark 1998). SNPler genellikle hücresel fonksiyonlara direkt olarak etki etmemektedir. Bireylerin ilaçlara verdiği cevabı ya da hastalıklara olan yatkınlık derecesini etkileyebilmektedir. Örneğin ilaçların farklı bireylerde farklı etki ve yan etki göstermeleri SNP ile açıklanmaktadır. En fazla görülen polimorfizm SNP'dir (Kortunay 2005, Blakemore 2008).

DNA'da tekrar bölgelerindeki DNA parçalarından oluşan kopyaların sayısı farklılık gösterebilmektedir. Kopya sayısına bağlı genetik polimorfizm "VNTR" olarak adlandırılmaktadır (Bozkaya 2009).

1.6. Genetik Polimorfizmlerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler

Polimorfizmlerin tanımlanmasında kullanılan çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemler arasında; Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) -Jel Elektroforezi, Dizi Analizi (Sanger Tekniği), Yeni Nesil Dizileme Analizi (Next Generation Sequencing, NGS), Real Time PCR, Kantitatif PCR (QPCR) gibi laboratuvar yöntemleri bulunmaktadır (Mahdieh ve Rabbani 2013).

1.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) – Jel Elektroforezi

Polimeraz zincir reaksiyonu; herhangi bir hedef nükleik asit zincirinin laboratuvar ortamında primerler ve ısıya dayanaklı enzimler kullanılarak çoğaltılmasıdır. PZR ile hedeflenen zincirin milyonlarca kopyası elde edilebilmektedir (Schochetman ve Jones 1988, Arda 1995). DNA dizi analizlerinde, gen mutasyonlarının tespitinde, genetik hastalıkların teşhisinde, adli tıp örneklerinin incelenmesinde, tarımda, evrim çalışmaları gibi çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. PZR; farklı sıcaklıklarda ve sürelerde gerçekleşen üç tepkimenin sikluslar halinde tekrar etmesine dayanmaktadır. Bu reaksiyonlar; denatürasyon, eşleşme ve uzama adı verilen reaksiyonlardır. Denatürasyon aşaması çift iplikli DNA zincirindeki hidrojen bağlarının yüksek sıcaklıkta kopması ile gerçekleşmektedir. Denatürasyon için gerekli ortam sıcaklığı 94-95°C'dir. Bu aşamanın sonunda çift iplikli DNA yapısı çözülmemektedir. Tek iplik yapısındaki DNA molekülünün hedeflenen bölgelerine ilgili primerlerin uygun sıcaklıkta hidrojen bağları ile bağlanması eşleşme aşamasıdır. DNA replikasyonunda görevli olan DNA polimeraz enziminin yüksek ısıya dayanıklı olan Taq formunun eşleşme sonrasında meydana gelmiş primer-DNA zincirini kullanarak DNA replikasyonunu gerçekleştirmesi ise uzama basamağıdır. Uzama basamağı için optimum sıcaklık 70-72°C'dir. Bu üç aşamadan oluşan döngünün sonucunda yeni DNA zincirleri elde edilmektedir. Oluşan DNA moleküllerinde eksik kısımlar görülebilmektedir. Eksik kısımların tamamlanması için ortam sıcaklığı ortalama 15 dakika kadar 70-72°C'de sabit tutulmaktadır. Sonrasında oluşan DNA zincirlerinin dağılmasını önlemek için ortam sıcaklığı 12°C'ye getirilmektedir (Tuli ve ark 2001, Klug ve ark 2003).

Elde edilen DNA moleküllerinin tanımlanması ve saflaştırılması için agaroz jel elektroforezi kullanılmaktadır. Bu teknik elektriksel bir alanda moleküllerin elektrik yüklerine ve molekül ağırlığına göre ayrışmasına dayanmaktadır. Moleküllerin elektriksel alandaki hareket miktarları; ayrıştırılan molekülün yapısına, büyüklüğüne, iyonik kuvvete, jelde kullanılan maddenin yoğunluğuna, ortamdaki akıma göre değişmektedir (Cooper ve ark 2006).

1.6.2. Dizi Analizi (Sanger Metodu)

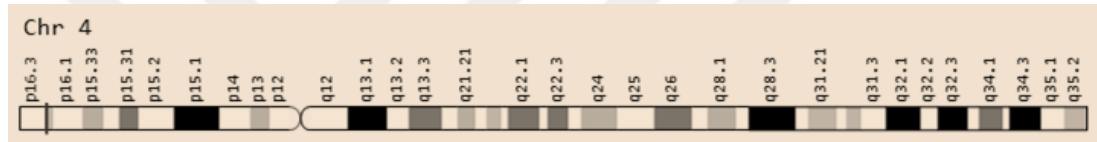
Dizileme yani sekanslama DNA zincirindeki bazların sırasının tayin edilmesidir. Moleküler biyolojide kullanılan Maxam-Gilbert ve Sanger olmak üzere iki temel geleneksel sekanslama yöntemi bulunmaktadır. Maxam-Gilbert (1977) tekniği; kimyasal dizilime olarak bilinmektedir. DNA yapısındaki bazların kimyasal ajanlarla yapısının değiştirilmesi ve değişikliğe uğramış bazların bulunduğu yerlerden DNA zincirinin kırılması esasına dayanmaktadır. Adımlarının karmaşık olması, zararlı kimyasal ajanların kullanılması, büyük genomların sekanslanmaları için uygun olmaması gibi dezavantajlarından dolayı aynı yıl Sanger ve ark (1977) tarafından keşfedilen zincir sonlandırma esasına dayalı dizileme yöntemi yaygınlaşmıştır. Sanger tekniği zincir sentezini sonlandıran dideoksinükleotitlerin (ddNTP) kullanılmasına dayalı enzimatik bir yöntemdir. ddNTPlerin standart deoksinükleotit (dNTP) moleküllerinden farkı 3'OH grubu yerine 3'H grubuna sahip olmalarıdır. DNA yapısındaki fosfodiester bağları 5'P ve 3'OH grupları arasında kurulmaktadır. Ortamda dNTP yerine ddNTP bulunduğunda yeni bir nükleotitle bağlanma gerçekleşmemektedir. Çünkü bağ için gerekli olan 3'OH ucu bulunmamaktadır ve zincir sentezi sonlanmaktadır (Chidgeavadze ve Beabealashvilli 1984, Kızmaz ve ark 2017). DNA replikasyonu sırasında ortama ddNTP ve dNTP molekülleri belli bir oranda karıştırılarak verildiğinde replikasyon farklı baz konumlarında sonlandırmakta ve farklı uzunlukta DNA parçaları elde edilmektedir. Elde edilen DNA parçaları jel elektroforezi ile ayrıştırılmakta ve jel üzerinde büyük parçaların daha kısa yol alacağı göz önünde bulundurularak baz dizisi belirlenmektedir (Arturso ve ark 2012).

1.7. Dudak Damak Yarıkları ile İlişkilendirilmiş Genler

Modern moleküler biyoloji ve genetik analiz yöntemlerindeki gelişmelerle birlikte dudak damak yarığının oluşumuyla ilişkilendirilen genlerin sayısı artmaktadır. Birçok gen dudak damak yarıklarının oluşumunda aday gen olarak gösterilmektedir. Bu konu ilgili ile araştırmalar hala devam etmektedir. Bu genler arasında MSX1, MSX2, TGF α , TGF β , IRF6, TBX10, PVRL, BCL3, PAX9, VAX1, NOG, MTHFR, RARA, FOXE1 gibi genler bulunmaktadır.

1.7.1. Muscle Segment Homeobox - MSX1

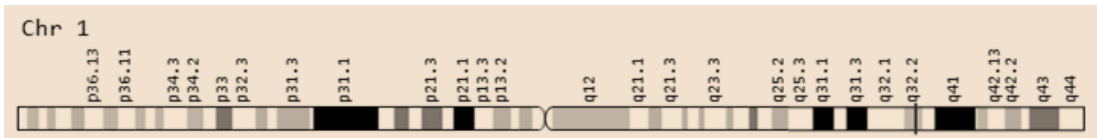
MSX1 geni 4. kromozom üzerinde konumlanan ve kraniyofasiyal gelişim sürecinde oldukça önemli görevleri olan bir gendir (Şekil 1.14). Mezenşimal ve epitelyal dokular arasındaki haberleşmeyi sağlayan sinyallerden sorumlu olup organizmadaki fonksiyonların başlatılmasında görevli proteinleri kodlayan homeobox gen grubu içerisinde yer almaktadır. İnsanlarda diş eksikliğine sebep olan PAX9 geni ile MSX1 geninin etkileşimi sonucu oligodonti görülebilmektedir. MSX1 genindeki mutasyon sonucunda dudak damak yarıklarının meydana geldiğini bildiren araştırmalar mevcuttur. Ayrıca MSX1 geniyle beraber TGF α da oluşan mutasyon sonucu dudak damak yarığının oluşma riski 9.7 kat artmaktadır. Bu durum gen-gen etkileşiminin etiyolojideki önemini göstermektedir (Satokata ve Maas 1994, Vastardis ve ark 1996, Jezewski ve ark 2003, Vieira ve ark 2003).



Şekil 1.14. MSX1 geninin bulunduğu kromozom (genecards.org)

1.7.2. Interferon Regulatory Factor 6 - IRF6

IRF6 1. kromozomda bulunmaktadır (Şekil 1.15). İnterferonların transkripsiyonunda görevlidir (Kondo ve ark 2002). Hem sendromik hem de sendromik olmayan dudak damak yarığı oluşumu ile bağlantılı olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. Çinde yapılan bir çalışmada yarık patogenezinde IRF6 geni suçlu bulunmuştur (Lu ve ark 2013). Başka bir çalışmada; IRF6 genindeki varyasyonun dudak damak yarığı oluşumunda etkisi olduğunu rapor edilmiştir (Zuccherro ve ark 2004). Bazı araştırmacılara göre ise IRF6 dudak damak yarığı etiyolojinde yer almamaktadır (Blanton ve ark 2010, Paranaiba ve ark 2010, Pegelow ve ark 2014).



Şekil 1.15. IRF6 geninin bulunduğu kromozom (genecards.org)

1.7.3. Transforming Growth Factor Alpha – TGF α

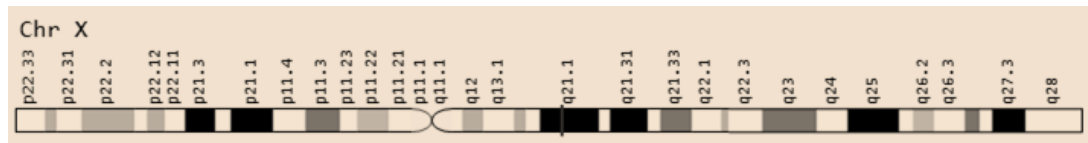
Büyüme faktörleri arasında olan TGF α 2. kromozom üzerindedir (Şekil 1.16). TGF α genellikle kanser türleriyle ilişkilendirilmektedir (Vieira 2006). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada TGF α 'nın palatal uzantıların medial kenarlarındaki epitelizeasyonda etkili olduğu görülmektedir. Ayrıca ekstraselüler matriks üretimi ve mezenşimal hücre göçünde de rol aldığı bildirilmektedir (Dixon ve ark 1991). Literatürde TGF α 'nın orofasiyal yarık oluşumu üzerindeki etkisi tartışmalıdır. Çin popülasyonu üzerinde yapılan bir çalışmada TGF α ile dudak damak yarığı arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (Lu ve ark 2013). Mitchell ve ark (1997) yaptığı meta analiz sonuçları da bunu desteklemektedir. Bunun yanında bazı çalışmaların sonuçları dudak damak yarığı ile TGF α arasındaki ilişkiyi desteklememektedir (Hecht ve ark 1991, Vintiner ve ark 1992, Luetke ve ark 1993).



Şekil 1.16. TGF α geninin bulunduğu kromozom (genecards.org)

1.7.4. T-Box Transcription Factor 22 - TBX22

X kromozomu üzerinde yer alan gen gelişimle alakalı transkripsiyon faktörlerini kodlamaktadır (Şekil 1.17). TBX22 geni X'e bağlı kalıtsal bozukluklar, ankiloglossi, dudak damak yarıkları ile ilişkilendirilmektedir (Wong ve Hagg 2004). Braybrook ve ark (2001) TBX22 mutasyonlarının ankiloglossi ve izole yarık damak oluşuma neden olduğunu rapor etmişlerdir. Tayland popülasyonunda yapılan çalışmada TBX22 geni ile sendromik olmayan izole damak yarıkları arasında ilişki olduğu rapor edilmiştir (Suphapeetiporn ve ark 2007).



Şekil 1.17. TBX22 geninin bulunduğu kromozom (genecards.org)

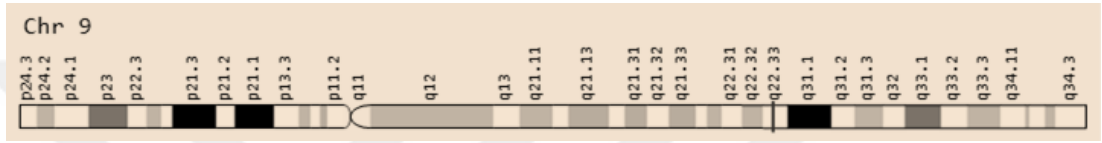
1.7.5. Poliovirus Receptor Related 1 – PVRL1

Bu gen 11. kromozom üzerinde lokalizedir. Poliovirus reseptör ailesinin üyesi olup keratinositler arasında bağlantıyı sağlayan hücre adezyon moleküllerini

kodlamaktadır. Palatogenezisin son evrelerinde palatal çıkıntılarının medial kısımlarının birleşmesinde büyük rolü vardır (Cobourne 2004). PVRL1 geninde görülen mutasyon sendromik dudak damak yarıkları ile ilişkilendirilmektedir (Ogur ve Yüksel 1988, Suzuki ve ark 2000, Yoshida ve ark 2015).

1.7.6. Forkhead Box Protein E1 - FOXE1

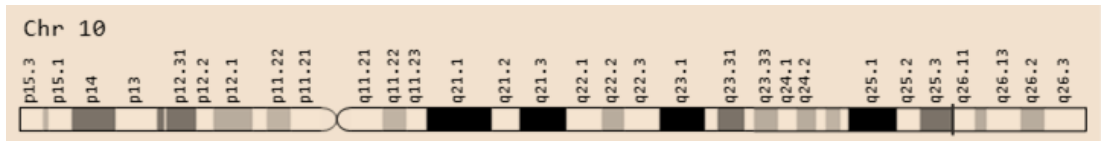
FOXE1 geni 9. kromozomda yer almaktadır (Şekil 1.18). Tiroid bezinin oluşumundan sorumlu olduğu düşünülmekte olup mutasyonları tiroid kanseri ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca dudak damak yarıklarının etiolojisinde aday gen olarak gösterilmektedir (Chadwick ve ark 1997, Trueba ve ark 2005, Moreno ve ark 2009).



Şekil 1.18. FOXE1 geninin bulunduğu kromozom (genecards.org)

1.7.7. Ventral Anterior Homeobox 1 - VAX1

İlk kez Hallonet ve arkadaşları tarafından 1998 yılında farelerden izole edilen gen 10. kromozom üzerinde bulunmaktadır (Şekil 1.19). Emx/Not gen ailesinin bir üyesidir. VAX1 geninin nöroretina, pigment epiteli ve optik sinir gibi yapıların gelişiminden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Bazal ön beynin gelişiminde de rol almaktadır. (Hallonet ve ark 1999, Ohsaki ve ark 1999). Ayrıca bu gen medial nazal çıkıntılarının ve üst dudak yapılarının oluşmasında da rol almaktadır (Machado ve ark 2021).



Şekil 1.19. VAX1 geninin bulunduğu kromozom (genecards.org)

Mangold ve ark (2010), VAX1 genini dudak damak yarığı aday gen listesi içerisinde tanımlamışlardır. Ayrıca Wang ve ark (2020) Güney Çin popülasyonu üzerinde yaptığı bir çalışmada VAX1 geninin rs7078160 varyantının sendromik olmayan dudak damak yarığıyla kuvvetli ilişkisi olduğu saptanmıştır. Slavec ve ark (2022) Avrupa popülasyonu üzerinde bir meta-analiz gerçekleştirmişler, VAX1 geninin rs7078160 varyantının sendromik olmayan dudak damak yarığıyla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Zhang ve ark (2018), Batı Çin popülasyonu üzerinde yaptığı

bir çalışmada da sendromik olmayan dudak damak yarığının VAX1 geninin rs7078160, rs708260, rs4752028 varyantları ile ilişkili olduğu saptamışlardır. Aquino ve ark (2013) Güney Amerika popülasyonu üzerinde yürüttüğü bir çalışmada da benzer şekilde sendromik olmayan dudak damak yarığının VAX1 geninin rs10787760, rs6585429, rs1871345 varyantlarıyla ilişkili olabileceğini göstermişlerdir. Asya popülasyonu üzerinde yapılan bir çalışmanın sonucunda VAX1 ve PAX7 genlerinin dudak damak yarığı oluşumuyla kuvvetli ilişkisi olduğu rapor edilmiştir (Butali ve ark 2013). Butali ve ark (2014) Afrika popülasyonu üzerinde yapmış olduğu başka bir çalışmada ise VAX1 geni ile orofasiyal yarık oluşumu arasında anlamlı bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir. You ve ark (2022) Batı Çin popülasyonu üzerinde VAX1 geninin altı adet varyantını (rs58593329, rs11197887, rs1904302, rs10886040, rs744937, rs7078160) çalışmışlardır. Bu varyantlarla sendromik olmayan orofasiyal yarıkların ilişkili olabileceğini ve orofasiyal yarık oluşumunun patogenezinin anlaşılabilmesi için daha fazla invivo çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan bir hayvan çalışmasında VAX1 geninin yarık damak oluşumunun etiyolojisinde indirekt etkili olduğu rapor edilmiştir (Geoghegan ve ark 2017). Suzuki ve ark (2018) tarafından VAX1 geni ile beraber IRF6, FOXE1, WNT9B, GAD1 genlerinin de yarık damak patogenezi ile ilişkilendirilebileceği rapor edilmiştir.

2. BİREYLER VE YÖNTEM

Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Değerlendirme Komisyonundan 2022/56 sayılı ve 09.12.2022 tarihli etik onayı alınmış olan çalışmamız Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri (BAP) koordinatörlüğü tarafından (Proje No: 23132002) desteklenmiştir (Bkz Ek-A).

2.1. Bireyler

Çalışmamız dahilinde Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalına muayene ve/veya tedavi amacıyla başvurmuş, herhangi bir sendromu olmayan, dudak ve/veya damak yarığı bulunan ve bulunmayan gönüllü katılımcı bireylerden hasta ve kontrol grubu oluşturulmuştur. Çalışmaya dahil edilecek bireylere ve ebeveynlerine çalışmanın amacı-yöntemi hakkında detaylı bilgilendirme yapılarak katılımın gönüllülük esasına dayalı olduğu bildirilmiş, çalışmaya katılmayı kabul eden bireylere ve ebeveynlerine bilgilendirilmiş gönüllü olur formu imzalatılmıştır (Bkz Ek-B). İlaveten dudak damak yarığında çevresel faktörlerin etiyojideki yerini araştırabilmek için gönüllü katılımcılarımızdan anket sorularımızı cevaplamaları da istenmiştir (Bkz Ek-C).

2.1.1. Hasta Seçimi ve Kontrol Grubu

Çalışmamız; yaş aralığı 6 ile 24 yıl arasında değişen gönüllü katılımcılardan oluşturulmuş olan hasta ve kontrol grubu olacak şekilde iki grup üzerinde yürütülmüştür. Hasta grubumuza herhangi bir sendromu olmayan (Apert, Crouzon, Van der Woude vb.), tükürük örneği verebilecek yaş ve kabiliyette olan, dudak ve/veya damak yarığı bulunan 39 erkek 31 kadın toplam 70 gönüllü katılımcı dahil edilmiştir. Kontrol grubumuza ise; herhangi bir sendromu olmayan (Apert, Crouzon, Van der Woude vb.), tükürük örneği verebilecek yaş ve kabiliyette olan, dudak ve/veya damak yarığı bulunmayan sağlıklı 28 erkek 42 kadın toplam 70 gönüllü katılımcı dahil edilmiştir.

Çalışma grubundaki birey sayısı R version 3.6.0 (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; <https://www.r-project.org>) programındaki "pwr" paketi yardımıyla hesaplanmıştır. Çalışmaya dahil edilecek gönüllü katılımcı sayısı hasta ve kontrol grubunda VAX1 geninin rs387907252, rs1554942640 ve

rs1554942980 varyantları düzeyleri arasındaki farklılığı belirlemek için hesaplanmıştır. Bu farkın anlamlı olup olmadığını çift yönlü bir hipotez ile tespit etmek için, %5 anlam seviyesi ve 0,5 orta dereceli etki büyüklüğünde (Cohen d=0,5) %80 istatistiksel güce ulaşabilmek adına, her bir gruba en az 64'er gönüllü katılımcı olmak üzere, toplamda en az 128 gönüllü katılımcının çalışmaya dahil edilmesi gerektiği tespit edilmiştir. Çalışmamızın gücünü arttırabilmek için her bir grupta 70'er gönüllü katılımcı olmak üzere çalışmaya toplamda 140 gönüllü katılımcı dahil edilmiştir.

Herhangi bir sendromu bulunan (Apert, Crouzon, Van der Woude vb.) bireyler, tükürük örneği verebilecek kabiliyete sahip olmayan bireyler, gebe kadınlar ve emziren anneler çalışmamıza dahil edilmemiştir.

2.2. Yöntem

Çalışmamızda dudak damak yarığı etiyojisine iki farklı açıdan bakılarak dudak damak yarığının etiyojisinde genetik ve çevresel etki değerlendirilmek istenmiştir. Genetik etkinin değerlendirilmesi amacıyla genin belirlenmesi, tükürük örneklerinin alınması, DNA izolasyonu, primer tasarlanması, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR aşaması), agaroz jel elektroforezi, dizi analizi basamakları takip edilmiştir. Çevresel etkiyi değerlendirmek amacıyla anket çalışması tercih edilmiş, 13 adet soru anketör eşliğinde yazılı olarak gönüllü katılımcılara yöneltilmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

2.2.1. Genin Belirlenmesi

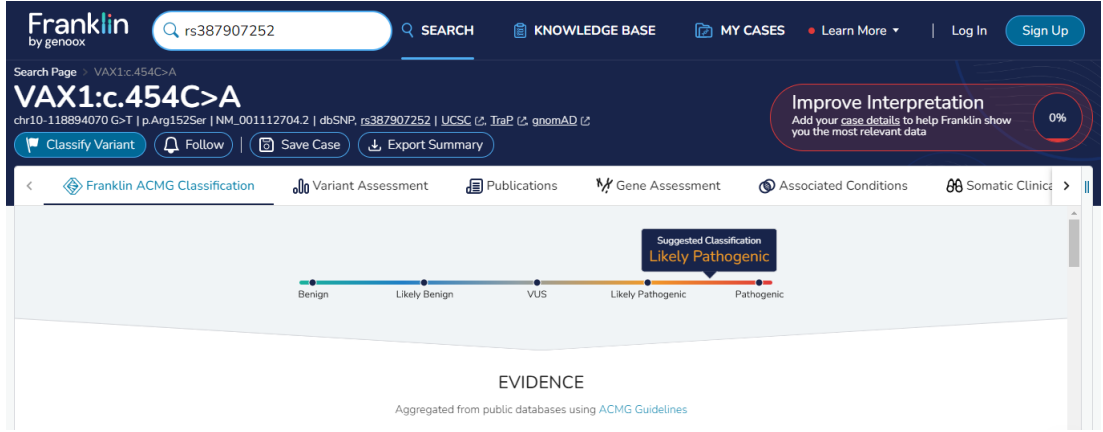
Literatür taramamız sonucu belirleyebildiğimiz dudak damak yarığı aday gen listesi içerisinde yer alan VAX1 geni ile ilgili ülkemiz popülasyonu üzerinde yürütülen herhangi bir yayına rastlanılmaması, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyeleri ile koordineli yürüttüğümüz araştırmalar neticesinde ve VAX1 geninin rs387907252, rs1554942980 ve rs1554942640 varyantlarının patojenitesinin yüksek olduğunun tespit edilmesi üzerine, çalışmamızda VAX1 geninin rs387907252, rs1554942980, rs1554942640 varyantlarının incelenmesine karar verilmiştir. Varyantların belirlenmesinde <https://www.genecards.org/> ve diğer in siliko analiz siteleri (<http://snpeffect.switchlab.org/>,

<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) kullanılmış olup, VAX1 geninin varyantları <https://www.genecards.org/> sitesinde listelenmiştir (Şekil 2.20).

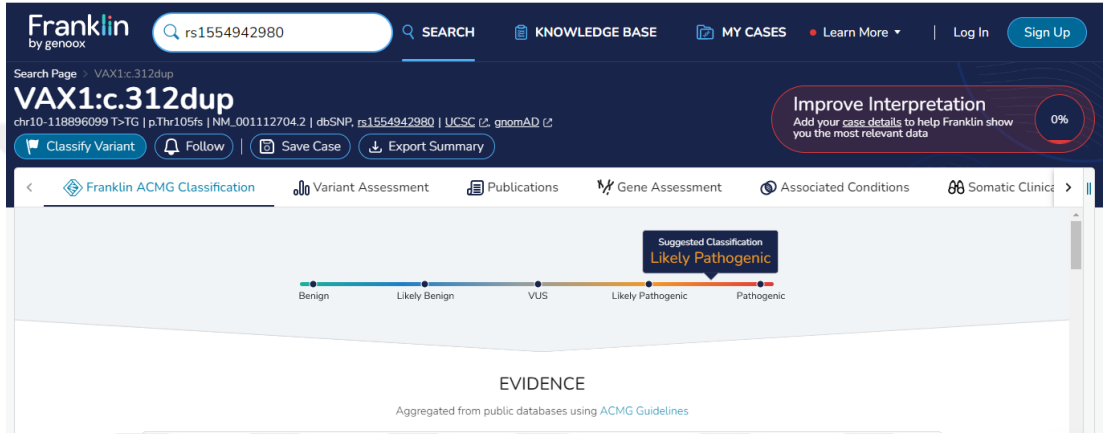
Variants for VAX1 Gene									
Subsections: Variation Tolerance / External Links									
Buy Research Products: SNP Genotyping and Copy Number Assays									
Sequence variations, with clinical significance, from ClinVar and HumSavar, with links to dbSNP for VAX1 Gene									
Filter: (33 results) See less									
Accession	rsID	Clinical significance and condition	Chrom	Variation Name	Ref/Alt	AA Chg	Type	#	Cit
36954	387907252	Pathogenic: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,559(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.454C>A (p.Arg152Ser)	G/T	R152S	Intron variant,missense variant	3	
1710333		Likely pathogenic: Microphthalmia	117,137,845(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.212del (p.Pro71fs)	CG/C	P71fs	frameshift variant		
1360975		Uncertain significance: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,327(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.671_685dup (p.Gly224_Ala228dup)	G/GCT GCG...		Inframe_insertion,intron variant		
1899584		Uncertain significance: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,192(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.821G>T (p.Ser274Ile)	C/A	S274I	Intron variant,missense variant		
196313	794727489	Uncertain significance: not provided	117,134,130(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.883A>G (p.Met295Val)	T/C	M295V	Intron variant,missense variant		
196314	794727490	Uncertain significance: not provided	117,134,298(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.715G>T (p.Ala239Ser)	C/A	A239S	Intron variant,missense variant		
2038987		Uncertain significance: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,371(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.642G>C (p.Leu214Phe)	C/G	L214F	Intron variant,missense variant		
2169358		Uncertain significance: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,543(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.470A>G (p.Lys157Arg)	T/C	K157R	Intron variant,missense variant		
2253195		Uncertain significance: Inborn genetic diseases	117,134,475(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.538C>T (p.Arg180Trp)	G/A	R180W	Intron variant,missense variant		
2269333		Uncertain significance: Inborn genetic diseases	117,137,935(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.122C>G (p.Ala41Gly)	G/C	A41G	missense variant		
2353923		Uncertain significance: Inborn genetic diseases	117,134,094(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.919T>G (p.Ser307Ala)	A/C	S307A	Intron variant,missense variant		
283191	554140675	Uncertain significance: not provided	117,134,371(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.642G>A (p.Leu214=)	C/T		Intron variant,synonymous variant		
283821	866042715	Uncertain significance: not provided	117,134,209(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.804G>C (p.Ala268=)	C/G		Intron variant,synonymous variant		
473143	1554942980	Uncertain significance: Microphthalmia, Syndromic 11	117,136,588(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.312dup (p.Trn109fs)	T/TG	T109fs	frameshift variant		
473144	1554942640	Uncertain significance: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,019(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.993dup (p.Ala332fs)	C/CT	A332fs	frameshift variant,intron variant		
596357	1427337241	Uncertain significance: not provided	117,134,319(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.694G>T (p.Ala232Ser)	C/A	A232S	Intron variant,missense variant		
596456	753533789	Uncertain significance: not provided	117,136,526(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.375G>C (p.Val125=)	C/G		synonymous variant		
1116533		Likely benign: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,389(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.624G>A (p.Ala208=)	C/T		Intron variant,synonymous variant		
1902601		Likely benign: Microphthalmia, Syndromic 11	117,136,526(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.375G>T (p.Val125_Val126=)	C/A		synonymous variant		
2092858		Likely benign: Microphthalmia, Syndromic 11	117,136,664(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.242-5C>T	G/A		Intron variant		
707040	571679048	Likely benign: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,325(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.688G>A (p.Ala230Thr)	C/T	A230T	Intron variant,missense variant		
707045	534482978	Likely benign: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,335(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.678C>T (p.Ala226=)	G/A		Intron variant,synonymous variant		
733123	1589946008	Likely benign: not provided	117,134,074(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.939C>T (p.Ser313=)	G/A		Intron variant,synonymous variant		
737711	1301499368	Likely benign: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,338(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.675G>T (p.Ser225=)	C/A		Intron variant,synonymous variant		
771071	944388651	Likely benign: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,392(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.621A>T (p.Ser207=)	T/A		Intron variant,synonymous variant		
784807	1335412488	Likely benign: not provided	117,134,347(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.666T>C (p.Ala222=)	A/G		Intron variant,synonymous variant		
793002	1318389011	Likely benign: not provided	117,136,619(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.282C>T (p.Gly94=)	G/A		synonymous variant		
1248690		Benign: not provided	117,138,121(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.-65del	GC/G		5 prime UTR variant		
1285816		Benign: not provided	117,133,720(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.*288T>C	A/G		3 prime UTR variant,intron variant	18	
2028441		Benign: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,362(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.651G>C (p.Leu217_Gly218=)	C/G		Intron variant,synonymous variant		
766821	148630891	Benign: Microphthalmia, Syndromic 11	117,137,931(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.126C>T (n.Ala47=)	G/A		synonymous variant	1	
784909	753465387	Benign: not provided	117,134,436(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.577C>T (p.Leu193=)	G/A		Intron variant,synonymous variant		
838114	1455706624	Benign: Microphthalmia, Syndromic 11	117,134,320(-)	NM_001112704.2(VAX1):c.684_692dup (p.Ala231_Ala233dup)	G/GGC GGC...		Inframe_insertion,intron variant		

Şekil 2.20. VAX1 genine ait varyantlar (<https://www.genecards.org/>)

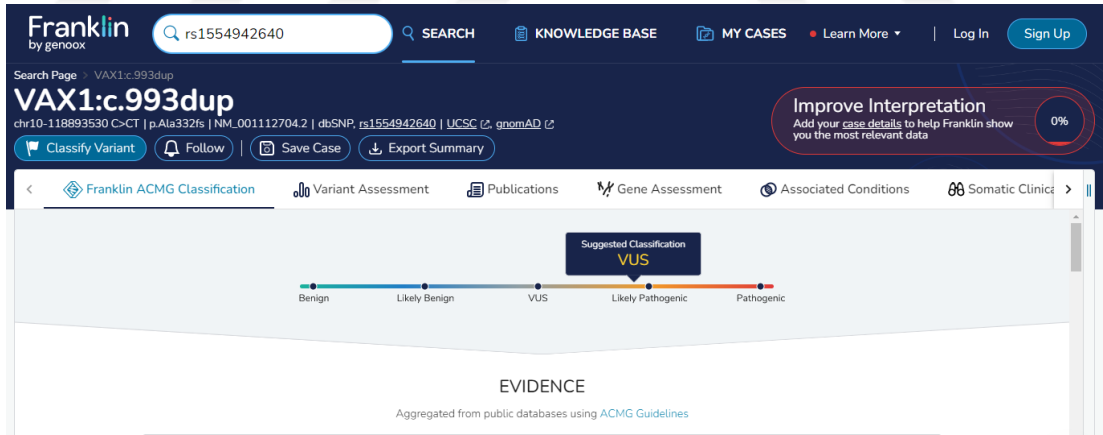
Yukarıda verilen liste içerisindeki varyantlardan hangisinin seçileceğine açık veri tabanları kullanılarak yapılan in siliko analizler sonucu karar verilmiş ve ilgili genin varyantlarından patojenitesi yüksek olarak gösterilen üç varyant seçilmiştir (Şekil 2.21, 2.22, 2.23).



Şekil 2.21. VAX1 geninin rs387907252 varyantının patojenite skalası



Şekil 2.22. VAX1 geninin rs1554942980 varyantının patojenite skalası



Şekil 2.23. VAX1 geninin rs1554942640 varyantının patojenite skalası

2.2.2. Tükürük Örneklerinin Alınması

Bireylerden 2 ml uyarılmamış tükürük örneği alınmıştır. Örneği yabancı cisimden arındırmak için örnek alınmadan önce bireylerden ağızlarını çalkalamaları istenmiştir. Örnek alma işlemi sırasında birey muayene koltuğuna dik bir şekilde oturtulmuştur. Hastadan istirahat halinde ağız tabanında biriken tükürüğünü kendisine verilen tükürük toplama kabına (Isolab, Germany) aktarması istenmiştir (Şekil 2.24).

Tükürük toplama kabında toplanan örnekte yabancı cisim gözlenmesi halinde örnek yenilenmiştir. Toplanan örnekler genetik analiz yapılma sürecine kadar -20°C sıcaklığındaki soğutucuda (Arçelik 3061 Plus, Türkiye) saklanmıştır.



Şekil 2.24. Tükürük numunesinin toplandığı kap

2.2.3. DNA İzolasyonu

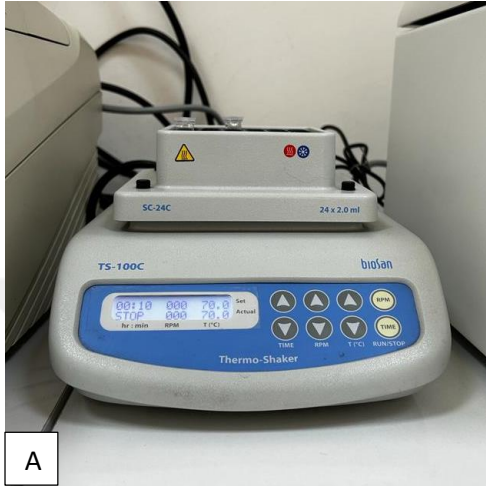
Çalışma ve kontrol gruplarından elde edilen tükürük numunelerine DNA izolasyon işlemi uygulanmıştır. İzolasyon işlemi için “ROCHE-High pure PCR Template Preparation Kit” kullanılmış, kit içerisinde verilmiş ve aşağıda da listelenmiş olan protokol adımları izlenmiştir (Şekil 2.25).



Şekil 2.25. DNA izolasyon protokol adımlarının izlendiği LN 120 nüve marka kabin

- Bir ependorf tüpüne 200 ml tükürük örneği alınıp 200 ml Binding Buffer ve 40 ml ProteinazK eklenerek +70 °C’de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 2.26A).
- Üzerine 100 ml Isopropanol eklenerek karıştırılmıştır. Kit içerisinde bulunan karışım filtreli tüplere aktarılarak 8000 g’de 1 dakika santrifüj yapılmıştır (Şekil 2.26B).
- Santrifüj sonrası alttaki tüp atılarak yeni tüp koyulmuş, 500 ml İnhibitor Removal Buffer ilave edilerek 1 dakika 8000 g’de santrifüj yapılmıştır.

- Alttaki tüp atılarak yeni tüp yerleştirilmiş, 500 ml Wash Buffer koyularak 1 dakika 8000 g'de santrifüj yapılmıştır. Bu adım tekrarlanıp maksimum hızda 13.000 Xg de tekrar santrifüj yapılmıştır.
- Filtreli tüp eppendorf tüp içerisine yerleştirilip üzerine 200 ml 70°C'de ısıtılmış Elution Buffer ilave edilerek 1 dakika 8000 Xg 'de santrifüj yapılmıştır.
- Elde edilen DNA -20 °C'de saklanmıştır.



Şekil 2.26. A. Protokolde belirtilen inkubasyon için kullanılan BioSan TS-100C marka ısı bloğu
B. Protokolde kullanılan Hettich Zentrifugen Mikro 200 marka santrifüj cihazı

2.2.4. Primer Tasarlanması

İzole edilen DNA örneklerinde hedef bölgeyi çoğaltmak için National Center for Biotechnology Information (NCBI) veri tabanından BLAST programı kullanılarak aşağıda verilen tabloda 3 single nucleotide polymorphism (SNP) primer tasarımı yapılmıştır.

Tablo 2.1. Primer tasarımı

rs387907252-Forward	GTCTCCGACACCACCGA
rs387907252-Revers	CGGATAGGGCTGGGACTT
rs1554942640-Forward	ATGCGCGTGAGTCCATAAA
rs1554942640-Revers	CCGTTAACAATGGCTGGTTC
rs1554942980-Forward	TCTTACCCATCCTTCCCATCT
rs1554942980-Revers	CACACAGTGTCTTTGCTACCT

Primer tasarlanması aşamasında aşağıdaki adımlar izlenmiştir;

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> sayfasında sol sütunda yer alan kaynakça bölümünden “BLAST” başlığına girilmiştir.

- BLAST genom arama motoruna çalışılacak gen, SNP, vektör bilgileri girilmiş ve “Primer-BLAST” sekmesi tıklanarak arama yapılmıştır.
- “Laboratory Information” sekmesinden çalışılacak SNP’ler ile ilgili bilgiler edinilmiştir.
- İnsan VAX1 geninin rs387907252, rs1554942640 ve rs1554942980 SNP’leri seçilerek full DNA sekansı seçeneğine tıklanarak ilgili veriler “.doc” formatı halinde kaydedilmiştir.
- Amplifiye edilecek kısımlar kopyalanarak “enter accession sequence” kutucuğuna yapıştırılmıştır.
- Her SNP için (5'-3') forward, (5'-3') reverse primerler ve ilgili diğer parametreler girilmiştir.
- Sentezlenen primerler liyofilize edilerek üretici firmanın kullanım talimatları doğrultusunda derişim 100 pmol/ul olacak şekilde ayarlanmış ve sonrasında 10 pmol/ul olacak şekilde dilüe edilmiştir.

2.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Aşaması

PZR koşulları tabloda verildiği şekilde hazırlanarak eppendorf tüpler Thermocycler cihazına yerleştirilerek Tablo 2.2’de verilen PZR protokolü uygulanmıştır (Şekil 2.27).

Tablo 2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) protokolü

	Konsantrasyon	Hacim	Final Konsantrasyonu
RNase DNase free water	-	19,2 µl	-
PCR Master mix	2x conc.	16 µl	1x conc.
Forward ve revers primer	-	4,8µl	-
Toplam Hacim	-	50 µl	-



Şekil 2.27. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) Cihazı

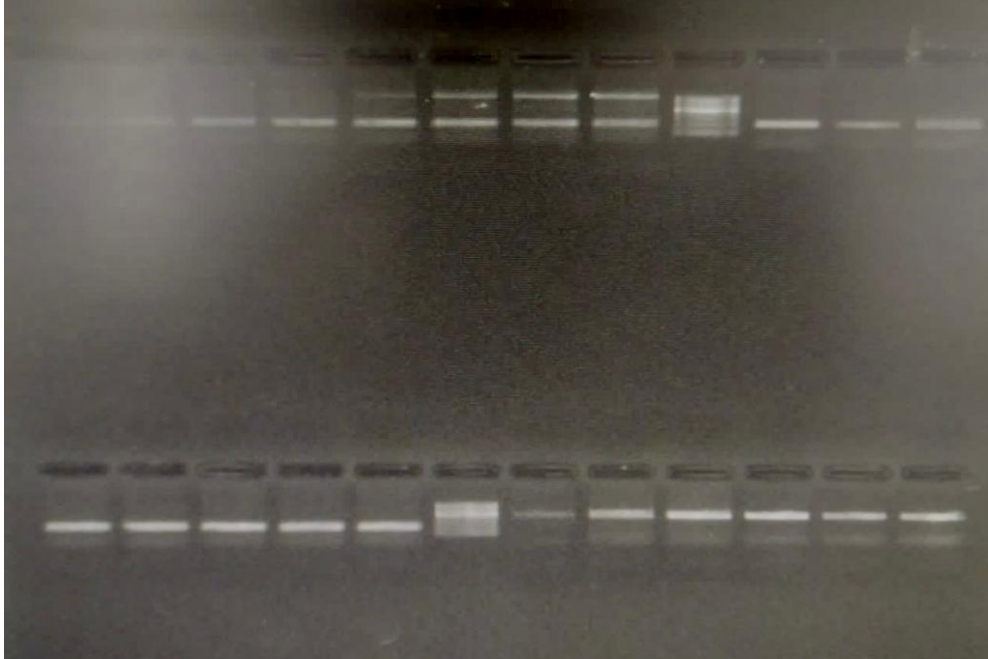
Her bir örnek için yukarıdaki protokole 10'ar µl DNA eklenerek Biorad marka T100 model sistemlerinde firma önerileri doğrultusunda çalışılmıştır (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Polimeraz Zincir (PZR) Reaksiyonu

Denaturasyon	95°C de 5 dk.
Amplifikasyon Bu döngü 30 kez sağlanır. (30 cycle, Ramp-rite 1,6°C/sn, saniyedeki ısı değişimi)	95°C de 30 sn. 60°C de 45 sn 72 °C de 60 sn okuma
Anneling	72°C de 5 dk.
Cooling	4 °C de 1 dk.

2.2.6. Agaroz Jel Elektroforezi

PZR sonucunda ürün elde edilip edilmediği, eğer ürün elde edilmişse bu ürünün kalitesi %1,5'lik agaroz jel elektroforezi kullanılarak kontrol edilmiştir. Agaroz jel elektroforezi için %1,5'lik agaroz jel tartılarak erlen içerisine aktarılıp üzerine 100 ml 1X'lik TAE çözeltisi (Tris, Asetik asit ve EDTA) ilave edilmiştir. Mikrodalga fırında çözülmesi sağlanarak soğumaya bırakılmıştır. Soğuduktan sonra 5 µl etidyum bromür eklenmiştir. Sonrasında jel tankına aktarılıp dondurulmuş, 10 µl PZR ürünü eklenerek 80V'da 40 dakika yürütülüp bant oluşumunu gözlemlemek için görüntülenmiştir (Şekil 2.28). Son olarak dizi analizi BmLabosis laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.28. Agaroz jel elektroforez sonrası izlenen bant oluşumları

2.2.7. İstatistiksel Yöntem

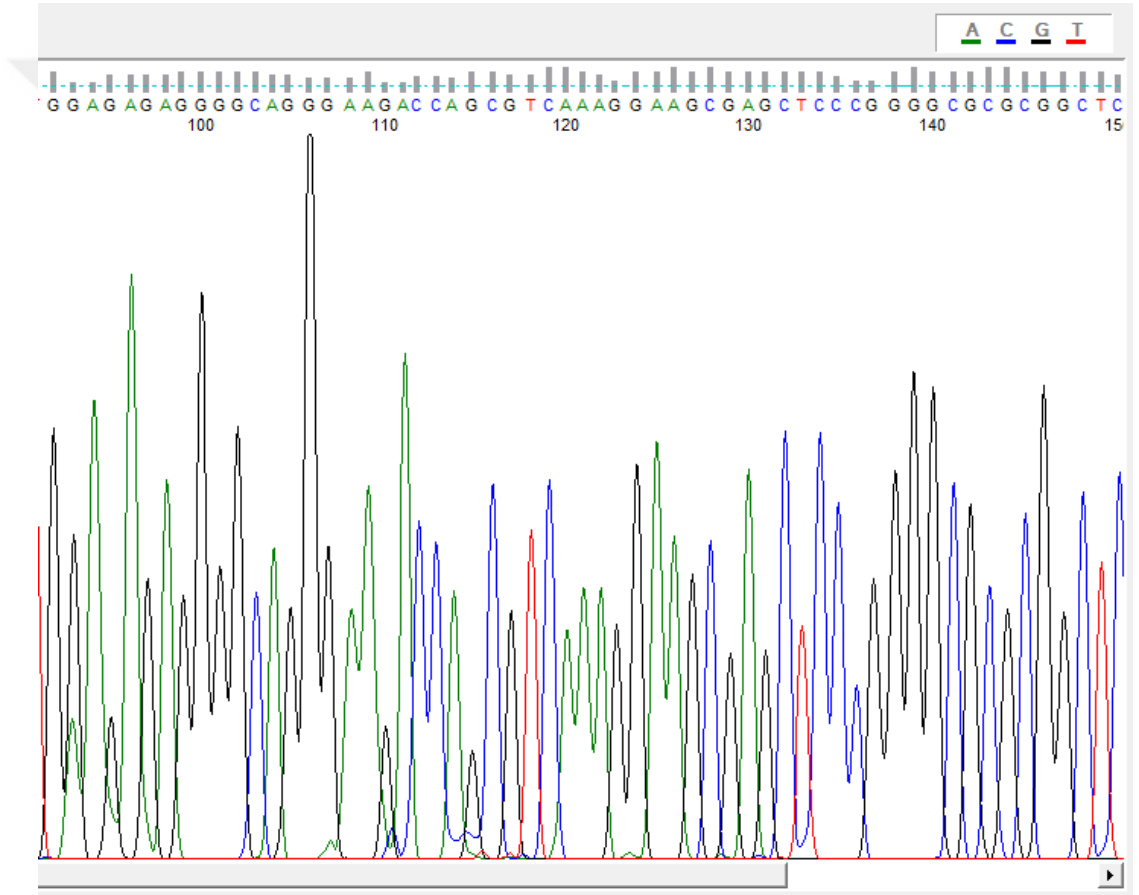
Çalışmamızın istatistiksel değerlendirmesi Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalında yapılmıştır. Genetik değerlendirme sonucu elde edilen verilerde hasta ve kontrol grubu arasında herhangi bir farklılık çıkmadığından istatistiksel analize gerek duyulmamıştır. Hasta ve kontrol grubunun karşılaştırılmasında çevresel faktörlere bağlı olan bulgular R İstatistik Dili (sürüm 4.1.2; The R Foundation for Statistical Computing, Viyana, Avusturya; <https://www.r-project.org>) kullanılarak değerlendirilmiştir. Verilerin normal dağılıp dağılmadığını test etmek amacıyla Shapiro-Wilk normallik testi ve Q-Q grafikleri incelenmiştir. Varyansların homojenliğini değerlendirmek için Levene testi kullanılmıştır. Değişkenler ortalama±standart sapma ya da sayı (n) ve yüzde (%) olarak tanımlanmıştır. Hasta ve kontrol grubunun sorulara verdikleri cevaba göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark veya ilişki olup olmadığını belirlemek için bağımsız örneklem t-testi, Fisher testi, Student's t-testi, Welch's t-testi, Pearson ki-kare testi ve Yates süreklilik düzeltmesi ki-kare testi yapılmıştır. Sonuçlar yorumlanırken ve gruplar arası farklılık değerlendirilirken anlamlılık düzeyi olarak 0,05 kullanılmıştır.

3. BULGULAR

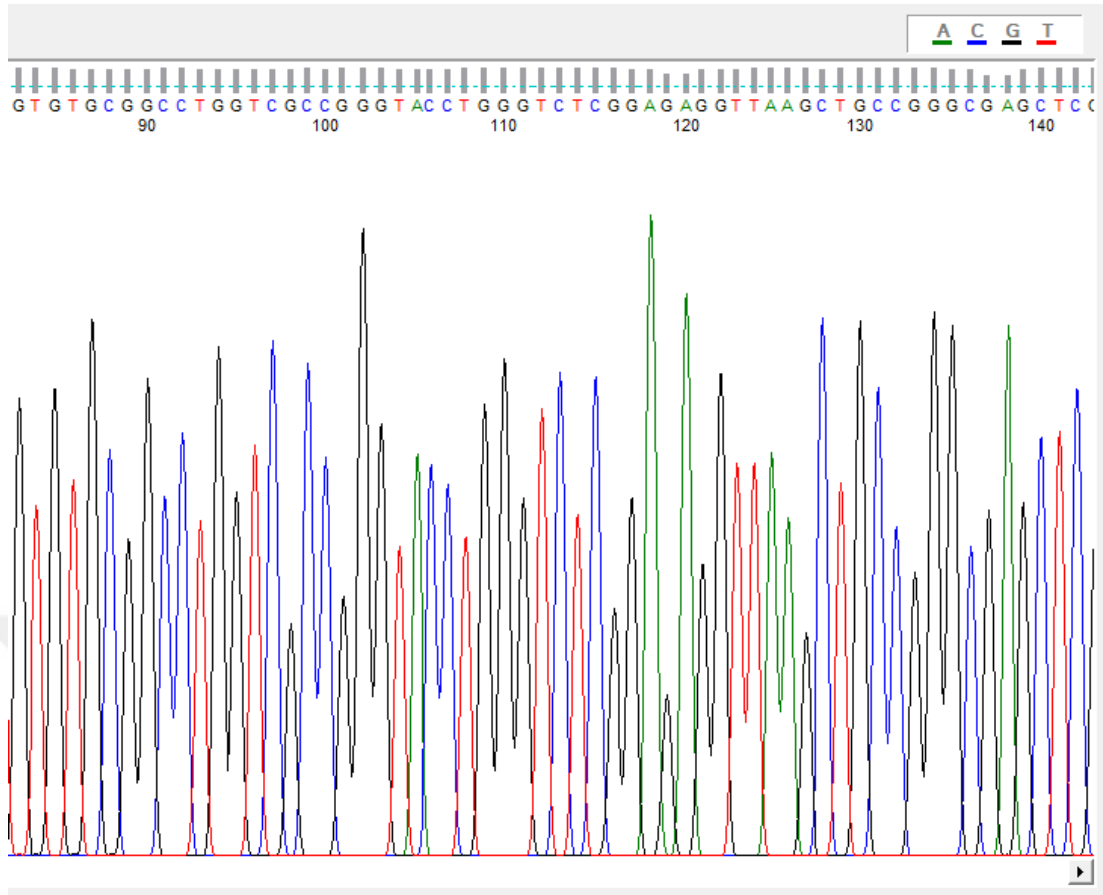
Dudak damak yarığı etiyojijisinde genetik ve çevresel etkiyi değerlendirmek amacıyla 70 hasta ve 70 kontrol grubu olmak üzere toplamda 140 gönüllü katılımcıdan elde edilen veriler, genetik etkiye ait bulgular ve çevresel etkiye ait bulgular olmak üzere iki başlık altında incelenmiştir.

3.1. Genetik Etkiye Ait Bulgular

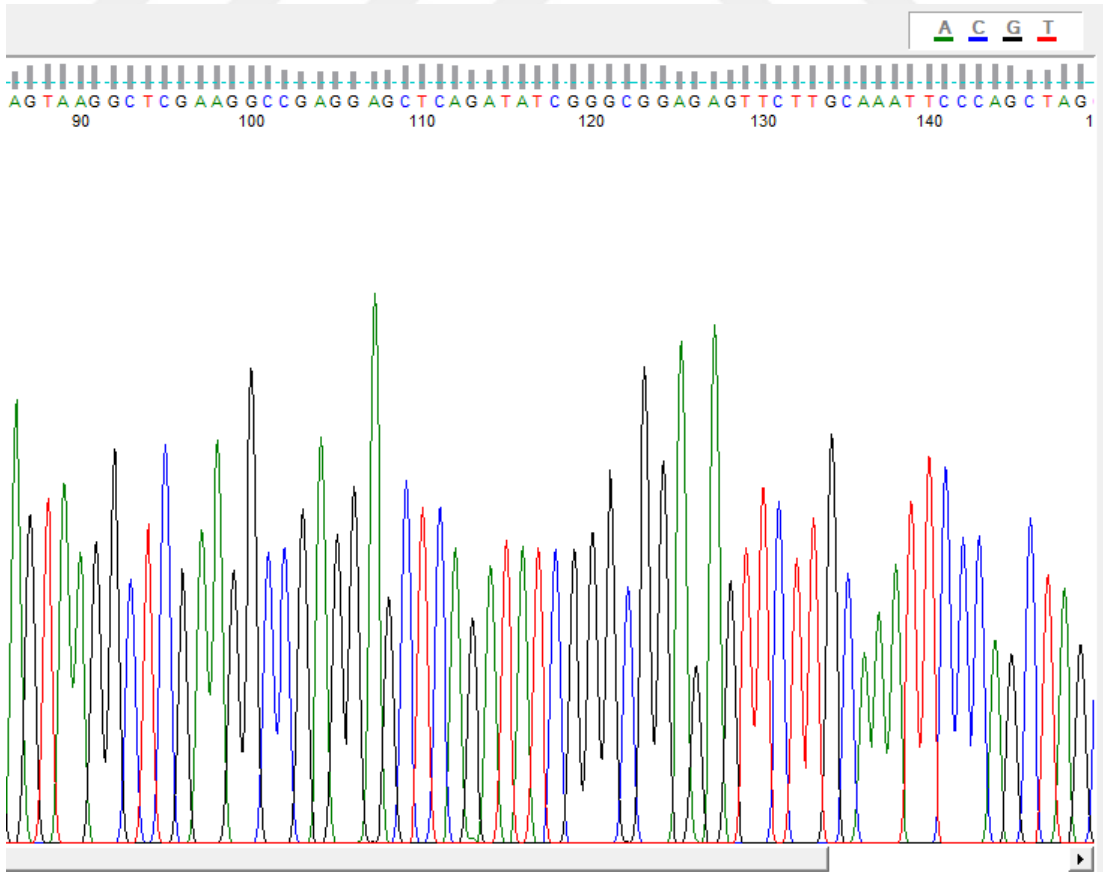
DNA dizi analizi sonucu elde edilen diziler ile referans genom kıyaslanmıştır. Hastalarımızın tamamında wild (yabanıl) tip dizilim tespit edilmiştir (Şekil 3.29-31).



Şekil 3.29. rs387907252 dizi analizi görseli



Şekil 3.30. rs1554942980 dizi analizi görseli



Şekil 3.31. rs1554942640 dizi analizi görseli

Dizileme sonucu elde edilen nükleotidlerin bir kısmına Tablo 3.4'te yer verilmiştir. Buna göre mutant bir genom tespit edilmemiştir. İncelediğimiz genetik alan çerçevesinde bu genin yarık dudak damak ile ilişkisi bulunamamıştır.

Tablo 3.4. Dizileme sonucu elde edilen nükleotidlere örnekler

Hasta	SNP rs387907252	SNP rs1554942980	SNP rs1554942640	Wild tip	Heterozigot	Mutant
1	G	G	TTTTTT	+	-	-
2	G	G	TTTTTT	+	-	-
3	G	G	TTTTTT	+	-	-
4	G	G	TTTTTT	+	-	-
5	G	G	TTTTTT	+	-	-
6	G	G	TTTTTT	+	-	-
7	G	G	TTTTTT	+	-	-
8	G	G	TTTTTT	+	-	-
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
70	G	G	TTTTTT	+	-	-

3.2. Çevresel Etkiye Ait Bulgular

Tablo 3.5'te hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerin cinsiyetleriyle ilgili bulgulara yer verilmiştir.

Tablo 3.5. Çalışma gruplarının cinsiyet dağılımları

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)
Cinsiyet	n (%)	n (%)
Kadın	31 (%44,3)	28 (%40)
Erkek	39 (%55,7)	42 (%60)

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.6'da hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerin yaş ortalamasına dair bulgular bulunmaktadır. Elde edilen bulgulara göre hasta grubunun yaş ortalaması $12,26 \pm 4,21$ yıl iken kontrol grubunun yaş ortalaması $13,36 \pm 3,47$ yıldır. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları benzerdir ($p>0,05$).

Tablo 3.6. Çalışma gruplarının yaş ortalamaları (Bağımsız örneklem t-testi)

Yaş	Ort ± SS (yıl)	Minimum (yıl)	Maksimum (yıl)	P
Hasta grubu (n=70)	12,26 ± 4,21	6	24	0,094
Kontrol grubu (n=70)	13,36 ± 3,47	6	20	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.7’de hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerin ebeveynlerinin annelik ve babalık yaş ortalamasına dair bulgular bulunmaktadır. Çalışma grupları arasında ebeveynlerin annelik ve babalık yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05).

Tablo 3.7. Ebeveynlerin annelik ve babalık yaş ortalamaları (Student’ s t-testi, Welch’ s t-testi)

Yaş	Ort ± SS (yıl)	P
Anne	Hasta grubu (n=70) Kontrol grubu (n=70)	27,56 28,56 0,318
Baba	Hasta grubu (n=70) Kontrol grubu (n=70)	30,49 32,29 0,061

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.8’de verilen hasta grubundaki dudak damak yarığı sınıflamasına ait bulgular incelendiğinde; total tek taraflı yarık oranının % 52,9, total çift taraflı yarık oranının ise %22,9 olduğu gözlenmiştir.

Tablo 3.8. Hasta grubundaki bireylerin yarık tipinin sınıflaması

Sınıflama	N	Yüzde (%)
Primer Çift Taraflı Yarık	1	%1,4
Primer Tek Taraflı Sağ Yarık	2	%2,8
Primer Tek Taraflı Sol Yarık	7	%10
Sekonder Yarık	7	%10
Total Tek Taraflı Sağ Yarık	16	%22,9
Total Tek Taraflı Sol Yarık	21	%30
Total Çift Taraflı Yarık	16	%22,9

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.9’da hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerin annelerinin eğitim düzeyleri ile ilgili veriler yer almaktadır. Bu veriler incelendiğinde hasta grubunda ilkökul mezunu annelerin oranının %48,6, üniversite mezunu annelerin oranının %10

olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubunda benzer şekilde ilkokul mezunu anne oranı %44,3, üniversite mezunu anne oranı %15,7 olduğu tespit edilmiş olup, çalışma grupları arasında annelerin eğitim düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 3.9. Annelerin eğitim düzeylerine göre dağılımı (Pearson ki-kare testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin eğitim düzeyi	n (%)	n (%)	P
Okur-yazar değil	2 (%2,9)	2 (%2,9)	0,873
İlkokul	34 (%48,6)	31 (%44,3)	
Ortaokul	13 (%18,6)	11 (%18)	
Lise	14 (%20)	15 (%21,4)	
Üniversite	7 (%10)	11(%15,7)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.10’da hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerin annelerinin mesleklerine dair bulgular verilmiştir. Çalışma grupları arasında annelerin meslekleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 3.10. Annelerin mesleklerine göre dağılımı (Fisher’in kesin testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin mesleği	n (%)	n (%)	P
Çalışmıyor	61 (%87,1)	58(%82,9)	0,900
Emekli	0 (%0)	1 (%1,4)	
Esnaf	0 (%0)	1 (%1,4)	
Memur	4 (%5,7)	4 (%5,7)	
Özel sektör	5 (%7,1)	6 (%8,6)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.11’de hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerin babalarının eğitim düzeylerine ait bulgular yer almaktadır. Bu bulgular incelendiğinde çalışma grubumuzda ilkokul mezunu babaların oranının fazla olduğu gözlenmiştir. Çalışma grupları arasında babaların eğitim düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 3.11. Babaların eğitim düzeylerine göre dağılımı (Pearson ki-kare testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Babanın eğitim düzeyi	n (%)	n (%)	P
Okur-yazar değil	1 (%1,4)	0 (%0)	0,533
İlkokul	22 (%31,4)	23 (%32,9)	
Ortaokul	16 (%22,9)	10 (%14,3)	
Lise	15 (%21,4)	20 (%28,6)	
Üniversite	16 (%22,9)	17 (%24,3)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.12’de hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerin babalarının mesleklerine dair bulgular verilmiştir. Bu bulgular incelendiğinde hasta grubunda özel sektörde çalışan babaların (%67,1-%42,9), kontrol grubunda ise esnaf (%2,9-%22,9) babaların oranının istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p=0,003).

Tablo 3.12. Babaların mesleklerine göre dağılımı (Pearson ki-kare testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Babanın mesleği	n (%)	n (%)	P
Çalışmıyor	2(%2,9)	1 (%1,4)	0,003**
Emekli	4 (%5,7)	8 (%11,4)	
Esnaf	2 (%2,9)	16 (%22,9)	
Memur	15 (%21,4)	15 (%21,4)	
Özel sektör	47 (%67,1)	30 (%42,9)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.13’te hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerin annelerinin gebelik öncesindeki-gebelik esnasındaki alkol kullanımına ait bulgular yer almaktadır. Gebelik öncesinde ve gebelik esnasında çalışma gruplarındaki annelerde alkol kullanımı görülmemiştir.

Tablo 3.13. Annelerin gebelik öncesindeki ve gebelik esnasındaki alkol kullanımını

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin gebelik öncesi ve gebelik esnasındaki alkol kullanımı	n (%)	n (%)	P
Evet	0 (%0)	0 (%0)	-
Hayır	0 (%0)	0 (%0)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.14'te çalışma grubundaki annelerin gebelik öncesindeki sigara kullanımına ait bulgular yer almakta olup, annelerin büyük oranda sigara kullanmadığı (%87,1-%92,9) gözlenmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında annelerde gebelik öncesinde sigara kullanımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05).

Tablo 3.14. Annelerin gebelik öncesindeki sigara kullanımı (Yates süreklilik düzeltmesi ki-kare testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin gebelik öncesi sigara kullanımı	n (%)	n (%)	P
Evet	9 (%12,9)	5 (%7,1)	0,398
Hayır	61 (%87,1)	65 (%92,9)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.15'te çalışma grubundaki annelerin gebelik öncesinde teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığına dair bulgular yer almakta olup, annelerin büyük oranda gebelik öncesinde teşhisi yapılmış kronik bir hastalığının bulunmadığı (%97,1-%92,9) gözlenmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05).

Tablo 3.15. Annelerin gebelik öncesinde teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığı (Fisher'in kesin testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin gebelik öncesi teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığı	n (%)	n (%)	P
Hayır	68 (%97,1)	65 (%92,9)	0,441
Hipertansiyon	0 (%0)	1 (%1,4)	
Diyabet	0 (%0)	0 (%0)	
Kolesterol	0 (%0)	0 (%0)	
Diğer	2 (%2,9)	4 (%5,7)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.16’da çalışma grubundaki annelerin gebelik esnasında sigara kullanımına ait bulgular yer almakta olup, annelerin büyük oranda sigara kullanmadığı (%98,6-%94,3) gözlenmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında annelerde gebelik esnasında sigara kullanımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 3.16. Annelerin gebelik esnasında sigara kullanımı (Fisher’in kesin testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin gebelik esnasında sigara kullanımı	n (%)	n (%)	P
Evet	1 (%1,4)	4 (%5,7)	0,366
Hayır	69 (%98,6)	66 (%94,3)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.17’de çalışma grubundaki annelerin gebelik esnasında teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığına dair bulgular yer almakta olup, annelerin büyük oranda gebelik esnasında teşhisi yapılmış kronik bir hastalığının bulunmadığı (%92,9-%84,3) gözlenmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında annelerin gebelik esnasında teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 3.17. Annelerin gebelik esnasında teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığı (Fisher’in kesin testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin gebelik esnasında teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığı	n (%)	n (%)	P
Hayır	65(%92,9)	59 (%84,3)	0,372
Hipertansiyon	1 (%1,4)	4 (%5,7)	
Diyabet	0 (%0)	2 (%2,9)	
Kolesterol	0 (%0)	1 (%1,4)	
Diğer	4 (%5,7)	4 (%5,7)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.18’de çalışma grubundaki annelerin gebelik esnasında fiziksel travma maruziyetine dair bulgular yer almakta olup, annelerde büyük oranda gebelik esnasında fiziksel travma maruziyetinin olmadığı (%98,6-%98,6) gözlenmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında annelerin gebelik esnasında fiziksel travma maruziyeti açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 3.18. Annelerin gebelik esnasında fiziksel travma maruziyeti (Fisher'ın kesin testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin gebelik esnasında fiziksel travma maruziyeti	n (%)	n (%)	P
Evet	1 (%1,4)	1 (%1,4)	>.999
Hayır	69 (%98,6)	69 (%98,6)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.19'da çalışma grubundaki annelerin gebelik esnasında psikolojik travma maruziyetine dair bulgular yer almakta olup, annelerde büyük oranda gebelik esnasında psikolojik travma maruziyetinin olmadığı (%75,7-%94,3) gözlenmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında annelerin gebelik esnasında psikolojik travma maruziyeti açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir. Hasta grubunda gebeliğin ilk üç ayında psikolojik travmaya maruz kalan anne sayısı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (p=0,005).

Tablo 3.19. Annelerin gebelik esnasında psikolojik travma maruziyeti

(Yates süreklilik düzeltmesi ki-kare testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin gebelik esnasında psikolojik travma maruziyeti	n (%)	n (%)	P
Evet	17 (%24,3)	4 (%5,7)	0,005**
Hayır	53 (%75,7)	66 (%94,3)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.20'de çalışma grubunda babaların alkol kullanımına ait bulgular yer almakta olup, babaların alkol kullanımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05).

Tablo 3.20. Babaların alkol kullanımı (Fisher'ın kesin testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Babanın alkol kullanımı	n (%)	n (%)	P
Evet	6 (%8,6)	2 (%2,9)	0,275
Hayır	64 (%91,4)	68 (%97,1)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.21’de çalışma grubundaki babaların sigara kullanımına ait bulgular yer almakta olup, babaların büyük oranda sigara kullandığı (%62,9-%58,6) gözlenmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında babalarda sigara kullanımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 3.21. Babaların sigara kullanımı (Pearson ki-kare testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Babanın sigara kullanımı	n (%)	n (%)	P
Evet	44 (%62,9)	41 (%58,6)	0,604
Hayır	26 (%37,1)	29 (%41,4)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *: $P<0,05$, **: $P<0,01$, ***: $P<0,001$

Tablo 3.22’de çalışma grubundaki babalarda teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığına dair bulgular yer almaktadır. Hasta ve kontrol grubundaki babalarda büyük oranda (%92,9) teşhisi yapılmış herhangi bir kronik hastalığın bulunmadığı görülmüştür. Çalışma grupları arasında babalarda teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 3.22. Babalarda teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığı (Pearson ki-kare testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Babada teşhisi yapılmış kronik hastalık varlığı	n (%)	n (%)	P
Hayır	65 (%92,9)	65 (%92,9)	0,119
Hipertansiyon	4 (%5,7)	0 (%0)	
Diyabet	0 (%0)	2 (%2,9)	
Kolesterol	0 (%0)	1 (%1,4)	
Diğer	1 (%1,4)	2 (%2,9)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *: $P<0,05$, **: $P<0,01$, ***: $P<0,001$

Tablo 3.23’te çalışma grubundaki annelerin gebelikleri esnasında röntgen ışınına maruz kalma durumlarına dair bulgular verilmiş olup, annelerin gebelikleri esnasında röntgen ışınına maruz kalma durumları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 3.23. Annelerin gebelik esnasında röntgen ışınına maruziyeti (Fisher'ın kesin testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin röntgen ışınına maruziyeti	n (%)	n (%)	P
Evet	1 (%1,4)	1 (%1,4)	>.999
Hayır	69 (%98,6)	69 (%98,6)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.24'te çalışma grubundaki annelerin gebelikleri esnasında herhangi bir ateşli hastalık geçirip geçirmediğine ait bulgular verilmiş olup, annelerin gebelikleri esnasında ateşli bir hastalık geçirmeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05).

Tablo 3.24. Annelerin gebelik esnasında ateşli bir hastalık geçirmesi (Fisher'ın kesin testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin ateşli hastalık geçirmesi	n (%)	n (%)	P
Evet	1 (%1,4)	1 (%1,4)	>.999
Hayır	69 (%98,6)	69 (%98,6)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.25'te çalışma grubundaki annelerin gebelik esnasında ilaç kullanımına ait bulgular verilmiş olup, annelerin gebelik dönemlerinde ilaç kullanımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05).

Tablo 3.25. Annelerin gebelik esnasında ilaç kullanımı (Yates süreklilik düzeltmesi ki-kare testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin ilaç kullanımı	n (%)	n (%)	P
Evet	12 (%17,1)	4 (%5,7)	0,063
Hayır	58 (%82,9)	69 (%94,3)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.26'da çalışma grubundaki annelerin gebelik esnasında kadın doğum uzmanı kontrolünde olup olmadıklarına dair bulgular verilmiş olup, kontrol grubunda kadın doğum uzmanı kontrolünde olan annelerin oranının (%98,6) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu gözlenmiştir (p=0,012).

Tablo 3.26. Annelerin gebelik dönemini kadın doğum uzmanı kontrolünde geçirmeleri
(Yates süreklilik düzeltmesi ki-kare testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin gebelik dönemini doktor kontrolünde geçirmesi	n (%)	n (%)	P
Evet	60 (%85,7)	69 (%98,6)	0,012*
Hayır	10 (%14,3)	1 (%1,4)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.27’de çalışma grubundaki annelerin gebelik esnasında vitamin takviyesi almasına dair bulgular verilmiş olup, kontrol grubunda gebelik esnasında vitamin takviyesi alan annelerin oranının (%90) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu gözlenmiştir (p=0,002).

Tablo 3.27. Annelerin gebelik esnasında vitamin takviyesi alması
(Yates süreklilik düzeltmesi ki-kare testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Annenin gebelik esnasında vitamin takviyesi alması	n (%)	n (%)	P
Evet	47 (%67,1)	63 (%90)	0,002**
Hayır	23 (%32,9)	7 (%10)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.28’de çalışma grubunda ebeveynler arası akrabalık ilişkisine ait bulgular yer almakta olup, ebeveynler arası akrabalık ilişkisinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05).

Tablo 3.28. Ebeveynler arası akrabalık ilişkisinin varlığı (Yates süreklilik düzeltmesi ki-kare testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Ebeveynler arası akrabalık ilişkisinin varlığı	n (%)	n (%)	P
Evet	20 (%28,6)	11 (%15,7)	0,103
Hayır	50 (%71,4)	59 (%84,3)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.29’da çalışma grubundaki ailelerde dudak ve/veya damak yarığına sahip bireylerin varlığı ile ilgili bulgulara yer verilmiş olup, hasta grubunda dudak ve/veya damak yarığına sahip bireylerin varlık oranının (%44,3) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu gözlenmiştir (p<0,001).

Tablo 3.29. Ailede dudak ve/veya damak yarığına sahip bireyin bulunması

(Yates süreklilik düzeltmesi ki-kare testi)

	Hasta Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	
Ailede dudak/damak yarığına sahip birey bulunması	n (%)	n (%)	P
Evet	31 (%44,3)	8 (%11,4)	<0,001**
Hayır	39 (%55,7)	62 (%88,6)	

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

Tablo 3.30’da çalışma grubundaki ebeveynlerin bebeklerinde dudak ve/veya damak yarığı varlığını gebelik esnasında öğrenip-öğrenmediklerine dair bulgular verilmiştir. Bu bulgular incelendiğinde %35,7 oranında ebeveynin dudak ve/veya damak yarığı varlığını gebelik esnasında öğrendiği görülmüştür.

Tablo 3.30. Ebeveynlerin bebeklerinde dudak ve/veya damak yarığı varlığını gebelik esnasında öğrenme durumları

	Hasta Grubu (n=70)
Ebeveynlerin dudak/damak yarığını gebelikte öğrenmesi	n (%)
Evet	25 (%35,7)
Hayır	45 (%64,3)

P: Anlamlılık, SS: Standart Sapma, N: Örneklem Sayısı, *:P<0,05, **: P<0,01, ***:P<0,001

4. TARTIŞMA

Baş boyun bölgesinin en sık karşılaştığımız konjenital anomalisi olan dudak damak yarıklarının etiyolojisi ve patogenezi tam olarak aydınlatılamamış olup multifaktöriyel etki mekanizması adı verilen çevresel ve genetik faktörlerin birbirini etkilemesiyle meydana geldiği düşünülmektedir. Bu patolojiye olan genetik yatkınlık farklı genler tarafından kontrol edilmekte, patolojinin meydana gelme eşiğini genetik ve çevresel faktörler belirlemektedir (Fraser 1989, Bender 2000, Şafak ve Akyürek 2003, Menezes ve Vieira 2008, Altuğ ve Şenol 2015). Ayrıca dudak damak yarığının görülme insidansı coğrafik konum, ırk, etnik köken ve sosyoekonomik düzeye göre değişiklik göstermektedir (Murray 2002). Bahsi geçen bu bilgilerden de anlaşılacağı üzere, karşımıza çok bilinmeyenli bir denklem olarak çıkan dudak damak yarıklarının etiyolojisinin ve patogenezinin anlaşılabilmesi için, farklı popülasyonlarda yürütülen farklı genlerin ve çevresel faktörlerin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca dudak damak yarığı ile dünyaya gelen bireyleri ve ebeveynlerini uzun yıllar sürecek olan maddi-manevi zorlu bir tedavi süreci beklemektedir. Dudak damak yarığının etiyolojisinin ve patogenezinin aydınlatılması sonucunda bu hastalığın oluşmasını engelleyecek önlemlerin alınabilmesi hem bireysel hem de toplumsal alanda çok büyük fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Teknolojinin ilerlemesi ile modern moleküler biyoloji ve genetik biliminde ileri yöntemler kullanılmaktadır. Bu gelişmeler dudak damak yarığının etiyolojisinde gen-çevre ve/veya gen-gen etkileşimini konu alan çalışmaları arttırmaktadır (Lees 2008).

Çalışmamızda sendromik olmayan dudak damak yarığı vakalarının VAX1 geninin rs387907252, rs1554942640 ve rs1554942980 varyantları ile olan ilişkisi ülkemiz popülasyonunda incelenmiştir. Ayrıca etiyolojideki çevresel faktörlerin önemi de göz önünde bulundurularak çalışma grubu üzerinde anket çalışması ile çevresel faktörlerin etkisi de sorgulanmıştır.

Sendromlar ile beraber görülen dudak damak yarığı vakalarının oranı %5-7 arasındadır. Vakaların %93-95 kadarı ise herhangi bir sendromun eşlik etmediği izole tipteki yarıklardır (Mossey ve ark 2009). Toplumda izole tipteki yarıkların daha sık

görülmesi nedeniyle çalışmamız sendromik olmayan dudak ve/veya damak yarığı vakaları üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Dudak damak yarığının oluşumuyla ilişkilendirilen gen sayısı modern moleküler biyoloji ve genetik analiz yöntemlerindeki gelişmeler ile birlikte artmaktadır. Literatürde çalışılmakta olan MSX1, IRF6, PVRL1, TBX22, FGFR1, VAX1 gibi birçok gen bulunmaktadır. İlgili genlerin dudak damak yarığı ile ilişkisi popülasyonlar arasında değişiklik göstermektedir.

Kraniyofasiyal gelişimde rolü olan MSX1 geni ile alakalı çalışmalara literatürde rastlanılmaktadır. Jezewski ve ark (2003) MSX1 mutasyonlarının sendromik olmayan dudak damak yarığı oluşumuna neden olduğunu rapor etmişlerdir. Kim ve ark (2013) Kore popülasyonu üzerinde yaptıkları çalışmada MSX1 geni ile dudak damak yarığı arasında pozitif korelasyon olduğunu belirtmişlerdir. Bunun yanında dudak damak yarığının MSX1 geniyle ilişkili olmadığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Mitchell ve ark 2001, Koillinen ve ark 2003). Jumlongras ve ark (2001) MSX1 genindeki mutasyon varlığını yüz yarığı, hipodonti ve tırnak displazisi ile seyreden Witkop sendromu ile ilişkilendirmişlerdir. Lidral (2002), 82 aile üzerinde yaptığı çalışmada MSX1 mutasyonlarının diş agenezine neden olduğunu ifade etmiştir. Wong ve ark (2014), Çinli bir ailede yaptığı çalışmada MSX1 mutasyonun oligodontiden sorumlu olduğunu bildirmişlerdir. Boogaard ve ark (2000) MSX1 genindeki mutasyon varlığını orofasiyal yarık ve diş agenezisiyle ilişkilendirmişlerdir.

IRF6 geni ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı sonuçlara rastlanılmaktadır. Kondo ve ark (2002) sendromik dudak damak yarığı vakalarında en sık görülen Van der Woude sendromundan sorumlu genetik defektin transkripsiyon faktörü interferon regülatör faktör 6'yı kodlayan IRF6 mutasyonlardan kaynaklandığını rapor etmişlerdir. Ferreira ve ark (2009) IRF6 genindeki mutasyonların dudak damak yarığına sindaktili, tırnak anomalileri, genital anomaliler, popliteal yelesenme, ankiloblefaron gibi bulguların da eşlik ettiği Popliteal Pterijyum sendromuna neden olabileceğini bildirmişlerdir. Peng ve ark (2022) Van der Woude sendromlu bireylerin bulunduğu Çinli bir ailede yaptıkları inceleme sonucunda ailede IRF6 genine ait mutasyon tespit etmişlerdir. Literatürde dudak damak yarığının bulguları içerisinde yer aldığı Van der Woude ve Popliteal Pterijyum sendromunu IRF6 genindeki mutasyonlar ile ilişkilendiren farklı çalışmalar da bulunmaktadır (Matsuzawa ve ark

2004, Peyrard-Janvid ve ark 2005, Little ve ark 2009, Yeetong ve ark 2009, Malik ve ark 2014). Bu çalışmaların yanında sendromik olmayan dudak damak yarığı vakaları ile IRF6 gen mutasyonları arasındaki ilişki tartışmalıdır. Lu ve ark (2013), Çin popülasyonu üzerinde yaptıkları çalışmada IRF6 genindeki mutasyonun dudak damak yarığına sebep olabileceğini bildirmişlerdir. Mijiti ve ark (2023), Kinh Vietnamlı bireyler arasında yaptığı çalışmada sendromik olmayan dudak damak yarıkları ile IRF6 mutasyonları arasında pozitif ilişki olduğunu rapor etmişlerdir. IRF6 geni ile sendromik olmayan dudak damak yarıkları arasında ilişki olmadığını söyleyen araştırmacılar da bulunmaktadır (Blanton ve ark 2010, Paranaíba ve ark 2010, Pegelow ve ark 2014).

Palatogenezisin aşamalarında rolü olduğu söylenen ve keratinositler arasındaki bağlantıda görevli hücre adezyon molekülünü kodlayan PVRL1 geni hem sendromik hem sendromik olmayan dudak damak yarığı ile bağlantılı bulunmuştur. Suzuki ve ark (2000), PVRL1 gen mutasyonlarını yarık dudak ve/veya damak, seyrek saç yapısı, kulaklarda yapısal anomali ve sindaktili ile gözlenen YDD-ektodermal displazi olarak adlandırılan sendrom ile bağlantılı olduğunu rapor etmişlerdir. Yoshida ve ark (2015) Asyalı bir ailenin YDD-ektodermal displazi sendromu teşhisi koyulmuş çocuğunda yaptıkları incelemede PVRL1 mutasyonu olduğunu bildirmişlerdir. Wong ve Hagg (2004), dudak damak yarığı etiyojisine yönelik yaptıkları literatür taramasında PVRL1 mutasyonlarının YDD-ektodermal displazi ile ilişkili olduğunu görmüşlerdir. Bunun yanında Scapoli ve ark (2006), İtalyan popülasyonunda sendromik olmayan dudak damak yarığı ile PVRL1 geni mutasyonu arasında pozitif ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Sözen ve ark 2001 yılında ‘PVRL1 mutasyonu Kuzey Venezuela’da sporadik, sendromik olmayan yarık dudak/damak ile ilişkilidir’ başlıklı raporlarını yayınlamışlardır.

Dil gelişiminde, palatogeneziste önemli rolü olan ve frenulumun lokalize olduğu dil altı bölgesinde ekprese edilen TBX22 genindeki mutasyonlar kolobom, sağırılık, radioulnar sinostoz, ankiloglossi olan/olmayan, yarık damağın da eşlik ettiği X’e bağlı CHARGE benzeri Abruzzo-Erickson sendromu ile ilişkilendirilmiştir (Bush ve ark 2002, Pauws ve ark 2013). Braybrook ve ark (2001) TBX22 genindeki mutasyonların ankiloglossi ve izole yarık damağa neden olduğunu rapor etmişlerdir. Bu rapora paralel ankiloglossi ve yarık damak malformasyonun beraber görüldüğü

vakalarda TBX22 mutasyonlarını bildiren farklı popülasyonlarda yapılmış çalışmalar mevcuttur (Chaabouni ve ark 2005, Pauws ve ark 2009, Kantaputra ve ark 2011). Bu genin mutasyonları sendromik olmayan dudak damak yarığı vakalarında da araştırılmıştır. Dai ve ark (2018), sendromik olmayan dudak damak yarığı hikayesinin olduğu iki tane Çinli aileyi dahil ettikleri çalışmalarında TBX22 geninde yeni bir mutasyon bildirmişlerdir. Gurramkonda ve ark (2015), TBX22 genindeki bir mutasyonun sendromik olmayan dudak damak yarığı riskini Hintli kadınlarda arttırdığını rapor etmişlerdir. Jiang ve ark (2012), TBX22 genindeki mutasyonlar ile sendromik olmayan dudak damak yarığı vakaları arasında bir ilişki bulamamışlardır.

Fibroblast büyüme faktörleri için hücre yüzeyi reseptörü görevi gören, embriyonik gelişim, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve göçünün düzenlenmesinde önemli rolü olan FGFR1 geni Kallmann sendromundan sorumlu tutulmaktadır (Dodé ve ark 2003). Kallmann sendromunun bulguları arasında hipogonadotropik hipogonadizm, anosmiye ek olarak dudak damak yarığı ve hipodonti de bulunabilmektedir (Sato ve ark 2004). Xu ve ark (2015), dudak damak yarığı ve hipodontinin de bulunduğu Kallmann sendromlu bireylerde FGFR1 mutasyonu tespit etmişlerdir. Wan ve ark (2009), Çin popülasyonunda sendromik olmayan dudak damak yarığı ile FGFR1 mutasyonu arasında herhangi bir ilişki olmadığını rapor etmişlerdir. Vieira ve ark (2007), IRF6 ve FGFR1 mutasyonlarının diş agenezisine neden olduğunu bildirmişlerdir.

Medial nazal çıkıntılarının, üst dudak yapılarının oluşumunda rolü olan, kraniyofasiyal gelişimden sorumlu VAX1 genindeki mutasyonların sendromik olmayan dudak damak yarığının oluşumuna neden olabileceği düşünülmektedir (Wang ve ark 2011, Machado ve ark 2021). Hallonet ve ark (1999), fareler üzerinde yürüttükleri çalışmalarında VAX1 gen mutasyonlarının dudak damak yarığı ve çeşitli kraniyofasiyal deformitelere neden olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan başka bir hayvan çalışmasında VAX1 geninin yarık damak oluşumunun etiyolojisinde indirekt etkili olduğu rapor edilmiştir (Geoghegan ve ark 2017). Bugüne kadar Çin, Afrika, Avrupa, Japonya, Polonya ve Güneydoğu Asya popülasyonları dahil olmak üzere farklı ırksal ve etnik popülasyonlarda VAX1 geni ile sendromik olmayan dudak damak yarığı arasındaki ilişkiyi doğrulayan birçok çalışma bulunmaktadır (Mangold ve ark 2010, Mostowska ve ark 2012, Butali ve ark 2013, Figueiredo ve ark 2014). Slavec ve ark

(2022), Avrupa kökenli popülasyonlar üzerinde yürütülen vaka raporlarını derleyerek bir meta-analiz yapmışlar ve IRF6, GRHL3, 8q24, VAX1, TGF α , FOXE1, ABCA4, NOG, GREM1, AXIN2, DVL2, WNT3A, WNT5A genlerindeki mutasyonların sendromik olmayan dudak damak yarığı ile yüksek ilişkisi olduğunu bildirmişlerdir. Wang ve ark (2020), Güney Çin popülasyonunda sendromik olmayan dudak damak yarığı ile VAX1 geninin rs7078160 polimorfizmi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Hasta grubuna 39 dudak damak yarığı, 36 izole dudak yarığı, 25 izole damak yarığı bulunan hasta bireyler ve anne-babalarını, kontrol grubuna ise 60 tane sağlıklı birey ve anne-babalarını dahil etmişlerdir. Her bireyden üç mililitre periferik venöz kan alınıp PZR-Sanger sekans analizi ile elde edilen verilere göre VAX1 geninin rs7078160 polimorfizmi ile pozitif ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Sabbagh ve ark (2019), Suudi Arabistanlı hastalarda VAX1 geninin rs4752028, rs7078160 polimorfizmini ve akrabalık ile ilişkisini araştırmışlardır. Sendromik olmayan dudak damak yarığından etkilenen bireyler ve ebeveynlerinden oluşan 171 üçlünden ve 189 kontrol üçlüsünden aldıkları tükürük örneklerinden elde ettikleri DNA'ları PZR yöntemini kullanarak incelemişlerdir. Yüksek düzeyde akraba evliliği olan popülasyonda sendromik olmayan dudak damak yarığı ile VAX1 geninin rs4752028 ve rs7078160 polimorfizimleri arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Zhang ve ark (2018), Batı Han Çin popülasyonunda sendromik olmayan dudak damak yarığı ile VAX1 geninin rs7078160 ve rs4752028 varyantları arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Sendromik olmayan dudak yarığı bulunan 129 birey ve ebeveynleri ile dudak damak yarığı bulunan 173 birey ve ebeveynlerinden alınan venöz kan örnekleri üzerinde çalışılmıştır. VAX1 geninin rs7078160 varyantındaki mutasyon varlığının paternal geçişle Batı Han Çinlilerinde sendromik olmayan dudak damak yarığına neden olabileceğini rapor etmişlerdir. Aquino ve ark (2013), Güney Amerika popülasyonu üzerinde yürüttüğü bir çalışmada da benzer şekilde sendromik olmayan dudak damak yarığının VAX1 geninin rs10787760, rs6585429, rs1871345 varyantlarındaki mutasyonlar ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. You ve ark (2022), Batı Han Çin popülasyonunda sendromik olmayan dudak damak yarığına sahip 159 birey ve sağlıklı 542 bireylerden aldıkları periferik kan örnekleri üzerinde VAX1 geninin 6 varyantını (rs58593329, rs11197887, rs1904302, rs10886040, rs744937, rs7078160) incelemişlerdir. Bu varyantlar ile sendromik olmayan orofasiyal yarıkların ilişkili olduğunu ve orofasiyal yarık oluşumunun patogenezinin anlaşılabilmesi için daha fazla invivo çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu rapor etmişlerdir. İlaveten Kenya,

Polonya, Çin, Avrupa popülasyonlarında yürütülmüş dudak damak yarığı ile VAX1 geninin ilişkisiz olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Li ve ark 2017, Pan ve ark 2011, Weatherley ve ark 2011, Zawislak ve ark 2014). Li ve ark (2017), Kuzey Çin Han popülasyonunda sendromik olmayan dudak damak yarığına sahip 186 birey ve sağlıklı 223 bireyi dahil ettikleri çalışmalarında; bireylerden aldıkları 1 ml venöz kan örneklerinde VAX1 geninin rs4752028, rs10787760, rs7078160, rs658542, rs1871345 varyantlarını incelemişlerdir. Kuzey Çin Han popülasyonunda VAX1 geninin bu varyantlardaki mutasyonlar ile ilişkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Nasser ve ark (2012), Avrupa popülasyonunda sendromik olmayan dudak damak yarığının etiolojisinde VAX1 genini incelemek için 384 hasta (76 izole dudak yarığı, 308 dudak damak yarığı)-384 sağlıklı bireyden aldıkları venöz kan üzerinde çalışmış olup, VAX1 geni ile sendromik olmayan dudak damak yarığı arasında bir ilişki bulamamışlardır. Butali ve ark (2014) Afrika popülasyonunda VAX1 geni ile orofasiyal yarık oluşumu arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır.

Yukarıdaki çalışmalar da göz önüne alınarak; çalışmamızın sendromik olmayan bireyler üzerinde yürütülmesi planlanmış olup, çalışmamızda çeşitli sendromlar ile ilişkisi olduğu bildirilen, gen-gen etkileşimi ile dudak damak yarığı oluşumuna neden olduğu düşünülen ve popülasyonumuz üzerinde çalışılmış olduğu tespit edilmiş genler ekarte edilmiştir. Literatürde aday gen olarak rapor edilmiş, günümüz araştırmacılarının ilgisini çekmekte olan, popülasyonumuzda çalışılmamış, herhangi bir sendromla ilişkisi henüz tespit edilmemiş VAX1 geni üzerinde değerlendirme yapılmasına karar verilmiştir. Literatürde çalışılmış olan VAX1 geninin rs7078160 varyantının taramalarımız neticesinde SHTN1 geninde lokalize ve benign karakterli olduğunun tespit edilmesi üzerine, araştırmalarımız neticesinde patojeniteleri daha yüksek olduğu tespit edilen rs387907252, rs1554942640 ve rs1554942980 varyantlarının çalışılmasına karar verilmiştir. Sendromik olmayan dudak damak yarığına sahip 70 hasta ve 70 sağlıklı gönüllü katılımcıdan aldığımız tükürük örnekleri üzerinde yaptığımız çalışma sonucu mutant genom tespit edilememiş olup, incelediğimiz genetik alan çerçevesinde bu genin seçili varyantlarının yarık dudak damak ile ilişkisi olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Bunun nedenleri arasında çalışmanın sınırlı bir bütçe ile yürütülmüş olması, maddi kısıtlamalar sebebiyle ilgili genin sadece üç bölgesine bakabilmiş olması ve örneklem

sayısının görece az olması, incelenmiş olan varyantların nadir görülen varyantlar olması sayılabilir.

Sendromik olmayan dudak damak yarığının etiyolojisinde VAX1 geninin yerini inceleyen çalışmalarda, araştırmacılar genellikle DNA izolasyonu için bireylerden aldıkları kan (Nasser ve ark 2012, Aquino ve ark 2013, Zhang ve ark 2018, Wang ve ark 2020, You ve ark 2022) veya tükürük (Sabbagh ve ark 2019) örnekleri üzerinde çalışmışlardır. Tükürüğün serumdan gelen bileşenlerinin kaynağı karotid arterinin lokal damar ağıdır. Bundan dolayı tükürükte sistemik dolaşıma ait birçok molekül bulunmakta ve tükürük diagnostik amaçla kullanılabilir. Tükürük genetik moleküller ve protein içeren, invaziv olmayan yollarla elde edilebilen, güvenilir ve kolay örnekleme yöntemi ile çalışabilen biyolojik bir sıvıdır. Tükürük numunesinin toplanması, saklanması, taşınması üre ve seruma kıyasla daha ekonomiktir. Beklemeyle birlikte kanda görülen pıhtılaşma tükürükte görülmemekte bu da taşınması sırasında büyük kolaylık sağlamaktadır. Ayrıca tükürük örneğinin toplanması ve çalışılması sırasında sağlık çalışanları için bulaş riski oldukça düşüktür. Tükürük numunesinin invaziv olmayan yollarla elde edilebilmesi de hastalar için büyük avantaj sağlamaktadır. Bahsedilen avantajlar ve biyoteknoloji alanındaki gelişmeler ile birlikte tükürüğün diagnostik amaçlı kullanımı yaygınlaşmaktadır. Tükürük; otoimmün ve hormonal hastalıkların teşhisi, enfeksiyonların ve kardiyovasküler rahatsızlıkların değerlendirilmesi, ilaç taramaları, prekanseröz lezyonların teşhisi, genetik testler, cinsiyet tayini, suçluların taranması olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır (Lee ve Wong 2009, Farnaud ve Kostı 2010, Miller ve ark 2010). Planlamış olduğumuz çalışmamız dahilinde tükürük örneğinden elde edilen veriler ile de araştırmamız yürütülebileceğinden ve tükürüğün yukarıda sıralanmış olan avantajları da göz önüne alınarak çalışmamızda tükürük numunelerinin kullanılmasına karar verilmiştir.

Dudak damak yarıklarına epidemiyolojik olarak bakıldığında küresel oran; dudak damak yarığında %40-45 arası değişirken, izole damak yarığında %20-25 arası değişmektedir (Mossey 2012). Ülkemizde Tunçbilek ve ark (2004) bu oranların; %64,4 dudak ve/veya damak yarığı, %35,6 izole damak yarığı şeklinde olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise bu oranlar; %75,8 dudak damak yarığı, %10 izole damak yarığı şeklindedir. Amerikada tek taraflı yarık vakalarının, çift taraflı yarık

vakalarına göre dokuz kat daha fazla, tek taraflı yarık vakalarında sol yarığın sağ yarığa göre iki kat daha fazla gözleendiği rapor edilmiştir (Gutowski 2014). Çalışmamızda tek taraflı yarık vakaları çift taraflı yarık vakalarından yaklaşık üç kat daha fazla, tek taraflı yarık vakalarında da sol yarık sağ yarıktan 1,5 kat daha fazla olarak gözlenmiştir.

Herhangi bir sendrom ile beraber görülen dudak damak yarıklarının oluşmasında etkili olan genetik ve çevresel faktörler daha net olarak açıklanırken, sendromik olmayan dudak damak yarıklarının neden meydana geldiği ile ilgili bilgiler henüz tartışmalı olup, multifaktöriyel etki mekanizması ile meydana geldiği düşünülmektedir. Oluşabilecek konjenital anomalinin tipini ve şiddetini ise teratojene maruz kalma dönemi, teratojenin dozajı etkilemektedir (Dixon ve ark 2011). Coğrafi konum, etnik köken, cinsiyet, sosyoekonomik düzey; gebelik esnasında annenin beslenme alışkanlıkları, sigara-alkol kullanımı, doktor kontrolünde olup-olmamasına bağlı olarak multivitamin takviyesi alıp-almaması, antiepileptik ilaç kullanması, psikolojik travma maruziyeti dudak damak yarığı oluşmasında suçlanan çevresel risk faktörleri arasındadır (Murray 2002, Gundlach 2006). Bu bilgiler göz önünde bulundurularak çalışmamızda sadece genetik etki sorgulanmamış, anket verileri ile çevresel faktörlerin de olası etkileri değerlendirilmiş olup, çalışma grubumuzun birçok çevresel faktörlerin etkisinden izole olduğu tespit edilmiş, nispeten homojen bir grup üzerinde çalışmamızın yürütüldüğü gözlenmiştir.

Gebelik esnasında annenin sigara ve alkol kullanımı fetus üzerinde teratojenik etki göstermektedir. Ancak bunların dudak damak yarığı oluşumuna olan etkisi tartışmalıdır. Annenin gebelikte sigara ve alkol kullanımının dudak damak yarığı oluşumuna doz bağımlı olarak etkisi olduğunu söyleyen araştırmacılar mevcuttur (Zhang ve ark 2011). Vyas ve ark (2020), annenin sigara tüketimin genetik olarak yatkın bir durum varlığında dudak damak yarığına etkisi olabileceğini, alkol kullanımının ise yarık görülme riskini arttırdığını bildirmişlerdir. Fell ve ark (2022), annenin gebelikte sigara içmesi ile orofasiyal yarık oluşumu arasında orta düzeyde bir ilişki olduğunu rapor etmişlerdir. Raut ve ark (2008), gebelikten önceki ay ve gebelikten sonraki ilk aydaki maternal sigara kullanımının dudak damak yarığı için risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir. Sato ve ark (2021), maternal sigara kullanımının dudak damak yarığı için yüksek risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir. Chevrier ve ark

(2008), dudak damak yarığı ile annenin sigara kullanımı arasında bir ilişki olmadığını rapor etmişlerdir. Sakran ve ark (2022) annenin alkol-sigara tüketimi, babanın alkol tüketimi ile dudak damak yarığı arasında bir ilişki olmadığını ancak sigara içen babaların çocuklarında dudak damak yarığı görülme riskinin içmeyen babalara göre daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Krapels ve ark (2006) paternal sigara kullanımının dudak damak yarığı için risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda; hasta ve kontrol grupları arasında ebeveynlerin alkol-sigara kullanımının dudak damak yarığı oluşumu için bir risk faktörü olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Krapels ve ark (2006), sosyoekonomik düzeydeki düşüklük ile dudak damak yarığı riski arasında pozitif ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Clark ve ark (2003), İskoçya popülasyonu üzerinde yaptıkları çalışmada düşük sosyoekonomik düzeyin orofasiyal yarık oluşumu için risk faktörü olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer şekilde düşük sosyoekonomik düzeyin orofasiyal yarık için risk faktörü olduğunu bildiren farklı araştırmacılar da mevcuttur (Xu ve ark 2018). Çalışmamızın bulguları dahilinde sosyoekonomik seviyedeki düşüklüğe bakılarak ebeveynlerin eğitim seviyeleri hakkında fikir yürütülebileceği, sosyoekonomik düzeydeki ve eğitim seviyesindeki düşüklük plansız gebeliklere, gebeliğin geç fark edilmesi ile teratojen maruziyetine, annenin gebeliğinde yeterli beslenmeyi sağlayamamasına, gebeliğin doktor kontrolünde geçirilememesine dolayısıyla multivitamin takviyesinin yapılamamasına neden olabileceğini düşünmekteyiz. Hayvan deneylerinde folik asit, vitamin A, riboflavin, çinko eksikliğinin dudak damak yarığı oluşumuna neden olduğu görülmüştür. Gebelik dönemindeki folik asit takviyesi dudak damak yarığının oluşumu için koruyucu bir faktördür (Mitchell ve ark 2003, Badovinac ve ark 2007, Wilcox ve ark 2007, Hyoun ve ark 2012, Sakran ve ark 2022). Natsume ve ark (1995), karotenden zengin besinler tüketen annelerin çocuklarında dudak damak yarığının oluşma riskinin azaldığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde vitamin B6 ve vitamin B12'den zengin içerikli besinler ile beslenme de dudak damak yarığı için koruyucu bir faktördür (Krapels ve ark 2004). Dudak damak yarığına sahip çocukların annelerinde homosistein konsantrasyonlarında artış bildirilmiştir (Van Rooji ve ark 2003). Hayvan deneylerinde yarık oluşumunu azalttığı gözlenen vitamin B6, homosistein mekanizmasında kofaktör olarak rol oynamakta ve dudak damak yarığı için koruyucu faktör olduğu düşünülmektedir (Miller 1972, Munger ve ark 2004). Çinko fetüsün

gelişiminde oldukça önemli olup, hayvan deneylerinde çinko eksikliğinin izole yarık damak oluşumuna neden olduğu görülmüştür (Warkany 1972). Dudak damak yarığına sahip annelerin eritrositlerindeki çinko yoğunluğunun diğer annelere göre düşük olduğu bildirilmiştir (Krapels ve ark 2004). Bir meta-analiz çalışmasında gebelik esnasındaki multivitamin kullanımının orofasiyal yarık prevelansında %25’lik bir azalma sağladığı rapor edilmiştir (Johnson ve Little 2008). Çalışmamızda ebeveynlerin eğitim düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ancak meslek dağılımlarından yola çıkarak hasta grubundaki ebeveynlerin daha düşük sosyoekonomik düzeye sahip olduğu anlaşılmakta olup, bu durum kontrol grubundaki annelerin anlamlı olarak daha yüksek oranda gebeliklerini doktor kontrolünde geçirip, multivitamin takviyesi aldığı fikrini doğrulamaktadır.

Gebelikteki psikolojik travma maruziyeti sonucu annede oluşan gerginlik, üzüntü gibi olumsuz duygular ile vücutta artan stres metabolizmayı ve hücrelerin çoğaldığı ortamı etkilemektedir. Stres seviyesinin uzun süreli yüksek olması sonucu gelişimde aksamalar ve hücre nekrozu meydana gelmektedir. Fetal doku ve organların gelişimi kan akımından etkilenmekte olup, stres sonucu vücutta artan kortikosteroid düzeyi fetüse olan kan akımını değiştirmekte ve bundan dolayı annenin stres düzeyinin yüksek olması doğumsal defektlere neden olabilmektedir (Carmichael ve ark 2007, Lesage 2004). Poradowska ve Jaworska (1963), yarık bulunan çocukların annelerinin gebelik dönemlerindeki stres düzeylerini sorguladıklarında bu annelerin depresif olduğunu ve kaygı durumlarında ciddi derecede artış olduğunu tespit etmişler, bu durumun yarık oluşumunda bir risk faktörü olabileceğini bildirmişlerdir. Irakta yarık insidansı 2003-2005 döneminde 1996-1998 dönemine kıyasla iki katına çıkmıştır. Fathallah (2007), insidanda kısa süre içerisinde oluşan bu dramatik artışa annelerdeki yoğun ve uzun süreli stres, beslenme yetersizlikleri, çevresel toksinlerin etkisinin sebep olabileceğini rapor etmiştir. Wallace ve ark (2011) Avustralyada yaptıkları anket sonucuna göre gebe kalma sırasında ve hemen sonrasındaki yoğun stresin yarık oluşumunda etkili olabileceğini söylemişlerdir. Oi ve ark (2013), ilk trimesterde annenin psikolojik travmaya maruz kalmasını dudak damak yarığı oluşumu ile ilişkilendirmişlerdir. Xu ve ark (2018), gebeliğin erken dönemlerinde annenin maruz kaldığı psikolojik travmaya bağlı kortikostereoid salınımının artması ile bebekte dudak damak yarığı oluşma riskinin arttığını bildirmişlerdir. Mahapure ve Powar (2022) gebelikte artmış stres düzeyi ile yarık arasında bir ilişki bulamamışlardır. Çalışmamız

sonucunda annenin gebelik döneminde psikolojik travma maruziyeti ile dudak damak yarığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

Ebeveynler arası akrabalık ilişkisinin ve ailede yarık hikayesinin olması ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcut olup, akraba evliliklerinin dudak damak yarığı için bir risk faktörü olduğunu bildiren araştırmalar mevcuttur (Shafi ve ark 2003, Jamilian ve ark 2017). Figueiredo ve ark (2015), ailesel yarık hikayesi varlığında sonraki nesillerde yarık görülme olasılığının arttığını bildirmişlerdir. Etkilenen bireylerin birinci derece yakınlarında dudak damak yarığı görülme riski normal bireylere göre yaklaşık 40 kat artmaktadır (Lidral ve ark 2008). Xu ve ark (2018) dudak damak yarığı görülme prevalansının aile hikayesi olanlarda olmayanlara göre 4,8 kat daha fazla olduğunu bu nedenle pozitif aile hikayesinin dudak damak yarığı için yüksek risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir. Sakran ve ark (2022) akrabalık ilişkisi ve pozitif aile hikayesi varlığının dudak damak yarığı için risk faktörü olduğunu rapor etmişlerdir. Bu sonuçlara benzer şekilde çalışmamızda da pozitif aile hikayesi hasta grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ancak ebeveynler arası akrabalık ilişkisi açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dudak damak yarığı etiyolojisinde genetik ve çevresel etkiyi değerlendirmek için yaptığımız çalışmamızın sonuçları şu şekildedir;

Genetik etkiye ait bulgulara göre; incelediğimiz genetik alan çerçevesinde popülasyonumuzda VAX1 geninin rs387907252, rs1554942640 ve rs1554942980 varyantlarının yarık dudak damak ile ilişkisi olmadığı sonucuna varılmıştır. Çalışmamızın sıfır hipotezi kabul edilmiştir.

Çevresel etkiye ait bulgulara göre; gebeliğin ilk trimesterinde annenin psikolojik travmaya maruz kalması ve ailede dudak damak yarığı hikayesinin varlığı dudak damak yarığı için risk faktörü olduğu, ayrıca gebeliğin uzman doktor kontrolünde geçirilmesi ve doktor takibi ile multivitamin kullanımı dudak damak yarığına karşı koruyucu bir faktör olduğu sonucuna varılmıştır.

Ailede dudak damak yarığı hikayesinin varlığının dudak damak yarığı için risk faktörü olması da dudak damak yarığı etiyolojinde genetik etkinin olduğunu göstermektedir.

Ayrıca sosyoekonomik düzey düşüklüğüne bakılarak ebeveynlerin eğitim seviyeleri hakkında fikir yürütülebileceği, sosyoekonomik düzeydeki ve eğitim seviyesindeki düşüklüğün plansız gebeliklere, gebeliğin geç fark edilmesi ile teratojen maruziyetine, annenin gebeliğinde yeterli beslenmeyi sağlayamamasına, gebeliğin doktor kontrolünde geçirilememesine dolayısıyla multivitamin takviyesinin yapılamamasına neden olabileceğini ve tüm bunların dudak damak yarığı oluşumu için risk faktörü oluşturabileceği sonucuna varılmıştır.

Dudak damak yarığı ile dünyaya gelen bireyleri ve ebeveynlerini uzun yıllar sürecek olan maddi-manevi zorlu bir tedavi süreci beklemektedir. Dudak damak yarığının etiyolojisinin ve patogenezinin aydınlatılması sonucunda bu hastalığın oluşmasını engelleyecek önlemlerin alınabilmesinin hem bireysel hem de toplumsal alanda çok büyük fayda sağlayacağı düşünülmektedir. Dudak damak yarıklarının etiyolojisinin ve patogenezinin anlaşılabilmesi için, farklı popülasyonlarda yürütülen farklı genlerin ve çevresel faktörlerin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç halen devam etmektedir. Sendromik olmayan dudak damak yarığı genetiği ile ilgili daha büyük bütçeli ileriki çalışmalarda; VAX1 geninin tüm gen dizi analizi yöntemiyle

incelenmesi, sendromik olmayan dudak damak yarık patogeneğinde etkili olan diğerk genlerin araştırmaya eklenmesi, örneklem sayısının arttırılması ve çalışma grubunun anne-baba-çocuk üçlüsünden oluşturulması planlanabileceğini düşünmekteyiz.



6. KAYNAKLAR

- Acs N, Bánhidly F, Puhó E, Czeizel AE. Maternal influenza during pregnancy and risk of congenital abnormalities in offspring. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*, 2005;73(12):989-96.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K. *Molecular Biology of the Cell*. 5th ed. New York: Garland Science; 2002.
- Allori, Alexander C, et al. "Classification of cleft lip/palate: then and now." *The Cleft Palate-Craniofacial Journal*, 2017;54(2):175-88.
- Altuğ AT, Şenol A, Dudak Damak Yarıkları ve Genetik, Güncel Bilgiler Işığında Ortodonti, Ed: Özdiler E, 1. Baskı, Ankara: Gümüş Kitapevi, 2015;270
- Altuğ AT, Şenol A, Dudak Damak Yarıkları ve Genetik, Güncel Bilgiler Işığında Ortodonti, Ed: Özdiler E, 1. Baskı, Ankara: Gümüş Kitapevi, 2015;272
- Aquino NS, Paranaíba LMR, Martelli DNB, Swerts MSO, Barros LM. Study of patients with cleft lip and palate with consanguineous parents. *Braz J Otorhinolaryngol* 2011;77:19-23.
- Arda M. *Biyoteknoloji (Bazı Temel İlkeler)*, Kükem Derneği Bilimsel Yayınları, Ankara, 1995.
- Artuso R, Fallerini C, Dosa L, Scionti F, Clementi M, et al, "Advances in Alport syndrome diagnosis using next-generation sequencing", *Eur. J. Hum. Genet*, 2012; 20:50-7.
- Badovinac RL, Werler MM, Williams PL, Kelsey KT, Hayes C. Folic acid-containing supplement consumption during pregnancy and risk for oral clefts: a meta-analysis. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2007;79(1):8-15.
- Başoğlu F, Onal AE. Çevresel etkenlerin genler üzerine etkisi ve genetik analiz yöntemleri. *İst Tıp Fak Derg*. 2009;72:108-11.
- Baydar H. *Genetik*. Isparta; SDÜ Basımevi: 2002. p. 29,148.
- Bender PL. Genetics of cleft lip and palate. *J Pediatr Nurs* 2000;15(4):242-9
- Berg E, Lie RT, Sivertsen Å, Haaland ØA. Parental age and the risk of isolated cleft lip: a registry-based study. *Annals of epidemiology*, 2015;25(12):942-7.
- Bernheim N, Georges M, Malevez C, De Mey A, Mansbach A. Embryology and epidemiology of cleft lip and palate. *B-ENT*. 2006;2(14):11-9.
- Blakemore AI, Froguel P. Is obesity our genetic legacy? *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(11):51-6.

Blanton SH, Burt A, Stal S, Mulliken JB, Garcia E. Family-based study shows heterogeneity of a susceptibility locus on chromosome 8q24 for nonsyndromic cleft lip and palate. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2010;88:256-9.

Bodmer W, Bonilla C. Common and rare variants in multifactorial susceptibility to common diseases. *Nat Genet* 2008;40(6):695-70

Boyles AL, DeRoo LA, Lie RT, Taylor JA, Jugessur A, Murray JC, Wilcox AJ. Maternal alcohol consumption, alcohol metabolism genes, and the risk of oral clefts: a population-based case-control study in Norway, 1996–2001. *American journal of epidemiology*, 2010;172(8):924-31.

Boynuydoğan ve Özgür. Sınıflandırma, Damak ve Dudak Yarıkları Hacettepe Ekip Yaklaşımı, Ed: Özgür FF, 1. Baskı, Ankara: Hekim Tıp Kitapevi ve Yayıncılık, 2020:s.71

Bozkaya ÖG. Klinisyenler için mutasyon ve polimorfizm. *Türkiye Klinikleri J Pediatr*, 2009;18(2):147-53.

Braybrook C, Doudney K, Marcano ACB, Arnason A, Bjornsson A, Patton MA, Goodfellow PJ, Moore GE, Stanier P. The T-box transcription factor gene TBX22 is mutated in X-linked cleft palate and ankyloglossia. *Nature Genet.* 2001;29:179-83

Burdick AB. Genetic epidemiology and control of genetic expression in van der Woude syndrome. *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology. Supplement*, 1986;2:99-105.

Bush JO, Lan Y, Maltby KM, Jiang R. Isolation and developmental expression analysis of Tbx22, the mouse homolog of the human X-linked cleft palate gene. *Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 2002;225(3):322-6.

Butali A, Mossey P, Adeyemo W, Eshete M, Gaines L, Braimah R, Murray J. Rare functional variants in genome-wide association identified candidate genes for nonsyndromic clefts in the African population. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 2014;164(10):2567-71.

Butali A, Suzuki S, Cooper ME, Mansilla AM, Cuenco K, Leslie EJ, Murray JC. Replication of Genome Wide Association Identified Candidate Genes Confirm the Role of Common and Rare Variants in PAX 7 and VAX 1 in the Etiology of Nonsyndromic CL (P). *American Journal of Medical Genetics Part A*, 2013;161(5): 965-72.

Carmichael SL, Shaw GM, Yang W, Abrams B, Lammer EJ. Maternal stressful life events and risks of birth defects. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 2007;18(3):356.

Carstens MH. Pathologic anatomy of the soft palate, part 1: Embryology, the hard tissue platform, and evolution. *Journal of Cleft Lip Palate and Craniofacial Anomalies*, 2017;4(1):37.

- Celli J, Duijf P, Hamel BC, Bamshad M, Kramer B, Smits AP, Van Bokhoven H. Heterozygous germline mutations in the p53 homolog p63 are the cause of EEC syndrome. *Cell*, 1999;99(2):143-53.
- Chaabouni M, Smaoui N, Benneji N, M'rad R, Jemaa LB, Hachicha S, Chaabouni H. Mutation analysis of TBX22 reveals new mutation in Tunisian CPX family. *Clinical Dysmorphology*, 2005;14(1):23-5.
- Chadwick BP, Obermayr F, Frischauf AM. FKHL15, a new human member of the forkhead gene family located on chromosome 9q22. *Genomics* 1997;41:390-6.
- Chambers MS. Sjögren's syndrome. *ORL Head Neck Nurs* 2004;22:22-30.
- Chetpakdeechit W, Mohlin B, Persson C, Hagberg C. Cleft extension and risks of other birth defects in children with isolated cleft palate. *Acta Odontol Scand*. 2010;68(2):86-90.
- Chevrier C, Perret C, Bahuaui M, Zhu H, Nelva A, Herman C, Cordier S. Fetal and maternal MTHFR C677T genotype, maternal folate intake and the risk of nonsyndromic oral clefts. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 2007;143(3): 248-57.
- Chevrier C, Bahuaui M, Perret C, Iovannisci DM, Nelva A, Herman C, Cordier S. Genetic susceptibilities in the association between maternal exposure to tobacco smoke and the risk of nonsyndromic oral cleft. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 2008;146(18):2396-406.
- Chidgeavdze Z, Beabealashvili RS, "2', 3'-Dideoxy-3'aminonucleoside 5'-triphosphates are the terminators of DNA synthesis catalyzed by DNA polymerases", *Nucleic Acids Res*. 1984;12:1671-86.
- Christensen K, Olsen J, Norgaard-Pedersen B, Basso O, Stovring H. Oral clefts, transforming growth factor alpha gene variants and maternal smoking: a population based case control study in Denmark 1991-1994. *Am J Epidemiol* 1999;149:248-55.
- Chung KC, Kowalski CP, Kim HM. Maternal cigarette smoking during pregnancy and the risk of having a child with cleft lip/palate. *Plast Reconstr Surg Cold spring harbor laboratory Press New York*, 2000;105(2):485-91
- Clark JD, Mossey PA, Sharp L, Little J. Socioeconomic status and orofacial clefts in Scotland, 1989 to 1998. *The Cleft palate-craniofacial journal*, 2003;40(5):481-5.
- Cobourne MT. The complex genetics of cleft lip and palate. *European Journal of Orthodontics*. 2004;26(1):7-16.
- Cocco JF, Antonetti JW, Burns JL, Hegggers JP, Blackwell SJ. Characterization of the nasal, sublingual, and oropharyngeal mucosa microbiota in cleft lip and palate individuals before and after surgical repair. *Cleft Palate Craniofac J*. 2010;47(2), 151-5.

Cooper GM, Hausman RE. Sakızlı M, Atabey N, Editör. Hücre Moleküler Yaklaşım. 3.baskı. İzmir: İzmir Tıp Kitapevi;2006.

Cruz RM, Krieger H, Ferreira R, Mah J, Hartsfield J, Jr. Oliveira S. Major gene and multifactorial inheritance of mandibular prognathism. American journal of medical genetics Part A. 2008;146A(1):71-7.

Dahlberg AE. The functional role of ribosomal RNA in protein synthesis. Cell. 1989;57(4):525-9.

Dai J, Xu C, Wang G, Liang Y, Wan T, Zhang Y, Yang Y. Novel TBX22 mutations in Chinese nonsyndromic cleft lip/palate families. Journal of genetics, 2018;97:411-7.

Davis, John Staige, and Harry P. Ritchie. "Classification of congenital clefts of the lip and palate: with a suggestion for recording these cases." Journal of the American Medical Association 1922;79(16):1323-7.

De Aquino SN, Messetti AC, Bagordakis E, Martelli-Júnior H, Swerts MSO, Graner E, Coletta RD. Polymorphisms in FGF12, VCL, CX43 and VAX1 in Brazilian patients with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. BMC medical genetics, 2013;14(1):1-9.

De Lima RL, Hoper SA, Ghassibe M, Cooper ME, Rorick NK, Kondo S, Schutte BC. Prevalence and nonrandom distribution of exonic mutations in interferon regulatory factor 6 in 307 families with Van der Woude syndrome and 37 families with popliteal pterygium syndrome. Genetics in medicine, 2009;11(4):241-7.

Diaz-Arnold AM, Marek CA, The impact of saliva on patient care: A literature review, J. Prosthet. Dent. 2002;88:337-43.

Dixon MJ, Garner J, Ferguson MWJ. Immunolocalisation of epidermal growth factor (EGF), EGF receptor and transforming growth factor alpha (TGFA) during murine palatogenesis in vitro and in vivo. Anat and Embryol 1991;184:83-91.

Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC. Cleft lip and palate: Understanding genetic and environmental influences. Nat Rev Genet 2011; 12: 167-78.

Dodé C, Levilliers J, Dupont JM, De Paepe A, Le Dû N, Soussi-Yanicostas N, Hardelin JP. Loss-of-function mutations in FGFR1 cause autosomal dominant Kallmann syndrome. Nature genetics, 2003;33(4), 463-65.

Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions, Br. Dent. J. 1992;72:305-12.

Elsahy NI. The modified striped Y-A systematic classification for cleft lip and palate. The Cleft palate journal, 1973;10(3):247-50.

Farnaud SJ, Kosti O, Getting SJ, Renshaw D. Saliva: physiology and diagnostics potential in health and disease. *Scientific World Journal*, 2010;10:434-56.

Fathallah ZF. Effects of socioeconomic factors on the incidence and pattern of oro-facial cleft. *Basrah J Surg*, 2007;3:13-21.

Fell M, Dack K, Chummun S, Sandy J, Wren Y, Lewis S. Maternal cigarette smoking and cleft lip and palate: A systematic review and meta-analysis. *The Cleft Palate-Craniofacial Journal*, 2022;59(9):1185-200.

Field LL, Ray AK, Marazita ML. Transforming growth factor alpha: a modifying locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Eur J Hum Genet*, 1994;2:159-65.

Figueiredo JC, Ly S, Magee KS, Ihenacho U, Baurley JW, Sanchez-Lara PA, et al. Parental risk factors for oral clefts among Central Africans, Southeast Asians, and Central Americans. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2015; 103: 863-79

Fogh AP. Epidemiology and etiology of clefts. *Birth Defects Orig Artic Ser*. 1971; 7(7):50

Fox PC. Differentiation of dry mouth etiology. *Adv Dent Res* 1996;10:13-6.

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

Geoghegan F, Xavier GM, Birjandi AA, Seppala M, Cobourne MT. Vax1 plays an indirect role in the etiology of murine cleft palate. *Journal of Dental Research*, 2017;96(13):1555-62.

Giray BÖ. Klinisyenler İçin Mutasyon ve Polimorfizm. *Türkiye Klinikleri J Pediatr*. 2009;18(2):47-53.

González BS, López ML, Rico MA, Garduño F. Oral clefts: a retrospective study of prevalence and predisposal factors in the State of Mexico. *Journal of oral science*, 2008;50(2):123-9.

Gorlin RJ, Cohen MM, Hennekam RCM. *Syndromes of the Head and Neck*. 4th ed. New York: Oxford University press; 2001.

Gundlach KK, Maus C. Epidemiological studies on the frequency of clefts in Europe and world-wide. *J Craniomaxillofac Surg* 2006; 34 Suppl 2: 1-2.

Gurramkonda VB, Hussain SA, Murthy J, Lakkakula BV. Two promoter polymorphisms in TBX22 are associated with the risk of NSCLP in Indian women. *Clinical Dysmorphology*, 2015;24(4):140-3.

Gutowski, Karol A. "Book Review: Grabb and Smith's Plastic Surgery." 2014;13-4.

Gürsoy N. Ortodontinin biyolojik temelleri. Yenilik Basımevi, İstanbul, 1972.

Hallonet M, Hollemann T, Pieler T, Gruss P. Vax1, a novel homeobox-containing gene, directs development of the basal forebrain and visual system. *Genes Dev.* 1999;13:3106-14.

Hartl DL, Jones EW. Human karyotypes and chromosome behavior. *Essential genetics a genomics perspective*, 3rd ed. London: Jones and Bartlett Publishers, 2002;167-207.

Hartl DL, Jones EW. Mechanisms of mutation and DNA repair. *Essential genetics a genomics perspective*, 3rd ed. London: Jones and Bartlett Publishers, 2002;249-85.

Hecht JT, Wang YP, Blanton SH, Michels V, Daiger SP. Cleft lip and palate: no evidence of linkage to transforming growth factor alpha. *Am J Hum Genet* 1991;49:682-6.

Hermann NV, Darvann TA, Munch A, Kreiborg S. Parental age in relation to the severity of cleft lip and/or palate. *Orthodontics & craniofacial research*, 2018;21(4):236-41.

Humphrey SP, Williamson RT, A review of saliva: Normal composition, flow, and function, *J. Prosthet. Dent*, 2001;85:162-9.

Hyoun SC, Obiçan SG, Scialli AR. Teratogen update: Methotrexate. *Birth Defects Res Part A - Clin Mol Teratol* 2012; 94: 187-207.

<https://teachmeanatomy.info/the-basics/embryology/head-neck/face-palate/>

<https://tr.weblogographic.com/difference-between-mutation>

<https://www.biyologunsesi.com/mutasyonlar/>

https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=FOXE1&keywords=FOXE1#genomic_location

https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IRF6&keywords=IRF6#genomic_location

https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MSX1#genomic_location

https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TBX22&keywords=TBX22#genomic_location

https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TGFA&keywords=TFG#genomic_location

https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=VAX1&keywords=VAX1#genomic_location

<https://www.prepladder.com/neet-pg-study-material/anatomy/pharyngeal-arches-neet-pg-anatomy>

https://www.researchgate.net/figure/Kernahans-classification-The-area-affected-by-the-cleft-is-labeled-from-1-9-each-of_fig1_320043045

Ingram CJ, Elamin MF, Mulcare CA, Weale ME, Tarekegn A, Raga TO, et al. A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: multiple causes for lactase persistence? *Hum Genet* 2007;120(6):779-88

Jamilian A, Nayeri F, Babayan A. Incidence of cleft lip and palate in Tehran. *J Indian Soc Pedod Prevent Dent* 2007;174-6.

Jamilian A, Sarkarat F, Jafari M, Neshandar M, Amini E, Khosravi S, et al. Family history and risk factors for cleft lip and palate patients and their associated anomalies. *Stomatologija* 2017; 19: 78-83.

Jezewski PA, Vieira AR, Nishimura C, Ludwig B, Johnson M, O'brien SE, Murray JC. Complete sequencing shows a role for MSX1 in non-syndromic cleft lip and palate. *Journal of medical genetics*, 2003;40(6):399-407.

Jiang RS, Zhao X, Liu R. Non-syndromic cleft palate: analysis of TBX22 exon 5 gene mutation. *Archives of Medical Science*, 2012;8(3):406-10.

Johnson CY, Little J. Folate intake, markers of folate status and oral clefts: is the evidence converging?. *International journal of epidemiology*, 2008;37(5):1041-58.

Jugessur A, Shi M, Gjessing HK, Lie RT, Wilcox AJ, Weinberg CR, Christensen K, Boyles AL, Trung TN, Bille C, Lidral AC, Murray JF. Genetic determinants of facial clefting: Analysis of 357 candidate genes using two national cleft studies from Scandinavia. *Plos One Genetics*. 2009;4(4):53-8.

Jumlongras D, Bei M, Stimson JM, Wang WF, DePalma SR, Seidman CE, Olsen BR. A nonsense mutation in MSX1 causes Witkop syndrome. *The American Journal of Human Genetics*, 2001;69(1):67-74.

Kantaputra PN, Paramee M, Kaewkhampa A, Hoshino A, Lees M, McEntagart M, Stanier P. Cleft lip with cleft palate, ankyloglossia, and hypodontia are associated with TBX22 mutations. *Journal of dental research*, 2011;90(4):450-5.

Kaya S, Tükürük bezi hastalıkları, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 1997.

Kayser M, Kittler R, Erler A, Hedman M, Lee AC, Mohyuddin A, et al. A Comprehensive Survey of Human Y-Chromosomal Microsatellites. *Am J Hum Genet* 2004;74(6):1183-9

Kernahan DA, Stark RB. A new classification for cleft lip and cleft palate. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1958;22(5):435-41.

Kernahan DA. The striped Y-a symbolic classification for cleft lip and palate. *Plastic and reconstructive surgery*, 1971;47(5):469-70.

Kerrigan JJ, Mansell JP, Sengupta A, Brown N, Sandy JR. Palatogenesis and potential mechanisms for clefting. *Journal of the Royal College of Surgeons of Edinburgh*, 2000;45(6):351-8.

Kızılmaz MZ, Paylan İC, Erkan S. DNA Dizilemenin Tarihsel Gelişimi. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 2017;6(2):47-53.

Kim NY, Kim YH, Park JW, Baek SH. Association between MSX1 SNPs and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in the Korean population. *J Korean Med Sci* 2013;Apr;28:522-6.

Kimonis VE, Goldstein AM, Pastakia B, Yang ML, Kase R, Di Giovanna JJ, Bale SJ. Clinical manifestations in 105 persons with nevoid basal cell carcinoma syndrome. *American journal of medical genetics*, 1997;69(3):299-308.

Klug WS, Cummings MR, Spencer CA. *Concepts of Genetics*. 8th Edition. Perason Education Inc. 2006

Klug WS, Cummings MR. Öner C, Editör. *Genetik Kavramlar*. 2.Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2003.

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

Kondo S, Schutte BC, Richardson RJ, Bjork BC, Knight AS, Watanabe Y, Murray JC. Mutations in IRF6 cause Van der Woude and popliteal pterygium syndromes. *Nature genetics*, 2002;32(2):285-9.

Kortunay S. The pharmacogenetics of central nervous system dtugs, *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*, 2005;1(44):76-80

Krapels IP, van Rooij IA, Ocké MC, van Cleef BA, Kuijpers-Jagt man AM, Steegers-The unis sen RP. Maternal dietary B vitamin intake, other than folate, and the association with orofacial cleft in the offspring. *Eur J Nutr* 2004;43(1):7-14.

Krapels IP, Van Rooij IA, Ocke MC, West CE, Van der Horst CM, Steegers-Theunissen RP. Maternal nutritional status and the risk for orofacial cleft offspring in humans. *The Journal of nutrition*, 2014;134(11):3106-13.

Krapels IPC, Zielhuis GA, Vroom F, et al. Periconceptional health and lifestyle factors of both parents affect the risk of live-born children with orofacial clefts. *Birth Defacts Res A Clin Mol Teratol* 2006; 76(8):613–620.

Kryukov GV, Pennacchio LA, Sunyaev SR Most Rare Missense Alleles Are Deleterious in Humans: Implications for Complex Disease and Association Studies. *Am J Hum Genet* 2007;80(4):727-39

Kuru M, Gözükar SE. *Genetik*. Ankara: Palme Yayıncılık, 2001;24-58.

Lammer EJ, Shaw GM, Iovannisci DM, Finnell RH. Maternal smoking, genetic variation of glutathione s-transferases, and risk for orofacial clefts. *Epidemiology* 2005;16:698-701.

Lee YH, Wong DT. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. *Am J Dent*, 2009;22(4):241-8.

Lees M. Familial risks of oral clefts. *The British Medical Journal*. 2008;336-9.

Lesage J, Del-Favero F, Leonhardt M, Louvart H, Maccari S, Vieau D, Darnaudey M. Prenatal stress induces intrauterine growth restriction and programmes glucose intolerance and feeding behaviour disturbances in the aged rat. *Journal of Endocrinology*, 2004;181(2):291-6.

Lewontin RC. The Genotype and Phenotype distinction. *International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences: 2nd Edition*, 2015.

Li D, Liu T, Meng X, Guo Q, Shi J, Hao Y, Song T. Polymorphic variants in VAX1 and the risk of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in a population from northern China. *Medicine*, 2017;96(14).

Lidral AC, Moreno LM, Bullard SA. Genetic factors and orofacial clefting. *Semin Orthod* 2008;14:103-14.

Lidral AC, Reising BC. The role of MSX1 in human tooth agenesis. *Journal of dental research*, 2002;81(4):274-8.

Lieff S, Olshan AF, Werler M. Maternal cigarette smoking during pregnancy and risk of oral clefts in newborns. *Am J Epidemiol*, 1999;150(7):683-94.

Litonjua AA, Celedón JC. Genetics: Gene Association Studies. *Encyclopedia of Respiratory Medicine*. 2006;240-7.

Little J, Cardy A, Munger RG. Tobacco smoking and oral clefts: a meta-analysis. *Bulletin of the World Health Organization*, 2004;82(3):213-8.

Little HJ, Rorick NK, Su LI, Baldock C, Malhotra S, Jowitt T, Shore P. Missense mutations that cause Van der Woude syndrome and popliteal pterygium syndrome affect the DNA-binding and transcriptional activation functions of IRF6. *Human molecular genetics*, 2009;18(3):535-45.

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

Losee, Joseph and Richard Kirschner. *Comprehensive Cleft Care: Volume Two*. Thieme Medical Publishers, Incorporated, 2015.

Lu Y, Liu Q, Xu W, Li Z, Jiang M, Li X, Li J. TGFA and IRF6 contribute to the risk of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in northeast China. *PLoS One*, 2013;8(8):e70754.

Luetteke NC, Qiu TH, Peiffer RL, Oliver P, Smithies O. TGF alpha deficiency results in hair follicle and eye abnormalities in targeted and waved-1 mice. *Cell*, 1993;73:263-78.

Lüleci G, Sakızlı M, Alper Ö. Renkli Genetik Atlası, İstanbul; Nobel Tıp Kitabevi, 2000;46:126-56.

Maarse W, Rozendaal AM, Pajkrt E, Vermeij-Keers C, Van der Molen ABM, Van den Boogaard MJH. A systematic review of associated structural and chromosomal defects in oral clefts: when is prenatal genetic analysis indicated? *Journal of medical genetics*, 2012;49(8):490-8.

Machado RA, de Oliveira Silva C, Martelli-Junior H, das Neves LT, Coletta RD. Machine learning in prediction of genetic risk of nonsyndromic oral clefts in the Brazilian population. *Clinical Oral Investigations*, 2021;25:1273-80.

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

Magreni A, May JG. Embryology of the oral structures. *Operative Techniques in Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 2015;26(3):110-4.

Mahapure KS, Powar RS. Could maternal stress be a causal factor for nonsyndromic cleft lip and/or palate: A retrospective study. *National Journal of Maxillofacial Surgery*, 2022;13(1):36.

Mahdieh N, Rabbani B. An overview of mutation detection methods in genetic disorders. *Iran J Pediatr* 2013;23(4):375-88.

Malamud D. Saliva as a Diagnostic Fluid. *Dental Clinics of North America*. 2011;55(1):159-78.

Malik S, Wilcox ER, Naz S. Novel lip pit phenotypes and mutations of IRF6 in Van der Woude syndrome patients from Pakistan. *Clinical Genetics*, 2014;85(5):487-91.

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

Mangold E, Ludwig KU, Birnbaum S, Baluardo C, Ferrian M, Herms S, Nöthen MM. Genome-wide association study identifies two susceptibility loci for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Nature genetics*, 2010;42(1):24-6.

Matsuzawa N, Yoshiura KI, Machida J, Nakamura T, Niimi T, Furukawa H, Niikawa N. Two missense mutations in the IRF6 gene in two Japanese families with Van der Woude syndrome. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 2004;98(4):414-17.

Maxam AM, Gilbert W. "A new method for sequencing DNA", *Proc Natl Acad Sci USA*, 1977;74:560-4.

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

Mercadante S, Calderone L, Villari P, Serretta R, Sapio M, Casuccio A, et al. The use of pilocarpine in opioid-induced xerostomia. *Palliat Med*, 2000;14:529-31.

Mijiti A, Ling W, Moming A. Association of single-nucleotide polymorphisms in the IRF6 gene with non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in the Xinjiang Uyghur population. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2015;53(3): 268-74.

Millard Jr DR. *Clefts of the Alveolus, Hard and Soft Palates*. Boston, MA: Little, Brown&Co, 1979.

Miller CS, Foley JD, Bailey AL, Campbell CL, Humphries RL, Christodoulides N, Floriano PN, Simmons G, Bhagwandin B, Jacobson JW, Redding SW, Ebersole JL, McDevitt JT. Current developments in salivary diagnostics. *Biomark Med*, 2010;4(1):171-89.

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

Mitchell LE. Transforming growth factor alpha locus and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: a reappraisal. *Genet Epidemiol* 1997;14:231-40.

Moreno LM, Mansilla MA, Bullard SA, Cooper ME, Busch TD, Machida J, Lidral AC. FOXE1 association with both isolated cleft lip with or without cleft palate, and isolated cleft palate. *Human molecular genetics*, 2009;18(24):4879-96.

Mossey PA, Little J, Munger RG, Dixon MJ, Shaw WC. Cleft lip and palate. *The Lancet*, 2009;374(9703):1773-85.

Mossey PA, Modell B. Epidemiology of oral clefts 2012: an international perspective. *Cleft lip and palate*, 2012;16:1-18.

Munger R, Sauberlich H, Murray J, Layda E, Villaneuva E. Abnormal folate and vitamin E levels in Filipino mothers of children with orofacial clefts. *Am J Epidemiol* 1996;143:2.

Murray JC, Nishimura DY, Buetow KH, Ardinger HH, Spence MA, Sparkes RS, Schinzel A. Linkage of an autosomal dominant clefting syndrome (Van der Woude) to loci on chromosome 1q. *American journal of human genetics*, 1990;46(3):486.

Murray JC. Face facts: genes, environment, and clefts. *Am J Hum Genet*. 1995;57:227-32.

Murray JC. Gene/environment causes of cleft lip and/or palate. *Clin Genet*. 2002;61:248-56.

Myers N, Ferris R. *Salivary Gland Disorders*. 1st edn. New York: Springer; 2007.

Natsume N, Kawai T, Kohama G, Teshima T, Kochi S, Ohashi Y, Sunakawa H. Incidence of cleft lip or palate in 303738 Japanese babies born between 1994 and 1995. *British Journal of oral and maxillofacial surgery*, 2000;38(6):605-7.

Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Boerkoel CF. *Principles of clinical cytogenetics*. Thompson Thompson *Genetics in medicine*. 6th ed. London: WB Saunders Company, 2001;135-5.

Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Tunçbilek E, Editör. *Thompson&Thompson Tıbbi Genetik*. 6. Baskı. Güneş Kitabevi, 2005.

Ogur G, Yuksel M. Association of syndactyly, ectodermal dysplasia, and cleft lip and palate: report of two sibs from Turkey. *J. Med. Genet*. 1998;25:37-40.

Ohsaki K, Morimitsu T, Ishida Y, Kominami R, Takahashi N. Expression of the Vax family homeobox genes suggests multiple roles in eye development. *Genes to Cells*, 1999;4(5):267-76.

Öner C. *Genetik Kavramlar*. 6. Baskı. Ankara; Palme Yayıncılık, 2003;5-9.

Pan Y, Ma J, Zhang W, Wang Y, Wang Y, Zhang H. Replication of two novel susceptibility loci for non-syndromic orofacial clefts in a Chinese population. *Oral Diseases*, 2011;17:304-8.

Paranaíba LM, Bufalino A, Martelli-Júnior H, de Barros LM, Graner E. Lack of association between IRF6 polymorphisms (rs2235371 and rs642961) and nonsyndromic cleft lip and/or palate in a Brazilian population. *Oral Dis* 2010;16:193-7.

Paranaíba LMB, Miranda RT, Martelli DRB, Bonan PRF, Almeida H. Cleft lip and palate: series of unusual clinical cases. *Braz J Otorhinolaryngol* 2010;76:649-53.

Park Wyllie L, Mazzotta P, Pastuszak A, Moretti ME, Beique L, Hunnisett L, Koren G. Birth defects after maternal exposure to corticosteroids: prospective cohort study and meta-analysis of epidemiological studies. *Teratology*, 2000;62(6):385-92.

Pauws E, Moore GE, Stanier P. A functional haplotype variant in the TBX22 promoter is associated with cleft palate and ankyloglossia. *Journal of medical genetics*, 2009;46(8):555-61.

Pauws E, Peskett E, Boissin C, Hoshino A, Mengrelis K, Carta E, Stanier P. X-linked CHARGE-like Abruzzo–Erickson syndrome and classic cleft palate with ankyloglossia result from TBX22 splicing mutations. *Clinical genetics*, 2013;83(4): 352-8.

Pedersen AM, Bardow A, Jensen BS, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion, *Oral Dis*, 2002;8:117-29.

Pegelow M, Killinen H, Magnusson M, Fransson I, Unneberg P, Kere J. Association and Mutation Analyses of the IRF6 Gene in Families with Nonsyndromic and Syndromic Cleft Lip and/or Cleft Palate. *Cleft Palate Craniofac J*. 2014;51:49-55

Peng Q, Qin W, Li S, Huang M, Rao C, Lu X. A Novel IRF6 Frameshift Mutation in a Large Chinese Pedigree With Van der Woude syndrome. *The Cleft Palate-Craniofacial Journal*, 2022;59(4):548-53.

Peyrard-Janvid M, Pegelow M, Koillinen H, Larsson C, Fransson I, Rautio J, Kere J. Novel and de novo mutations of the IRF6 gene detected in patients with Van der Woude or popliteal pterygium syndrome. *European journal of human genetics*, 2005;13(12):1261-7.

Pillai RS, Bhattacharyya SN, Filipowicz W. Repression of protein synthesis by miRNAs: How many mechanisms? *Trends in Cell Biology*. 2007;17(3):118-26.

Poradowska W, Jaworska M. Etiology of bilateral cleft lip and palate. *Acta chirurgiae plasticae*, 1963;5:175-80.

Prescott NJ, Lees MM, Winter RM. Identification of susceptibility loci for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in a two stage genome scan of affected sib-pairs. *Hum Genet*. 2000;106:345-50.

Qi L, Liu J, Zhang Y, Wang J, Yang M, Gong T, Du Y. Risk factors for non-syndromic oral clefts: a matched case–control study in Hubei Province, China. *Oral Diseases*, 2015;21(1):31-7.

Rahimov F, Jugessur A, Murray JC. Genetics of Nonsyndromic Orofacial Clefts. *Cleft Palate-Craniofac J* 2012;49:73-91.

Raut JR, Simeone RM, Tinker SC, Canfield MA, Day RS, Agopian AJ. Proportion of orofacial clefts attributable to recognized risk factors. *The Cleft Palate-Craniofacial Journal*, 2019;56(2):151-8.

Rimoin DL, Connor JM, Pyeritz RE. *Chromosomal Disorders: Principles and Practice of Medical Genetics*. New York: Churchill Livingstone Inc. 1997.

Rozas J, Aguade M. Gene conversion is involved in the transfer of genetic information between naturally occurring inversions of *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994;91(24):11517-21.

Sadler T. Head and Neck. In: Sadler TW, ed. Langman's Medical Embriology. 9th ed. Lippincott Williams&Wilkins. 2003;363-402.

Sadler TW. Head and Neck. In Sadler TW, ed Langman's Medical Embryology. 12th ed: Lippincott Williams&Wilkins 2012;260-80.

Sanger F, Nicklen S, Coulson AR, "DNA sequencing with chain-terminating inhibitors", Proc Natl Acad Sci, 1977;74:5463-7.

Sato N, Katsumata N, Kagami M, Hasegawa T, Hori N, Kawakita S, Ogata T. Clinical assessment and mutation analysis of Kallmann syndrome 1 (KAL1) and fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1, or KAL2) in five families and 18 sporadic patients. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2004;89(3):1079-88.

Sato Y, Yoshioka E, Saijo Y, Miyamoto T, Sengoku K, Azuma H, Kishi R. Population attributable fractions of modifiable risk factors for nonsyndromic orofacial clefts: a prospective cohort study from the Japan Environment and Children's Study. Journal of Epidemiology, 2021;31(4):272-9.

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

Scapoli L, Palmieri A, Martinelli M, Vaccari C, Marchesini J, Pezzetti F, Carinci F. Study of the PVRL1 gene in Italian nonsyndromic cleft lip patients with or without cleft palate. Annals of Human Genetics, 2006;70(3):410-3.

Schochetman G, Jones KW. Polimerase Chain Reaction. J. Infect. Dis, 198;158:1154-7.

Schutte BC, Murray JC. The many faces and factors of orofacial clefts. Hum Mol Genet 1999;8:1853-9.

Seymour RM, Allan MJ, Pomiankowski A, Gustafsson K. Evolution of the human ABO polymorphism by two complementary selective pressures. Proc Biol Sci 2004;271(1543):1065-72

Shafi T, Khan MR, Atiq M. Congenital heart disease and associated malformations in children with cleft lip and palate in Pakistan. Br J Plast Surg 2003; 56: 106-9.

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

Shaw GM, Wasserman CR, Lammer EJ, O'Malley CD, Murray JC. Orofacial clefts, parental cigarette smoking, and transforming growth factor-alpha gene variants. Am J Hum Genet. 1996;58:551-61.

Shprintzen RJ. Velo-cardio-facial syndrome: 30 Years of study. Dev Disabil Res Rev. 2008;14(1):3-10.

Slavotinek AM, Chao R, Vacik T, Yahyavi M, Abouzeid H, Bardakjian T, et al. VAX1 mutation associated with microphthalmia, corpus callosum agenesis, and orofacial clefting: the first description of a VAX1 phenotype in humans. *Hum Mutat.* 2012;33:364--8.19.

Smith AW, Khoo AK, Jackson IT. A modification of the Kernahan "Y" classification in cleft lip and palate deformities. *Plastic and reconstructive surgery*, 1998;102(6):1842-7.

Souza LT, Kowalski TW, Vanz AP, Giugliani R, Félix TM. TGFA/Taq I polymorphism and environmental factors in non-syndromic oral clefts in Southern Brazil. *Braz Oral Res* 2012;26:431-5.

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

Sperber GH, Sperber SM, Guttman GD. *Craniofacial Embryogenetics and Development*. 2nd edition. People's Medical Publishing House, Shelton CT, 2010;250.

Sperber GH, Wyszynski DF. Cleft lip and palate: from origin to treatment. *Palatogenesis: closure of the secondary palate*. 2002.

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

Stanier P, Moore GE. Genetics of cleft lip and palate: syndromic genes contribute to the incidence of non-syndromic clefts. *Human molecular genetics*, 2004;13(1):R73-81.

Stoll C, Alembik Y, Dott B, Roth Mp. Associated malformations in cases with oral clefts. *Cleft palate Craniofac J*. 2000;37(1):41-7.

Suphapeetiporn K, Tongkobpetch S, Siriwan P, Shotelersuk V. TBX22 mutations are a frequent cause of non-syndromic cleft palate in the Thai population. *Clin. Genet*. 2007;72:478-83.

Suzuki A, Abdallah N, Gajera M, Jun G, Jia P, Zhao Z, Iwata J. Genes and microRNAs associated with mouse cleft palate: a systematic review and bioinformatics analysis. *Mechanisms of development*, 2018;150:21-7.

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

Şafak T, Akyürek M. Dudak-damak yarıkları. *Türkiye Klinikleri JENT-Özel* sayı 2003;3(2):110-23.

Thompson MW, McInnes RR, Willard HF. *Thompson & Thompson: Genetics in Medicine*. 5th Ed, Philadelphia: Saunders Company, 1991.

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

Topaktaş M. Genetik. 1. Baskı. Nobel Akademik Yayıncılık. Ankara, 2014.

Trueba SS, Auge J, Mattei G, Etchevers H, Martinovic J, Czernichow P, Vekemans M, Polak M, Attie-Bitach T. PAX8, TITF1, and FOXE1 gene expression patterns during human development: new insights into human thyroid development and thyroid dysgenesis-associated malformations. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2005;90:455-62.

Tuli A, Aksoy K, Kayrın L, Attila G. Tanıda DNA Teknikleri. Adana: Ç.Ü. Tıp Fak. Yayınları, 2001.

Tunçbilek G, Özgür F, Balcı S. 1229 yarık dudak ve damak hastasında görülen ek malformasyon ve sendromlar. *Çocuk sağığı ve hastalıkları dergisi*, 2004;47:172-6.

Uskun E. Akraba Evlilikleri. Sted, 2001;10.

Utin GE. Dudak Damak Yarıklarının Genetik Temeli. Dudak Damak Yarıkları. Özgür FF. 2. Baskı. Atlas Kitapçılık, 2005.

Ülgen M, Ortodonti, 5. baskı, Diyarbakır, Dicle Üniversitesi Diş Hekimliğı Fakültesi Yayınları, 2015;164-6.

Van den Boogaard MJH, Dorland M, Beemer FA, Van Amstel HKP. MSX1 mutation is associated with orofacial clefting and tooth agenesis in humans. *Nature genetics*, 2000;24(4):342-3.

Van Rooij IALM, Vermeij-Keers C, Kluijtmans LAJ, Ocke MC, Zielhuis GA. Does the interaction between maternal folate intake and the methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms affect the risk of cleft lip with or without cleft palate? *Am J Epidemiol* 2003;157:583-91.

Vastardis H, Karimbux N, Guthua SW, Seidman JG, Seidman CE. A human MSX1 homeodomain missense mutation causes evidence tooth agenesis. *Nature Genet.* 1996;13:417-21.

Veau V. Division Palatine. Paris: Masson & Cie. 1931.

Vieira AR, Modesto A, Meira R, Barbosa ARS, Lidral AC, Murray JC. Interferon Regulatory Factor 6 (IRF6) and Fibroblast Growth Factor Receptor 1 (FGFR1) contribute to human tooth agenesis. *Am J Med Genet A* 2007;143(6):538-45.

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

Vieira AR. "Unraveling human cleft lip and palate research." *Journal of dental research* 2008;87(2):119-25.

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

Vieira AR, Modesto A, Meira R, Barbosa ARS, Lidral AC, Murray JC. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) and fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) contribute to human tooth agenesis. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 2007;143(6): 538-45.

Vintiner GM, Holder SE, Winter RM, Holder SE, Malcolm S. No evidence of linkage between the transforming growth factor alpha gene in families with apparently autosomal dominant inheritance of cleft lip and palate. *J Med Genet* 1992;29:393-7.

Vyas T, Gupta P, Kumar S, Gupta R, Gupta T, Singh HP. Cleft of lip and palate: A review. *Journal of family medicine and primary care*, 2020;9(6):2621.

Wallace, Graeme H, Jacinta M. Arellano, and Tini M. Gruner. "Non-syndromic cleft lip and palate: Could stress be a causal factor?" *Women and Birth* 2011;24(1):40-6.

Wan WD, Yang SL, Liu JY, Cui YG, Zhou XP, Guo FF, Lu ZH. Correlation of the SNPs of FGFR1, FGF10, FGF18 with nonsyndromic cleft lip with or without palate in Chinese population. *Beijing da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Peking University. Health Sciences*, 2009;41(4):409-13.

Wang DG, Fan JB, Siao CJ, Berno A, Young P, Sapolsky R, Lander ES. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science*, 1998;280(5366):1077-82.

Wang Q, Sun S, Song Q, Hu H, An J, Liu J. The risk of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate and Vax1 rs7078160 polymorphisms in southern Han Chinese. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 2021;87:718-22.

Wang Y, Song L, Zhou CJ. The canonical Wnt/beta-catenin signaling pathway regulates Fgf signaling for early facial development. *Developments in Biologicals*, 2011;349:250–60.

Wantia N, Rettinger G. The current understanding of cleft lip malformations. *Facial plastic surgery*, 2002;18(03):147-54.

Warkany J, Petering HG. Congenital malformations of the central nervous system in rats produced by maternal zinc deficiency. *Teratology*, 1972;5(3):319-34.

Watson JD, Crick FH. 1. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953;171:737-8.

Weatherley-White RC, Ben S, Jin Y, Riccardi S, Spritz RA. Analysis of genome-wide association signals for nonsyndromic cleft lip/palate in a Kenya African cohort. *Am J Med Genet A*. 2011;155A:2422---5

- Wilcox AJ, Lie RT, Solvoll K, Taylor J, McConaughy DR, Abyholm F, et al. Folic acid supplements and risk of facial clefts: national population based case-control study. *BMJ* 2007;334(7591):464.
- Natsume N, Kawai T, Suzuki T. Preference for vegetables rich in beta-carotene and manifestation of cleft lip and/or palate. *Plast Reconstr Surg* 1995;95(5):934-5
- Wong FK, Hägg U. An update on the aetiology of orofacial clefts. *Hong Kong Medical Journal*. 2004;10(5):331-6.
- Wong SW, Liu HC, Han D, Chang HG, Zhao HS, Wang YX, Feng HL. A novel non-stop mutation in *MSX1* causing autosomal dominant non-syndromic oligodontia. *Mutagenesis*, 2014;29(5):319-23.
- Wu T, Liang KY, Hetmanski JB, Ruczinski I, Fallin MD. Evidence of gene-environment interaction for the *IRF6* gene and maternal multivitamin supplementation in controlling the risk of cleft lip with/without cleft palate. *Hum Genet*. 2010;128:401-10.
- Wyszynski DF, Beaty TH. Review of the role of potential teratogens in the origin of human nonsyndromic oral clefts. *Teratology* 1996;53(5):305-17.
- Wyszynski, Diego F. ed. Cleft lip and palate: from origin to treatment. Oxford university press, 2002.
- Xu DP, Qu WD, Sun C, Cao RY, Liu DW, Du PG. A Study on Environmental Factors for Nonsyndromic Cleft Lip and/or Palate. *J Craniofac Surg* 2018; 29: 364-7.
- Xu H, Niu Y, Wang T, Liu S, Xu H, Wang S, Ye Z. Novel *FGFR1* and *KISS1R* mutations in Chinese Kallmann syndrome males with cleft lip/palate. *Biomed Research International*, 2015.
- Yeetong P, Mahatumarat C, Siriwan P, Rojvachiranonda N, Suphapeetiporn K, Shotelersuk V. Three novel mutations of the *IRF6* gene with one associated with an unusual feature in Van der Woude syndrome. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 2009;149(11):2489-92.
- Yiğit AK, Oğuz ŞS, Dilmen U. Dudak ve damak yarıkları olan vakaların derlenmesi ve büyümelerinin izlemi. *Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi*, 2015;12(2):80-2.
- Yoshida K, Hayashi R, Fujita H, Kubota M, Kondo M, Shimomura Y, Niizeki H. Novel homozygous mutation, c.400C-T (p.arg134*), in the *PVRL1* gene underlies cleft lip/palate-ectodermal dysplasia syndrome in an Asian patient. *J. Derm.* 2015;42: 715-9.
- You Y, Shi J, Shi B, Jia Z. Target sequencing reveals the association between variants in *VAX1* and *NSCL/P* in Chinese population. *Oral Diseases*, 2022.
- Zawi'slak A, Wo'zniak K, Jakubowska A, Lubi'nski J, Znamirska-Bajowska A. Polymorphic variants in *vax1* gene (rs7078160) and *bmp4* gene (rs762642) and the risk of non-syndromic oro-facial clefts in the polish population. *Med Wieku Rozwoj.* 2014;18(1):16-22.

Zhang B, Jiao X, Mao L, Xue J. Maternal cigarette smoking and the associated risk of having a child with orofacial clefts in China: A case-control study. *J Cranio-Maxillofac Surg* 2011; 39: 313-8.

Zhang BH, Shi JY, Lin YS, Shi B, Jia ZL. VAX1 gene associated non-syndromic cleft lip with or without palate in Western Han Chinese. *Archives of Oral Biology*, 2018;95: 40-3.

Zuccherro TM, Cooper ME, Maher BS, Daack-Hirsch S, Nepomuceno B. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) gene variants and the risk of isolated cleft lip or palate. *N Eng J Med*. 2004;351:769-80.



7. EKLER

7.1. EK-A. Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu Kararı



7.2. EK-B. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Tarih :
Versiyon No:

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

ARAŞTIRMANIN ADI (ÇALIŞMANIN AÇIK ADI):

Sendromik Olmayan Dudak Damak Yarığı Vakalarının VAXI (Ventral Anterior Homeobox 1)
Geninin rs387907252, rs1554942640 ve rs1554942980 Varyantları ile İlişkisi

Bu çalışma, bir bilimsel araştırmadır. Çalışmaya, katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını, bilgilerinizin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararları ile risklerini doğru anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız.

CALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Dudak damak yarığının oluşması ile ilişkilendirilen aday genler bulunmaktadır. VAXI geni bu genlerden biridir. Çalışmanın amacı VAXI geninin herhangi bir sendromu olmayan dudak damak yarıklı bireylerde yarığın oluşmasındaki sorumlu genler arasında olup olmadığını belirlemektir.

CALIŞMADA UYGULANACAK TEDAVİLER/İŞLEMLER NELERDİR? (CALIŞMANIN YÖNTEMİ NEDİR?)

Bireylerden alınacak tükürük örneği üzerinde genetik çalışma yapılacaktır.

CALIŞMANIN KAPSAMI NEDİR?

Çalışma herhangi bir sendrom bulundurmeyen dudak damak yarığına sahip 70 birey ve herhangi bir sendrom bulundurmeyen dudak damak yarığına sahip olmayan sağlıklı 70 bireyi kapsamaktadır.

CALIŞMA SÜRESİ NE KADARDIR?

10 ay

CALIŞMAYA KATILMASI BEKLENEN TAHMİNİ GÖNÜLLÜ SAYISI NEDİR?

140

CALIŞMADA BENİM NE YAPMAM GEREKİYOR?

Çalışmaya katılmayı gönüllülük içerisinde kabul ettiğiniz takdirde 1 ml tükürük örneğinin değerlendirilmesine izin vermeniz ve bu formu okuyup imzalamanız gerekmektedir.

BU CALIŞMAYA KATILMAK ZORUNDA MIYIM?:

Çalışmaya katılıp katılmamak tamamen sizin serbest iradenize bırakılmıştır. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirsiniz imzalamanız için size bu “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu”

verilecektir. Katılmaya karar verirsiniz, çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Bu durum sizin aldığınız tedavinin standardını etkilemeyecektir, gereken her türlü tedavinize devam edilecektir.

Belirtelim ki, çalışmayı yürüten sorumlu araştırmacı (Dr. Hatice KÖK) çalışmaya katılmanızın devam etmesinin sizin yararınıza olmadığına karar verebilir ve sizin faydanız için sizi çalışmadan çıkarabilir.

Çalışmadan çıkarılmanız; çalışmaya katılmaya uygunluk kriterlerine artık uymamanız veya herhangi bir şekilde sağlığınızın riske girmesi nedeniyle, doktorunuzun çalışmada yer almanızı durdurmaya karar vermesi durumunda veya araştırmacılar sizinle artık temasa geçemediği durumlarda söz konusu olacaktır.

CALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YAN ETKİLER VE RİSKLER NELERDİR?

Tükürük örneğinin alınması sırasında herhangi bir risk bulunmamaktadır. Yapılacak genetik testler sırasında sadece ilgili gen çalışılacağı için bu çalışma sonucunda maddi veya manevi olarak olumsuz etkilenme riskiniz bulunmamaktadır.

CALIŞMAYA KATILMANIN OLASI YARARLARI NELERDİR?

Bu çalışmada herhangi bir sendromla ilişkili olmayan dudak damak yarıklı bireylerde aday genler listesinde bulunan bir gen araştırılacaktır. Bu araştırma ve benzer araştırmalar sayesinde elde edilen bilgilerle gelecekte bu hastalığın oluşmasını engelleyecek önlemlerin alınması veya görülme oranının azaltılması amaçlanmaktadır.

CALIŞMAYA KATILMANIN MALİYETİ NEDİR?

Bilimsel çalışmaların maddi kaygılarla yürütülmemesi ilkesi gereğince, bu çalışmaya katılmak için bir ödeme yapmanız gerekmez. Katılmanız karşılığında size de bir ödeme yapılmayacaktır.

COCUĞUMUN KİŞİSEL BİLGİLERİ/ KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

Bu formu imzalayarak araştırma doktorunuzun ve onun kadrosunun çalışma için sizin kişisel bilgilerinizi (Çalışma Verileri) toplamalarına ve kullanmalarına onay vermiş olacaksınız. Doğum tarihiniz, cinsiyetiniz gibi tüm kişisel çalışma verilerinizin kullanımı ile ilgili verdiğiniz bu onay kural olarak süresiz geçerli olup bunun herhangi bir sona erme süresi yoktur. Eğer verilerinizin kullanılmamasını istiyorsanız doktorunuzu haberdar ederek bu onayınızdan her zaman vazgeçebilirsiniz.

Çalışma yapan araştırmacılar, etik kurul ve ilgili sağlık otoriteleri gerektiğinde sizin tıbbi kayıtlarınıza doğrudan ulaşabilecektir, fakat bu bilgiler gizli tutulacak kamuoyu ile paylaşılmayacaktır. Çalışmanın sonuçları tıbbi yayınlarda yayınlanabilir, ancak sizin kimlik bilgileriniz bu yayınlarda gizli tutulmaya devam edecektir.

Doktorunuzdan, toplanan çalışma verileriniz hakkında her zaman bilgi isteme hakkına sahipsiniz. Aynı zamanda bu verilerdeki herhangi bir hatanın düzeltilmesini isteme hakkında da bulunmaktadır. Eğer bu konularda bir isteğiniz olursa doktorunuzla görüşünüz.

Vermiş olduğunuz onaydan vazgeçerseniz, doktorunuz çalışma verilerinizi artık kullanamayacak ya da hiç kimseyle kimliğiniz gizli olsa dahi paylaşamayacaktır.

ARASTIRMA SONUNDA BANA BİLGİ VERİLECEK Mİ?

Talep ettiğinizde değerlendirme sonuçlarınız sözel olarak sizinle paylaşılacak olup, ölçeklerden elde edilecek niceliksel veriler hakkında size geribildirim yapılacaktır.

HER TÜRLÜ SORUNUZLA İLGİLİ İLETİŞİM KURULABİLECEĞİNİZ SORUMLU KİŞİLER:

Dt. Rüveyda Nüket İVACIK

YENİ BİLGİLER ÇALIŞMADAKİ ROLÜMÜ NASIL ETKİLEYEBİLİR?

Çalışma sürerken ortaya çıkmış olan bütün yeni bilgiler size derhal iletilecektir.

GÖNÜLLÜ KATILIM BEYANI

Bu araştırmaya katılma kararımı tamamen gönüllü olarak veriyorum. Bu çalışmaya katılmayı reddedebileceğimi veya katıldıktan sonra istediğim zaman ayrılma hakkımın hiçbir sorumluluk almadan var olduğunu biliyorum. Bu durumun, sağlık kurumunda göreceğim bakım ve tedaviler etkilenmeyeceğinin bilincindeyim. Çalışmadan her hangi bir zamanda ayrılırsam, ayrılma nedenlerimi, ayrılışımın sonuçlarını ve izleyen dönemde alacağım tedavileri doktorumla birlikte değerlendireceğim.

ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI

Yukarıdaki tüm açıklamaları doktorumla ayrıntılı olarak görüştüm ve kendisi tedavim hakkındaki bütün sorularımı cevapladı. Bu bilgilendirilmiş olur belgesini okudum ve anladım. Bu araştırmaya katılmayı hiçbir baskı altında olmadan kabul ediyor ve bu olur belgesini kendi hür irademle imzalıyorum. Bu onayın, yasal haklarımı koruyan hiçbir mevzuat hükmünü geçersiz kılmadığını biliyorum. Doktorum, saklamam için bu belgenin bir kopyasını ve çalışma sırasında dikkat edeceğim hususları içeren belgeyi bana teslim etmiştir.

Hastanın Adı Soyadı:

Tarih:

İmza:

Varsa

Veli/Vasinin Adı Soyadı:

Tarih:

İmza:

Açıklamaları yapan

Araştırmacının Adı Soyadı:

Tarih:

İmza:

7.3. EK-C. Anket Formu



SELÇUK ÜNİVERSİTESİ DIŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ ORTODONTİ ANABİLİM DALI
DUDAK DAMAK YARIĞI ANKET FORMU



Sayın Katılımcı;

S.Ü Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Kliniğine başvuran dudak damak yarıklı bireylerde bu duruma sebep olabilecek çevresel faktörlerin değerlendirilmesi amacıyla yürütülen bu çalışmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına bağlıdır. Sorulara cevap vererek katılmaya gönüllü olduğunuz varsayılmıştır. Çalışmadan elde edilen bilgiler araştırmacılar tarafından gizli tutulacak olup, herhangi bir kurum ve kişiyle paylaşılmayacak, yalnızca akademik çalışmalar olarak bilimsel ortamlarda sunulacaktır. Çalışmada yer aldığınız ve katkı verdiğiniz için teşekkürler.

Dr. Hatice KÖK

Dt. Rûveyda Nûket İVACIK

Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti ABD

Hastanın;

Adı Soyadı:

Kardeş Sayısı:

Doğum tarihi: / /

Kaçıncı Çocuk Olduğu:

Cinsiyeti:

Annenin Doğum Tarihi: / /

Babanın Doğum Tarihi: / /

1- Annenin eğitim düzeyi: () Okur-yazar değil () İlkokul () Ortaokul () Lise () Üniversite

İşi: () Çalışmıyor () Emekli () Esnaf () Memur () Serbest meslek

2- Babanın eğitim düzeyi: () Okur-yazar değil () İlkokul () Ortaokul () Lise () Üniversite

İşi: () Çalışmıyor () Emekli () Esnaf () Memur () Serbest meslek

3- Annenin gebelik öncesinde;

3a. Alkol Kullanımı: () Yok () Var

3b. Sigara Kullanımı: () Yok () Var

3c. Kronik Hastalıklar: () Hipertansiyon () Diyabet () Kolesterol () Diğer (.....)

4- Annenin gebelik sırasında;

4a. Alkol Kullanımı: () Yok () Var

4b. Sigara Kullanımı: () Yok () Var

4c. Kronik Hastalıklar: () Hipertansiyon () Diyabet () Kolesterol () Diğer (.....)

4d. Fiziksel travma maruziyeti: () Yok () Var

4e. Psikolojik travma maruziyeti: () Yok () Var

5- Babanın;

5a. Alkol Kullanımı: () Yok () Var

5b. Sigara Kullanımı: () Yok () Var

5c. Kronik Hastalıklar: () Hipertansiyon () Diyabet () Kolesterol () Diğer (.....)

6- Ailede / Akrabalarınızda Dudak damak yarığına sahip birey var mı? () Evet () Hayır

Cevabınız evet ise yakınlık derecesini yazınız

7- Eşinizle aranızla kan bağı var mı? () Evet () Hayır

Cevabınız evet ise yakınlık derecesini yazınız

8-Doğumdan önce bebeğinizin dudak damak yarıklı olduğunu biliyor muydunuz? () Hayır () Evet

9- Hamileyken radyasyona maruz kaldınız mı? () Evet () Hayır

10- Hamileyken kızıl, kızamıkçık gibi bulaşıcı hastalık geçirdiniz mi? () Evet () Hayır

Cevabınız evet ise geçirdiğiniz hastalığın adını yazınız

11- Hamileliğiniz boyunca doktor kontrolünde miydiniz? () Evet () Hayır

12- Hamileliğiniz boyunca herhangi bir ilaç kullandınız mı? () Evet () Hayır

Cevabınız evet ise ilacın adı nedir?

13- Hamileliğinizde vitamin takviyesi aldınız mı? () Evet () Hayır

7.4. EK-D. Konu Başlığının Değiştirilmesine Dair Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu Kararı

