T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MANDİBULAR PROGNATİZM İLE BÜYÜME HORMON RESEPTÖR (BHR) GEN P561T VE C422F POLİMORFİZMLERİNİN İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

Sinem BAYRAM TATAR

DOKTORA TEZİ

ORTODONTİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Faruk Ayhan BAŞÇİFTÇİ

KONYA-2013

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MANDİBULAR PROGNATİZM İLE BÜYÜME HORMON RESEPTÖR (BHR) GEN P561T VE C422F POLİMORFİZMLERİNİN İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

Sinem BAYRAM TATAR

DOKTORA TEZİ

ORTODONTİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Faruk Ayhan BAŞÇİFTÇİ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 11202032 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2013

i. ÖNSÖZ

Fakülte Dekanlığı ve Bölüm Başkanlığı görevlerinin yoğunluğunun yanı sıra; ortodonti doktora ve klinik eğitimimde ve tezimin hazırlanmasında değerli bilgilerini, tecrübelerini, desteğini benden esirgemeyen hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Faruk Ayhan BAŞÇİFTÇİ'ye,

Genetik konusundaki bilgilerini benimle paylaşan, tezimin araştırma kısmında büyük emeği olan ve laboratuvar imkânlarını kullanmama olanak sağlayan Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Ercan KURAR'a, tatil günleri demeden laboratuara gelip analizler üzerinde çalışan Arş. Gör. Mustafa HİTİT'e, yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Çağlayan ÖZEL'e, ek analizler yapmak için laboratuvar imkânlarını sunan Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Zafer BULUT ve Arş. Gör. İsmail Selim YILDIRIM'a,

İstatistiksel yöntem ve analizlerin belirlenmesinde değerli katkılarından dolayı Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Seyit Ali KAYIŞ'a,

Ortodonti eğitimime pratik ve teorik olarak katkıda bulunan, deneyimlerini benimle paylaşan Anabilim Dalımızda görev yapmış olan ve görev yapmakta olan değerli tüm öğretim üyelerine, birlikte çalıştığım araştırma görevlisi ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma ve bölümümüz personellerine ayrı ayrı,

Bu çalışma için gerekli olan kan örneklerini her defasında bıkmadan alan bölümümüzün güler yüzlü hemşiresi Hilal CANBULDU'ya ve radyasyona aldırmadan tüm röntgenlerimi çeken Dilek AKATÜRK'e,

Tüm eğitimim ve yaşamım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen ve benim bu günlere gelmemi sağlayan annem Sebahat BAYRAM, babam Hasan Hüseyin BAYRAM ve sevgili kardeşim Serhat BAYRAM'a ve eşim Cem TATAR'a ,

Doktoramın son iki yılında ‘Yurt içi doktora burs programı’ doktora bursu vererek bu tezi oluşturmama katkıda bulunan TÜBİTAK’a,

sonsuz teşekkürlerimi sunarım…

İÇİNDEKİLER

i.ÖNSÖZ……..…….…… …...i
ii. İÇİNDEKİLER……..…….……... iii
iii. SİMGELER VE KISALTMALAR…….....……..……..……...vi
1. GİRİŞ 1
1.1. Mandibular Prognatizm 3
1.1.1. Mandibular Prognatizm Tanımı ve Özellikleri 3
1.1.2. Mandibulanın Büyüme ve Gelişimi 6
1.1.3. Mandibular Prognatizm Epidemiyolojisi 9
1.1.4. Mandibular Prognatizm Etiyolojisi 10
1.1.5. Mandibular Prognatizm Tedavisi.....12
1.2. Mutasyon ve Polimorfizm 14
1.2.1. Mutasyon, Tanımı ve Çeşitleri.....14
1.2.2. Polimorfizm ve Tanımı.....17
1.2.3. Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP: Single Nucletide Polymorphism) 18
1.2.4. Genetik Polimorfizmlerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler 19
1.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....19
1.2.6. Restriksiyon Enzimleri 20
1.2.7. Kesim Parça Uzunluğu Polimorfizmleri “Restriction Fragment Lenght Polymorphisms” (RFLP).....21
1.2.8. DNA Dizi Analizleri 22
1.3. Büyüme Hormonu Reseptör (BHR) Geni 23
1.3.1. Büyüme Hormonu Reseptör (BHR) Geni 23
1.3.2. Büyüme Hormonu Reseptör (BHR) Geninin Yapısı 24
1.3.3. Büyüme Hormonu Reseptör (BHR) Geninin Fonksiyonu 25
1.4. Soy Ağacı Analizi 27

1.5. Mandibular Prognatizm ile Genetik Yapının İlişkisi 29

2. GEREÇ VE YÖNTEM 34

2.1. Hasta Seçimi ve Kontrol Gurubu 34

2.2. Sefalometrik Analiz 35

2.3. Soy Ağacı Analizi 42

2.4. Örnekleme Çalışması 42

2.5. DNA İzolasyonu 42

2.6. DNA örneklerinin kalite kontrolü 43

2.7. BHR PZR primerlerinin oluşturulması 43

2.8. Polimeraz Zincir Reaksiyonu 44

2.9. Jel elektroforezi 45

2.10. Restriksiyon Fragment Length Polimorfizm (RFLP) analizi 46

2.10.1. Jel elektroforezi 47

2.11. DNA Dizi Analizleri 47

2.11.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonları 47

2.11.2. PZR Ürünlerinin Temizlenmesi 47

2.11.3. DNA Dizi Analizleri 48

2.12. İstatistiksel Değerlendirme 49

3. BULGULAR 50

3.1. Lateral Sefalometrik Film Analizi Bulguları 50

3.1.1. Mandibulaya Ait Bulgular 50

3.1.2. Maksillaya Ait Bulgular 52

3.1.3. Maksillomandibular Yapıya Ait Bulgular 53

3.1.4. Kafa Kaidesi Ölçümleri ve Alt Yüz Yüksekliğine Ait Bulgular 54

3.2. Soy Ağacı Analizi Bulguları 56

3.3. Mandibular Prognatizme Sahip Olan Bireylerin Genotipleri 59

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)-Restriksiyon Fragment Lenght Polymorpism (RFLP) Analizi 62

3.4.1. DNA dizi analizi 65

3.5. Boy uzunluğu ile P561T bölgesindeki polimorfizmin ilişkisi.....68

3.6. Sefalometrik bulgular ile P561T bölgesindeki polimorfizmin ilişkisi 68

4. TARTIŞMA 70

4.1. Yöntemin Tartışılması.....71

4.2. Bulguların Tartışılması.....73

5. SONUÇLAR 88

6. ÖZET 89

7. SUMMARY.....90

8. KAYNAKLAR.....91

9. EKLER.....96

EK-A. Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Kararı 97

EK-B. Etik Kurul Onaylı Bilgilendirilmiş Gönüllü Onayı Formu 99

10. ÖZGEÇMİŞ.....102

SİMGELER VE KISALTMALAR

% Yüzde
******* p<0,001
****** p<0,01
***** p<0,05
< 'den küçük
> 'den büyük
A Adenin
AFLP Amplified Fragment Length Polymorphisms= Yükseltgenmiş parça uzunluk polimorfizm
ALPL Alkalin fosfataz
ASO Allel spesifik oligonükleotid
bç Baz çifti
BH Büyüme hormonu
BHR Büyüme hormonu reseptörü
BHBP Büyüme hormonu bağlayıcı protein
C Sitozin
ddNTP Di Deoksiribonükleotid trifosfat
DNA Deoksiribonükleik asit
dNTP Deoksiribonükleotid trifosfat
DTCS Dye terminator cycle sequencing
EDTA Etilen di-amino tetra asetik asit
EPB41 Eritrosit membran protein band 4.1
EtBr Etidyum bromür
EtOH Etanol
FGF-2 Fibroblast Growth Factor 2= fibroblast büyüme faktörü 2
fMol Femtomol
G Guanin
HSPG2 Heparan sülfat proteoglikan 2
IGF-1 Insülin like Growth Factor = insülin benzeri büyüme faktörü
iBH İnsan büyüme hormonu
iBHR İnsan büyüme hormon reseptörü
kbç Kilo baz çifti
LTBP2 Latent transforming growth factor beta binding protein 2
M Molar
MATN1 Matrilin 1
Mg Magnezyum
MgCl Magnezyum klorür
mg Miligram
ml Mililitre
µl Mikro litre
µM Mikro molar
mM Mili molar
NaAc Sodyum asetat
ng Nanogram
nm Nanometre
NS Non-significant: Anlamsız
OMIM Online Mendelian Inheritance of Man

pM Pikomol
PZR Polimeraz zincir reaksiyonu
RAPD Random Amplified Polymorphic DNA= Rastgele yükseltgenmiş polimorfik DNA
RE Restriksiyon endonükleaz
RFLP Restriction Fragment Lenght Polymorpfism = Restriksiyon parça uzunluk polimorfizm
rpm Dakikadaki devir sayısı
RSP Restriction Side Polymorphism= Restriksiyon bölge polimorfizmleri
SDS Sodium Dodecyl Sulfate
SNP Single Nucleotide Polymorphism = Tek nükleotidli polimorfizm
SSCP Single Stranded Conformational Polimorphism= Tek zincir konformasyonel polimorfizm
T Timin
Tag Thermus aquaticus
TBE Tris - borik asit – EDTA
TGFB3 Transforming growth factor beta 3
U Ünite
UV Ultraviyole

1. GİRİŞ

İskeletsel Sınıf III malokluzyonlar olarak bilinen maksillofasiyal deformiteler, ortodonti pratiğinde en ciddi anomali gruplarından birini oluşturmakta ve ortodontik tedavisi en zor düzensizlikler olarak nitelendirilmektedir. Bu vakalar maksiller retrüzyon, mandibular protrüzyon veya her iki durumun kombinasyonu şeklinde iskeletsel özellikler gösterebilmektedirler (Proffit 1992).

Mandibular prognatizmin (MP) genel özellikleri; konkav profil ile birlikte önde konumlanmış mandibula ve belirgin çene ucu olup bu hasta grubu, aileler ve hekimler tarafından kolaylıkla fark edilebilmektedir (Proffit 1992). Bu fenotipe sahip olan hastaların şikayetleri sadece estetik kaygılar değil, çiğneme ve konuşma gibi fonksiyonel problemler de olmaktadır (Jang ve ark 2010).

Sınıf III malokluzyonun komponentlerini inceleyen Guyer ve ark (1986) mandibular protrüzyon ve normal maksiller konuma sahip hastaların oranının %20, maksiller retrüzyon ve normal mandibular konuma sahip hastalarının oranının %25, maksiller retrüzyon ve mandibular protrüzyona sahip hastaların oranının ise %22 olduğunu bildirmişlerdir. Bu verilere dayanarak incelenen tüm bireylerin %47'sinin maksiller retrüzyona, %42'sinin ise mandibular protrüzyona sahip olduğu belirtilmiştir.

Mandibular prognatizm görülme sıklığı toplumlar arasında farklılık göstermektedir. En düşük görülme sıklığı Avrupa-Amerika toplumunda (%0,48-4), orta derecede Sub-Saharan Afrika populasyonunda (%3-8) ve en yüksek sıklıkta ise Kore, Çin, ve Japonya gibi doğu Asya toplumlarında (%15-23) görülmektedir (El-Gheriani ve ark 2003, Yamaguchi ve ark 2005). Türk toplumunda yapılan çalışmalarda ise Sınıf III insidansını Sarı ve ark (2003) %10,2; Sayın ve Türkkahraman (2004) ise daha yüksek bir oranla % 12 olarak değerlendirmiştir.

Büyüme ve gelişimin değerlendirildiği çalışmalar sonucunda genetik ve epigenetik faktörlerin nihai kraniyofasiyal morfolojiyi belirlemede etkili oldukları belirtilmiş ve ontogenezde gen-çevre ilişkisinin kilit rol oynadığı gösterilmiştir

(Moss 1997). Mandibular formun genetik olarak belirlendiği düşüncesinin yanı sıra; kas gelişimi, büyüme ve diş erüpsiyonu gibi çeşitli çevresel faktörlerden de etkilendiği gösterilmiştir (Tollaro ve ark 1996). Karakteristik mandibular morfoloji erken çocukluk döneminde fark edilebilmektedir. Her ne kadar mandibular morfoloji için birçok genetik faktörün etkili olduğu düşünülse de büyüme gelişim süresince mandibula büyümesinin ve pozisyonunun nasıl kontrol edildiği sorusu hala cevaplanamamıştır (Singh 1999).

Mandibula kondilindeki kıkırdak kaynaklı büyüme mandibulanın gelişimi ve morfolojisinin belirlenmesinde önemli bir role sahiptir (Van Erum ve ark 1988). Mandibular büyümeyi etkileyen faktörleri belirlemek mandibular protrüzyonun erken teşhis ve tedavisinin sağlanmasında yardımcı olabilir (Sasaki ve ark 2009).

Hayat kalitesini iyileştirmek ve mandibular prognatizmin prognozunu tahmin edebilmek için genetik aktarımı ve etiyolojiyi sınıflayabilmek önemlidir (Watanabe ve ark 2005). Günümüzde birçok araştırmacı çoğunlukla tedavi alternatifleri ve bunların sonuçlarına, daha az miktarda da etiyolojiyi anlamaya odaklanmışlardır (Frazier-Bowers 2009). Değişken sebepleri ve mandibular büyümenin yeterince anlaşılamamasından ötürü mandibular prognatizmle karakterize Sınıf III fenotipi diş hekimleri ve ortodontistler için zor bir problem olarak görülmektedir (Alexander ve ark 2009).

Tedavisinde, mandibula büyümesini yönlendirmek amacıyla çenelik kullanımı değerendirilmiş olsa da Sınıf III bireylerin %50'sinde tek tedavi seçeneği ortognatik cerrahidir (Proffit 1992). Ciddi iskeletsel mandibular prognatiye sahip hastalar ortodontik tedavi ve ortognatik cerrahi ile kombine olarak tedavi edilir (Terry ve White 1990).

Mandibular prognatizmin ailesel geçiş göstermesi, etiyolojik faktörler içerisinde genetiğin ilk sırayı alması fikrini desteklemektedir. Çeşitli araştırmacılar bu anomalinin genetik aktarımını belirleyerek, farklı kalıtım modellerinden bahsetmişlerdir. Otozomal resesif (Downs 1928, Iwagake 1938), otozomal dominant (Kraus ve ark 1959, McKusick 1972), tamamlanmamış penetransla dominant kalıtım

(Stiles ve Luke 1953, Wolff ve ark 1993, El-Gheriani ve ark 2003, Cruz ve ark 2008, Li ve ark 2010, Li ve ark 2011) ve poligenik (çok genli) model ile kuvvetli ve karmaşık bir geçiş (Litton ve ark 1970) gösterdiği ifade edilmiştir. Günümüze kadar yapılan birçok çalışma MP gelişiminde etkili olabilecek genlerin tanımlanması ve yerlerinin belirlenmesine odaklanmıştır (Yamaguchi ve ark 2001, El-Gheriani ve ark 2003, Yamaguchi ve ark 2005, Zhou ve ark 2005, Sasaki ve ark 2007, Frazier-Bowers ve ark 2009, Sasaki ve ark 2009, Tomoyasu ve ark 2009, Li ve ark 2010, Jang ve ark 2010, Xue ve ark 2010b, Li ve ark 2011, Cruz ve ark 2011, Tassopoulou-Fishell ve ark 2012).

Gelecekte MP gelişiminin moleküler mekanizması ve sorumlu olan genler, pek çok rahatsızlıkta olduğu gibi moleküler genetik yardımıyla insan genomu içerisinde tanımlanacaktır. Sorumlu genlerin ve moleküler mekanizmasının tanımlanması; erken klinik teşhise ve büyüme gelişim döneminde kraniyofasiyal yapılara alternatif önleyici tedaviler uygulanabilmesine imkan sağlayacaktır (Singh 1999). Hatta daha ilerleyen yıllarda mandibular prognatizm oluşumunu önleyebilecek gen tedavilerinin uygulanmasına zemin hazırlayacaktır.

1.1. Mandibular Prognatizm

1.1.1. Mandibular Prognatizm Tanımı ve Özellikleri

Angle sınıflamasına göre Sınıf III malokluzyonlar; mandibular 1. moların maksiler 1. molara göre daha mezialde konumlandığı durumlar olarak tanımlanmaktadır (Proffit 1992). İskeletsel Sınıf III maloklüzyon ise, alt çenenin boyut ve form bakımından üst çene ve kafa kaidesine göre daha büyük ve pozisyon bakımından daha önde olduğu maloklüzyon tipidir. İskeletsel Sınıf III malokluzyonlar, üst çene kaynaklı, alt çene kaynaklı ya da her iki çene kaynaklı olabilir (Guyer ve ark 1986). Sınıf III malokluzyon klinik olarak iskeletsel ve dental morfolojik varyasyonların çeşitli kombinasyonlarıyla ilişkili olabilir. MP iskeletsel kaynaklı bir anomali olup yapılan bir çalışmada Sınıf III malokluzyona sahip beyaz ırk erkeklerin yaklaşık %75'inde iskeletsel orijinin mandibular prognatizmle birlikte olduğu gösterilmiştir (Staudt ve Kiliaridis 2009). Eğer bu fenotip altta yatan

iskeletsel bir displazi sonucu görülmüşse, bu bireyin dentofasiyal deformiteye sahip olduğu söylenebilir (Proffit 1992). Sınıf III malokluzyon diğer iskeletsel malokluzyonlara göre daha nadir görülmesine rağmen, dudak damak yarıkları ve diğer dentofasiyal deformitelere göre daha sık görülmektedir (Frazier-Bowers ve ark 2009).

Tweed (1966), Sınıf III maloklüzyonları; mandibulanın şeklinin normal olduğu pseudo Sınıf III maloklüzyonlar ve büyük mandibula ve az gelişmiş maksillanın bulunduğu iskeletsel Sınıf III maloklüzyonlar olarak 2 başlık altında toplamıştır. Ayrıca Sınıf III malokluzyonlar fonksiyonel Sınıf III, pseudoprognatizm, akromegaliye bağlı prognatizm ve gerçek mandibular prognatizm başlıkları altında toplanabilir (Ülgen 2005).

Fonksiyonel Sınıf III anomalide çene büyüme oranlarında bir anormallik olmamakla birlikte istirahat halinde kondil başı ve alt çene normal konumunda olup alt ve üst kesiciler baş başa durumdadır. Kapanışa geçerken mandibulanın önde konumlandırılması dişsel erken temaslara veya alışkanlığa bağlı olabilmektedir (Litton ve ark 1970). Fonksiyonel Sınıf III anomaliler erken yaşta tedavi edilmediği zaman kondil başlarında adaptif kemik büyümesi gerçekleşecek ve fonksiyonel olan anomali morfolojik bir form alacaktır (Ülgen 2005).

Büyüme miktarlarındaki dengesizliklere bağlı olarak oluşan gerçek Sınıf III vakaları; mandibulada aşırı büyüme, maksillada yetersiz gelişim veya bu ikisinin kombinasyonu şeklinde görülebilir. Mandibula boyut ve konumu normal iken maksiler yetersizliğe bağlı oluşan prognatizm durumuna pseudoprognatizm adı verilmektedir (Litton ve ark 1970).

Büyüme ve gelişim tamamlandıktan sonra hipofiz bezi hiperfonksiyonu sonucu oluşan akromegalide, periosteal büyüme uyarıldığından kondil kıkırdağı, süturalar ve çeşitli bağ dokuları tekrar büyümeye başlamaktadır. Bu durumda hem maksilla hem mandibula büyür, ancak kıkırdak büyümesi sütural büyümeden daha fazla olduğu için mandibular prognati meydana gelmektedir (Ülgen 2005).

MP, büyüme ile ilişkili uyumsuzluk sonucunda ortaya çıkan, mandibulanın maksillaya göre form, büyüklük ve konumundaki farklılık ile karakterize bir fasiyal displazidir. Bu bireylerde muayene sırasında anterior konumda olan mandibulayı 1mm dahi geriye almak mümkün değildir. Sınıf III malokluzyon ve konkav yüz profiliyle görülebilmektedir (Mitani 1981). Mandibular prognatizme özgü bu konkav profil sadece hastanın psikolojisini olumsuz olarak etkilemekle kalmaz ayrıca çiğneme fonksiyonunu da etkiler (Li ve ark 2010). MP'nin genel özellikleri; konkav profil, normal pozisyonda bulunan maksilla ile birlikte önde konumlanmış mandibula, baş başa keser ilişkisi veya ön çapraz kapanıştır. Bu tipik özellikleri nedeni ile bu hasta grubu aileler ve hekimler tarafından kolaylıkla fark edilebilmektedir (Proffit 1992).

Sınıf III maloklüzyonlu bireylerde iskeletsel olarak SNB açısının arttığı, ANB açısının negatif olduğu, mandibular düzlem açısı ve gonial açının, anterior yüz yüksekliği, arka kafa kaidesi uzunluğu ve mandibular uzunluğun arttığı belirtilmiştir. Dişsel olarak da maksiller keserlerin protrüzyonu ve dentoalveolar kompanzasyonu sağlamak amacı ile mandibular keserlerin retrüzyonu ile üst molarlara göre daha mezialde konumlanmış alt molarlar olduğu bildirilmiştir (Guyer ve ark 1986).

Williams ve Andersen (1986), MP'nin mandibula uzunluğundaki artışa bağlı olarak görüldüğünü belirtmişlerdir. Normal bireylerle karşılaştırıldığında Go-Gn (gonion-gnathion) ve Go-Me (gonion-menton) ile değerlendirilen korpus uzunluğu, Sınıf III bireylerde daha uzun bulunmuştur (Singh 1999). Guyer ve ark (1986) da Jacobson ve ark (1974)'ın bulgularını destekleyecek şekilde kızlarda ve erkeklerde artmış korpus uzunluğunu göstermişlerdir.

Mandibular prognatizme sahip olan hastalarda kondilin daha önde konumlandığı belirtilmiştir. Seren ve ark (1994), bilgisayarlı tomografi kullanarak inceledikleri bireylerde mandibulanın önde konumlandığı durumlarda kondil protrüzyonu olduğunu göstermişlerdir. Benzer bir çalışmada Sınıf III bireylerde Sınıf II bireylere göre temporomandibular eklem pozisyonunun daha önde konumlandığı gösterilmiştir (Baccetti ve ark 1997).

1.1.2. Mandibulanın Büyüme ve Gelişimi

Büyüme; temel olarak genetik ve çevresel faktörlerden önemli derecede etkilenmektedir. Ortodontik tedavi ihtiyacının önemli kısmını çenelerin orantısız büyümesi oluşturduğundan malokluzyon ve dentofasiyal deformitenin etiyolojik sürecinin anlaşılması için fasiyal büyümenin nasıl etkilendiği ve kontrol edildiğini incelemek gerekir (Proffit ve ark 2000).

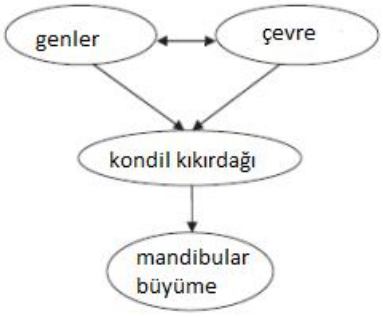
Alt çene kemiği doğumda tek bir kemik gibi görünmesine rağmen, sağ ve sol iki kemik parçası halinde olup bu iki parça, ortada simfiz bölgesinde bir tür bağ dokusu ile birbirine bağlanmışlardır. Bu bağ dokusu bebek 6-8 aylıkken kalsifiye olarak ortadan kalkacaktır. Doğumda alt çene ramusu kısa, kondil kısmı gelişmemiş ve alveol kemiği henüz oluşmamıştır. (Ülgen 2005). Alt çene tek bir kemikten oluşsa da gelişimsel ve fonksiyonel olarak mandibula korpusu, kondil, çene ucu, angular, koronoid ve alveoler bölgeleri içeren çeşitli ünitelerden oluşmuştur (Sasaki ve ark 2009).

Alt çene sagittal, vertikal ve transvers olmak üzere üç boyutlu olarak büyüme göstermektedir. Alt çenenin sagittal yön büyüme ve gelişiminde kondiler büyüme önemli bir yer tutmaktadır. Alt çene kondil başlarında bulunan kondil kıkırdağı alt çene ve yüz iskeletinin en önemli büyüme bölgelerinden olup 19 yaşına kadar aktiftir. Büyüme bittikten sonra uzun kemik epifiz kıkırdakları tamamen kalsifiye olmasına karşın, kondil kıkırdağı hiçbir zaman tamamen kalsifiye olarak ortadan kalkmaz (Ülgen 2005).

Kondilin büyüme yönü aynı bireyin değişik yaşlarında farklılıklar göstermektedir. Doğumdan sonraki ilk yıllarda kondil arkaya ve yukarı doğru büyümekteyken daha ileri yaşlarda ise daha çok yukarıya doğru büyümektedir Ayrıca kondiler büyüme miktarı da yaşla birlikte farklılık göstermektedir. Kondilin arkaya doğru büyümesine adaptasyon için ramus arka kenarında ve çene ucunda kemik appozisyonu, alveol kemiği labial yüzeyinde de kemik rezorbsiyonu görülmektedir (Ülgen 2005).

Alt çenenin vertikal yön büyüme ve gelişiminde kondilin yukarı doğru büyümesiyle hem processus coronoideus hem de incisura mandibularis'te meydana gelen appozisyonlarla ramus bütünüyle arkaya ve yukarıya doğru büyümektedir. Aynı zamanda alt çene korpusunun ön tarafının alt kenarında ve alveol kemikte kemik appozisyonu olmaktadır (Ülgen 2005).

Kondil kıkırdağının mandibula büyümesi açısından önemli bir bölge olduğu belirtilmiştir (Copray ve ark 1988). Kondil kıkırdağı, ergenlik öncesi bireylerde hem eklem yeri hem de büyüme bölgesi olarak rol almakla birlikte, yapısal ve büyüme karakteristikleri bakımından diğer kıkırdak büyüme bölgelerinden farklı olarak sekonder kıkırdak olarak görev yapmaktadır (Hinton ve Carlson 2005). Mekanik yükleme veya fonksiyonel uyaranlar kondil kıkırdağının yanıtını ve mandibulanın sonradan büyümesini etkileyebilmektedir (Kiliaridis ve ark 1999). Ayrıca McNamara ve Carlson (1979), kondil kıkırdağının çevresel değişikliklere duyarlı olduğunu saptamış ve mandibular prognatizme yatkınlık oluşturan genlerin varlığında, bu biyomekanik durumların da eklenmesiyle anomali şiddetinin artabileceğini belirtmişlerdir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Mandibular büyümeyi etkileyen faktörler.

Mandibula kondil kıkırdağının büyüme ve gelişimi, mandibulanın yüksekliği ve uzunluğundaki artışa katkısından dolayı ortodonti çevrelerinde büyük ilgi görmüştür. Her ne kadar başlarda büyüme kapasitesi olan bir büyüme merkezi şeklinde düşünülse de, kondil kıkırdağı büyümesinin, kafadaki komşu bölgelerin özellikle maksillanın büyümesine yüksek adaptasyon gösterecek şekilde olduğu anlaşılmıştır (Hinton ve Carlson 2005).

Mandibular büyümede ilki 5-10 yaş arasında, ikincisi ise 10-15 yaş arasında görülmek üzere iki özel hızlı büyüme dönemi olduğu bilinmektedir. Mandibular genişlikteki büyüme erken adölesan dönemde tamamlanırken mandibular uzunluktaki büyüme ise kızlarda menstural siklusun başlamasından 2-3 yıl sonra, erkeklerde ise seksüel matüriteye ulaşılmasından 4 yıl kadar sonra tamamlandığı bildirilmiştir. Mandibular yükseklikteki büyümenin ise kızlarda geç ergenlik döneminde, erkeklerde ise 20'li yaşların başlarında sona erdiği belirtilmiştir. (Hinton ve Carlson 2005).

İskeletsel prognatizme sahip bireylerin büyüme paternini inceleyen Mitani ve ark (1986) prepubertal dönemde Sınıf III bireylerle Sınıf I bireylerin benzer büyüme artışları (maksilla ve mandibula) gösterdiğini bildirmiştir. Bu sonuca göre Mitani ve ark (1986), mandibular gelişim fazlalığının daha erken dönemlerde oluştuğunu savunmaktadırlar. Büyüme gelişim döneminde olup yaşları 10-15 arasında değişen Japon erkek bireylerde büyüme değişikliklerinin incelendiği çalışmada, hem Sınıf I hem de Sınıf III grubunda pubertal dönemde benzer büyüme artışı (maksilla ve mandibula) meydana geldiği gösterilmiştir (Sakamoto ve ark 1984). Bu sonuca göre, yine iskeletsel malokluzyonun pubertal dönemden önce belirlendiği ve sonrasında da devam ettiği düşünülmektedir. Mitani ve ark (1986), 15-18 yaşları arasındaki bireylerde post pubertal dönemde yine iskeletsel Sınıf III bireylerin maksiller ve mandibular büyüme artış miktarlarının benzer olduğunu ve Sınıf III bireylerin morfolojik özelliklerinin post pubertal dönemde de devam ettiğini bildirmişlerdir.

Genç memelilerde kondil proliferasyonunun korpus uzunluğunu arttırdığını gösteren hayvan çalışması, mandibular büyüme paternindeki değişikliğin mandibular prognatizm görüntüsüyle ilişkili olabilecek form değişikliğine neden olduğu hipotezini desteklemektedir (Samat 1986). Bir başka çalışmada, ratların kondil kıkırdağında büyüme hormonu (BH) reseptörleri bulunduğu belirtilmiş ve TME'de kondilin fibröz artiküler yüzeyinde Insülin like Growth Factor (IGF-1) reseptörleri gösterilmiştir (Visnapuu ve ark 2001). BH yetmezliği olan ratlara verilen BH takviyelerinin kondil kıkırdağında mitotik aktiviteyi arttırdığı ve daha kalın bir kıkırdak oluşumunu sağladığı gösterilmiştir (Ramirez-Yanez ve ark 2004). Ayrıca Maor ve ark (1989) fareye *in vitro* olarak verilen BH'ye cevap olarak kondil

kıkırdağının kondroprogenitör ve kondroblastik bölgelerinin kalınlaştığını göstermişlerdir.

IGF-1'in, insan ve farelerde vücut boyutlarını etkilediği bilinmektedir (Baker ve ark 1993, Woods ve ark 1996). BH/BHR/IGF-1 sistemi fare ve insanlarda iskelet büyüme ve gelişiminde önemli bir role sahiptir (Sjögren ve ark 2000) . Fibroblast Growth Factor 2 (FGF-2) ve IGF-1'in kondil kıkırdak matriksinde varlığı ve bu büyüme faktörlerinin reseptörleri için kondil kıkırdağı tarafından salınan yüzey reseptörleri gösterilmiş, reseptör aktivasyonunun kondil kıkırdağı büyümesinde önemi belirtilmiştir (Hinton ve Carlson 2005).

Mandibulanın, çiğneme kasları ve nazomaksiller kompleksin büyümesini de sağlayan orofarinks büyümesine cevaben genişleyerek büyüdüğü düşünülse de gelişimsel aşamaları tam olarak anlaşılamamıştır ve morfolojik olarak Sınıf III malokluzyonun nasıl geliştiği henüz net değildir (Singh 1999).

Negatif ANB açısına sahip bireylerin, diş erüpsiyonu göz önüne alınarak 3 farklı maturasyon dönemine ayrıldığı çalışma sonucunda Dietrich (1970), süt dişlenmedeki bireylerin yarısının normal maksillomandibular ilişkiye sahipken, karma ve daimi dişlenme dönemindekilerin sadece dörtte birinin normal ilişkiye sahip olduğunu göstermiştir. Mandibular protrüzyon insidansı süt dişlenme grubunda %20, daimi dişleme grubunda ise %34 olarak bulunmuştur. Buna göre zamanla iskeletsel problemlerin daha kötüye gittiği belirtilmiştir.

1.1.3. Mandibular Prognatizm Epidemiyolojisi

Genel populasyonda MP ve Sınıf III malokluzyon sık görülmemektedir (Litton ve ark 1970). Yapılan bir çalışmada Sınıf III malokluzyona sahip bireylerin %45,2'sinde mandibular protrüzyon, %33'ünde maksiller retrüzyon, % 9,5'inde maksiller retrüzyonla birlikte mandibular protrüzyon bulunduğu, %9,5'inde ise maksiller ve mandibular pozisyonun normal olduğu bildirilmiştir (Sanborn, 1955). Mandibular protrüzyon yüzdesinin (%49) en yüksek bulunduğu çalışmada Jacobson ve ark (1974), maksiller retrüzyonun %26 olduğunu belirtmişlerdir. 11-18 yaş

aralığında Sınıf III maloklüzyona sahip 107 bireyin incelendiği çalışmada, bireylerin %43'ünde mandibular protrüzyon, %19,6'sında maksiller retrüzyon, %4,7'sinde hem mandibular protrüzyon hem maksiller retrüzyon olduğu belirtilmiştir (Spalj ve ark 2008).

Yukarıda bahsedilen çalışmalanın aksine Sınıf III maloklüzyonda normal konumda mandibula ile birlikte maksiller retrüzyon durumu ile daha sık karşılaşıldığını savunan çalışmalar da mevcuttur (Dietrich 1970, Guyer ve ark 1986). Dietrich (1970), daimi dentisyondaki Sınıf III maloklüzyon grubunun %37,5'inde maksiller retrüzyon, %31'inde mandibular protrüzyon ve %1,5'inde maksiller retrüzyonla birlikte mandibular protrüzyon bulunduğunu, %24'ünde ise maksiller ve mandibular pozisyonun normal olduğunu bildirmiştir. Williams ve Andersen (1986), ortalama yaşları 11 olan 24 Sınıf III maloklüzyonlu bireyin %37'sinde maksiller retrüzyon ve %29'unda mandibular protrüzyon olduğunu belirtmişlerdir.

Beyaz ırkta Sınıf III maloklüzyonun insidansı %1-4, Japon populasyonunda %4-5 iken, Çin populasyonunda %4-14'lere kadar çıkmaktadır (Staudt ve Kiliaridis 2009, Xue ve ark 2010a). Japon toplumunda ortodontik tedavi için başvuran hastalarda bu oranın %48'e, Kore toplumunda ise %50'ye kadar çıktığı gösterilmiştir (Ishii ve ark 1987, Yang 1990). Türk toplumunda yapılan çalışmalara bakıldığında Sınıf III insidansını Sarı ve ark (2003), %10,2; Sayın ve Türkkahraman (2004) ise daha yüksek bir oranla % 12 olarak belirlemişlerdir.

1.1.4. Mandibular Prognatizm Etiyolojisi

MP çok farklı etiyolojik faktörlere bağlı olarak gelişebilmektedir. Bu iskeletsel düzensizliğin nedenleri arasında kalıtım önemli bir yer tutmaktadır (Proffit 1992). Birçok çevresel faktörün etkisi olduğu düşünülse de tüm aile bireyleri gözlendiğinde kalıtımın etiyolojide esas rolü üstlendiği hipotezi desteklenmektedir (Grabb ve ark 1961). Kalıtımsal geçişin tarihte en iyi örneği Habsburg Hanedanlığı'dır. Prognatik çene ucu, protrüze olmuş alt dudak (Habsburg dudağı) ve sivri uçlu kemerli burun (Habsburg burnu) ile karakterize bu ailesel özellikler, ailedeki 40 bireyin 33'ünde görülmektedir (Grabb ve ark 1961).

Litton ve ark (1970)'nın yaptığı çalışmada MP üzerine kalıtımın etkisi değerlendirilmiştir. Şiddetli Sınıf III malokluzyona sahip çocukların 1/3'ünün ebeveyinlerinde de aynı problemin görüldüğü ve 1/6'sının da aynı tip iskeletsel probleme sahip kardeşinin olduğu belirtilmiş, etkilenmiş ebeveynlerin çocuklarında cinsiyete bakılmaksızın %13'lük geçiş gözlendiği bildirilmiştir. Bir başka çalışmada, Japon populasyonunda 243 aileden 1362 kişi incelenmiş ve mandibular prognati görülen ailelerin çocuklarında; eğer anne etkilenmişse %18, baba etkilenmişse %31, her iki ebeveyn de etkilenmişse %40 oranında geçiş görüldüğü belirtilmiştir (Suzuki 1961).

Genel olarak mandibulanın genetik olarak belirlenmiş şekil ve miktarda büyüdüğü kabul edilse de; fizyolojik, patolojik ve mekanik faktörler de bu büyümeyi etkilemektedir (Mew 1986). MP etiyolojisinde yer alan çevresel faktörler arasında solunum bozuklukları, büyümüş tonsiller, hormonal bozukluklar, travma, postür bozuklukları, konjenital anatomik defektler, alışkanlığa bağlı veya anteriorda ve daha aşağıda konumlanmış düz bir dil nedeni ile mandibulanın önde konumlandırılması sayılabilir (Litton ve ark 1970).

MP etiyolojisinde diğer anomalilerde olduğu gibi yumuşak dokuların da rolü önemlidir (Ishii ve ark 1987). Adenoid ve tonsil hipertrofisi ve septum deviasyonu gibi solunum yolunu engelleyerek ağız solunumu yaptıran etkenler, orofarengeal hava geçişini sağlamak için dilin daha önde ve aşağıda konumlanmasına ve mandibulanın saat yönünde rotasyona uğramasına sebep olmaktadır (Takada ve ark 1993).

Dietrich (1970), glenoid fossanın öne doğru yer değiştirmesine bağlı olarak mandibulanın önde konumlanmasının etiyolojide önemli bir faktör olduğunu belirtmiştir. Mandibula sürekli ileride konumlandırıldığında anormal mandibular postür sebebi ile mandibulanın kondilden sürekli olarak uzaklaştığı ve bunun da mandibular büyümeyi stimule edebildiği belirtilmiştir (Rakosi ve Schilli 1981). Alt çenesini ileride konumlandıran çocuklarda, bu alışkanlık erken safhada önlenebilirse mandibular büyüme oranının azalacağı ve bu hatalı postür yeniden devam ettirilmediği sürece büyüme hızında artış görülmeyeceği belirtilmiştir (Mew 1986).

Erişkin dönemde, ön hipofiz tümörü sonucunda fazla büyüme hormonu salgılanmasıyla kondil kıkırdağı tekrar aktive olarak mandibular prognati oluşmasına sebep olabilir. Akromegali olarak adlandırılan bu endokrin bozuklukta, tümör alındığı zaman aşırı mandibular büyüme durmasına rağmen oluşan iskeletsel deformite kalıcı bir hal alır (Proffit 1992). Mentalis kas hipofonksiyonunun da mandibular protrüzyonla ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Seren 1990).

1.1.5. Mandibular Prognatizm Tedavisi

MP tedavisi hastanın yaşına, farklı iskeletsel ve dental özelliklerine, bireyin içinde bulunduğu büyüme dönemine bağlı olarak değişmektedir (Proffit 1992). Mandibular protrüzyona sahip bireylerin tedavisine karar verilirken en önemli konulardan birisi de tedavi zamanlamasıdır. Bazı araştırmacılar bu iskeletsel problemin tedavisine erken dönemde başlanması gerektiğini belirtirken (Stensland ve ark 1988), bazı araştırmacılar ise hastanın büyüme gelişim dönemi tamamlandıktan sonra ortognatik cerrahi ile tedavi edilmesini savunmaktadır (Subtelny 1980).

Genel bir tedavi yaklaşımı; büyüme döneminde mandibulaya ortopedik kuvvetler uygulamaktır. Bu tedavi iki çene arasında iyi bir anteroposterior ilişki sağlamak için mandibulanın yönlendirilmesine dayanmaktadır. Her ne kadar büyümekte olan mandibulaya ortopedik kuvvetlerin etkisi birçok çalışmada gösterilmiş olsa da kuvvetin ne kadar sürede, sıklıkta ve hangi doğrultuda uygulanması gerektiği klinik olarak daha detaylı incelenmelidir (Mitani 1981).

Hafif ya da orta derecede mandibular protrüzyona sahip bireylerde mandibular büyümeyi kontrol etmek ya da sınırlandırmak için çenelik tedavisi uygulanabilmektedir (Mitani ve Fukazawa 1986). Çenelik uygulaması sonrasında ramus büyümesinin azaldığı ve kondiler büyümenin yeniden yönlendiği gösterilmiştir (Sakamato ve ark 1984). Deguchi ve Mc Namara (1999) çenelik tedavisi ile alt çene büyümesinde bir azalma gözlemlemişlerdir. Aynı şekilde, kısa süreli (ortalama 31 ay) çenelik uygulaması sonucu ANB açısında bir düzelme olduğu; uzun süreli (ortalama 86 ay) uygulamada ise ANB açısında düzelmenin yanı sıra ramus büyüme hızının ve alt çene uzunluğunun azaldığı, alt çenenin aşağı-geri

rotasyon yaptığı bulunmuştur (Deguchi ve ark 2002). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, çeneliğin dentoalveoler düzeyde etkili olduğu ve ön çapraz kapanışın düzelmesinde alt çenenin aşağı-geri rotasyonunun yanı sıra üst keser protruzyonu ve alt keser retruzyonu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Tuncer 2008).

Ortopedik çenelik apareyi ile tedavi edilen Japon adölesanların incelendiği çalışmada, mandibulada boyutsal değişiklik elde etmenin çok zor olduğu ancak mandibulanın aşağı ve geri yönlendirilmesi sonucunda prognatik profilin daha düz bir profile dönüştüğü belirtilmiştir (Lu ve ark 1993). Çenelik tedavisinin kısa ve uzun dönem etkilerinin incelendiği bir çalışmada, başlangıçta profilde olumlu değişiklikler izlenirken, büyüme döneminde relaps görülmüştür. Araştırmacılar gerçek mandibular prognatizme sahip bireylerde çenelik tedavisinin endike olmadığını, büyüme gelişim tamamlandıktan sonra hastalara cerrahi yaklaşım gerektiğini savunmuşlardır (Sugawara ve Mitani 1997).

Büyüme ve gelişimi tamamlanmış olan bireylerde iskeletsel anomalinin minimal olduğu durumlarda sadece dişsel ilişkilerin düzeltildiği sabit ortodontik mekanikler ile kamuflaj tedavisi (Moullas ve ark 2006) uygulanabilirken, ciddi iskeletsel mandibular prognatiye sahip hastalar ortodontik tedavi ve ortognatik cerrahi kombinasyonu ile tedavi edilmelidir. Mandibular prognatizm vakalarının çoğunda tek tedavi seçeneğinin ortognatik cerrahi olduğu savunulmaktadır (Tweed 1966, Litton ve ark 1970, Proffit 1992). Bu hastalarda iskeletsel ve fasiyal uyumsuzluğun sagittal split ramus osteotomi veya intraoral vertikal ramus osteotomi ile mandibulanın geriye alınarak giderilmesi gerekmektedir (Terry ve White 1990).

Mandibular büyümeyi etkileyen faktörlerin belirlenmesinin, mandibular prognatinin erken teşhis ve tedavisinin sağlanmasında yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Sasaki ve ark 2009).

1.2. Mutasyon ve Polimorfizm

1.2.1. Mutasyon, Tanımı ve Çeşitleri

Mutasyon; bir canlının genetik materyalinde meydana gelen kalıcı değişimlerdir (Nussbaum ve ark 2001). Bir organizmanın genetik içeriği hassas bir denge içinde olduğundan, genetik bilgi içeriğindeki küçük bir değişiklik bile fenotipik çeşitliliğe yol açabilir. Daha büyük farklılaşmalar özellikle hayvanlarda öldürücü olabilir (Klug ve ark 2006).

Mutasyonlar, spontan olarak kendiliğinden oluşabilir. Bu durumda genellikle DNA (deoksiribonükleikasit) replikasyonu sırasında genlerin nükleotid dizilerinde rastgele değişimler meydana gelmektedir. Herhangi bir dış etken sonucu oluşan mutasyonlara ise uyarılmış mutasyon, mutasyona neden olan ajanlara ise mutajen adı verilmektedir (Klug ve ark 2006). Ultraviyole (UV) ışınlar, radyasyon gibi fiziksel mutajenler olabildiği gibi; ilaçlar, hormonlar gibi kimyasal mutajenler ve virüsler gibi biyolojik mutajenler de olabilir. Mutasyonlar temel olarak genom mutasyonları, kromozom mutasyonları ve gen mutasyonları olmak üzere 3 ana başlık altında toplanabilir. Genom mutasyonları; anöploidi gibi kromozomlardaki sayısal değişiklikleri içerirken, kromozom mutasyonları; kromozomun hatalı ayrılması sonucu kromozom sayısının ve yapısının değişmesini, gen mutasyonu ise genlerdeki değişiklikleri kapsamaktadır (Nussbaum ve ark 2001).

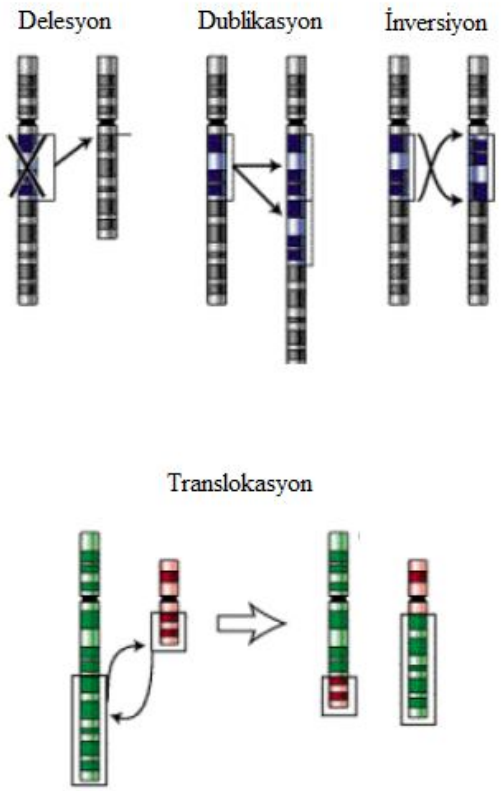
Kromozom Sayısının Değişmesi

Kromozomlar mitoz ve mayoz bölünme sırasında bazen düzenli olarak ayrılmazlar. Sonuçta kromozom sayısı bakımından farklı hücreler meydana gelir ve kalıtsal açıdan bazı sorunlar oluşabilir. Kromozom sayısının değişmesi sonucu oluşan mutasyonlar, öploidi ve anöploidi olmak üzere ikiye ayrılır. Kromozom sayısındaki artış ve azalışlar temel kromozom sayısının (n=23) tam katları kadar oluyorsa buna öploidi denir. Öploidide asıl problem, hücrede çekirdek bölünmesi olduğu halde sitoplazma bölünmesinin olmamasıdır. Diploidi ve poliploidi buna örnek olarak verilebilir. Anöploidi ise bazı kromozomların genomdan eksilmesini

veya artmasını tanımlar. Bu durum mayoz veya mitoz bölünme sırasında hatalı bir kromozom ayrılması ile oluşmaktadır. Diploid genomdan tek kromozom kaybı monozomi, diploid genoma tek kromozom eklenmesi ise trizomi adını alır. İnsanlardaki kromozom sayısı ile ilgili sendromlara örnek olarak; Down sendromu (Trizomi 21 yani insanda fazladan bir 21. kromozomun bulunması durumu), Edwards sendromu (Trizomi 18) ve Patau sendromu (Trizomi 13) gösterilebilir (Klug ve ark 2006).

Kromozom yapısının değişmesi

Krossing-over, homolog kromzomlar arasındaki parça değişimidir. Mayoz bölünmenin ilk evrelerinde krossing-over ile kromozomlardan kopan parçalar yer değiştirip tekrar kromozomlara yapışabilirler. Kromozom yapısının değişmesi, bir ya da daha fazla kromozomun bir bölümünde genetik materyalin kaybı ya da yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Delesyon ya da eksilme, kromozomun bir ya da birden fazla bölgeden kırılarak kaybolması demektir. Delesyonlar sonucu fenotipik çeşitlilik görülebilir. Duplikasyon ise bir kromozom parçasının o kromozom üzerinde iki veya daha fazla tekrarla görülmesidir. Dublikasyonlar sonucu da fenotipik çeşitlilik oluşabilmektedir ve bu durumun evrim sürecinde genetik çeşitliliğe katkısı vardır. İnversiyon, bir kromozumun iki defa kırılması ve kopan parçanın 180° ters dönerek tekrar aynı kromozoma bağlanması iken translokasyon ise bir kromozom parçasının genomda yeni bir bölgeye taşınmasıdır (Resim 1.1) (Klug ve ark 2006).



Resim 1.1. Kromozom yapısının değişmesiyle oluşan mutasyonlar (Klug ve ark 2006).

Gen (Nokta) mutasyonları

Gen mutasyonları, genetik materyalin temelini oluşturan, çift zincirli DNA molekülünü oluşturan genlerdeki değişiklikten kaynaklanır. Bir DNA molekülündeki bir baz çiftinin (Adenin (A)-Timin (T)-Guanin (G)-Sitozin (C)) başka bir baz çiftine dönüşümü sonucunda ortaya çıkan mutasyona nokta mutasyonu adı verilmektedir. Pürin (A, G) bazın bir başka pürin baza veya primidin(T, C) bazın başka bir primidin bazına yer değişikliğine transisyon adı verilirken; pürin baz ile primidin baz arasındaki yer değişikliğine transversiyon adı verilir (Klug ve ark 2006).

Bir DNA dizisindeki tek bir nükleotid değişimi (nokta mutasyonları) bir genin protein kodlayan amino asidini farklı bir amino aside dönüştürüyorsa, mutasyon missense (yanlış anlamlı) mutasyon olarak tanımlanır. Normalde mRNA translasyonu bir sonlanma kodonuna geldiğinde durur. Nokta mutasyonu sonucunda

'Dur' kodonu oluşmuş ve translasyon tamamlanamadan sonlanmışsa bu durum nonsense (anlamsız) mutasyon adını alır (Nussbaum ve ark 2001).

1.2.2. Polimorfizm ve Tanımı

Temel Mendel kalıtım gösteren hastalıklar ile kompleks genetik hastalıklar arasındaki farklardan birisi de hastalığın oluşması için gereken gen sayısı ile birlikte ilgili genlerin hastalıklı fenotipin ortaya çıkmasında ne kadar etkili olduklarıdır (Kornman ve Newman 2000).

İnsanların temel yapı taşı olan DNA özelliklerinin iki birey arasındaki benzerlik oranı %99,9'tur; sadece %0,1'lik küçük bir kısım bireyler arasında farkı oluşturur. Kompleks hastalıkların temelinde yatan etken de bireyler arasındaki bu çeşitliliktir (Battaloğlu ve Başak 2010). Genlerde, genetik çeşitliliğe yol açan bu genetik varyasyonlar polimorfizm olarak adlandırılmaktadır. Genetik polimorfizmler, genomda çoğunluğu tek nükleotit düzeyinde olmakla birlikte ikili, üçlü nükleotit tekrar sayılarında değişiklikler ve daha nadir olarak kromozom yapısındaki düzenlemeler şeklinde görülebilmektedir (Ekmekçi ve ark 2008).

Genetik polimorfizm, bir popülasyonda, farklı alellere bağlı olarak, genetik olarak belirlenmiş iki ya da daha çok alternatif fenotipin görülmesidir (Kornman ve Newman 2000). Polimorfizm görülme sıklığı mutasyonlardan daha yüksektir. Toplumda %1'den daha fazla görülen gen seçenekleri ya da genetik çeşitlilik tipi polimorfizm olarak tanımlanır (Ekmekçi ve ark 2008). Polimorfizmlerin anlaşılmasında hastalıkla ilişkili olduğu bildirilen "allel"lerin sağlıklı kimselerde de bulunabildiği ve hastalıklı bazı bireylerde ise bu "allel"lerin bulunmadığının bilinmesi önemlidir (Kornman ve Newman 2000).

Genetik polimorfizmler, bazı hastalıklardaki kişisel farklılıkların belirlenmesini sağlamaktadır. Bazı gen polimorfizmleri bir hastalık riskini arttırırken bazıları azaltabilmekte (koruyucu allel), bazı polimorfik allellerin risk oluşturması ise yalnızca çevresel bir faktörün etkisi altındayken gerçekleşebilmektedir (Ekmekçi ve ark 2008). Çevresel faktörler de en az genetik faktörler kadar bazı hastalıkların

ortaya çıkmasında etkili olmaktadır. Etiyolojilerinin karmaşık olması, birçok etkenin rol oynadığı hastalıklarda özel bir etkenin hastalığı ne kadar etkilediğinin belirlenmesini güçleştirmektedir. Eğer bir bireyde bir hastalıkla ilişkili polimorfizm gözleniyorsa bunun klinik sonuçlarını sadece polimorfizme bakarak tahmin etmek mümkün değildir (Kornman ve Newman 2000).

Polimorfizm, morfolojik olarak kulak kepçe şekillerindeki varyasyon olarak fenotipte görülebilir. İmmünolojik olarak kan grubu bileşiklerinin varyant formlarında ve protein düzeyinde gözlenebilmektedir. Ayrıca DNA düzeyinde nükleotid farklılıkları (DNA polimorfizmi) seklinde de görülebilmektedir (Devrim ve Kaya 2004).

1.2.3. Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP: Single Nucletide Polymorphism)

Polimorfizmler için tek bir nükleotidden kromozom seviyesine kadar farklı polimorfik yapılar tanımlanmıştır. Tek nükleotid polimorfizmleri bir popülasyonun normal bireyleri arasında genomik DNA'nın farklılık gösterdiği tek baz çifti (bç) değişiklikleridir (Deligezer ve ark 2004). Örneğin DNA üzerinde belirli bir noktada bulunan T-A baz çifti popülasyondaki diğer bazı bireylerde G–C baz çifti olarak bulunuyorsa bu bölgede bir SNP'den söz edilebilir. Homolog kromozomların her ikisinde de T-A baz çiftinin bulunduğu homozigot T-A genotipi, homolog kromozomların birisinde T-A diğerinde G-C olan heterozigot genotip ve homolog kromozomların her ikisinde de G-C nükleotidleri bulunan homozigot G-C genotipi olarak üç farklı genotip oluşmaktadır. Bir genin kodlanmayan bölgesinde de SNP'ler yer alabilir (Lewin 2000).

Bir popülasyonda bulunan bireylerin DNA dizilimleri arasındaki %0,1'lik yapısal farkın büyük kısmını SNP'ler oluşturur. SNP'ler aynı şartlar altında bazı bireylerin hastalığa daha yatkın olmasına, aynı hastalığın farklı bireyler arasında farklı seyretmesine ve tedaviye verilen yanıtta bireyler arasında farklılıklar bulunmasına büyük oranda açıklık getirir (Battaloğlu ve Başak 2010).

SNP'lerin büyük kısmı gen kodlamayan bölgelerdedir. Rastgele seçilen iki insanın DNA'sı protein kodlayan kısımda 1000–3000 bç civarında bir farklılık gösterirken kodlanmayan bölgelerde yaklaşık olarak 500–1000 bç'de bir farklılık göstermektedir. SNP'ler insanlar arasındaki genetik farklılıkların en genel türleridir ve hem insanlar hem de kromozomlar arasında eşit dağılım göstermektedirler (Lewin 2000).

Mutant bir genotipin en azından belirli bir derecede ifadesini gösteren bireylerin yüzdesi olarak tanımlanan penetrans, mutasyonda yüksek iken SNP'lerin penetransları düşüktür. Mutasyonlar nadir görülmekle birlikte tek başına hastalık etkeni olabilmekteyken SNP'ler sık görülüp tek başlarına hastalığa neden olmayabilirler. İnsan genomunda 15-30 milyon SNP olduğu varsayılmakta olup günümüzde 13 milyona yakını tanımlanmıştır (Battaloğlu ve Başak 2010).

1.2.4. Genetik Polimorfizmlerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler

Genetik polimorfizmlerin belirlenmesinde PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), Real-time PZR, DNA dizi analizi, Southern-blot, Dot-blot, Reverse hybridizasyon tekniği, RFLP (Restriction Fragment Lenght Polymorpfism: Restriksiyon Parça Uzunluklu Polimorfizm), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms: Yükseltgenmiş Parça Uzunluklu Polimorfizm), SSCP (Single Stranded Conformational Polimorphism: Tek zincir konformasyonel polimorfizm), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA: Rastgele Yükseltgenmiş Polimorfik DNA), Allel Spesifik Oligonükleotid (ASO), fragman analizi ve mikroarray gibi laboratuvar yöntemleri ve teknolojileri kullanılmaktadır (Powell ve ark 1996).

1.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), *in vitro* koşullarda bir seri reaksiyon sonucunda özgül bir DNA dizisinin çoğaltılması esasına dayanmaktadır (Klug ve ark 2006). Mullis (1990), tarafından geliştirilen PZR; primer adı verilen kısa DNA dizileri tarafından tanımlanan hedef nükleik asit zincirlerinin polimeraz enzimleri

kullanılarak çoğaltılmasını sağlayan hassas ve uygulaması kolay bir teknik olup temelde üç aşamadan oluşmaktadır:

1. Denatürasyon: Çift zincirli DNA yaklaşık 5 dakika 92-95 °C ısıya maruz bırakılıp iplikçikler ayrılarak tek zincirli hale getirilir.

2. Annealing (Bağlanma): Sıcaklığın 50-70 °C'ye düşürülmesiyle özgül primerler açılan DNA zincirlerine bağlanır.

3. Primer Uzaması: Isıya dayanıklı DNA polimeraz ile primerlerin uzaması sağlanır ve DNA'nın çift zincirli kopyası oluşturulmuş olur (Klug ve ark 2006).

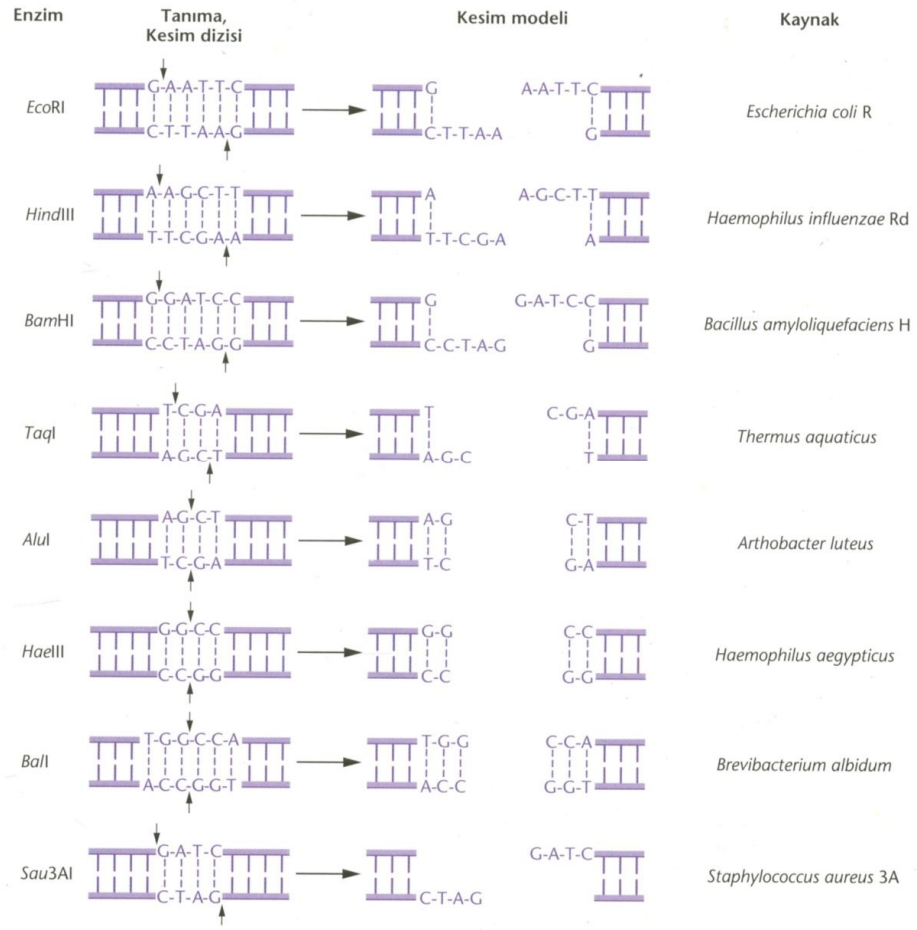
PZR çalışma şartlarını etkileyen faktörler arasında; enzim konsantrasyonu, magnezyum konsantrasyonu, DNA zincirinin açılması için gerekli zaman ve sıcaklık, primer uzunluğu, konsantrasyonu ve yapısı ile birlikte döngü sayısı sayılabilir (Innis ve Gelfand 1990).

PZR'nin avantajları arasında kısa bir süre içerisinde küçük bir DNA molekülünün bile milyonlarca çoğaltılabilmesi, çok hassas ve güvenilir olması sayılabilir. Dezavantajları arasında ise pahalı laboratuar ekipmanlarına ve eğitimli elemana ihtiyaç olması, kullanılan sarf malzemelerin pahalılığı yer almaktadır (Klug ve ark 2006).

1.2.6. Restriksiyon Enzimleri

Restriksiyon enzimleri bakteriler tarafından üretilen protein yapılardır. Farklı mikroorganizmalardan 200'den fazla restriksiyon enzimi tanımlanmış olmakla birlikte 100'e yakını yaygın olarak kullanılmaktadır. Restriksiyon enzimi DNA moleküllerini özgül nükleotit dizilerinden tanır ve DNA'ya bağlanır. Bu tanıma dizisi içinden çift ipliği keser. Bu enzimlerin klonlamadaki yararı DNA'yı her zaman doğru şekilde keserek fragmanlara ayırması ve restriksiyon parçalarını oluşturmasıdır. Bu parçaların büyüklüğü, enzimin DNA'yı hangi sıklıkta kestiğine göre hesaplanır ancak DNA'daki tanıma dizilerinin sayısı ve yerleşimi rastgele olmadığı için restriksiyon parçalarının gerçek büyüklüğü değişkenlik gösterir. Bu değişiklik aynı zamanda bir popülasyonda bulunan bireylerin genetik materyalleri arasındaki farklılığın bir göstergesidir. Bazı restriksiyon enzimleri, onlara ait tanıma dizileri,

kesme şekilleri ve elde edildikleri kaynaklar Resim 1.2'de gösterilmektedir (Klug ve ark 2006).



Resim 1.2. Bazı restriksiyon enzimleri, onlara ait tanıma dizileri, kesme şekilleri ve elde edildikleri kaynaklar (Klug ve ark 2006).

1.2.7. Kesim Parça Uzunluğu Polimorfizmleri "Restriction Fragment Lenght Polymorphisms" (RFLP)

Tek nükleotid polimorfizmlerin ortaya çıkışı, yeni bir restriksiyon bölgesinin şekillenmesine ya da var olan bir restriksiyon bölgesinin kaybolmasına neden olabilir. RSP'lerin (Restriksiyon Bölge Polimorfizmleri, RSP: Restriction Side Polymorphism) belirlenmesi en pratik olarak PZR kökenli bir yöntemle gerçekleştirilmektedir (Hartl ve Jones 2000). DNA'ların restriksiyon enzimleri ile kesilmesi sonucunda oluşturulan parçalar agaroz jel elektroforeziyle farklı

büyüklüklerde ayrışır. Bu ayrılan parçalar etidyum bromür (EtBr) ile boyanıp UV ışığı altında incelendiğinde seri bantlar halinde gözlenir (Klug ve ark 2006).

Polimorfizm gösteren bir bölge restriksiyon enzimlerinden biri için hedef kesim bölgesi içeriyorsa RFLP yöntemi ile kesim bölgesinin varlığına veya yokluğuna bakılarak polimorfizm belirlenebilir (Devrim ve Kaya 2002).

1.2.8. DNA Dizi Analizleri

DNA dizi analizleri ya da sekanslama DNA birincil yapılarının tespitinde ve nükleotid baz diziliminin belirlenmesinde kullanılan yöntemdir. Analiz bir nükleik asit dizisinin diğerine hibridizasyonuna dayanır. İlk dizi analiz çalışmaları 1960'lı yılların başında 75-80 nükleotitlik tRNA'larla başlamıştır (Zülal 2001).

DNA dizi analizinde günümüzde birbirinden farklı iki yöntem kullanılmaktadır. Bunlarda ilki Maxam ve Gilbert'in kimyasal kırılma yöntemi (Maxam ve ark 1977), diğeri ise Sanger-Coulson'un zincir sonlanma yöntemidir (Sanger ve ark 1977). Sanger–Coulson'un yöntemi enzimatik DNA sentezine dayanır ve günümüzün en yaygın kullanılan DNA dizi analizi tekniğidir. Bu yöntemde dizisi saptanacak olan DNA ipliği yeni sentezlenecek iplik için kalıp olarak kullanılır (Klug 2006).

İnsan Genom Projesi gibi büyük projeler çok sayıda DNA dizi analizi yapılmasını gerektirmektedir. Bu gelişmeler sonucunda ortaya çıkan otomatik DNA dizi analizleri zaman kazancı yanında, standart çalışma koşulları ve elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde de yarar sağlamıştır. Otomatik analizde de Sanger'in (1977) enzimatik DNA sentezine dayanan zincir sonlanma yöntemi kullanılmıştır. Otomatik DNA dizi analiz cihazları basit olarak, sabit bilgisayarda yüklü programlar ile bu programların yönettiği elektroforez sistemini içerir. Elektroforez süresince DNA' ya bağlanan floresan boya ışık ile taranan bölgeye geldiğinde uyarılır. Uyarılan boya kendi için karakteristik olan dalga boyunda ışığı geri yansıtır. Yansıyan bu ışık demeti bir detektör tarafından kaydedilir. Kaydedilen veriler bilgisayar programları ile değerlendirilerek sonuçlar grafiksel ya da matematiksel

olarak bilgisayar ekranına aktarılır. DNA dizi analizi cihazlarında 6 bazdan 1000 baza kadar güvenli okuma yapılabilmektedir (Sambrook ve ark 1989).

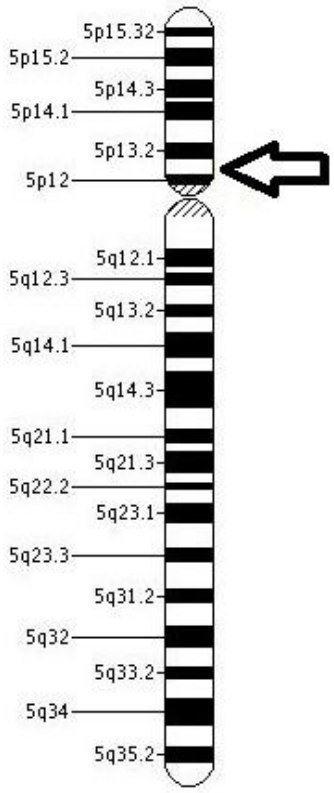
1.3. Büyüme Hormonu Reseptör (BHR) Geni

1.3.1. Büyüme Hormonu Reseptör (BHR) Geni

İnsan büyüme hormonu (iBH) hipofiz bezinden salınan ve birçok fonksiyonu bulunan bir hormondur. Vücut büyümesinin düzenlenmesi; karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasının kontrolü, hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonu ve immün fonksiyonu da içeren geniş bir etki alanı mevcuttur. Bu etkileri hedef hücreler üzerine direk etkiyerek gösterebildiği gibi hepatik veya yerel doku kaynaklı IGF-1'i uyararak indirek olarak da gösterebilir. Bu etkileşimlerin başlaması için, iBH spesifik hücre yüzey reseptörüne (iBHR) bağlanmalı ve çeşitli hücre içi sinyal yollarını aktive etmelidir (Wei ve ark 2009).

Büyüme hormon reseptörü (BHR), BHR geni tarafından kodlanan bir proteindir. Bu gen BH için bir transmembran reseptör olan proteini kodlar. BH'nin bu reseptöre bağlanmasıyla reseptör dimerizasyonu gerçekleşir ve büyümeyi sağlayan hücre içi ve hücreler arası sinyal iletim yolları aktive edilir (Online Mendelian Inheritance in Man; OMIM 2013).

BHR geni Büyüme Hormonu Bağlayıcı Protein (BHBP) geni olarak da adlandırılmaktadır. Bu genin sitogenetik lokasyonu 5p13.1-p12 bölgesinde yer almaktadır. Bu gen yaklaşık 87 kilo baz çifti (kbç) uzunluğunda olup 10 ekzondan oluşmaktadır (Yamaguchi ve ark 2001). Genomik koordinatları (GRCh37): 5:42,423,876 - 42,721,979 dir. OMIM kodu *600946 dır (OMIM 2013) (Resim 1.3).



Resim 1.3. BHR geni lokalizasyonu (OMIM 2013).

Büyüme hormonu direk veya indirek yolla kraniyofasiyal yapıların boyut ve açısal ilişkilerini modüle ederek kraniyofasiyal kompleksin büyüme ve gelişiminde önemli bir rol oynar. Moleküler genetik analizler sonucunda büyüme hormonu reseptörlerinin mandibular kondilde yer aldığı gösterilmiştir (Ramirez-Yanez ve ark 2005).

1.3.2. Büyüme Hormonu Reseptör (BHR) Geninin Yapısı

BHR geninin (#600946) 9 tanesi kodlanmış ve tanımlanmayan 5'UTR bölgesinde ilave ekzonla birlikte toplam 10 adet ekzonunun bulunduğu rapor edilmiştir. Ekzon 2 sinyal peptidini, ekzon 3 ile ekzon 7 arasındaki bölge hücre dışı alanı, ekzon 8 transmembran alanı, ekzon 9 ile ekzon 10'un bir kısmının hücre içi alanı kodladığı gösterilmiştir (Godowski ve ark 1989).

BHR sinyal iletimi için önemli olan 2 sitoplazmik bölge içermektedir. Bunlardan birisi box-1 bölgesi, diğeri ise C-terminus'ta yer alan 184 amino asitlik

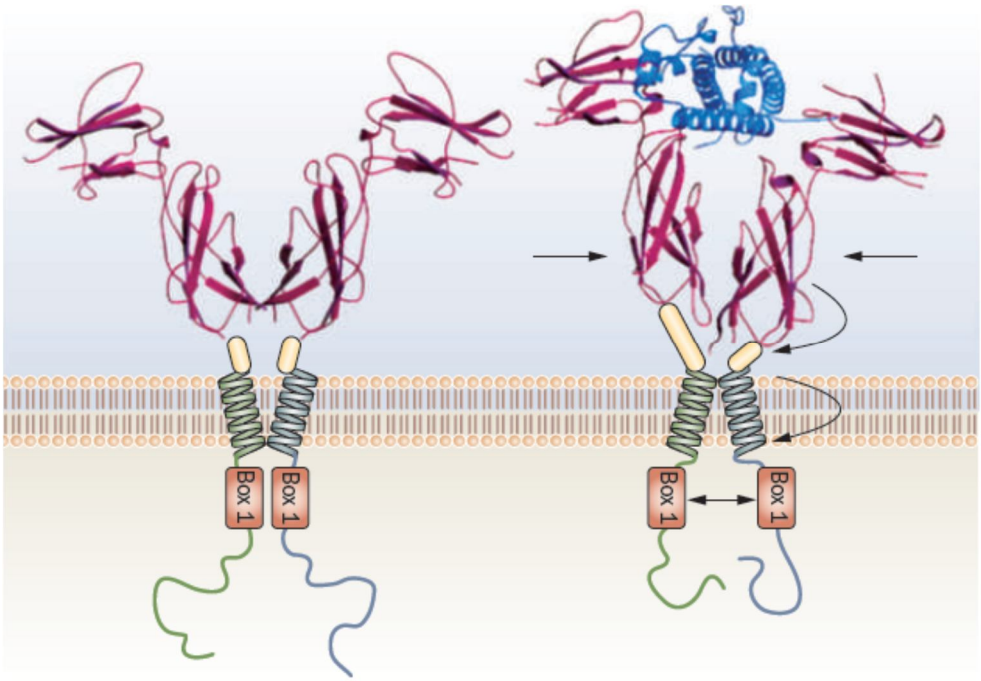
bölgedir. Bu bölge BHR'nin hücre içi bölgesinde sinyal iletiminden sorumlu olup bu bölgede olabilecek polimorfizmler sinyal iletimini etkileyerek IGF-1 salınımında değişikliğe sebep olabilir (Visnapuu ve ark 2001).

BHR 246 aminoasitten oluşan bir hücre dışı alan, tek bir transmembran alanı ve sitoplazmik alandan oluşmaktadır. BHR'nin insanlarda tam uzunluk olan izoformu ve ekzon 3'ten yoksun izoformu (d3BHR) olmak üzere 2 izoformu vardır. Bu 2 izoform genin oluşturulması esnasında ekzon 3'ün yapısına katılıp katılmamasına bağlı olarak tanımlanmıştır. d3BHR kodlayan allel insanlara özgüdür (OMIM 2013). Pantel ve ark (2003) çalışmalarında bu izoformun alternatif bir oluşum olmayıp 3. ekzonun delesyonuna uğramış bir BHR allelinden kaynaklandığını desteklemişlerdir.

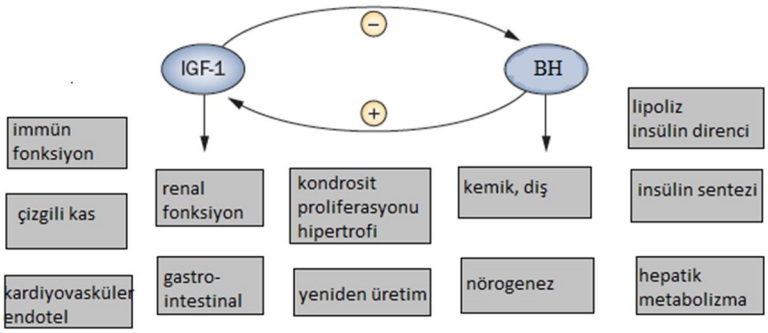
1.3.3. Büyüme Hormonu Reseptör (BHR) Geninin Fonksiyonu

Ekzon 3 tarafından kodlanan kısmın varlığına ve yokluğuna göre değişen BHR'nin 2 izoformu plasentada fonksiyonel protein yapılarına dönüşmektedir. Tam uzunluk, kısa uzunluk ve iki izoformun 1:1 oranda kombinasyonu şeklinde 3 oluşum paterni mevcuttur (OMIM 2013). Ekzon 3, 22 aminoasit uzunluğunda hücre dışı alan segmentini kodlar, bunun yokluğunda ekzon 2 ile 4 arasında aspartik asidin yerini alanin alır (Stallings-Mann ve ark 1996).

Biyolojik olarak aktif olan büyüme hormonu (BH1; 139250), IGF-1 sentezi ve salınımıyla hücre içi sinyal yolunu aktive etmek için transmembran reseptörüne (BHR) bağlanır. (Resim 1.4) Plazmada ise IGF-1 çözünebilen IGF-1 reseptörüne bağlanır (OMIM 2013). BH'nin BHR'ye bağlanması birçok sinyal iletim yolunu hızla ve geçici olarak aktive ederek BH'nin büyüme atlımı ve metabolik etkilerine katkıda bulunur (Brooks ve Waters 2010). Bu iki mediyatör arasındaki feed back mekanizması Şekil 1.2'de gösterilmiştir.



Resim 1.4. BHR'nin BH'ye bağlanmasıyla aktivasyonu modeli (Brooks ve Waters 2010).



Şekil 1.2. IGF-1 ile BH arasındaki feed back mekanizması (Brooks ve Waters 2010).

Siroz hastalarında kazanılmış BH direnci olduğu, bunun da dolaşımda yüksek BH seviyeleriyle birlikte düşük IGF-1 seviyesine neden olduğu gösterilmiştir. Sirozlu karaciğerde BHR gen ekspresyonu incelenmiş ve BH bağlanmasının daha düşük olduğunu gösterilmiştir. Buna bağlı olarak da BH dozları fizyolojik sınırların üzerindeyken IGF-1 seviyesi düşük bulunmuştur (Shen ve ark 1998). İnsan gen mutasyonu veri tabanında 32 tanesi yanlış anlamlı ve anlamsız mutasyonlar olmak üzere 77 farklı BHR gen mutasyonunun bulunduğu belirtilmiştir (OMIM 2013). BHR genindeki mutasyonların büyüme hormonu duyarsızlık sendromu olarak bilinen

Laron sendromuna neden olduğu gösterilmiştir (Amselem ve ark 1991, Berg ve ark 1993). Laron sendromu için tanımlanmış 10 adet gen mutasyonunun da 10. ekzonda yer alan ve reseptörün hücre dışı alanını kapsayan heterozigot mutasyonlar olduğu belirtilmiştir (Kaji ve ark 1997). Normal büyüme hormonu salınımı ile BH-bağlayıcı protein serum değerleri düşük olan idiopatik kısa boya sahip 14 çocuktan 4'ünde BHR gen mutasyonları olduğu gösterilmiştir (Goddard ve ark 1995). Birçok araştırmacı da Laron sendromuna sahip bireylerde düşük BHR seviyesi ve düşük IGF-1 seviyesi göstermişlerdir (Kaji ve ark. 1997, Walker ve ark 1998). Laron sendromu ve idiopatik kısa boy hastalıklarının yanında BHR gen mutasyonu ile ilişkili olarak ailesel hiperkolesterolemi de gösterilmiştir (Takada ve ark 2003).

Büyüme hormonu eksikliği olmayan kısa çocuklarda BH boy uzatmak amacıyla kullanılmaktadır. Fakat etkisi bireyler arasında farklılık göstermektedir. d3BHR izoformunun tam uzunluk izoformuna göre büyüme hızını 2 kat daha fazla arttırdığı gösterilmiştir (Dos Santos ve ark 2004). Fakat büyüme hormonu tarafından reseptör uyarımının artması sonucunda gigantizm, akromegali ve kanser oluşabilmektedir (Brooks ve Waters 2010).

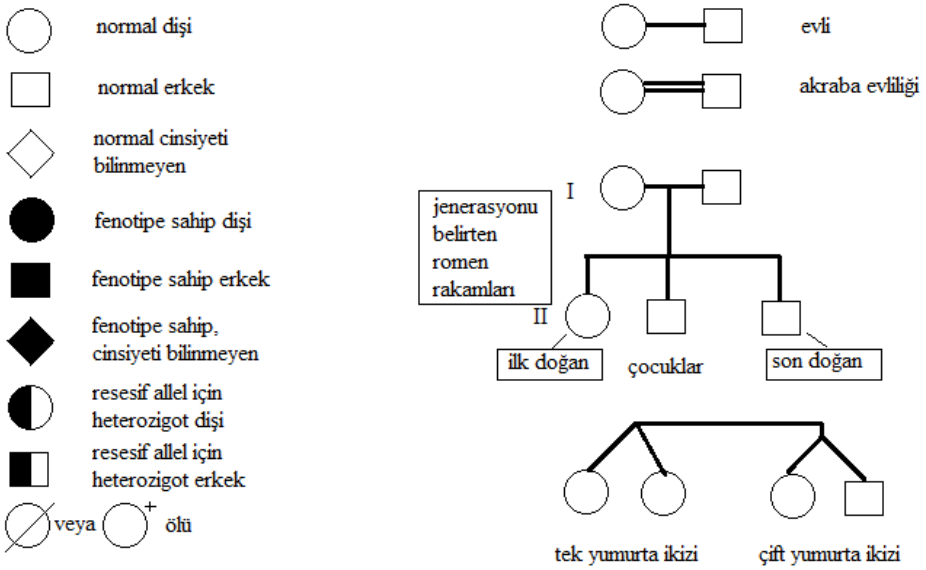
BHR boy uzunluğu ve profil gibi büyüme ve gelişimi direk olarak etkileyen kıkırdak büyümesinde önemli bir role sahiptir (Visnapuu 2001). BHR yetmezliği gösteren hastalarda azalmış vertikal fasiyal büyüme gösterilmiştir (Schaefer ve ark 1994). Sistemik BH tedavisine karniyofasiyal bölgede yanıt zaman ve bölgeden bağımsızdır, özellikle mandibular ramus gibi kıkırdak büyümesi gösteren bölgelerde ve dolayısıyla mandibula uzunluğunda anlamlı bir artış gözlenmiş ancak; hormon kesildiğinde büyüme miktarı azalmıştır (Hwang ve Cha 2004).

1.4. Soy Ağacı Analizi

Tek gen özellikleri sıklıkla Mendelian kalıtım olarak adlandırılır. Tek gen fenotipleri OMIM veritabanında (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim) sıralanmıştır. Tek gen hastalıkları ailelerdeki kalıtım şekilleri ile karakterize edilirler. Kalıtım şeklinin belirlenmesinde ilk basamak hastanın aile öyküsü hakkında bilgi edinmek

için standart semboller kullanarak aile ağacının grafikle temsil edilmesidir. (Nussbaum ve ark 2001).

Bir karakterin kalıtım modelinin belirlenmesi için geleneksel olarak her nesildeki her birey için fenotipin varlığının ya da yokluğunun gösterildiği bir aile ağacı oluşturulmaktadır (Klug ve ark 2006). Bir gruba göre her bireyin farklı fenotiplerinin gösterildiği soy ağacı diyagramına "pedigre" adı verilir. Pedigre analizinde kullanılan semboller Şekil 1.3'de özetlenmiştir.



Şekil 1.3. Soy ağacı analizinde kullanılan semboller.

Otozomal dominat kalıtımda; soyağacında etkilenmiş her bireyin etkilenmiş bir ebeveyni vardır ve bu durum geriye doğru mutasyonun ilk kez görüldüğü kişiye kadar veya durumun izlenebildiği yere kadar gider. Otozomal resesif kalıtımda ise; etkilenmiş bir çocuğun annesi ve babası mutant allellerin asemptomatik taşıyıcılarıdır. Bir aile ağacının otozomal resesif kalıtımı veya başka bir kalıtım şeklini yansıttığı her zaman açıkça belli olmayabilir. Segregasyon analizi en olası kalıtım şeklini belirlemek için ailelerdeki etkilenmiş ve etkilenmemiş bireylerin sıklığını ve dağılımını kullanan istatistiksel bir yöntemdir (Nussbaum ve ark 2001).

Soyağacı incelenerek, çalışılan fenotipin nasıl aktarıldığı (dominant veya resesif) önceden tahmin edilebileceği gibi aynı fenotip için çok sayıda soy ağacı çalışıldığında kalıtım biçimi saptanabilir (Klug ve ark 2006).

1.5. Mandibular Prognatizm ile Genetik Yapının İlişkisi

MP (McKusick No *176700) insanlarda fasiyal genetik özelliklerin en bilinen örneklerinden biridir (Wolff ve ark 1993). MP genetik bir etiyolojiyi desteklemekle beraber ailesel geçiş göstermektedir. Toplam 55 aileden 2562 birey üzerinde yapılan bir çalışmada MP oluşumunun majör bir gen tarafından kontrol edildiği ve Mendelian kalıtım gösterdiği ancak çevresel faktörlerin de bu durumu etkilediği belirtilmiştir (Cruz ve ark 2008).

Avrupanın soylu ailelerinden olan Habsburg Hanedanlığı MP fenotipinin otozomal dominant aktarıldığının kanıtı olarak gösterilmektedir. Bu ailenin 9 jenerasyonunda Habsburg çenesi olarak tanımlanan prognatik mandibula ile birlikte görülen kalınlaşmış alt dudak, sivri uçlu ve kemerli burun, düz elmacık kemiği ve hafif dışa dönük alt göz kapağı diğer fenotipik özellikleri oluşturmaktadır. Her ne kadar otozomal dominant geçiş gösterse de erkek bireylerin daha fazla etkilenmiş olduğu belirtilmiştir. Habsburg Hanedanlığı'nda akraba evliliklerinin yüksek oranda gerçekleştiği ve özellikle etkilenmiş iki bireyin evlenmesi sonucunda da bütün çocuklarda bu fenotipin görüldüğü gösterilmiştir (Grabb ve ark 1961). Mandibular prognatizme sahip bir aile 3 jenerasyonda incelendiğinde Habsburg ailesine benzer yüz karakteristikleri olduğunu tanımlamıştır (Thompson ve Winter 1988).

MP fenotipinin tamamlanmamış penetrasyonla otozomal dominant kalıtım gösterdiğini belirten çalışmalar da mevcuttur. MP gösteren 13 Avrupalı soylu ailenin 23 jenerasyonunda 409 bireyi soy ağacı analizi ile değerlendirilmiş ve bu fenotipin yüksek penetrasyonla (0,95) otozomal dominant olarak aktarıldığı sonucuna ulaşılmıştır (Wolff ve ark 1993). Libya'da yapılan benzer bir çalışmada 37 aileden 1013 birey soy ağacı oluşturularak segregasyon analizi ile değerlendirilmiş ve otozomal dominant kalıtım paterni gösterilmiştir (El-Gheriani ve ark 2003). Li ve ark (2010) 2 aileyi, Stiles ve Luke (1953)'un yaptıkları şekilde 4 jenerasyonda

değerlendirmiş ve kalıtım paternini tamamlanmamış penetrasyonla birlikte otozomal dominant olarak saptamıştır. Çin toplumunda 21 bireyin değerlendirildiği başka bir çalışmada da kalıtım paterni tamamlanmamış penetrasyonla (0,7) beraber otozomal dominant olarak gösterilmiştir (Li ve ark 2011). Ayrıca, otozomal resesif (Downs 1928, Iwagake 1938) ve poligenik model ile kuvvetli ve karmaşık bir geçiş gösterdiği de ifade edilmiştir (Litton ve ark 1970).

Birçok çalışmada MP etiyolojisinde genetik mirasın çeşitli paternleri ve çevresel faktörler sorumlu tutulmuştur (Kraus ve ark 1959, Mossey 1999). İskeletsel malokluzyonun önemli bir genetik komponentinin olduğu yıllardır bilinmektedir. Günümüzde yapılan çalışmaların odak noktası MP altında yatan genetik faktörleri anlamaya ve bu genetik faktörlerin hastaların ortodontik tedavilere cevabını nasıl etkileyeceğini tahmin edebilmeye yöneliktir (Xue ve ark 2010a).

Ortognatik cerrahi planlanan 105 bireyin toplam 1480 aile üyesinin incelendiği bir araştırmada bireylerin %11,2'sinde MP olduğu belirtilmiş, erkeklerin kızlara oranla daha fazla etkilendiği gösterilmiştir. Ailelerin %68,6'sında ortognatik cerrahi olacak bireyden ayrı, en az 1 tane daha prognatik alt çeneye sahip birey bulunduğu tespit edilmiştir. Birinci derece akrabaların etkilenme oranı (%17,5) ikinci derece akrabalara kıyasla (%7,6) 2 kat daha fazla bulunmuştur (Watanabe ve ark 2005). Benzer bir çalışmada da 103 birey incelenmiş, ebeveynlerinden en az biri etkilenmiş olan çocuklarda MP görülme oranı %58,3 olarak bulunmuştur. Birinci derece akrabaların etkilenme oranı %13,4; ikinci derece ve üçüncü derece akrabaların etkilenme oranları sırasıyla %5,9 ve %1,7 olarak belirtilmiştir. Etkilenmiş olan bireyden başka en az 1 tane daha bu fenotipe sahip birey bulunma oranının %51,8 olduğu gösterilmiştir (Lee ve ark 2006). Jang ve ark (2010), ise 165 bireyi incelemiş ve bu oranı %41,5 olarak tespit etmişlerdir.

Mandibular prognatizmin poligenik geçiş gösterdiği düşünülmektedir. Hem aile hem de ikiz çalışmaları MP'nin primer sebebi olarak poligenik kalıtım modelini sunmaktadır (Xue ve ark 2010a). İkizler üzerinde yapılan bir çalışma sonucunda MP'nin uyum oranının tek yumurta ikizlerinde çift yumurta ikizlerinden 6 kat daha

fazla olduğu ve bunun da poligenik kalıtım modeline kanıt olarak sunulabileceği belirtilmiştir (Schulze ve Weise 1965).

Poligenik veya multifaktöriyel kalıtım ile iki veya daha fazla yatkınlık geni ve bu genlerin çevre ile etkileşimi sonucu farklı fenotipik özellikler görülebilmektedir. Linkage (bağlantı) analizleri belirli bir hastalık veya fenotiple ilişkili genlerin kromozomal bölgesini belirlemek için kullanılmaktadır. (Xue ve ark 2010a).

Genome wide linkage analizi ile ilk olarak 1p36, 6q25, ve 19p13.2 kromozom bölgeleri mandibular prognatizme yatkınlık bölgeleri olarak tanımlanmıştır. Bunun için MP'ye sahip 40 Koreli ve 50 Japon birey değerlendirilmiş, 1p36 bölgesinin MP için bir yatkınlık oluşturduğu ve etnik yapının MP için bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (Yamaguchi ve ark 2005). Benzer şekilde Çin toplumunda da 1p36 kromozom bölgesi incelenmiş ve bu bölgede yer alan EPB41(Eritrosit membran protein band 4.1) geninin MP ile ilişkili olabileceği sonucuna ulaşılmıştır (Xue ve ark 2010b) Bu çalışmalardan yola çıkarak Cruz ve ark (2011), Brezilyalı ailelerde aynı ve benzer bölgeleri incelemiş ancak herhangi bir ilişki bulamamıştır. Bu sonucu çalışma yapılan toplumlar arasındaki etnik farklılığa bağlamıştır.

Kolombiya'da yapılan bir başka çalışmada ise MP ile ilişkili olarak 1p22.1, 3q26.2, 11q22, 12q13.13, ve 12q23 bölgeleri tanımlanmıştır (Frazier-Bowers 2009). Bunlar 1 numaralı kromozom üzerinde bir yatkınlık bölgesi bulunduğunun destekleyicisi olarak gösterilmiştir. 1p36 bölgesinde; heparan sülfat proteoglikan 2 (HSPG2), matrilin 1 kıkırdak matriks protein (MATN1) ve alkalin fosfataz (ALPL) aday genleri bulunmaktadır. HSPG2'nin kıkırdak formasyonu ve kraniyofasiyal anomalilerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Rodgers ve ark 2007). MATN1'in kıkırdak formasyonunda, ALPL'nin ise kemik formasyonunda önemli belirleyicilerden olduğu belirtilmiştir (Hu ve Simmer 2007, Pei ve ark 2008).

Kıkırdak dokusunda kondrositler tarafından salınan MATN1 proteininin genetik incelemesi sırasında 165 MP'li birey değerlendirilmiş ve Matrilin-1

genindeki G7987A ve C8572T nokta mutasyonlarının MP'ye yatkınlığı belirleyici bir marker olabileceği gösterilmiştir (Jang ve ark 2010).

Çin toplumunda MP ile ilişkili olarak ilk tanımlanan 4p16.1 bölgesidir (Li ve ark 2010). Daha sonra yapılan çalışmada bu fenotipe sahip 21 birey incelenmiş, 14q24.3-31.2 bölgeleri ile MP arasında bir ilişki bulunarak yeni bir genom bölgesi tanımlanmıştır. Bu bölgede yer alan TGFB3 (transforming growth factor beta 3) ve LTBP2 (latent transforming growth factor beta binding protein 2) genlerinin aday genler olabileceği belirtilmiştir (Li ve ark 2011).

Association (ilişki) çalışmaları, hastalıkla kuvvetli olarak ilişkili varyasyonları bulmak için aynı etnik gruptaki vaka ve kontrol grubu arasında genetik varyasyondaki farklılıkları tanımlamak amacıyla yapılmaktadır. Eğer bir varyant vaka grubunda kontrol grubundan daha sık görülüyorsa bir ilişkiden söz edilebilir. Bu tip çalışmalar için daha fazla örnek sayısı gerekmektedir (Xue ve ark 2010a).

BHR genindeki SNP'ler ile MP arasındaki ilişki birçok çalışmada gösterilmiştir. Çin populasyonunda BHR geni üzerinde 6 SNP tanımlanmış ve I526L varyasyonu ile mandibular ramus yüksekliği arasında ilişki bulunmuştur (Zhou ve ark 2005). Japon toplumunda MP görülen 50 kız ve 50 erkekten oluşan 100 bireyin incelendiği çalışmada, BHR geninin P561T varyasyonu ile kraniyofasiyal morfoloji arasındaki ilişki incelenmiş ve P561T varyasyonuna sahip olmayan bireylerin daha uzun mandibular ramus yüksekliğine sahip oldukları bulunmuştur (Yamaguchi ve ark 2001). Ektodermal displazili Japon bir hastada BHR geni 10. ekzondaki P561T varyasyonunun mandibular büyüme için genetik bir belirleyici olabileceği gösterilmiştir (Sasaki ve ark 2007). Yine 33 Japon çocuğun incelendiği çalışmada BHR'deki mutasyonların mandibular büyümede inhibitör etkisi olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Sasaki ve ark 2009). Tomayasu ve ark (2009), 167 birey üzerinde yürüttükleri çalışmada BHR ekzon 10 bölgesindeki P561T ve C422F bölgelerinde çeşitli populasyonların allel frekansını belirlemiş ve bu polimorfizmler ile mandibular yükseklik arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir.

Son zamanlarda, 12q24 bölgesinde yer alan ve iskelet kas liflerinin temelini oluşturan tip 1 miyozin düzenlenmesinden sorumlu miyozin 1H bölgesi ile MP arasında bir ilişki kurulabileceği gösterilmiştir. Bu sonuç ile kraniyofasiyal kompleksteki kemik yapılarının gelişiminde kas fonksiyonlarının önemi desteklenmektedir (Tassopoulou-Fishell ve ark.2012).

MP mandibulanın prenatal ve postnatal büyüme ve gelişim sürecinde birçok faktörün etkileşimi sonucunda oluşmaktadır ve bu faktörlerin bazılarının bebeklik döneminde düzenlenmesi mümkün olabilmektedir (Xue ve ark 2010a). Bu nedenle MP fenotipine neden olan genetik çeşitliliği anlayabilmek bu durumu önleyici yeni stratejiler geliştirmek için faydalı olacaktır. Bu ümit verici yaklaşımlar, mandibular prognatizm gelişimini ve hatta daha ilerleyen yıllarda oluşumunu önleyici imkânlar sunabilecektir.

Bu bilgiler ışığında bu çalışmanın amacı; mandibular büyümedeki kalıtım modelinin soy ağacı ile değerlendirilmesi ve diğer toplumlarda yapılan çalışmaların ışığında sorumlu olabileceği düşünülen BHR (Growth hormone receptor; büyüme hormonu reseptör) geni P561T ve C422F bölgelerinin allel frekansının Türk toplumunda belirlenmesi ve bu polimorfizmlerin MP ile ilişkisinin incelenmesidir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hasta Seçimi ve Kontrol Gurubu

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ortodonti A.D.'na ortodonti tedavisi olmak amacıyla başvuran veya öncesinde ortodontik tedavi görmüş olup kontrol amacıyla gelen hastalar ile diş hekimliği fakültesi öğrencileri üzerinde yürütülmüştür. Öncelikle çalışma için Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (onay no:65; 2011) (EK-A). Etik kurul yönetmeliği gereğince çalışmaya klinik ve radyolojik muayeneleri yapılarak uygun şartları taşıdığı düşünülen hastalar, çalışma hakkında bilgilendirilerek her birinden imzalı bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır (EK-B). Mandibular prognatizmin klinik muayene ile tespitinden sonra radyografik teşhis ile doğrulanması amacıyla panaromik cihazı ile (Planmeca Promax, Dimax 3 Ceph, Helsinki, Finland) elde edilen lateral sefalometrik filmler kullanılmıştır. Çalışmaya dahil olma kriterlerine uygun bulunan hastalardan ve sağlıklı bireylerden kan örneği alınmıştır. Çalışmaya dahil edilme kriterleri MP grubu için aşağıdaki gibidir;

1.Hastaların büyüme gelişimini tamamlamış, 16 yaş ve üzeri olması

2.Hastaların hiçbirinde sistemik rahatsızlık olmaması ve ailesel geçmişlerinde kalıtsal geçişli bir hastalığa rastlanmaması,

3.Hastaların hiçbirinde dudak damak yarığı vb. konjenital bir anomali veya endokrin bir problem bulunmaması

4.Mandibular prognatizmle birlikte iskeletsel Sınıf III anomaliye sahip olması

5.ANB açısının 0^{o} nin ve Wits değerinin 0'ın altında olması

Çalışmanın başında 101 bireyden kan örneği ve sefalometrik kayıt alınmış ancak 2 birey aile hikâyesindeki eksik bilgilerden ötürü çalışma dışında bırakılmıştır.

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

1.Hastaların büyüme gelişimini tamamlamış, 16 yaş ve üzeri olması

2.Hastaların hiçbirinde sistemik rahatsızlık olmaması ve ailesel geçmişlerinde kalıtsal geçişli bir hastalığa rastlanmaması

3.Hastaların hiçbirinde dudak damak yarığı vb. konjenital bir anomali veya endokrin bir problemin bulunmaması

4.İskeletsel Sınıf I ilişkiye sahip olması

5.ANB açısının 2º ile 4º arasında Wits değerinin 0 ile 2 arasında olması

Bu kriterlere sahip 99 birey çalışmaya alınmıştır. Mandibular prognatizm ve kontrol grubu bireylerinin boy uzunlukları kaydedilmiş ve mandibula uzunluğu ile boy uzunluğu arasında ilişki olup olmadığına bakılmıştır. Çalışmaya dahil edilen bireylerin demografik özellikleri Çizelge 2.1'de gösterilmektedir.

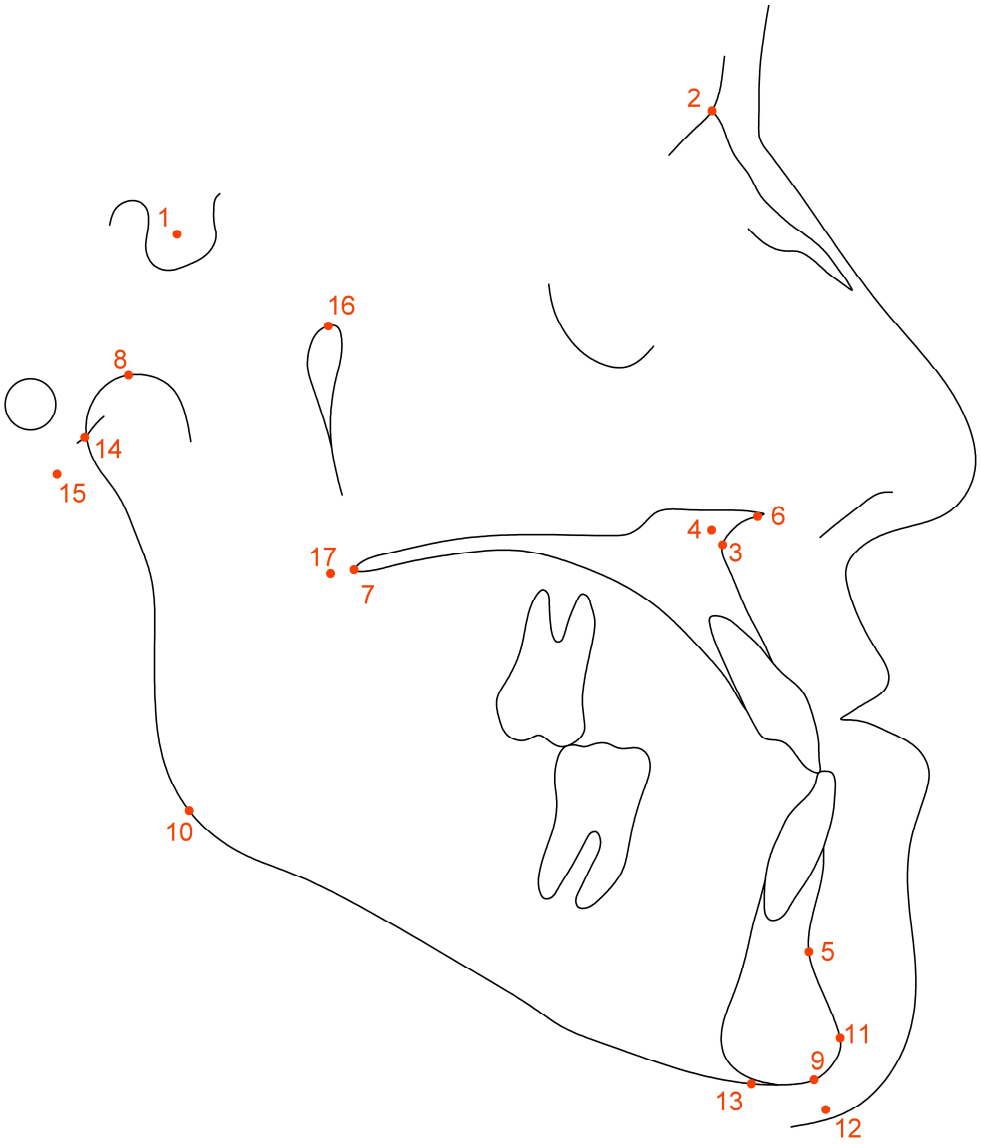
Çizelge2.1. Çalışmaya dahil edilen bireylerin demografik özellikleri.

Değişken	MP grubu (n=99)		Kontrol grubu (n=99)	
Cinsiyet	kız	erkek	kız	erkek
	47	52	52	47
Yaş ortalaması	22,1	21,8	22,2	22,6
Boy uzunluğu ortalaması	163,2	182,5	156,6	175,4

2.2. Sefalometrik Analiz

Çalışmada ölçümü yapılan bireyleri iskeletsel olarak sınıflamak, maksilla, mandibula ve kraniyal uzunlukları belirlemek için lateral sefalometrik filmlerden yararlanılmıştır. Sefalometrik filmler dişler oklüzyonda, dudaklar gerilimsiz kapalıyken, doğal baş pozisyonunda standart koşullarda, Planmeca Promax, Dimax 3 Ceph (Planmeca OY, Helsinki, Finland) cihazı kullanılarak alınmıştır. Işınlama 66 kv ve 5mA değeriyle, 16 saniye boyunca uygulanmıştır. Obje ışın kaynağı arası mesafe ise 1,75 metredir.

Çalışmaya dahil edilen 198 bireyin sefalometrik analizleri Apple imac G5® 20" 2,4 GHz özelliğindeki bilgisayarla (Apple Computers Inc., Cupertino, CA, USA), Quick Ceph Studio programı (Quick Ceph® Systems, San Diego, CA, USA) kullanılarak aynı araştırmacı tarafından yapılmıştır. Çalışmada kullanılan sefalometrik noktalar şöyledir (Şekil 2.1);



Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan sefalometrik noktalar.

1. Sella noktası (S): Sella Turcica boşluğunun geometrik merkezidir.

2. Nasion noktası (N): Frontal ve nazal kemiklerin birleştiği fronto-nazal suturun en ileri noktasıdır.

3. A noktası (A): Spina nasalis anteriorun altındaki kemik iç bükeyliğinin en derin noktasıdır.

4. A' noktası (A'): Palatal düzleme A noktasından indirilen dikmenin palatal düzlemi kestiği noktadır.

5. B noktası (B): En ileri alt kesici dişin altındaki kemik iç bükeyliğinin en derin noktasıdır.

6. Anterior nazal spina (ANS): Orta oksal düzlemde kemiksel ön nazal çıkıntının en ileri noktasıdır.

7. Posterior nazal spina (PNS): Pterygopalatin fossa'nın ön duvarının devamı ile burun tabanının çakışma noktasıdır.

8. Condylion (Co): Mandibular kondilin en üst noktasıdır.

9. Gnathion (Gn): Yüz düzlemi ile alt çene düzleminin kesiştiği nokta açısal gnathion olup, bunun kemikteki izdüşümü ise kemiksel gnathion'dur.

10. Gonion (Go): Alt çene tabanı ile ramusa çizilen teğetlerin çakıştığı nokta açısal gonion olup, bunun kemik üzerindeki izdüşümü kemiksel gonion'dur.

11. Pogonion (Pog): Orta oksal düzlemde kemiksel çene ucunun en ileri noktasıdır.

12. Pogonion' (Pog'): Pogonion'dan mandibular düzleme indirilen dikmenin mandibular düzlemi kestiği noktadır.

13. Menton (Me): Symphsis'in dış çizgisinde en alt noktadır.

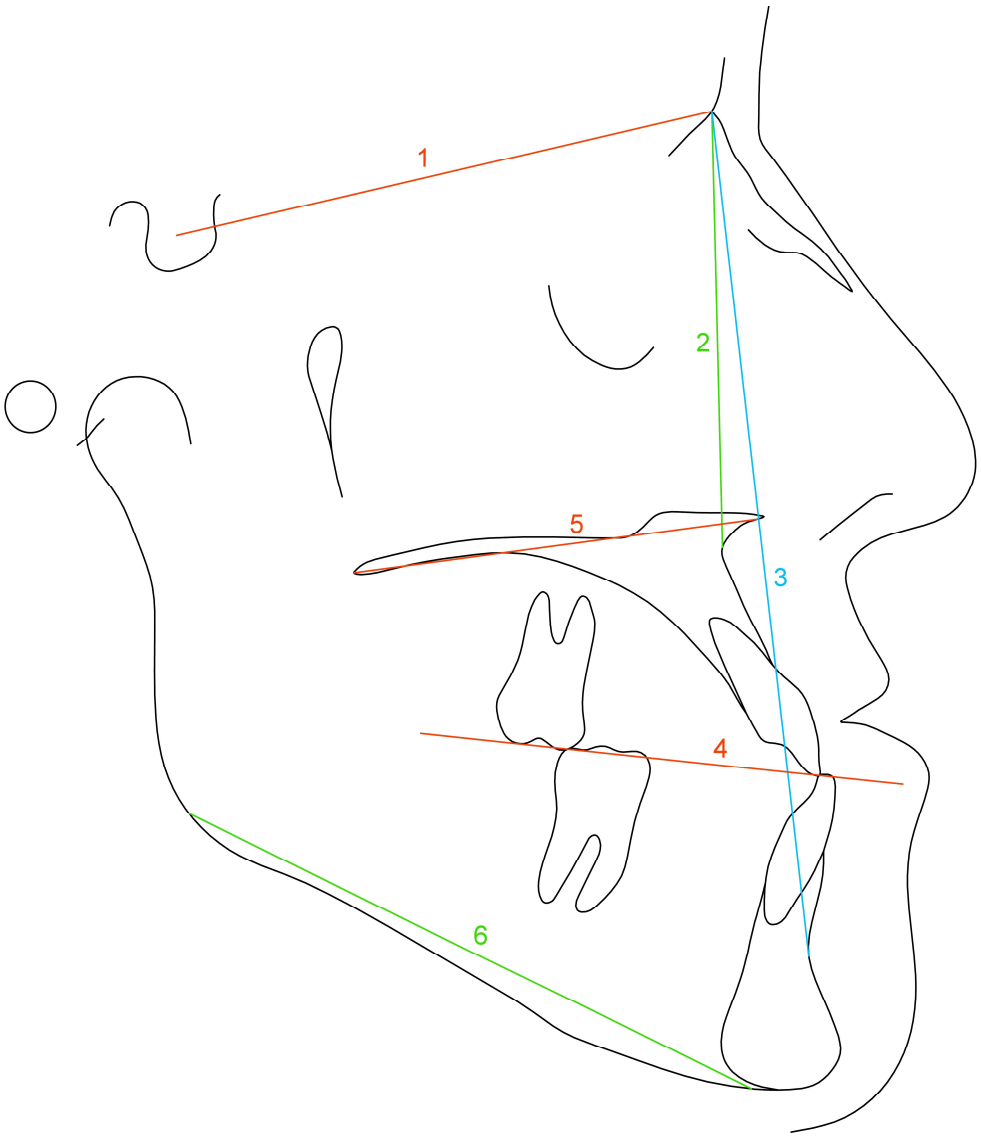
14. Articulare (Ar): Alt çene kemiğinin artiküler çıkıntısının (processus articularis ossis mandibularis) arka kenarı ile, kafa kaidesi dış (alt) sınırının kesişme noktasıdır.

15. Basion (Ba): Foramen occipitale magnum'un ön kenarının en ön noktasıdır.

16. PTM noktası: Fissura pterigomaksillarisin en üst arka noktasıdır.

17. PTM' noktası: Palatal düzleme PTM noktasından indirilen dikmenin palatal düzlemi kestiği noktadır.

Çalışmada kullanılan düzlemler ise aşağıda belirtilmiştir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Çalışmada kullanılan düzlemler.

1. SN düzlemi: Sella noktası ile iskeletsel nasion noktasını birleştiren düzlemdir.

2. NA düzlemi: İskeletsel nasion ve A noktalarını birleştiren düzlemdir.

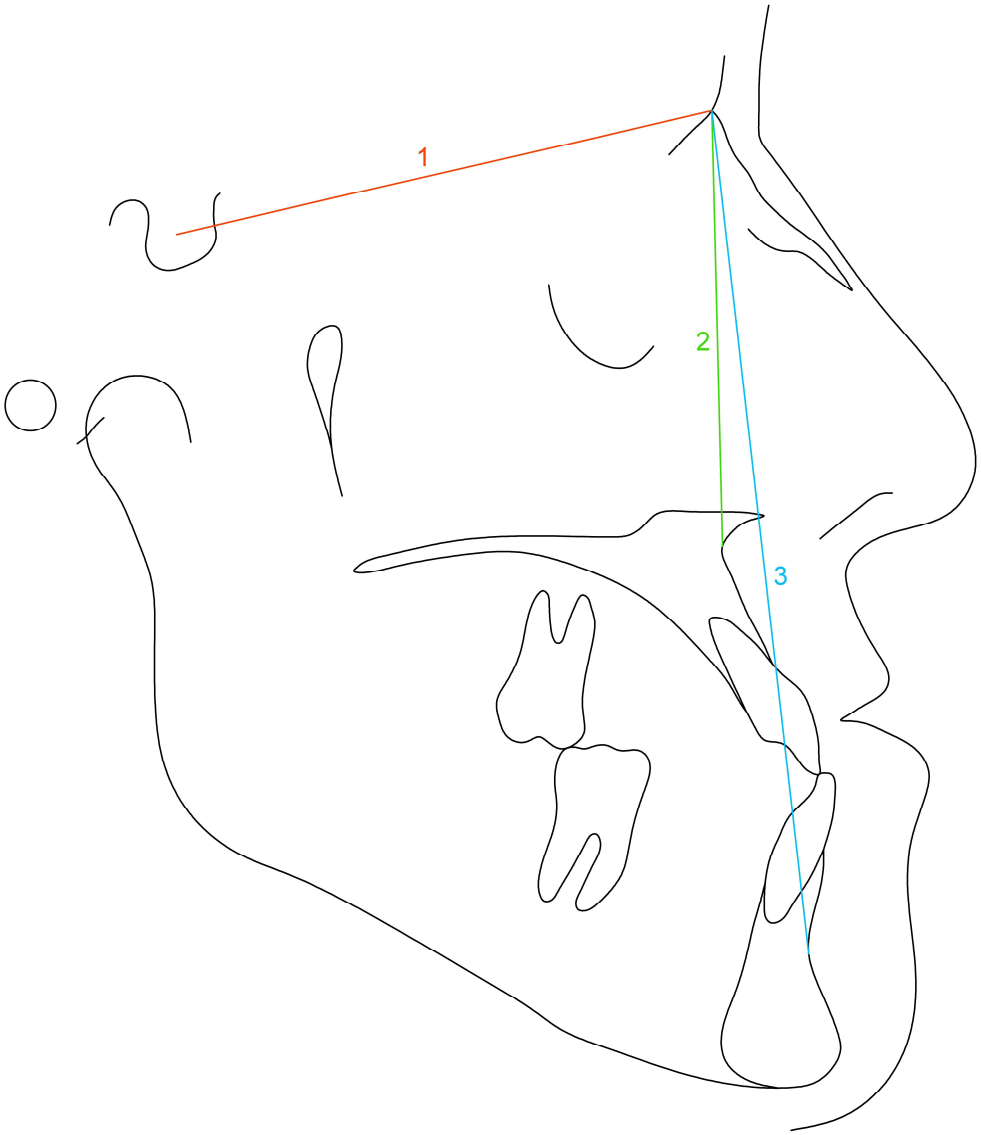
3. NB düzlemi: İskeletsel nasion ve B noktalarını birleştiren düzlemdir.

4. Okluzyon düzlemi: 1. Büyük azıların kapanışının orta noktası ile alt ve üst kesicilerin kesici kenarlarını birleştiren doğru parçasının orta noktasından geçen düzlemdir.

5. Palatal düzlem: ANS ile PNS noktalarından geçen düzlemdir.

6. Mandibular düzlem: Gonion ve Menton noktalarından geçen düzlemdir.

Çalışmada kullanılan açısal ölçümler Şekil 2.3'de gösterilmiştir.



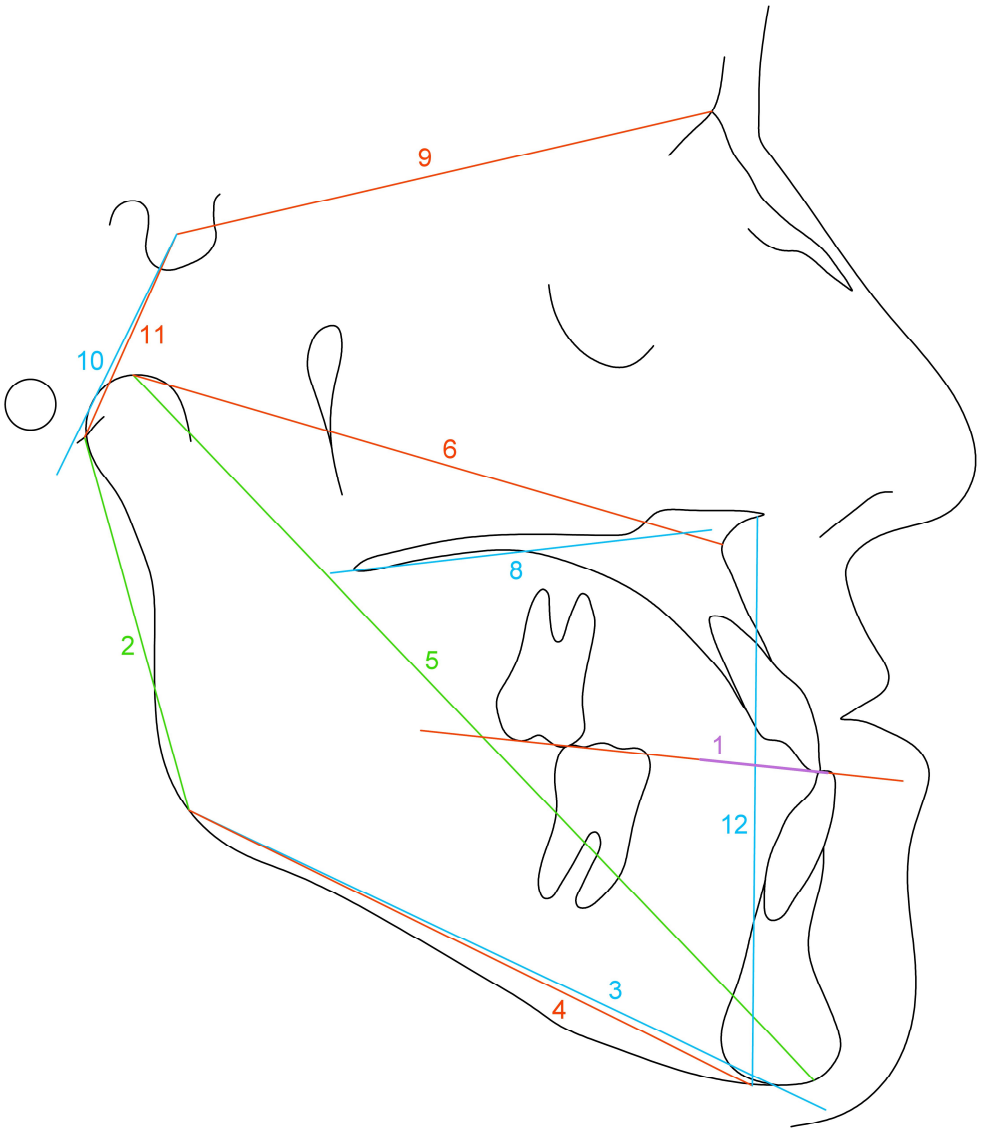
Şekil 2.3. Çalışmada kullanılan açısal ölçümler.

1. SNA: SN düzlemi ile NA düzlemi arasındaki açıdır. Maksillanın ön kafa kaidesine göre sagittal yön konumunu verir.

2. SNB: SN düzlemi ile NB düzlemi arasındaki açıdır. Mandibulanın ön kafa kaidesine göre sagittal yön konumunu verir.

3. ANB: NA ve NB düzlemleri arasındaki açıdır. Maksilla ve mandibulanın birbirine göre sagittal yön konumunu verir.

Çalışmada kullanılan doğrusal ölçümler Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Çalışmada kullanılan doğrusal ölçümler.

1. Wits: A ve B noktalarından okluzyon düzlemine indirilen dikmelerin arasındaki boyut farkıdır (AO-BO).

2. Ar-Go: Mandibular ramus yüksekliğini değerlendirmek amacıyla kullanılır.

3. Go-Pog': Mandibular korpus uzunluğunu değerlendirmede kullanılır.

4. Mandibula uzunluğu: Gonion ve Menton noktaları arasındaki uzaklıktır.

5. Efektif mandibula uzunluğu: Condylion ve gnathion noktaları arasındaki uzaklıktır.

6. Efektif orta yüz uzunluğu: Condylion ve A noktaları arasındaki uzaklıktır.

7. Maksillo-mandibular fark: Efektif mandibula uzunluğu ile efektif orta yüz uzunluğu arasındaki farktır.

8. A'-Ptm': Maksiller uzunluğun değerlendirilmesinde kullanılır.

9. S-N: Ön kafa kaidesi uzunluğu belirlenmesinde kullanılır.

10. S-Ba: Arka kafa kaidesi uzunluğu belirlenmesinde kullanılır.

11. S-Ar: Arka kafa kaidesi uzunluğu belirlenmesinde kullanılır.

12. Alt anterior yüz yüksekliği: ANS ve Menton noktaları arasındaki uzaklıktır.

Çalışmada 198 birey ANB değerleri ve Wits değeri göz önüne alınarak iskeletsel Sınıf I grubu ve İskeletsel Sınıf III anomaliye sahip MP grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Kriterlere uyan 99 mandibular prognatik bireyin (52 erkek, 47 kız) ortalama ANB açısı -3,27±2,63º ve ortalama Witts değeri -6,25±4,35'tir. SNA ve Sn-GoGn açılarının ortalama değerleri Türk normlarıyla uyumlu şekildedir. Ortalama SNB açısı ise normal değerlerin oldukça üstündedir (Başçiftçi ve ark 2004). Mandibular prognatizmin tespit edildiği bireylerde (proband) alt keserlerin geriye eğimli üst keserlerin ise öne eğimli olması iskeletsel Sınıf III anomaliyi desteklemektedir (Çizelge 2.2).

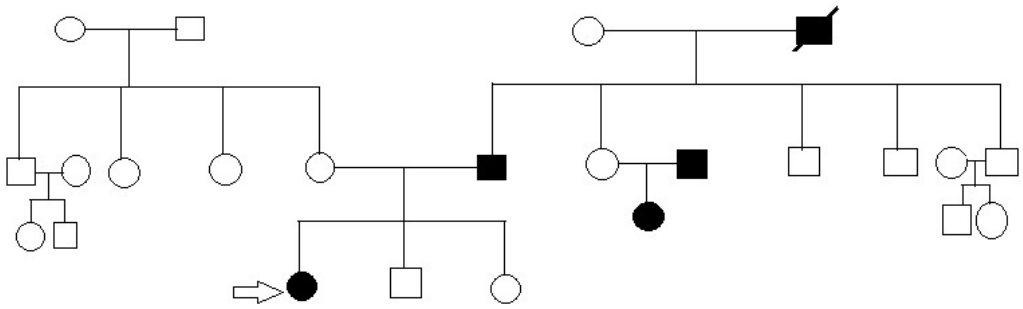
Çizelge 2.2. Probandların ortalama sefalometrik değerleri.

Proband	SNA açısı	SNB açısı	ANB açısı	Witts	SN-GoGn	U1-SN	IMPA
Erkek	79,82±3,83 83,27±3,60*	83,25±4,31 80,40±3,59*	-3,45±2,87 -2,87±1,63*	-7,15±2,25	36,17±6,13 31,40±6,01*	107,07±6,81 102,90±9,87*	80,06±8,33 96,83±8,43*
Kız	79,47±3,34 81,81±3,41*	82,48±3,72 79,43±3,27*	-3,05±2,41 -2,43±1,67*	-7,55±2,75	36,24±6,62 31,93±4,43*	107,35±7,16 101,23±9,68*	82,27±8,75 96,16±6,56*
Toplam	79,63±3,68 82,57±3,55*	82,82±4,03 79,92±3,44*	-3,27±2,63 -2,65±1,63*	-7,43±2,55	36,19±6,37 31,66±5,25*	107,12±6,94 102,07±9,73*	81,52±8,54 96,50±7,50*

* Başçiftçi ve ark (2004)'nın çalışmasına göre Türk bireylerin ortalama norm değerleri.

2.3. Soy Ağacı Analizi

Mandibular prognatizmin genetik kalıtım paterninin ve aileler içinde etkilenmiş birey oranının belirlenmesi amacıyla çalışmaya katılan tüm vaka grubu bireylerinin (proband) aile ağacı oluşturulmuştur. Her bir bireyin en az 3 kuşak içerecek şekilde aile ağaçları değerlendirilmiştir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Çalışmada değerlendirilen bir bireyin örnek soy ağacı analizi.

2.4. Örnekleme Çalışması

Mandibular prognatizm vaka ve kontrol grubu bireylerine ait 5 ml'lik periferik kan örneği Selçuk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ortodonti Anabilim Dalı hemşiresi tarafından K3-EDTA'lı tüplere steril olarak alınmıştır. Kan örnekleri Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı'nda -20ºC'de muhafaza edilmiştir.

2.5. DNA İzolasyonu

Kan örneklerinden standart fenol/kloroform yöntemiyle (Sambrook ve ark 1989) DNA izolasyonu yapılmıştır. Eppendorf tüplere (2 ml) 400 µl kan örneği konulduktan sonra üzerine 20 µl 0,5 M EDTA (pH 8.0) eklenmiş ve 2X Lysis buffer çözeltisi ile 2000 µl'ye tamamlanmıştır. Tüpler ters düz edilerek nazikçe 10 dakika (dk) karıştırıldıktan sonra 30 dk boyunca buzun içinde bekletilmiştir. Buzdan alınan tüpler 3000 rpm'de +4 ˚C'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası tüpün süpernatant fazı dökülüp (tüpdeki tüm solüsyonlar dökülür) tüpteki pellet üzerine 120 µl Tuz / EDTA solüsyonu eklenerek vortekste iyice karıştırılmıştır. Vorteksleme

aşamasından sonra tüplere 120 µl %10'luk SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) ve 3 µl Proteinaz K (10 mg / ml) eklenerek 55 ˚C'de 3 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda alınan tüplerin üzerine 120 µl fenol (pH 8.0) eklenmiştir. Tüpler 20 saniye oldukça sert bir şekilde çalkalandıktan sonra 5 dk da yumuşak şekilde ters yüz edilmiştir. 3000 rpm de +4 ˚C de 10 dk santrifüj sonrasında süpernatant kısmı yeni steril tüplere alınmıştır. Üzerine 120 µl fenol:kloroform:isoamil alkol (25:24:1) eklenerek tüpler tekrar 20 saniye oldukça sert bir şekilde çalkalandıktan sonra 5 dk da yumuşak şekilde ters yüz edilmiştir. Daha sonra tüpler 3000 rpm de +4 ˚C de 10 dk santrifüje bırakılmıştır. Oluşan yeni üst faz (süpernatant kısmı) yeni tüplere alınıp üzerine süpernatantın 1/10'u oranında 3 M Sodyum Asetat (pH 5,2) ve 2 katı kadar soğuk %95'lik etanol eklenmiştir. Santrifüj ile çöktürülen pellet kurutulup alkol uzaklaştırıldıktan sonra 100 µl 10 mM Tris HCL– 10 mM EDTA ile sulandırılmıştır.

2.6. DNA örneklerinin kalite kontrolü

DNA örneklerinin miktarı ve kalitesi 260 ve 280 nm UV'de Nanodrop ND-100 (Thermo Scientific, ABD) cihazı kullanılarak tespit edilmiş ve 50 ng/µl konsantrasyonunda DNA stokları hazırlanarak kullanılıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır. DNA örneklerinin miktarı ve kalitesinin belirlenmesi amacıyla, 6X-Loading Dye ile birlikte %0,8 agaroz jele yüklenip 100V/h elektroforez sonrası EtBr ile boyanarak transiluminatör altında gözlenmiş ve GenoMini Image Capture and Analysis System (VWR, Leuven, Almanya) görüntüleme sistemi kullanılarak görüntülenmiştir.

2.7. BHR PZR primerlerinin oluşturulması

BHR geni ekzon 10 bölgesinde (M28466.1) bulunan P561T ve C422F polimorfizm bölgelerini kapsayan PZR primerleri DNA STAR Primer Select programı kullanılarak geliştirilmiştir (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3 BHR geni 10. Ekzon bölgesini kapsayan PZR primerleri

No	Lokus	Sekans
1	BHR-F1	5'-CTCAGCCACAGAGGTTAAA-3'
2	BHR-R1	5'-TATAGTCTGGGACAGGCATCT-3
3	BHR-F2	5'-GGGAAGCAGATCTCTTATGC-3
4	BHR-R2	5'-CACTACCTGCTGGTGTAATG-3
5	BHR-F3	5'-AGCCAAGCTTAAACCAAGA-3
6	BHR-R3	5'-GTCTGTGCTCACATAGCC-3

2.8. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PZR protokolü olarak bir reaksiyonda; 1x Mg++ free PZR buffer (Fermentas), 200 µM dNTP (Fermentas), 1,5 mM MgCl++, 0,750 ünite *Taq* polimeraz (Fermentas), 10 pMol her bir primer çifti (Çizelge 2.3) ve ~100 ng template DNA kullanılmıştır. Her bir PZR reaksiyonu toplam 30 µl hacimde hazırlanmıştır.

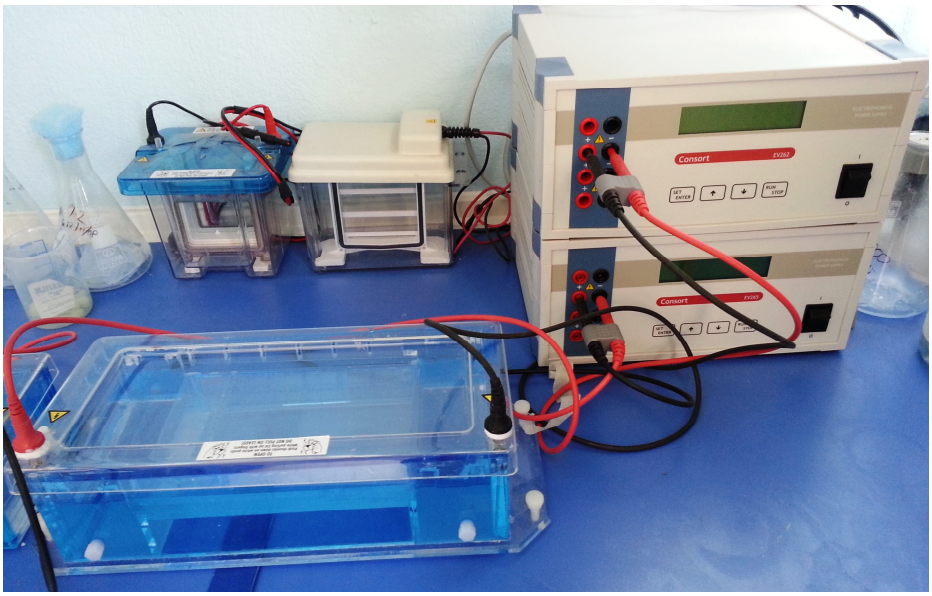
Polimeraz zincir reaksiyonları, BioRad MyCycler-Thermal Cycler (BioRad Laboratories Inc. ABD) (Resim 2.1) ısısal döngü cihazı ve touchdown PZR profili (Don ve ark 1991) kullanılarak iki aşamada gerçekleştirilmiştir. 95°C'de 4 dakika ile tam bir denatürasyon sağlandıktan sonra 1. aşamada 16 döngü için 94°C'de 30 saniye denatürasyon, primerlerin ideal bağlanma noktasının sağlanması için 60°C'den başlayarak her bir döngüde 0,5 °C düşürülen ve 30 saniye bağlanma ve 72°C'de 60 saniye uzama sağlanmıştır. 2. aşamada 94 °C'de 30 saniye denatürasyon, 52 °C'de 30 saniye bağlanma ve 72 °C'de 60 saniye uzama olacak şekilde toplam 25 döngü kullanılmıştır. Son olarak örnekler 72 °C'de 10 dakika tutularak tam bir adenilizasyona olanak sağlanmıştır.



Resim 2.1. PZR ısısal döngü cihazı.

2.9. Jel elektroforezi

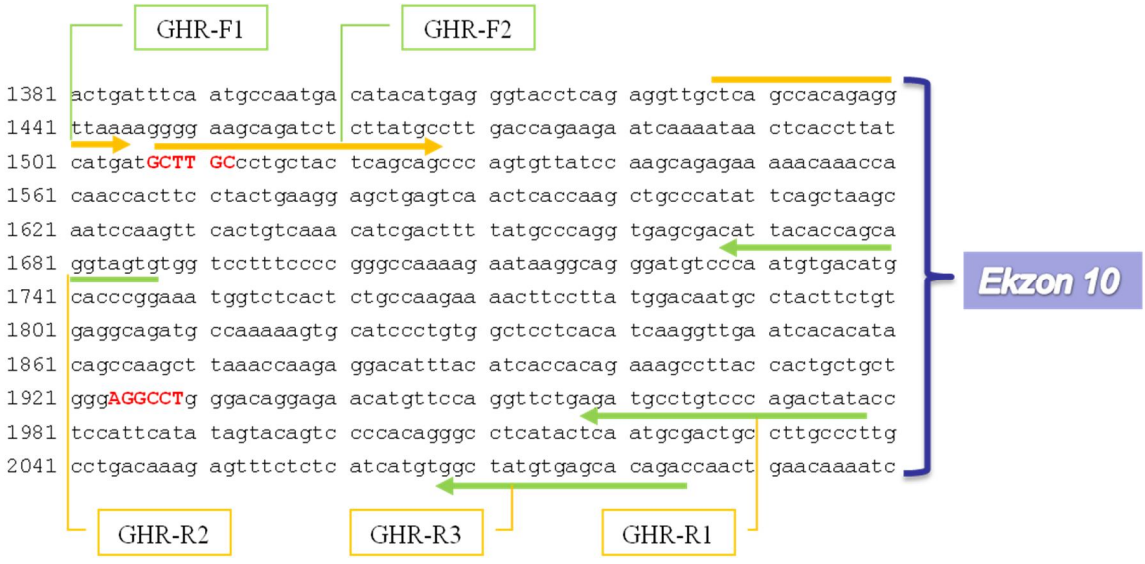
PZR ürünü varlığı %1,5 agaroz jel elektroforez ile değerlendirilmiştir. Agaroz (Prona Agarose), TBE (Tris, Borik Asit ve EDTA) solüsyonu içinde eritilip 50–60°C'ye soğutulduktan sonra 10µg/ml EtBr ilave edilmiştir. Jelde kuyucuklar oluşturmak için jel kabına dökülerek uygun taraklar yerleştirilmiştir. Elde edilen PZR ürününden 10 µl alınıp yükleme boyası (6 x loading dye) ile karıştırılarak kuyucuklara yüklenmiş ve jel elektroforez cihazında (Consort EV 265, Belgium) 45 dakika 100 voltluk elektrik akımına tabii tutulmuştur (Resim 2.2). Ayrıca gözlenen bantların beklenen bantlar olup olmadığını belirlemek için 100 baz çiftlik DNA basamakçıkları (DNA ladder) kullanılmıştır. GenoMini Image Capture and Analysis görüntüleme sistem (VWR, Leuven, Almanya) kullanılarak görüntüler elde edilmiştir.



Resim 2.2. Jel Elektroforez Sistemi.

2.10. Restriksiyon Fragment Length Polimorfizm (RFLP) analizi

Çalışmada değerlendirilen BHR geni 10. ekzon bölgesinin dizisi, kullanılan primerler ve bu çalışma ile ilgili polimorfik bölgeler Şekil 2.6'da belirtilmiştir.



Şekil 2.6. BHR geni 10. ekzonu ve çalışmada kullanılan primerler.

10. ekzon bölgesinin -561 ve -422 konumunda bulunan polimorfizmlerini belirlemek için PZR-restriksiyon enzim kesim tekniği (RFLP) kullanılmıştır. PZR ile çoğaltılan DNA ürünleri, Çizelge 2.4'te özetlenen restriksiyon endonükleazlar (RE)

ile reaksiyona tabi tutularak ilgili polimorfizmler yönünden incelenmiştir. RE analizlerinde 10 µl PZR ürünü, 5 U *Eco147I (StuI) (Thermo, ABD)* veya *Cac8I (Biolabs, İngiltere)* RE enzimleri ve ilgili 1X RE buffer konsantrasyonunda ve toplam 20 µl hacminde olacak şekilde hazırlanmıştır. RE reaksiyonları 37 °C'de 18 saat tutularak tam bir kesim olanağı sağlanmıştır.

Çizelge 2.4. Çalışmada kullanılan Restriksiyon Endonükleazlar (RE).

Kesim Enzimi	**Kesim Bölgesi**	**Buffer**	**İnkübasyon Sıcaklığı**	**İnkübasyon Zamanı**
Eco147I (StuI)	5'..AGGCCT..3' 3'..TCCGGA..5'	Buffer B	37°C	1-16 saat
Cac8I	5'..GCNNGC..3' 3'..CGNNCG..5'	CutSmart	37°C	5-15 dakika

2.10.1. Jel elektroforezi

PZR-RFLP analiz sonrası DNA örnekleri 6X-Loading Dye ile birlikte %3 Agaroz jelinde elektroforez yöntemiyle ayrıştırılıp EtBr boyama sonrası UV kaynağı altında gözlemlenmiştir (Resim 3.1, Resim 3.2).

2.11. DNA Dizi Analizleri

2.11.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonları

BHR geni 10. ekzon bölgesinin çoğaltılmasında, BHR-F2 ve BHR-R1 primerleri ile yukarıda (2.8) detaylı olarak açıklanan touchdown PZR protokolü ve profili kullanılmıştır. PZR'leri toplam 60 µl hacimde ve 30 döngü olarak hazırlanmıştır. Çoğaltılan PZR ürünlerinden alınan 10 µl örnekler öncelikle 6X Loading Dye ile birlikte %1,5 Agaroz jelinde PZR ürünlerinin varlığı ve kalitesi 2.9 numaralı başlık altında belirtildiği şekilde değerlendirilmiştir.

2.11.2. PZR Ürünlerinin Temizlenmesi

Yükseltgenen BHR 10. ekzon bölgelerine ait 50 µl PZR ürünleri Bio101 Gene Clean for Turbo PCR Kiti (#1103-600) (Q-Bio Gene Inc., Kuzey Amerika) ile

üretici firmanın protokolü kullanılarak temizlenmiştir. Temizlenen PZR ürünlerinin miktarı ve kalitesi 260/280 nm UV'de Nanodrop ND-100 kullanarak ve agaroz jel elektroforez ile kontrol edilmiştir.

2.11.3. DNA Dizi Analizleri

BHR 10. ekzon bölgesinin DNA dizi analizlerinde Beckman Coulter DCTS Sekans kiti (#608000) üretici firma protokolü uygulanarak kullanılmıştır. DNA dizi analizi reaksiyonlarında 11 µl DTCS miksi, template olarak ~100 fMol temizlenen PZR ürünü, 3,2 pMol primer ve toplam 20 µl hacminde olacak şekilde hazırlanmıştır.

Hazırlanan DNA dizi analizi reaksiyonları, BioRad MyCycler Thermal Cycler kullanılarak 96 °C'de 1 dakika denatürasyon sonrası 96 °C'de 20 saniye denatürasyon, 50 °C'de 20 saniye bağlanma ve 60 °C'de 4 dakika uzatma olacak şekilde toplam 40 döngü ile çoğaltılmıştır.

DNA dizi analizi reaksiyonu ürünleri bağlanmamış olan dNTPs, ddNTPs, enzim ve kimyasallardan NaAc/Glikojen/EtOH presipitasyonu ile temizlendikten sonra 40 µl Hi-Di-Formamid ile çözdürülmüş ve Beckman Coulter CEQ-8000 Genetik Analiz sisteminde (Beckman Coulter Inc., ABD) (Resim 2.3) LRF-b (90°C'de 2 dakika denatürasyon, 2,0 kV 15 saniye enjeksiyon, 57°C kapiller ısısı ve 6 kV 60 dakika seperasyon) protokolü kullanılarak kapiller elektroforeze tabi tutulmuştur.

DNA dizi analizi ileri ve geri okumaları Beckman Coulter Sequence Analyser programı kullanılarak BHR (NM_000163) referans DNA dizisi ile karşılaştırılmış, olası DNA dizilim farklılıkları yönünden araştırılmış ve olası heterozigot DNA dizilimleri yönünden değerlendirilmiştir (Resim 3.3, Resim 3.4, Resim 3.5,Resim 3.6).



Resim 2.3. DNA dizi analizleri için kullanılan genetik analiz sistemi.

2.12. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistik analizlerinde Minitab 14.0 (Minitab Inc., PA, ABD) istatistik paket programı kullanılmıştır. Örneklem sayısının belirlenmesi amacıyla yapılan power analizi sonucunda 99 vaka ve 99 kontrol bireyi için alfa=0.05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde %95 olarak bulunmuştur. Verilerin elde edilmesinin ardından mandibular prognatizm grubundaki bireyler ile kontrol grubu bireylerin sefalometrik değerleri için tanımlayıcı istatistik uygulanmış ve verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arasında fark olup olmadığını değerlendirmek için normal dağılım gösteren gruplarda bağımsız iki örneklem t-testi, normal dağılım göstermeyen gruplarda Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. Boy uzunluğu ile mandibular uzunluklar arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amacıyla Pearson korelasyon testi uygulanmıştır. P561T ve C422F bölgelerinin allel ve genotip frekansının belirlemesi ve her iki polimorfik bölgenin haplotip dağılımının değerlendirildiği Hardy-Weinberg dengesinin hesaplanması GenAlEx6 (Peakall and Smouse 2006) programı ile gerçekleştirilmiştir. MP ve kontrol grupları arasında genetik farklılık olup olmadığını değerlendirmek amacıyla Odds oranı hesaplanmış, polimorfizmler ile sefalometrik ölçümler arasında ilişki olup olmadığının belirlenmesi amacıyla Mann-Whitney U testi uygulanmıştır.

3. BULGULAR

Çalışmada yaşları 17 ile 50 arasında değişen 99 mandibular prognatizme sahip iskeletsel sınıf III hasta 3 kuşağı içerecek şekilde aile ağaçları oluşturularak değerlendirilmiştir. Ayrıca 99 mandibular prognatik birey ile 99 kontrol gurubu bireyden alınan periferik kan örnekleri kullanılarak genomik DNA'lar izole edilmiştir.

3.1. Lateral Sefalometrik Film Analizi Bulguları

3.1.1. Mandibulaya Ait Bulgular

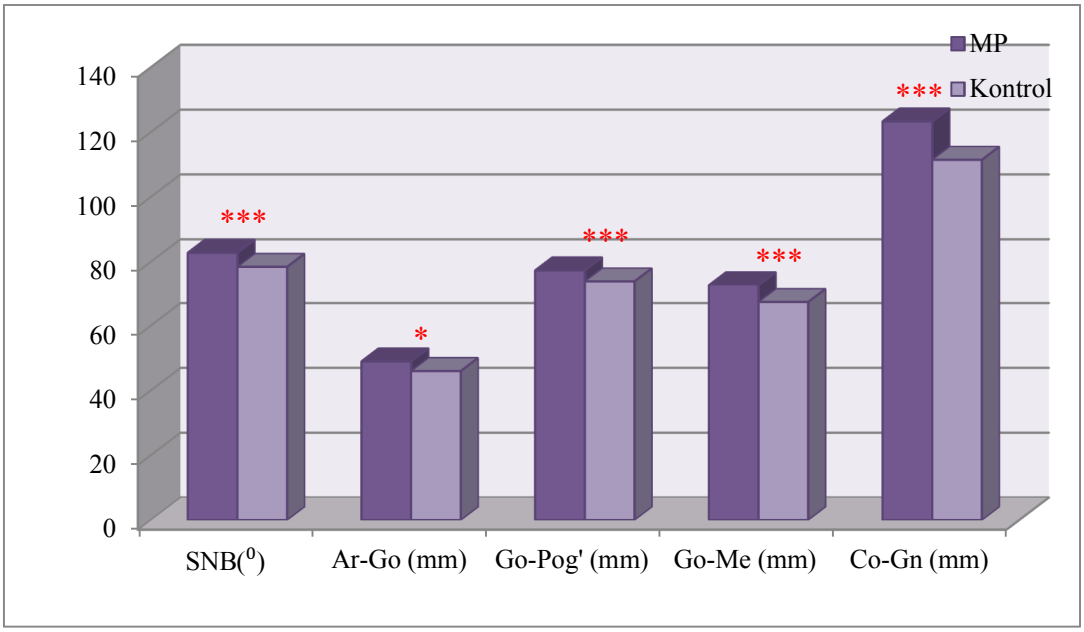
MP grubu ile kontrol grubu bireylerin lateral sefalometrik filmleri üzerinde yapılan analizin mandibulaya ait sonuçları Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1'de verilmiştir. Mandibulaya ait tüm ölçümlerde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$). SNB açısında iki grup arasında ortalama 4,2°'lik bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$).

Ramus yüksekliğindeki (Ar-Go) ortalama 1,9 mm'lik fark iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Mandibular korpus uzunluğu (Go-Pog') açısından iki grup arasında ortalama 3,2 mm fark bulunmaktadır ($p<0,001$). Mandibular uzunluktaki (Go-Me) ortalama 4 mm'lik fark iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Efektif mandibula uzunluğu (Co-Gn) açısından iki grup arasında ortalama 10,9 mm fark bulunmaktadır ($p<0,001$).

Çizelge 3.1. Mandibulaya ait lateral sefalometrik bulguların karşılaştırılması.

Parametre		Ortalama[a] / Ortanca[b]	Dağılım Aralığı		P[g]/P[h]
			Minimum[c] / Q_1[d]	Maksimum[e] / Q_3[f]	
SNB(°)	MP	82,79±3,89[a]	75,80[c]	92,50[e]	0,000[g]***
	Kontrol	78,44±2,97[a]	71,40[c]	83,60[e]	
Ar-Go (mm)	MP	48,96±4,82[a]	41,50[c]	60,00[e]	0,013[g]*
	Kontrol	46,00±5,00[a]	34,90[c]	55,50[e]	
Go-Pog' (mm)	MP	77,35±5,44[a]	68,00[c]	90,60[e]	0,000[g]***
	Kontrol	73,95±4,84[a]	62,40[c]	82,50[e]	
Go-Me (mm)	MP	72,74±4,89[a]	64,50[c]	84,20[e]	0,000[g]***
	Kontrol	67,29±4,95[a]	57,40[c]	78,00[e]	
Co-Gn (mm)	MP	122,10[b]	119,60[d]	124,40[f]	0,000[h]***
	Kontrol	111,20[b]	107,10[d]	115,90[f]	

[a] Ortalama; [b] Ortanca; [c] Minimum; [d] Q_1; [e] Maksimum; [f] Q_3
[g] Bağımsız iki örneklem t testi; [h] Mann-Whitney U testi
*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05



*** p<0,001; ** p<0,01; * p<0,05

Şekil 3.1 Mandibulaya ait lateral sefalometrik bulguların karşılaştırılması.

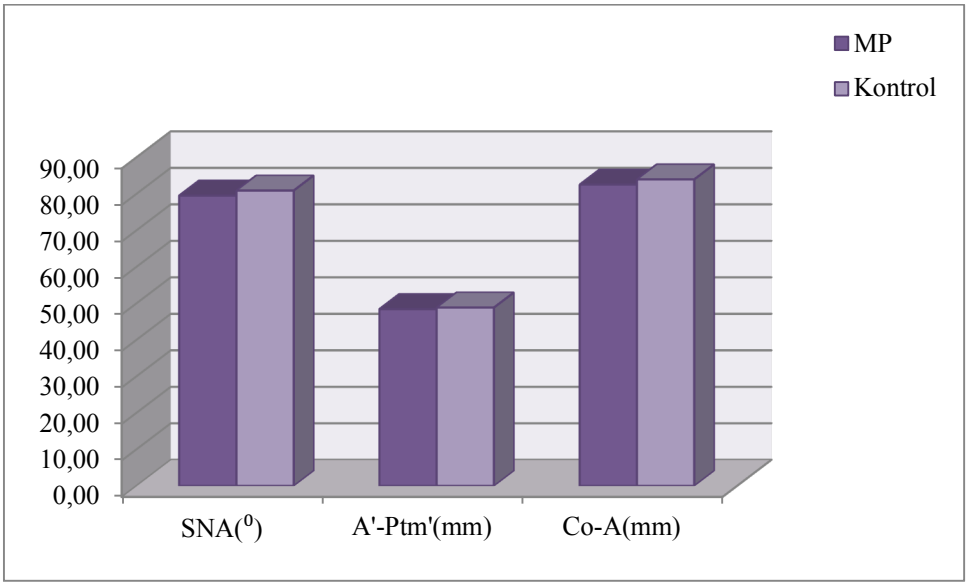
3.1.2. Maksillaya Ait Bulgular

MP grubu ile kontrol grubu bireylerin lateral sefalometrik filmleri üzerinde yapılan analizin maksillaya ait sonuçları Çizelge 3.2 ve Şekil 3.2'de verilmiştir. Maksillaya ait tüm ölçümlerde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p >0,05).

Çizelge 3.2. Maksillaya ait lateral sefalometrik bulguların karşılaştırılması.

Parametre		Ortalama[a] / Ortanca[b]	Dağılım Aralığı		P[g]/P[h]
			Minimum[c] / Q_1[d]	Maksimum[e] / Q_3[f]	
SNA(°)	MP	79,53±3,34[a]	72,40[c]	85,90[e]	0,277[g]
	Kontrol	80,91±2,96[a]	73,90[c]	85,70[e]	
A'-Ptm' (mm)	MP	47,80[b]	38,00[d]	42,40[f]	0,288[h]
	Kontrol	48,50[b]	46,30[d]	51,70[f]	
Co-A (mm)	MP	82,10[b]	80,10[d]	85,30[f]	0,559[h]
	Kontrol	84,00[b]	80,10[d]	86,80[f]	

[a] Ortalama; [b] Ortanca; [c] Minimum; [d] Q_1; [e] Maksimum; [f] Q_3
[g] Bağımsız iki örneklem t testi; [h] Mann-Whitney U testi



Şekil 3.2. Maksillaya ait lateral sefalometrik bulguların karşılaştırılması.

3.1.3. Maksillomandibular Yapıya Ait Bulgular

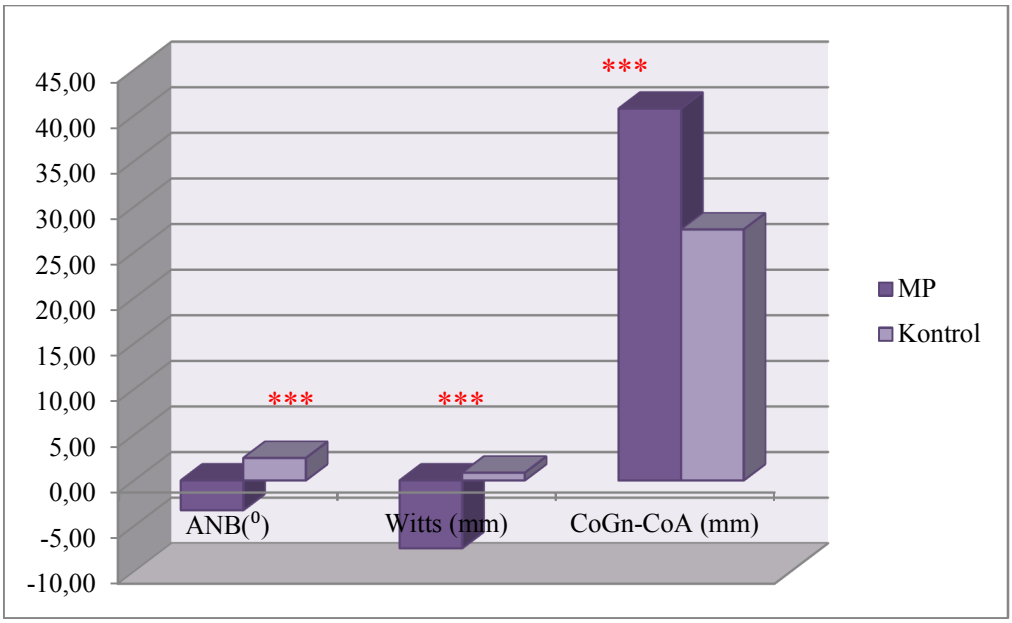
MP grubu ile kontrol grubu bireylerin lateral sefalometrik filmleri üzerinde yapılan analizin maksillomandibular yapıya ait sonuçları Çizelge 3.3 ve Şekil 3.3'de verilmiştir. Maksillomandibular yapıya ait tüm ölçümlerde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).

ANB açısında iki grup arasında ortalama 5,3°'lik bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). Wits değeri ve maksillomandibular fark (CoGn-CoA) açısından iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

Çizelge 3.3. Maksillomandibular yapıya ait lateral sefalometrik bulguların karşılaştırılması.

Parametre		Ortalama[a] / Ortanca[b]	Dağılım Aralığı		P[g]/P[h]
			Minimum[c] / Q_1[d]	Maksimum[e] / Q_3[f]	
ANB(°)	MP	-2,60[b]	-4,60[d]	-1,30[f]	0,000[h]***
	Kontrol	2,70[b]	1,50[d]	3,40[f]	
Wits (mm)	MP	-8,40[b]	-9,20[d]	-6,00[f]	0,000[h]***
	Kontrol	0,54[b]	0,20[d]	1,90[f]	
CoGn-CoA (mm)	MP	39,80[b]	38,00[d]	42,40[f]	0,000[h]***
	Kontrol	27,70[b]	24,40[d]	29,80[f]	

[a] Ortalama; [b] Ortanca; [c] Minimum; [d] Q_1; [e] Maksimum; [f] Q_3
[g] Bağımsız iki örneklem t testi; [h] Mann-Whitney U testi
*** $p<0,001$



*** p<0,001

Şekil 3.3. Maksillomandibular yapıya ait lateral sefalometrik bulguların karşılaştırılması.

3.1.4. Kafa Kaidesi Ölçümleri ve Alt Yüz Yüksekliğine Ait Bulgular

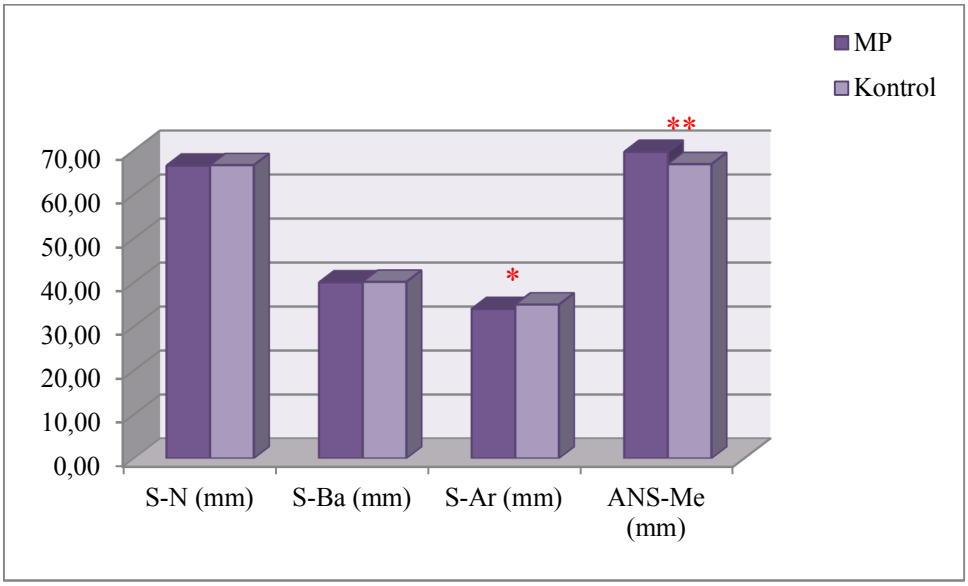
MP grubu ile kontrol grubu bireylerin lateral sefalometrik filmleri üzerinde yapılan analizin kafa kaidesi ölçümlerine ait sonuçlar Çizelge 3.4 ve Şekil 3.4'de verilmiştir. Kafa kaidesi ölçümlerinde, ön kafa kaidesi uzunluğu (S-N) ile arka kafa kaidesi uzunluğu (S-Ba) değerleri dışındaki değerlerde iki grup açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur.

S-Ar uzunluğundaki ortalama 0,7 mm'lik fark iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Alt anterior yüz yüksekliği (ANS-Me) açısından iki grup arasında ortalama 2,8 mm fark bulunmaktadır ($p<0,01$).

Çizelge 3.4. Kafa kaidesi ölçümleri ve alt yüz yüksekliğine ait lateral sefalometrik bulguların karşılaştırılması.

Parametre		Ortalama[a] / Ortanca[b]	Dağılım Aralığı		P[g]/P[h]
			Minimum[c] / Q_1[d]	Maksimum[e] / Q_3[f]	
S-N (mm)	MP	65,80[b]	64,20[d]	68,80[f]	0,762[h]
	Kontrol	66,40[b]	63,80[d]	68,90[f]	
S-Ba (mm)	MP	39,60[b]	37,30[d]	42,00[f]	0,957[h]
	Kontrol	38,90[b]	37,90[d]	41,30[f]	
S-Ar (mm)	MP	34,10[b]	31,50[d]	36,00[f]	0,039[h]*
	Kontrol	34,80[b]	32,40[d]	37,60[f]	
ANS-Me (mm)	MP	69,66±6,78[a]	57,70[c]	88,80[e]	0,003[g]**
	Kontrol	66,86±6,51[a]	53,80[c]	81,50[e]	

[a] Ortalama; [b] Ortanca; [c] Minimum; [d] Q_1; [e] Maksimum; [f] Q_3
[g] Bağımsız iki örneklem t testi; [h] Mann-Whitney U testi
** p<0,01; * p<0,05



** p<0,01; * p<0,05

Şekil 3.4. Kafa kaidesi ölçümleri ve alt yüz yüksekliğine ait lateral sefalometrik bulguların karşılaştırılması.

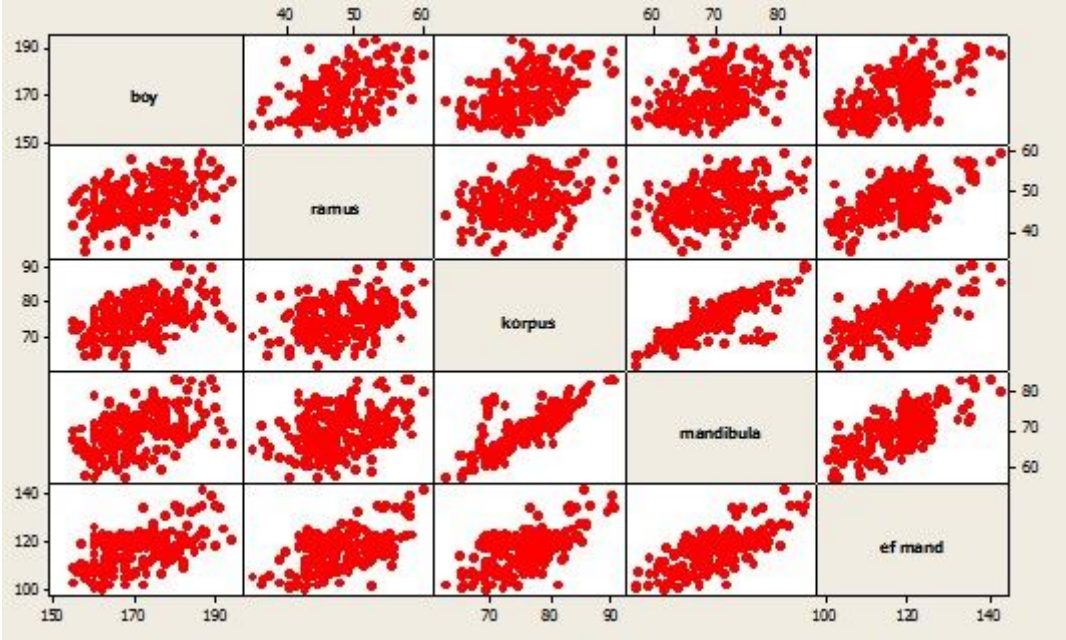
Ayrıca bireylerin boy uzunlukları da kaydedilmiştir. Boy uzunluğu ile ramus yüksekliği (Ar-Go), korpus uzunluğu (Go-Gn'), mandibular uzunluk (Go-Me) ve efektif mandibula (Co-Gn) uzunluğu arasında ilişki olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan Pearson korelasyon analizi sonuçları Çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.5. Pearson korelasyon analizi bulguları.

	Boy uzunluğu	Ar-Go	Go-Gn'	Go-Me
Ar-Go	0,484			
	0,000 ****			
Go-Gn'	0,503	0,384		
	0,000 ****	0,000 ***		
Go-Me	0,476	0,34	0,809	
	0,000 ***	0,000 ***	0,000 ***	
Co-Gn	0,547	0,562	0,636	0,713
	0,000 ***	0,000 ***	0,000 ***	0,000 ***

*** p<0,01

Boy uzunluğu ile tüm ölçümler arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Efektif mandibula uzunluğu ile boy uzunluğu arasında en yüksek korelasyon (0,547) gözlenmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Korelasyon bulgularının matrix plot grafiği ile gösterilmesi.

3.2. Soy Ağacı Analizi Bulguları

99 mandibular prognatizmli bireyin birinci-, ikinci-, ve üçüncü dereceden akrabalarının toplam sayısı 1847'dir. Değerlendirilen akrabalardan 217'si MP'ye sahipken (93 kız, 124 erkek), 1488'i (776 kız, 712 erkek) etkilenmemiştir.

Tanımlanan tüm bireyler (etkilenmiş ve etkilenmemiş) içinde (1705 birey) etkilenme oranı %12,7'dir (Çizelge 3.6)

Çizelge 3.6. Akrabaların dağılımı ve etkilenme oranları.

Fenotip	MP li akrabalar /Etkilenmemiş bireyler	Etkilenme oranı (%)
Etkilenmiş	217/1705	12,7
Erkek	124/836	14,8
Kız	93/869	10,7
Etkilenmemiş	1488/1705	87,3
Erkek	712	85,2
Kız	776	89,3
Toplam	1705	100

1847 bireyin %7,6'sı yani 142 birey (68 kız, 74 erkek) mandibular prognatizm açısından tanımlanamamıştır. Bu tanımlanamayan bireylerin %66,2'sini büyükanne/büyükbaba, %21,1'ni kuzenler ve %12,7'sini amca/dayı-hala/teyze oluşturmaktadır. Ailelerin %89'unda proband dışında en az bir bireyde daha MP bulunduğu gözlenmiştir (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7. Proband dışında en az 1 etkilenmiş bireye sahip ailelerin dağılımı.

Proband	Etkilenmiş	Etkilenmemiş	Toplam
Erkek	45	7	52
Kız	43	4	47
Toplam	88 (89%)	11 (11%)	99 (100%)

Birinci dereceden akrabaların etkilenme oranı (%20; 371 akrabada 74 birey) ikinci derece akrabalardan (%7,3; 1172 akrabada 86 birey) yaklaşık 3 kat daha fazla bulunmuştur. Üçüncü derece akrabalarda (kuzenler) etkilenme oranı %19,7 (162 akrabada 32 birey)'dir. Soy ağaçlarının %36'sında probandın ebeveynlerinden biri etkilenmiş (10 anne ve 26 baba) olup her iki ebeveynin etkilendiği bir aile tespit edilmemiştir. Birinci dereceden akrabalar içinden babaların etkilenme oranı (%26,2) annelerin etkilenme oranından (%10,1) yaklaşık 2 kat daha fazla bulunmuştur. Kardeşler için ise etkilenme oranı %16,8'dir (Çizelge 3.8). İkinci derece akrabalar

içinde büyükanne/büyükbaba ve amca/dayı-hala/teyze etkilenme oranları sırasıyla %18,1 ve %4,5'tir (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8. Birinci-, ikinci- ve üçüncü derece akrabalarda MP.

Akrabalar	Etkilenmiş	Etkilenmemiş	Etkilenme Oranı (EO) %
1. dereceden akraba	74	371	20
Baba	26	99	26,2
Anne	10	99	10,1
Kardeş	30	148	16,8
Çocuk	8	25	24,2
Erkek	53	186	28,4
Kız	21	185	11,3
2. dereceden akraba	86	1172	7,3
Büyükanne-Büyükbaba	36	162	18,1
Amca/Dayı-Teyze/Hala	50	1060	4,5
Erkek	48	522	8,4
Kız	38	564	6,3
3. dereceden akraba	32	130	19,7
Erkek	14	66	17,5
Kız	18	64	21,9

Tüm akrabaların etkilenme oranları değerlendirildiğinde erkeklerin (%14,8) kızlardan (%10,7) daha fazla etkilenmiş olduğu görülmüştür (Çizelge 3.6) ve bu oran birinci dereceden akrabalar içinde 2,5 kat daha fazladır (erkek ve kızlarda sırasıyla %28,4 ve %11,3) (Çizelge 3.8).

Kız probandların akrabalarının etkilenme oranı (%12,7), erkek probandlarınkinden (%10) daha yüksektir (Çizelge 3.9) Birinci dereceden akrabalar için bu oran yaklaşık 1,5 kat daha fazladır (kız ve erkek probanlarda sırasıyla %18,2 ve %13,7).

Çizelge 3.9. Probandlardan tespit edilen mandibular prognatik akrabaların etkilenme oranları.

	Akrabaların etkilenme oranı			
Proband	1. derece	2. derece	3. derece	Toplam
Erkek	13,7	8,4	20	10
Kız	18,2	5,1	18,1	12,7

Bu çalışmada değerlendirilen bireylerin genetik aktarım modelini belirlemek amacıyla 99 bireyin soy ağaçlarına bakıldığında, ailelerin %83,8'inde otozomal dominant geçiş görülmekte iken 37 soy ağacında tamamlanmamış penetrans gözlenmiştir. Ailelerin %16,2'sinde ise otozomal resesif geçiş olduğu belirlenmiştir.

3.3. Mandibular Prognatizme Sahip Olan Bireylerin Genotipleri

Çalışmada BHR geninin ekzon 10 hücre içi bölgesinde, 184 aminoasitlik C terminal bölgesinde yer alan 2 polimorfik bölgenin MP ile ilişkisi incelenmiştir. Türk populasyonunda -561 ve -422. alanlardaki 2 polimorfik bölgenin MP grubu ve kontrol grubundaki (K) genotip yapısı Çizelge 3.10'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.10. MP ve Kontrol grubu bireylerin -422 ve -561 bölgelerindeki genotip yapısı.

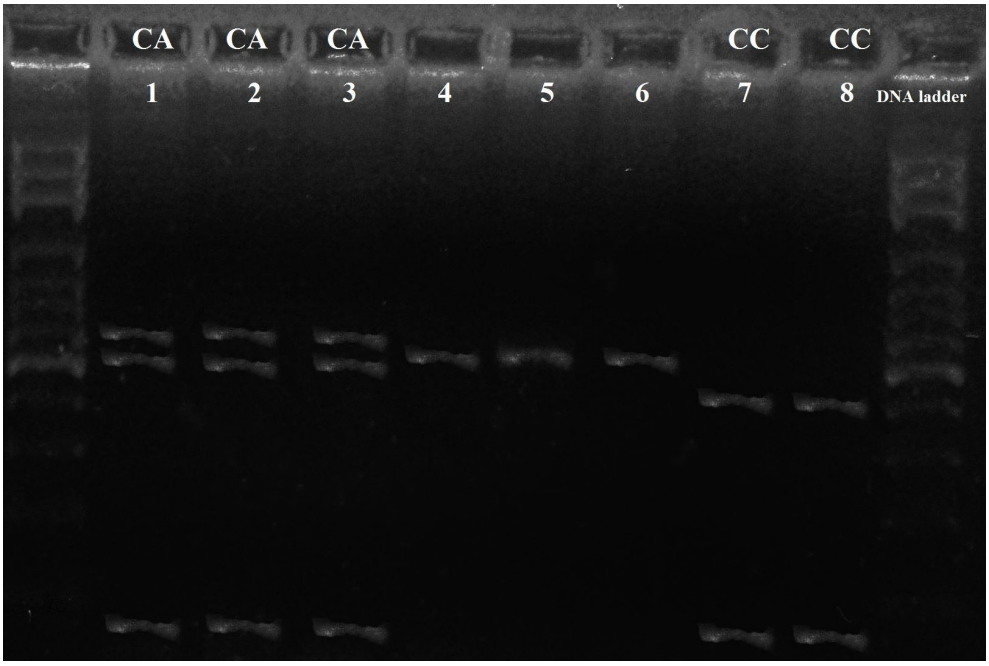
ID	**C422F**	**P561T**	**ID**	**C422F**	**P561T**
MP1	**TT**	**CA**	K1	**TT**	**CC**
MP2	**TT**	**CC**	K2	**TT**	**CC**
MP3	**TT**	**CC**	K3	**TT**	**CC**
MP4	**TT**	**CC**	K4	**TT**	**CC**
MP5	**TT**	**CC**	K5	**TT**	**CC**
MP6	**TT**	**CC**	K6	**TT**	**CC**
MP7	**TT**	**CC**	K7	**TT**	**CC**
MP8	**TT**	**CC**	K8	**TT**	**CC**
MP9	**TT**	**CC**	K9	**TT**	**CC**
MP10	**TT**	**CC**	K10	**TT**	**CC**
MP11	**TT**	**CC**	K11	**TT**	**CC**
MP12	**TT**	**CC**	K12	**TT**	**CC**
MP13	**TT**	**CC**	K13	**TT**	**CC**
MP14	**TT**	**CC**	K14	**TT**	**CC**

MP15	**TT**	**CC**	K15	**TT**	**CC**
MP16	**TT**	**CC**	K16	**TT**	**CC**
MP17	**TT**	**CC**	K17	**TT**	**CC**
MP18	**TT**	**CA**	K18	**TT**	**CC**
MP19	**TT**	**CC**	K19	**TT**	**CC**
MP20	**TT**	**CC**	K20	**TT**	**CC**
MP21	**TT**	**CC**	K21	**TT**	**CC**
MP22	**TT**	**CC**	K22	**TT**	**CC**
MP23	**TT**	**CC**	K23	**TT**	**CC**
MP24	**TT**	**CC**	K24	**TT**	**CC**
MP25	**TT**	**CC**	K25	**TT**	**CC**
MP26	**TT**	**CC**	K26	**TT**	**CC**
MP27	**TT**	**CC**	K27	**TT**	**CC**
MP28	**TA**	**CC**	K28	**TT**	**CC**
MP29	**TT**	**CC**	K29	**TT**	**CC**
MP30	**TT**	**CC**	K30	**TT**	**CC**
MP31	**TT**	**CC**	K31	**TT**	**CC**
MP32	**TT**	**CC**	K32	**TT**	**CC**
MP33	**TT**	**CC**	K33	**TT**	**CC**
MP34	**TA**	**CA**	K34	**TT**	**CC**
MP35	**TT**	**CC**	K35	**TT**	**CC**
MP36	**TT**	**CC**	K36	**TT**	**CC**
MP37	**TT**	**CC**	K37	**TT**	**CC**
MP38	**TT**	**CC**	K38	**TT**	**CC**
MP39	**TT**	**CC**	K39	**TT**	**CC**
MP40	**TT**	**CC**	K40	**TT**	**CC**
MP41	**TT**	**CC**	K41	**TT**	**CC**
MP42	**TT**	**CC**	K42	**TT**	**CC**
MP43	**TT**	**CC**	K43	**TT**	**CC**
MP44	**TT**	**CC**	K44	**TT**	**CC**
MP45	**TT**	**CC**	K45	**TT**	**CC**
MP46	**TT**	**CC**	K46	**TT**	**CC**
MP47	**TT**	**CC**	K47	**TT**	**CC**
MP48	**TT**	**CC**	K48	**TT**	**CC**
MP49	**TT**	**CC**	K49	**TT**	**CC**
MP50	**TT**	**CC**	K50	**TT**	**CC**
MP51	**TT**	**CC**	K51	**TT**	**CC**
MP52	**TT**	**CC**	K52	**TT**	**CC**
MP53	**TT**	**CC**	K53	**TT**	**CC**
MP54	**TT**	**CC**	K54	**TT**	**CC**
MP55	**TT**	**CC**	K55	**TT**	**CC**
MP56	**TT**	**CC**	K56	**TT**	**CC**
MP57	**TT**	**CC**	K57	**TT**	**CC**
MP58	**TT**	**CC**	K58	**TT**	**CC**

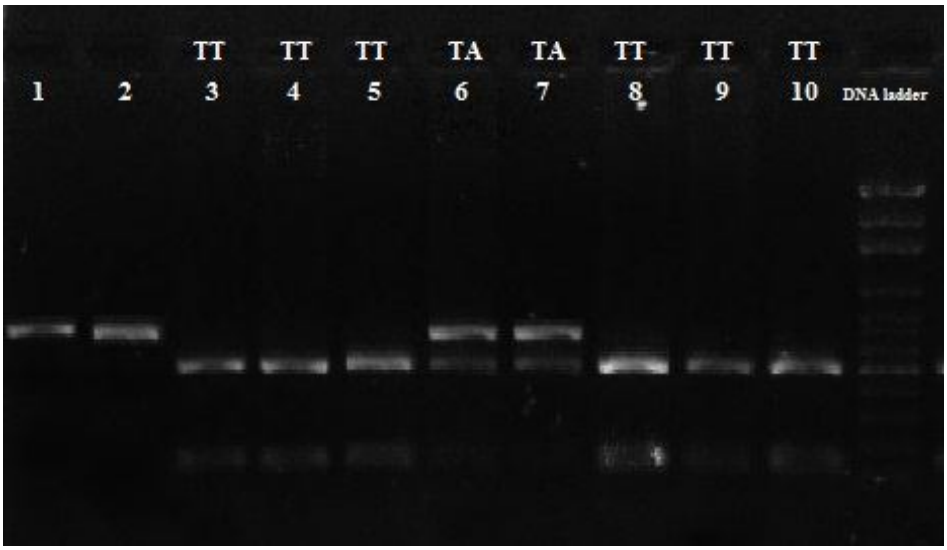
MP59	**TT**	**CC**	K59	**TT**	**CC**
MP60	**TT**	**CC**	K60	**TT**	**CC**
MP61	**TT**	**CC**	K61	**TT**	**CC**
MP62	**TT**	**CC**	K62	**TT**	**CC**
MP63	**TT**	**CA**	K63	**TT**	**CC**
MP64	**TT**	**CC**	K64	**TT**	**CC**
MP65	**TT**	**CC**	K65	**TT**	**CC**
MP66	**TT**	**CC**	K66	**TT**	**CC**
MP67	**TT**	**CC**	K67	**TT**	**CC**
MP68	**TT**	**CC**	K68	**TT**	**CC**
MP69	**TT**	**CC**	K69	**TT**	**CC**
MP70	**TT**	**CC**	K70	**TT**	**CC**
MP71	**TT**	**CC**	K71	**TT**	**CC**
MP72	**TT**	**CC**	K72	**TT**	**CC**
MP73	**TT**	**CC**	K73	**TT**	**CC**
MP74	**TT**	**CC**	K74	**TT**	**CC**
MP75	**TT**	**CC**	K75	**TT**	**CC**
MP76	**TT**	**CC**	K76	**TT**	**CC**
MP77	**TT**	**CC**	K77	**TT**	**CC**
MP78	**TT**	**CC**	K78	**TT**	**CC**
MP79	**TT**	**CC**	K79	**TT**	**CC**
MP80	**TT**	**CC**	K80	**TT**	**CC**
MP81	**TT**	**CC**	K81	**TA**	**CA**
MP82	**TT**	**CC**	K82	**TT**	**CC**
MP83	**TT**	**CC**	K83	**TT**	**CC**
MP84	**TT**	**CC**	K84	**TT**	**CC**
MP85	**TT**	**CC**	K85	**TT**	**CC**
MP86	**TT**	**CC**	K86	**TT**	**CC**
MP87	**TT**	**CC**	K87	**TT**	**CC**
MP88	**TT**	**CC**	K88	**TT**	**CC**
MP89	**TT**	**CC**	K89	**TT**	**CC**
MP90	**TT**	**CC**	K90	**TT**	**CC**
MP91	**TT**	**CC**	K91	**TT**	**CC**
MP92	**TT**	**CC**	K92	**TT**	**CC**
MP93	**TT**	**CC**	K93	**TT**	**CC**
MP94	**TT**	**CC**	K94	**TT**	**CC**
MP95	**TT**	**CC**	K95	**TT**	**CC**
MP96	**TT**	**CC**	K96	**TT**	**CC**
MP97	**TT**	**CA**	K97	**TT**	**CC**
MP98	**TT**	**CC**	K98	**TT**	**CC**
MP99	**TT**	**CC**	K99	**TT**	**CC**

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)-Restriksiyon Fragment Lenght Polymorpism (RFLP) Analizi

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



Resim 3.1 Beş farklı bireyden spesifik primerler kullanılarak elde edilen PZR ürünün *Eco147I (StuI)* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu oluşan genotipler. Kuyucuklar 1, 2, 3 (vaka no: MP28, MP34, K81): CA heterozigot bireyler; Kuyucuklar 4, 5, 6 (vaka no: MP28, MP34, K81): Normal PZR ürünleri; Kuyucuklar 7, 8 (vaka no: K4, MP88): CC homozigot bireyler.



Resim 3.2 Sekiz farklı bireyden spesifik primerler kullanılarak elde edilen PZR ürünün *Cac8I* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu oluşan genotipler. Kuyucuklar 1, 2 (vaka no: MP18, MP1): Normal PZR ürünleri; Kuyucuklar 3, 4, 5, (vaka no: MP10, MP20, MP49): TT homozigot bireyler; Kuyucuklar 6, 7, (vaka no: MP18, MP1): TA heterozigot bireyler; Kuyucuklar 8, 9, 10 (vaka no: K42, K57, K72): TT homozigot bireyler.

Yapılan PZR-RFLP analizleri sonucunda hastaların BHR geninin C-422F polimorfik bölgesinde T allelinin MP grubunda görülme oranı %97,9 (97 adet), kontrol gurubunda görülme oranı ise %98,9 (98 adet) olarak bulunmuştur. A allellinin MP gurubunda ve kontrol gurubunda bulunma oranı sırasıyla %2,1 (2 adet) ve %1,1 (1 adet)'dir (Çizelge 3.11).

P-561T polimorfizm bölgesindeki allellerin görülme oranları değerlendirildiğinde; bu polimorfik bölgedeki C allelinin MP grubunda görülme oranı %94,9 (94 adet), kontrol gurubunda görülme oranı ise %98,9 (98 adet) olarak bulunmuştur. A allelinin MP gurubunda ve kontrol grubunda bulunma oranı sırasıyla %5,1 (5 adet) ve %1,1 (1 adet)'dir (Çizelge 3.11).

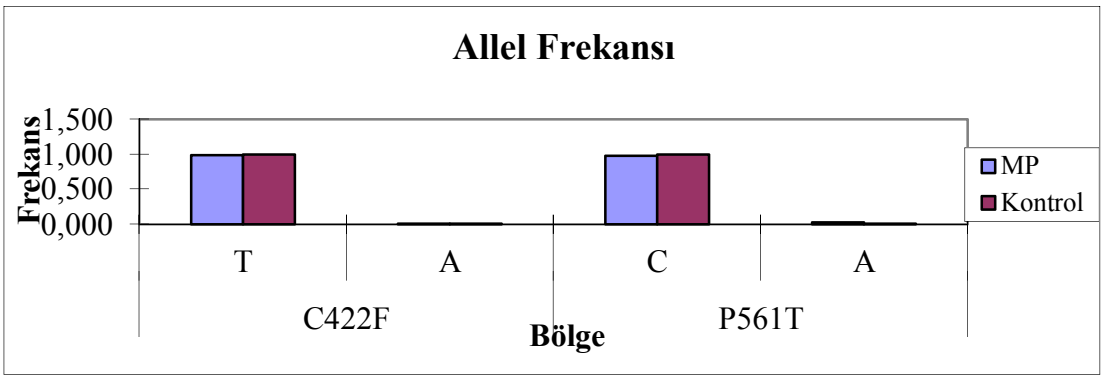
Çizelge 3.11. C-422F ve P-561T bölgelerindeki allel bulunma oranları.

		MP		Kontrol		Odds Oranı
		(n=99)	%	(n=99)	%	
C422F	T	97	97,9	98	98,9	0,568
	A	2	2,1	1	1,1	
P561T	C	94	94,9	98	98,9	0,135
	A	5	5,1	1	1,1	

C-422F ve P-561T bölgelerindeki allel frekansları Çizelge 3.12 ve Şekil 3.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.12. Allel frekansları.

Bölge	**Allel**	**MP**	**Kontrol**
C422F	**T**	0,990	0,995
	A	0,010	0,005
P561T	**C**	0,975	0,995
	A	0,025	0,005



Şekil 3.6. Allel frekansları.

Çalışmaya katılan 198 bireyden hiçbirinin C-422F bölgesinde homozigot AA genotipi ve P-561T bölgesinde homozigot AA genotipi gözlenmemiştir. Kontrol grubunda hem C422F bölgesinde hem de P561T bölgesinde heterozigot genotip sadece tek bireyde gözlendiği için, MP ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasının istatistiksel olarak hatalı olacağı düşünülmüştür. Aynı şekilde C422F bölgesinde MP grubunda 2 bireyde heterozigot AT genotipi, kontrol grubunda ise 1 bireyde

heterozigot AT genotipi gözlendiği için istatistiksel analiz yapılamamıştır. Bu nedenle veriler, sadece P561T varyasyonunun mandibular ve diğer kraniyal ölçümler üzerine etkisi olup olmadığını değerlendirmek için MP'ye sahip bireylerin lateral sefalometrik bulguları ile kombine edilmiştir. Araştırılan her iki polimorfik bölgenin haplotip dağılımı, Hardy-Weinberg dengesi ile değerlendirilmiş ve $p>0,05$ olduğu için dengede olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.13).

Çizelge 3.13. Hardy-Weinberg dengesi sonuçları.

	Bölge	**DF**	**X^2**	**p**	**Significance**
MP	C422F	1	0,010	0,919	**NS**
MP	P561T	1	0,066	0,797	**NS**
Kontrol	C422F	1	0,003	0,960	**NS**
Kontrol	P561T	1	0,003	0,960	**NS**

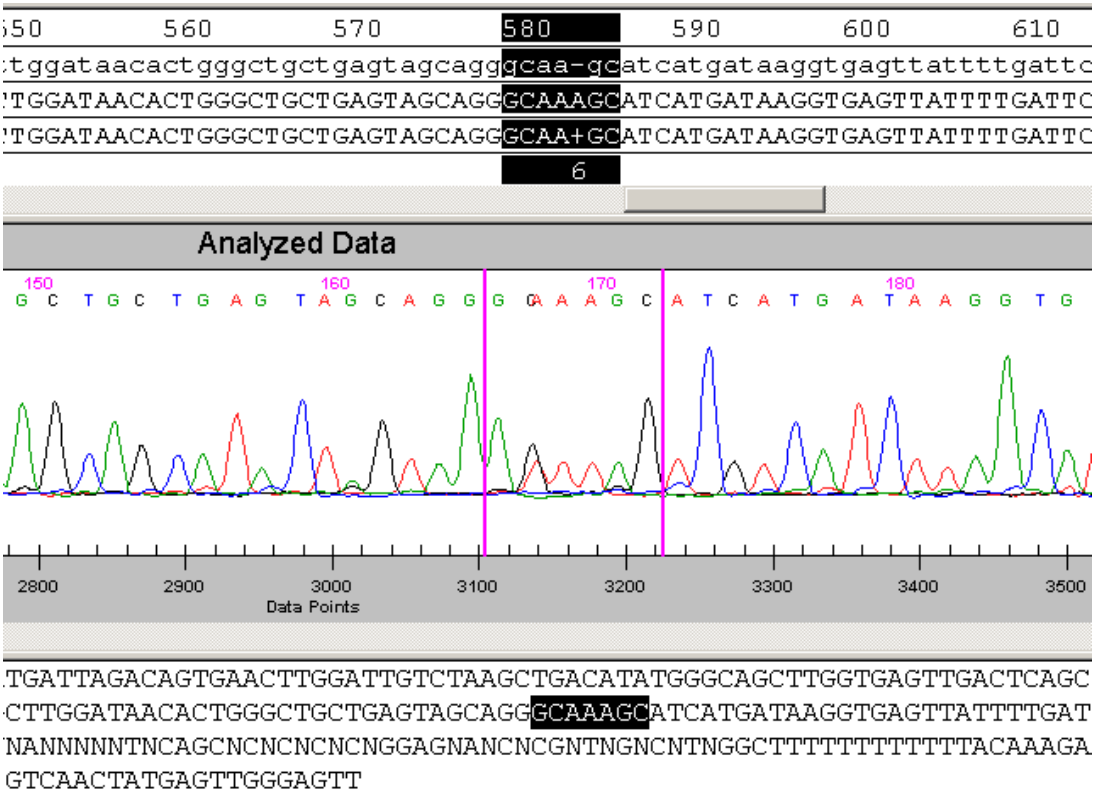
NS: non significant; anlamsız

3.4.1. DNA dizi analizi

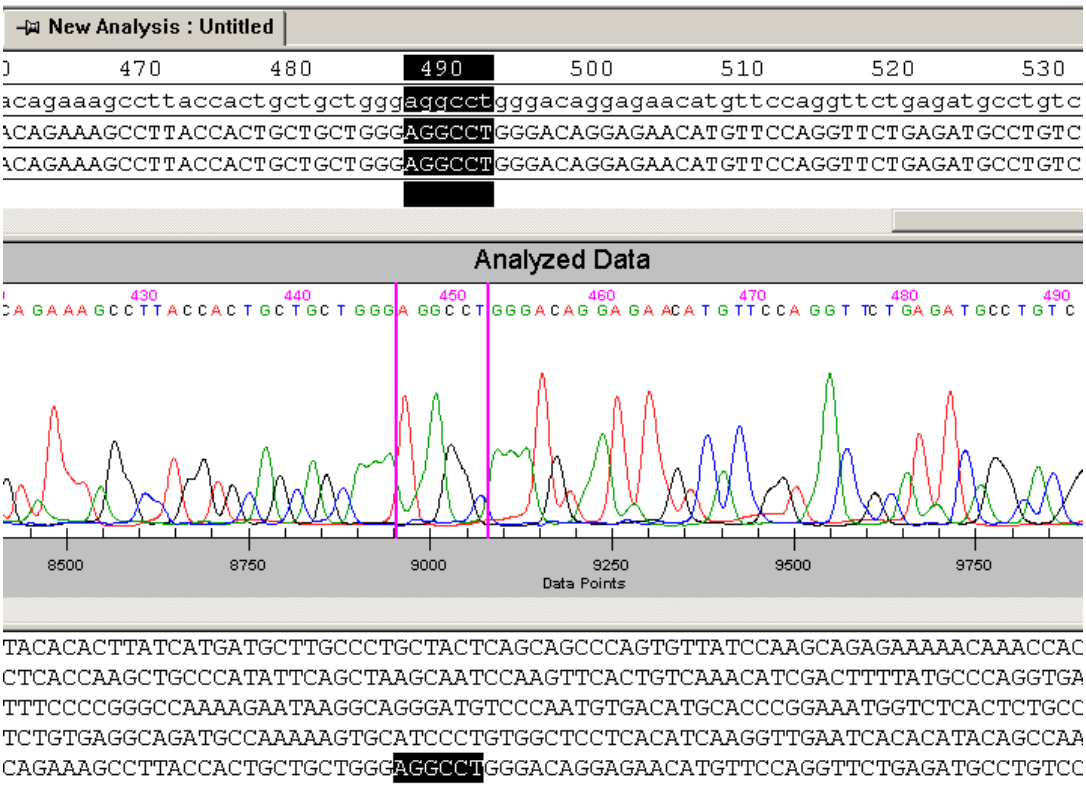
Jel elektroforez görüntülerine göre homozigot ve heterozigot bireylerin DNA dizi analizleri yapılarak C422F ve P561T bölgelerindeki polimorfizmler tespit edilmiş ve gösterilmiştir.(Resim 3.3, Resim 3.4, Resim 3.5,Resim 3.6)



Resim 3.3 C422F homozigot bireye ait DNA dizi analizi elektroferogramı



Resim 3.4 C422F heterozigot bireye ait DNA dizi analizi elektroferogramı



Resim 3.5 P561T homozigot bireye ait DNA dizi analizi elektroferogramı



Resim 3.6 P561T heterozigot bireye ait DNA dizi analizi elektroferogramı

3.5. Boy uzunluğu ile P561T bölgesindeki polimorfizmin ilişkisi

Çalışmada yapılan Mann-Whitney U testi sonucunda P561T bölgesindeki varyasyonun boy uzunluğu ile ilişkili olmadığı görülmüştür ($p>0,05$) (Çizelge 3.14)

Çizelge 3.14. Boy uzunluğu ile P561T bölgelesindeki polimorfizmin ilişkisi.

P561T	n	boy uzunluğu		
		ortalama	SS	P
CC	92	173,1	8,4	0,599
CA	5	176,0	11,5	

3.6. Sefalometrik bulgular ile P561T bölgesindeki polimorfizmin ilişkisi

P561T bölgesindeki C-A transversiyonu mandibular uzunluklar ile değerlendirildiğinde CA genotipinin efektif mandibula uzunluğu ile ilişkili olduğu Mann-Whitney U testi ile gösterilmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 3.15). CA genotipine sahip olan bireylerin CC genotipine sahip bireylere nazaran efektif mandibula uzunluklarının ortalama olarak 4 mm daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Aynı polimorfizm ile maksiller uzunluklar arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 2.15) Ancak alt yüz yüksekliği ile bu varyasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunduğu gözlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 2.16). CA genotipine sahip olan bireylerin alt yüz yüksekliklerinin CC genotipe sahip bireylere göre ortalama 4,2 mm daha fazla olduğu görülmüştür.

Çizelge 3.15. Mandibular ve maksiller uzunluklar ile P561T bölgelesindeki polimorfizmin ilişkisi.

P561T	n	Ar-Go		Go-Pog'		Go-Me		Co-Gn		A'-Ptm'		Co-A	
		Ortanca	P	Ortanca	P	Ortanca	P	Ortanca	P	Ortanca	P	Ortanca	P
CC	94	48,5	0,070	77,4	0,637	72,0	0,962	122,0	0,019*	47,8	0,587	82,1	0,438
CA	5	53,1		76,6		72,4		126,0		48,3		82,2	

* p<0,05

Çizelge 3.16. Kafa kaidesi uzunlukları ile P561T bölgelesindeki polimorfizmin ilişkisi.

P561T	n	S-N		S-Ba		S-Ar		ANS-Me	
		Ortanca	P	Ortanca	P	Ortanca	P	Ortanca	P
CC	94	65,8	0,743	39,7	0,943	34,3	0,121	69,4	0,01**
CA	5	66,8		39,1		32,8		73,6	

** p<0,01

4. TARTIŞMA

Maksiller ve mandibular bazal kaidelerin sagittal yönde birbirleriyle ve kafa kaidesi ile doğru ilişkide olmadığı durumlarda iskeletsel bir düzensizlik söz konusudur. Mandibular prognatizm ve Sınıf III anomaliler ortodonti kliniğinde sıklıkla karşılaşılan ve tedavisi nispeten zor olan ortodontik anomaliler olmasından ötürü birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Literatüre bakıldığında bu anomalinin nedenleri, etiyolojik faktörleri, genetik geçişleri ve hastalara uygulanan tedavi seçenekleri ile ilgili birçok çalışmaya rastlanmaktadır. İskeletsel Sınıf III maloklüzyonlarda etiyolojik faktör ve anomalinin hangi çeneden kaynaklandığı değerlendirildikten sonra tedavi şekline karar verilmelidir. İskeletsel Sınıf III maloklüzyonların %20-42 oranında mandibular protrüzyondan kaynaklandığı görülmektedir (Guyer ve ark 1986). Birçok çevresel faktörün etkisi olduğu düşünülse de tüm aile bireyleri gözlendiğinde kalıtımın etiyolojide esas rolü üstlendiği hipotezi desteklenmektedir (Grabb ve ark 1968). Eğer genetik bir geçiş söz konusu olmayıp hafif bir prognati mevcutsa; erken dönemde büyüme ve gelişim ortopedik kuvvetler ile yönlendirilerek veya erişkin bireylerde sabit ortodontik mekanikler ile kamuflaj (Kondo ve Arai 2005) tedavisi uygulanabilir. Ancak esas etiyolojik faktör genetik ise ve şiddetli bir prognati mevcutsa erken dönemde tedavi fayda sağlamayabilir, tek tedavi seçeneği olarak ortognatik cerrahi düşünülebilir (Chang ve ark 2006).

Genetik biliminin temelleri milattan önceki yıllarda atılmış olup doğan çocukların anne ve babasına benzerliğinden yola çıkarak günümüze değin büyük bir gelişme kat edilmiştir. İnsan genom projesinin 2003 yılında tamamlanmasıyla tüm DNA dizilimleri tanımlanıp gen kodlayan bölgelerin tümü gün ışığına çıkarılmıştır. Bu sayede kanser de dahil olmak üzere tüm rahatsızlıkların genetik kökeni araştırılmaya başlanmış olup her geçen gün ilerleyen teknoloji sayesinde de bu çalışmalar artarak devam etmektedir.

Bu çalışmada mandibular prognatizme bağlı iskeletsel Sınıf III malokluzyonun genetik geçiş gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla bireylerin soy ağaçları oluşturulmuş ve geçiş modeli belirlenmiştir. Bu çalışma ayrıca BHR

geni ekzon 10 bölgesindeki iki adet polimorfizmin MP ile ilişkisinin ilk kez Türk toplumunda değerlendirildiği bir çalışmadır.

4.1. Yöntemin Tartışılması

Bu çalışmada kalıtımın MP üzerine etkisi değerlendirilirken, bireylerin belirli bir yaşın üzerinde olmasına dikkat edilmiştir. Mandibular prognatik fenotipin doğru olarak tanımlanmasının zor olmasıyla birlikte, mandibula gelişiminin yüksek oranda değişken olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Bazı yazarlar süt dişlenmenin tamamlanmasıyla birlikte (4-6 yaş) Sınıf III paternin belirlenebildiğini savunsa da (Tollaro ve ark 1994), mandibular büyümenin genel iskelet büyümesini takip ederek puberte süresince (12-16 yaş) en üst seviyeye ulaştığı ve gençliğin sonuna kadar devam ettiği hatta 30'lu yaşlara değin sürdüğü bilinmektedir (Behrents 1985). Bu çalışmada yaş ortalaması 22 olsa da, 16 yaşındaki birkaç bireyin bulunması bir limitasyon oluşturabilir. Oysa El-Gheriani ve ark (2003) ve Sasaki ve ark (2009)'nın çalışmalarında hala büyümesini sürdüren prepubertal dönemdeki çocuklar değerlendirilmiştir. Literatüre bakıldığında bu iki çalışma haricinde tüm çalışmalarda yaş ortalamasının 17'nin üzerinde olduğu görülmüştür (Yamaguchi ve ark 2001, Watanabe ve ark 2005, Yamaguchi ve ark 2005, Zhou ve ark 2005, Tomoyasu ve ark 2009, Jang ve ark 2010, Xue ve ark 2010a, Tassopoulou-Fishell ve ark 2012). Bazı çalışmalarda ise tüm aile bireyleri değerlendirildiğinden yaş aralığı geniş tutulmuştur (Cruz ve ark 2008, Frazier-Bowers ve ark 2009, Li ve ark 2010, Li ve ark 2011, Cruz ve ark 2011). Ancak Cruz ve ark (2008)'nın çalışmasında 15 yaşın altındaki bireyler fenotip açısından tanımlanmamış, tanımlanamayan grup başlığı altında değerlendirmeye alınmıştır.

Çalışmada değerlendirilen mandibula ve maksilla uzunluğu gibi doğrusal ölçümlerin doğruluğu ve standardizasyonu için el bilek röntgen değerlendirmesine göre büyüme gelişimini tamamlamış, MP ile birlikte iskeletsel ve dişsel Sınıf III maloklüzyonu bulunan, ortalama yaşları 22,05 ± 6,89 yıl olan bireyler çalışma grubuna dahil edilirken, büyüme gelişimini tamamlamış, iskeletsel ve dişsel Sınıf I oklüzyonu bulunan, ortalama yaşları 22,41 ± 2,70 yıl olan bireyler kontrol grubuna dahil edilmiştir.

MP etiyolojisinde birçok çevresel faktör de yer almaktadır. Bunlar arasında solunum bozuklukları, büyümüş tonsiller, hormonal bozukluklar, travma, postür bozuklukları, konjenital anatomik defektler sayılabilir (Litton ve ark 1970). Özellikle damak dudak yarığı gibi konjenital anomalilerde Sınıf III fenotipin kaynağı mandibulanın aşırı gelişiminden ziyade maksillanın yetersiz gelişimidir. Bu çalışmada, sadece genetik faktörlerin etkisinin değerlendirilebilmesi için literatürdeki birçok çalışmada olduğu gibi (Yamaguchi ve ark 2001, Watanabe ve ark 2005, Yamaguchi ve ark 2005, Zhou ve ark 2005, Cruz ve ark 2008, Tomoyasu ve ark 2009, Sasaki ve ark 2009, Frazier-Bowers ve ark 2009, Li ve ark 2010, Jang ve ark 2010, Xue ve ark 2010a, Li ve ark 2011, Cruz ve ark 2011, Tassopoulou-Fishell ve ark 2012) travma geçirmiş, herhangi bir sistemik rahatsızlığı, endokrin problemi veya konjenital anomalisi olan bireyler çalışma ve kontrol grubuna dahil edilmemiştir.

Bu çalışmada ölçümü yapılan bireyleri, iskeletsel olarak sınıflamak, maksilla, mandibula ve kraniyal uzunlukları belirlemek için lateral sefalometrik filmlerden yararlanılmıştır. Bireylerin iskeletsel olarak sınıflandırılması ANB açısı ve Wits değeri göz önünde bulundurularak yapılmıştır. Bu yaygın fenotipin genetik alt yapısının araştırılmasında MP'nin dikkatli klinik muayenesi önemli yer tutmaktadır. Steiner analizi yaygın olarak bilinip uygulaması kolaydır ve aile bireyleri ile ANB açısı arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (El-Gheriani ve ark 2003). Ayrıca değerlendirme yaparken mandibulanın maksillaya göre konumu önemlidir. Bazen iskeletsel morfoloji rölatif mandibular prognatizmden kaynaklanabilir yani, mandibula normal konumda iken maksilla daha retrüzivdir. Bu nedenle SNA açısı normal sınırlarda iken SNB açısının artmış olmasına bağlı olarak ANB açısı 0^{o} nin altında olan ve Witts değeri 0'ın altında olan bireyler MP grubuna, 0'ın üzerinde olanlar ise kontrol grubuna dahil edilmiştir. Sınıf III anomalinin doğrulamasını yapmak amacıyla sadece ANB açısı değil, Wits değeri de göz önünde bulundurulmuştur. Bu çalışmaya benzer bazı çalışmalarda sadece ANB açısı kriter olarak alınmış, (El-Gheriani ve ark 2003, Yamaguchi ve ark 2005, Xue ve ark 2010b, Cruz ve ark 2008, Cruz ve ark 2011) bazılarında ise ANB açısı ve Witts değeri birlikte değerlendirilmiştir (Frazier-Bowers ve ark 2009, Li ve ark 2011, Tassopoulou-Fishell ve ark 2012).

Bu çalışmada vaka grubuna dahil edilen bireylerin maksiller uzunlukların normal, mandibular uzunlukların artmış olması göz önünde bulundurulmuştur. Maksiller uzunluğun değerlendirilmesi için A'-Ptm'(Yamaguchi ve ark 2001, Zhou ve ark 2005, Tomoyasu ve ark 2009, Sasaki ve ark 2009) kullanılmıştır. Ramus uzunluğunu değerlendirmede Ar-Go (Zhou ve ark 2005), korpus uzunluğunu değerlendirmede Go-Pog' (Yamaguchi ve ark 2001, Sasaki ve ark 2009) ve Go-Me ölçümleri kullanılmıştır. Mandibula toplam uzunluğunu değerlendirmek amacıyla da efektif mandibula uzunluğu dikkate alınmıştır (Yamaguchi ve ark 2001, Zhou ve ark 2005, Frazier-Bowers ve ark 2009, Tomoyasu ve ark 2009, Sasaki ve ark 2009, Li ve ark 2010).

Bu çalışmada ayrıca bireylerin boy uzunlukları kaydedilmiş ve kraniyal ölçümler ile arasında korelasyon olup olmadığı konuyla ilgili diğer çalışmalarda olduğu gibi değerlendirilmiştir (Yamaguchi ve ark 2001, Zhou ve ark 2005, Tomoyasu ve ark 2009).

Genetik polimorfizmlerin değerlendirilmesi amacıyla yapılan DNA izolasyonu için kan örneklerinden yararlanılmıştır. Kan örnekleri, örneklemenin kolay olması ve yüksek kalitede DNA izolasyonu elde edilmesi nedeniyle tercih edilmiştir. Literatürde yapılan birçok çalışmada da kan örnekleri değerlendirilirken (Yamaguchi ve ark 2001, Yamaguchi ve ark 2005, Zhou ve ark 2005, Jang ve ark 2010, Li ve ark 2010, Xue ve ark 2010b, Cruz ve ark 2011, Li ve ark 2011) birkaç çalışmada tükürük örneklerinden izolasyon gerçekleştirilmiştir (Frazier-Bowers ve ark 2009, Tomoyasu ve ark 2009, Sasaki ve ark 2009, Tassopoulou-Fishell ve ark 2012). Her ne kadar tükürük örneklerinin elde edilmesi daha kolay olsa da, tükürükten elde edilen DNA kalitesi ve miktarı kandan elde edilen DNA ile aynı oranda olmamaktadır.

4.2. Bulguların Tartışılması

Bu çalışmada lateral sefalometrik filmler üzerinde yapılan ölçümler daha çok hastaları sınıflamaya yönelik kullanılmıştır. Ancak vaka ve kontrol grupları karşılaştırıldığında mandibulaya yönelik ölçümler olan SNB açısı, ramus yüksekliği,

mandibular korpus uzunluğu, mandibular uzunluk ve efektif mandibula uzunluğu MP grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Aynı şekilde maksillaya yönelik ölçümler olan SNA, maksilla uzunluğu ve efektif orta yüz uzunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). MP grubundaki bireylerin Sınıf III anomalisinin yalnızca mandibula kaynaklı olmasına dikkat edildiğinden bu bulgular beklenenden farklı değildir.

Kafa kaidesine ait ölçümler değerlendirildiğinde arka kafa kaidesi uzunluğu ve alt anterior yüz yüksekliğinin MP grubunda anlamlı bir şekilde daha fazla olması bu bireylerdeki büyümenin vertikal komponentinin de var olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışmada bireylerin boy uzunluğu da değerlendirilmiş ve literatürdeki çalışmaların çoğunun aksine normal dağılım göstermediği gözlenmiştir (Yamaguchi ve ark 2001, Tomoyasu ve ark 2009). Boy uzunluğu ile ramus yüksekliği, korpus uzunluğu, mandibula uzunluğu ve efektif mandibula uzunluğu arasında korelasyon olup olmadığı değerlendirildiğinde, aralarında pozitif korelasyon olduğu gözlenmiştir. Değişkenler arasındaki korelasyon her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı çıkmış olsa da boy uzunluğu ile efektif mandibula uzunluğu dışındaki değişkenler arasındaki ilişki sayısal olarak çok da yüksek değildir. Yamaguchi ve ark (2001) yaptıkları çalışmalarında boy uzunluğu ile kraniyofasiyal ölçümler arasında bir korelasyon saptamamıştır. Ancak ramus uzunluğunun boy uzunluğundan etkilenip etkilenmediğini belirlemek amacıyla regresyon analizi yapılmış ve küçük bir korelasyon olduğu belirtilmiştir.

Kalıtımı çalışmak için geleneksel olarak her nesildeki her üye için fenotipin varlığının ya da yokluğunun gösterildiği bir aile ağacı oluşturulmaktadır. O nedenle bu çalışmada etkilenmiş her bireyin 3 neslini içerecek şekilde soy ağaçları oluşturulup fenotipin nasıl aktarıldığı belirlenmeye çalışılmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla dört kıtada MP kalıtım paterni araştırılmış ve araştırılan her toplum için değerlendirilmiştir. Daha önce Türk toplumunda kalıtımın MP ile ilişkisinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır.

Libya'daki bazı kliniklerde tedavi gören MP'ye sahip 37 birey ve bu bireylerin akrabalarıyla birlikte toplam 1013 bireyin değerlendirildiği çalışmada; segregasyon analizi sonuçlarına göre, en kabul edilebilir aktarım biçiminin otozomal dominant model olduğu sonucuna ulaşılmıştır (El-Gheriani ve ark 2003).

Brezilya'da yapılan bir başka çalışmada 55 aileden toplam 2562 birey incelenmiş ve tüm soy ağaçları değerlendirilmiştir. Genetik model, penetrans, insidans, cinsiyet dağılımı ve kardeşler ile ebeveynler arasında prevelans analizleri yapılmıştır. Analize göre ailelerin %89,1'inde otozomal dominant geçiş görülmektedir. 32 soy ağacı tamamlanmamış penetrans, 17 soy ağacı ise tamamlanmış penetrans göstermektedir. Ailelerin %7,3'ü otozomal resesif veya yeni bir dominant mutasyon göstermektedir. Ayrıca yapılan segregasyon analizine göre, multifaktöriyel komponenti olmayan model, resesif Mendelian, dominant Mendelian ve eklenmiş Mendelian modelleri reddedilmiştir (Cruz ve ark 2008).

Amerika Birleşik Devletleri'nde İspanyol bireylerin değerlendirildiği çalışmada Frazier-Bowers ve ark (2009) 4 aileden toplam 57 bireyin (28 etkilenmiş, 29 etkilenmemiş) soy ağaçlarını oluşturmuş ve kalıtım paternini tamamlanmamış penetransla birlikte otozomal dominant olarak bildirmiştir.

MP insidansının en yüksek görüldüğü toplumlardan biri olan Çin popülasyonunun incelendiği bir çalışmada 2 ailenin soy ağaçları oluşturulmuş ve etkilenmiş bireyler için genetik inceleme yapılmıştır. Dört nesilde toplam 42 bireyi içeren soy ağaçlarının MERLIN programı kullanılarak yapılan analizi sonucunda ise 0,95'lik tamamlanmamış penetransla birlikte otozomal dominant kalıtım modeli tanımlanmıştır (Li ve ark 2010). Yine aynı araştırıcıların 2011 yılında yaptıkları çalışmalarında 4 nesilde 21 bireye sahip Çinli bir aile incelenmiş ve soy ağaçları oluşturulmuştur. Soyağacı incelendiğinde 0,7 tamamlanmamış penetransla birlikte otozomal dominant kalıtım gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır (Li ve ark 2011).

Bu çalışmada ise değerlendirilen 99 bireyin soy ağaçlarına bakıldığında, ailelerin %83,8'inde otozomal dominant geçiş görülmekte iken 37 soy ağacı tamamlanmamış penetrans göstermektedir. Ailelerin %16,2'sinin ise otozomal

resesif olduğu gözlenmektedir. Bu bulgulara dayanarak Türk toplumunda da MP'nin otozomal dominant kalıtım modeline uyduğu söylenebilir. Normal ANB açısına sahip bir babanın kızının etkilenmiş olması tamamlanmamış penetransla birlikte otozomal dominant kalıtıma işaret etmektedir. Bu sonuç Wolff ve ark (1993) ile El-Gheriani ve ark (2003)'nın çalışmaları ile uyumludur.

Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde, aileler bazında MP görülme insidansı ve akrabalar ile olan ilişkisi de ayrıca değerlendirilmiştir. Bu konuda yapılan ilk çalışma 1961 yılında Suzuki tarafından gerçekleştirilmiştir. 243 Japon aileden 1362 birey incelenmiş, MP'ye sahip bireyin ailesindeki diğer bireylerde MP görülme oranı %34,3 iken normal okluzyona sahip bireylerin ailesindeki diğer bireylerde görülme oranının %7,5 olduğu belirtilmiştir.

Japon bireyler üzerinde yapılan bir başka çalışmada, ciddi iskeletsel Sınıf III malokluzyonla birlikte MP'ye sahip ortognatik cerrahi olmuş (18 erkek, 13 kız) ya da olması planlanan (27 erkek, 47 kız) 105 birey değerlendirilmiştir. Aile üyelerinin 3 neslini de içerecek şekilde hazırlanan anketi etkilenmiş olan her birey doldurmuş ve yazarla yapılan yüz yüze görüşme sonucunda yanıtlar onaylanmıştır. Alt çenesi önde olarak tanımlanan aile bireyleri mandibular prognatik olarak değerlendirilmiş, her görüşmede mandibular prognatizm ile maksiller retrüzyon arasındaki fark tanımlanmıştır. 105 etkilenmiş bireyin 1-,2-, ve 3. dereceden toplam 1480 akrabası incelendiğinde 141 (73 erkek, 68 kız) bireyin MP'ye sahip olduğu, 1121 (538 erkek, 583 kız) bireyin ise olmadığı belirtilmiştir. Buna göre etkilenme oranı %11,2 olarak hesaplanmıştır (Watanabe ve ark 2005).

Brezilya'da yapılan ve 55 aileden toplam 2562 bireyin incelendiği çalışmada, etkilenmiş toplam birey sayısının 372 (158 erkek, 214 kız) olduğu belirtilmiştir. Kız ile erkek bireylerin etkilenme oranları 1:1,35; etkilenmiş aile üyelerinde MP insidansı %14,3 olarak bulunmuştur. Kardeşler arasında MP prevelansı erkek kardeşler için %32,9; kız kardeşler için %27,6 olarak bildirilmiştir. Ailelerin %51'inde probandın ebeveynlerinden birisi etkilenirken (14 anne, 14 baba), bir ailede ise her 2 ebeveynin de etkilendiği, 51 ailesel vakanın %50'sinde ise bir büyük ebeveynin (büyükanne/büyükbaba) etkilendiği belirtilmiştir (Cruz ve ark 2008).

Jang ve ark (2010) ise, MP'ye sahip 164 bireyi incelemiş, 3 nesilde aile bireylerini profil ve okluzyon açısından değerlendirebilmek amacıyla daha önce Watanabe ve ark (2005) nın belirttiği şekilde, anket formatı oluşturmuş ve akraba derecelerini tanımlamıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre 1. derece akrabalarda görülme sıklığı %36 (n = 59), 2. derece akrabalarda %4,8 (n=8) ve 3. derece akrabalarda ise %11,6 (n=19) olarak bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda 99 etkilenmiş bireyin ailesine mensup toplam 1847 birey incelenmiş olup %7,6'lık kısmı oluşturan tanımlanamayan bireylerin (142 birey) %66,2'sini büyükanne/büyükbaba, %21,1'ni kuzenler ve %12,7'sini amca/dayı-hala/teyze oluşturmaktadır. Tanımlanamayan bireylerin büyük çoğunluğunu büyükanne/büyükbaba oluşturmasının sebebi birçoğunun yaşamını yitirmiş olması olabilir. Japon bireyler üzerinde yapılan çalışmada da tanımlanamayan bireylerin büyük çoğunluğunu (%75,2) büyükanne/büyükbaba oluştururken bu çalışmadan farklı olarak tanımlanamayan bireylerin %15,6'sını amca-dayı-hala-teyze; %9,2'sini kuzenler oluşturmaktadır (Watanabe ve ark 2005).

Çalışmamızın sonuçlarına göre tanımlanan tüm bireyler (etkilenmiş ve etkilenmemiş) içinde (1705 birey) etkilenme oranı %12,7'dir. Bu oran diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında (Watanabe ve ark 2005, Cruz ve ark 2008) toplumlar arasında benzer oranların görüldüğü tespit edilmiştir. Türk toplumunda yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında ise, Sarı ve ark (2003) 1602 hastayı incelemiş ve Türk toplumunda Sınıf III malokluzyon insidansını %12 olarak bildirmiştir. Benzer bir çalışmada ise bu oran %10,2 olarak belirtilmiştir (Sayin and Turkkahraman 2004). Ancak bu çalışmaların verileri sadece mandibular prognatik hastalardan oluşmamakta, ayrıca maksiller geriliğe bağlı iskeletsel Sınıf III anomalisi olan hastaları da içermektedir. Buna göre çalışmamızda bulunan insidans beklenenden yüksek olarak değerlendirilmiştir. Bu da iskeletsel Sınıf III malokluzyonun kalıtımsal karakteri ile ilişkili olabilir. Çünkü çalışmada incelenen bireylerin hepsinde MP hikayesi bulunmaktadır.

Bu çalışmada yer alan ailelerin %89'unda proband dışında en az bir bireyde daha MP bulunduğu gözlenmiştir. Japon bireylerde yapılan bir çalışmada ise MP'ye

sahip bireylerin %41,5'inin proband dışında en az 1 tane etkilenmiş bireye sahip olduğu belirtilmiştir (Jang ve ark 2010). Bu çalışmada ailelerin sadece %11'inde tek etkilenen birey proband iken Watanabe ve ark (2005)'nın çalışmasında bu oran %31,4'tür. Bu sonuç Japon bireylerin multifaktöriyel kalıtımdan daha çok etkilenirken Türk vakaların otozomal dominant kalıtıma daha yatkın olmasına bağlı olabilir.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, 1. dereceden akrabaların etkilenme oranı (%20; 371 akrabada 74 birey) 2. dereceden akrabalarınkinden (%7,3; 1172 akrabada 86 birey) yaklaşık 3 kat daha fazla bulunmuştur. Watanabe ve ark (2005)'nın çalışmasında ise 1. dereceden akrabaların etkilenme oranı 2 kat daha fazla bulunmuştur. 3. derece akrabalarda (kuzenler) etkilenme oranı bu çalışmada %19,7 (162 akrabada 32 birey) iken Japon toplumundaki benzer çalışmada %10,8'dir (Watanabe ve ark 2005). Soy ağaçlarının %36'sında probandın ebeveynlerinden biri de etkilenmiştir (10 anne ve 26 baba) ve hiçbir ailede her iki ebeveyn de etkilenmemiştir. 1. dereceden akrabalar içinden babaların etkilenme oranı (%26,2) annelerin etkilenme oranından (%10,1) yaklaşık 2,5 kat daha fazla bulunmuştur. Watanabe ve ark (2005)'nın çalışmasında ise anne ve babada etkilenme oranları %12,4; kardeşlerde ise %25 ile 2 kat daha fazla bulunmuştur. Bu çalışmada kardeşler için etkilenme oranı %16,8'dir. İkinci derece akrabaların etkilenme oranları karşılaştırıldığında Türk toplumunda büyükanne/büyükbaba ve amca/dayı-hala/teyze etkilenme oranları sırasıyla %18,1 ve %4,5 iken Japon toplumunda bu oranlar sırasıyla %7,4 ve %7,7 olarak gösterilmiştir (Watanabe ve ark 2005).

Etkilenme oranı 1. dereceden akrabalarda, 2- ve 3. derece akrabalara göre daha fazladır. Fakat 3. derece akrabalarda ise 2. derece akrabalardan daha fazla bulunmuştur. Bunun nedeni tam olarak bilinmese de tanımlanamayan akrabaların %66,2'lik kısmını 2. dereceden akrabaların oluşturması olabilir. Çoğu büyükanne/büyükbaba hayatta olmadığından, probandlar tarafından prognatik profilleri tanımlanamamış olabilir. Ayrıca 3. dereceden akrabalar olan kuzenler ile probandlar genellikle aynı yaş grubunda yer aldığından probandlar için yüz profilini tanımlama ve mandibular prognatizmi tespit etme daha kolay olmuş olabilir.

Bu çalışmada erkek probandların (47 kız, 52 erkek) ve erkek akrabaların (93 kız, 124 erkek) etkilenme oranı kızların etkilenme oranından daha yüksek bulunmuş ve bu oran 1. derece akrabalar içinde 2 kat daha fazla gözlenmiştir (erkek ve kızlarda sırasıyla %26,1 ve %10,3). Japon bireylerde yapılan çalışmada, bizim bulgularımıza paralel olarak erkekler kızlardan daha fazla etkilenirken (Watanabe ve ark 2005), 2562 Brezilya'lı bireyin incelendiği çalışmada bu bulgulara zıt olarak kızların daha fazla etkilenmiş olduğu belirtilmiştir (Cruz ve ark 2008). Birçok hastalıkta kızlar ve erkekler arasında insidans farklılıkları görülmektedir.

Erkek akrabaların etkilenme oranı kız akrabaların etkilenme oranından daha yüksek bulunmuş olsa da, kız probandların 1. derece akrabalarında ve tüm akrabaları arasında etkilenme oranı erkek probandlarınkinden daha yüksektir. Watanabe ve ark (2005)'nın çalışmasında da bizim bulgularımıza benzer şekilde kız probandların akrabaları arasında etkilenme oranı %12,2 olup erkek probandların akrabaları arasındaki etkilenme oranından daha yüksektir (%9,9). Bu ilişki Carter etkisi ile açıklanabilir (Carter and Evans 1969). Carter etkisine göre; bir multifaktöriyel kalıtım hastalığı için cinsiyetler arasında görülme oranı 1:1 değilse, yani hastalığın görülme sıklığı cinsiyetlere göre değişiyor ise, hastalığın az görüldüğü cinsiyetin akrabalarında tekrarlama riski daha yüksek olacaktır. Bizim bulgularımıza göre MP'nin daha az görüldüğü cinsiyet olan kızların etkilenmesi ve bu fenotipi çocuklarına aktarabilmesi için daha fazla sorumlu gen tanımlanacaktır. Erkeklerde eşik değeri daha düşük olduğundan MP için kızlara göre daha az gen sorumlu olduğu düşünülebilir.

Son çalışmalarda, mekanik kuvvet altında kondiler büyümeye katılan belirli büyüme faktörleri veya sinyal moleküllerini kodlayan genler rapor edilmiştir. Indian hedgehog homolog (IHH), parathyroid-hormone like hormone (PTHLH), IGF-1 ve vascular endothelial growth factor (VEGF) genleri ve varyasyonlarının Sınıf III malokluzyon etiyolojisinde önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, genom taramaları ile 1p36, 12q23 ve 12q13 kromozomal bölgeleri Sınıf III malokluzyona yatkınlıkla ilişkili olarak tanımlanmıştır (Xue ve ark 2010b). Birçok çalışmada, farklı toplumlarda birden fazla gen bölgesi tanımlanmış ve MP ile ilişkisi değerlendirilmiştir.

Literatürdeki ilk genom tabanlı bağlantı analizinde Koreli ve Japon 42 aileden 90 kardeş çifti non-parametrik bağlantı analiziyle değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; 1p36, 1p35, 6q25 ve 19p 13.2 bölgeleri MP ile anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur. 1p36 bölgesi, alkalin fosfataz, heparan sülfat proteoglikan 2 (Perlekan) ve Matrilin-1 aday genlerini içeren bir bölge olduğu belirtilmiştir. Matrilin-1'in, uzun kemiklerin büyüme plağında bulunması ve kıkırdağın hücre dışı matriksinde kollajen bağımlı ve kollajen bağımsız fibrilleri oluşturan bir protein olması mandibular büyümede etkili olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca Japon ve Koreli kardeşlerin farklı etnik yapıda olmalarına rağmen benzer ilişki paternleri göstermesi 2 toplum arasındaki genetik heterojeniteye bağlanmıştır (Yamaguchi ve ark 2005).

Amerika'da yaşayan İspanyol kökenli 4 aileden, 28 etkilenmiş ve 29 etkilenmemiş olmak üzere toplam 57 bireyin incelendiği çalışmada 4 kromozom (1p22, 3q26.2, 11q22, 12q13.13 ve 12q23) bölgelesi bağlantı analizi ile tanımlanmış ve Sınıf III fenotiple ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca biyoinformatik yaklaşımlar kullanılarak 3 bölge için (11q22, 12q13.13 ve 12q23) tanımlanan aday genler içinde IGF-1'in önemli bir yer tuttuğu belirtilmiştir. IGF-1, BH/BHR/IGF-1 sistemi ile insan ve farelerde vücut boyutlarını etkilediğinden bu genin mantıklı bir aday gen olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Frazier-Bowers ve ark 2009).

Matrilin-1 geninin Kore toplumunda 164 MP ve 132 kontrol bireyi ile değerlendirildiği çalışmada SNP genotiplemesi gerçekleştirilmiştir. %10'un üzerinde minör allel sıklığına sahip 3 SNP tanımlanmıştır. Bunlardan ilki olan T158C genotipinde vaka ve kontrol grupları arasında herhangi bir fark bulunamamışken, G7987A ve C8752T genotipleri vaka grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı bulunmuştur. 7987 AA genotipi, 7987 GG genotipi ile karşılaştırıldığında MP riskini azalttığı, 8572 TT genotipi ise 8572 CC ile karşılaştırıldığında MP'ye artmış risk oluşturduğu sonucuna ulaşılmıştır. 7987 A alleli gösteren bireylerin kontrol grubunda daha fazla olduğu ve 8572 T alleline sahip bireylerin ise MP grubunda daha sık olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar Matrilin-1 polimorfizmlerinin MP riski üzerine genetik etkisinin G7987A, C8572T polimorfizmleri ile

ilişkilendirilebileceğini ve MP'ye genetik yatkınlıkta sorumlu olabileceğini göstermektedir (Jang ve ark 2010).

Başka bir çalışmada klinik heterojenite olasılığını azaltmak amacıyla 4 nesilde 21 bireye sahip Çinli bir aile incelenerek genom taraması yapılmış ve toplam 6090 SNP değerlendirilmiştir. Bağlantı analizi sonuçlarına göre 14. kromozom üzerindeki 14q24.3-31.2 bölgesi, etkilenmiş bireylerde anlamlı bulunmuştur. Buna dayanarak bu bölgenin yatkınlık oluşturabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Bu çalışmada tanımlanan bölgede yer alan 68 fonksiyonel ve 19 pseudo gen içerisinde MP ile ilişkili olabilecek 2 aday gen dikkati çekmiştir. Bu genlerden bir tanesi kraniyofasiyal gelişim üzerine etkisi olan ve mineral maturasyonu ile yakın ilişkisi olduğu bilinen TGFB3 (transforming growth factor beta 3) iken diğeri; kemik dokusunun gelişiminde ve homeostazisinde, hücre proliferasyonu, farklılaşması, apopitozisi ve migrasyonunda önemli rol oynayan LTBP2 (latent transforming growth factor beta binding protein2) olarak belirtilmiştir. Bu bölgenin daha önceki çalışmalarda tanımlanan bölgelerden farklı olması etnik farklılık, subfenotip farklılığı ve uygulanan yöntemin farklılığına bağlanmıştır (Li ve ark 2010).

Çin toplumunda 158 MP ve 147 kontrol bireyinin incelendiği çalışmanın ilk aşamasında 1p36 bölgesindeki toplam 103 tane SNP seçilmiş ve EPB41 geni MP için aday olarak belirlenerek bu bölgede yer alan 4 SNP ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında ise 211 MP ve 224 kontrol bireyi için EPB41 içinde yer alan 23 ek SNP değerlendirilmiş ve 6 tanesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu bulgulara dayanarak 1p36 bölgesinin MP etiyolojisinde yeri olduğu ve EPB41 geninin bu fenotipe yatkınlık oluşturabileceği düşünülmüştür (Xue ve ark 2010b).

Brezilyalı 10 ailenin değerlendirildiği çalışma sonuçlarında Yamaguchi ve ark (2005)'nın bulgularına zıt olarak MP ile 1p, 6p ve 19p kromozomları arasında ilişki saptanmamıştır. Araştırmacılar bu sonucu toplumlar arasında farklı genetik geçmişin bulunmasına bağlamışlardır (Cruz ve ark 2011).

Literatürde farklı gen bölgelerini kapsayan birçok çalışma bulunmasına ve birden fazla bölge MP ile ilişkilendirilmesine rağmen bu çalışmada BHR'nin tercih edilmesinin nedeni; BHR'nin boy uzunluğu ve profil gibi büyüme ve gelişimi direk olarak etkileyen kıkırdak büyümesinde önemli bir role sahip olmasıdır (Visnapuu ve ark 2001). Bu değişikliklerin mandibular kondil gelişimini etkileyebileceği ve böylelikle ramus, korpus ve mandibula uzunluklarında bireysel farklılıklar oluşturabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada, 5. kromozomda yer alan BHR geninin ekzon 10 bölgesinde, 184 aminoasitlik C terminal bölgesinde yer alan 2 polimorfik bölge, hasta grubumuzda tanımlanmış ve MP ile olası ilişkisi incelenmiştir. Çünkü bu bölgenin BHR'nin hücre içi bölgesinde yer alması sinyal iletimi ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Bu polimorfizmler sinyal iletimini etkileyerek IGF-1 ekspresyonunda değişikliğe neden olabilir. Tabii ki bu polimorfizmlerin BHR'yi etkilediği sayısız yolak vardır. Protein fonksiyonundaki direk değişikliklere ek olarak, bu varyasyonlar BHR regülasyonunu etkileyebilir ve herhangi bir durumda tek başına veya diğer SNP'lerle kombine olarak etkisini gösterebilir.

İnsan BHR geninde tarif edilen ilk mutasyon, Laron sendromuna sahip 76 bireyin değerlendirildiği ve heterozigot mutasyonun bu sendromla ilişkili olduğunun bulunduğu çalışmada tanımlanmıştır (Berg ve ark 1992). Chujo ve ark (1996)'nın yaptıkları çalışmada ise boy uzunluğu ile P561T mutasyonu arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Rastgele seçilen 96 bireyin yaklaşık %15'inde P561T heterozigot mutasyonu gösterilmiştir. Chujo ve ark (1996)'nın bu çalışmasında; BHR gen P561T mutasyonunu tanımlamak için 96 gönüllü (41 erkek yaşları 21–80 yıl; 55 kız, yaşları 20–80 yıl) mutasyon varlığı açısından kontrol edilmiştir. PZR-RFLP metodu ile 41 erkeğin 3'ü ve 55 kızın 11'inde heterozigot P561T yanlış anlamlı mutasyon saptanmıştır. Mutasyona sahip olan 3 erkeğin boy uzunluğu ortalaması 168 ±5,3; mutasyonu olmayan 38 erkeğin boy ortalaması ise 164,1 ± 5,8 olup aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Mutasyona sahip olan 11 kızın boy uzunluğu ortalaması 152,6 ± 5,4; mutasyonu olmayan 44 kızın boy ortalaması ise 151,3 ± 6,2 olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu

bulgulara göre BHR'nin sitoplazmik bölgesindeki heterozigot P561T yanlış anlamlı mutasyonun boy uzunluğu üzerine bir etkisi olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Bu çalışmada tanımlanan 2 polimorfik bölge sırasıyla P-561T ve C-422F bölgeleri olup "Sitozin" gelmesi gereken yere "Adenin"(transversiyon) ve "Timin" gelmesi gereken yere "Adenin"(transversiyon) bazının gelmesiyle oluşmuşlardır. Bu çalışmada öncelikle hasta grubunda MP ile ilişkili olabileceği düşünülen ve daha önce tanımlanmamış olan, BHR geni ekzon 10 bölgesinde yer alan C422F ve P561T bölgelerinin allel frekansı ve genotiplemesi tanımlanmıştır. Bu tanımlama sonucunda C422F bölgesinde heterozigot TA genotipinin, MP grubunda iki bireyde kontrol grubunda ise tek bireyde görülmesi ve allel frekansının hem MP hem de kontrol grubunda çok düşük olması bu bölgenin Sınıf III hasta grubumuzda MP ile ilişkili bir bölge olmadığını göstermektedir. Ancak P561T polimorfizminin MP ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Tomoyasu ve ark (2009)'nın çalışmasında farklı toplumlar için P561T bölgesindeki allel frekansları değerlendirilmiştir. Japon bireylerde C allelinin görülme sıklığı %94,8 iken A allelinin görülme sıklığı %5,2 olarak bulunmuştur. Çin popülasyonuna ait bireylerde ise C allelinin görülme sıklığı %80 iken A allelinin görülme sıklığının %20 olduğu belirtilmiştir. Afro Amerikan, Avrupalı Amerikan ve İspanyol bireylerde ise A allelinin hiç görülmediği, tüm bireylerin C alleline sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada ise C allel frekansı %94,9 ve A allel frekansı %5,1 olup Japon bireyler ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca bu çalışmada boy uzunluğu ile P561T polimorfizmi arasında etkileşim olup olmadığı değerlendirilmiş bu bölgedeki heterozigot varyasyonun boy uzunluğunu etkilemediği sonucuna ulaşılmıştır. Bu bulgular Chujo ve ark (1996)'nın bulgularıyla uyumludur.

İnsan BHR geni ile MP arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışma 2001 yılında Yamaguchi ve ark tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada değerlendirilen 100 bireyin %86'sında P561T mutasyonu saptanmamıştır (SS). %14'ünün ise heterozigot mutasyona sahip (Ss) olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada iki polimorfik bölge incelenmiştir. Sonuçlara göre; 99 MP ve 99 kontrol grubu bireyin hiç birinde C422F ve P561T homozigot mutasyonuna rastlanmamıştır. Kontrol grubundaki bireylerin 1'inde ve MP'ye sahip bireylerin 2'sinde heterozigot C422F mutasyonu gözlenirken

kontrol grubundaki bireylerin 1'inde ve MP'ye sahip bireylerin 5'inde P561T heterozigot mutasyonu saptanmıştır.

Sasaki ve ark (2007)'nın çalışmasında ise 24 MP ve 17 kontrol grubu bireyinde sadece P561T mutasyonu değerlendirilmiştir. 41 bireyin hiçbirinde P561T homozigot mutasyonuna rastlanmamıştır. Normal okluzyona sahip hastalardan 2'si ve MP'e sahip hastalardan 5'inde heterozigot P561T yanlış anlamlı mutasyonu gözlenmiştir. Ancak bu çalışmada boy uzunluğu ile orta yüz uzunluğu değerlendirilmemiştir. Her iki çalışmada da yalnız P561T bölgesi değerlendirilmiş olup Yamaguchi ve ark (2001) P561T polimorfizmi ile tüm ölçümler arasındaki ilişkiyi cinsiyete göre de incelemiştir.

Çin toplumunda BHR üzerinde 6 tane SNP'nin sekans analizine göre tanımlandığı çalışmada seçilen 4 SNP'in (G168G, C422F, I526L ve P561T) her birinin heterojenitesi %10'un üzerinde olmakla birlikte I526L'nin, SNP'ler arasında %47,6 ile en yüksek heterojoniteyi gösterdiği bulunmuştur (Zhou ve ark 2005).

Bu çalışmada C422F bölgesindeki TA genotip frekansı çok düşük olduğu için istatistiksel açıdan değerlendirilememiş ve gerek mandibula uzunlukları gerekse maksiller uzunluklar ve kraniyal ölçümler ile bir ilişkisi olmadığı düşünülmüştür. Bizim bulgularımızla uyumlu olarak Zhou ve ark (2005)'nın çalışmasında incelenen ancak frekansı yüksek olan 4 SNP'ten biri olan C422F polimorfizmi ile ölçülen parametreler arasında herhangi bir korelasyon bulunmamıştır. Co-Go, Ar-Go ve S-Go kraniyofasiyal ölçümleri sadece I526L varyasyonuyla ilişkili bulunmuştur. Homozigot bireylerin heterozigot bireylere nazaran daha uzun ramus yüksekliğine (Co-Go, Ar-Go) sahip oldukları gösterilmiştir. Japon bireylerde BHR ekzon 10 bölgesinde 5 SNP'in incelendiği bir çalışmada ise mandibular prognatik fenotipe sahip 167 birey değerlendirilmiş ve ramus uzunluğunun C422F ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Tomoyasu ve ark 2009). Tomayasu ve ark (2009)'nın bulgularından farklı olarak hem bu çalışmada hem de Çin toplumunda yapılan çalışmada MP ile C422F polimorfizmi arasında ilişki saptanmaması toplumlar arasındaki etnik farklılıklardan kaynaklanabilir.

Bu çalışmada P561T bölgesindeki heterozigot mutasyon ile mandibular uzunluklar arasındaki ilişki değerlendirildiğinde CA genotipinin efektif mandibula uzunluğu ile ilişkili olduğu görülmüştür. Ancak maksiller uzunluklar arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ayrıca alt yüz yüksekliği ile bu genotip arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunduğu gözlenmiştir. Japon toplumunda yapılan bir çalışmada ise sadece tek bir SNP değerlendirilmiş ve erkeklerde P561T varyasyonu ile ramus uzunluğunun korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (Yamaguchi ve ark 2001). Zhou ve ark (2005)'nın çalışmasında incelenen ve frekansı yüksek olan P561T polimorfizmi ile mandibular uzunluklar arasında bir ilişki olmadığı belirtilmiştir. Japon toplumunda yapılan bir başka çalışmada ise P561T bölgesinde heterozigot bireyler ile mutasyonsuz bireyler arasında maksilla uzunluğu hariç tüm ölçümlerde anlamlı farklılıklar bulunmuştur (Sasaki ve ark 2007). Yine Japon bireylerin değerlendirildiği diğer bir çalışmada MP'ye sahip 167 birey incelenmiş ve ramus uzunluğunun P561T SNP'i ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Tomoyasu ve ark 2009).

Bu çalışmada MP'ye sahip bireyler içinde P561T bölgesinde CA genotipine sahip olan bireylerin CC genotipine sahip bireylere nazaran efektif mandibula uzunluklarının ortalama olarak 4 mm; alt yüz yüksekliklerinin ise ortalama 4,2 mm daha fazla olduğu görülmüştür. Oysaki Yamaguchi ve ark (2001), çalışmalarında ramus uzunluğunun boy uzunluğuna oranının P561T varyasyonu ile anlamlı korelasyon gösterdiğini bulmuş ve P561T mutasyonu olan bireylerde ramus yükseliğinin daha kısa olduğu sonucuna ulaşmıştır. Bir başka çalışmada da genel olarak heterozigot bireylerde doğrusal ölçümlerin daha kısa olma eğiliminde olduğu gösterilmiştir (Sasaki ve ark 2007).

Diğer çalışmaların aksine bu çalışmada P561T mutasyonu ile ramus yüksekliği ile değil efektif mandibula uzunluğu ve alt yüz yüksekliği arasında ilişki saptanmıştır. Ancak ramus uzunluğu ile bu polimorfizmin ilişkisi değerlendirildiğinde p değerinin 0,05'e yakın olması (P=0,07) örneklem sayısının arttırılmasıyla bu varyasyonun ramus uzunluğu üzerine de etkisi olduğunun gösterilebileceğini düşündürmektedir. İstatistiksel olarak anlamlı çıkmasa da P571T bölgesinde heterozigot mutasyona sahip bireylerde ramus yüksekliği daha fazla olma

eğilimindedir. Toplumlar arasında farklı sonuçlar çıkmasının nedeni tam olarak açık olmasa da, bu durum ekzon 10'daki allel frekansının toplumlar arasında farklılık gösterebilmesinden kaynaklanabilir. Bu nedenle, farklı genetik geçmişe sahip toplumların Sınıf III malokluzyon etiyolojisinde farklı genlerin sorumlu olabileceği düşünülebilir. Çünkü etnik olarak Japon toplumuna daha yakın olan Çin populasyonu üzerinde yapılan çalışmada dahi ramus uzunluğu ile P561T ve C422F polimorfizmleri arasında ilişki saptanmamıştır (Zhou ve ark 2005). Laron sendromu (Shevah ve ark 2004) ve idiyopatik kısa boy (Johnston 2000) gibi vakalar ile BHR arasındaki ilişkinin farklı olması da etnik farklılığa bağlanmıştır. Bu farklılıkları tanımlayabilmek adına her etnik grup için BHR çalışmaları yapılması uygun olacaktır. Ayrıca Sınıf III malokluzyonun heterojen ve farklı derecelerde poligenik özelliğe sahip olması da bunun nedeni olabilir. Ekzon 10 dışında yer alan bir SNP'in mandibula uzunluklarını belirleyecek reseptör fonksiyonunu etkileyebileceği de düşünülebilir. BHR ile ilgili birkaç çalışma bulunsa da, BHR sitoplazmik bölgesinin fonksiyonu ve P561T mutasyonu ile ilgili bilgi sınırlıdır. Özellikle ekzon 3'ün delesyonuyla sonuçlanan yaygın bir polimorfizm BH'ye artmış duyarlılıkla ilişkili bulunmuştur (Dos-Santos ve ark 2004). Türk toplumu ve diğer toplumlarda ekzon 3 delesyonunu içeren BHR SNP'lerinin ilerki çalışmalarla değerlendirilmesi yararlı olacaktır.

Bu çalışma ve literatürdeki diğer çalışmalar göstermektedir ki, BHR ile mandibular büyüme arasında bir ilişki vardır. Singh (1999)'in çalışmasına göre normal bireylerle karşılaştırıldığında Sınıf III bireylerin mandibular korpus uzunluğunun (Go-Gn, Go-Me) daha fazla olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada da effektif mandibula uzunluğu ile korpus uzunluğu arasında 0,7 ile yüksek bir korelasyon bulunmuştur. Efektif mandibula uzunluğu ile P561T varyasyonun arasında ilişki saptanması Yamaguchi ve ark (2001)'nın bulgularından farklı olarak BHR'nin sadece longitidunal gelişimi etkilebileceği düşüncesini desteklememektedir. Bu çalışmadaki bireylerin alt yüz yüksekliğinin artmış olması ise vertikal yöndeki büyüme paternini göstermektedir ki bu da; BHR P561T polimorfizminin mandibulanın hem horizontal hem de vertikal yön büyüme gelişimi üzerine etkisi olduğunu düşündürmektedir.

Bailey (1985), fareler üzerinde yaptığı çalışmalar sonucunda 30 genin mandibular morfolojiyi etkileyebileceğini belirtmiştir. Her ne kadar çeşitli çevresel faktörlerin mandibula morfogeneziyle ilişkili olduğu bulunsa da genetik faktörler esas rolü üstlenmektedir ve bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak, P561T varyasyonunu da kapsayacak şekilde BHR mutasyonlarının mandibular büyümeyi etkileyebileceği ve morfolojik farklılık oluşturabileceği düşünülebilir. Sasaki ve ark (2007) ektodermal displazili Japon hastada P561T varyasyonunun mandibular büyüme için genetik bir belirleyici olabileceğini rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada MP'nin genetik alt yapısı araştırılırken association (ilişki) çalışması yapılmıştır. Aday genlerdeki polimorfizmlerle yapılacak bir linkage (bağlantı) çalışması, genetik faktörlerin kraniyofasiyal morfolojiyi moleküler düzeyde nasıl etkilediğinin anlaşılmasında yararlı olacaktır. Bu çalışmada korelasyon gösteren efektif mandibula uzunluğu ve alt yüz yüksekliği için birden fazla genin sorumlu olduğu düşünülebilir.

Temini kolay bir kan örneği ile mandibula büyümesini tahmin etmek büyüme ve gelişimi devam eden hastalarda klinik olarak bir avantaj oluşturacaktır. Bu şekilde doku örneği kapsamlı bir eğitime gerek duyulmadan, basit bir şekilde elde edilerek, tedaviye başlamadan önce ortopedik etkinin tahmin edilebilmesi mümkün olacaktır. Mandibula uzunluğunu etkileyecek diğer tedavileri planlarken de bu genetik faktörler değerlendirilebilecektir. Farklı veriler ile bu sonuçların tekrar edilmesi MP gelişiminin anlaşılabilmesinde yararlı olacaktır.

Etnik yapının MP için bir risk faktörü olduğu önceki çalışmalarla gösterilmiştir (El-Gheriani ve ark 2003; Yamaguchi ve ark 2005). Türk popülasyonu için bugüne kadar MP ile birlikte görülen Sınıf III anomalinin genetik etiyolojisini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Hem MP'nin multifaktöriyel etiyolojisinde genetik faktörlerin etkisini anlamak, hem de değişik fenotiplerle genetik varyantlar arasındaki ilişkiyi daha iyi açıklayabilmek için ileriki çalışmalarda BHR geninin farklı bölgelerinin tanımlanması ve diğer aday genlerin incelenmesi fayda sağlayacaktır.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada büyüme gelişimini tamamlamış, ortognatik cerrahi olmuş veya olması planlanan MP'ye sahip bireyler incelenerek soy ağaçları oluşturulmuş, BHR geni ekzon 10 üzerinde yer alan 2 bölge allel frekansı ilk defa tanımlanmış ve bu bölgeler ile MP arasında ilişki olup olmadığı değerlendirilerek elde edilen sonuçlar literatürle kıyaslanmıştır. Bu çalışma; Türk toplumunda MP ile genetik ilişkinin araştırıldığı ilk çalışmalardan olması sebebiyle önem arz etmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada; tanımlanan tüm bireyler içinde etkilenme oranının %12,7 olduğu ve ailelerin %89'unda proband dışında en az bir bireyde daha MP bulunduğu gözlenmiştir. Tüm akrabaların etkilenme oranları değerlendirildiğinde erkeklerin (%14,8) kızlardan (%10,7) daha fazla etkilenmiş olduğu görülmüştür. Kız probandların akrabalarının etkilenme oranı (%12,7), erkek probandlarınkinden (%10) daha yüksektir. Soy ağacı analizine göre ailelerin %83,8'inde otozomal dominant geçiş görülmektedir.

Boy uzunluğu ile mandibular ölçümler arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Ancak çalışmada incelenen polimorfik bölgeler ile boy uzunluğu arasında bir ilişki tespit edilmemiştir.

C-422F bölgesindeki TA genotip frekansı çok düşük bulunmuş ve istatistiksel olarak incelenememiştir. Bu nedenle sefalometrik ölçümler arasında anlamlı bir ilişki olduğu düşünülmemektedir. P561T bölgesindeki CA genotipi ile efektif mandibula uzunluğu ve alt yüz yüksekliği ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür. Buna dayanarak sınıf III anomaliye sahip sınır vakalarda tedaviye karar verme aşamasında faydalı olabilecektir.

Mandibular gelişimin temelinde genetik faktörlerin esas rolü üstlendiği bilinmesine rağmen ayrıntılı olarak araştırılmamasından ötürü ileriki çalışmalarda hem BHR geninin farklı bölgeleri hem de diğer aday genler incelenmeli, bu çalışmalar daha fazla örneklem sayısı ve güncel laboratuvar teknikleriyle desteklenmelidir.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mandibular Prognatizm ile Büyüme Hormonu Reseptör (BHR) Gen P561T ve C422F Polimorfizmlerinin İlişkisinin İncelenmesi

Sinem Bayram Tatar

Ortodonti Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2013

Maksilla ile mandibulanın ilişkisindeki ve boyutlarındaki fark olarak tanımlanan MP, ortodonti pratiğindeki ciddi anomalilerden birisidir. Farklı popülasyonlarda MP insidansı değişmektedir ve Asya toplumunda en yüksekken (%15-23), beyaz ırkta en düşük (%0.48-4) olduğu gösterilmiştir. MP etiyolojisinde genetik ve çevresel faktörler etkili olmakla birlikte bunların katkısı tam olarak bilinmemektedir. Ancak genetik faktörler önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir. Büyüme hormon reseptörünün (BHR) kıkırdak gelişiminde önemli bir role sahip olduğu ve mandibular kondilde büyüme hormon reseptörlerinin bulunduğu gösterilmiştir.

MP üzerine genetik faktörlerin etkisinin belirlenmesi amacıyla şiddetli Sınıf III mandibular prognatiye sahip ortognatik cerrahi olmuş veya olması planlanan 99 bireyin soy ağaçları oluşturulmuştur. Her prognatik bireyin 3 jenerasyonunu içerecek şekilde soy ağacı değerlendirilmesi yapılmıştır. Ayrıca 99 prognatik birey ve 99 normal oklüzyona sahip birey değerlendirilmiş ve BHR ekzon 10 bölgesinde yer alan 2 SNP ile MP arasındaki ilişki olup olmadığı belirlenmiştir. DNA izolasyonu için kan örneği kullanılmış ve P561T ve C422F genotiplerini belirlemek için PZR-RFLP yöntemi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel analizler için Minitab 14.0 paket program kullanılmıştır.

Toplam 1847 aile üyesi incelenmiş ve %12,7'sinin MP'ye sahip olduğu bulunmuştur. Erkekler kızlardan daha fazla etkilenmiştir. Ailelerin büyük çoğunluğunda (%89) proband dışında en az 1 bireyde daha MP olduğu saptanmıştır. Birinci ve ikinci derece akrabaların etkilenme oranları sırasıyla %20 ve %7,3'tür. Probandların babalarının etkilenme oranı (%26,2) annelerinkinin (%10,2) 2 katından daha fazladır ve kardeşlerin etkilenme oranı %16,8'dir. PZR-RFLP sonuçlarına göre C422F ve P561T bölgelerindeki allel frekansları belirlenmiştir. Kontrol grubundaki düşük allel frekansından ötürü gruplar arasında istatistiksel analiz gerçekleştirilememiştir. Bu nedenle veriler P561T polimorfizmi ile kraniyofasiyal ölçümler arasında ilişki olup olmadığının belirlenmesi amacıyla değerlendirilmiştir. Boy uzunluğu ile P561T polimorfizmi arasında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır. C422F polimorfizmi ile sefalometrik ölçümler arasında bir ilişki bulunmazken; P561T polimorfizmi ile efektif mandibula uzunluğu ve alt yüz yüksekliği arasında ilişki olduğu saptanmıştır.

İskeletsel Sınıf III anomaliye sahip bireylerin ailelerinde MP insidansının yüksek olması genetik geçişi düşündürmektedir. Ayrıca bu çalışma BHR geninin Türk popülasyonunda mandibular morfogenez için aday bir gen olabileceğini desteklemektedir.

Anahtar Sözcükler: Büyüme Hormon Reseptörü; Etkilenme Oranı; Kalıtım; Mandibular Prognatizm, Single Nükleotid Polimorfizm.

7. SUMMARY

Evaluation of the Relationship Between P561T And C422F Polymorphsims in Growth Hormone Receptor (GHR) Gene and Mandibular Prognathism

Mandibular prognathism (MP), defined as difference in the size, and relationship of maxilla and mandible, is one of the serious anomalies in the practice of orthodontics. The incidence of MP varies among different populations and it is highest in Asian populations (15-23%) and lowest in Caucasian populations (0.48-4%). Genetic and environmental factors are suggested in the etiology of MP, but the contribution of these factors is not known. Genetic factors play a significant role in the etiology of MP and Growth Hormone Receptor (GHR) plays an important role in cartilage growth and GH receptors were identified in the mandibular condyle.

To clear the effect of genetic factors on MP, pedigree charts of 99 subjects with severe skeletal Class III mandibular prognathism who planned to undergo or had undergone orthognathic surgery was created. Three generations of each mandibular prognathic patient's family was assessed on pedigree charts. Also, a total of 99 prognathic subjects and 99 subjects with normal occlusion were examined to evaluate the relationship between MP and 2 SNPs in exon 10 of GHR gene. Blood sample was used to extract genomic DNA and PCR-RFLP method was used to determine genotypes of P561T and C422F. Minitab 14.0 packet program was used to perform all statistical analysis.

A total of 1847 family members were examined, and 12,7% had MP. Men were slightly more affected than women. Majority of families (89%) had at least 1 member with MP other than the proband. The affected ratio (AR) of the first- and the second degree-relatives were 20% and 7,3%, respectively. The AR of fathers of probands (26,2%) was more than twice that of mothers of pronbands (10,2%) and siblings showed 16,8% AR. Allelle frequencies of the C422F and P561T variants were determined. Because of low allele frequency of control group, statatistical analysis couldn't be performed between groups. Therefore, the data was combined in order to determine the association of P561T mutation and craniofacial measuremts. No correlation between body height and P561T polymorphism was found. Although there was no association between all measurements and C422F polymorphism, effective mandibular length (Co-Gn) and lower face height (ANS-Me) were correlated with the P561T variant.

A high frequency of mandibular prognathism was seen in families of skeletal Class III patients, suggesting a genetic transition. This study supports that the GHR might be a candidate gene for mandibular morphogenesis in Turkish population.

Key Words: Affected ratio; Growth hormone receptor; Heredity; Mandibular Prognathism; Single nucleotid polymorphism.

8. KAYNAKLAR

1. Alexander AE, McNamara JA Jr, Franchi L, Baccetti T. Semilongitudinal cephalometric study of craniofacial growth in untreated Class III malocclusion. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2009;135: 700.e1-14.
2. Amselem S, Sobrier ML, Duquesnoy P, Rappaport R, Postel-Vinay MC, Gourmelen M, Dallapiccola B, Goossens M. Recurrent nonsense mutations in the growth hormone receptor from patients with Laron dwarfism. J Clin Invest. 1991;87: 1098-102.
3. Baccetti T, Antonini A, Franchi L, Tonti M, Tollaro I. Glenoid fossa position in different facial types: A cephalometric study. Br J Orthod. 1997;24: 55-9.
4. Bailey DW. Genes that affect the shape of the murine mandible. J Hered. 1985;76: 107-14.
5. Baker J, Liu JP, Robertson EJ, Efstratiadis A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. Cell 1993;75: 73-82.´
6. Basciftci FA, Uysal T, and Buyukerkmen A. Craniofacial structure of Anatolian Turkish adults with normal occlusions and well balanced faces. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2004;125: 366-72.
7. Battaloğlu E, Başak AN. Kompleks Hastalık Genetiği: Güncel Kavramlar ve Nörolojik Hastalıkların Tanısında Kullanılan Genomik Yöntemler. Klinik Gelişim. 2010;128-33.
8. Behrents RG. The biological basis for understanding craniofacial growth during adulthood. Prog Clin Biol Res. 1985;187: 307-19.
9. Berg MA, Guevara-Aguirre J, Rosenbloom AL, Rosenfeld RG, Francke U. Mutation creating a new splice site in the growth hormone receptor genes of 37 Ecuadorean patients with Laron syndrome. Hum Mutat. 1992;1: 24-32.
10. Brooks AJ, Waters MJ. The growth hormone receptor: mechanism of activation and clinical implications. J Nat Rev Endocrinol. 2010;6: 515-25.
11. Carter CO, Evans KA. Inheritance of congenital pyloric stenosis. J Med Genet. 1969;6: 233-54.
12. Chang HP, Tseng YC, Chan HF. Treatment of mandibular prognathism. J Formos Med Assoc. 2006;105: 781-90.
13. Chujo S, Kaji H, Takahashi Y, Okimura Y, Abe H, Chihara K. No correlation of growth hormone receptor gene mutation P561T with body height. Eur J Endocrinol. 1996;134: 560-2.
14. Copray JC, Dibbets JM, Kantomaa T. The role of condylar cartilage in the development of the temporomandibular joint. Angle Orthod. 1988;58: 369-80.
15. Cruz RM, Krieger H, Ferreira R, Mah J, Hartsfield J Jr, Oliveira S. Major gene and multifactorial inheritance of mandibular prognathism. Am J Med Genet. 2008;146: 71-7.
16. Cruz RM,. Hartsfield JK Jr, Falcão-Alencar G, Koller DL, Pereira RW, Mah J, Ferrari I, Oliveira SF. Exclusion of Class III malocclusion candidate loci in Brazilian families. J Dent Res. 2011;90: 1202-5.
17. Deguchi T, Kuroda T, Minoshima Y, Graber TM. Craniofacial features of patients with Class III abnormalities: growth-related changes and effects of short-term and long-termchincuptherapy. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2002;121: 84-92.
18. Deguchi T, Mc Namara JA. Craniofacial adaptations induced by chin cup therapy in Class III patients. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1999;115: 175-82.
19. Deligezer U, Akisik EE, Dalay N. Gen Polimorfizm Analizinde LightCycler Floresan PCR Tekniğinin Kullanılması: Myeloid Lösemili Çocuk ve Yetişkin Hastalarda MTHFR C677T Gen Polimorfizm Dağılımının Belirlenmesi. Türk Onkoloji Dergisi. 2004;19: 134-9.
20. Devrim AK, Kaya N. Genetik Polimorfizm ve Mikrosatelitler. Kafkas Uni. Vet. Fak. Derg. 2004;10: 215-20.
21. Dietrich UC. Morphological variability of skeletal Class III relationships as revealed by cephalometric analysis. Rep Congr Eur Orthod Soc. 1970;131-43.
22. Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS. Touchdown PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. Nucleic Acids Research. 1991;19: 4008.
23. Dos Santos C, Essioux L, Teinturier C, Tauber M, Goffin V, Bougneres PA. Common polymorphism of the growth hormone receptor is associated with increased responsiveness to growth hormone. Nature Genet. 2004;36: 720-4.
24. Downs WG. Studies in the causes of dental anomalies. J Dent Res 1928;16: 367-79.

25. Ekmekci A, Konac E, Onen HI. Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık. Marmara Medical Journal 2008;21: 282-95.
26. El-Gheriani AA, Maher BS, El-Gheriani AS, Sciote JJ, Abu-Shahba F, Al-Azemi R, Marazita ML. Segregation analysis of mandibular prognathism in Libya. J Dent Res. 2003;82: 523–7.
27. Frazier-Bowers S, Rincon-Rodriguez R, Zhou J, Alexander K, Lange E. Evidence of linkage in a Hispanic cohort with a Class III dentofacial phenotype. J Dent Res. 2009;88: 56-60.
28. Goddard AD, Covello R, Luoh SM, Clackson T, Attie KM, Gesundheit N, Rundle AC, Wells JA, Carlsson LMS. Mutations of the growth hormone receptor in children with idiopathic short stature. New Eng. J Med. 1995;333: 1093-8.
29. Godowski PJ, Leung DW, Meacham LR, Galgani JP, Hellmiss R, Keret R, Rotwein PS, Parks JS, Laron Z, Wood WI. Characterization of the human growth hormone receptor gene and demonstration of a partial deletion in two patients with Laron-type dwarfism. Proc Natl Acad Sci. 1989;86: 8083-7.
30. Grabb WC, Hodge GB, Dingman RO, O'Neal RM. The Habsburg jaw. Plast Reconstr Surg. 1968;45: 442-5.
31. Guyer EC, Ellis EE, McNamara JA Jr, Behrents RG. Components of Class III malocclusion in juvenils and adolescents. Angle Orthod. 1986;56: 7-30.
32. Hartl D, Jones E Genetics: Analysis Of Genes And Genomes. Boston, Jones and Bartlett Publishers. 2000; 156-214
33. Hinton RJ, Carlson DS. Regulation of growth in mandibular condylar cartilage Semin Orthod. 2005;11: 209-18.
34. Hu JC, Simmer JP. Developmental biology and genetics of dental malformations. Orthod Craniofac Res. 2007;10: 45-52.
35. Hwang CJ, Cha JY. Orthodontic treatment with growth hormone therapy in a girl of short stature. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2004;126: 118-26.
36. Innis MA, Gelfand DH. PCR protocols; A guide to methods and applications. Academic Press. 1990; 3-12.
37. Ishii H, Morita S, Takeuchi Y, Nakamura S. Treatment effect of combined maxillary protraction and chincap appliance in severe skeletal Class III cases. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1987;92: 304-12.
38. Iwagake H. Hereditary influence of malocclusion. Am J Orthod Oral Surg. 1938;24: 328-36.
39. Jacobson A, Evans WG, Preston CB, Sadowsky PL. Mandibular prognathism. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1974;66: 140-71.
40. Jang JY, Park EK Ryoo HM, Shin HI, Kim TH, Jang JS, Park HS, Choi JY, Kwon TG. Polymorphisms in the Matrilin-1 gene and risk of mandibular prognathism in Koreans. J Dent Res. 2010;89: 1203-7.
41. Johnston LB, Pashankar F, Camacho-Hubner C, Savage MO, Clark AJ. Analysis of the intracellular signalling domain of the human growth hormone receptor in children with idiopathic short stature. Clin Endocrinol. 2000;52: 463-9.
42. Kaji H, Nose O, Tajiri H, Takahashi Y, Iida K, Takahashi T. Novel compound heterozygous mutations of growth hormone (GH) receptor gene in a patient with GH insensitivity syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 1997;82: 3705-9.
43. Kiliaridis S, Thilander B, Kjellberg H, Topouzelis N, Zafiriadis A. Effect of low masticatory function on condylar growth: a morphometric study in the rat. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1999;116: 121-5.
44. Klug WS, Cummings MR, Spencer CA. Concepts of Genetics. 8th Edition. Perason Education Inc. 2006;187-492.
45. Kondo E, Arai S. Nonsurgical and nonextraction treatment of a skeletal class III adult patient with severe prognathic mandible. World J Orthod. 2005;6: 233-47.
46. Kornman K, Newman M. Role Of Genetics In Assessment, Risk And Management Of Adult Periodontitis. Periodontal Medicine. Hamilton, BC Decker Inc. 2000; 45-214
47. Kraus BS, Wise WJ, Frei RH. Heredity and the craniofacial complex. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1959;45: 172-217.
48. Lee CH, Lee SH, Kim HS, Kwon TG. Analysis of familial tendency in skeletal Class III malocclusion. J Kor Oral Maxillofac Surg. 2006;32: 506-13.
49. Lewin B. Genes VII. Oxford, Oxford University Press. 2000; 112-65.
50. Li Q, Zhang F, Li X, Chen F. Genome scan for locus ınvolved in mandibular prognathism in pedigrees from china PLoS ONE. www.plosene.org 2010;5: e12678.
51. Li Q, Li X, Zhang F, Chen F. The identification of a novel locus for mandibular prognathism in the Han Chinese population. J Dent Res. 2011;90: 53-7.

52. Litton SF, Ackermann LV, Isaacson RJ, Shapiro BL. A genetic study of Class III malocclusion. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1970;58: 565-77.
53. Lu YC, Tanne K, Hirano Y, Sakuda M. Craniofacial morphology of adolescent mandibular prognathism. Angle Orthod. 1993;63: 277-82.
54. Maxam A, Gibert W. A new method of sequencing DNA. Proceedingsof the National Academy of Sciences, 1977;74: 560-4.
55. Maor G, Hochberg Z, Silbermann M. Growth hormone stimulates the growth of mouse neonatal condylar cartilage *in vitro*. Acta Endocrinol. 1989;120: 526-32.
56. McKusick VA. Heritable Disorders Of Connective Tissue. St Louis: CV Mosby. 1972;320.
57. McKusick VA. Mendelian Inheritance In Man. 9th edition. Balti-Smore: Johns Hopkins University Press. 1990; e176700.
58. McNamara JJ, Carlson DS. Quantitative analysis of temporomandibular joint adaptations to protrusive function. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1979;76: 593-611.
59. Mew JRC. Factors influencing mandibular growth. Angle Orthod. 1986;56: 31-48.
60. Mitani H, Fukazawa H. Effects of chincap force on the timing and amount mandibular growth associated with anterior reversed occlusion (Class III malocclusion) during puberty. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1986;90: 454-63.
61. Mitani H. Prepubertal growth of mandibular prognathism. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1981;80:546-53.
62. Moss ML. The functional matrix hypothesis revisited: 4. The epigenetic antithesis and the resolving synthesis. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1997;112: 410-7.
63. Mossey PA. The heritability of malocclusion: part 2. The influence of genetics in malocclusion. Br J Orthod. 1999;26: 195-203.
64. Moullas AT, Palomo JM, Gass JR, Amberman BD, White J, Gustovich D. Nonsurgical treatment of a patient with a Class III malocclusion. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2006;129: 111-8.
65. Mullis KB. The unusual origin of the polimerase chain reaction. Sci Am. 1990; 262: 56-65.
66. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson Genetics In Medicine. 7th. Edition. 2007; 70-183.
67. Online Mendelian Inheritence in Man O. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Jones Hopkins University School of Medicine. Available from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM. 2013
68. Pantel J, Grulich-Henn J, Bettendorf M, Strasburger CJ, Heinrich U, Amselem S. Heterozygous nonsense mutation in ekzon 3 of the growth hormone receptor (GHR) in severe GH insensitivity (Laron syndrome) and the issue of the origin and function of the GHRd3 isoform. J Clin Endocr Metab. 2003;88: 1705-10.
69. Pei M, Luo J, Chen Q. Enhancing and maintaining chondrogenesis of synovial fibroblasts by cartilage extracellular matrix protein matrilins. Osteoarthritis Cartilage. 2008;16: 1110–7.
70. Powell W, Morgante M, Doyle JJ, McNicol JW, Tingey SV, Rafalski AJ. Genepool variation in genus Glycine subgenus Soja revealed by polymorphic nuclear and chloroplast microsatellites. Genetics. 1996;144: 793-803.
71. Proffit WR, Fields HW Jr, Ackerman JL. Contemporary Orthodontichs Third Edition. St.Louis: Mosby. 2000; 1-363.
72. Proffit WR. Contemporary Orthodontics. St.Louis: Mosby-Year Book. 1992;25-128.
73. Rakosi T, Schilli W. Class III anomalies: a coordinated appoach to skeletal, dental, and soft tissue problems. J Oral Surg. 1981;39: 860-70.
74. Ramirez-Yanez GO, Smid JR, Young WG, Waters MJ. Influence of growth hormone on the craniofacial complex of transgenic mice. Eur J Orthod. 2005;27: 494-500.
75. Ramirez-Yanez GO, Young WG, Daley TJ, Waters MJ. Influence of growth hormone on the mandibular condylar cartilage of rats. Archs Oral Biol. 2004;49: 585-90.
76. Rodgers KD, Sasaki T, Aszodi A, Jacenko O. Reduced perlecan in mice results in chondrodysplasia resembling Schwartz-Jampel syndrome. Hum Mol Genet. 2007;16: 515-28.
77. Sakamoto T, Iwase I, Uka A, Nakamura S. A roentgenocephalometric study of skeletal changes during and after chin cup treatment. Am J Orthod. 1984;85: 341-9.
78. Samat BG. Growth pattern of the mandible: Some reflections. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1986;90: 221-33.
79. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular Clonning: A Laboratory Manual. Second Edition, Cold-Spring Harbor, New York, USA. 1989;9.16-9.19.
80. Sanborn RT. Differences between the facial skeletal patterns of class III malocclusion and normal occlusion. Angle Orthod. 1955;25: 208-22.

81. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain- terminating inhibitors. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1977;74: 5463-7.
82. Sari Z, Uysal T, Karaman AI, Basciftci FA, Usumez S, Demir A. Orthodontic malocclusions and evaluation of treatment alternatives: an epidemiologic study. Turkish J Orthod. 2003;16: 119-26.
83. Sasaki Y, Kaida C, Saitoh I, Fujiwara T, Nonaka K. Craniofacial growth and functional change in oligodontia with ectodermal dysplasia: A case report. J Oral Rehabil. 2007;34: 228-35.
84. Sasaki Y, Satoh K, Hayasaki H, Fukumoto S, Fujiwara T Nonaka K. The P561T polymorphism of the growth hormone receptor gene has an inhibitory effect on mandibular growth in young children. Eur J Orthod. 2009;31: 536–41.
85. Sayin MO, Turkkahraman H. Malocclusion and crowding in an orthodontically referred Turkish population. Angle Orthod. 2004;74: 635-9.
86. Schaefer GB, Rosenbloom AL, Guevara-Aguirre J, Campbell EA, Ullrich F, Patil K. Facial morphometry of Ecuadorian patients with growth hormone receptor deficiency/Laron syndrome. J Med Genet. 1994;31: 635-9.
87. Schulze C, Weise W. Zur Vererburg der Progenie. Fortschr Kieferorthop. 1965;26: 213-29.
88. Seren E, Akan H, Toller MO, Akyar S. An evaluation of the condylar position of the temporomandibular joint by computerized tomography in Class III malocclusions: A preliminary study. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1994;105: 483-8.
89. Seren E. EMG investigation on mentalis, masseter and OOS muscles of adults with Class III malocclusion. Turk Ortodonti Derg. 1990;3: 85–93.
90. Shen XY, Holt RIG, Miel JP, Justice S, Portmann B, Postel-Vinay MC, Ross RJM. Cirrhotic liver expresses low levels of the full-length and truncated growth hormone receptors. J Clin Endocr Metab. 1998;83: 2532-8.
91. Shevah O, Rubinstein M, Laron Z. Molecular defects of the growth hormone receptor gene, including a new mutation, in Laron syndrome patients in Israel: relationship between defects and ethnic groups. Isr Med Assoc J. 2004;6: 630-3.
92. Singh GD. Morphologic determinants in the etiology of Class III malocclusions: A review. Clinical Anatomy. 1999;12: 382-405.
93. Sjögren K, Bohlooly YM, Olsson B, Coschigano K, Törnell J, Mohan S, Isaksson OG, Baumann G, Kopchick J, Ohlsson C. Disproportional skeletal growth and markedly decreased bone mineral content in growth hormone receptor -/- mice. Biochem Biophys Res Commun. 2000;267: 603-8.
94. Spalj S, Mestrovic S, Lapter Varga M, Slaj M. Skeletal components of class III malocclusions and compensation mechanisms. J Oral Rehabil. 2008;35: 629-37.
95. Stallings-Mann ML, Ludwiczak RL, Klinger KW, Rottman F. Alternative splicing of exon 3 of the human growth hormone receptor is the result of an unusual genetic polymorphism. Proc Nat Acad Sci. 1996;93: 12394-9.
96. Staudt CB, Kiliaridis S. Different skeletal types underlying Class III malocclusion in a random population. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2009;136: 715-21.
97. Stensland A, Wisth PJ, Boe OE. Dentofacial changes in children with negative overjet treated by a combined orthodontic and orthopaedic approach. Eur J Orthod. 1988;10: 39-51.
98. Stiles KA, Luke JE. The inheritance of malocclusion due to mandibular prognathism. J Hered. 1953;44: 241-5.
99. Subtelny JD. Oral respiration: facial maldevelopment and corrective dentofacial orthopedics. Angle Orthod. 1980;50: 147-64.
100. Sugawara J, Mitani H. Facial growth of skeletal Class III malocclusion and the effects, limitations, and longterm dentofacial adaptations to chincap therapy. Semin Orthod. 1997;3: 244-54.
101. Suzuki S. Studies on the socalled reversed occlusion. J Nilhon Univ Sch Dent. 1961;5: 51-58.
102. Takada D, Ezura Y, Ono S, Iino Y, Katayama Y, Xin Y, Wu LL, Larringa-Shum S, Stephenson SH, Hunt SC, Hopkins PM, Emi M. Growth hormone receptor variant (L526I) modifies plasma HDL cholesterol phenotype in familial hypercholesterolemia: intra-familial association study in an eight-generation hyperlipidemic kindred. Am J Med Genet. 2003;121A: 136-40.
103. Takada K, Petdachai S, Sakuda M. Changes in dentofacial morphology in skeletal Class III children treated by a modified maxillary protraction headgear and a chincap: a longitudinal cephalometric apprasial. Eur J Orthod. 1993;15: 211- 21.

104. Tassopoulou-Fishell M, Deeley K, Harvey EM, Sciote J, Vieira AR. Genetic variation in Myosin 1H contributes to mandibular prognathism Am J Orthod Dentofacial Orthop 2012;141: 51-9.
105. Terry BC, White RP. Mandibular ramus surgery. In: Proffit WR, White RP, editors. Surgical orthodontic treatment. Saint Louis: Mosby. 1990; 264-82.
106. Thompson EM, Winter MR. Another family with the Habsburg jaw. Journal of Medical Genetics. 1988;25: 838-42.
107. Tollaro I, Baccetti T, Bassarelli V, Franchi L. Class III malocclusion in the deciduous dentition: a morphological and correlation study. Eur J Orthod. 1994;16: 401-8.
108. Tollaro I, Baccetti T, Franchi L. Craniofacial changes induced by early functional treatment of Class III malocclusion. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1996;109: 310-8.
109. Tomoyasu Y, Yamaguchi T, Tajima A, Nakajima T, Inoue I, Maki K. Further evidence for an association between mandibular height and the growth hormone receptor gene in a Japanese population. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2009;136: 536-41.
110. Tuncer BB. Sınıf III malokluzyonlarında uygulanan tedavi sistemleri. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi. 2008;11: 53-8.
111. Tweed CH. Clinical Orthodontics. Vol. 2. St.Louis: The CV Mosby Company.1966; 15-38.
112. Ülgen M. Ortodontik Anomaliler, Sefalometri, Etioloji, Büyüme ve Gelişim, Tanı. 7. Baskı. Ankara. Ankara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Yayınları. 2005; 280-8.
113. Van Erum R, Mulier G, Carels C, Zegher F. Craniofacial growth and dental maturation in short children born small for gestational age: effect of growth hormone treatment. Own observations and review of the literature. Horm Res. 1988;50: 141-6.
114. Visnapuu V, Peltomaki T, Ronning O, Vahlberg T, Helenius H. Growth hormone and insulin-like growth factor-I receptors in the temporomandibular joint of the rat. J Dent Res. 2001;80: 1903-7.
115. Walker JL, Crock PA, Behncken SN, Rowlinson SW, Nicholson LM, Boulton TJC, Waters MJA. Novel mutation affecting the interdomain link region of the growth hormone receptor in a Vietnamese girl, and response to long term treatment with recombinant human insulin-like growth factor-I and luteinizing hormone-releasing hormone analogue. J Clin Endocr Metab. 1998;83: 2554-61.
116. Watanabe M, Suda N, Ohyama K. Mandibular prognathism in Japanese families ascertained through orthognathically treated patients. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2005;128: 466-70.
117. Wei Y, Puzhko S, Wabitsch M, Goodyer CG. Structure and activity of the human growth hormone receptor (hghr) gene v2 promoter. Mol Endocrinol. 2009;23: 360-72.
118. Williams S, Andersen CE. The morphology of the potential Class III skeletal pattern in the growing child. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1986;89: 302-11.
119. Wolff G, Wienker TF, Sander H. On the genetics of mandibular prognathism: analysis of large European noble families. J Med Genet. 1993;30: 112-6.
120. Woods KA, Camacho-Hübner C, Savage MO, Clark AJ. Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene. N Engl J Med. 1996;335: 1363-7.
121. Xue F, Wong RWK, Rabie ABM. Genes, genetics, and Class III malocclusion. Orthod Craniofac Res. 2010a;13: 69-74.
122. Xue F, Wong R, Bakr A, Rabie M. Identification of SNP markers on 1p36 and association analysis of EPB41 with mandibular prognathism in a Chinese population Archives of Oral Biology. 2010b;55: 867-72.
123. Yamaguchi T, Maki K, Shibasaki Y. Growth hormone receptor gene variant and mandibular height in the normal Japanese population Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2001;119: 650-3.
124. Yamaguchi T, Park SB, Narita A, Maki K, Inoue I. Genome-wide linkage analysis of mandibular prognathism in Korean and Japanese patients. J Dent Res. 2005;84: 255-9.
125. Yang WS. The study on the orthodontic patients who visited department of orthodontics, Seoul National University Hospital. Taehan Chikkwa Uisa Hyophoe Chi. 1990;28: 811-21.
126. Zhou J, Lu Y, Gao XH, Chen YC, Lu JJ, Bai YX Shen Y, Wang BK. The growth hormone receptor gene is associated with mandibular height in a Chinese population. J Dent Res. 2005;84: 1052–6.
127. Zülal, A. İnsan Genomu, kalıtım şifresinin peşinde 136 yıl. Tübitak Yayınları. 2001; 5-11.

9. EKLER

EK-A Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Kararı

EK-B. Etik Kurul Onaylı Bilgilendirilmiş Gönüllü Onayı Formu.

EK-A Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Kararı

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SELÇUKLU TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

SAYI : B.30.2.SEL.0.28.00.00/130-1825
KONU :

08.08.2011

Sayın : Prof.Dr.Faruk Ayhan BAŞÇİFTÇİ
(Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti AD.Öğretim Üyesi)

18.07.2011 tarihli "Mandibular prognatizm ile Growth Hormone Receptor (GHR) genindeki P561T ve C422F polimorfizmlerinin ilişkisinin incelenmesi" başlıklı araştırma projeniz, 26.07.2011 tarihli Klinik Araştırmalar Etik Kurul Toplantısı'nda görüşülmüş olup; kurulun konu ile ilgili 2011/65 sayılı kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Jale Bengi ÇELİK
Etik Kurul Başkanı

Adres: S.Ü. Selçuklu Tıp Fakültesi Dekanlığı Alaaddin Keykubad kampusü 42079 – Selçuklu / KONYA
Tel: (0332) 241 21 81 , Faks: (0332) 241 21 84 , *Elektronik Posta :* stip@selcuk.edu.tr
Web Adresi : www.stip.selcuk.edu.tr , *Bilgi için :*Dekanlık Tel : 241 00 41 / 1089

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SELÇUKLU TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARLARI

Toplantı Sayısı: 06	Toplantı Tarihi : 26.07.2011

Karar Sayısı 2011-65 Sclçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Faruk Ayhan BAŞÇİFTÇİ'nin, proje yürütücülüğünü yaptığı "Mandibular prognatizm ile Growth Hormone Receptor (GHR) geni P561T ve C422F polimorfizmlerinin ilişkisinin incelenmesi" başlıklı araştırmasının değerlendirilme talebi ile ilgili 18.07.2011 tarihli dilekçesi görüşüldü.

Yapılan inceleme ve görüşmelerden sonra; Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Faruk Ayhan BAŞÇİFTÇİ'nin, proje yürütücülüğünü yaptığı "Alt çene ileriliğinden sorumlu olabileceği düşünülen Growth hormone receptor (büyüme hormonu reseptör) (GHR) genini oluşturan nükleotidlerden iki tanesi olan P561T ve C422F'deki sıralanma değişikliği ile alt çene ileriliğinin ilişkisinin incelenmesi" temel amaçlı olan "Mandibular prognatizm ile Growth Hormone Receptor (GHR) geni P561T ve C422F polimorfizmlerinin ilişkisinin incelenmesi" başlıklı araştırmasının kabulüne, BAP desteği alındıktan sonra protokolün dosyaya ilave edilmek üzere Etik Kurul sekreteryasına teslim edilmesine oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR
26.07.2011
Zeynep AKIN ÖNDER
Raportör

EK-B. Etik Kurul Onaylı Bilgilendirilmiş Gönüllü Onayı Formu

KLİNİK VEYA DENEYSEL ÇALIŞMAYA KATILMAK İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAYI FORMU

Siz veya çocuğunuzun S. Ü. Diş Hekimliği Fakültesi tarafından yürütülen bu çalışmaya katılmasını arzu ediyoruz. Aşağıda bu çalışma ile ilgili bazı bilgiler bulacaksınız. Bu bilgiler size veya çocuğunuza çalışmaya katılımda kolaylık sağlanması ve konunun öneminin açıkça anlaşılabilmesi için düzenlenmiştir.

Çalışmamızdaki hastalardan ayrıntılı bir anamnez alındıktan sonra muayene yapılacaktır. Klinik muayene ve sefalometrik röntgen değerlendirmesinden sonra alt çene ileriliği olduğu tespit edilen hastalarda anamnez derinleştirilecek ve ailesel geçişi belirlemek amacıyla diğer aile fertlerinde de bu durumun görülüp görülmediği not edilerek aile ağacı oluşturulacaktır. Alt çenesi normal konumda olan bireylerde bu değerlendirme yapılmayacaktır. Ayrıca çalışmaya katılan tüm bireylerden bir defaya mahsus iki tüp kan alınacaktır. Kan alma işlemi bölümümüz hemşiresi tarafından bölümümüzde gerçekleştirilecektir. Bölümümüz arşivinde herhangibir nedenle röntgeni bulunmayan hastalardan teşhis amaçlı bir adet röntgen çekilecektir. Çalışmada elde edilecek röntgenlerin doğum ve üreme ile ilgili olarak olası riskleri bulunmaktadır. Olası risklerden dolayı bu durumda olan bireyler çalışma kapsamı dışında tutulacaklardır.

Çalışmanın yürütücüsü Prof. Dr. Faruk Ayhan BAŞÇİFTÇİ ve yardımcı araştırıcı Dt. Sinem BAYRAM'dır. İlgili kişilere 0332 223 11 74 numaralı telefonla ulaşabilirsiniz. Çalışmaya katılacak bireylerin çalışma kapsamında kalacağı süre 15-20 dakikadır. Bu süre sonunda hastalar olağan yaşamlarına geri dönebilirler.

Araştırma kapsamındaki bireylerin özel hayatını korumak amacıyla kod, güvenlik numarası vb. yöntemler uygulanacaktır. Hastalardan alınan

bütün kayıtlar araştırma yürütücüsü tarafından toplu halde tutulacak ve saklanacaktır. Bütün işlemler bittikten sonra vaka uygun şekilde arşivlenecektir. Tüm hastaların kişisel bilgileri gizli tutulacaktır. Hastanın doktoru ve vakayı takip ettiği danışmanı tarafından bilgilere ulaşılabilecektir.

Bütün kayıtların saklanma süresi en az 5 yıldır. Değerlendirme yapılan bireylerin kendi isteği doğrultusunda çalışma kapsamı dışında kalabilme hakkı vardır. Böyle bir karar Diş Hekimliği Fakültesi'nin tedavi hizmetlerinden yararlanmanızı etkilemeyecektir.

Çalışmaya dahil olan bireylerin çalışma ile ilgili soruları en kısa sürede yanıtlanacaktır. Sorular doğrudan araştırma yürütücüsüne ve/veya yardımcı araştırıcıya sorulabilir. Bu konuda gerekirse 0332 223 11 74 numaralı telefonu kullanabilirsiniz.

Yukarıdaki 2 sayfadan oluşan metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Hastalığın araştırılması için alınan kan üzerinde genetik analizlerin yapılmasının gereği ve işlem hakkındaki bilgiler bana ayrıntılı olarak anlatıldı. Bu koşullar altında "Mandibular prognatizm ile Growth Hormone Receptor (GHR) genindeki P561T ve C422F polimorfizmlerinin ilişkisinin incelenmesi" isimli klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin Adı, Soyadı, İmzası ve Telefonu:

Katılımcı

Adı,Soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Rıza alma işleminde başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin Adı, Soyadı, İmzası ve Görevi:

Adı,Soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Açıklamaları yapan araştırıcının Adı, Soyadı ve imzası ve telefonu

Adı, Soyadı, Unvanı: Dt. Sinem BAYRAM

Adres: SÜ Dişhekimliği Fakültesi Ortodonti ABD

Tel. 0332 223 1174

İmza

10. ÖZGEÇMİŞ

Sinem BAYRAM TATAR, 19 Ekim 1985' te Antakya' da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Antakya'da tamamladı. 2003 yılında Ankara Atatürk Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. Aynı yıl Hacettepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesini kazandı ve 2008 yılında dönem birincisi olarak dişhekimliği eğitimini tamamladı.

Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsüne bağlı olarak Dişhekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalında Şubat 2009'da Doktora eğitimine başladı. Yabancı dili İngilizce'dir. Cem TATAR ile evlidir.