



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**AİLESEL DENTAL TRANSPOZİSYON OLGULARINDA EKZOM
DİZİLEME YÖNTEMİ KULLANILARAK ADAY GEN ARAŞTIRILMASI**

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ
Dt. Abdurrahman Balaban

Ortodonti Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gökmen KURT

TEMMUZ 2020



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

AİLESEL DENTAL TRANSPOZİSYON OLGULARINDA EKZOM
DİZİLEME YÖNTEMİ KULLANILARAK ADAY GEN ARAŞTIRILMASI

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

Dt. Abdurrahman Balaban

Ortodonti Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gökmen KURT

Bu tez, Bezmialem Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından
9.2018/6 kodlu proje ile desteklenmiştir.

TEMMUZ 2020

TEZ ONAY FORMU

Kurum : Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Program Adı : Diş Hekimliğinde Uzmanlık
Anabilim Dalı : Ortodonti Anabilim Dalı
Tez Sahibi : Dt. Abdurrahman BALABAN
Tez Başlığı : AİLESEL DENTAL TRANSPOZİSYON OLGULARINDA
TÜM EKZOM DİZİLEME KULLANILARAK ADAY GEN
ARAŞTIRILMASI
Tez Sunum Tarihi : 07.07.2020

JÜRİ ÜYELERİ

İMZA

Jüri Başkanı (Danışman): Prof. Dr. Gökmen KURT
Çalıştığı Kurum : BVU Diş Hek. Fak. Ortodonti Anabilim Dalı
Üye : Prof. Dr. Gülnaz MARŞAN
Çalıştığı Kurum : İstanbul Üni. Diş Hek. Fak. Ortodonti Anabilim Dalı
Üye : Dr. Öğretim Üyesi Berza YILMAZ
Çalıştığı Kurum : BVU Diş Hek. Fak. Ortodonti Anabilim Dalı

YEDEK JÜRİ ÜYELERİ

Üye : Prof. Dr. Defne Keçik GÜR
Çalıştığı Kurum : Başkent Üni. Diş Hek. Fak. Ortodonti Anabilim Dalı
Üye : Dr. Öğretim Üyesi Elif Dilara ŞEKER
Çalıştığı Kurum : BVU Diş Hek. Fak. Ortodonti Anabilim Dalı

Bu tez, Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıda belirtilen jüri üyeleri tarafından kabul / ret edilmiştir.

ANABİLİM DALI BAŞKANI

DEKAN

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresinde akademik anlamda bilgi ve tecrübesini esirgemeyen, tezimin tüm kuruluş ve yapım aşamasının yanı sıra, gerekli analizler için beni geliştiren sabır, içtenlik ve özveriyle daima destek olup yol gösteren, bilimsel alanda yenilik ve gelişmelere olan ilgisiyle konulara farklı açılardan bakmamı sağlayan, iyi bir akademisyen olma yolunda ufkumu genişleten ve beni cesaretlendiren, değerli danışman hocam Ortodonti Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Gökmen KURT'a,

Tecrübemizin olmadığı bir branş olan Tıbbi Genetik alanında bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, tez sürecinde tıkanığımız noktalarda tuttuğu ışıkla engelleri aşmamı sağlayan bir diğer danışman hocam İstanbul Üniversitesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Gözde Yeşil'e,

Uzmanlık eğitimim süresince beni defalarca cesaretlendiren ve pozitif bakış açısıyla Ortodonti alanında beni eğiten, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Berza Yılmaz'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca görüş ve bilgileri ile bana katkı sağlayan Prof. Dr. Nazan Küçükkeleş, Doç. Dr. Sertaç Aksakallı, Dr. Öğr. Üyesi Elif Dilara Şeker, Uzm. Dr. Ezgi Çakır'a,

Tez çalışmamın laboratuvar kısımlarında yardımcı olan Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Laborantları'na,

Ortodonti Anabilim dalı çatısı altında birlikte çalıştığım tüm sevgili çalışma arkadaşlarım, teknisyen ve tüm idari personelimize,

Hayatımızın iyi kötü bütün anlarını paylaştığımız, uzmanlık eğitimim boyunca hep yanımda olan biricik eşim Cansu Balaban'a ve sevgili kızım Ayşe Zümra Balaban'a,

Hayatım boyunca bütün kararlarımda destek veren, maddi manevi yardımlarını esirgemeyen, bu günlere gelmemde büyük emeği olan, bana huzur dolu bir yaşam sunan, küçüklükten beri iyi bir insan olmam için bana örnek olan sevgili babam Turgut Balaban'a, sevgili annem Zahide Balaban'a ve diş hekimi adayı kardeşim Zeynep Balaban'a teşekkür ederim.

Bu çalışma, 9.2018/6 numaralı destek projesi ile Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Abdurrahman Balaban



İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR.....	iv
BEYAN	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	xi
SUMMARY	xv
KISALTMALAR.....	xix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1 <i>Diş Gelişimi</i>	6
2.1.1 Büyüme.....	7
2.1.2 Kalsifikasyon	9
2.1.3 Sürme.....	9
2.1.4 Atrizyon.....	10
2.2 <i>Diş Gelişiminde Rol Oynayan Moleküller</i>	11
2.2.1 Başlangıç evresi.....	11
2.2.2.Tomurcuk evresi	13
2.2.3. Kep evresi	13
2.2.4. Çan evresi	14
2.2.5 Morfogenezis – histodiferansiyasyon	15
2.2.6 Erüpsiyon	19
2.3 <i>Dental Transpozisyon Nedir?</i>	20
2.3.1 Etiyoloji	23
2.3.2 Prevalans	25
2.4 <i>Yeni Nesil Dizileme (YND)</i>	26
2.4.1 Tüm Genom Dizileme	28
2.4.2 Tüm Ekzom Dizileme.....	28
3. MATERYAL – METOD	30
3.1 <i>Örneklem Grubu</i>	30
3.2 <i>Yöntemler</i>	30
3.2.1 Klinik muayene	30
3.2.2 Çalışmada kullanılan ekipman ve sarf malzemeler	30
3.2.3 Sürüntüden DNA elde etme prosedürü	31
3.2.4 Tüm ekzom dizileme	33
3.2.5 TED için kütüphane hazırlığı.....	33
3.2.6 DNA hibridizasyonu ve ekzom yakalama	34

3.2.7 Akım sitometri ve dizileme hazırlığı	35
3.2.8 Değişim analizi, filtreleme ve isimlendirme (Annotation)	36
3.2.9 Değişim yorumlanması	39
4. BULGULAR.....	43
4.1. Aile 1	44
4.1.1 Klinik Bulgular	44
4.1.2 Kalıtım	45
4.1.3 TED sonuçları	46
4.2 Aile 2.....	50
4.2.1 Klinik Bulgular	50
4.2.2 Kalıtım	52
4.2.3 TED sonuçları	53
4.3 Aile 3.....	56
4.3.1 Klinik Bulgular	56
4.3.2 Kalıtım	58
4.3.3 TED sonuçları	59
5. TARTIŞMA	63
5.1 Genel Bilgiler ve Amaç	63
5.2 Bireyler ve Yöntem.....	66
5.3 Bulgular	66
5.3.1 Aile 1	66
5.3.2 Aile 2	70
5.3.3 Aile 3	77
5.3.4 DDY ve Down Sendromu.....	80
5.3.5 MSX ve PAX	82
5.4 Kalıtsal Karakter	82
5.5 Limitasyonlar	82
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	84
KAYNAKLAR.....	86
EKLER	104
EK A: Etik Kurul Kararı.....	105
EK B: Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP Birimi Desteklenmiş Proje Sözleşmesi	109
EK C: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu.....	111
EK D: Sendromik Olmayan Dental Transpozisyon Muayene Formu	113
ÖZGEÇMİŞ	115

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1 Diş gelişiminde rol oynadığı düşünülen hedef genler.....	41
Tablo 4.1 Filtreleme kriterlerine uygun olarak tespit edilen aday genler.....	43
Tablo 4.2 1-I önceliklendirilmiş değişimler (Hedef genler, $MAF < 0,006$).....	47
Tablo 4.3 1-II önceliklendirilmiş değişimler (Hedef genler, $MAF < 0,006$).	48
Tablo 4.4 2-1 önceliklendirilmiş değişimler (Hedef genler, $MAF < 0,006$).	54
Tablo 4.5 2-II önceliklendirilmiş değişimler (Hedef genler, $MAF < 0,006$).	55
Tablo 4.6 3-I önceliklendirilmiş değişimler (Hedef genler, $MAF < 0,006$).....	60
Tablo 4.7 3-II önceliklendirilmiş değişimler (Hedef genler, $MAF < 0,006$).	61
Tablo 5.1 Tez çalışmamızdaki bireylerde transpozisyona uğrayan dişler.....	64

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 Dental çürük.....	2
Şekil 1.2 Agenezi – oligodonti.....	2
Şekil 1.3 23, 24 transpoze.	3
Şekil 1.4 13,14 transpoze.	3
Şekil 2.1 Dental gelişim sürecini etkileyen faktörler.....	11
Şekil 2.2 Başlangıç ve tomurcuk aşamasında rol oynayan molekül- özet.....	12
Şekil 2.3 Tomurcuktan kep aşamasına geçişte rol oynayan molekül- özet.....	13
Şekil 2.4 Kep evresinde rol oynayan molekül- özet.....	14
Şekil 2.5 Çan evresinde rol oynayan molekül- özet.....	15
Şekil 2.6 Morfogenezis sürecinde rol oynayan molekül- özet.....	18
Şekil 2.7 Histodiferansiyasyon sürecinde rol oynayan molekül- özet.....	18
Şekil 2.8 Erüpsiyon sürecinde rol oynayan molekül.....	19
Şekil 2.9 Güncel transpozisyon sınıflaması. [86]'dan modifiye edilerek alınmıştır..	22
Şekil 3.1 Ağız içi epitel doku örneği almak için kullanılan swab çubuğu.....	32
Şekil 3.2 Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit.....	33
Şekil 3.3 Illumina tarafından geliştirilen ekzom dizileme cihazları.....	36
Şekil 3.4 CLC BioGenomics Workbench yazılımından bir görünüm.....	37
Şekil 3.5 Linux tabanlı pipeline.....	39
Şekil 3.6 Excel haline getirilmiş değişim dosyalarından bir görünüm.....	39
Şekil 3.7 Biyoinformatik analiz süreci.....	42
Şekil 4.1 1-I panoramik radyografi. 13ve 14 no'lu dişler transpoze. $\uparrow 3^F-4^P$ T.....	44
Şekil 4.2 1-II panoramik radyografi. 22 ve 23 no'lu dişler transpoze. $T\uparrow 2^F-3^I$	45
Şekil 4.3 Aile 1'deki indeks bireyin ağız içi fotoğrafları.....	45
Şekil 4.4 Aile ağacı- 1. Aile.....	46
Şekil 4.5 1-I DNA kalite parametreleri.....	46
Şekil 4.6 1-II DNA kalite parametreleri.....	47
Şekil 4.7 2-I panoramik radyografi. 13 ve 15 no'lu dişler transpoze. $\uparrow 3^F-5^PT$	51
Şekil 4.8 2-II panoramik radyografi. 13 ve 14 no'lu dişler transpoze. $\uparrow 3^F-4^PT$	51
Şekil 4.9 Aile 2'deki indeks bireyin ağız içi fotoğrafları.....	52
Şekil 4.10 Aile ağacı- 2. Aile.....	52
Şekil 4.11 2-I DNA kalite parametreleri.....	53
Şekil 4.12 2-II DNA kalite parametreleri.....	53
Şekil 4.13 3-I panoramik radyografi. 23 ve 24 no'lu dişler transpoze. $T\uparrow 3^F-4^P$	57
Şekil 4.14 3-II panoramik radyografi. 22 ve 23 no'lu dişler transpoze. $T\uparrow 2^F-3^P$	57
Şekil 4.15 Aile 3'teki indeks bireyin ağız içi fotoğrafları.....	58
Şekil 4.16 Aile ağacı- 3. Aile.....	58
Şekil 4.17 3-I DNA kalite parametreleri.....	59
Şekil 4.18 3-II DNA kalite parametreleri.....	59
Şekil 5.1 <i>DSPP</i> (NM_014208.3): c.2019_2020insTAGCAGTGACAGCAGCAG (p.Ser674Ter) değişiminin IGV (Integrative Genomic Viewer) görüntüsü.....	68
Şekil 5.2 <i>DSPP</i> (NM_014208.3): c.3273_3274delCAinsTG (p.Asn1092Asp) değişiminin IGV görüntüsü.....	69
Şekil 5.3 <i>DSPP</i> (NM_014208.3): c.3356A>G (p.Asp1119Gly) değişiminin IGV görüntüsü.....	69

Şekil 5.4 <i>DSP</i> (NM_004415.4):c.8334A>G(p.Lys2778=) değişiminin IGV görüntüsü.....	71
Şekil 5.5 <i>GLI3</i> (NM_000168.6):c.3083G>C (p.Ser1028Thr) değişiminin IGV görüntüsü.....	74
Şekil 5.6 <i>NOTCH4</i> (NM_004557.4): c.46_47insGCT (p.Leu15_Leu16insArg) değişiminin IGV görüntüsü.....	76
Şekil 5.7 Havayolu epitel hücrelerinde şematik Düzlemsel Hücre Polaritesi (PCP) ve mutasyonu. [246]'den alınmıştır.	78
Şekil 5.8 <i>PRICKLE2</i> (NM_198859.4): c.34A>G(p.Thr12Ala) değişiminin IGV görüntüsü.....	79



ÖZET

AİLESEL DENTAL TRANSPOZİSYON OLGULARINDA EKZOM DİZİLEME YÖNTEMİ KULLANILARAK ADAY GEN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Dental transpozisyon, diş sürme mekanizmasındaki bozulmaya bağlı olarak iki komşu dişin yer değiştirmesi şeklinde tanımlanmaktadır. Günümüze kadar çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır. Güncel sınıflamada ise tamamlanmış ve tamamlanmamış dental transpozisyon olmak üzere iki alt birime ayrılmaktadır. Dünya popülasyonundaki prevalansı %0,1-2,4 arasında olmakla birlikte, Türk popülasyonundaki prevalansı %0,1 ve %0,6 arasında değişmektedir. Genel olarak tek taraflı olarak görülmekte ve kadınlarda daha sık ortaya çıkmaktadır. Etiyolojisinde kalıtım, travma, migrasyon, vb. gibi teoriler yer almakla birlikte etiyolojisi günümüze kadar tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak ailesel kümelenme göstermesi, doğumsal kalıtsal geçiş gösteren diş eksikliği (agenezi) gibi bazı dental anomalilerle yakın ilişkili olması ve dudak-damak yarığı (DDY) (%4-18)- Down (%3-15) sendromu gibi sendromlarla birlikte ortaya çıkması gibi sebeplerle kalıtsal olabileceği bildirilmiştir. Fakat, genetik olarak bu anomaliye sebep olabilecek gen veya değişimleri (varyasyon) tespit etmeye yönelik herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Bu tez çalışmasında sendromik olmayan ailesel dental transpozisyona sahip bireylerde; transpozisyona sebep olabilecek gen ve değişimlerin tespit edilmesinin yanı sıra, transpozisyonla birlikte görülen anomali ve sendromlara (agenezi, Down, DDY) sebep olan genlerdeki yeni değişimlerin saptanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya 3 aileden toplam 6 birey (5E, 1K) dahil edilmiştir. Bireylerden DNA eldesi için swab çubuğu ile yanak epitelinde örnek alınmıştır. Bu örneklerden genomik DNA izole edilerek, kullanılan kitin protokolüne uygun olarak NovaSeq Illumina 6000 cihazı ile tüm ekzom dizileme (TED) yapılmıştır. Elde edilen veri biyoinformatik yöntemler ile analiz edilerek aday genler

belirlenmiştir. Bu genler; daha önce bilinen genlerden olması, dental gelişimde rol oynayan bir yolağın içinde yer alması, dental transpozisyon ile akraba dental ageneziye bağlı bir yolağın içinde yer alması, DDY ve Down sendromu gibi dental transpozisyonun görüldüğü sendromlara sebep olan bir yolağın içinde yer alması, Minor Alel Frekans değerinin popülasyon çalışmalarıyla uyumluluk göstermesi ($MAF < 0,6$) gibi kriterler kullanılarak yorumlanmıştır.

Bulgular: Çalışmaya katılan bütün bireylerde etkilenen dişlerden bir tanesinin kanin diş olduğu, transpozisyonun sağ ve sol tarafta eşit olmak üzere tek taraflı olarak ortaya çıktığı, kadınlarda daha çok görüldüğü tespit edilmiştir. Dental transpozisyonun gömük diş, sürme gecikmesi, persiste süt dişi ve konjenital 3. molar agenezi ile birlikte görüldüğü bulunmuştur. Ancak 3. Molar dışında herhangi bir agenezi (özellikle lateral dişlerde) veya peg-shape lateral dişe rastlanmamıştır.

Daha önce dental gelişimde rol oynadığı bildirilen *DSPP*, *DSP*, *GLI3* *PRICKLE2* genlerinde, dental transpozisyona sebep olabileceği düşünülen değişimler saptanmıştır.

DSPP genindeki değişimlerin otozomal dominant (OD) dentinogenesis imperfekta, dentin displazisi gibi dokusal problemlere yol açtığı bilinmektedir. Bizim bireylerimizde de homozigot karakterde *DSPP* değişimleri bulunmasına rağmen bu tip hastalıklar görülmemiştir. Bu sebeple bu genin dental transpozisyonda rol oynama ihtimali düşük görülmektedir. Ancak *DSPP* geninde ayrıca heterozigot bir değişimin bulunması ve *DSPP*'nin *WNT* yolağı ile ilişkisi sebebiye agenezi mekanizmasında rol oynayabileceği göz önüne alındığında dental transpozisyon mekanizmasında etkili olabileceği düşünülmüştür. Sanger dizi analizi ve segregasyon analizi ile doğrulama çalışmaları gerekmektedir.

Yine *DSP* ve *GLI3* genlerinin dental gelişimde rol aldıkları, sendromik ve sendromik olmayan agenezi-oligodonti ile ilişkilendirildikleri bilinmektedir. Bu değişimlerin görüldüğü bireylerde bu genlerde homozigotik karakterde değişimler bulunmasına rağmen hipodonti-agenezi görülmemiştir. Fakat *DSP* ve *GLI3*'ün dental gelişimde rol oynaması, *GLI3* geninin dental gelişimde önemli bir görev gören *SHH* yolağı ile ilişkili olması, yine *GLI3* geninin kraniofasial iskeletsel morfolojinin belirlenmesinde etkili olabileceği düşünülməsi sebebiyle bu iki genin de dental transpozisyon mekanizmasında düşük de olsa etkili olabileceği düşünülmüştür. Ancak

etkilenmemiş aile bireylerinin de dahil olduğu bir gruba Sanger dizi analizi ve segregasyon analizi ile bu durumun doğrulanması gerekmektedir.

PRICKLE2 geninin düzlemsel hücre polaritesi (PCP) sisteminde görev alması, hücresel davranış, sinyalizasyon ve biyolojik süreçlerde yer alması ve amelogeneziste rol oynaması sebebiyle dental transpozisyon mekanizmasında görev alabileceği düşünülmüştür. Bu değişimin bireylerde heterozigot karakterde görülmesi de OD geçişli bir anomali olabileceğini ve hafif bir fenotip olarak dental transpozisyonun ortaya çıktığını düşündürmüştür. *PRICKLE2* geninin dental transpozisyonun yanı sıra diğer dental anomalilerin oluşmasında da rol oynayabileceği düşünülmüştür. Çünkü *PRICKLE2* değişimi tespit edilen ailedeki indeks bireyde dental transpozisyona ilave olarak 3. molar eksikliği, diş gömüklüğü, sürme gecikmesi, mandibular retrognati, üst keser retroklinasyonu; ebeveynde ise ilave olarak 3. molar eksikliği tespit edilmiştir. Ayrıca *PRICKLE2* geni ageneziye, kötü şekilli dişlere ve kök eksikliğine sebep olan *WNT* yolağında yer almaktadır. Bu bilgiler ışığında en muhtemel adayımız olarak *PRICKLE2* geni görülmüştür. Ancak kesin sonuçlara ulaşabilmek amacıyla bu genin dental transpozisyon göstermeyen aile bireylerinin de dahil olduğu tüm aile üzerinde yapılacak Sanger dizi analizi, segregasyon analizi ile doğrulanması ve sağlıklı popülasyonlar üzerinde yapılacak ileri çalışmalarla kesinleştirilmesi ve hayvan modelinde fonksiyon testleri yapılması planlanmaktadır.

Bunlara ilave olarak Gli3 eksikliği olan farelerde DDY görülmesi, *SHH* yolağında yer alan *GLI3* ve *WNT* yolağında yer alan *PRICKLE2* genlerinin Down sendromunda salınımının değiştiğinin bilinmesi, ailesel dental transpozisyonun bu hastalıklarda subklinik fenotipik bir dışavurum olabileceği düşünülmüştür. Ancak özellikle DDY’de literatürle uyumlu olarak; dental anomalilerin daha çok yarık bölgesindeki alveolar kretlerin ve diş germelerinin yer değiştirmesi, cerrahi işlemler sebebiyle oluşan skar dokusunun etkisiyle maksiller gelişim yetersizliği görülmesi gibi çevresel etmenler sebebiyle oluşmasının daha muhtemel olduğu öngörülmüştür.

Dental gelişimde çok önemli rol oynadığı bilinen ve daha önce mandibular kanin transpozisyonunda etiyolojik faktör olabileceği düşünülen *MSX1* ve *PAX9* genlerinde herhangi bir anlamlı değişim bulunamamıştır.

Sonuç: Bu tez çalışmamızda dental transpozisyonun daha çok maksiller kaninlerde, sağ ve solda eşit olmak üzere tek taraflı, daha çok kadınlarda görülmesi gibi genel literatür bilgileriyle uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Diş gelişimi ve

herediter karaktere sahip dental agenezi mekanizmasında görev alan bazı genlerde değişimler saptanması ve ailesel kümelenme sebebiyle dental transpozisyonun da OD geçişli kalıtsal bir karakter gösterebileceği tespit edilmiştir. Diş gelişiminin karmaşık yapısı sebebiyle dental transpozisyon oluşumunda tek bir gen değil de multifaktöriyel etkileşimlerin görev aldığı düşünölmüştür. Ancak kesin sonuçlar için daha ileri aile çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu tespit edilmiştir. Ayrıca etkilenen tüm dişlerin maksiller kaninler olması sebebiyle migrasyon teorisinin de göz ardı edilmemesi gerektiği ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada kullanılan TED yönteminin aday gen belirlemede efektif olduğu bulunmuştur. Elde edilen bulguların dental gelişimin daha iyi anlaşılmamasına önayak olacağı, böylece bu tip anomali ve maloklüzyonlara farklı bir bakış açısı getirilerek erken dönemde en uygun teşhis ve tedavi imkânı sunulabileceği değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Diş gelişimi, ailesel dental transpozisyon, tüm ekzom dizileme, biyoinformatik analiz

SUMMARY

CANDIDATE GENE IDENTIFICATION USING WHOLE EXOME SEQUENCING METHOD IN FAMILIAL DENTAL TRANSPOSITION CASES

Aim: Dental transposition is defined as the displacement of two adjacent teeth due to the disruption in the tooth eruption mechanism. Although different classifications have been made by different authors about the classification of dental transposition, it is generally accepted that dental transposition is divided into two sub-classes as completed and incomplete. While its prevalence in the world population is between 0.1-2.4%, in the Turkish population is between 0.1-0.6%. It is seen unilaterally in the permanent dentition and it is more common in women, differing between genders. There are several theories such as heredity, trauma, migration, etc. in etiology. Because of dental transposition is closely related to some dental anomalies such as congenital agenesis (hereditary tooth deficiency), shows familial clustering (familial agenesis) and occurs together with syndromes such as cleft lip-palate (CLP) (4-18%)- Down (3-15%) syndrome, the most widely accepted among of these theories has been the heredity. However, which of these theories is correct has not been clarified until today. In addition, no study has been found in the current literature to report genes or variations that may play a role in the pathway of dental transposition.

In this thesis, in individuals with non-syndromic familial dental transposition; it was aimed to determine the genes and variations that cause dental transposition, also new variations in genes that cause anomalies and syndromes (agenesis, Down, CLP etc.) associated with dental transposition.

Materials and methods: A total of 6 individuals (5F, 1M) from 3 families were included in this study. To obtain DNA from individuals, samples were taken from the buccal epithelium with a swab stick. Genomic DNA was isolated from this sample

and the whole exome sequencing (WES) was performed with the NovaSeq Illumina 6000 device in accordance with the protocol of the kit. Candidate genes were determined by analyzing the obtained data with bioinformatics methods. These genes were filtered and interpreted using the following criteria: being from previously known genes, located in a pathway that plays a role in dental development, located in a pathway dental agenesis related to dental transposition, located in a pathway that causes CLP and Down syndrome, the Minor Allele Frequency value is consistent with population studies (MAF <0.6%).

Results: Transposition appeared unilaterally and equally on the right and left sides, and it was more common in women, in accordance with the literature,. It was found that dental transposition was seen with impacted tooth, eruption delay, persistent deciduous tooth and congenital 3rd molar agenesis. However, no agenesis other than the 3rd Molar (especially in lateral teeth) or peg-shape lateral teeth was found. Also in all individuals participating in the study, it was determined that one of the affected teeth was maxillary canine.

Candidate variants for dental transposition pathway were detected in *DSPP*, *DSP*, *GLI3* and *PRICKLE2* genes, which were previously reported to play a role in dental development.

Variants in the *DSPP* gene cause structural abnormalities such as autosomal dominant (AD) dentinogenesis imperfecta and dentin dysplasia. Although *DSPP* variants of homozygous character were found in our individuals, such clinical diseases were not observed. For this reason, it seems unlikely that this gene plays a role in dental transposition. However, considering that there is also a heterozygous variant in the *DSPP* gene and that *DSPP* may play a role in the agenesis mechanism due to its relationship with the WNT pathway, it is thought that it may be effective in the dental transposition mechanism, albeit low. Verification studies with Sanger sequence analysis and segregation analysis are required.

DSP and *GLI3* genes play a role in dental development and are associated with syndromic and non-syndromic agenesis-oligodontics. Although variants in these genes were seen in two of the individuals in our study in homozygous character, hypodontics-agenesis was not observed in these individuals. For this reason, the probability of these two genes to play a role in the dental transposition pathway is unlikely. But it is known that *DSP* and *GLI3* play a role in dental development, the *GLI3* gene is associated with

the *SHH* pathway, which plays an important role in dental development, and the *GLI3* gene is thought to be effective in determining craniofacial skeletal morphology. So this situation should be verified by Sanger sequence analysis and segregation analysis for a group including unaffected family members.

PRICKLE2 gene plays a role in the planar cell polarity (PCP) system, participates in cellular behavior, signaling and biological processes, and takes part in amelogenesis. For this reason, it is thought that it can take part in the dental transposition mechanism. The fact that this variant is seen in heterozygous character in individuals suggests that it may be an AD inherited anomaly and dental transposition appears as a mild phenotype. In addition, dental impaction, eruption delay, 3rd molar agenesis, mandibular retrognathia, upper incisor retroclination in the index individual and 3rd molar agenesis in the parent together with dental transposition; it suggests that the *PRICKLE2* gene may play a role in the cause of other dental anomalies. Also *PRICKLE2* gene is located in the *WNT* pathway that causes agenesis, malformed teeth and root agenesis. In the light of these findings, *PRICKLE2* gene seems to be our most likely candidate. However, in order to reach definitive results, it is planned to verify this gene with Sanger sequence analysis, segregation analysis to be carried out on the whole family, including family members who do not show dental transposition, and to be confirmed by further studies on healthy populations and to perform functional tests in animal model.

Gli3 deficient mice are seen CLP, and the expression of *GLI3* gene in the *SHH* pathway and *PRICKLE2* gene in the *WNT* pathway changes in Down syndrome. Therefore, familial dental transposition is thought to be a subclinical phenotypic in these diseases. However, especially in CLP in accordance with the literature; it has been predicted that dental anomalies are more likely to occur due to environmental factors such as the displacement of alveolar crests and tooth germs in the cleft region, and maxillary growth failure due to the effect of scar tissue caused by surgical procedures.

No significant variants were found in *MSX1* and *PAX9* genes, which are known to play a very important role in dental development and were previously thought to be an etiological factor in mandibular canine transposition.

Conclusions: In this thesis, results were obtained in accordance with the general literature information such that dental transposition is mostly seen in maxillary

canines, unilateral, equally on the right and left sides, mostly in women. It has been determined that dental transposition may also show AD inheritance due to variants in some genes involved in tooth development and dental agenesis mechanism, which has a hereditary character, and due to familial clustering. Because of the complexity of tooth development, it was thought that the occurrence of dental transposition was caused by multifactorial interactions rather than a single gene disorders. But it was determined that further family studies were needed. Surprisingly, since all the affected teeth are maxillary canines, it is thought that the migration theory should not be ignored. The WES method used in this study was thought to be effective in determining candidate gene. The findings of this thesis obtained will lead to a better understanding of dental development. Thus, by bringing a different perspective to these types of anomalies and malocclusions, the most appropriate diagnosis and treatment opportunity will be provided in the early period.

Keywords: Tooth development, anomaly, familial dental transposition, signal pathway, whole exome sequencing, bioinformatics analytics

KISALTMALAR

ACMG	: American College of Medical Genetics
AQP	: Aquaporin
BAM	: Binary Alignment Map
DDY	: Dudak Damak Yarığı
DSPP	: Dentin Sialofosfoprotein
GRC	: Genom Referans Konsorsiyumu
IGV	: Bütünleştirici Genomik Görüntüleyici (Integrative Genomic Viewer)
MAF	: Minor Alel Frekansı
NSDY/D	: Damak Yarığı ile Birlikte veya Sendromik Olmayan İzole Dudak Yarığı
OD	: Otozomal Dominant
OMIM	: Online Mendelian Inheritance in Man
OR	: Otozomal Resesif
PCP	: Düzlemsel Hücre Polaritesi
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SHH	: Sonic Hedghehog Sinyal Yolağı
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
SNV	: Tek Nükleotid Değişimi
TED	: Tüm Ekzom Dizileme
TGD	: Tüm Genom Dizileme
VCF	: Variant Call Format
VUS	: Önemi Bilinmeyen Değişim
WNT	: Wingless-related integration site geni
YND	: Yeni Nesil Dizileme

1. GİRİŞ

Dental yapılar; birinci brankial ark kaynaklı ektodermden gelişen oral epitel ile hemen altında konumlanan kraniyal nöral krest kaynaklı mezenkimin etkileşime geçmesi ve çeşitli sinyal yollarının birbirini indüklemesi aracılığıyla oluşmaktadır. Diş gelişimi karmaşık bir süreç olup kolay anlaşılabilmesi amacıyla histologlar ve anatomistler tarafından kesin sınırları olmayan 6 aşamaya ayrılmaktadır. Bu aşamalar sırasıyla şu şekildedir: Tomurcuk evresi, kep evresi, çan evresi, kalsifikasyon, diş sürmesi ve atrizyon [1, 2]. Bu aşamaların tamamında yüzlerce faktör, gen ve molekül rol oynamaktadır. Bunların çoğu hücrel iletişim görev almakla birlikte şimdiye kadar kendisi ve fonksiyonu tam olarak aydınlatılabilen çok az gen ve gen ailesi mevcuttur [3].

Diş gelişimi ve sürmesi esnasında etkene ve maruz kalma süresine bağlı olarak değişkenlik gösteren birtakım anomaliler mevcuttur. Eğer problem gelişim öncesi veya gelişim esnasında ortaya çıkarsa ‘gelişim bozuklukları’, diş gelişiminden sonra ortaya çıkarsa ‘edinsel bozukluklar’ olarak adlandırılmaktadır. Gelişim bozuklukları arasında durum anomalileri (distopiler), büyüklük anomalileri, sayı anomalileri, biçim anomalileri ve doku anomalileri (displazi ve distrofiler) mevcuttur. ‘Edinsel bozukluklar’ ise diş çürüğüne bağlı pulpitis, periodontitis vb. problemleri, diş ve çene travmalarını içermektedir [4]. En çok görülen edinsel anomali diş çürüğü (**Şekil 1.1**) olup, en çok görülen gelişimsel anomali ise agenezidir (**Şekil 1.2**) [5].



Şekil 1.1 Dental çürük.



Şekil 1.2 Agenezi – oligodonti.

"Dental transpozisyon", durum anomalisi olup, diş sürme mekanizmasındaki bozulmaya bağlı olarak iki komşu dişin yer değiştirmesi şeklinde tanımlanmaktadır (Şekil 1.3, 1.4) [4, 6]. Diş hekimliğinde oldukça nadir olarak karşılaşılan bir durum olmakla birlikte bir meta analiz çalışmasında %0,33 ve başka bir çalışmada %0,4

oranında görüldüğü bildirilmiştir ve bu problem daha çok daimi dişlerde görülmektedir [7, 8].



Şekil 1.3 23, 24 transpoze.



Şekil 1.4 13,14 transpoze.

Transpozisyonların etiyolojisi tartışma konusu olup henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu durum diş gelişiminden önce; diş germelerinin kendi yerinde oluşmayıp, olması gerekenden farklı bir yerde sürmesi şeklinde ortaya çıkabilmekle birlikte, travma gibi postnatal etkenlerle de oluşabilmektedir. Ayrıca hem sendromik hastalıklarla hem de sendromik olmayan izole transpozisyonlar (sporadik) olarak görülebilmektedir. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) veri tabanında dental transpozisyon gösteren olgu bulunmamakla birlikte; dental transpozisyonun Down sendromu [9] ve dudak-damak yarığı (DDY) [10] gibi sendromlarla birlikte görüldüğü, dental gelişim yolağında rol oynayan *FGF*, *SHH*, *WNT*, *TGF* gibi sinyal yollarının fetüs gelişiminde ve bu sendromların oluşumunda etkin olduğu ve/veya salınımlarının değiştiği bildirilmiştir [11-17]. Bu tip kompleks hastalıkları olan bireylerde, genellikle birçok diş etkilenmektedir. Sendromik olmayan olgularda transpozisyonla birlikte peg shape lateral, konjenital lateral diş eksikliği, oligodonti, diş gömüklüğü gibi anomali ve malpozisyonlar da görülebilmektedir. Bilateral yarıklarda olduğu gibi transpozisyonlarda da benzer bir lokal veya genetik faktörün, eşlik eden diğer dental anomalilerden sorumlu olmuş olabilmesi mümkündür [10]. Bu anomaliler arasında özellikle de dental agenezi ile dental transpozisyon arasında yakın genetik ilişki olabileceği düşünülmektedir [10, 18-20]. Peck ve ark. diş agenezisine sebep olduğu bilinen *MSX1* ve *PAX9* genlerinin, mandibular alt lateral ve kanin transpozisyonundan da sorumlu olabileceğini öne sürmüştür [21]. Ayrıca diş agenezisine *AXIN2*, *EDA*, *EDAR*, *WNT10A*, *BMP2*, *GREM2*, *FAM65*, *NFATC3*, *CDH23*, *LRP6*, *BCOR*, *LAMA3*, *DDK1*, *COL17A1*, *ANTXR1* gibi genlerdeki değişimlerin de sebep olabileceği bildirilmiştir [5, 22].

Gerçek transpozisyonun mekanik bir nedene dayanmayıp konjenital olarak ortaya çıktığı belirtilmiş [4] ve bu nedenle transpozisyonların etiyolojisinde genetiğin önemini vurgulayan geniş çaplı çalışmalar yapılmıştır [20, 23-30]. Bu çalışmalara göre; transpozisyon görülen olgularda diğer dental anomalilerin görülme sıklığında artış olsa bile, toplumsal ya da cinsiyete göre birtakım sapmalar olduğundan transpozisyonlarda genetik ve moleküler etiyolojinin rolüyle ilgili kesin bir karar verilememektedir.

Daha önce yapılan gen çalışmalarında ailesel olguların kullanılmasının daha yararlı olabileceği düşünülmüş ve günümüze kadar ailevi transpozisyon olgularında ekzom dizileme yöntemi kullanılarak aday gen belirleme çalışması yapılmamıştır [20].

Bu sebeple tez çalışmamızda, sendromik olmayan ailesel dental tranpozisyona sahip bireylerde; transpozisyona sebep olan gen/genlerin ve transpozisyonla birlikte görülen anomalilere (agenezi vb.) sebep olan genlerdeki yeni değişimlerin saptanması amaçlanmaktadır. Ayrıca herediter bir dental patolojinin karakteristik özelliklerini tanımlayabilmenin ilk adımı onun genetik temelini açıklamak [31, 32] olduğu için bu bakımdan çalışmamızın öncü olacağı düşünülmektedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Dış Gelişimi

Dış gelişimi, insan henüz anne karnındayken başlamaktadır. Hamilelik başlangıcından doğuma kadar yaklaşık olarak 40 haftalık bir süre geçmekte ve bu dönemde yeni bir canlı büyüyüp gelişmektedir. Büyüme ve gelişim birbirinden farklı kavramlardır. *Büyüme*; herhangi bir dokunun miktar artışını, genişlemesini ve uzamasını ifade ederken, *gelişim*; dokunun ilerleyen bir süreç içerisinde farklılaşmasını ve daha spesifik hale gelmesini tanımlamaktadır [2].

Hamilelik süreci 3 döneme ayrılmaktadır. Bunlardan ilki ovum dönemidir. 10-14 gün sürmekte ve fertilizasyondan implantasyona kadar olan süreci ifade etmektedir. İkinci dönem ise embriyo dönemidir. Bu evre; hücre diferansiyasyonu gerçekleştiği için en önemli dönem olarak görülmektedir. Temel organların tamamı bu dönemde oluşmakta ve 2-8 hafta sürmektedir. Üçüncü dönem ise fetüs dönemidir ve bu dönemde organlar olgunlaşmaktadır. 8. haftadan doğuma kadar devam etmektedir [2].

Dış gelişiminin başlangıcı da tam olarak organların oluştuğu dönem olan ikinci döneme tekabül etmektedir. Fetüs 6 haftalık olduğunda; ektoderm ve mezoderm arasında bir sınır olan bazal membranın üstünde, ektodermin içerisinde bir aktivite artışı, genişleme ve kalınlaşma meydana gelmektedir. Bu genişleme ve aktivite artışı ile başlayan süreç, ektoderm ve mezoderm kaynaklı hücrelerin koordineli çalışmasıyla her bir süt ve daimi dişin oluşumuyla sonuçlanacaktır. Bu büyüme ve gelişim süreci 4 aşamaya ayrılmaktadır [2]:

- 1- Büyüme
 - a. Başlangıç
 - b. Proliferasyon
 - c. Histolojik farklılaşma
 - d. Morfolojik Farklılaşma
 - e. Apozisyon
- 2- Kalsifikasyon
- 3- Sürme

2.1.1 Büyüme

Başlangıç: Bu evre fetüs 6 haftalıkken başlamakta ve epitel hücreleri mezenşime doğru büyüyerek iki kısma ayrılmaktadır. Bukkal tarafta kalan kısım vestibüler lamina olarak adlandırılmaktadır. Vestibüler laminadan ise dudak, yanak ve dişeti gelişmektedir. Lingualde kalan kısma ise dental lamina adı verilmekte ve diş gelişimi bu laminadan meydana gelmektedir. Diş gelişiminin (odontogenezis) ilk belirtisi dental laminadaki epitelde bir kalınlaşma meydana gelmesidir. Bu kalınlaşma bazal membran ve dental arklar bölgesinde bir aktivite artışı ve genişleme şeklinde kendisini göstermektedir. Bu artış ve genişleme sonucunda bazal membranın üzerinde bazal çizgi adı verilen organize hücreler oluşmaktadır. Bazal çizgi hücreleri oral epitel kaynaklı olup ektodermin en alt tabakasında, bazal membranın ise hemen üstünde konumlanmaktadır [2].

Bazal çizgi hücreleri 10 noktada, komşu hücrelere oranla daha hızlı bir şekilde çoğalmakta ve dişin başlangıç evresi olarak adlandırılan diş tomurcuğunu oluşturmaktadırlar. Fakat her bir diş tomurcuğunun oluşum zamanı farklı olup gelişim sürecinin görsel olarak daha iyi anlaşılabilmesi amacıyla ‘tomurcuk’ ismi verilmiştir [2].

Proliferasyon: Dental tomurcuk çoğalmaya ve büyümeye devam ederek dental organa dönüşmektedir. Bu dental organ ileride diş germini oluşturacaktır. Dental organ da aynı şekilde, mezoderme doğru büyümeye devam etmekte ve şapka şeklini almaktadır. Bu nedenle bu evre ‘kep evresi’ olarak adlandırılmıştır [2].

Dental organ büyümeye devam ederken mezoderme temas etmeye başlamakta ve mezoderm hücreleri epitel hücrelerine doğru invaze olmaktadır. Bu invajinasyon sonucunda ise dental papilla oluşmaktadır. Dental papilla; ilerleyen süreçte pulpa ve dentini oluşturmak üzere özelleşecektir [2].

Dental organı ve dental papillayı saran mezenşimin marjinal kısımlarında yoğunlaşma meydana gelmekte ve dental kese adı verilen yapı oluşmaktadır. Ayrıca bu süreçte diş germinin ektoderm tarafında mine pulpası olarak da adlandırılan stellat retikulum oluşmaktadır. Böylece bütün bir diş ve periodonsiyumu meydana getirecek olan; dental organ, dental papilla ve dental keseden ibaret 3 ayrı yapıdan meydana gelen diş germi tamamlanmış olmaktadır [2].

Histolojik farklılaşma: Şapka dönemindeki diş germinin uzantıları mezoderm içine büyümeye devam ederek çan görüntüsü halini almakta ve ‘çan evresi’ olarak adlandırılan döneme geçilmektedir [2].

Dental organ; bu aşamada bazal membran hücreleri tarafından çepeçevre sarılmakta ve iç dental epitel-dış dental epitel olarak adlandırılan iki farklı yapı oluşmaktadır. İç ve dış dental epitel arasında kalan stellat retikulum mine oluşturmak üzere organize olmaya başlamaktadır. Çan evresinin sonlarına doğru iç dental epitel hücreleri ameloblastlara farklılaşmaktadır. Böylece dental organ mineye dönüşecektir. Ameloblastların oluşumu, bazal membrana komşu dental papillayı uyarmakta ve dental papilladan odontoblastlar farklılaşmaya başlamaktadır. Dental kesenin de mezodermi uyarmasıyla sement ve diş kemiğe bağlayan, darbelere karşı önleyici bir görevi de bulunan periodontal ligamentlerin oluşumu sağlanmaktadır [2].

Bu aşamada süt dişinin dental laminası kordon gibi uzamaya devam ederken daimi dişin dental laminası henüz tomurcuk halinde, sanki süt dental laminasının bir uzantısıymış gibi görülmektedir [2].

Morfolojik Farklılaşma: Bu evre gelişmiş çan evresidir ve artık diş, son boyut ve şeklini almaya hazırdır. İç dental epitel hücrelerinden farklılaşan ameloblastlar mine üretimine başlamaktadır ve odontoblastlar da dentin üretiminden sorumludurlar [2].

İç dental epitel ve bazal membran kalınlaşmakta ve dental papilladan pulpa oluşumu başlatılmaktadır. Pulpanın içerisinde mezenşim kaynaklı ince retiküler fibriller oluşmaktadır. Büyüme devam ettikçe pulpa derinliklerinde ince retiküler fibrillere benzeyen fakat daha uzun ve düzensiz olan spiral fibriller oluşmaktadır. Bu spiral fibriller Korff fibrilleri olarak adlandırılmakta ve dentini yapısal olarak desteklemektedirler. Bu aşamada süt dental laminası ortadan kaybolmakta ve süt diş germi mezenşim içerisinde bağımsız bir organ haline dönüşmektedir. Daimi diş dental laminası ise süt dişinin lingualine ve süt 2. azının distaline doğru ileride daimi dişleri oluşturmak üzere büyümeye devam etmektedir [2, 33].

Histodiferansiyasyon evresinde oluşan özel hücreler morfodiferansiyasyon evresinde organize olarak mine, dentin, pulpa, sement ve periodonsiyumu oluştururarak dişin şekil ve boyutlarını belirlemektedir. Ayrıca tüberkül formasyonunda primer ve sekonder mine düğümleri rol oynamaktadır [2].

Apozisyon: Histo-morfodiferansiyasyon safhalarında dişin şekil ve boyutu belirlenirken bu evrede dişin ekstrasellüler matriks yapıları oluşmaktadır. Diş germindeki hücreler formatiftir ve non-vital ekstrasellüler matriks salgılama özelliğine sahiptir. Belirli zaman aralıklarında, düzenli, katmanlı olarak ekstrasellüler matriks oluşturmaktadırlar. Dentin-mine, dentin-sement bileşimlerindeki büyüme merkezlerinden başlayarak aşamalı mine ve dentin üretimi yapılmaktadır. Böylece mine ve dentin katmanlı bir yapı olarak üretilmektedir [2].

2.1.2 Kalsifikasyon

Bu evrede daha önceden üretilmiş olan matrikse kalsiyum, fosfor magnezyum, sodyum gibi inorganik mineraller çökerek sert doku meydana gelmektedir. Örneğin mine %96 oranında inorganik madde içerirken %4 oranında organik madde içermektedir. Bu süreç matriks içerisinde küçük bir nidus oluşumu ve onun çevresinde ilerleyen bir çökme şeklinde görülmektedir [2].

İlk sert doku oluşumu dentinle başlar. Ameloblastlar ve odontoblastlar arasındaki bölgeye odontoblastlar dentin salgılamakta ve buraya dentinoid bölge adı verilmektedir. İlk oluşan dentine ise predentin (manto dentini) adı verilmektedir. Predentin oluşumu amelogenezi indüklemekte ve keser dişlerin kesici kenarından, azı dişlerinin ise tüberkül tepelerinden mine kalsifikasyonu başlamaktadır. İlk üretilen mineye pre-enamel adı verilmektedir. Servikal bölgeye doğru tabakalar halinde yeni mine üretimi devam etmektedir. Ameloblast ve odontoblastlar birbirinden uzaklaşacak şekilde kalsifikasyon gerçekleştirmektedirler [2].

2.1.3 Sürme

Diş kronu oluşumundan sonra dişin sürebilmesi için önce diş kökü meydana gelmelidir. Klinik kron oluşumundan sonra iç ve dış mine epitelleri, seiment-mine birleşimi (kole) bölgesinde birbiri üzerine katlanarak yapışmaktadırlar. Aralarındaki stellat retikulum ortadan kalkmakta ve bağımsız bir yapı olarak büyümeye, koleden aşağı doğru iki katlı epitelden oluşan bir kılıf gibi uzamaya başlamaktadır. Artık bu yapı kökün boyut ve şeklinden sorumlu olan ‘Hertwig Epitel Kını’ olarak adlandırılır. Bu yapı tek köklü dişlerde bir adet, iki ve daha köklü dişlerde ise kök sayısı kadar oluşmaktadır. Bu kılıfın iç tarafındaki mezenşim hücreleri odontoblastlara diferansiye olarak dentin salgılamaya başlamakta ve Hertwig Epitel Kını’nda parçalanmalar

meydana gelmektedir. Bu parçalanmış bölgelerde dentin dış taraftaki mezenşim hücreleri ile temas etmekte ve kök hücrelerin sementoblastlara dönüşmesini indüklemektedir. Sementoblastlar ise sementi salgılamakta ve kök oluşumu gerçekleştirmektedir [2, 33].

Sürme ise üç evrede gerçekleşmektedir. Pre-erüptif dönemde diş kökü oluşumu başlamakta ve diş oral kaviteye doğru hareketlenmektedir. Diş foliküllerinin, sürme esnasında hem osteoblastlar hem de osteoklastlar ile etkileşime girdiği bilinmektedir [34]. Mononükleer hücreler diş folikülünün koronal kısmına giriş yapmakta ve alveol kemik kriptlerinin koronal üçlüsünde osteoklast hücrelerine dönüşerek kemik rezorpsiyonunu başlatmaktadırlar. Böylece diş erüpsiyonu başlamaktadır [35-37]. Pre-fonksiyonel dönemde diş oral kaviteye çıkmıştır ve ayrıca kök gelişimi devam etmektedir. Dişin ağız içerisinde ilk görünmesi genellikle kökün yarısı veya üçte ikisi oluştuğunda meydana gelmektedir. Diş antagonisti ile karşılaşmaya kadar bu dönem devam etmekte ve sonrasında fonksiyonel-erüptif dönem başlamaktadır. Bu dönem; dişlerin tüm yaşam boyunca kemik kavitesi içerisinde hareket edebilme potansiyelini ifade etmektedir. Bu potansiyel sayesinde ortodontik tedavi mümkün olmaktadır. Vücuttaki değişim devam ettikçe dişlerde de adaptif hareket ve sürme devam etmektedir [2].

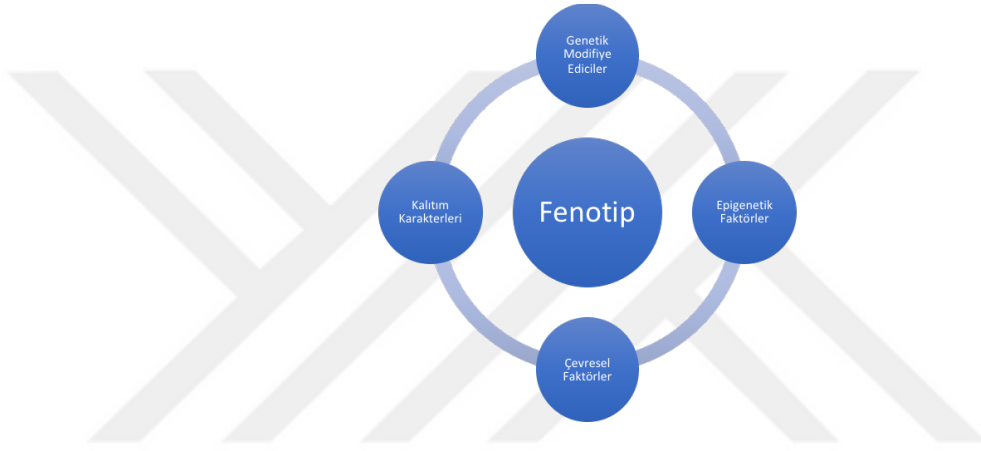
Diş oluşumu ve sürmesi esnasında sayısız süreç rol oynadığı için oldukça karmaşık ve anlaşılması zor bir süreçtir. Genellikle bilateral ve simetrik olarak ilerlemektedir. Bu süreçler esnasında herhangi birisinde görülecek bir aksama birçok probleme sebep olabilmektedir. Dental transpozisyon da bu problemlerden bir tanesidir. Süt dişleri düşerken apeks ve çevresinde bir basınç oluşturduğu ve bu basıncın daimi dişlerin sürmesine sebebiyet verdiği düşünülmekle birlikte bu teori ve diğer teorilerin tam olarak doğru olmadığı düşünülmektedir [2]. Bunun yerine; bölgeye özel, basınç gerektirmeyen, genetik olarak belirlenmiş bir kemik rezorpsiyonu ile gerçekleşen bir süreç olduğu kabul görmektedir [38, 39].

2.1.4 Atrizyon

Dişler, yaşam boyunca fonksiyon sebebiyle aşınma eğilimindedir. Aşınma hem süt hem de daimî dişlerde görülmektedir. Atrizyon ise oklüzyon esnasında görülen normal bir süreçtir. Bireylere göre miktarı farklılık göstermektedir. Atrizyonu adapte edebilmek için ise dişler fonksiyonel sürme eylemi gerçekleştirmektedir [2].

2.2 Diş Gelişiminde Rol Oynayan Moleküller

Dişler kraniyofasiyal sistemin önemli bir parçası olmakla birlikte, diş gelişimi de memelilerdeki organogenezisin güzel bir örneğini oluşturmaktadır. Diş oluşum sürecinde başlangıçtan sürmeye kadar birçok faktör, gen ve sinyal yolağı rol oynamaktadır fakat epitelyal ve mezenkimal etkileşimler erken evrelerden itibaren öncü rol oynamaktadır (**Şekil 2.1**). Dental epitel ektoderm kaynaklıyken, dental mezenkim nöral krestten gelişmektedir. Her bir gelişim sürecine ayrı ayrı etki eden faktörler olmakla birlikte bütün bir süreç boyunca da aktif olan gen ve moleküller mevcuttur. Burada hangi genlerin, hangi evrede etki ettiği aşama aşama ele alınacaktır.



Şekil 2.1 Dental gelişim sürecini etkileyen faktörler.

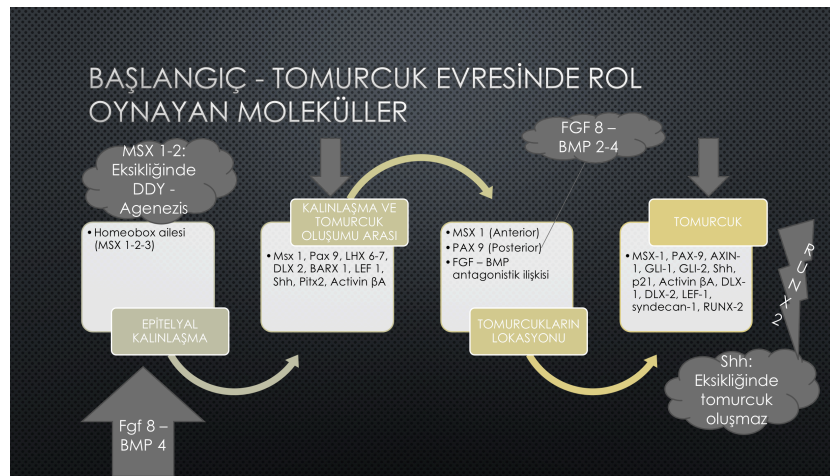
2.2.1 Başlangıç evresi

Nöral krest hücreleri diş gelişimi başlangıcında doğrudan önemli bir rol oynamaktadır. Nöral krestin uzaklaştırıldığı hayvan deneylerinde diş gelişmemiş, transplantasyon ve reimplantasyon çalışmalarında ise normal formda diş gelişimi görülmüştür. Dental mezenkimin nöral krestten gelişiyor olması da tüm diş gelişimi boyunca aktif olan ve odontogenezisi indükleyen epitelyal-mezenkimal etkileşimlere kaynaklık ettiğini göstermektedir. Bu etkileşimler mezenkimal kaynaklı sinyal yollarıyla olabileceği gibi epitelyal sinyal yollarıyla da olabilmektedir. Ayrıca epigenetik ekstrasellüler proteinler de bu etkileşimleri düzenleyebilmektedir [40, 41].

Dental epitel tek başına odontojenik potansiyele sahiptir. Sürecin tamamında etkileşime gireceği, altındaki nöral krest kaynaklı mezenkimle ince bir bazal membran aracılığıyla ayrılmıştır. Diş gelişimi dental epitelin kalınlaşmasıyla başlar ve dental

lamina, dental papilla gibi odontojenik yapıların oluşmasıyla devam eder. Bu epitelyal – mezenkimal etkileşimde ve doku indüklenmesinde en önemli rol *Homeobox* ailesine aittir. Bu genler, diş oluşumundan hemen önce mezenkimden salgılanmakta ve epitelyal kalınlaşma gerçekleşmektedir. Fakat bu genlerin ekspresyon paternini distal epitelden salgılanan BMP4 ve mesial epitelden salgılanan FGF8'in indüksiyon ve inhibisyonu belirlemektedir. *Homeobox* ailesinden de özellikle *MSX* gen grubu başlangıç döneminde etkin rol oynamaktadır. *MSX*'in 3 alt grubu bulunmakla birlikte; *MSX1* ve *MSX2* eksikliğinde dişlerde hatalı gelişim ve DDY gibi anomaliler meydana gelmekte, ayrıca ailesel diş eksikliğinin de en büyük etkeni olarak görülmektedirler. Ayrıca *MSX* grubu başlangıçta yer almakla birlikte neredeyse tüm epitelyal-mezenkimal doku etkileşimlerinde de rol oynamaktadır [40, 42, 43].

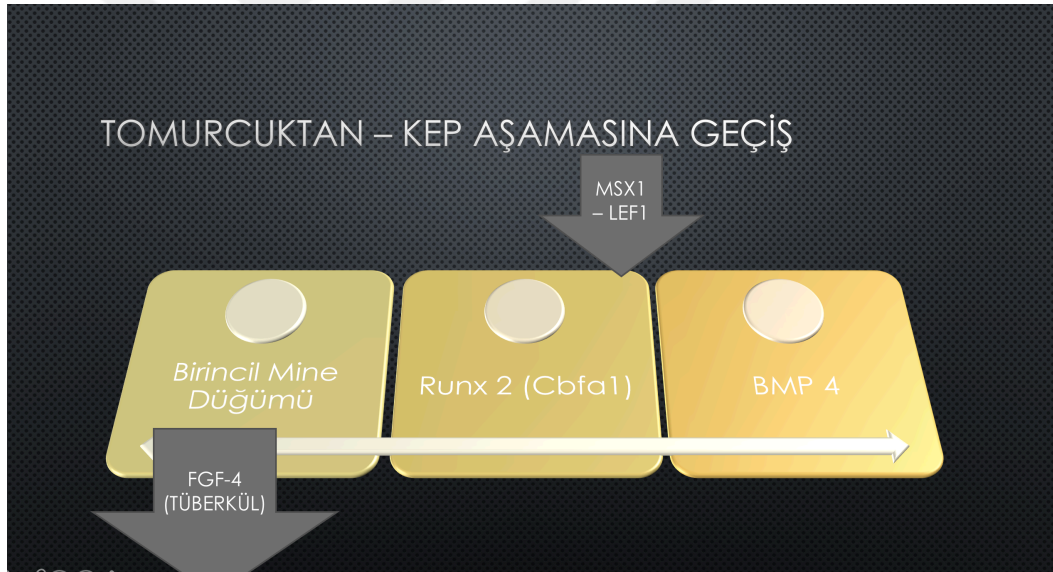
Epitelyal kalınlaşmadan diş tomurcuklarının oluşacağı döneme kadar, tomurcuk bölgelerinde *MSX1*, *PAX9*, *LHX6*, *LHX7*, *DLX2*, *BARX1*, *LEF1*, *SHH*, *PITX2*, *INHBA* genlerinin aktif olduğu tespit edilmiştir. Bunların içerisinde *MSX1* ve *PAX9*; tomurcukların yerinin belirlenmesinde dominant olarak rol oynamaktadır. *MSX1*'in anterior dişlerin gelişiminden sorumlu olduğu, posterior dişlerden ise *PAX9*'un sorumlu olduğu tespit edilmiştir. *PAX9*'u FGF8 indüklemekte, BMP2 ve BMP4 ise sınırlamaktadır. Böylece sadece posterioara etki edebilmektedir. *MSX1* ve *PAX9*'un yanı sıra FGF ve BMP arasındaki bu antagonistik ilişkinin de tomurcuk konumunun belirlenmesinde rol oynayabileceği düşünülmüştür. Yine bu erken süreçteki epitelyal-mezenkimal sinyalizasyonun kontrolünü *DLX* gen ailesi sağlamaktadır. Ayrıca *SHH* ve *PITX2*'nin de bu süreçte görev aldığı bildirilmiştir (Şekil 2.2) [3, 40, 41, 44, 45].



Şekil 2.2 Başlangıç ve tomurcuk aşamasında rol oynayan moleküller- özet.

2.2.2. Tomurcuk evresi

Tomurcukların şekillenmesinde ve gelişiminde *MSX1*, *PAX9*, *AXIN1*, *GLI1*, *GLI2*, *SHH*, *INHBA*, *DLX1*, *DLX2*, *LEF1*, *SDC1*, *RUNX2* gibi genler rol oynamaktadır. *SHH* epitelyal bir gen olup, ekspresyonu için *RUNX2* gerekmektedir. *SHH* epitelyal kalınlaşmanın tomurcuğa dönüşmesinde, proliferasyonu sağlayan mezenşimal ve epitelyal etkileşimlerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Şekil 2.2). Eksikliğinde ise dental tomurcuk oluşumu gerçekleşmemektedir. Tomurcuk aşamasından kep aşamasına geçişte ise birincil mine düğümü, *RUNX2* ve *BMP4* önemli rol oynamaktadır (Şekil 2.3). Ayrıca mezenkimal *CBFA1* (*RUNX2*) geninin de kep aşamasına geçişte eksprese olduğu tespit edilmiştir. *BMP4* ekspresyonu için de *MSX1*'e ve *LEF1*'e ihtiyaç duyulmaktadır. *MSX1* eksikliğinde *BMP4* hiç salgılanamazken, *LEF1* eksikliği *BMP4*'ün salınımını azaltmaktadır. Ayrıca yukarıda da değinildiği gibi *BMP4*, *PAX9*'un inhibisyonunda görev almaktadır [40, 46-50].

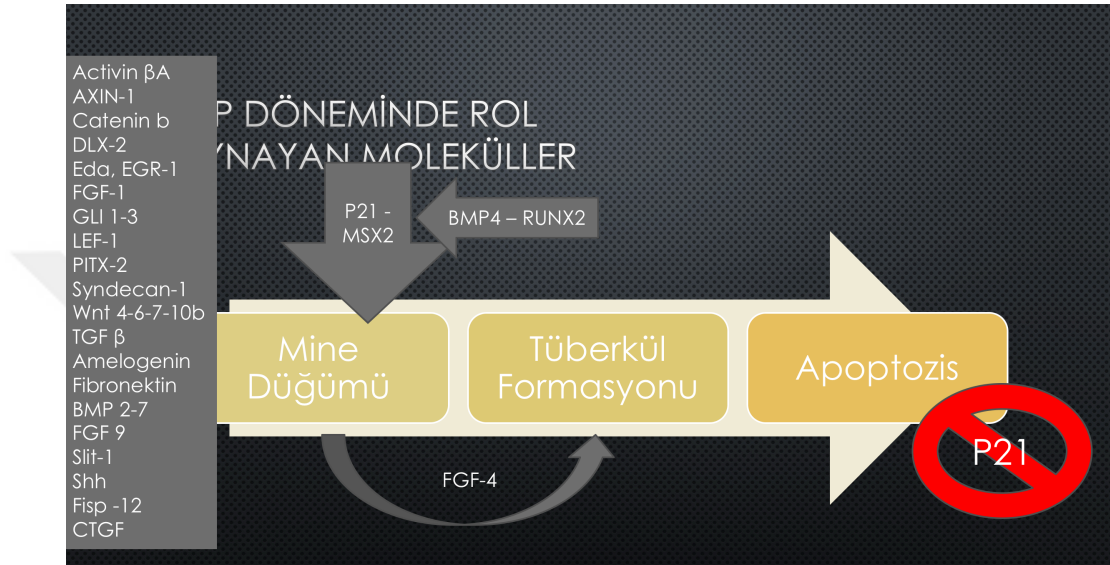


Şekil 2.3 Tomurcuktan kep aşamasına geçişte rol oynayan moleküller- özet.

2.2.3. Kep evresi

Kep evresinde ise başlıca *INHBA*, *AXIN1*, *CTNNB1*, *DLX2*, *EDA*, *EGR1*, *FGF1*, *GLI1-3*, *LEF1*, *MSX2*, *PITX2*, *CDKN1A*, *SDC1*, *WNT4-6-7-10b*, *TGFβ*, Amelogenin, Fibronectin, *BMP2-4-7*, *FGF4-9*, *SLIT1*, *SHH*, *RUNX2*, *Fisp12*, *CTGF* gen ve proteinleri rol oynar. Bu dönemde birincil mine düğümü ve tüberkül formasyonu oluşur. Mine düğümü tomurcuk döneminin geç ve kep döneminin erken

evresinde görülen ve tüberkül formasyonunu başlatan FGF4 molekülü ve diğer bir dizi geni eksprese eden geçici bir merkezdir. Dış tomurcuğunun üst bölgesindeki epitel dokunun yoğunlaşmasıyla oluşur. BMP4 ve RUNX2 indüksiyonuyla eksprese olan *MSX2* ve *CDKN1A* mine düğümünün erken belirteçleridir fakat ilk ortaya çıkan *CDKN1A(p21)*'dir. Aynı şekilde kep evresinin sonunda mine düğümünün apoptozisle ortadan kaldırılmasını sağlayan gen de *CDKN1A*'dır (Şekil 2.4) [3, 40, 45].

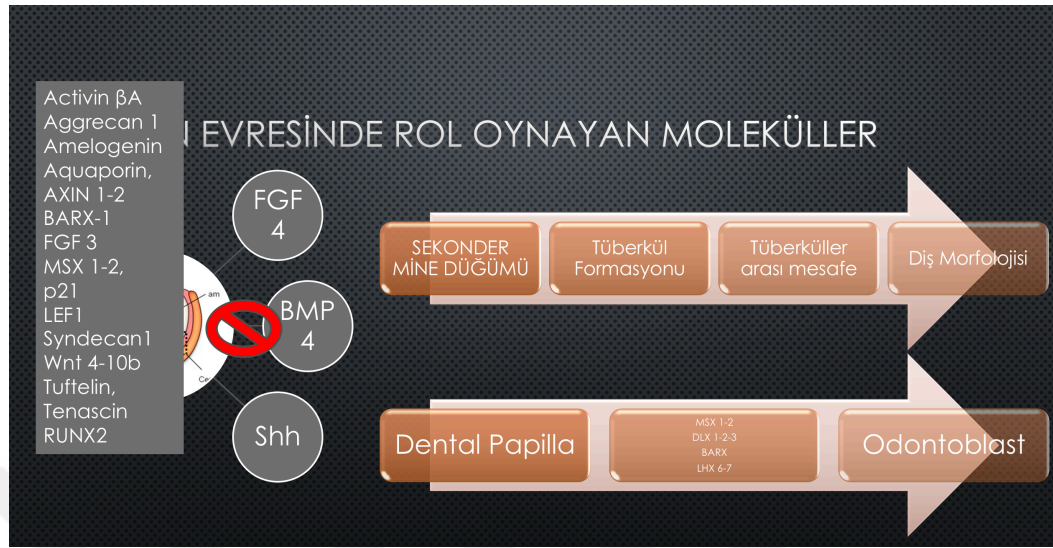


Şekil 2.4 Kep evresinde rol oynayan moleküller- özet.

2.2.4. Çan evresi

Germ büyüyüp gelişmeye devam eder ve çan evresine geçilir. Bu evrede başlıca *INHBA*, *ACAN*, Amelogenin, *AQP*, *AXIN1-2*, *BARX1*, *BMP4*, *FGF3-4*, *MSX1-2*, *CDKN1A*, *LEF1*, *LHX6*, *SHH*, *SDC1*, *WNT4-10b*, *TUFT1*, *TNC*, *RUNX2* gibi gen ve proteinler aktivite göstermektedir. Bu aşamada da spesifik tüberküllerin oluşumunu ve diş morfolojisinin şekillenmesini sağlayan ikincil bir mine düğümü oluşmaktadır. Bu mine düğümü de FGF4, BMP4, SHH salgılamakta ve apoptozisle ortadan kalkmaktadır (Şekil 2.5). İkincil mine düğümündeki bu sinyalizasyon ile doğru tüberkül formasyonunun başlaması, tüberküller arası mesafenin ayarlanması ve diş morfolojisinin düzenli gelişimi sağlanmaktadır. İkincil mine düğümünün apoptozunun ise *BMP4* aktivasyonu ile olduğu tespit edilmiştir. Yine bu aşamada iç mine epitelinin indüksiyonu ile dental papilladan odontoblastlar farklılaşmaktadır. Burada rol oynayan

en önemli genler ise *Homeobox* ailesinden *MSX1-2*, *DLX1-2-3*, *BARX*, *LHX6-7* gibi genlerdir [3, 43, 51-53].



Şekil 2.5 Çan evresinde rol oynayan moleküller- özet.

2.2.5 Morfogenezis – histodiferansiyasyon

Tomurcuk, kep ve çan aşamaları içerisinde aynı zamanda morfogenezis (Şekil 2.6) ve histodiferansiyasyon (Şekil 2.7) devam etmektedir. Daha önceki aşamalarda olduğu gibi bu süreçlerde de genler arası etkileşim ve zamanlama önemlidir. Morfogenezis aşamasının sağlıklı ilerlememesi veya bu dönemdeki bir gelişim duraklaması dişin şekil ve boyutunu etkilemektedir. Farklı diş tiplerinde ve farklı bölgelerde benzer sinyalizasyon yolağının işlediği görülmüştür. Yani aynı anomaliler (örn. Hipodonti) farklı dişlerde görülebilmekte veya morfogenezis sürecinin farklı aşamasında sinyalizasyon sekteye uğrarsa aynı tip anomaliye sahip bireylerde (örn. Supernumerer diş, peg shape lateral vb) farklı morfolojide dişler görülebilmektedir [41, 54].

Kep ve çan aşamaları boyunca devam eden morfogenezis *PAX9*'un *MSX1*'i indüklemesiyle başlamaktadır. Böylece *MSX1* eksprese olmaktadır. Yine yukarıda belirtildiği gibi *MSX1* ve *PAX9*, *BMP4*'ün ekspresyonunu indüklemektedir. *BMP4* ise *PAX9* ekspresyonunu sınırlamaktadır. Tomurcuktan kep aşamasına geçişi de daha önce bahsedildiği gibi *BMP4*, *RUNX2* ve birincil mine düğümünden eksprese olan *TGFB*, *FGF*, *HEDGEHOG* ve *WNT* gen aileleri indüklemektedir. Mezenşimal *BMP4*

mine düğümü içerisindeki hücre döngüsünün durdurulmasını regüle ederken, mine düğümünden FGF4 salgılanmasını *WNT* kontrol etmektedir. Komşu dokuların proliferasyonunu ise epitel ve mezenkimden eksprese olan FGFs ve reseptörleri sağlamaktadır [40, 46, 55].

Morfogenezis sürecinde kron şekli ve tüberkül formasyonunu belirleyen ana faktör birincil ve ikincil mine düğümleridir. Primer mine düğümü kep döneminde ortaya çıkmakta ve geç kep döneminde ortadan kalkmaktadır. Çan aşamasında ise birincil mine düğümü gözlenmemekte ve çok tüberküllü dişlerin tüberkül bölgelerinde sekonder mine düğümü ortaya çıkmaktadır. Mine düğümündeki hücreler, sinyal ekspresyonu esnasında non-proliferatif olarak kabul edilmektedir. Bu non-proliferatif hücreler hem çevre hücrelerin hem de mezenkimal dental papillanın proliferasyonunu stimüle etmektedir. Mine düğümlerindeki ve epitelyal-mezenkimal etkileşimlerdeki antagonist aktivasyon ve inhibisyonların sürekli tekrar etmesi, germin diferansiyel büyümesi ve katlanmasıyla alakalıdır. Epitelyal katlanmayla ilgili hücreler hızlı bir şekilde proliferat olmakta, böylece kron ve tüberkülün son hali ortaya çıkmaktadır. Diferansiyel büyüme ve katlanmadan sorumlu olan gen ise mine düğümünden eksprese olan FGFs'dir. Bu dönemde mezenkimden *SOSTDC1* eksprese olurken, *LPR3* birincil mine düğümündeki ekspresyonu sınırlandırmaktadır. Mine düğümlerinin aktivitesinin bitmesi ve apoptozisi de bir çeşit sinyalizasyonla gerçekleşmektedir. Mine düğümünden salgılanan BMP4 apoptozisle ilişkilidir. BMP4, *CDKN1A* ekspresyonunu sağlar ve apoptozis başlatılır. Apoptozis de morfoloji (şekil ve boyut) açısından önem arz etmektedir. Çünkü mine düğümlerindeki apoptozis doğru zamanda gerçekleşmezse kron yüksekliğinde azalma ve mesio-distal boyutta artış gibi bir takım majör morfolojik bozukluklar görülmektedir [41, 51, 56-59].

Kep ve çan aşamalarında morfogenezis sayesinde tüberkül paterni belirlenmektedir. Histodiferansiyasyon sürecinde ise mine ve dentini üretecek hücreler ortaya çıkmaktadır. Öncelikle; iç mine epitelinin indüksiyonuyla odontoblastlar oluşmakta ve dentin matriksi salgılanmaktadır. Bu da komşu iç mine epitel dokusundan ameloblast farklılaşmasını indükte etmektedir. Böylece mine matriksi salgılanmaktadır [41].

Dentin matriksi çeşitli proteinlerden oluşmaktadır. Bu proteinler büyük oranda kollajen olmakla birlikte odontoblast kaynaklı *DSPP* geninin ürünleri olan proteinler de bulunmaktadır. *DSPP* ekspresyonunu *TGFB* kontrol etmektedir, normalden fazla

TGFB1 ekspresyonunda ise *DSPP* salınımı azalmaktadır. Preodontoblastik hücrelerde ise *DSPP* transkripsiyonu BMP2 ile sağlanmakta, buna da *DLX3/OSX* yoluyla aracılık etmektedir. *DLX3*, morfogenezis ve tüberkül paternine etki etmektedir. Ayrıca dentinogenezis esnasında hem ameloblastlardan hem de odontoblastlardan *PTN* salgılanmaktadır. *PTN* osteoblast oluşumu ve diferansiyasyonunda rol oynamaktadır. Histon demetilaz olan *JMJD3* de dentinogenezis sürecinde hücre dışı dentin matrisi salgılanmasını sağlar. *Homeobox* ve kemik morfogenetik proteinlerinin gen ekspresyonları için de *JMJD3* gereklidir [60-65].

DSPP amelogeneziste de rol oynamaktadır. *DPP*, *DSP* ve *DGP* olmak üzere 3 alt birime ayrılmaktadır. *DPP* BMP1 ile ayrılırken, *DGP* ise MMP2 ve Enamelisin (MMP20) ile ayrılmaktadır. *DPP* geninin, hidroksiapatit kristali oluşumunun çekirdekletiricisi (nidus oluşumu) olarak işlev gördüğü ve mine proteinlerinin salgılanmasında rolü olduğu düşünülmektedir. Amelogenezin ilk aşamalarında, mine-dentin birleşimine komşu olan mine tabakasının sertliğini belirlemektedir. Gelişmekte olan minenin %30'u protein içeriklidir ve sekretuar hücreler olan ameloblastların salgıladıkları mine matris proteinlerinin yaklaşık %90'ı amelogenindir. Amelogeninin katkısıyla sekretuar fazın ortalarında apozisyonel kristal büyümesi gerçekleşme ve yapısal bütünlük de sağlanmaktadır. Diğer bir protein olan enamelin (%1-5) ise erken dönemde hidroksiapatit kristalleri oluşumunun başlatılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Hemen ameloblastlara bitişik olan mineralizasyon hattında da bulunurlar ve kristallerin uzamasını, bütünlüğün korunmasını sağlarlar. Diğer mine proteini olan ameloblastin ise bir hücre adezyon molekülüdür. Ameloblast sekresyonlarını kontrol etmekte ve diferansiyasyon aşamasını sürdürmektedir [58, 66-72].

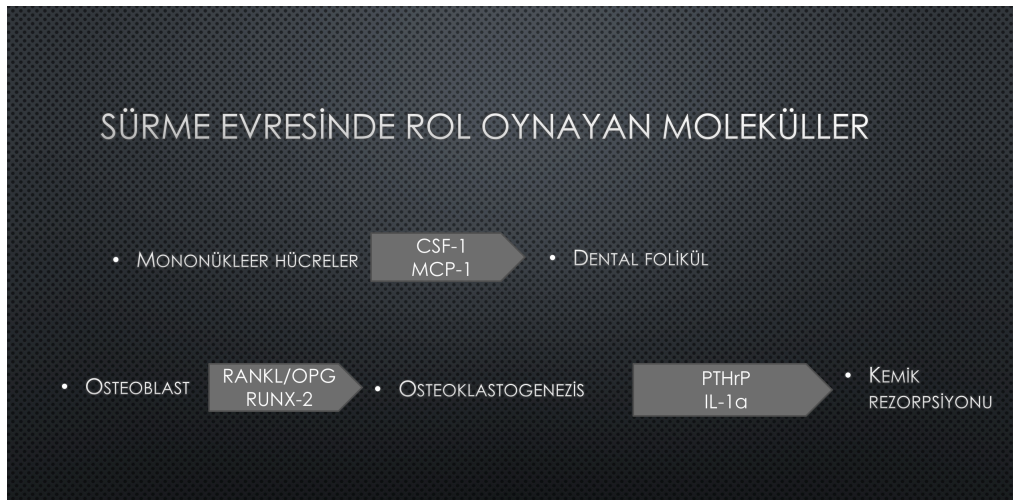
Amelogenezis sürecinde *DLX* gen ailesi de görev almaktadır ve amelogenin ekspresyonunu düzenlemektedir. Ameloblastlardan tüm aşamalar boyunca eksprese olmaktadır (presekretuar, sekretuar, maturasyon). Presekretuar fazda *DLX2* görev almaktadır fakat sekretuar fazda *DLX2* kapatılmakta ve yerine *DLX1* eksprese olmaktadır [73].

Gelişimin devam etmesi ve mineralizasyon için matris proteinlerinin proteolitik enzimlerle parçalanması ve ortamdaki uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu süreçten sorumlu olan iki ana molekül vardır: Enamelisin (MMP20) ve Kallikrein (KLK4). *Enamelisin* ameloblastlardan eksprese olmaktadır. Mine maturasyonunda

2.2.6 Erüpsiyon

Diş sürmesi, dental organı ve çevresindeki alveolar hücreleri içeren karmaşık ve iyi kontrol altına alınmış bir süreçtir. Erüpsiyon başlamadan önce mononükleer hücreler (osteoklast öncüleri) dental foliküle giriş yapmalıdır. Bu hücreler, alveolar kemiği rezorbe eden osteoklastları oluşturmak amacıyla birleşir ve dişin kemik kriptinden çıkması için bir erüpsiyon yolu oluşturur.

Erüpsiyon sinyalizasyonda yer alan moleküller, çalışma fareleri, osteopetrotik kemirgenler, varsayılan erüpsiyon moleküllerinin enjeksiyonları ve kültürlenmiş diş folikülü hücreleri üzerinde yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir. Mononükleer hücrelerin foliküle alınması, *CSF1* ve / veya *MCPI* ile gerçekleşmektedir (Şekil 2.8). Kemiğin rezorbe olabilmesi için osteoklastogenezis süreci gereklidir. Osteoprotegerin transkripsiyonunun ve foliküldeki sentezinin yanı sıra NFkB ligandının (RANKL), bitişik alveoler kemik ve / veya foliküldeki reseptör aktivatörünün arttırılması gerekmektedir. Paratiroid hormonu ile ilişkili protein (PTHrP)'nin parakrin sinyalizasyonu ve foliküle bitişik stellat retikulumda üretilen interlökin-1a da sürmenin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Ayrıca osteoblastlar da *RANKL / OPG* yolağı aracılığıyla sinyalizasyona katkı sağlayarak sürme yolu oluşturan en önemli hücre olan osteoklast aktivasyonunda rol oynamaktadır. Osteoblastın erüpsiyonu düzenlemedeki en önemli transkripsiyon faktörü RUNX2 (Cbfa1)'dir. RUNX2 (Cbfa1) ayrıca dental folikül hücreleri tarafından da yüksek seviyelerde eksprese edilmektedir [39].



Şekil 2.8 Erüpsiyon sürecinde rol oynayan moleküller.

2.3 Dental Transpozisyon Nedir?

Dişlerde ektopik sürme oldukça sık olarak görülmektedir. Fakat transpozisyon, ektopik sürmenin alt kategorisi olarak kabul edilebilmekle birlikte çok daha az görülmekte ve çok daha ekstrem bir durum oluşturmaktadır [20, 78]. Literatürde de nadir ve yaygın olmayan bir anomali olduğu bildirilmiştir [8, 79, 80]. Dental transpozisyon için daha önce birkaç tanımlama yapılmıştır. Bunlardan en açıklayıcısı ise ‘komşu iki dişin, özellikle de köklerinin yer değiştirmesi veya bir dişin; normalde komşu olmadığı bir dişle komşu pozisyonda gelişmesi veya sürmesi’ şeklinde Peck’in 1993 yılında yaptığı tanımlamadır [20, 81-83].

İlk transpozisyon vakası (Maksiller Kanin-Lateral) 1817’de Miel tarafından bildirilmiştir [84]. Yine Angle tarafından da 1907 yılında transpozisyon ve gömüklük vakası bildirilmiştir (Mandibular sol kanin ve lateral) [85]. O zamanlardan bugüne kadar birçok transpozisyon vakası tanımlanmış ve yazarlar durumu tanımlamak adına dişe veya çeneye göre özelleşmiş farklı terimler kullanmışlardır (örneğin, tam / eksik transpozisyon, gerçek / sahte transpozisyon, kısmi transpozisyon, basit transpozisyon, koronal transpozisyon ve psödotranspozisyon). Örneğin Peck ve Peck [23] maksiller ark için, Papadopoulos ve ark. [7] ise maksillar ve mandibular ark için tanımlama sistemi dizayn etmişlerdir. Santral kesici diş için I1, lateral kesici için I2, kanin için C, birinci premolar için P1, ikinci premolar için P2 ve birinci molar için M1 kısaltmasını vermişlerdir. Fakat yazarlar ortak bir sınıflandırma ve isimlendirme sistemi geliştirememişlerdir. Ayrıca benzer koşullar için kullanılan farklı terimler de (örneğin, eksik transpozisyon, psödotranspozisyon, koronal transpozisyon ve basit transpozisyon) kafa karışıklığı oluşturmuştur.

Oluşan bu karmaşıklığı çözmek adına Rai ve ark. 2018 yılında yeni bir sınıflandırma sistemi geliştirmişlerdir [86]. Bu sistemi Pubmed ve Medline veri tabanlarında ‘tooth transposition’ anahtar kelimeleriyle ulaşılan 494 makale üzerinde çalışarak şekillendirmişlerdir. Dünya üzerinde hala kullanılmakta olan FDI ve Palmer dental numaralandırma sistemlerinin avantajlı yönleri kullanılarak sentezlenmiş, ortaya transpozisyonu bütün yönleriyle tanımlayan bir sistem çıkarılmıştır. Bu sistemle birlikte transpozisyonun hangi dişleri ilgilendirdiği, yer aldığı çeneyi ve transpozisyonun tipini tanımlamışlardır. Ayrıca unilateral/bilateral ayrımı yapmışlar ve ilgili dişlerin sürme durumunu ve lokasyonunu belirtmişlerdir. Transpoze dişlerin tanımlanması şu şekilde yapılmaktadır:

- T: Transpoze dişleri tanımlamak için kullanılır.
- F: Bukkaldeki (Fasiyal) dişler için üst işaretlerde kullanılır.
- P: Palatinaldeki dişler için üst işaretlerde kullanılır.
- I: Hem transpoze hem de gömük dişler için üst işaretlerde kullanılır.
- E: Hem transpoze hem hala sürmekte olan/kısmi sürmüş dişler için üst işaretlerde kullanılır.
- 1 ila 8 arasındaki rakamlar, sırasıyla santral kesici ve üçüncü azya kadar olan dişleri temsil etmek için kullanılır.
- ↑ sembolü, maksillar arkı ifade eder, T↑ gibi
- ↓ sembolü, mandibular arkı ifade eder, T↓ gibi
- Unilateral veya bilateral transpozisyon, duruma göre “T” nin solunda, sağında veya her iki tarafında da belirtilecektir.

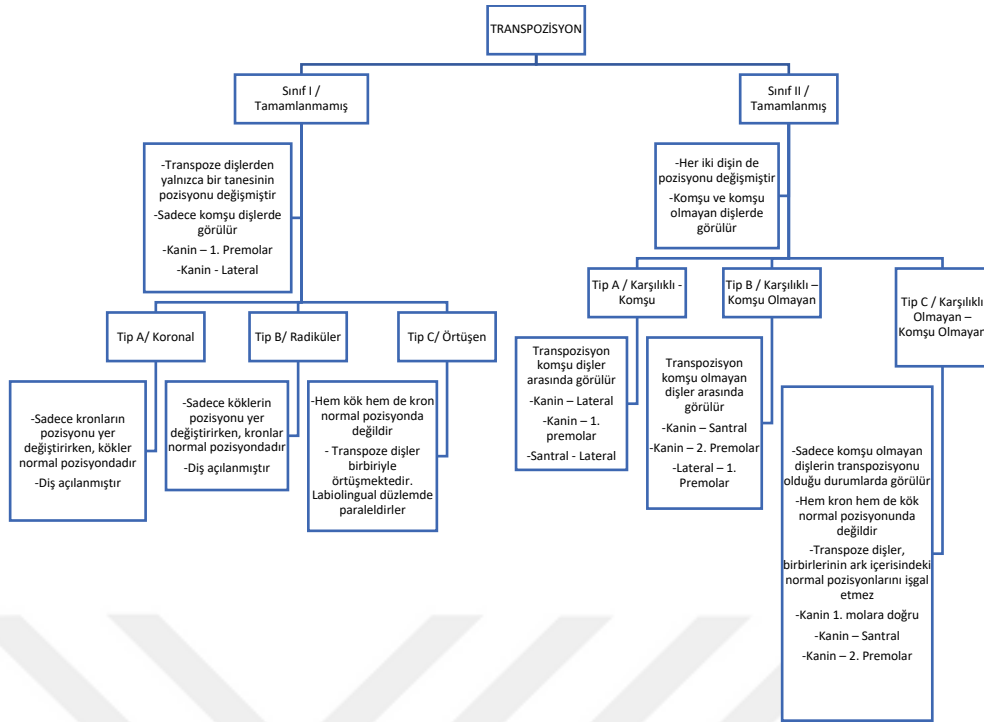
Örneğin;

Sağ tarafta tek taraflı maksiller kanin ve birinci premolar transpozisyonu $\uparrow 3^F-4^P$ T şeklinde gösterilir

Sol tarafta tek taraflı maksiller kanin ve birinci premolar transpozisyonu T $\uparrow 3^F-4^P$ şeklinde gösterilir

Bilateral maksiller kanin ve birinci premolar transpozisyonu $\uparrow 3^F-4^P$ T $\uparrow 3^F-4^P$ şeklinde gösterilir

-Eğer bir diş tamamen sürmüşse, üst karaktere F veya P eklenmez. Bununla birlikte diş gömükse veya kısmen sürmüşse üst karaktere sırasıyla I veya E eklenir.



Şekil 2.9 Güncel transpozisyon sınıflaması. [86]’dan modifiye edilerek alınmıştır.

Bu yeni sınıflamayla birlikte transpozisyon şiddetine ve ciddiyetine göre 2 sınıfa ayrılmış, bu iki sınıf da 3 alt birime ayrılmıştır. Böylece klinik teşhis ve tedavi planlaması kolaylaşmıştır. Bu sınıflandırma Şekil 2.9’da gösterilmiştir.

Sınıf I geçmişte psödotranspozisyon, basit, tamamlanmamış ya da kısmi transpozisyon olarak adlandırılan grubu içermektedir. Bu sınıftaki dişler tamamen yer değiştirmemekte ve yalnızca komşu dişlerde görülmektedir. Sadece kron veya sadece kök yer değiştirmiştir veya dişlerden birisi ektopik olarak sürmüştür.

Sınıf II gruptaki dişlerde ise transpozisyonlar tamamlanmıştır veya ilgili dişlerin ikisinin pozisyonunda da değişiklikler olmuştur. Komşu veya komşu olmayan dişler arasında görülebilmektedir. Bu gruba karşılıklı ve karşılıklı olmayan iki terim eklenmiştir. Karşılıklı transpozisyonunda, kanin ve lateralın transpozisyonu veya kanin ve 1. premoların transpozisyonunda görüldüğü gibi ark içerisinde birbirlerinin normal konumuna yerleşmişlerdir. Karşılıklı olmayanda ise kaninin 1. Molara doğru olan transpozisyonunda olduğu gibi birbirlerinin normal konumlarını işgal etmemektedirler.

2.3.1 Etiyoloji

Dental transpozisyonun etiyolojisi ile ilgili olarak birçok görüş dile getirilmiştir. Bu görüşler özetle genetik, travma, yanlış pozisyonunda oluşmuş dental tomurcuk, erken diş kaybı, persiste süt dişi gibi mekanik interferenslerin de dahil olduğu multifaktöriyel modelde bir etiyoloji ortaya koymuşlardır. Fakat şu ana kadar belirli bir sebep sonuç ilişkisi kurulamamıştır.

Dental transpozisyon çoğu zaman üçüncü molarlar dışında konjenital olarak eksik dişler, peg-shape maksiller lateral kesici dişler [20, 23, 87], primer dişlerin persisyonu [88], şiddetli rotasyonlar, inversiyon veya komşu dişlere doğru ektopi [89], komşu olmayan dişlerin ektopik sürmesi [90], kök ankilozu [87, 90, 91] gibi dental arktaki diğer anomalilerle ve patolojik durumlarla bir arada bulunmaktadır. Bu ise sendromik bir durumun işaretçisi olarak görülmektedir [92]. Muhtemel etiyolojik faktörler arasında şu problemler mevcuttur [92, 93]:

- a) Kalıtım: Dişlerin ark içerisindeki konumu DNA içerisindeki diş gelişimi ile alakalı genler aracılığıyla belirlenmektedir. Sonuç olarak transpozisyon; ilgili bölgedeki genin anormal fonksiyonu sonucu ortaya çıkmaktadır [94]. Şu ana kadar yapılan genetik çalışmalardan çıkarılan sonuçlara göre transpozisyon; aynı aile ağacında sayısız bireyde görülmektedir [83, 95]. Ayrıca kadınlarda erkeklere oranla daha fazla görülmektedir [96]. Transpozisyon akrabalar arasında yaygın olarak görülmesi sebebiyle tüm etiyolojik sebepler arasında en çok kabul göreni olmuştur [97].
- b) Travma: Transpozisyon kök ankilozu ile birlikte görülebilmektedir. Bu durumda komşu dişler o bölgeye doğru rotasyon yapmaktadır. Bu da özellikle erken çocukluk dönemindeki (1,5-6 yaş) travmaların transpozisyona sebep olabileceğini düşündürmektedir [23, 98, 99].
- c) Primer dişlerin persistansı- primer ve daimî dişlerin erken kaybı [23, 100]: Süt dişi köklerinin geciken rezorpsiyonunda alttaki daimi diş germi uygun pozisyonunda çıkamamaktadır. Maksiller 1. moların erken kaybında ise bilinmeyen bir sebepten dolayı maxiller kaninin distale doğru deplasmanı tetiklenmektedir [23]. Tüm bunlarla birlikte, süt dişlerinin persisyonu, transpozisyonun nedeninden ziyade sonucu olarak da kabul edilmektedir [8, 20].
- d) Posterior dişlerin mesializasyonu sebebiyle çapraşıklık [101]: Dental arktaki mesializasyona bağlı görülen çapraşıklık sebebiyle transpozisyon

oluşabileceği düşünülmüştür fakat şu da bilinmelidir ki transpozisyon vakalarının çoğunda normal diş dizilimi için yeterli alan mevcuttur.

e) Kemik Patolojileri: Kemik içerisinde gelişim gösteren kist, tümör vb. oluşumlar germlere etki ederek konumunda değişikliklere ve transpozisyona sebep olabilmektedir [88, 100, 102-104].

f) Çene (Özellikle mandibula) ve diş gelişimi arasındaki senkronizasyon problemi: Dişlerin sürmeye hazırlandığı dönemde görülen çene büyümesi sebebiyle dental transpozisyon oluşabileceği öngörülmüştür. Fakat bu teori doğrulanamamıştır [100, 105].

g) Migrasyon: Daimî kanin 4-5 aylıkken gelişmeye başlamakta, kronu ise 6-7 yaşlarında tamamlanmaktadır. 11-12 yaşlarında sürmekte ve kök oluşumu 13-15 yaşlarında tamamlanmaktadır. 4,5 yaşında maksiller kanin, 1. premoların üzerinde yer alırken sonrasında süt 1. moların üzerinde konumlanmaktadır [88]. Daimî dişin erüpsiyon rotası sıklıkla primer dişin kök oryantasyonu tarafından yönlendirilir, ancak çıkan diş başka bir dişe yaklaştıkça rota değişebilmektedir. Çenelerdeki boşluk durumları, mekanik engeller ve değişen orandaki gelişim miktarları, süren dişlerin yönünü etkileyebilmekte ve değiştirebilmektedir. Maksiller kanin hem topografik hem de zamansal bakış açısıyla, diş arkındaki orjinal konumuna gelinceye kadar uzun bir mesafe kat etmektedir. Yani maksiller kanin germinin anatomik olarak lokasyonu ve uzun bir sürede sürmesi transpozisyona sebep olabilmektedir [106]. Mandibulada ise en sık ektopik sürme görülen diş lateral kesicidir. Bu diş normal erüpsiyon yolundan sapabilmekte, primer lateral kesici ve primer kaninin lingual yüzeyi boyunca distale doğru hareket edebilmekte ve gelişmekte olan ikinci premolar üzerinde sürebilmektedir. Böylece daimî lateral süt 1. moların erken düşmesine neden olabilmektedir. Daimî kanin ise normal pozisyonunda veya laterale göre hafifçe mesialde kalacak şekilde sürebilmekte ve transpozisyon ortaya çıkmaktadır. Sonuç olarak, maksiller transpozisyon, kanin germinin lokasyonunun ve sürme rotasının bir sonucudur; mandibulada ise, kalıcı lateral kesici dişin distal göçünden kaynaklanmaktadır [107]. Mandibular kanin kaynaklı transpozisyonlar da mevcuttur. Örneğin kanin ters yöne doğru sürdüğünde (inversiyon) veya santral keserler arasında transpoze olacak şekilde sürdüğünde görüldüğü gibi [108].

h) Diş germelerinin yer değiştirmesi: Diş gelişimin erken dönemlerinde dental laminadaki diş tomurcuklarının [109] veya odontogenez esnasında diş

germlerinin yer deęiřimi [110, 111] rapor edilmiř ve bunun transpozisyona sebep olduęu dūřūnūlmūřtur.

2.3.2 Prevalans

Dental transpozisyon çoęu zaman dental arktaki diğer patolojik durumlarla bir arada bulunduğu ve cinsiyete gōre farklı oranda gōrūlme eğiliminde olduğu daha ōnce belirtilmişti. Aynı şekilde gōrūlme oranı ırklar arasında da farklılık gōstermektedir [112]. Ayrıca aynı ırkta farklı yazarlar tarafından farklı prevalans oranları belirtilmiştir.

Daha ōnce yapılan çalıřmalarda řu sonuçlar elde edilmiřtir: Ruprecht ve ark.'na gōre (1985) [113] Suudi Arabistan'da %0.13, Chattopadyay ve Srinivas'a gōre (1996) [8] Hindistan'da %0.43, Umweni ve Ojo'ya gōre (1997) [114] Nijerya'da %0.14, Burnett'in (1999) [115] 590 Afrikalı birey üzerinde yaptıęı çalıřmaya gōre maksiller kanin ve 1. premolar transpozisyonu %0.51, Onyeaso & Onyeaso'nun (2006) [116] 361 Nijeryalı birey üzerinde yaptıkları çalıřmaya gōre %0.6, Hatzoudi ve Papadopoulos'un (2006) [92] 1113 Yunan birey üzerinde yaptıęı çalıřmada %0.09, Papadopoulos ve ark'nın (2010) [7] transpozisyon üzerine yayımlanan 591 makaleyi derleyerek yaptıkları çalıřmalarında %0.33, Cho ve ark'nın (2012) [117] Hong-Kong popūlasyonunda yaptıęı çalıřmaya gōre maksillada transpozisyon gōrūlme sıklıęı %0.81, Campoy ve ark'nın (2013) [118] 2888 Portekizli bireyde yaptıęı çalıřmaya gōre %0.2, Herrera-Atoche ve ark'nın (2014) [119] 670 Meksikalı birey üzerinde yūrūttūęu çalıřmada %2.38, Irish'in (2020) [120] 1886 Sahra Altı Afrikalı bireyde yūrūttūęu çalıřmaya gōre maksiller kanin ve 1. premolar transpozisyonu %0.32 oranında gōrūlmūřtur.

Tūrk toplumunda ise transpozisyon gōrūlme sıklığı řōyledir; Yılmaz ve ark'nın (2005) [121] 5486 birey üzerinde yaptığı çalışmada %0.38, elikoęlu ve ark'nın (2010) [122] 6983 bireyde yaptığı çalışmaya gōre %0.27, Būyūk ve ark'nın (2013) 1954 [123] hasta üzerinde yaptığı çalışmaya gōre %0.6 (12 birey), elebi ve ark'nın (2015) [124] 3795 Orta Karadenizli birey üzerinde yaptığı çalışmaya gōre %0.28, Ōz ve Kırzioğlu'nun (2020) [78] 11750 Tūrk ocuęunda yaptığı çalışmaya gōre ise %0.6'dır.

Sendromik hastalarda ise prevalans ōnemli oranda yūkselmektedir. Down sendromlu hastalarda dental transpozisyon Shapira ve ark.'na gōre (2000) [9] %14,29,

Cheng ve ark.'na göre (2007) [125] Hong Kong'lu bireylerde %15, Nelson-Filho ve ark.'na göre (2011) [126] Brezilyalı Down sendromlu bireylerde %3.1, Bauer ve ark.'na göre (2012) [127] %6.7, Sa ve ark.'na göre (2016) [128] %3.4 oranında, DDY hastalarında ise Shapira ve ark.'na göre (2001) [10] %9.2, Heliovaara ve ark.'na göre (2004) [129] %4,1, Eslami ve ark.'na (2013) [130] %5.5 bilateral, %8 sağ unilateral, %3.1 sol unilateral toplamda %18.6, Yezioro-Rubinsky ve ark'a göre (2020) [131] 210 DDY'li Kolombiyalı çocukta %9,76 oranında görülmektedir.

Araştırmacıların çoğuna göre transpozisyon kadınlarda daha sık görülmekle birlikte unilateral olarak, maksillada ve sol tarafta daha yüksek oranda görülmektedir [10, 96, 132]. Unilateral görülme eğiliminde olduğunu savunanlarla birlikte bilateral görülme eğilimi olduğunu savunan yazarlar da mevcuttur [110]. Bilateral olgularda her iki yarım çenede de simetrik dişlerde görülmektedir [8] ve peg-shape lateral, agenezi gibi diş anomalileriyle birlikte görülme sıklığı daha yüksektir [133]. Ayrıca Leonardi ve ark. (2011) [134] sella tursika morfolojisinde farklılaşmanın (köprü oluşumu) dental tranpozisyonla ilişkili olabileceğini bulmuştur.

2.4 Yeni Nesil Dizileme (YND)

DNA dizileme yöntemi; genetik analiz çalışmalarında, kalıtsal hastalıkların tespitinde, yeni genlerin keşfinde, nadir hastalıklara sebep olan mutasyonların tespitinde, fenotipik ve genotipik olarak heterojenite gösteren hastalıkların teşhisinde rutin olarak kullanılmaktadır [135, 136]. Tarihte nükleotid dizileme analizini ilk uygulayan kişi Wu'dur (1970) [137]. Sonraki süreçte Sanger ve ark. dideoksinükleotidleri (ddNTP) kullanarak DNA zincir uzamasının durdurulması prensibine dayalı enzimatik dizileme metodunu [138], Maxam ve Gilbert da DNA'nın kimyasal reaksiyonlar ile bölünmesi sonucu açığa çıkan ürünlerin jel elektroforezi ile ayrıldığı bir yöntem olan kimyasal degradasyon metodunu geliştirmişlerdir [139]. Bu yöntemlerin yaygınlık kazanması ve geniş bir kullanım alanı bulması; DNA'nın belirli bir bölgesinin restriksiyon enzimleriyle kesilip in vitro olarak çoğaltılması yöntemi olan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)'nin 1986 yılında Mullis ve ark. tarafından keşfedilmesi ile gerçekleşmiştir [140, 141]. Dizileme yöntemlerinin ilk dönemlerinde bir ucu radyoizotopla işaretlenmiş primerler kullanılırken; sonraki dönemde radyasyonun sebep olabileceği olumsuz etkiler de göz önüne alınarak floresanla işaretleme yöntemine geçilmiştir. Floresan boyalarla işaretlenmiş ddNTP'lerin

kullanıldığı Sanger dizileme yönteminde çok sayıda örnek aynı anda dizilenebilmekte ve her bir yürütmede 400-800 bazlık DNA dizileri yüksek doğrulukla okunabilmektedir. Ayrıca Sanger yöntemi şimdiye kadar en çok kullanılan dizileme yöntemi olmuştur.[136, 142]

DNA dizi analizleri, DNA restriksiyon enzimlerinin keşfi ve PZR'ın bulunuşu gibi teknikler 'İnsan Genom Projesi' fikrinin ortaya çıkmasına önayak olmuştur. Bu projeye birlikte, insanların genetik haritası ortaya konulabilmekte, insanda hastalığa sebep olan genler belirlenebilmekte, DNA klonlama ve hücre dizileri için topluma açık havuzlar oluşturulabilmektedir[143]. Bu projeye 1990 yılında başlanmış ve projenin ilk ayağı olarak tanımlanan ilk insan genom dizilemesi 10 yıllık bir süre sonunda 26 Haziran 2000'de tamamlanmıştır [144]. Projenin tümü ise 2003 yılında tamamlanmış ve sonuçları aynı yılda paylaşılmaya başlanmıştır. İnsan genom projesini oluşturmak amacıyla, 1990'dan 2003 yılına kadar temel olarak 'Sanger'in dideoksi dizileme' yöntemi kullanılmıştır [145]. Bu tip genetik çalışmalarda insan nükleik asit dizi bilgilerinin kritik bir görev gördüğü anlaşılarak daha kısa sürede, daha düşük emek ve maliyetle çok daha hızlı işleyecek sistemlere ihtiyaç duyulmuştur [146]. Bu aşamadan sonra ise 'Yeni Nesil Dizileme (YND)' olarak adlandırılan masif paralel dizileme yöntemleri ve cihazlar geliştirilmiş ve ilk YND platformu 2005 yılında kullanıma sunulmuştur [147]. İnsan genom projesi tamamlanıp, bu yeni teknik geliştirildikten sonra moleküler genetikte yeni bir çığır açılmış ve 'Post Genomik Çağ' başlamıştır [5, 136]. Bu yöntemle birlikte büyük miktardaki DNA'lar paralel dizileme sayesinde daha kısa sürede incelenebilmiş, yeni genler keşfedilebilmiş, nadir hastalıklar ve genetik mutasyonları belirlenebilmiş, heterojenite gösteren hastalıkların tanısı kolaylaşmış, bireysel tedavi yöntemleri ve farmakogenezi geliştirilerek 'Tıpta Kusursuzluk Girişimi (PMI)' başlamıştır [136, 148, 149]. Bu alanda kullanılan cihaz, kimyasal madde, bilgisayar sistemleri ve yazılımlarındaki güncellemeler ve gelişmeler aktif bir şekilde devam etmekte ve her geçen gün ilerlemeler kaydedilmektedir [5].

YND teknolojileri avantajlarıyla birlikte birtakım dezavantajları da beraberinde getirmiştir. Sanger metodunda tek bir dizileme işlemi yapılmakta ve ampikon boyları okuma için yeterli olmaktadır. Fakat YND platformlarında çok sayıda okuma yapılmakta ve ampikon boyları kısa olmaktadır. Bu sebeple genomun bazı bölgeleri net olarak belirlenememektedir. Bu problemi çözmek amacıyla ileri bilgisayar yazılımlarına ihtiyaç duyulmakta ve geliştirilmesi gerekmektedir. YND

teknolojilerindeki ilerleme; dizileme yönteminin temelinden PZR'yi çıkarma yönünde ilerlemektedir. Yaygın olarak kullanılan ilk dizileme yöntemi Sanger, ikinci nesil dizileme yöntemi PZR temelli masif dizileme, üçüncü nesil dizileme yöntemi ise PZR'ye dayalı olmayan YND yöntemleridir [5]. Üçüncü nesil dizileme yöntemlerinde DNA amplifikasyonuna ihtiyaç duyulmamaktadır ve bunlar içerisindeki en meşhuru nanopor yöntemidir [150].

Teknolojik ilerlemeler ve YND yöntemlerinin yaygınlaşmasıyla birlikte Tüm Genom Dizileme (TGD) daha kolay, daha ucuz ve daha hızlı yapılabilir hale gelmiştir fakat rutin kullanım için hala oldukça pahalı bir yöntemdir. Bu sebeple TGD'ye alternatif olarak; Tüm Ekzom Dizileme (TED), hedeflenmiş dizileme gibi yöntemler bulunmuştur. Bu yöntemler arasında en çok kullanılanlar TGD ve TED yöntemleridir [151].

2.4.1 Tüm Genom Dizileme

Temel olarak 3 aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada kullanılan platforma uygun olarak elde edilen genom, çeşitli enzimler ve ultrasonik homojenizatör (sonikatör) yardımıyla parçalarına ayrılmaktadır. İkinci aşamada platform aracılığıyla DNA tek yönlü veya çift yönlü olarak dizilenmektedir. Son olarak elde edilen veri analiz edilmektedir [151, 152].

2.4.2 Tüm Ekzom Dizileme

Bir genin protein kodlayan bölgesine ekzon, bunların bütününe ekzom denilmektedir. TED genomun bütün protein kodlayan bölgelerini dizilemek için geliştirilmiş bir tekniktir. Ekzomlar bütün genomun yaklaşık %1-2'sini oluşturmakla birlikte, hastalıkların yaklaşık %85'i ekzomda meydana gelen değişimler sebebiyle oluşmaktadır[153].

Genetik hastalıklar 4 farklı kalıtım biçimiyle geçiş göstermektedir. Bunlar:

- 1- Tek gen (Mendelian) kalıtım
- 2- Poligenik (Multifaktöriyel) kalıtım
- 3- Mitokondrial kalıtım
- 4- Kromozomal kalıtım

TED yöntemi mental retardasyon, şizofreni, otizm, epilepsi, konjenital kardiyovasküler problemler, siliopatiye bağlı sendrom ve hastalıklar, kronik

dermatolojik problemler, ailesel işitme problemleri, gastrointestinal sendromlar, beyin malformasyonları ve immünolojik rahatsızlıklar gibi kompleks multifaktöriyel kalıtım gösteren hastalık gruplarında yeni gen ve mutasyonlarının araştırılmasında kullanılmaktadır [5, 154, 155]. Mendelyan hastalıklarda ekzon bölgelerinde mutasyon görülme ihtimali %85'tir [156]. TED yöntemi ekzon bölgelerini yüksek oranda tarayabilmektedir [157]. Bu yüzden Mendelyan hastalıkların teşhisinde ekzom dizileme önemli bir analiz yöntemidir [136, 158].

Dental transpozisyonun oluşumunda travma, gelişmekte olan diş tomurcuklarının yer değiştirmesi, sürme yolunun değişmesi, persiste süt dişlerinin varlığı gibi birtakım teoriler öne sürülmüş ve ayrıca genetik olarak Otozomal Resesif (OR) karakteristik özellik gösteren mendelyan bir anomali olabileceği düşünülmüştür. Ancak transpozisyon vakalarının ailesel kümelenme göstermesi ve dental transpozisyon ile akraba bir anomali olan dental agenezinin Otozomal Dominant (OD) geçişli bir anomali olduğuna dair yayınlar bulunması sebebiyle dental transpozisyonun da OD geçişli bir anomali olabileceği öngörülmektedir [159]. Son dönemde yapılan çalışmalarda multifaktöriyel kalıtım özelliği gösterdiği de söylenmektedir [20, 95, 98, 106, 110, 112, 132, 160]. Diş hekimliğinde oldukça nadir olarak görüldüğü daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir [7, 161, 162]. Fakat bugüne kadar genetik temeli tam olarak ortaya konulamamıştır. Bu çalışmada; transpozisyona sebep olan genin ve mutasyonlarının bulunması amacıyla, mendelyan hastalıkların, nadir hastalıkların ve ailevi hastalıkların teşhisinde başarı oranı yüksek olan TED yöntemi kullanılmıştır.

3. MATERYAL – METOD

3.1 Örneklem Grubu

Bu çalışmaya 2017-2020 yılları arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ortodonti Anabilim Dalı'na ortodontik tedavi amacıyla başvurmuş, klinik ve radyografik olarak kendisinde ve aile bireylerinden en az bir tanesinde dental transpozisyon teşhisi kesinleşen ve projeye katılmayı kabul eden 3 olgu ve ailelerinden birer kişi dahil edilmiştir. Daha önce yapılmış olan araştırmalarda kullanılan yöntemlerle elde edilen genler/değişimler power analizi için gerekli ve yeterli bilgiyi bize sağlamamaktadır. Dolayısıyla gen ve değişimlerin değişimini gözlemleyebilmek adına bir pilot çalışmaya karar verilmiştir. Etiyolojisi bilinmeyen bir hastalıkta aday gen araştırma çalışmaları bazen 1-2 ailede hatta 1-2 hastada sürdürülmektedir. Bu çalışmalar sonucu aday olabilecek genler belirlenmektedir [163-165]. Bizim çalışmamızda da örneklem grubu literatürdeki bu tip çalışmalar göz önünde bulundurularak 3 aileden 6 birey olarak belirlenmiştir.

Çalışma etik açıdan Bezmialem Üniversitesi Etik Kurulu Tarafından 06.06.2018 tarihinde 11/28 karar no'su ile onaylanmış ve Bezmialem Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 9.2018/6).

3.2 Yöntemler

3.2.1 Klinik muayene

Olguların ekstraoral ve intraoral muayeneleri projeye dahil olan hekimler tarafından yapılmış ve panoramik radyografileri incelenmiştir. Etkilenmiş bireylerin fotoğraf ve radyografileri arşivlenmiştir.

3.2.2 Çalışmada kullanılan ekipman ve sarf malzemeler

- Mikrobrush Seti (True Line Transport Swab)
- 0.2 – 1.5 ml Eppendorf
- Buzdolabı
- Derin Dondurucu

- DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN)
- Santrifüj (Hettich Zentrifugen MIKRO 200 R)
- Termal Döngü Cihazı (PZR için)
- Nanodrop spektrofotometre
- Qubit® 3.0 Florometre
- TED Cihazı (Illumina Novaseq 6000)
- TED için kütüphane cihazı (xGen Exome Research Panel v1.0)
- Magnetic AMPure XP beads (Beckman Coulter A63880, ABD)
- Bilgisayar Programları (CLC Bioinformatics Workbench, Linux tabanlı annotasyon pipeline, Alamut Visual, Excel)

3.2.3 Sürüntüden DNA elde etme prosedürü

Bireylerden mikrobrush swab çubuğu (Şekil 3.1) ile elde edilen ağız içi epitel doku örneklerinden ‘GENETİKS’ Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi ve Laboratuvarları’nda DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) (Şekil 3.2) aracılığıyla DNA elde edildi. Bu süreçte üreticinin talimatları (DNeasy Blood & Tissue Handbook 07/2006) doğrultusunda aşağıdaki sıralama takip edildi:

- 1- Ağız içerisinden swab çubuğu ile alınan örnekler 1 ml PBS solüsyonu eklendi ve o günün akşamından sabaha kadar 56 °C etüvde bekletildi. Sonrasında swab tüpünün içindeki tüm örnek ependorfa aktarıldı. Bu ependorf tüpü santrifüj cihazında (Hettich Zentrifugen Universal 32 R, Almanya) 14000 rpm’de 8 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonucu üstte kalan kısım (süpernatant) atıldı.
- 2- 20 µl proteinaz K eklendi, karışım vortekslendi ve doku tamamen parçalanana kadar 56 °C’de inkübe edildi. Numuneyi yaymak için karışım aralıklarla vortekslendi.
- 3- 15 sn vortekslendi ve numuneye 200 µl Tampon (Buffer) AL eklendi ve tekrar vortekslendi. Sonrasında 200 µl etanol (96-100%) eklendi ve homojen bir karışım elde etmek için vorteks aracılığıyla vakit kaybetmeksizin iyice karıştırıldı.
- 4- 3. adımdan elde edilen karışım, DNeasy Mini spin kolonuna yerleştirilen 2 ml’lik bir toplama tüpüne pipetlendi. 1 dakika boyunca $\geq 6000 \times g$ (8000 rpm) santrifüjlendi. Flow - through ve toplama tüpüyle birlikte çıkarıldı.

5- DNeasy Mini spin kolonu yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirildi. 500 µl Tampon AW1 eklenerek $\geq 6000 \times g$ (8000 rpm) 1 dakika santrifüjlendi. Toplama tüpü ve flow - through atıldı.

6- DNeasy Mini spin kolonu yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirildi. 500 µl Tampon AW2 eklendi ve DNeasy membranını kurutmak için $20.000 \times g$ (14.000 rpm) 3 dakika santrifüjlendi. Toplama tüpü ve flow-through atıldı. Bu aşamada membranı kurutmak önemlidir. Çünkü artık etanol müteakip reaksiyonlara müdahale edip sonuçları etkileyebilir. Santrifüjleme aşamasını takiben DNeasy Mini spin kolonu dikkatlice çıkarıldı. Çünkü kolon, etanol içeren flow througha temas etmemelidir.

7- DNeasy Mini spin kolonu temiz bir 2 ml mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi ve 200 µl Tampon AE doğrudan DNeasy membranına pipetlendi. Oda sıcaklığında 1 dk inkübe edildikten sonra elüsyon için $\geq 6000 \times g$ (8000 rpm) 1 dakika santrifüjlendi.

8- Maksimum DNA verimi için 7. adımda açıklandığı gibi elüsyon bir kez daha tekrarlandı. Kolon atılarak DNA elde edilmiş oldu.



Şekil 3.1 Ağız içi epitel doku örneği almak için kullanılan swab çubuğu.



Şekil 3.2 Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit.

3.2.4 Tüm ekzom dizileme

Sürüntüden elde edilen DNA örnekleri'nin TED işlemi; 'GENETİKS' Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi ve Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Ekzom dizileme öncesinde her birey için DNA kütüphanesi oluşturulması gerekmektedir. Bu işlem sürecinde 'xGen Exome Research Panel v1 protokolü kullanılmıştır.

3.2.5 TED için kütüphane hazırlığı

DNA kütüphanesi oluşturulması öncesinde, elde edilen DNA'nın kalite parametrelerinin ölçülmesi gerekmektedir. Bu ölçüm için 3 yöntem kullanılmaktadır. Nanodrop spektrofotometre ile DNA konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla A_{260}/A_{280} ve A_{260}/A_{230} oranlarına bakılmakta, her iki oranın da ≥ 1.8 'den büyük olmasına dikkat edilmektedir. Ardından örnekler 1% agaroz jel elektroforez ile koşularak DNA'nın sağlamlığına karar verilmektedir. Yüksek kalite DNA'lar tek bir bant halinde ve $>50\text{kb}$ olarak görüntülenmektedir. Ayrıca elde edilen örneğin konsantrasyon kalite ölçümü 'QUBIT florometre' ile de yapılmaktadır.

Kalite kontrolü yapılan örnekler ses dalgası teknolojisi (sonifikasyon) yöntemi ile parçalanmaktadır. Toplam konsantrasyon $1\text{ }\mu\text{g}$ ve son hacim $50\text{ }\mu\text{l}$ olacak şekilde hazırlanan örnek, sonikatör cihazı kullanılarak DNA fragmanlara ayrılmaktadır (Fragmantasyon). xGen Exome Research Panel protokolü'nde Illumina Platformu tarafından temin edilen KAPA[®] Hyper Prep Kit, TruSeq ve Nextera DNA Library

Prep Kits kullanılmaktadır. Bu kitler fragman uzunluklarının 150-350 bp olacak şekilde kırılmasını tavsiye etmektedir.

Fragmantasyonun ardından 'T4 DNA polymerase' ve 'T4 polynucleotide kinase blunt end' ile DNA uçları tamir edilerek düz bir hale getirilmektedir (paired-end pre-capture library).

Sonrasında fragmentlerin 3' uçlarına bir Adenin bazı eklenmekte, 'Illumina' tarafından tasarlanmış adaptörler ile ligazlanarak kütüphane oluşturulmaktadır.

Adaptör eklenmiş DNA fragmentleri, kit içerisinde hazır gelen primerler kullanılarak PZR ile amplifiye edilmektedir. Bu protokolda 95°C ve 65°C olmak üzere 2 farklı sıcaklıkta ayarlanan 2 termal siklus cihazı kullanılmaktadır.

Bu süreçteki her bir aşamanın sonunda örnekler protokol gereği 'Magnetic AMPure XP beads (Beckman Coulter A63880, ABD)' kullanılarak üreticinin tavsiyeleri doğrultusunda yıkanmaktadır.

PZR'nin ardından QUBIT florometresi kullanılarak örneklerin miktarı tayin edilmekte ve 500 ng'den yüksek DNA örnekleri ile 'ekzom yakalama' aşamasına geçilmesi tavsiye edilmektedir.

3.2.6 DNA hibridizasyonu ve ekzom yakalama

Her bir bireye ait 500 ng ve daha büyük olan örnekler o bireye ait tek bir tüpte birleştirilip 'Human Cot DNA' ve 'xGen Blocking Oligos' eklenerek hibridizasyon işlemi uygulanmıştır. SpeedVac System ile tamamen kurutulan örnekler xGen Hybridization and wash kit protokolüne uygun olarak kristaller çözünmesiye kadar 65°C de termal siklus cihazında bekletilmiştir.

Streptavidin boncukları ile yıkama aşamasından önce protokole uygun olarak tampon hazırlanmıştır. Hazırlanan bu tamponlar 'LoBind' tüpüne alınarak 'Boncuk Resüspansiyon Karışımı' hazırlanmıştır.

Sonrasında 'streptavidin boncukları' ve daha önce hazırlanan tamponlar ile 10 aşamada yıkanmıştır. Böylece tüpün altında kalan supernatan maddeler streptavidin boncukları ile magnetlenmiştir.

Streptavidin boncukları ile yıkama sonrası bead capture yapılmış ve protokole uygun olarak PZR ile tekrar bir ısıtılmış yıkama işleminden geçirilerek DNA saflaştırılmıştır.

Saf DNA elde edildikten sonra amplifikasyon işlemine geçilerek post-capture PZR işlemi uygulanmıştır. Örnekler Amplification Reaction Mix primerleri eklenerek PZR ile 98 °C’de amplifikasyona edilmiştir ve böylece DNA çoğaltılmıştır.

Amplifikasyon sonrası oluşan kötü ve yeterli kalitede olmayan fragmanlar purifiye edilmiştir. Bu amaçla ‘Agencourt AMPure XP boncuklar’ ile örnek temizlenip son haline getirilmiştir.

Dizileme işlemine geçilmeden önce validasyon ve kütüphane kalite parametrelerinin belirlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla florasan bazlı bir yöntem olan Qubit dsDNA HS Assay kit veya PZR temelli qPCR kiti olmak üzere 2 yöntem kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda Qubit Florometre kullanılmıştır. Eğer elde ettiğimiz örneklerin uzunluğu (150~bp) ve miktarı (≥ 1.9 ng/ul) büyük ise dizileme işlemi için uygun kabul edilmiştir.

3.2.7 Akım sitometri ve dizileme hazırlığı

Dizileme işlemi elde edilen fragmanların kümelenmesini ve dizilenmesini içerir. Illumina NovaSeq 6000 cihazı kullanıldığı için küme formasyonu kendi sisteminde yapılmaktadır. Örnekler çift taraftan 2x150 bp olacak şekilde kitin öngördüğü şekilde ‘Illumina NovaSeq 6000 platformları’ (**Şekil 3.3**) kullanılarak dizilenmiştir. İlk okumanın ardından adaptörler okunmakta, ikinci okuma için cihaz tarafından akım hücre ölçere bir solüsyon enjekte edilmekte daha sonra diğer uçtan ikinci okuma başlamaktadır. Bu okumanın amacı; aynı fragmanları diğer uçtan da okuyarak verinin doğruluğunu arttırmaktır. Ham veriler Illumina base calling yazılımı ile işlenmiştir. Bu işlem sonucunda 35,67 GB büyüklüğünde FastQ formatında değişim-varyant verisi elde edilmiştir.



Şekil 3.3 Illumina tarafından geliştirilen ekzom dizileme cihazları.

3.2.8 Değişim analizi, filtreleme ve isimlendirme (Annotation)

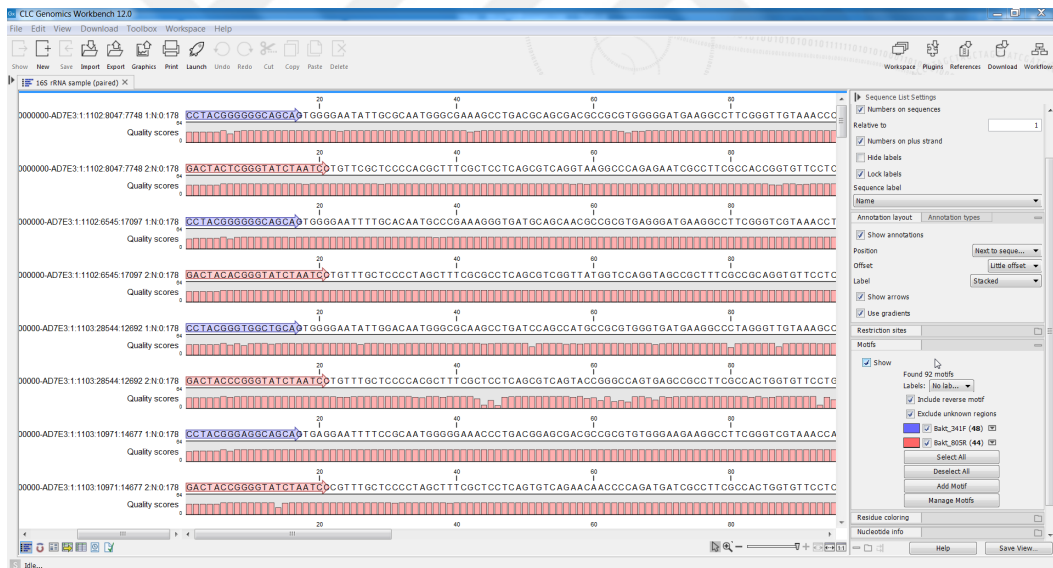
Bu aşamada çalışma grubumuzdaki bireylerin, normalden sapmış olan değişimlerinin analiz edilip belirlenmesi ve isimlendirilmesi planlanmıştır. Bu işlem için dizilenen örneklerden elde edilen veriler; referans genom ve popülasyon veri tabanları adı verilen ve sürekli güncellenen uluslararası veri tabanındaki bilgilerle kıyaslanmıştır.

Referans genom, bir canlı türünün bilim adamları tarafından dizilenmiş ve bir araya getirilmiş temsili DNA dizisidir. Birkaç bireyden dizilenmiş DNA'dan bir araya getirilerek oluşturulduğu için, referans genom her bir bireyin tüm genomunu tam olarak temsil etmemekle birlikte, insan ve fare referans genomları Genom Referans Konsorsiyumu (GRC) tarafından geliştirilip yenilenmektedir. GRC daha az boşluk içeren yeni hizalamalarla ve dizideki hataları düzelterek referans genomunu geliştirmektedir [166]. Çalışmamızda kullanılan yazılım ve uluslararası veri tabanları aşağıdaki listede verilmiştir;

1. CLC Bio Genomics Workbench
(http://resources.qiagenbioinformatics.com/manuals/clcgenomicsworkbench/551/index.php?manual=Download_reference_genome.html)
2. gnomAD (<https://gnomad.broadinstitute.org/>)
3. The Human Gene Mutation Database (HGMD)
(<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>)
4. Clinvar ID (<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/pub/clinvar/xml/>)

5. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) (<https://omim.org/>)
6. dbSNP (Single Nucleotide Polymorphism) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>)
7. NHLBI Exome Sequencing Project Frequency (ESP),
(<https://evs.gs.washington.edu/EVS/>)
8. Exome Aggregation Consortium (ExAC) (<http://exac.broadinstitute.org/>)
9. HapMap Europeans (<http://hapmap.org>)
10. 1001 genomes Project (<http://www.internationalgenome.org/>)
11. NHLBI Trans-Omics for Precision Medicine (TOPMed)
(<https://www.nhlbiwgs.org/>)
12. Alamut Visual Software (<https://www.interactive-biosoftware.com/alamut-visual/>)

Illumina NovaSeq 6000 cihazından FastQ formatında elde edilen verilerdeki normalden sapmış değişimleri belirlemek amacıyla çalışmamızda ‘CLC Bio Genomics Workbench’ (CLC Bio, Denmark) (Şekil 3.4) yazılımı kullanılmıştır.



Şekil 3.4 CLC BioGenomics Workbench yazılımından bir görünüm.

Haritalama işlemine geçmeden önce bu yazılım aracılığıyla şu işlemler yapılabilmektedir;

- FastQ verilerinin kalite puanlarına göre (Phred Score) kalite trimi
- Belirsizlik-Anlamsızlık trimi
- Adaptör trimi (otomatik veya ayrı bir Adaptör Trim Listesi ile)
- Baz trimi (Okumaların 3 'veya 5' ucunda belirli sayıda bazı kaldırmak için)

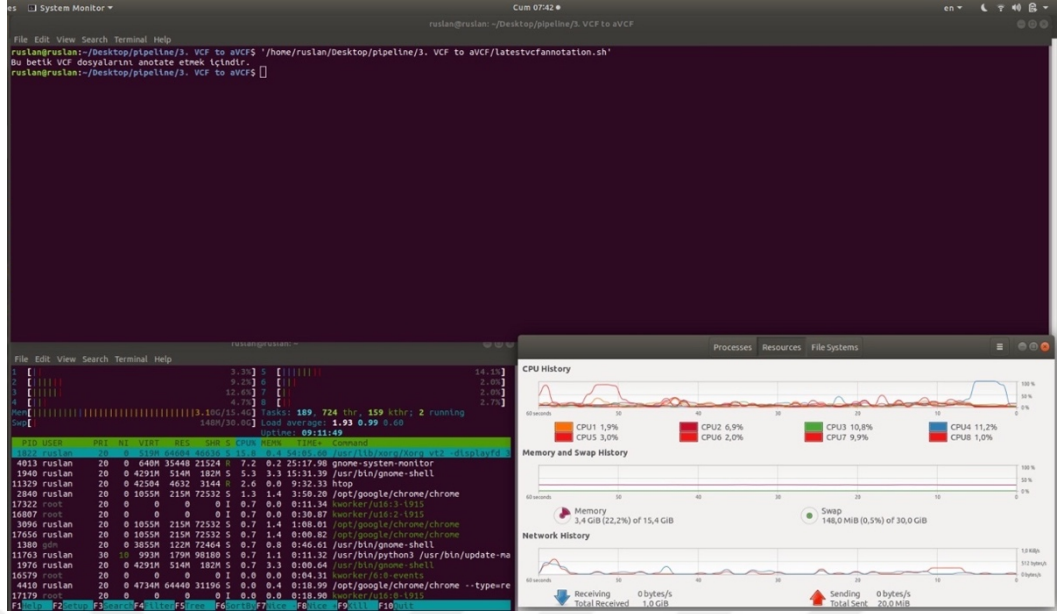
-Uzunluk trimi (Belirtilen bir eşikten daha kısa veya daha uzun olan okumaları kaldırmak için) gibi seçenekler sunmaktadır. Her bir okumada, dizinin kaldırılacak bölgeleri için yapılacak trim türü, trim iletişim kutularında yapılan seçimlere göre bağımsız olarak belirlenmektedir. Her iki uçtan orijinal okumanın en büyük bölgesini kaldıran kırpma işleminde, diğer trimlerle aynı bölgenin bir kısmı kaldırılacağı için, diğer trim işlemleri göz ardı edilmiştir.

Tüm bu kırpma ve düzeltme işlemleri sonucunda elde edilen veriyle tüm yüksek çıktılı dizileme işlemlerinde temel bir basamak olan haritalama-eşleştirme aşamasına geçilmiştir. Bu işlem aynı yazılımın içerisinde bulunan ‘Map Reads to Reference’ fonksiyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Böylece çalışmamızdaki bireylerin genleri referans dizi olan ‘GRC Human Genome Build 37, Human Genome 19’ haploit insan genomuna haritalanmıştır. Haritalama sonrasında lokal bir yeniden hizalama yapılmıştır. Bu yeniden hizalamanın amacı, mevcut bir haritalamadaki okumaların hizalamalarını iyileştirmektir. Bunun sonucunda ‘Binary Alignment Map (BAM)’ formatında veriler elde edilmiştir.

Sonlandırılan BAM dosyaları kullanılarak yine ‘CLC Bio Genomics Workbench’ yazılımı içerisindeki iş akışına uygun olarak değişim çağırma (Low Frequency Variant Detection) gerçekleştirilmiştir. Normalden sapmış gözükten nükleotidlerin, basit bir dizileme hatası sonucu olup olmadığını anlamak amacıyla veya örnekte bilinmeyen bir sıklıkta bulunan bir referansın bir veya daha fazla alel olmasıyla daha iyi açıklanıp açıklanmadığını belirlemek için her bir değişim bölgesinde istatistiksel test yapılmıştır. İkinci seçenek söz konusuysa, anlamlı alele karşılık gelen bir değişim tahmini frekansta çağırılmıştır.

‘CLC Bio Genomics Workbench’ yazılımı içerisindeki iş akışına uygun olarak DNA değişimlerine işlevsel bilgiler atanmıştır. Bu sayede örneklerimizin normalden sapmış değişimleri filtrelenerek isimlendirilmiş ve FastQ’ya göre çok daha düşük boyutlu olan ‘Variant Call Format (VCF)’ dosyaları elde edilmiştir [167]. Elde edilen tüm *de novo*, homozigot, birleşik heterozigot, heterozigot ve hemizigot değişimler görüntülenmiştir.

Daha sonra ‘Linux’ tabanlı pipeline (Şekil 3.5) aracılığı ile ‘VCF’ dosyaları anote edilerek ‘aVCF’ formatına dönüştürülmüş ve tüm değişimler ‘Excel’ dosyası haline getirilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.5 Linux tabanlı pipeline.

A30219	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V
30215	5_172660894_C/D	395	C	G	63	P	ccG/cc	NKX2-5				1.7ub	-	HET	synonymoi.	rs13131915	-	-	-	-	-	-
30216	5_172662024_T/C	292	T	C	21	E	gaA/gG	NKX2-5				1.7ub	-	HET	synonymoi.benign	rs2277923	-	-	-	-	-	NKX2
30217	5_172662024_T/C	292	T	C	21	E	gaA/gG	NKX2-5				1.7ub	-	HET	synonymoi.benign	rs2277923	-	-	-	-	-	NKX2
30218	5_172662024_T/C	292	T	C	21	E	gaA/gG	NKX2-5				1.7ub	-	HET	synonymoi.benign	rs2277923	-	-	-	-	-	NKX2
30219	5_174156168_T/C	474	T	C	129	N/T	tlG/tG	NKX2				2.7ub	-	HOM	misense_v.benign	rs4242182	rs4242182	-	-	-	-	MDX2
30220	5_174868840_T/C	2208	T	C	421	S	tcG/tG	DRD1				2.7ub	-	HOM	synonymoi.	rs1554171	-	-	-	-	-	DRD1
30221	5_174937193_C/T	596	C	T	139	D	gaC/gA	SFXN1				4.Kas	-	HET	synonymoi.	rs2662170	-	-	-	-	-	-
30222	5_174937193_C/T	539	C	T	78	D	gaC/gA	SFXN1				4.Kas	-	HET	synonymoi.	rs2662170	-	-	-	-	-	-
30223	5_174937193_C/T	568	C	T	139	D	gaC/gA	SFXN1				4.Eki	-	HET	synonymoi.	rs2662170	-	-	-	-	-	-
30224	5_174937193_C/T	596	C	T	139	D	gaC/gA	SFXN1				4.Eki	-	HET	synonymoi.	rs2662170	-	-	-	-	-	-
30225	5_174937193_C/T	567	C	T	78	D	gaC/gA	SFXN1				4.Kas	-	HET	synonymoi.	rs2662170	-	-	-	-	-	-
30226	5_174937193_C/T	568	C	T	139	D	gaC/gA	SFXN1				4.Tem	-	HET	synonymoi.	rs2662170	-	-	-	-	-	-
30227	5_174937193_C/T	555	C	T	139	D	gaC/gA	SFXN1				4.Kas	-	HET	synonymoi.	rs2662170	-	-	-	-	-	-
30228	5_174937193_C/T	568	C	T	139	D	gaC/gA	SFXN1				4.Kas	-	HET	synonymoi.	rs2662170	-	-	-	-	-	-
30229	5_174937193_C/T	475	C	T	78	D	gaC/gA	SFXN1				4.Kas	-	HET	synonymoi.	rs2662170	-	-	-	-	-	-
30230	5_175792605_G/C	135	G	C	13	L	ctG/ctC	ARL10				1.Mar	-	HOM	synonymoi.	rs2303667	-	-	-	-	-	-
30231	5_175792605_G/C	104	G	C	13	L	ctG/ctC	ARL10				1.Nis	-	HOM	synonymoi.	rs2303667	-	-	-	-	-	-
30232	5_175792605_G/C	135	G	C	13	L	ctG/ctC	ARL10				1.Nis	-	HOM	synonymoi.	rs2303667	-	-	-	-	-	-
30233	5_175792605_G/C	129	G	C	13	L	ctG/ctC	ARL10				1.Mar	-	HOM	synonymoi.	rs2303667	-	-	-	-	-	-
30234	5_175792605_G/C	103	G	C	13	L	ctG/ctC	ARL10				1.Nis	-	HOM	synonymoi.	rs2303667	-	-	-	-	-	-
30235	5_175811095_G/T	809-810	-	GT	196	R/HX	cpG/cAcgt	NOP16				5.May	-	HOM	frameshift	rs5698985	-	-	-	-	-	-
30236	5_175811095_G/T	973-974	-	GT	195-196	-/X	/AC	NOP16				-	-	HOM	splice_don	rs5698985	-	-	-	-	-	-
30237	5_175811095_G/T	806-807	-	GT	195	R/HX	cpG/cAcgt	NOP16				5.May	-	HOM	frameshift	rs5698985	-	-	-	-	-	-
30238	5_175811095_G/T	970-971	-	GT	194-195	-/X	/AC	NOP16				-	-	HOM	splice_don	rs5698985	-	-	-	-	-	-
30239	5_175811095_G/T	1004-1005	-	GT	181-182	-/X	/AC	NOP16				-	-	HOM	splice_don	rs5698985	-	-	-	-	-	-
30240	5_176002144_A/C	829	A	C	185	I	atA/atC	CDHR2				A7u.32	-	HOM	synonymoi.	rs4242200	-	-	-	-	-	-
30241	5_176002144_A/C	643	A	C	185	I	atA/atC	CDHR2				A7u.32	-	HOM	synonymoi.	rs4242200	-	-	-	-	-	-
30242	5_176004476_T/C	1545	T	C	424	V/A	eTg/eG	CDHR2				13/32	-	HOM	misense_v	rs1113498	rs1113498	-	-	-	-	-
30243	5_176004476_T/C	1359	T	C	424	V/A	eTg/eG	CDHR2				13/32	-	HOM	misense_v	rs1113498	rs1113498	-	-	-	-	-
30244	5_176005477_C/T	1960	C	T	562	D	gaC/gA	CDHR2				16/32	-	HOM	synonymoi.	rs2358747	-	-	-	-	-	-
30245	5_176005477_C/T	1774	C	T	562	D	gaC/gA	CDHR2				16/32	-	HOM	synonymoi.	rs2358747	-	-	-	-	-	-
30246	5_176011889_G/A	2881	G	A	869	A	gcG/gA	CDHR2				19/32	-	HOM	synonymoi.	rs4868660	-	-	-	-	-	-
30247	5_176011889_G/A	2695	G	A	869	A	gcG/gA	CDHR2				19/32	-	HOM	synonymoi.	rs4868660	-	-	-	-	-	-

Şekil 3.6 Excel haline getirilmiş değişim dosyalarından bir görünüm.

3.2.9 Değişim yorumlanması

Anotasyon sonrası elde edilen değişim/genler aşağıdaki kriterlerden en az bir tanesini taşıyorsa önceliklendirilmiştir:

- 1) Daha önce bilinen genlerden olması
- 2) Dental gelişimde rol oynayan bir yolağın içinde yer alması
- 3) Dental transpozisyon ile akraba dental ageneziye bağlı bir yolağın içinde yer alması

- 4) DDY ve Down sendromu gibi dental transpozisyonun görüldüğü sendromlara sebep olan bir yolağın içinde yer alması
- 5) Minor Alel Frekans (MAF) değerinin popülasyon çalışmalarıyla uyumluluk göstermesi

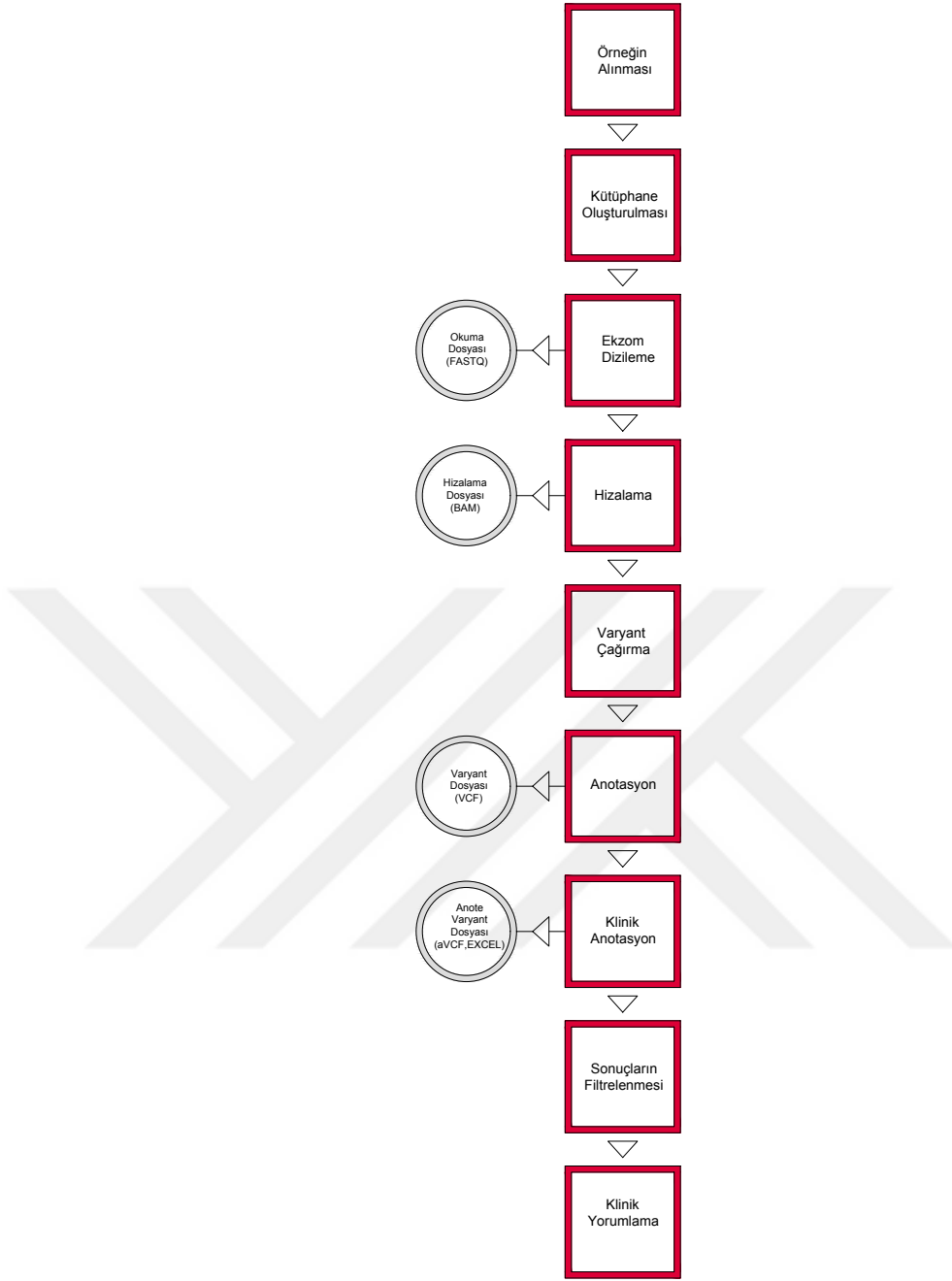
Daha önce dış gelişim yolağında yer aldığı, transpozisyona- ageneziye sebep olabileceği düşünülen, DDY ve Down sendromunda rolü olduğu düşünülen hedef genler literatüre göre belirlenmiştir. Tüm hedef genler **Tablo 3.1**'de verilmiştir. İlk etapta Türk popülasyonundaki prevalans çalışmaları ile uyumlu olacak şekilde MAF değeri $<0,6$ (0,006) olarak belirlenmiş ve bireylerin bu değere uyan tüm değişimleri saptanmıştır. İkinci olarak MAF değeri $<0,6$ olan değişimler içerisinde daha önce belirlediğimiz tüm hedef genler filtrelenmiştir. Üçüncü aşamada ise aileler içinde ve aileler arasında ortak olan genler tespit edilmiş, protein kodlama bölgesinde olmayan değişimler çıkartılmış ve kalıtım modeli ile uyumlu olan değişimler değerlendirilmiştir.

Ayrıca değişimlerin isimlendirilmesi için Human Genome Variation Society (HGVS) nomenclature v15.11 (<https://varnomen.hgvs.org/>) [168] kullanılmıştır. Saptanan değişimler patojenik değerine göre sınıflandırılırken ise ACMG (Amerikan Tıp Genetiği Koleji ve Genomik ve Moleküler Patoloji Derneği) 2015 kriterlerine [169] dayalı Varsome (<https://varsome.com/>), Gene-Tool (<https://gene-tool.com/>), Intervar (<https://wintervar.wglab.org/>), Franklin (<https://franklin.genoox.com/clinical-db/home>), SOPHiA DDM® (Saint-Sulpice, İsviçre) gibi farklı biyoinformatik veri bankası ve yazılımları kullanılmıştır. Değişimler Patojenik (P), Muhtemel Patojenik (LP), Benign (B), Muhtemel Benign (LB), Önemi Bilinmeyen Değişim (VUS) olarak sınıflandırılmıştır.

Tablo 3.1 Diş gelişiminde rol oynadığı düşünülen hedef genler.

Diş Gelişimi				Ağenezi		DDY-Down
ACAN	CREB3L1	GLI1	RNF43	ANTXR1	NFATC3	CDH2
ADAMTS9	CSF1	GLI2	ROR2	APC	PITX2	DCR
AMBN	CTNBN1	GLI3	RUNX2	AXIN1	PTCH1	DVL1
AMELX	DKK1	IGFBP3	SLIT1	AXIN2	PTH	DVL2
APC2	DLX1	IGFBP4	SMAD2	BCOR	SFRP1	DYRK1A
AQP1	DLX2	KLK4	SMAD6	BMP4	SFRP2	EDA2R
AQP10	DLX3	LAMA3	SMAD7	CDH23	SHH	ERBB2
AQP3	DLX4	LEF1	SMOC2	COL17A1	TBX2	FGF
AQP4	DLX5	LHX6	SOX2	COL1A2	TGFA	IRF6
AQP5	DLX6	LHX8	SP3	DKK2	TGFB3	MID1
AQP6	DSP	MMP2	SP6	EDA	TSPEAR	MYC
BAMBI	DSPP	MMP20	TBX1	EDARADD	WNT1	NECTIN1
BARX1	DUSP6	MSX1	TGFB1	EGFR	WNT2	PVR
BARX2	EDAR	MSX2	TNF	FGF13	WNT3	SHH
BCL11B	EGF	NFKB1	TNFRSF11B	FGFR1	WNT3A	SKI
BCL2	EGR1	NFKB2	TUFT1	FRZB	WNT4	TBX22
BMP2	ENAM	NFKB1A	ZNRF3	GREM2	WNT5A	TGF
BMP6	ENPP1	NOTCH1		HYD2	WNT5B	TIMP2
BMP7	FGF1	NOTCH2		IKBKG	WNT6	TP53
BMP7	FGF3	NOTCH3		KDF1	WNT7A	TP63
BSG	FGF4	NOTCH4		KREMEN1	WNT7B	WNT
CACNA1S	FGF5	OSR2		LAMB3	WNT9A	
CAV1	FGF6	PAX9		LRP5	WNT9B	
CCL2	FGF7	PITX1		LRP6	WNT10A	
CCN2	FGF8	POSTN		LTBP3	WNT10B	
CDH3	FGF9	PRICKLE2		MMP1	WNT11	
CDKN1A	FOXE1	PTH1R		MMP13		
COL1A1	GATA1	PTN		MMP9		

Transpozisyonun potansiyel sebebi olarak ön görülen değişimler PubMed, dbSNP, Genecards, gnomAD, UCSC Genome Portal, COSMIC, ClinVar ve OMIM veritabanlarında, hayvan modellerinde ve kodlanmış proteinin doku ekspresyonunda, gen fonksiyonu ve fenotipi bakımından analiz edilmiştir. Ayrıca Alamut Visual yazılımı (Interactive Biosoftware, Rouen, France) kullanılarak değişimlerin özellikleri değerlendirilmiştir. Elde edilen bu genler dental transpozisyonun potansiyel sorumlusu olarak kabul edilerek biyoinformatik analiz süreci tamamlanmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Biyoinformatik analiz süreci.

4. BULGULAR

Çalışma grubumuzda 3 aileden 3 indeks ve 3 etkilenmiş ebeveyn olmak üzere toplam 6 kişi yer almıştır. İndeks bireylerin 3ü’de kadın idi. Ebeveynlerin de 2’si kadın 1 tanesi erkek idi. Toplamda ise 5 kadın 1 erkek birey çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya katılanların her birisinde maksiller kaninlerde dental transpozisyon tespit edilmiştir. 1. ailedeki indeks bireyde 13 ve 14, ebeveynde 22 ve 23, 2. ailedeki indeks bireyde 13 ve 15, ebeveynde 13 ve 14, 3. ailedeki indeks bireyde 23 ve 24, ebeveynde ise 22 ve 23 no’lu dişlerde transpozisyon gözlenmiştir. Bununla birlikte bireylerin 3 tanesinde (1-II, 3-I, 3-II) hipodonti-agenezi (3. molar konjenital eksikliği) tespit edilmiştir. 4 bireyde (1-I, 1-II, 2-I, 3-I) de gömük diş tespit edilmiştir. 2 bireyde (2-I, 3-I) de sürme gecikmesi görülmüştür.

TED analizi ile incelenen 1. Aile bireylerinde ortak olarak *DSPP* geninde 3 değişim, 2. Aile bireylerinde ortak olarak *DSP*, *GLI3*, *NOTCH4* genlerinde birer değişim, 3. Aile bireylerinde ortak olarak *PRICKLE2*, *NOTCH4* genlerinde birer değişim saptanmıştır. Bu değişimler **Tablo 4.1**’de verilmiştir.

Tablo 4.1 Filtreleme kriterlerine uygun olarak tespit edilen aday genler.

DEĞİŞİM	GEN	1-I	1-II	2-I	2-II	3-I	3-II
1. Aile Ortak Değişimler							
4_88535833_- /TAGCAGTGACAG CAGCAG	DSPP(NM_014208.3):c.2019_2020insTAGCAGTGACAGCAGCA G (p.Ser674Ter)	HET	HET				
4_88537087_CA/TG	DSPP(NM_014208.3):c.3273_3274delCAinsTG (p.Asn1092Asp)	HOM	HOM				
4_88537189_C/T	DSPP(NM_014208.3):c.3375C>T (p.Asp1125=)	HOM	HOM				
2. Aile Ortak Değişimler							
6_7585829_A/G	DSP(NM_004415.4):c.8334A>G (p.Lys2778=)			HOM	HET		
7_42005588_C/G	GLI3(NM_000168.6):c.3083G>C (p.Ser1028Thr)			HOM	HET		
6_32191659_-/AGC	NOTCH4(NM_004557.4):c.46_47insGCT (p.Leu15_Leu16insArg)			HET	HET	HET	HET
3. Aile Ortak Değişimler							
3_64184570_T/C	PRICKLE2(NM_198859.4):c.34A>G (p.Thr12Ala)					HET	HET
6_32191659_-/AGC	NOTCH4(NM_004557.4):c.46_47insGCT (p.Leu15_Leu16insArg)			HET	HET	HET	HET

4.1. Aile 1

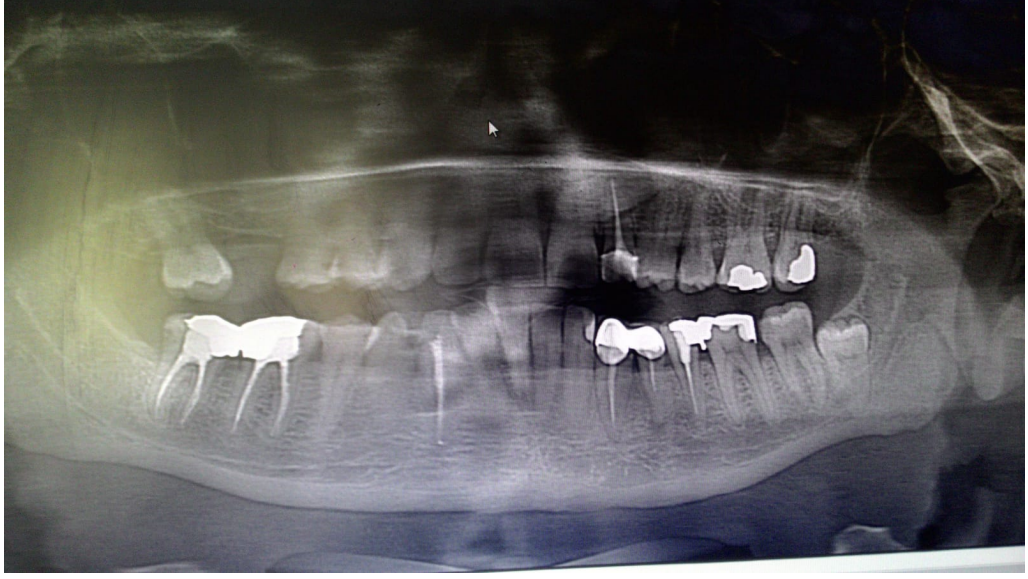
4.1.1 Klinik Bulgular

Dental transpozisyon klinik tanısı ile takip edilen olgu, aralarında akraba evliliği olmayan etkilenmiş anne ile sağlıklı babanın üç çocuğundan ikincisi idi. İndeks birey ve etkilenmiş annenin radyografileri **Şekil 4.1** ve **4.2**'de verilmiştir. İndeks bireyin alt ve üst tüm daimi dişleri mevcuttu. 13 ve 14 transpoze idi. Güncel isimlendirmede $\uparrow 3^F-4^P$ T şeklinde ifade edilmektedir. 47 no'lu diş ise yarı gömülüydü. Etkilenmiş annenin ise 22 ve 23 no'lu dişleri transpoze idi. Ayrıca 13 no'lu diş gömüktü. Güncel isimlendirmede $T\uparrow 2^F-3^I$ şeklinde ifade edilmektedir. 16 no'lu diş çekilmişti ve 18, 28, 48 no'lu dişler konjenital eksiklik göstermekteydi. İndeks bireyin ağız içi fotoğrafları **Şekil 4.3**'te verilmiştir.

İndeks bireyin antenatal, natal ve postnatal öyküsünde prenatal 28. haftada sezaryenle doğumun gerçekleştiği bilgisi mevcuttu. Doğumda sagittal venöz sinüs trombozu teşhisi sebebiyle 28. günde opere edilip 9. ayda şant takılmıştı. Yürüme 2 yaşında gerçekleşmişti. Ayrıca konuşmada gecikme görülmemişti. Şant operasyonu sonrası epileptik nöbet hikayesi mevcuttu, güncel olarak doktor kontrolleri devam etmektedir. Doğum tartısı 3600 gr, boyu ve baş çevresi bilinmiyordu. Fizik muayenede (12 yaşında kız) boyu 141 cm, kilosu 38,5 kg ve baş çevresi 53 cm idi. Ayrıca frontal bossing mevcuttu. Eklemlerde eslastisite mevcuttu. Muayene esnasında göz kontağı kurulması sınırlıydı, mimiklerde donukluk mevcuttu.



Şekil 4.1 I-I panoramik radyografi. 13ve 14 no'lu dişler transpoze. $\uparrow 3^F-4^P$ T.



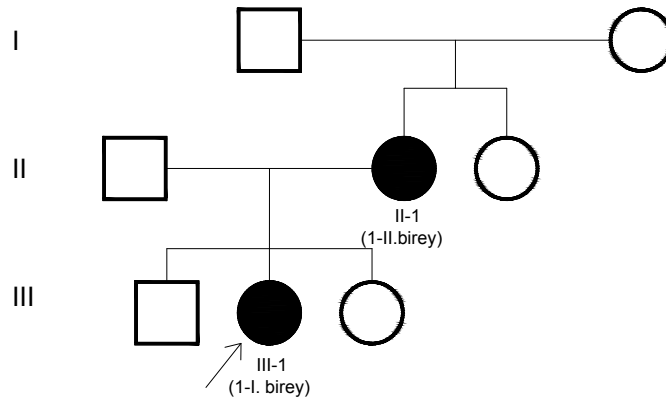
Şekil 4.2 I-II panoramik radyografi. 22 ve 23 no'lu dişler transpoze. $T\uparrow 2^F-3^I$.



Şekil 4.3 Aile I'deki indeks bireyin ağız içi fotoğrafları.

4.1.2 Kalıtım

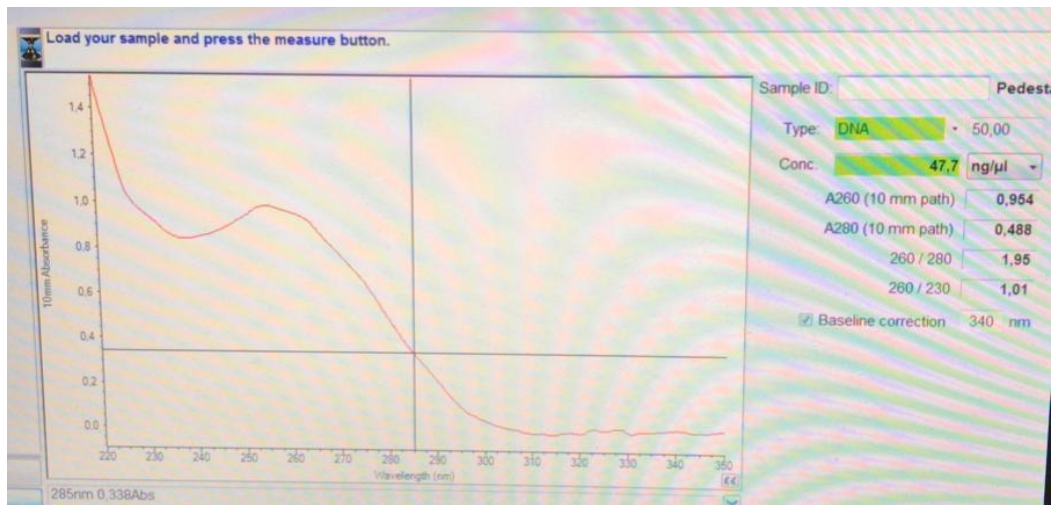
Ailede iki etkilenmiş birey (anne ve kız çocuk) varlığı OD kalıtımını desteklemektedir (Şekil 4.4). Bilindiği kadarı ile anne ve babanın akraba olmaması OR kalıtım olasılığını zayıflatmaktadır.



Şekil 4.4 Aile ağacı- 1. Aile.

4.1.3 TED sonuçları

Bu ailede etkilenmiş olgunun (1-I) ve ebeveyninin (1-II) uygun kalitede elde edilen genomik DNA örneğinde (Şekil 4.5, 4.6) TED analizi yapılmıştır. İlk filtrelemede MAF değeri $<0,6$ (0,006) olan tüm değişimler saptanmıştır. İkinci filtrelemede hedef genler önceliklendirilmiştir (Tablo 3.1). Böylece indeks bireyin (1-I) MAF değeri $<0,6$ 'nın altında olan hedef genlere göre önceliklendirilmiş toplam 27 adet heterozigot, 9 adet homozigot değişimi saptanmıştır. Bu değişimler Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Etkilenmiş ebeveynin (1-II) filtrelemesi de aynı şekilde yapılmıştır. Önceliklendirilmiş ve sıklığı $<0,6$ 'nın altında toplam 19 adet heterozigot, 10 adet homozigot değişim saptanmıştır. Bu değişimler Tablo 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.5 1-I DNA kalite parametreleri.



Şekil 4.6 1-II DNA kalite parametreleri.

Tablo 4.2 1-I önceliklendirilmiş değişimler (Hedef genler, MAF<0,006).

GEN	DEĞİŞİM	GENOTİP	SONUÇ
DSPP	4_88535833_- /TAGCAGTGACAGCAGCAG	HET	İnsersiyon
DSPP	4_88536458_-/AGTAGTGAC	HOM	İnsersiyon
DSPP	4_88537087_CA/TG	HOM	İnsersiyon
DSPP	4_88537170_A/G	HET	İnsersiyon
DSPP	4_88537189_C/T	HOM	Sinonim
DSPP	4_88537298_AGCAGCGAT/-	HET	Delesyon
NOTCH4	6_32191659_AGC/-	HET	Delesyon
NOTCH4	6_32191659_AGC/-	HET	Delesyon
NOTCH4	6_32191659_AGC/-	HET	Delesyon
WNT5B	12_1739325_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
AXINI	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
AXINI	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
AXINI	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
AXINI	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
AXINI	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı

<i>AXINI</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>TBX1</i>	22_19747082_G/C	HET	Sinonim
<i>TBX1</i>	22_19747082_G/C	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933521_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>BCOR</i>	X_39933521_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>BCOR</i>	X_39933521_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>BCOR</i>	X_39933521_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>BCOR</i>	X_39933521_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>BCOR</i>	X_39933521_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>BCOR</i>	X_39933521_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>BCOR</i>	X_39933521_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>BCOR</i>	X_39933521_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>BCOR</i>	X_39933521_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>BCOR</i>	X_39933521_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>BCOR</i>	X_39933521_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>BCOR</i>	X_39933645_G/A	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933645_G/A	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933645_G/A	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933645_G/A	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933645_G/A	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933645_G/A	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933645_G/A	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933645_G/A	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933645_G/A	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933645_G/A	HET	Sinonim

Tablo 4.3 1-II önceliklendirilmiş değişimler (Hedef genler, $MAF < 0,006$).

GEN	DEĞİŞİM	GENOTİP	SONUÇ
<i>DSPP</i>	4_88535833_- /TAGCAGTGACAGCAGCAG	HET	İnsersiyon
<i>DSPP</i>	4_88536458_-/AGTAGTGAC	HOM	İnsersiyon
<i>DSPP</i>	4_88537087_CA/TG	HOM	Yanlış Anlamlı

<i>DSPP</i>	4_88537170_A/G	HET	Yanlış Anlamalı
<i>DSPP</i>	4_88537189_C/T	HOM	Sinonim
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_AGCAGCAGCAGC/-	HET	Delesyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_AGCAGCAGCAGC/-	HET	Delesyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_AGCAGCAGCAGC/-	HET	Delesyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_AGC/-	HET	Delesyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_AGC/-	HET	Delesyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_AGC/-	HET	Delesyon
<i>WNT5B</i>	12_1739325_G/A	HOM	Yanlış Anlamalı
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamalı
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamalı
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamalı
<i>TBX1</i>	22_19747082_G/C	HET	Sinonim
<i>TBX1</i>	22_19747082_G/C	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933123_A/G	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933123_A/G	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933123_A/G	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933123_A/G	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933123_A/G	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933123_A/G	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933123_A/G	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933123_A/G	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933123_A/G	HET	Sinonim
<i>BCOR</i>	X_39933123_A/G	HET	Sinonim

Bu iki bireyin protein kodlama bölgesinde olan ortak değişimleri ise **Tablo 4.1**'de verilmiştir. *DSPP* geninin 4. ekzonundaki ilk değişim heterozigot karakterli olup erken stop kodonu oluşumuna bağlı hatalı protein kodlama etkisine sahip insersiyon değişimidir. İkincisi ise homozigot karakterde yanlış anlamlı bir değişimdir. Üçüncüsü de yine homozigot karakterdedir. Tek nükleotid değişimi (SNV) tipinde sinonim bir değişimdir. Bu üç değişim ailedeki tüm bireylerde ortak olup hiçbirisi daha önce transpozisyonla ilişkilendirilmemiştir. Bunlardan ilk ikisi dbSNP veri bankasında bildirilmemiş olup, üçüncüsü rs779976471 koduyla bildirilmiştir.

4.2 Aile 2

4.2.1 Klinik Bulgular

Dental transpozisyon klinik tanısı ile takip edilen olgu, aralarında 1° derece kuzen evliliği olan etkilenmiş anne ile sağlıklı babanın iki çocuğundan ikincisi idi. İndeks birey ve etkilenmiş annenin radyografileri **Şekil 4.7** ve **4.8**'de verilmiştir. İndeks bireyin alt ve üst tüm daimi dişleri mevcuttu. Bunlara ilaveten 1 adet süt dişi (53) tespit edilmiştir. 13 ve 15 no'lu dişler transpoze idi. Güncel isimlendirmede $\uparrow 3^F-5^P T$ şeklinde ifade edilmektedir. Aynı zamanda maksiller darlık mevcuttur. Sekonder sürme gecikmesi görülmüştür. 17 no'lu diş gömük kabul edilmiştir. Etkilenmiş annenin ise 13 ve 14 no'lu dişleri transpoze idi. $\uparrow 3^F-4^P T$ şeklinde ifade edilmektedir. 16,26,36,37 ve 46 no'lu dişler çekilmişti. İndeks bireye ait ağız içi fotoğraflar **Şekil 4.9**'da verilmiştir.

İndeks bireyin antenatal, natal ve postnatal öyküsünde özellik yoktu. Gebelik, 36. haftasında normal doğum ile sonlanmıştı. Doğum tartısı, boyu ve baş çevresi bilinmiyordu. Fizik muayenede (14 yaşında kız) boyu 164 cm, kilosu 59 kg ve baş çevresi 54 cm idi. Sistemik muayenesinde herhangi bir özellik yoktu.



Şekil 4.7 2-I panoramik radyografi. 13 ve 15 no'lu dişler transpoze. ↑3^F-5^PT.



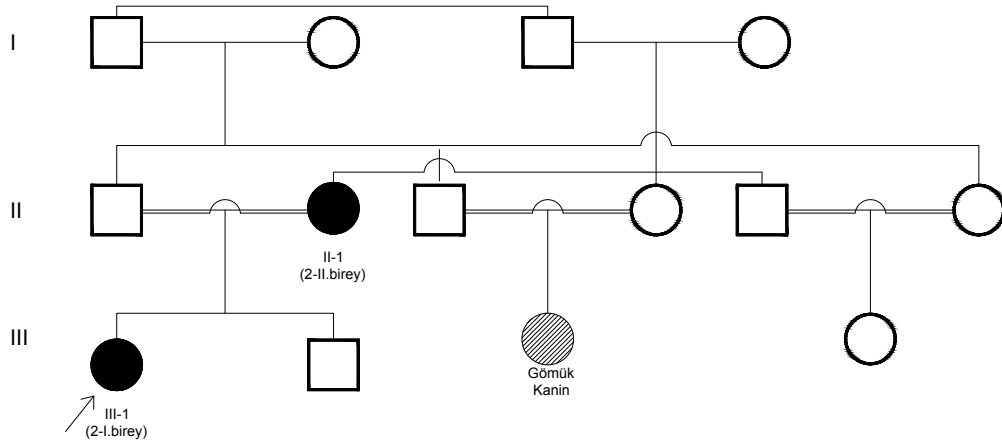
Şekil 4.8 2-II panoramik radyografi. 13 ve 14 no'lu dişler transpoze. ↑3^F-4^PT.



Şekil 4.9 Aile 2'deki indeks bireyin ağız içi fotoğrafları.

4.2.2 Kalıtım

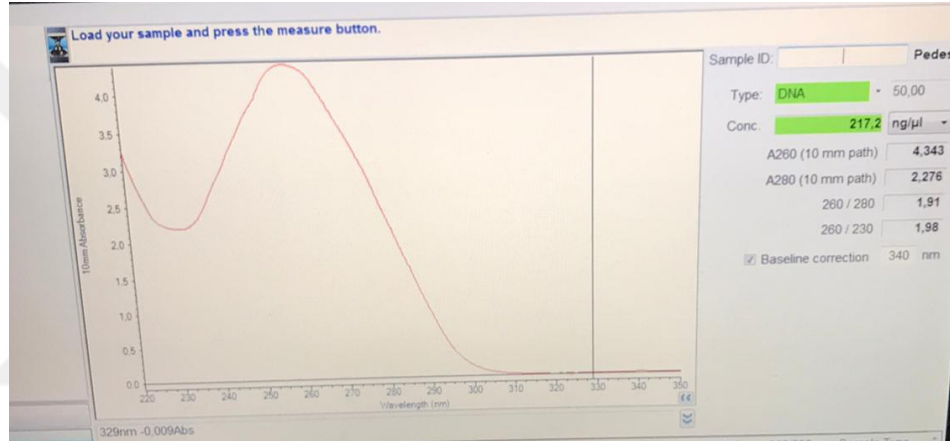
Anne ve babanın akraba olması ve tespit edilebildiği kadarıyla ailede iki etkilenmiş birey (anne ve kız çocuk) bulunması OD kalıtım olasılığını güçlendirmektedir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 Aile ağacı- 2. Aile.

4.2.3 TED sonuçları

Bu ailede etkilenmiş olgunun (2-I) ve ebeveyninin (2-II) uygun kalitede elde edilmiş genomik DNA örneğinde (Şekil 4.11, 4.12) TED analizi yapıldı. İlk filtrelemede MAF değeri $<0,6$ (0,006) olan tüm değişimler saptanmıştır. İkinci filtrelemede hedef genler önceliklendirilmiştir (Tablo 3.1). Böylece indeks bireyin (2-I) MAF değeri $<0,6$ 'nın altında olan hedef genlere göre önceliklendirilmiş toplam 4 adet heterozigot, 22 adet homozigot değişimi saptanmıştır. Bu değişimler Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Etkilenmiş ebeveynin (2-II) filtrelemesi de aynı şekilde yapılmıştır. Önceliklendirilmiş ve sıklığı $<0,6$ 'nın altında toplam 20 adet heterozigot, 12 adet homozigot değişim saptanmıştır. Bu değişimler Tablo 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.11 2-I DNA kalite parametreleri.



Şekil 4.12 2-II DNA kalite parametreleri.

Tablo 4.4 2-1 önceliklendirilmiş değişimler (Hedef genler, MAF<0,006).

GEN	DEĞİŞİM	GENOTİP	SONUÇ
<i>DSPP</i>	4_88536458_- /AGTAGTGAC	HET	İnsersiyon
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HOM	Sinonim
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HOM	Sinonim
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HOM	Sinonim
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HOM	Sinonim
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HOM	Sinonim
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HOM	Sinonim
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HOM	Sinonim
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_- /AGC	HET	İnsersiyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_- /AGC	HET	İnsersiyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_- /AGC	HET	İnsersiyon
<i>GLI3</i>	7_42005588_C/G	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>GLI3</i>	7_42005588_C/G	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>GLI3</i>	7_42005588_C/G	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>GLI3</i>	7_42005588_C/G	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>GLI3</i>	7_42005588_C/G	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>GLI3</i>	7_42005588_C/G	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>WNT5B</i>	12_1739325_G/A	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>BCL2</i>	18_60970036_C/A	HOM	Sinonim
<i>TBX1</i>	22_19747082_G/C	HOM	Sinonim
<i>TBX1</i>	22_19747082_G/C	HOM	Sinonim

Tablo 4.5 2-II önceliklendirilmiş değişimler (Hedef genler, MAF<0,006).

GEN	DEĞİŞİM	GENOTİP	SONUÇ
<i>DSPP</i>	4_88536458_- /AGTAGTGAC	HET	İnserسیون
<i>DSPP</i>	4_88537087_CA/TG	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>DSPP</i>	4_88537133_G/A	HET	Yanlış Anlamlı
<i>DSPP</i>	4_88537189_C/T	HOM	Sinonim
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HET	Sinonim
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HET	Sinonim
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HET	Sinonim
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HET	Sinonim
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HET	Sinonim
<i>DSP</i>	6_7585829_A/G	HET	Sinonim
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_- /AGC	HET	İnserسیون
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_- /AGC	HET	İnserسیون
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_- /AGC	HET	İnserسیون
<i>GLI3</i>	7_42005588_C/G	HET	Yanlış Anlamlı
<i>GLI3</i>	7_42005588_C/G	HET	Yanlış Anlamlı
<i>GLI3</i>	7_42005588_C/G	HET	Yanlış Anlamlı
<i>GLI3</i>	7_42005588_C/G	HET	Yanlış Anlamlı
<i>GLI3</i>	7_42005588_C/G	HET	Yanlış Anlamlı
<i>GLI3</i>	7_42005588_C/G	HET	Yanlış Anlamlı
<i>WNT5B</i>	12_1739325_G/A	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402397_C/T	HET	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402397_C/T	HET	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402397_C/T	HET	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması

<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>BCL2</i>	18_60970036_C/A	HOM	Sinonim
<i>TBX1</i>	22_19747082_G/C	HOM	Sinonim
<i>TBX1</i>	22_19747082_G/C	HOM	Sinonim

Bu bireylerin protein kodlama bölgesinde olan ortak değişimleri ise **Tablo 4.1**'de verilmiştir. Bu ailedeki bireylerde ortak olarak *DSP* geninin 6. Ekzonunda, *GLI3* geninin 7. Ekzonunda, *NOTCH4* geninin 6. Ekzonunda ortak birer değişim görülmüştür. *DSP* genindeki değişim indeks bireyde homozigot, ebeveynde ise heterozigottur. Ayrıca SNV tipinde olup sinonim bir değişimdir. dbSNP veri bankasında rs1290427538 koduyla bildirilmiştir. *GLI3* genindeki değişim de indeks bireyde homozigot, ebeveynde ise heterozigot karakterdedir. SNV tipinde yanlış anlamlı bir değişimdir. dbSNP veri bankasında bildirilmemiştir. *NOTCH4*'teki değişim iki bireyde de heterozigot karakterli olmakla birlikte insersiyon değişimidir. dbSNP veri bankasında bildirilmemiştir. Ayrıca Aile 2'deki *NOTCH4* genindeki değişim Aile 3'teki bireylerde de ortaktır. Bu 3 genin hiçbirisi daha önce dental transpozisyonla ilişkilendirilmemiştir.

4.3 Aile 3

4.3.1 Klinik Bulgular

Dental transpozisyon klinik tanısı ile takip edilen olgu, Isparta'nın farklı köylerinden fakat aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan sağlıklı anne ile etkilenmiş babanın 2 çocuğundan birinci çocuğu idi. İndeks birey ve etkilenmiş babanın radyografileri **Şekil 4.13** ve **4.14**'te verilmiştir. İndeks bireyin 23 ve 24 no'lu dişleri transpoze idi. Güncel isimlendirmede $T\uparrow 3^F-4^P$ şeklinde ifade edilmektedir. 45 no'lu dişin gömük olduğu ve 28 no'lu dişin konjenital olarak eksik olduğu tespit edildi. İlave olarak primer ve sekonder sürme gecikmesi olduğu belirlendi. Etkilenmiş babanın ise 22 ve 23 no'lu dişleri transpoze idi. $T\uparrow 2^F-3^P$ şeklinde ifade edilmektedir. 11, 12, 13, 15, 26 ve 46 no'lu dişler çekilmişti. 28 ve 38 no'lu dişler konjenital eksiklik göstermekteydi. İndeks bireyin ağız içi görüntüleri **Şekil 15**'de verilmiştir.

İndeks bireyin antenatal, natal ve postnatal öyküsünde gebeliğin 36. haftada normal spontan doğum ile sonlandığı fakat doğumun zor geçtiği belirtilmiştir. Doğum tartısı, boyu ve baş çevresi bilinmiyordu. Fizik muayenede (16 yaşında kız) boyu 142 cm, kilosu 37 kg ve baş çevresi 53,5 cm idi. Eklemlerde elastisite ve filtrum kısalığı tespit edildi. Ayrıca üst kesici dişler retrokline ve mandibula iskeletsel olarak gerideydi. Ayrıca hasta miyopluk teşhisiyle gözlük kullanmaktaydı. Birey günlük yaşamında iletişim kurmakta ve konuşmakta isteksizdi. İçer dönük bir karaktere sahip olduğu gözlemlendi. Diğer sistem muayenesinde özellik yoktu.



Şekil 4.13 3-I panoramik radyografi. 23 ve 24 no'lu dişler transpoze. $T\uparrow 3^F-4^P$.



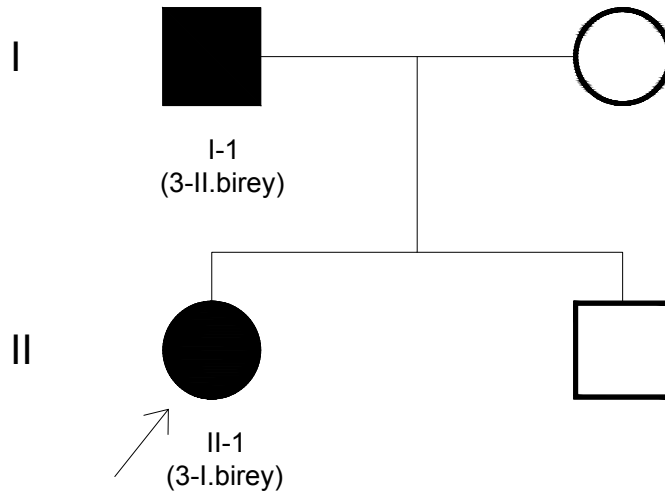
Şekil 4.14 3-II panoramik radyografi. 22 ve 23 no'lu dişler transpoze. $T\uparrow 2^F-3^P$.



Şekil 4.15 Aile 3'teki indeks bireyin ağız içi fotoğrafları.

4.3.2 Kalıtım

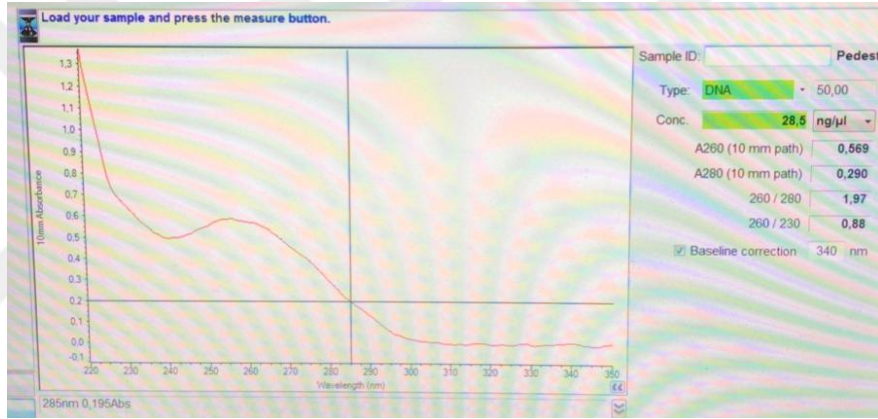
Ailede iki etkilenmiş birey (baba ve kız çocuk) varlığı OD kalıtımını desteklemektedir (Şekil 4.16). Bilindiği kadarı ile annenin ve babanın akraba olmaması da OR kalıtım olasılığını zayıflatmaktadır.



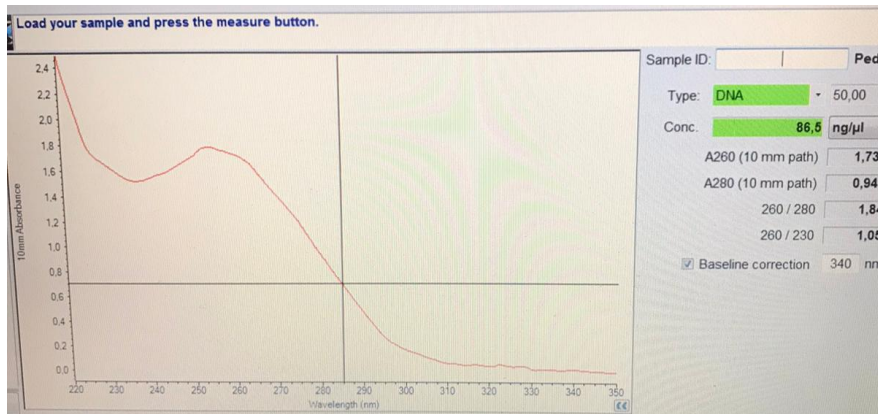
Şekil 4.16 Aile ağacı- 3. Aile.

4.3.3 TED sonuçları

Bu ailede etkilenmiş olgunun (3-I) ve ebeveyninin (3-II) uygun kalitede elde edilmiş genomik DNA örneğinde (Şekil 4.17- 4.18) TED analizi yapıldı. İlk filtrelemede MAF değeri $<0,6$ (0,006) olan tüm değişimler saptanmıştır. İkinci filtrelemede ise hedef genler önceliklendirilmiştir (Tablo 3.1). Böylece indeks bireyin (3-I) MAF değeri $<0,6$ 'nın altında olan hedef genlere göre önceliklendirilmiş toplam 14 adet heterozigot, 7 adet homozigot değişimi saptanmıştır. Bu değişimler Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Etkilenmiş ebeveynin (3-II) filtrelemesi de aynı şekilde yapılmıştır. Önceliklendirilmiş ve sıklığı $<0,6$ 'nın altında toplam 14 adet heterozigot, 7 adet homozigot değişim saptanmıştır. Bu değişimler Tablo 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.17 3-I DNA kalite parametreleri.



Şekil 4.18 3-II DNA kalite parametreleri.

Tablo 4.6 3-I önceliklendirilmiş değişimler (Hedef genler, MAF<0,006).

GEN	DEĞİŞİM	GENOTİP	SONUÇ
<i>PRICKLE2</i>	3_64184570_T/C	HET	Yanlış Anlamlı
<i>PRICKLE2</i>	3_64184570_T/C	HET	Yanlış Anlamlı
<i>PRICKLE2</i>	3_64184570_T/C	HET	Yanlış Anlamlı
<i>PRICKLE2</i>	3_64184570_T/C	HET	Yanlış Anlamlı
<i>DSPP</i>	4_88535833_- /TAGCAGTGACAGCAGCAG	HET	İnsersiyon
<i>DSPP</i>	4_88536458_-/AGTAGTGAC	HET	İnsersiyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_AGCAGCAGCAGC/-	HET	Delesyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_AGCAGCAGCAGC/-	HET	Delesyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_AGCAGCAGCAGC/-	HET	Delesyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_-/AGC	HET	İnsersiyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_-/AGC	HET	İnsersiyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_-/AGC	HET	İnsersiyon
<i>WNT5B</i>	12_1739325_G/A	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>BCL2L14</i>	12_12247922_T/-	HET	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>BCL2</i>	18_60970036_C/A	HET	Sinonim

Tablo 4.7 3-II önceliklendirilmiş değişimler (Hedef genler, MAF<0,006).

GEN	DEĞİŞİM	GENOTİP	SONUÇ
<i>PRICKLE2</i>	3_64184570_T/C	HET	Yanlış Anlamlı
<i>PRICKLE2</i>	3_64184570_T/C	HET	Yanlış Anlamlı
<i>PRICKLE2</i>	3_64184570_T/C	HET	Yanlış Anlamlı
<i>PRICKLE2</i>	3_64184570_T/C	HET	Yanlış Anlamlı
<i>DSPP</i>	4_88536458_-/AGTAGTGAC	HET	İnsersiyon
<i>DSPP</i>	4_88537298_AGCAGCGAT/-	HET	Delesyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_AGC/-	HET	Delesyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_AGC/-	HET	Delesyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_AGC/-	HET	Delesyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_-/AGC	HET	İnsersiyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_-/AGC	HET	İnsersiyon
<i>NOTCH4</i>	6_32191659_-/AGC	HET	İnsersiyon
<i>WNT5B</i>	12_1739325_G/A	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>BCL2L14</i>	12_12247922_TT/-	HET	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402424_T/-	HOM	Çerçeve Kayması
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>AXIN1</i>	16_402427_G/C	HOM	Yanlış Anlamlı
<i>BCL2</i>	18_60970036_C/A	HET	Sinonim

Bu ailedenin protein kodlama bölgesindeki ortak değişimleri ise **Tablo 4.1**'de verilmiştir. Bu ailedeki bireylerde *WNT* sinyal yolağında rol oynayan *PRICKLE2* geninin 3. ekzonunda heterozigot karakterli ve *NOTCH4* geninin 6. ekzonunda heterozigot karakterli değişimler saptanmıştır. *PRICKLE2* genindeki değişim SNV tipinde yanlış anlamlı bir değişimdir. dbSNP veri tabanında bildirilmemiştir. Ayrıca

NOTCH4 genindeki bu değişim 2. ailedeki bireylerde görülen değişimle aynıdır. Yine bu iki gen dental transpozisyonla daha önce ilişkilendirilmemişlerdir.



5. TARTIŞMA

5.1 Genel Bilgiler ve Amaç

Dental gelişim genetik, epigenetik ve çevresel olmak üzere birçok faktörün birlikte çalıştığı bir süreç olmakla birlikte, bu süreci aydınlatılabilmek amacıyla birçok histolojik ve genetik çalışma yapılmıştır. Fakat hala aydınlatılamayan noktalar halihazırda mevcuttur. Hayvan çalışmaları, histoloji ve genetik alanındaki teknolojik ilerlemeler dental gelişim sürecini aydınlatmak adına ümit vaat etmektedir. Sürecin multifaktöriyel olması sebebiyle herhangi bir noktasında meydana gelen bir aksaklık farklı anomalilere sebep olmaktadır. Günümüze dek normal gelişim sürecini inceleyen çalışmalarla birlikte agenezi, süpernumerer diş gibi anomali bazlı çalışmalar da yapılmıştır [55, 170-172]. Biz de bu tez çalışmamızda sendromik olmayan dental transpozisyona sebep olan gen/genleri ve bunlardaki mutasyonları bulmayı hedefledik.

Çalışmamıza katılan bireylerdeki transpozisyonlar **Tablo 5.1**'de verilmiştir. 3 bireyde (1-I, 2-II, 3-I) maksiller kanin ve maksiller 1. premolar transpoze olurken, 2 vakada (1-II, 3-II) maksiller kanin ve maksiller lateral transpoze olmuştur. Bir vakada (2-I) da **Şekil 2.9**'daki sınıflamaya göre sınıf II, tip C grubuna giren, maksiller kaninin maksiller 1. molarla doğru transpoze olarak 2. premoların yerine geçtiği transpozisyon tipi görülmüştür. Daha önceki çalışmalarda en çok transpozisyonun maksiller kanin ve maksiller 1. premolar arasında görüldüğü bildirilmiştir, sonrasında ise maksiller kanin – maksiller lateral transpozisyonu gelmektedir [10, 96, 132, 173, 174]. Ancak maksiller kanin – maksiller lateral transpozisyonunun daha sık görüldüğünü bildiren çalışmalar da mevcuttur [121]. Bu ikisine oranla daha nadir de olsa maksiller kanin – maksiller santral, maksiller kaninin 1. molarla doğru deplase olarak 1. molar ve 2. premolar arasına deplase olduğu vakalar da bildirilmiştir [86, 107, 175, 176]. Çalışmamızda tespit ettiğimiz transpozisyonlar da güncel literatürdeki duruma benzer bir şekilde dağılım göstermiş ve en çok görülen maksiller kanin – maksiller premolar transpozisyonu olmuştur. Hemen arkasından maksiller kanin – maksiller lateral transpozisyonu ve maksiller kaninin 1. molarla doğru deplasmanı gelmiştir. Ayrıca çalışmamızda ailesel görülen bütün olgularda kanin diş transpoze olmuştur. Bu durum kalıtım teorisiyle birlikte, kanin dişin uzun süreli gelişim ve erüpsiyon süreci göz

önüne alındığında migrasyon teorisinin de göz önünde bulundurulması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Tablo 5.1 Tez çalışmamızdaki bireylerde transpozisyona uğrayan dişler.

1-I	$\uparrow 3^F-4^P T$
1-II	$T \uparrow 2^F-3^I$
2-I	$\uparrow 3^F-5^P T$
2-II	$\uparrow 3^F-4^P T$
3-I	$T \uparrow 3^F-4^P$
3-II	$T \uparrow 2^F-3^P$

Literatürde dental transpozisyonun unilateral ve bilateral olarak görülebileceği ile ilgili bilgiler olmakla birlikte genel eğilim tek taraflı olarak daha çok görüldüğü yönündedir. Shapira ve Kuftinec (2001), Ely ve ark. (2006) %88 oranında, Plunkett ve ark. (1998) %60 oranında, Öz ve Kırzioğlu (2020) %89 oranında tek taraflı görüldüğünü bildirmişlerdir [10, 78, 96, 132]. Yine aynı yazarlar sırasıyla %58, %50, %66, %60 oranında unilateral vakaların daha çok sol tarafta görüldüğünü belirtmişlerdir. Literatürde bilateral transpozisyon vakaları da bulunmakla birlikte, bunlar yalnızca lokal ve nadir vaka raporları olarak bildirilmiştir [110, 173]. Bizim çalışmamızdaki transpozisyon vakalarının tamamı tek taraflı olmakla birlikte, 3 tanesi sağ tarafta 3 tanesi de sol tarafta görülmüştür. Bu durum sağ ve sol tarafta eşit olarak görülebileceğini bildiren Ely ve ark.'nın (2006) çalışması ve Yılmaz ve ark.'nın (2005) çalışması ile uyumludur [121, 132]. Ancak değerlendirilen vaka sayısı arttığında sonucun değişkenlik göstermesi öngörülebilir bir durumdur.

Dental transpozisyonun daha çok kadınlarda görüldüğü genel bir kanı olarak literatürde yer almıştır. Shapira ve Kuftinec'e (2001) göre kadınlarda erkeklere oranla transpozisyon %60 oranında daha fazla görülmektedir [10]. Ely ve ark.'nın (2006) çalışmasına göre yine %64 oranında kadınlarda daha fazla görülmektedir [132]. Öz ve Kırzioğlu'nun (2020) Türk çocukları üzerinde yaptıkları araştırmada %55 oranında kızlarda daha fazla görüldüğü bildirilmiştir [78]. Ayrıca kadınlarda daha sık görüldüğü Peck ve ark. (1993,1995,1998), Plunkett ve ark. (1998), Hatzoudi ve Papadopoulos (2006) tarafından da bildirilmiştir [20, 23, 92, 96, 112]. Bizim çalışmamıza katılan 6 olgudan 5'i kadın sadece 1 tanesi erkekti. Çalışmamıza katılan olgu sayısı prevalans belirlemek için yetersiz olsa da bulgumuzun literatürle uyumlu olduğu kabul edildi.

Daha önceki çalışmalarda dental transpozisyonun 3. molarlar dışındaki dişlerde konjenital diş agenezisi, peg-shape lateral, diş sürme gecikmesi, gömük diş, kök ankilozu ve taurodonti gibi anomalilerle birlikte görüldüğü bildirilmiştir [78, 87, 88]. Çalışmamızdaki bireylerin 4'ünde toplam 4 dişin (3. molarlar hariç) gömük olduğu tespit edilmiştir. 1. ailedeki indeks bireyde 47 no'lu diş, ebeveynde 13 no'lu diş, 2. ailedeki indeks bireyde 17 no'lu diş, 3. ailedeki indeks bireyde de 45 no'lu diş gömüklük göstermekteydi. Daha önceki çalışmalarda da dental transpozisyonla birlikte üst santral, üst kanin, üst 2. Premolar gibi dişlerde diş gömüklüğü görüldüğü bildirilmiştir [10, 121]. Bu bilgiler ışığında bireylerimizde görülen dental gömüklükler ve dental transpozisyon arasında yakın bir ilişki olduğu ve ortak bir mekanizma ile oluşma ihtimalinin olduğu düşünülmüştür.

2 bireyde ise sürme gecikmesi mevcuttur. Ayrıca 1 bireyde persiste süt dişleri görülmüştür. Bu bulgular literatürle benzerlik gösterse de peg-shape laterale ve üçüncü molarlar dışında konjenital diş eksikliğine rastlanmaması dikkate değer bir bulgu olmuştur. Çünkü agenezi ve özellikle kanin dişin dahil olduğu transpozisyon, ektopi ve gömüklük durumlarının sıklıkla beraber görüldüğü bildirilmiştir [112, 177]. Ancak çalışmamızdaki tüm transpozisyon vakalarında kanin diş etkilenmiş olmakla birlikte 3. molarlar dışında herhangi bir ageneziye rastlanmamıştır. Literatürde de mandibular lateral ve kanin transpozisyonunun 3. molar eksikliği ile birlikte görülebileceği Peck ve ark. (1993) tarafından bildirilmiştir. Çalışmamızdaki 6 bireyin 3'ünde konjenital 3. molar agenezisi gözlenmiştir. Bu durumun dental transpozisyonla ortak bir mekanizma aracılığı ile ortaya çıkma ihtimali olmakla birlikte, 3. molar eksikliği popülasyonda yüksek oranda gözlenmektedir. Bu sebeple çalışmamızda kesin bir ilişki ortaya konulamamıştır. Çalışmamızdaki bireylerde transpozisyonla birlikte görülen tüm bu gömüklük, agenezi, sürme gecikmesi gibi anomalilerin literatürle uyumlu olduğu tespit edilmiştir [78, 87, 88, 121]. Ancak literatürde peg shape lateral ve agenezi ile (özellikle lateral agenezisi ile) daha yakın ilişkili olarak bildirilmesine rağmen bizim bireylerimizde böyle bir bulgu gözlenmemesi, hatta ageneziden çok gömük diş gözlenmesi dikkat çekici bir bulgu olarak kabul edilmiştir [10, 20]. Ancak daha aydınlatıcı sonuçlar için daha kalabalık bir popülasyonda çalışma yapılması gerekmektedir.

5.2 Bireyler ve Yöntem

Dental gelişimi anlamak amacıyla son yıllarda kullanılmaya başlanan yöntemlerden birisi de TED yöntemidir. Daha önce ailesel ve bireysel diş agenezisi [178, 179], süpernumerer diş [180, 181], amelogenezis imperfekta ve dentin bozuklukları [182, 183] gibi problemlerin genetik temelini anlamak amacıyla TED yöntemi kullanılmıştır. Ayrıca *SMOC2*, *KLK4*, *MMP20* gibi tek genlerdeki değişimlerin dental gelişimdeki rolünü anlamak amacıyla da bu yöntem daha önce kullanılmıştır [184, 185]. Bu çalışmalarda sırasıyla 12, 12, 16, 3, 3, 1, 12, 4 bireye TED analizi uygulanmış ve bu bireyler genellikle akrabalık ilişkisi gösteren olgular üzerinden seçilmiştir.

Dental transpozisyon alanında tespit edebildiğimiz kadarıyla TED yöntemi Türkiye ve Dünya’da daha önce kullanılmamış olup bu yöntemin dental transpozisyon vakalarında kullanılması yönüyle tez çalışmamız bir ilk niteliğini taşımaktadır. Ayrıca çalışmamızın pilot çalışma niteliğini taşıdığı ve TED yönteminin rutin kullanım için hala pahalı bir yöntem olduğu düşünülürse bütçemizi de göz önünde bulundurarak 3 aileden 2’şer bireyi, toplamda 6 bireyi çalışmamıza dahil ettik.

5.3 Bulgular

5.3.1 Aile 1

5.3.1.1 *DSPP* (Dentin Sialophosphoprotein)

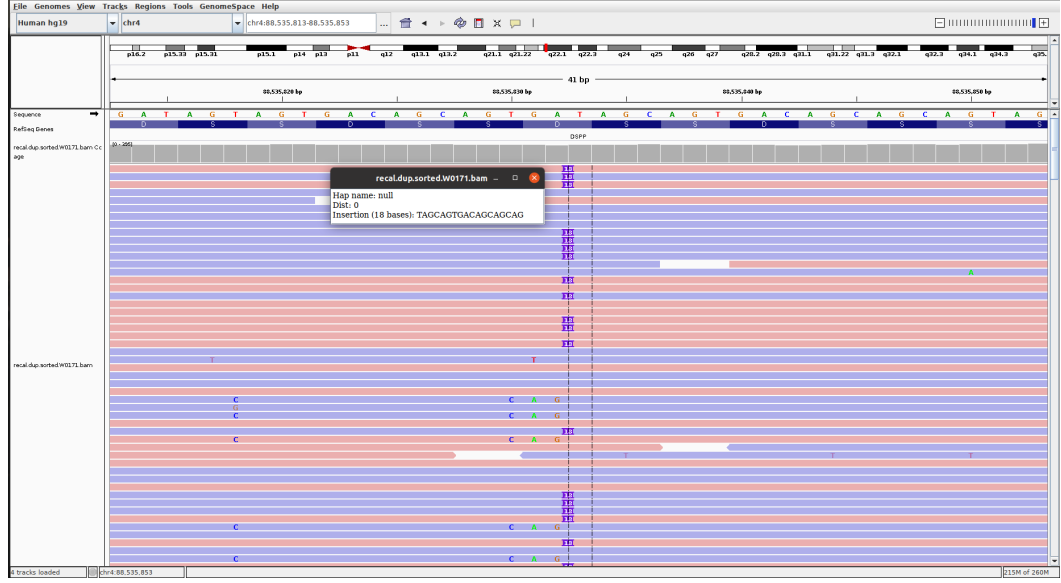
DSPP geninin sitogenetik lokasyonu 4q22.1 olup genomik koordinatları (GRCh38): 4:87,608,528-87,616,872 şeklindedir. Kemik mineralizasyonunda rol oynayan *SIBLING* gen ailesinin bir üyesidir. Tam uzunlukta olan *DSPP*’nin temel olarak *DSP* ve *DPP* olmak üzere 2 alt birime bölündüğü, ayrıca *DGP* diye bir alt birimi bulunduğu da bildirilmektedir [66, 72, 186, 187]. MacDougall ve ark. (1997) tarafından klonlanan bu gen diş gelişiminde rol oynamakla birlikte insan böbreği ve ter bezlerinde de bulunmaktadır [187-189].

DSPP geni dental gelişim sürecinde dişe özel bir protein olan ve böylece dentin mineralizasyonunu sağlayan dentin sialofosfoprotein (Dspp) salınımından sorumludur. Bu gende meydana gelen değişimler dişte yapısal problemlere sebep olmaktadır [190]. Benzer bir etkiye *WNT10A* geninin de sahip olabileceği, *WNT10A* geninin odontoblast farklılaşmasını indükleyerek sekretuar odontoblastlardan Dspp

proteinin salgılanmasından sorumlu olabileceği fareler üzerinde gösterilmiştir [191]. *WNT10A* geninin agenezi mekanizmasıyla da kuvvetli bir şekilde ilişkili olması *DSPP* geninin de agenezi ile ilişkili olabileceği tarafımızca düşünülmektedir [192].

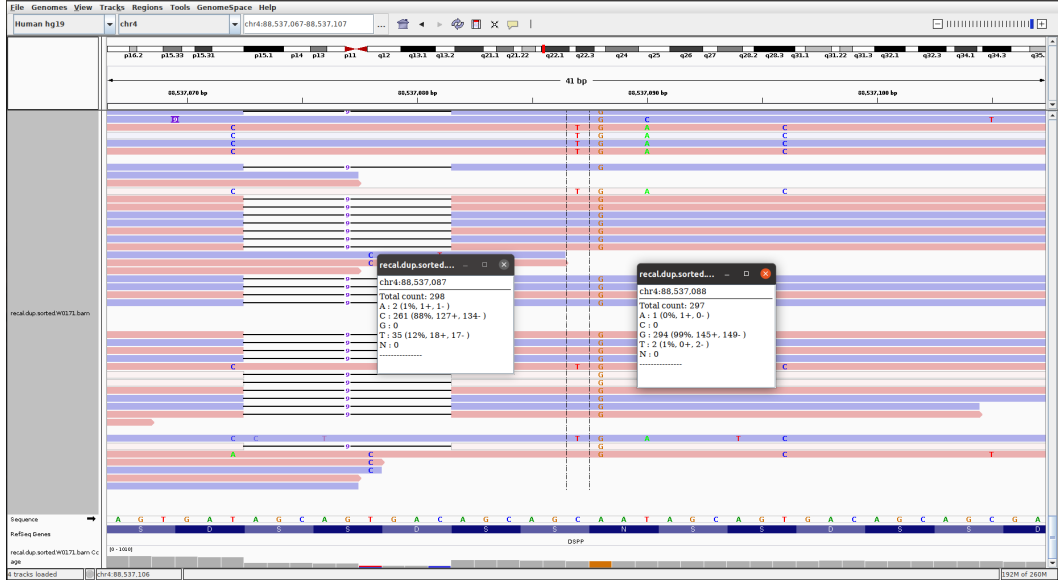
OMIM veri bankasında bildirildiğine göre *DSPP* mutasyonlarında dentinogenesis imperfekta tip 1 ve tip 2, dentin displazisi tip 2 gözlenmektedir [193-195]. Dentinogenesis imperfekta ve dentin displazisi OD geçişli kalıtsal dentin bozuklukları olup hem süt hem de daimi dişlerde görülebilmektedir. Dentinogenesis imperfekta tip 1; osteogenesis imperfekta ile birlikte görülmekte, dişlerde mavi, sarı, mor renkleşmeler oluşmakta, mine başlangıçta normal olsa da kolaylıkla dentinden ayrılmakta, mavi sklera görülmekte ve dayanıksız iskelet sistemi görülmektedir. Tip 2 dentinogenesis imperfekta ise dişlerde amber, sarı vb. renkleşmeler, dentin yapısının oldukça zayıf gelişmesi gibi tip 1 ile aynı klinik bulgularla fakat osteogenesis imperfekta olmaksızın gözlenmektedir. Dentin displazisi de dentinogenesis imperfektaya benzer bulgular göstermektedir. Pulpa odası ve kökler çoğunlukla dentinle doludur, ayrıca periapikal bölgelerde kistik, radyolusens alanlar gözlenmektedir. 2 tipi mevcuttur. Tip 1’de kökler tip 2’de kron etkilenmektedir. Ebeveynler, dental transpozisyonla farklı olarak dişlerin sürmesiyle birlikte bu anomalileri kolaylıkla fark etmekte ve tedavileri için diş hekimlerine erken dönemde başvurumaktadırlar [196, 197]. Bu anomaliler doku anomalisidir ve durum anomalisi olan dental transpozisyonla birlikte görüldüğü, literatürdeki prevalans çalışmaları-vaka raporlarında daha önce bildirilmemiştir. Çalışmamızdaki dental transpozisyon gösteren bireylerde de herhangi bir doku anomalisine rastlanmamıştır.

Bu tez çalışmamızda ikinci filtreleme sonucunda 1. ailede 3 adet *DSPP* gen değişimi saptanmıştır. Bunlardan 2 tanesi daha önce bildirilmemiş olup 1 tanesi dbSNP veri tabanında bildirilmiştir.



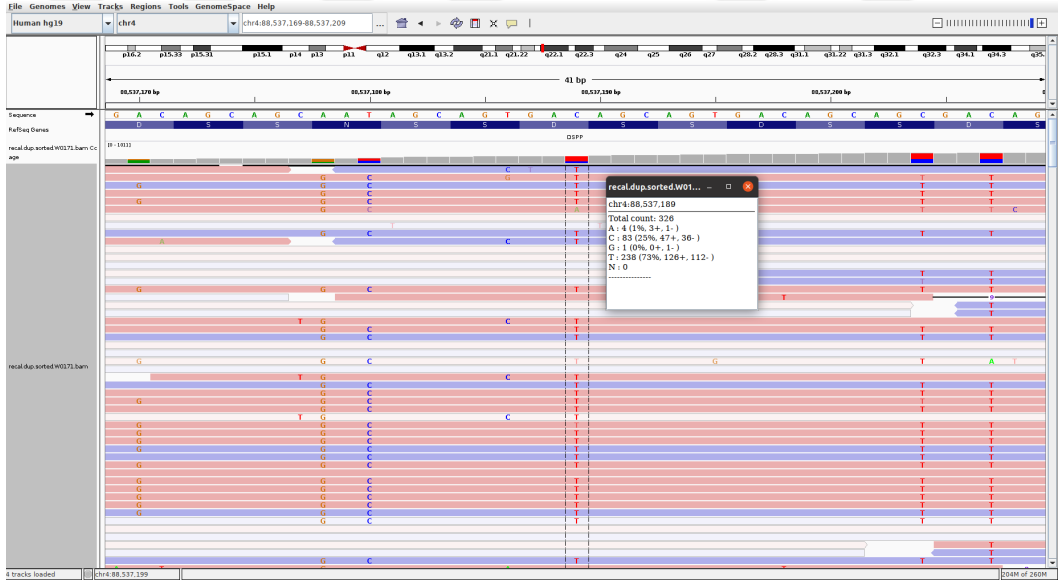
Şekil 5.1 DSPP (NM_014208.3): c.2019_2020insTAGCAGTGACAGCAGCAG (p.Ser674Ter) değişiminin IGV (Integrative Genomic Viewer) görüntüsü.

Bunlardan ilki heterozigot karakterli ve erken stop kodonu oluşumuna bağlı hatalı protein kodlama etkisine sahip 18 bazlık insersiyon tipinde bir değişim olan *DSPP* (NM_014208.3):c.2019_2020insTAGCAGTGACAGCAGCAG(p.Ser674Ter) değişimidir (Şekil 5.1). Ancak bu kadar büyük okumalarda laboratuvar hatası olup olmadığının, erken stop kodonu oluşup oluşmadığının, bu kadar nükleotid değişimi olup olmadığının kesin olarak belirlenebilmesi için Sanger analizi ile doğrulama gerekmektedir. Bu değişim dbSNP veri tabanında daha önce bildirilmemiştir. ACMG sınıflamasına göre muhtemel patojenik olarak tanımlanmıştır. Varsome veri tabanında ise frekans bilgisi bulunmamaktadır.



Şekil 5.2 DSPP (NM_014208.3): c.3273_3274delCAinsTG (p.Asn1092Asp) değişiminin IGV görüntüsü.

İkinci olarak tespit edilen DSPP(NM_014208.3):c.3273_3274delCAinsTG (p.Asn1092Asp) değişimi homozigot karakterde olup daha önce dbSNP veri tabanında tanımlanmamıştır (Şekil 5.2). Yanlış anlamlı bir değişimi olup ACMG’de muhtemel benign kategorisindedir. Varsome veri tabanında frekans bilgisi bulunmamaktadır.



Şekil 5.3 DSPP (NM_014208.3): c.3356A>G (p.Asp1119Gly) değişiminin IGV görüntüsü.

Üçüncü olarak DSPP(NM_014208.3):c.3356A>G (p.Asp1119Gly) değişimi tespit edilmiş olup homozigot karakterdedir (Şekil 5.3). dbSNP veri bankasında rs779976471 koduyla bildirilmiştir. SNV ve sinonim bir değişim olup muhtemel

benign kategorisindedir. GnomAD-exome ve GnomAD veri bankasında 0.00070 ve 0.0024 frekanslarıyla bildirilmiştir. Türk popülasyonu prevalans çalışmaları ile uyumlu bir değerdir.

Bu gendeki ikinci ve üçüncü değişimin anne ve çocukta homozigot karakterde olması, *DSPP* geninin dental transpozisyon yolağında anlamsız olabileceğini düşündürmüştür. Çünkü daha önce bu gende homozigot karakterde OD geçişli dentin hastalıkları bildirilmiştir. Bireylerimizde ise böyle bulgular bulunmamaktadır. Fakat birinci değişimin heterozigot karakterde olması, *DSPP* geninin dental gelişimde rol oynadığının bilinmesi, bu gendeki değişimlerin doku anomalilerine ve ageneziye sebep olabileceği, çalışmamızdaki aynı aileden 2 bireyde görülmesi gibi faktörler *DSPP* geninin ailesel dental transpozisyon mekanizmasında görev alma ihtimalinin olduğunu düşündürmektedir. Bu sebeple dental transpozisyon taşımayan aile bireylerinin de dahil olduğu bir çalışma grubunda Sanger ve segregasyon analizi ile doğrulama çalışmaları yapılması planlanmıştır. Ancak bu analizler sonucunda transpozisyon taşımayan sağlıklı babada da *DSPP* geninde heterozigot karakterde değişimler görülmesi, bu genin dental transpozisyon yolağında rol oynamadığının bir göstergesi olacaktır.

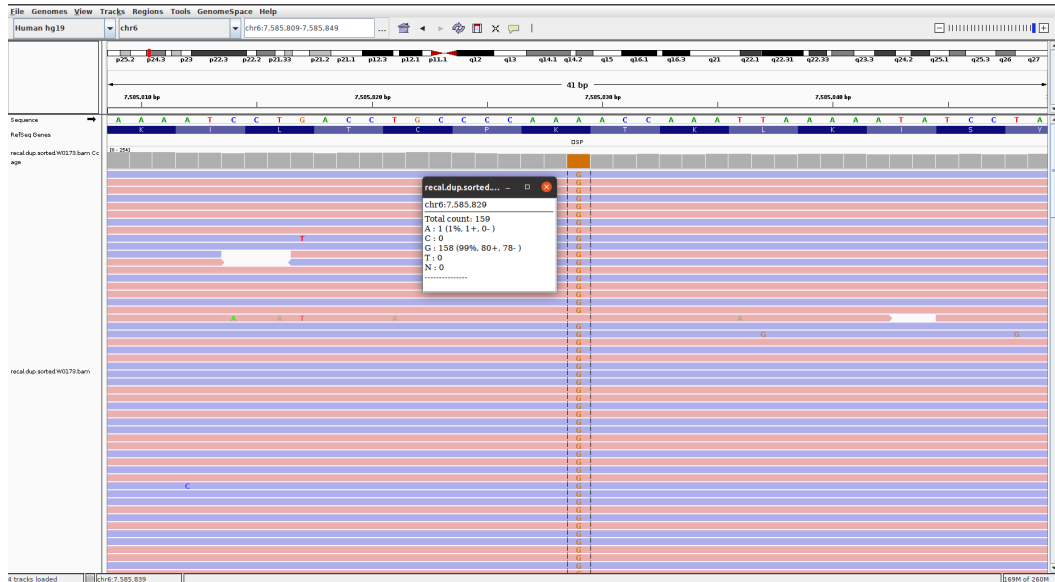
5.3.2 Aile 2

5.3.2.1 *DSP* (Desmoplakin)

DSP geninin yaklaşık 45 kb genomik DNA'yı kapsadığı, 51 bp ile 3922 bp arasında değişen 24 eksondan oluştuğu ve *DSP* geni tarafından salgılanan desmoplakinin, desmozom (omurgalı epitel hücreleri arasında görülen en yaygın bağlantı türü) oluşumunda rol oynayan temel bir protein olduğu bilinmektedir [198, 199]. Striate palmoplantar keratoderma, yünlü- kıvrıkcık saç ve keratoderma ile birlikte görülen dilate kardiyomiyopati, akantolitik epidermolizis bülloza gibi rahatsızlıklara sebep olduğu bildirilmiştir [200-202]. Bunlara ilaveten *DSP* geni değişimlerinin yünlü- kıvrıkcık saç, keratoderma ve diş agenezi ile birlikte görülen dilate kardiyomiyopati, lökonişi ve diş agenezi (hipodonti-oligodonti) ile karakterize Carvajal/Naxos sendromuna sebep olabileceği (OD geçişli Carvajal sendromunda hipodonti karakteristik olarak eşlik ederken, OR geçişli tipte eşlik etmemektedir) bildirilmiştir [199, 203, 204]. Bireylerimizin bu açıdan genetik değerlendirmesi

yapılmış olup, bu sendromları taşımadıkları belirlenmiştir. Homozigot karakter gösteren indeks bireyde ve heterozigot karakter gösteren annede de herhangi bir hipodonti ve sistemik bulgu saptanmamıştır. Ayrıca literatürde *DSP* geni ve desmozom oluşumunda görev alan diğer genlerin normal-anormal diş ve tırnak gelişiminde rol oynadığı düşünülmüş fakat tam olarak aydınlatılamamıştır [199, 203, 205]. Zeng ve ark.'nın 2019 yılında yayınladığı çalışmalarında sendromik diş agenezine sebep olan *DSP* geninin, sendromik olmayan diş agenezine de sebep olabileceği düşünülmüş ancak bu genin aile bireylerinin fenotipiyle segregasyon olmaması sebebiyle dışlanmıştır [206].

Bu tez çalışmamızdaki 2. ailedeki bireylerde ortak olarak *DSP*(NM_004415.4):c.8334A>G(p.Lys2778=) değişimi saptanmıştır (Şekil 5.4). Bu değişim genin 6. Ekzonunda ortaya çıkmış, indeks bireyde homozigot, ebeveynde ise heterozigot olarak gözlenmiştir. Ayrıca SNV tipinde sinonim bir değişimdir. ACMG sınıflaması muhtemel benign olarak belirlenmiştir. dbSNP veri bankasında rs1290427538 koduyla bildirilmiştir. Ancak ClinVar veri tabanında ve literatürde herhangi hastalıkla ilişkilendirilmemiştir. MAF değeri ALFA Project'de 0.0000 (0/2188), TOPMED veri tabanında 0.000008 olarak bildirilmiştir. Bu değerler oldukça düşük olup, çalışmamızda aradığımız frekansla uyumluluk göstermektedir.



Şekil 5.4 *DSP* (NM_004415.4):c.8334A>G(p.Lys2778=) değişiminin IGV görüntüsü.

Aile 2'deki bireylerde dental transpozisyon, sürme gecikmesi, persiste süt dişi, gömük diş dışında herhangi bir diş agenezi veya diğer sistemik problemlere

rastlanmamıştır. Dental transpozisyonla dental agenezinin akraba anomali olduğu göz önüne alındığında bu ailedeki bireylerde diş agenezi görülmemesi, ayrıca daha önce homozigot karakterdeki *DSP* gen mutasyonlarında otozomal dominant Carvajal sendromu gibi sendromlar bildirildiği ve bireylerimizde böyle bulgular olmadığı için bu genin aday gen olma ihtimali düşük görülmüştür. Ayrıca 2-I'de homozigot, 2-II'de heterozigot geçişli olması da bu durumu anlamlandırmakta yetersiz kalmaktadır. Ancak literatürde *DSP* geninin dental transpozisyon ile akraba anomali olarak bilinen dental ageneziye yol açması ve dental gelişimde görev alması bildirildiği için hafif bir klinik bulgu olan ailesel dental transpozisyon yolağında rol oynayabileceği düşünülebilir. Ancak bu teorinin geçerliliğini doğrulamak amacıyla Zeng ve ark.'nın (2019) çalışmasında olduğu gibi ailedeki sağlıklı bireylere segregasyon analizi yapılması gerekmektedir [206]. Bu gendeki değişimin transpozisyon görülmeyen babada da ortaya çıkması; durumu anlamsız kılacaktır.

5.3.2.2 *GLI3* (GLI-Kruppel Family Member 3)

GLI3 geni, *GLI-Kruppel* gen ailesinden potansiyel bir sekansa özgü DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörünü kodlayan *GLI* çinko parmak genine çapraz hibridizasyon yöntemiyle edilmiştir [207, 208]. *GLI3*, birçok dokudaki birincil silialara bağlı olan, sonic hedgehog sinyal iletim yolağında (*SHH*) işlev gören bir çinko parmak transkripsiyon faktörünü kodlamaktadır [209]. *GLI3* içlerinden bir tanesi geniş olmak üzere (kodlama bölgesi 2500 bp'nin üzerinde) 14 ekzondan oluşan, kromozom 7p13 üzerinde yer alan bir gendir [208, 210]. Ancak Wild ve ark. (1997) 240 kb'lik 15 ekzondan oluştuğunu bildirmişlerdir [211].

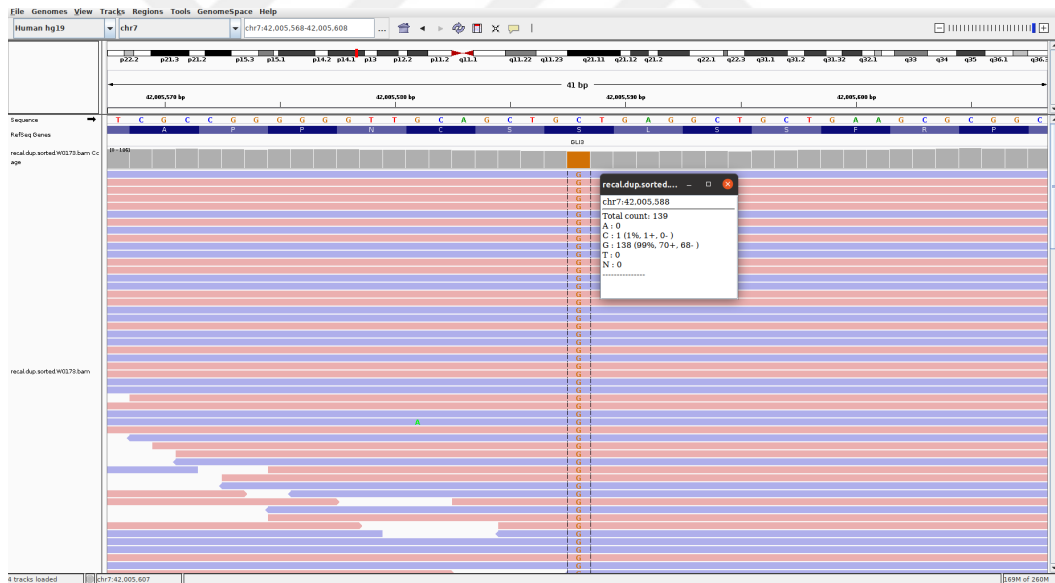
GLI3, *SHH* sinyal yolağında *SHH*, *PTCH*, *SMO*, *GLI1*, *GLI2* gibi genlerle birlikte görev almaktadır [212, 213]. Bu yolak farklı gelişim ve hastalık mekanizmalarından sorumlu olmakla birlikte, dental gelişimde de rol oynamaktadır. *SHH*; diş gelişimi esnasındaki invajinasyon öncesinde oral epitelde bulunan, gelişim boyunca da dental epitelde bulunan bir sinyal peptidini kodlamaktadır. Fare üzerinde yapılan bir çalışmada, invajinasyon sonrasında *Shh* geninde fonksiyon kaybı oluşturulmuş ve diş morfolojisinde ciddi bir şekilde bozukluk meydana gelmiştir. Kron morfolojisini belirleyen mine düğümü hasar almış, ameloblast ve odontoblast arasındaki organizasyon bozulmuştur. Ancak *Shh* geninin ameloblast ve odontoblast farklılaşması için gerekli olmadığı bildirilmiştir [214]. Başka bir fare çalışmasında *Shh*

sinyal inhibisyonu sonucunda diş yüzey topografisi ve tüberkül tepelerinde hafif ile orta derecede düzensizlik meydana gelmiştir. Shh inhibisyonuna ilave olarak aktivin A ve Eda aktivasyonu artırıldığında tüberkül sayısı iki katına çıkmıştır [215]. *GLI3* geninin *SHH* yolağında önemli bir rol oynadığı daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada Shh ile birlikte görev alan Gli2 ve Gli3 akciğer, trake ve yemek borusu oluşumunda gereklilik göstermiştir [216]. Yine başka bir fare çalışmasında Shh geninin iskelet sistemi ve alveolar kemik üzerindeki etkilerini Gli3 aracılığıyla gösterdiği bildirilmiştir [217]. Ayrıca omurgalılarda tam olarak çözülememekle birlikte Gli3'ün dental gelişim esnasında Shh'nin negatif bir düzenleyicisi olduğu, Shh yokluğunda da Gli2 ve Gli3'ün sinyal yolağını baskıladığı düşünülmüştür [214, 218, 219]. Yine Dassule ve ark'nın fareler üzerinde yaptığı çalışmada diş gelişimi esnasında Shh çıkarılan dişlerin, Gli2 ve Gli3 çıkarılan dişlerden daha iyi bir gelişim gösterdiği bulunmuştur. Fenotipteki bu farklılığın sebebi olarak iki etken öngörülmüştür. Bunlardan ilki Gli2 ve Gli3'ün diş gelişimi başlamadan önce fonksiyon görmesi ve Shh'nin de tomurcuk oluşumundan hemen sonra fonksiyon görmesi sebebiyle gelişimde fark oluşmuş olabileceği, ikinci olarak da Gli2 ve Gli3'ün bilinmeyen başka bir etkisinin olabileceğidir. Ayrıca Gli2 ve Gli3 yokluğunda Gli aracılı hedeflerin bastırılmasının yanı sıra Shh sinyaline yanıt verme yeteneğini de ortadan kaldıracıdır. Bunun farklı fenotipleri açıklayıp açıklamadığının araştırılmasını tavsiye etmişlerdir [214].

SHH yolağındaki görevinin haricinde *GLI3* genindeki değişimler daha önce DDY, mikroglossi, alveolar kemik hipoplazisi, mikrognati, dişeti kistleri, natal dişler, çok sayıda yanak-dudak frenulumları ile karakterize Pallister-Hall sendromu ve garip yüz yapısı, hipertelorizm, makrosefali, polidaktili, sindaktili, kafatası süturlarında geç kapanma gibi özelliklerle karakterize GCPS (Greig Sefalosindaktili Sendromu) gibi kraniyofasiyal gelişimde bozuklukla karakterize sendromlarla ilişkilendirilmiştir [220, 221]. Ayrıca diş gelişiminde önemli bir rol oynarak diş morfolojisinin belirlenmesinde rol aldığı, bu genin işlev görememesi sonucunda sendromik olmayan agenezi ile karşılaşıldığı literatürdeki güncel çalışmalarda bildirilmiştir [222-225]. Yine Maranon-Vasquez ve ark. (2019)'a göre *GLI2* ve *GLI3* geninin diş agenezi ile birlikte kraniyofasiyel iskeletsel morfolojinin belirlenmesinde de rol oynayabileceği, diş agenezi olan bireylerin Sınıf III maloklüzyon gösterdiği, diş agenezi olmayan bireylerin ANB açısının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ancak bu tez

çalışmamızdaki 2. ailedeki bireylerde iskeletsel Sınıf III maloklüzyon veya agenezi bulgusuna rastlanmamıştır. Ancak 2-1 bireyinde dental transpozisyonla birlikte gömük diş, sürme gecikmesi ve persiste süt dişine rastlanmıştır.

Diş gelişiminin başlangıcında diş oluşum bölgelerinin doğru bir şekilde belirlenmesi için oral epitel ve dental ektodermin birbirinden ayrılması gerekmektedir. Fare çalışmasında oral epitelden dışavurum gösteren Wnt7b ve dental ektodermden dışavurum gösteren Shh yolağının karşılıklı ilişkisi bu ayırımın gerçekleşmesini sağladığı bildirilmiştir. Böylece dişler doğru konumlarında, düzgün bir morfoloji ile gelişmişlerdir [226]. Başka bir çalışmada Wise ile düzenlenen Wnt yolağının inhibe edildiği deneklerde yolaklar arası etkileşim sebebiyle Shh yolağı düzgün çalışmamış ve diş sayısı ve morfolojisinde problemler görülmüştür [227]. Gli3 geninin Shh yolağı ile ilişkisi düşünüldüğünde, *GLI3* geninde oluşacak bir problemin *SHH* yolağını etkileyerek ageneziye yol açma ve dişlerin konumlarının doğru bir şekilde oluşmasını engelleme ihtimalinin göz ardı edilmemesi gerektiğini düşünmekteyiz.



Şekil 5.5 *GLI3* (NM_000168.6):c.3083G>C (p.Ser1028Thr) değişiminin IGV görüntüsü.

Yine 2. ailedeki bireylerde tespit edilen *GLI3*(NM_000168.6):c.3083G>C (p.Ser1028Thr) değişimi SNV tipinde yanlış anlamlı bir değişimdir (Şekil 5.5). Bu değişim daha önce dbSNP veri bankasında bildirilmemiştir. Varsome veri tabanında frekans bilgisi bulunamamıştır. MutatitonTaster veri tabanında polimorfizm olarak tahmin edilmiş (prob: 0.998), SIFT veri tabanında kabul edilebilir sınıflamada iyi huylu olarak tahmin edilmiş (score: 0,06), ACMG sınıflamasında muhtemel benign

kategorisinde yer almıştır. Bu veri tabanlarında muhtemel iyi huylu olarak bildirilmesi sebebiyle bireylerimizde saptanan dental transpozisyonla ilişkili olmayabileceği düşünülmüştür. Ayrıca 2-I bireyinde homozigot, 2-II bireyinde heterozigot karakter göstermesi sebebiyle dental transpozisyon mekanizmasında oynadığı rolün açıklanması yetersiz kalmaktadır. Ancak *GLI3* geninin *SHH* yolağı ile ilişkisi ve izole dental ageneziye sebep olduğu göz önüne alındığında, ailesel dental transpozisyonunda rol oynama ihtimali araştırmaya değer bulunmuştur. Bu genin görevinin daha iyi aydınlatılabilmesi amacıyla sağlıklı aile bireyleri üzerinde segregasyon analizi yapılması planlanmıştır. Ayrıca sağlıklı popülasyonlar üzerinde ileri çalışmalar yapılmasına ihtiyaç olduğunu da düşünmekteyiz.

5.3.2.3 *NOTCH4* (NOTCH Receptor 4) (Aile 2 ve Aile 3 Ortak Gen)

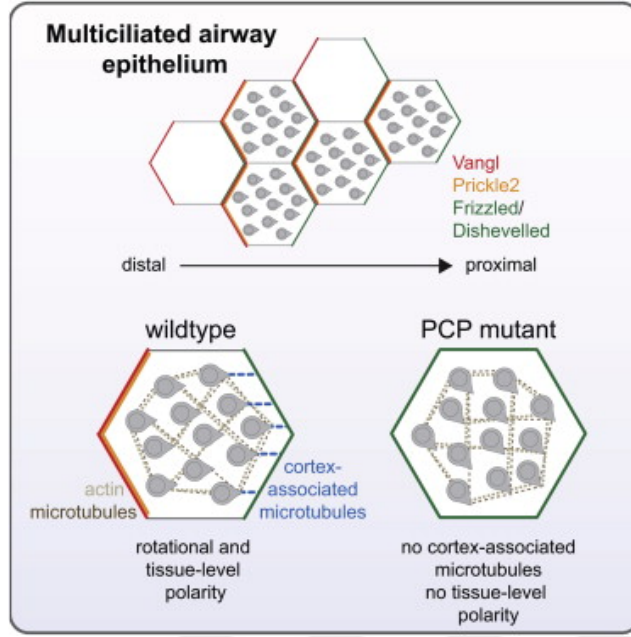
NOTCH sinyal yolunun şimdiye kadar 4 üyesi tespit edilmiş olup, bu yolak dental gelişimde görev almaktadır. Ektoderm ve mezenşim sinyalizasyonu, tomurcuktan kep aşamasına geçiş, odontoblast ve osteoblast farklılaşması, sert doku kalsifikasyonu, kron ve tüberkül formasyonunun belirlenmesi, diş pulpasındaki vasküler dokuların gelişimi ve şekillenmesi gibi noktalarda etkili olmakla birlikte sürme sonrasında kök hücrelere etki ederek odontoblast aktivasyonu, tersiyer dentin üretimi gibi diş tamir mekanizmalarında da rol almaktadır. Bu sinyal yolundaki proteinler transmembran proteinlerdir. Endoplazmik retikulumda üretilerek golgi ağındaki sekretuvar yollarla hücre dışına taşınmaktadırlar. *NOTCH* yolunun fonksiyon görürken diş gelişiminde ayrı ayrı görevleri olan *FGF*, *TGF*, *BMP*, *WNT* gibi farklı ailelerle etkileşim gösterdiği de daha önce bildirilmiştir. Yine *NOTCH* sinyal yolu hücre kaderi belirleyicisi olarak bilinmektedir. Ayrıca *NOTCH* sinyal yolunda yer alan Jag2 geninin farelerde ikincil damak gelişiminde rol oynadığı ve problemlerinde damak yarığı meydana gelebileceği bildirilmiştir. Yine bu yolakta oluşacak problemlerin farklı ameloblastoma tiplerine yol açabileceği bildirilmiştir. *NOTCH* sinyal yolunun, diş oluşumunda aktif olan çeşitli reseptörleri, ligandları ve transkriptleri içeren bir kompleks oluşturduğu ve bu yolun doğrudan hedeflerini ve bunların diş gelişimine nasıl katıldıklarını belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir. [228-236].

5.3.3 Aile 3

5.3.3.1 *PRICKLE2* (Planar Cell Polarity Protein 2)

PRICKLE2 geni, nöronal mimari ve fonksiyonda yer alan postsinaptik bir proteini kodlamaktadır [238]. 2003 yılında Katoh ve Katoh tarafından tespit edilen bu gen, fetal beyin, yetişkin beyin, göz, testis, yetişkin kıkırdak, pankreas adacığı, mide kanseri ve uterus tümörü gibi lokasyonlarda dışavurum göstermektedir [239, 240]. *PRICKLE2* geninin en az 8 ekson içerdiği ve 5 'çevrilmemiş bölgenin intron 1 tarafından kesintiye uğradığı belirlenmiştir. Ayrıca kromozom 3p14'e ve fare *Prickle2* geni de kromozom 6'ya TGD yöntemiyle haritalanmıştır [239]. Bu gendeki değişimlerin gelişim geriliği, epilepsi ve otistik bozukluklara sebep olabileceği bildirilmiştir [241]. Genecards veri tabanında da duysal ataksik nöropati, oftalmoparezi, epilepsi ve dizartri ile ilişkilendirilmiştir. Aile 3'teki indeks birey ve etkilenmiş ebeveynde bu tip nörolojik rahatsızlıklar bulunmamakla birlikte, indeks bireyde miyopluk sebebiyle gözlük kullanımı ve konuşma-iletişim kurmada isteksizlik, daha çok jest-mimik ve kısa kelimelerle iletişim kurma eğilimi tespit edilmiştir.

PRICKLE2 geninin dental gelişimde etkin olduğu ve düzlemsel hücre polaritesi yolağında (PCP) (Şekil 5.7) görev aldığı bildirilmiştir. PCP, bir doku düzlemi boyunca hücre polaritesinin-kutuplaşmasının ortaklaşa hizalanmasını ifade etmektedir. PCP, hücre iskeleti bileşenlerinin organize olması, kirpiklerin konumlandırılması, iç kulaktaki duysal saç hücrelerinin koordineli yönelmesi gibi farklı hücre tiplerinde ve hücrenin hareket etmesi, bölünmesi, ölmesi, şekil değiştirmesi, göç etmesi ve farklılaşması gibi farklı hücre davranışlarında ve biyolojik süreçlerde görev almaktadır [242, 243]. *FZD*, *CELSR*, *VANGL*, *DVL*, *ANKRD* (Diego) gibi gen aileleri de PCP'de *PRICKLE* ile birlikte rol oynayan diğer gen aileleridir [242, 244]. Ayrıca yapılan bir fare çalışmasında *Prickle2*, *Prickle1* ile birlikte fare kesici dişlerinde kesecik içerisinde mine-sement birleşimine taşındığı tespit edilmiştir. Bu sayede *Prickle1* ve *Prickle2* distal birleşme komplekslerinin ve ameloblastların terminal ağlarının oluşumunda rol oynamaktadır. Ayrıca mine kristal çubuklarının düzenlenmesinde de etkili olmakta ve amelogeneziste rol oynamaktadır [245].

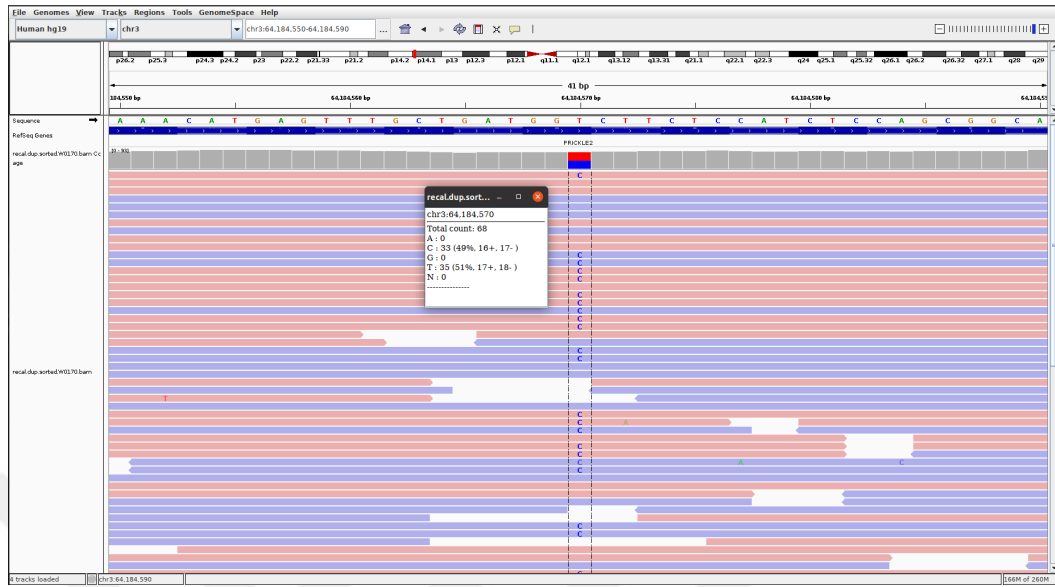


Şekil 5.7 Havayolu epitel hücrelerinde şematik Düzlemsel Hücre Polaritesi (PCP) ve mutasyonu. [246]'den alınmıştır.

PRICKLE2 geni PCP'de aldığı görevin yanısıra *WNT* sinyal yolağında da görev almaktadır ve Prickle2 molekülü kanonik olmayan bir *WNT* sinyal proteinidir [238, 239]. *WNT* gen ailesi embriyonik gelişim ve yetişkin homeostazında merkezi bir görev üstlenmektedir. Özellikle insan ve fare embriyosunda ektoderm ve mezodermden dışavurum göstererek dental gelişimde aktif olarak görev almaktadır. *WNT* geninde oluşan değişimler sonucunda kötü şekilli dişler, kök eksikliği, diş agenezisi gibi anomaliler ortaya çıkmaktadır. *WNT* gen ailesi, dental gelişim genetiği çalışmalarında oldukça popüler bir hale gelmekte ve dental gelişimde oynadığı rol günden güne aydınlatılmaktadır [5, 48, 178, 191, 192, 238, 247].

Çalışmamızda 3. Ailedeki bireylerin her ikisinde de *PRICKLE2* geninde heterozigot karakterli (NM_198859.4): c.34A>G(p.Thr12Ala) değişimi saptanmıştır (Şekil 5.8). Bu değişim MutationTaster veri tabanında hastalık yapıcı olarak, LRT veritabanında zararlı olarak bildirilmiştir, ACMG sınıflaması ise VUS'tur. Yukarıda bahsedildiği gibi *PRICKLE2* geninin dental gelişimde özellikle amelogeneziste etkili olduğu bilinmektedir fakat literatürdeki insan ve hayvan modellerinde dental transpozisyona veya dental ageneziye yol açtığı daha önce bildirilmemiştir. Çalışmamızdaki indeks bireyde dental transpozisyonun yanı sıra diş gömüklüğü, süt ve daimi dişlerde sürme gecikmesi, mandibular retrognati, üst keser retroklinasyonu, ağız açma kısıtlılığı, filtrum kısalığı, eklemlerde elastisite iletişim kurmakta isteksizlik

tespit edilmiştir. Etkilenmiş ebeveynde de dental transpozisyonun yanı sıra 2 adet konjenital 3. molar diş eksikliği tespit edilmiştir.



Şekil 5.8 PRICKLE2 (NM_198859.4): c.34A>G(p.Thr12Ala) değişiminin IGV görüntüsü

Yukarıdaki bilgiler ışığında PRICKLE2 geninin dental gelişimde rol oynayan ve ageneziye sebep olan WNT sinyal yolağında yer alması, dental transpozisyon gösteren diğer aile bireyinde tespit edilmesi ve hipodontiye sebep olması, ailedeki bireylerde heterozigotik karakterde ortaya çıkması, bu genin daha önce gelişim geriliğine sebep olduğunun bildirilmesi ve veri tabanlarında patojenik olarak görülmesi bu genin dental transpozisyon ve agenezi, gömük diş gibi diğer dental anomalilerin oluşum mekanizmasında kuvvetle rol oynama ihtimalinin olduğunu düşündürmektedir. Ancak yine bulguların kesinleşmesi amacıyla etkilenmemiş aile 3 bireylerinin de dahil olduğu bir çalışma grubuna segregasyon analizi ve Sanger dizi analizi yapılarak bu değişimin doğrulanması planlanmıştır. İleri dönemde hayvan modelinde hücre düzeyinde bu mutasyonun oluşturulduğu ve etkilerine bakıldığı fonksiyonel analizler de planlanmaktadır.

5.3.4 DDY ve Down Sendromu

Literatürdeki çalışmalar değerlendirildiğinde dental transpozisyonun genellikle herhangi bir sendroma eşlik etmeksizin sporadik olarak görüldüğü, daha çok dental agenezi ile yakın ilişkili bir anomali olduğu tespit edilmiştir [159]. OMIM veri bankasında da bugüne kadar dental transpozisyon görülen bir hastalık bildirilmemiştir. Ancak literatürde dental transpozisyonun Down sendromu ve DDY ile birlikte görüldüğü bildirilmiştir [9, 10]. Çeşitli dünya popülasyonlarındaki Down sendromlu bireylerde yapılan prevalans çalışmalarında %3-15 oranında görüldüğü, DDY'ye sahip bireylerde ise %4-18 arası sıklıkta görüldüğü bildirilmiştir [9, 10, 125-131]. Değişen sıklıkta görülme sebepleri çalışmaların farklı ırklarda ve farklı sayıda bireylerde yapılması olarak görülmüştür.

DDY ve Down sendromunda bu kadar yüksek sıklıkta görülmesi sebebiyle, dental transpozisyonun bu sendromların hafif penetranslı bir bulgusu olup olmadığını araştırmak amacıyla bu sendromların oluşmasına sebep olabilecek genleri literatüre göre belirleyip, çalışmamızdaki bireylerle uyumluluk gösterip göstermediğini değerlendirdik. Daha önce tespit ettiğimiz *CDH2*, *DCR*, *DVL1*, *DVL2*, *DYRK1A*, *EDA2R*, *ERBB2*, *FGF*, *IRF6*, *MID1*, *MYC*, *NECTIN1*, *PVR*, *SHH*, *SKI*, *TBX2*, *TGF*, *TIMP2*, *TP53*, *TP63*, *WNT* genlerinde herhangi bir anlamlı değişim bireylerimizde saptanmamıştır. Ayrıca çalışmamıza katılan olgularda ve aile bireylerinde Down sendromu ve DDY bulunmamaktadır. Ancak *WNT* sinyal yolunda bulunan *PRICKLE2* geninde, *SHH* yolunda yer alan *GLI3* geninde değişimler saptanmıştır.

PRICKLE2 geninin damak yarığına sebep olmasıyla ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamış olmakla birlikte, Houang ve ark.'nın (2008) fareler üzerindeki çalışmasına göre *Gli3*^{-/-} farelerde oldukça sık damak yarığı gelişmiş ayrıca dili düzleştirememesi, normal pozisyonunda konumlandırılmama gibi anormal dil bulgularına rastlanmıştır [248]. Bizim çalışmamızdaki bireylerde daha önce de değinildiği gibi böyle bulgulara rastlanmamıştır. *Gli3* geninin farelerde DDY'ye sebep olması ve *GLI3*'ün dental gelişimde oynadığı rol göz önüne alındığında, dental transpozisyonun DDY'nin subklinik bir belirtici olabileceği ve *GLI3*'ün DDY'li bireylerde transpozisyon oluşumuna sebep olma ihtimali akıllara gelse de güncel çalışmalarda bu görüş geçersiz görülmüştür. Son yıllarda DDY'ye sahip bireylerde dental anomali oluşma sebebi olarak; mezenkimal dokudaki eksiklik veya ektomezenşimal sinyal yollarındaki aksamaya bağlı olarak ağız içindeki alveolar kret,

mukoza, dudak gibi oral dokuların bozulması görülmüştür. Dental anomalilerin daha çok yarık bölgesinde görülmesi, yarık bölgesindeki dişlerin oluşamaması veya yanlış yerde oluşması, yarığın fenotipine bakılmaksızın dental anomalilerin ortaya çıkması bu görüşü desteklemektedir [131, 249, 250]. Ayrıca DDY'ye sahip bireylerin dental anomali açısından sağlıklı popülasyondan daha fazla genetik riske sahip olmadığı, bu vakalardaki yüksek dental anomali prevalansının yarık lokalizasyonunun ve cerrahi müdahalenin çevresel bir sonucu olarak ortaya çıktığı güncel çalışmalarda bildirilmiştir [250-252]. Tüm bunlara ilave olarak, damaktaki skar dokusuna ve ageneziye bağlı olarak DDY vakalarında genellikle maksiller gelişim yetersizliği ve buna bağlı olarak Sınıf III maloklüzyon ortaya çıkmaktadır [253]. Buna bağlı olarak da DDY'li bireylerde dental transpozisyon veya diğer anomalilerin ortaya çıkması muhtemel görülmektedir.

Down sendromunda; hücre sayısında ve hücre büyüme hızında azalma bildirilmiştir. Bu sebeple maksiller gelişimde yetersizlik, diş gelişim ve sürmesinde gecikme, kanin dişinin sürme yolunda değişme, kaninde gömüklük, 3. molarlarda agenezi olmaktadır. Ayrıca maksiller kanin ve birinci premolar transpozisyonunun, bu trizominin başka bir fenotipik ifadesi olduğunu açıklamak için kalıtım dışında hiçbir açıklamanın olmadığı, çalışmalarındaki elde ettikleri verilere göre diş germelerinin birincil olarak kalıtsal sebeple yer değiştirdiğinin düşünüldüğü 2000 yılında Shapira ve ark. tarafından bildirilmiştir [9].

Tez çalışmamızda Down sendromuna sebep olarak daha önceden öngördüğümüz genlerde herhangi bir anlamlı değişim görülmemekle birlikte, daha önceden Down sendromunda salınımının değiştiği bilinen *WNT* ve *SHH* yollarından iki gende (*PRICKLE2*, *GLI3*) değişimler saptanmıştır [14, 17]. Çalışmamızdaki bireylerde Down sendromu bulunmamakla birlikte, Down sendromunda da görülen dental transpozisyon, kanin gömüklüğü, sürme gecikmesi, 3. molarlarda agenezi görülmüştür. Bu sebeplerle ailesel dental transpozisyonun Down sendromunun subklinik bir fenotipik dışavurumu olabileceği ancak kesin karar için ileriki çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

5.3.5 MSX ve PAX

Dental gelişimin uzun bir süreç olması sebebiyle birçok faktör bu mekanizmada rol oynamaktadır. Bu süreçte rol oynayan en önemli etmenlerden bir tanesi de epitelyal-mezenşimal etkileşimlerdir. Bu etkileşimlerin hemen hemen her evresinde rol oynayan en önemli genler *Homeobox* ve *Paired-box* ailesinden *MSX* ve *PAX* genleridir. Günümüze kadar bu genlerin normal dental gelişimin birçok aşamasında rol oynadığı aydınlatılmış olmakla birlikte, diş agenezisi, kanin gömüklüğü, DDY gibi anomalilerden de sorumlu oldukları bildirilmiştir [40, 42, 43]. Ayrıca bir çalışmada *MSX1* ve *PAX9*'un mandibular kanin transpozisyon mekanizmasında rol oynama ihtimali olabileceği belirtilmiştir [21]. Ancak çalışmamızdaki bireylerde bu genlerde anlamlı bir değişim bulunamamıştır. Bu durumun çalışmamızdaki bireylerde etkilenen dişlerin mandibuler kaninler değil de maksiller kaninler olması sebebiyle ortaya çıkması da muhtemel görülmüştür.

5.4 Kalıtsal Karakter

Dental transpozisyonun kalıtım karakteri günümüze kadar aydınlatılamamıştır. Bununla alakalı ilk yapılan çalışmalarda OR karakter gösterdiği bildirilmiştir. Fakat ilerleyen süreçte dental transpozisyonun ailesel kümelenme göstermesi ve akraba anomali olan dental agenezinin OD karakter ve multifaktöriyel kalıtım modeli göstermesi, dental transpozisyonun da aynı karakterde olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamızdaki ailelerden iki tanesi OD özellik göstermiş ve diğer ailede de OD karakterin göz ardı edilmemesi gerektiği tespit edilmiştir. Ayrıca tespit edilen değişimlerden 2 tanesi heterozigot (*DSPP*, *PRICKLE2*), 2 tanesi homozigottur (*DSPP*). 2 değişim de indeks bireyde homozigot, ebeveynde heterozigottur (*DSP*, *GLI3*). Bu durum transpozisyonun OD geçişli ve poligenik multifaktöriyel karakterde olduğunu düşündürmektedir fakat daha detaylı aile fenotip ve segregasyon çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

5.5 Limitasyonlar

Bu tip ailesel aday gen belirleme çalışmalarda irdelenen aile sayısı ve birey sayısı ne kadar yüksek olursa elde edilen sonuçların güvenilirliği o kadar artmaktadır. Ancak ailesel transpozisyon gösteren olgu bulunmasında yaşanan zorluk ve TED

yönteminin pahalı olması gibi teknik sorunlar sebebiyle sağlıklı bireylere TED analizi ve ayrıca hem etkilenmiş hem de sağlıklı bireylere Sanger dizi analizi ve segregasyon analizi uygulanamamıştır. Ayrıca elde edilen değişimlerin karşılaştırılacağı kontrol gruplarının az olması ve ailelerdeki üst kuşaklara ait verilere ulaşılamaması sebebiyle biyoinformatik analiz aşamasında zorluklar yaşanmıştır.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında dental transpozisyona yol açabileceği düşünülen, dental gelişim ve dental transpozisyon yollarını aydınlatabilecek potansiyele sahip olan *DSPP*, *DSP*, *GLI3*, *PRICKLE2* genlerinde değişimler saptanmıştır. Bu genlerin her biri farklı sinyal yollarında görev almakla birlikte hepsinin dental gelişimde farklı görevleri mevcuttur. Ayrıca geçmiş çalışmalara göre bu genlerin birçoğunda meydana gelen değişim ve fonksiyon kayıpları, dental transpozisyonla birlikte görülen ve çalışmamızdaki bireylerde de tespit ettiğimiz 3. molar agenezi, gömük diş, persiste süt dişi gibi anomalilere sebep olmaktadır. Çevresel ve genetik etkilerle ortaya çıkan dental anomalilerin multifaktöriyel doğası sebebiyle, tek bir genin bir anomaliye tek başına sebep olduğunu iddia etmek oldukça zordur [159]. Yine multifaktöriyel yapı sebebiyle dental gelişimde birçok karmaşık etkileşim ağı birlikte görev almaktadır. Bu etkileşimler sebebiyle bu genlerdeki değişimlerin ailesel dental transpozisyon mekanizmasında rol oynayabileceği öngörülmektedir. Ayrıca *MAF* değerleri sebebiyle de Türk popülasyonundaki prevalans çalışmaları ile uyumluluk göstermektedirler. Ancak etkilenmiş bireylerden elde ettiğimiz bu değişimleri ailedeki etkilenmemiş bireylerin de dahil olduğu çalışma grupları üzerinde yapılacak Sanger ve segregasyon gibi analiz yöntemleri ile doğrulamak gerekmektedir. Özellikle en muhtemel aday gen olarak gördüğümüz *PRICKLE2* genindeki değişimlerin bu tip aile çalışmalarının yanı sıra diğer sağlıklı popülasyonlar üzerinde yapılacak çalışmalarla ve denek hayvanları üzerindeki fonksiyon çalışmalarıyla da irdelenmesini planlanmaktadır. Ayrıca teknik ve yazılımsal kısıtlamalar sebebiyle gözden kaçmış olabilecek değişimler için o günün şartlarına göre güncel ve güvenilir kabul edilecek yazılımlar kullanılarak ve önceliklendirme-filtreleme kriterleri modifiye edilerek TED analizinin yeniden yapılması da planlanmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmamızda sendromik olmayan dental transpozisyon gösteren 3 aileden toplam 6 bireyin genomik DNA'sı Tüm Ekzom Dizileme yöntemi ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda sıralanmıştır:

- 1- Tüm ailesel dental transpozisyon olgularımızda maksiller kaninin etkilenmiş olduğu bulunmuştur. Bu durum kalıtım ve migrasyon teorisinin birlikte etkili olduğunu düşündürmüştür.
- 2- Transpozisyon olguları geçmiş çalışmalarla uyumlu olarak unilateral, sağ ve sol tarafta eşit ve daha çok kadınlarda görülmüştür.
- 3- Dental transpozisyonun gömük dişlerle birlikte görüldüğü ve ortak bir mekanizmayla oluşma ihtimali olduğu düşünülmüştür.
- 4- Dental transpozisyon; persiste süt dişleriyle, sürme gecikmesiyle ve 3. molar ageneziyle birlikte görülmüştür. Ancak dental agenezi (özellikle lateral agenezi) ile akraba olduğu görüşü ve peg-shape lateral ile birlikte görüldüğü fikri yaygın olmasına rağmen çalışmamızdaki bireylerde 3. molar eksikliği dışında ageneziye ve peg-shape laterale rastlanmamıştır.
- 5- *DSPP*, *DSP*, *GLI3* genlerinde düşük ihtimal de olsa anlamlı olabilecek değişimler saptanmıştır. Bireylerimizde bu genlerdeki değişimlerin birçoğu homozigot karakterdedir ve bu genlerdeki homozigot karakterdeki otozomal dominant değişimlerin majör bir hastalık oluşturduğu daha önce literatürde bildirilmiştir. Bizim bireylerimizde ise böyle hastalıklar tespit edilemediği için bu genlerin dental transpozisyon mekanizmasında rol oynama ihtimalinin düşük olduğu öngörülmüştür. Ancak kesin sonuçlara ulaşabilmek için etkilenmemiş aile bireylerinin de dahil olduğu, tüm aileyi içeren Sanger dizi analizi ve segregasyon analizi gibi ileri çalışmalarda daha detaylı irdelenmesi gerektiği tarafımızca düşünülmüştür.
- 6- Çalışmamızdaki dental transpozisyon mekanizmasında rol oynama ihtimali en kuvvetli olan aday gen, aynı aileden 2 bireyde heterozigotik olarak görülen *PRICKLE2* geni olmuştur. Ayrıca etkilenmiş ebeveynde görülen iki adet 3. molar diş eksikliği ve indeks bireyde görülen gömüklük, 3. molar eksikliği, sürme gecikmesi, mandibular retrognati, üst keser

retroklinasyonu, iletişim kurma isteksizliği gibi anomaliler *PRICKLE2* geninin diğer dental anomalilerin gelişiminde de rol oynayabilme ihtimalini akıllara getirmektedir. Bu sebeple bu genin etkisinin daha iyi aydınlatılması amacıyla aynı ailedeki diğer sağlıklı bireylerin de dahil olduğu bir grupta Sanger dizi analizi ve segregasyon analizi ile doğrulama çalışmaları, hayvan modelleri üzerinde fonksiyon çalışmaları yapılması planlanmaktadır.

- 7- Bireylerin 4 tanesinde *NOTCH4* geninde değişimler saptanmıştır. Ancak MAF değerinin dental transpozisyon prevalansına göre yüksek olması sebebiyle anlamsız olarak kabul edilmiştir.
- 8- Dental transpozisyonun otozomal dominant karaktere sahip heterozigotik ve multifaktöriyel etiyolojiye sahip olabileceği düşünülmüştür.
- 9- Dudak-damak yarığı ve Down sendromunun subklinik bir belirtici olabileceği ancak dudak-damak yarığında çevresel faktörler sebebiyle dental anomali oluşmasının daha muhtemel olduğu düşünülmüştür.

Bu tez çalışmamızla dental gelişim daha detaylı anlaşılabilir ve dental gelişimin daha detaylı anlaşılmasıyla, teşhis edilen anomali ve ortodontik maloklüzyonlara farklı bir bakış açısı getirilebilecektir. Böylece hastalara en uygun yaşta en uygun tedavi yöntemi sunulabilecek ve bu alanda yeni çalışmalar yapılmasına ön ayak olacaktır. Ayrıca otozomal dominant, otozomal resesif kalıtım modelleri gibi farklı modellerle ortaya çıkan ve poligenik karakter gösteren diğer anomalilerin teşhis çalışmalarında da çalışmamızın fikir verici olacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Davis, W. L. (1986). *Oral histology: cell structure and function*. Saunders.
2. Pinkham, J. R., Casamassimo, P., McTigue, D., Fields, H., ve Nowak, A. (2005). *Pediatric dentistry*. Elsevier.
3. Barlak, P. ve Seymen, F. (2013). Diş gelişimine moleküler, genetik ve histolojik yaklaşım-Molecular, genetic and histological approach to dental development. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, 47(2), 64-72.
4. Gülhan, A. (1994). *Pedodonti*. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi.
5. Dinçkan, N. (2016) *Non-sendromik diş agenezisi ile ilişkili yeni genlerin ve sinyal yollarının yeni nesil dizileme teknolojileri ile araştırılması* (Doktora Tezi). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. (YÖK Ulusal Tez Merkezi Tez No: 443989).
6. Massler, M. ve Schour, I. (1941). Studies in tooth development: Theories of eruption. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 27(10), 552-576.
7. Papadopoulos, M. A., Chatzoudi, M. ve Kaklamanos, E. G. (2010). Prevalence of tooth transposition. A meta-analysis. *The Angle Orthodontist*, 80(2), 275-285.
8. Chattopadhyay, A. ve Srinivas, K. (1996). Transposition of teeth and genetic etiology. *The Angle Orthodontist*, 66(2), 147-152.
9. Shapira, J., Chaushu, S. ve Becker, A. (2000). Prevalence of tooth transposition, third molar agenesis, and maxillary canine impaction in individuals with Down syndrome. *The Angle Orthodontist*, 70(4), 290-296.
10. Shapira, Y. ve Kuftinec, M. M. (2001). Maxillary tooth transpositions: characteristic features and accompanying dental anomalies. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 119(2), 127-134.
11. Iwata, J., Parada, C. ve Chai, Y. (2011). The mechanism of TGF- β signaling during palate development. *Oral Diseases*, 17(8), 733-744.
12. Maeda, H., Go, H., Imamura, T., Sato, M., Momoi, N. ve Hosoya, M. (2016). Plasma TGF- β 1 levels are elevated in Down syndrome infants with transient abnormal myelopoiesis. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 240(1), 1-5.
13. Nie, X., Luukko, K. ve Kettunen, P. (2006). FGF signalling in craniofacial development and developmental disorders. *Oral Diseases*, 12(2), 102-111.
14. Granno, S., Nixon-Abell, J., Berwick, D. C., Tosh, J., Heaton, G., Almudimeegh, S., Nagda, Z., Rain, J.-C., Zanda, M., Plagnol, V., Tybulewicz, V. L. J., Cleverley, K., Wiseman, F. K., Fisher, E. M. C. ve Harvey, K. (2019). Downregulated Wnt/ β -catenin signalling in the Down syndrome hippocampus. *Scientific Reports*, 9(1), 1-20.
15. Chiquet, B. T., Blanton, S. H., Burt, A., Ma, D., Stal, S., Mulliken, J. B. ve Hecht J. T. (2008). Variation in WNT genes is associated with non-syndromic cleft lip with or without cleft palate. *Human Molecular Genetics*, 17(14), 2212-2218.

16. Xu, J., Liu, H., Lan, Y., Aronow, B. J., Kalinichenko, V. V. ve Jiang, R. (2016). A Shh-Foxf-Fgf18-Shh molecular circuit regulating palate development. *PLOS Genetics*, 12(1), e1005769.
17. Currier, D. G., Polk, R. C. ve Reeves, R. H. (2012). A Sonic hedgehog (Shh) response deficit in trisomic cells may be a common denominator for multiple features of Down syndrome. *Progress in Brain Research* Cilt 197, ss. 223-236): Saunders.
18. Delsol, L., Orti, V., Serre, M. ve Canal, P. (2010). Transpositions of maxillary canines. Periodontal aspects and orthodontic therapy. *Journal of Dentofacial Anomalies and Orthodontics*, 13(2), 133-150.
19. Di Palma, E., Di Giuseppe, B., Tepedino, M. ve Chimenti, C. (2015). Orthodontic management of bilateral maxillary canine-first premolar transposition and bilateral agenesis of maxillary lateral incisors: a case report. *Dental Press Journal of Orthodontics*, 20(2), 100-109.
20. Peck, L., Peck, S. ve Attia, Y. (1993). Maxillary canine-first premolar transposition, associated dental anomalies and genetic basis. *The Angle Orthodontist*, 63(2), 99-109; discussion 110.
21. Peck, S., Peck, L. ve Kataja, M. (2002). Concomitant occurrence of canine malposition and tooth agenesis: evidence of orofacial genetic fields. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 122(6), 657-660.
22. Yamaguchi, T., Hosomichi, K., Yano, K., Kim, Y.-I., Nakaoka, H., Kimura, R., Otsuka, H., Nonaka, N., Haga, S., Takahashi, M., Shiota, T., Kikkawa, Y., Yamada, A., Kamijo, R., Parak, S.-B., Nakamura, M., Maki, K. ve Inoue, I. (2017). Comprehensive genetic exploration of selective tooth agenesis of mandibular incisors by exome sequencing. *Human Genome Variation*, 4, 17005.
23. Peck, S. ve Peck, L. (1995). Classification of maxillary tooth transpositions. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 107(5), 505-517.
24. Woolf, C. M. (1971). Missing maxillary lateral incisors: a genetic study. *American Journal of Human Genetics*, 23(3), 289-296.
25. Svinhufvud, E., Myllarniemi, S. ve Norio, R. (1988). Dominant inheritance of tooth malpositions and their association to hypodontia. *Clinical Genetics*, 34(6), 373-381.
26. Sofaer, J. A. (1970). Dental morphologic variation and the Hardy-Weinberg law. *Journal of Dental Research*, 49(6), Suppl:1505-1508.
27. Burzynski, N. J. ve Escobar, V. H. (1983). Classification and genetics of numeric anomalies of dentition. *Birth Defects Original Article Series*, 19(1), 95-106.
28. Alvesalo, L. ve Portin, P. (1969). The inheritance pattern of missing, peg-shaped, and strongly mesio-distally reduced upper lateral incisors. *Acta Odontologica Scandinavica*, 27(6), 563-575.
29. Watted, N., Abu-Hussein, M., Hussein, E., Proff, P. ve Watted, A. (2015). A dental transposition: Literature review and clinical management. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 14, 80-85.
30. Dachi, S. F. ve Howell, F. V. (1961). A survey of 3, 874 routine full-month radiographs. II. A study of impacted teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology*, 14, 1165-1169.

31. Vastardis, H. (2000). The genetics of human tooth agenesis: new discoveries for understanding dental anomalies. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 117(6), 650-656.
32. Abu-Hussein, M., Watted, N., Yehia, M., Proff, P. ve Iraqi, F. (2015). Clinical genetic basis of tooth agenesis. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 14(12), 68-77.
33. **Kagan, J., Kearsley, R. B., ve Zelazo, P. R.** (1980). *Infancy: Its Place in Human Development*. Harvard University Press.
34. Wise, G. E. ve King, G. J. (2008). Mechanisms of tooth eruption and orthodontic tooth movement. *Journal of Dental Research*, 87(5), 414-434.
35. **Cielinski, M.** (1994). Colony-stimulating factor-1 (CSF-1) is a potent stimulator of tooth eruption in the rat. In Z. Davidovitch (Ed.), *The Biological Mechanisms of Tooth Eruption, Resorption and Replacement by Implants*, 429-436. Massachusetts: Harvard Society for the Advancement of Orthodontic
36. Wise, G. E. ve Fan, W. (1989). Changes in the tartrate-resistant acid phosphatase cell population in dental follicles and bony crypts of rat molars during tooth eruption. *Journal of Dental Research*, 68(2), 150-156.
37. Marks, S. C., Jr., Cahill, D. R. ve Wise, G. E. (1983). The cytology of the dental follicle and adjacent alveolar bone during tooth eruption in the dog. *American Journal of Anatomy*, 168(3), 277-289.
38. **Cahill, D.** (1988). A review and comparison of tooth eruption systems used in experimentation-a new proposal on tooth eruption. In Z. Davidovitch (Ed.), *Biological Mechanisms of Tooth Eruption and Root Resorption*. Columbus: Ohio State University, College of Dentistry
39. Wise, G. E., Frazier-Bowers, S. ve D'Souza, R. N. (2002). Cellular, molecular, and genetic determinants of tooth eruption. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13(4), 323-334.
40. Maas, R. ve Bei, M. (1997). The genetic control of early tooth development. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 8(1), 4-39.
41. Brook, A. (2009). Multilevel complex interactions between genetic, epigenetic and environmental factors in the aetiology of anomalies of dental development. *Archives of Oral Biology*, 54, S3-S17.
42. Nieminen, P., Arte, S., Pirinen, S., Peltonen, L. ve Thesleff, I. (1995). Gene defect in hypodontia: exclusion of MSX1 and MSX2 as candidate genes. *Human Genetics*, 96(3), 305-308.
43. Duverger, O. ve Morasso, M. I. (2008). Role of homeobox genes in the patterning, specification, and differentiation of ectodermal appendages in mammals. *Journal of Cellular Physiology*, 216(2), 337-346.
44. Neubüser, A., Peters, H., Balling, R. ve Martin, G. R. (1997). Antagonistic interactions between FGF and BMP signaling pathways: a mechanism for positioning the sites of tooth formation. *Cell*, 90(2), 247-255.
45. Tucker, A. ve Sharpe, P. (1999). Molecular genetics of tooth morphogenesis and patterning: the right shape in the right place. *Journal of Dental Research*, 78(4), 826-834.
46. Kapadia, H., Mues, G. ve D'Souza, R. (2007). Genes affecting tooth morphogenesis. *Orthodontics & Craniofacial Research*, 10(3), 105-113.

47. Thesleff, I., Vaahtokari, A., Vainio, S. ve Jowett, A. (1996). Molecular mechanisms of cell and tissue interactions during early tooth development. *The Anatomical Record*, 245(2), 151-161.
48. Chen, J., Lan, Y., Baek, J. A., Gao, Y. ve Jiang, R. (2009). Wnt/beta-catenin signaling plays an essential role in activation of odontogenic mesenchyme during early tooth development. *Developmental Biology*, 334(1), 174-185.
49. Cobourne, M. T., Hardcastle, Z. ve Sharpe, P. T. (2001). Sonic hedgehog regulates epithelial proliferation and cell survival in the developing tooth germ. *Journal of Dental Research*, 80(11), 1974-1979.
50. D'Souza, R. N., Aberg, T., Gaikwad, J., Cavender, A., Owen, M., Karsenty, G. ve Thesleff, I. (1999). Cbfa1 is required for epithelial-mesenchymal interactions regulating tooth development in mice. *Development*, 126(13), 2911-2920.
51. Jernvall, J. ve Thesleff, I. (2000). Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mechanisms of Development*, 92(1), 19-29.
52. Ruch, J. V. (1998). Odontoblast commitment and differentiation. *Biochemistry and Cell Biology*, 76(6), 923-938.
53. Sharpe, P. T. (1995). Homeobox genes and orofacial development. *Connective Tissue Research*, 32(1-4), 17-25.
54. Tucker, A. S., Matthews, K. L. ve Sharpe, P. T. (1998). Transformation of tooth type induced by inhibition of BMP signaling. *Science*, 282(5391), 1136-1138.
55. Thesleff, I. (2006). The genetic basis of tooth development and dental defects. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 140(23), 2530-2535.
56. Jernvall, J., Aberg, T., Kettunen, P., Keranen, S. ve Thesleff, I. (1998). The life history of an embryonic signaling center: BMP-4 induces p21 and is associated with apoptosis in the mouse tooth enamel knot. *Development*, 125(2), 161-169.
57. Ohazama, A., Johnson, E. B., Ota, M. S., Choi, H. Y., Porntaveetus, T., Oommen, S., Itoh, N., Eto, K., Gritli-Linde, A., Herz, J. ve Sharpe, P. T. (2008). Lrp4 modulates extracellular integration of cell signaling pathways in development. *PLOS One*, 3(12), e4092.
58. Fleischmannova, J., Matalova, E., Tucker, A. S. ve Sharpe, P. T. (2008). Mouse models of tooth abnormalities. *European Journal of Oral Sciences*, 116(1), 1-10.
59. Kim, J.-Y., Cha, Y.-G., Cho, S.-W., Kim, E.-J., Lee, M.-J., Lee, J.-M., Cai, J., Ohshima, H. ve Jung, H.-S. (2006). Inhibition of apoptosis in early tooth development alters tooth shape and size. *Journal of Dental Research*, 85(6), 530-535.
60. Erlandsen, H., Ames, J. E., Tamkenath, A., Mamaeva, O., Stidham, K., Wilson, M. E., Perez-Pinera, P., Deuel, T. F. ve MacDougall, M. (2012). Pleiotrophin expression during odontogenesis. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 60(5), 366-375.
61. Oka, S., Oka, K., Xu, X., Sasaki, T., Bringas Jr, P. ve Chai, Y. (2007). Cell autonomous requirement for TGF- β signaling during odontoblast differentiation and dentin matrix formation. *Mechanisms of Development*, 124(6), 409-415.

62. Robinson, G. W. ve Mahon, K. A. (1994). Differential and overlapping expression domains of Dlx-2 and Dlx-3 suggest distinct roles for Distal-less homeobox genes in craniofacial development. *Mechanisms of Development*, 48(3), 199-215.
63. Ghoul-Mazgar, S., Hotton, D., L  zot, F., Blin-Wakkach, C., Asselin, A., Sautier, J.-M. ve Berdal, A. (2005). Expression pattern of Dlx3 during cell differentiation in mineralized tissues. *Bone*, 37(6), 799-809.
64. Yang, G., Yuan, G., MacDougall, M., Zhi, C. ve Chen, S. (2017). BMP-2 induced Dspp transcription is mediated by Dlx3/Osx signaling pathway in odontoblasts. *Scientific Reports*, 7(1), 10775.
65. Xu, J., Yu, B., Hong, C. ve Wang, C.-Y. (2013). KDM6B epigenetically regulates odontogenic differentiation of dental mesenchymal stem cells. *International Journal of Oral Science*, 5(4), 200.
66. Yamakoshi, Y., Hu, J. C., Fukae, M., Zhang, H. ve Simmer, J. P. (2005). Dentin glycoprotein: the protein in the middle of the dentin sialophosphoprotein chimera. *Journal of Biological Chemistry*, 280(17), 17472-17479.
67. Lussi, A., Crenshaw, M. A. ve Linde, A. (1988). Induction and inhibition of hydroxyapatite formation by rat dentine phosphoprotein in vitro. *Archives of Oral Biology*, 33(9), 685-691.
68. White, S. N., Paine, M. L., Ngan, A. Y., Miklus, V. G., Luo, W., Wang, H. ve Snead, M. L. (2007). Ectopic expression of dentin sialoprotein during amelogenesis hardens bulk enamel. *Journal of Biological Chemistry*, 282(8), 5340-5345.
69. Bartlett, J. D., Skobe, Z., Lee, D. H., Wright, J. T., Li, Y., Kulkarni, A. B. ve Gibson, C. W. (2006). A developmental comparison of matrix metalloproteinase-20 and amelogenin null mouse enamel. *European Journal of Oral Sciences*, 114, 18-23.
70. Masuya, H., Shimizu, K., Sezutsu, H., Sakuraba, Y., Nagano, J., Shimizu, A., Fujimoto, N., Kawai, A., Miura, I., Kaneda, H., Kobayashi, K., Ishijima, J., Maeda, T., Gondo, Y., Noda, T., Wakana, S. ve Shiroishi, T. (2005). Enamelin (Enam) is essential for amelogenesis: ENU-induced mouse mutants as models for different clinical subtypes of human amelogenesis imperfecta (AI). *Human Molecular Genetics*, 14(5), 575-583.
71. McKee, M., Hu, Y., Lertlam, R., Simmer, J. ve Hu, J. (2009). Enamel ultrastructure and ameloblast pathology in enamel null mice. *Journal of Dental Research*, 88, 2009.
72. Yamakoshi, Y., Hu, J. C., Iwata, T., Kobayashi, K., Fukae, M. ve Simmer, J. P. (2006). Dentin sialophosphoprotein is processed by MMP-2 and MMP-20 in vitro and in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, 281(50), 38235-38243.
73. L  zot, F., Thomas, B., Greene, S. R., Hotton, D., Yuan, Z. A., Castaneda, B., Bola  os, A., Depew, M., Sharpe, P., Gibson, C. W. ve Berdal, A. (2008). Physiological implications of DLX homeoproteins in enamel formation. *Journal of Cellular Physiology*, 216(3), 688-697.
74. Bartlett, J., Beniash, E., Lee, D. ve Smith, C. (2004). Decreased mineral content in MMP-20 null mouse enamel is prominent during the maturation stage. *Journal of Dental Research*, 83(12), 909-913.

75. Beniash, E., Skobe, Z. ve Bartlett, J. D. (2006). Formation of the dentino-enamel interface in enamelysin (MMP-20)-deficient mouse incisors. *European Journal of Oral Sciences*, 114 Suppl 1, 24-29; discussion 39-41, 379.
76. Hu, J. C. C., Sun, X., Zhang, C., Liu, S., Bartlett, J. D. ve Simmer, J. P. (2002). Enamelysin and kallikrein-4 mRNA expression in developing mouse molars. *European Journal of Oral Sciences*, 110(4), 307-315.
77. Harbron, L., Lalonde, L., Athanassiou, M., Simmer, J. ve Papagerakis, P. (2009). Runx2 expression and function in ameloblasts. *Journal of Dental Research*, 88.
78. Oz, E. ve Kırzioğlu, Z. (2020). Evaluation of canine transpositions and related dental anomalies in a Turkish pediatric population. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 20, 5100.
79. Al-Mutawa, S. A., Shyama, M. ve Honkala, E. (2003). Maxillary canine-to-first premolar bilateral transposition in a female with Down syndrome. A case report. *Medical Principles and Practice*, 12(3), 193-196.
80. Maia, F. A. (2000). Orthodontic correction of a transposed maxillary canine and lateral incisor. *The Angle Orthodontist*, 70(4), 339-348.
81. **Gibilisco, J.** (1985). *Stafne's oral radiographic diagnosis*. Saunders.
82. **Goaz, P. W. ve White, S. C.** (1982). *Oral Radiology, Principles and interpretation*. C. V. Mosby.
83. **Pindborg, J. J.** (1970). *Pathology of the dental hard tissues*. Saunders.
84. Miel, E. (1817). Observation sur un cas très rare de transposition de dents. *Journal de Medecine Chirurgie Pharmacie*, 40, 88-97.
85. **Angle, E. H.** (1907). *Treatment of Malocclusion of the Teeth*. SS White Dental Manufacturing Company.
86. Rai, A., Sachan, A. ve Verma, V. (2016). Transposition revisited: New classification and notation system. *Journal of Indian Orthodontic Society*, 50(4), 228-228.
87. Newman, G. V. (1977). Transposition: orthodontic treatment. *Journal of the American Dental Association (1939)*, 94(3), 544-547.
88. Joshi, M. ve Bhatt, N. (1971). Canine transposition. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 31(1), 49-54.
89. Allen, W. A. (1967). Bilateral transposition of teeth in two brothers. *British Dental Journal*, 123(9), 439-440.
90. Jarvinen, S. (1982). Mandibular incisor-cuspid transposition: a survey. *The Journal of Pedodontics*, 6(2), 159-163.
91. Shapira, Y. (1980). Transposition of canines. *Journal of the American Dental Association (1939)*, 100(5), 710-712.
92. Hatzoudi, M. ve Papadopoulos, M. A. (2006). Prevalence of tooth transposition in Greek population. *Hellenic Orthodontic Review*, 9(1).
93. Matsumoto, M. A. N. ve Stuari, M. B. S. (2018). Tooth transposition: a multidisciplinary approach. *Dental Press Journal of Orthodontics*, 23(1), 97-107.
94. Sperber, G. (1967). Genetic mechanisms and anomalies in odontogenesis. *Journal of the Canadian Dental Association*, 33, 433-442.
95. Feichtinger, C., Rossiwall, B. ve Wunderer, H. (1977). Canine transposition as autosomal recessive trait in an inbred kindred. *Journal of Dental Research*, 56(12), 1449-1452.

96. Plunkett, D. J., Dysart, P. S., Kardos, T. B. ve Herbison, G. P. (1998). A study of transposed canines in a sample of orthodontic patients. *British Journal of Orthodontics*, 25(3), 203-208.
97. Mutluol, E. U. (2019) Üst çenede çift taraflı gömülü köpek dişi-birinci küçük azı transpozisyonu ve yan keser diş eksikliğinin multidisipliner tedavisi Multidisciplinary treatment of bilateral maxillary impacted canine-first premolar transposition and lateral incisor agenesis. *Selcuk Dental Journal*, 6(1), 65-72.
98. Dayal, P. K., Shodhan, K. H. ve Dave, C. J. (1983). Transposition of canine with traumatic etiology. *Journal of Indian Dental Association*, 55(7), 283-285.
99. Shah, N. (1994). Extraoral tooth eruption and transposition of teeth following trauma. *Endodontics & Dental Traumatology*, 10(4), 195-197.
100. Platzer, K. M. (1968). Mandibular incisor-canine transposition. *Journal of the American Dental Association*, 76(4), 778-784.
101. Widdowson, T. (1926). Two cases of so-called transposition of teeth. *British Dental Journal*, 47, 56-60.
102. Hitchin, A. (1956). The impacted maxillary canine. *British Dental Journal*, 100, 1-14.
103. Stafne, E. C. (1958). *Oral roentgenographic diagnosis*. Saunders.
104. Sutton, P. R. (1968). Migrating nonerupted mandibular premolars: a case of migration into the coronoid process. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 25(1), 87-98.
105. Speidel, T. D. (1951). Prevention of malocclusion. *North-West Dent*, 30(59).
106. Lupton, T. ve Silling, G. (1983). Canine transposition-approaches to treatment. *Journal of the American Dental Association*, 107(5), 746-748.
107. Shapira, Y. ve Kuftinec, M. M. (1989). Tooth transpositions-a review of the literature and treatment considerations. *The Angle Orthodontist*, 59(4), 271-276.
108. Brezniak, N., Ben-Yehuda, A. ve Shapira, Y. (1993). Unusual mandibular canine transposition: a case report. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 104(1), 91-94.
109. Nelson, G. C. (1992). Maxillary canine/third premolar transposition in a prehistoric population from Santa Cruz Island, California. *American Journal of Physical Anthropology*, 88(2), 135-144.
110. Gholston, L. R. ve Williams, P. R. (1984). Bilateral transposition of maxillary canines and lateral incisors: a rare condition. *ASDC Journal of Dentistry for Children*, 51(1), 58-63.
111. Shapira, Y. ve Kuftinec, M. M. (1989). Maxillary canine-lateral incisor transposition-orthodontic management. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 95(5), 439-444.
112. Peck, S., Peck, L. ve Kataja, M. (1998). Mandibular lateral incisor-canine transposition, concomitant dental anomalies, and genetic control. *The Angle Orthodontist*, 68(5), 455-466.
113. Ruprecht, A., Batniji, S. ve El-Newehi, E. (1985). The incidence of transposition of teeth in dental patients. *The Journal of Pedodontics*, 9(3), 244-249.
114. Umweni, A. A. ve Ojo, M. A. (1997). The frequency of tooth transposition in Nigerians, its possible aetiologic factors and clinical implications. *The Journal of the Dental Association of South Africa*, 52(9), 551-554.

115. Burnett, S. E. (1999). Prevalence of maxillary canine-first premolar transposition in a composite African sample. *The Angle Orthodontist*, 69(2), 187-189.
116. Onyeaso, C. O. ve Onyeaso, A. O. (2006). Occlusal/dental anomalies found in a random sample of Nigerian schoolchildren. *Oral Health & Preventive Dentistry*, 4(3), 181-186.
117. Cho, S. Y., Chu, V. ve Ki, Y. (2012). A retrospective study on 69 cases of maxillary tooth transposition. *Journal of Oral Science*, 54(2), 197-203.
118. Campoy, M. D., Gonzalez-Allo, A., Moreira, J., Ustrell, J. ve Pinho, T. (2013). Dental anomalies in a Portuguese population. *International Orthodontics*, 11(2), 210-220.
119. Herrera-Atoche, J. R., Aguayo-de-Pau, M. D., Escoffie-Ramirez, M., Aguilar-Ayala, F. J., Carrillo-Avila, B. A. ve Rejon-Peraza, M. E. (2017). Impacted Maxillary Canine Prevalence and Its Association with Other Dental Anomalies in a Mexican Population. *International Journal of Dentistry*, 2017, 7326061.
120. Irish, J. D. (2020). Tooth transposition prevalence and type among sub-Saharan Africans. *American Journal of Human Biology*, 32(2), e23329.
121. Yılmaz, H., Türkkahraman, H. ve Sayın, M. (2005). Prevalence of tooth transpositions and associated dental anomalies in a Turkish population. *Dentomaxillofacial Radiology*, 34(1), 32-35.
122. Celikoglu, M., Miloglu, O. ve Oztek, O. (2010). Investigation of tooth transposition in a non-syndromic Turkish anatolian population: characteristic features and associated dental anomalies. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal*, 15(5), e716-720.
123. Büyük, S. K., Cantekin, K., Şekerci, A. E. ve Doğan, S. (2013). Bir grup Türk popülasyonunda üçüncü molar eksikliği ile ilişkili dental anomalilerin radyografik olarak değerlendirilmesi. *Ankara Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 40(1), 1-6.
124. Çelebi, F., Taşkan, M., Turkal, M., Turkal, H. A. ve Holoğlu, F. (2015). Orta Karadeniz toplumunda dental anomalilerin görülme sıklığı. *Cumhuriyet Dental Journal*, 18(4), 343-350.
125. Cheng, R. H., Leung, W. K., Corbet, E. F. ve King, N. M. (2007). Oral health status of adults with Down syndrome in Hong Kong. *Special Care in Dentistry*, 27(4), 134-138.
126. Nelson-Filho, P. (2011). Occurrence of hypodontia, supernumerary teeth and dental anomalies in Brazilian individuals with Down syndrome. *Journal of Disability and Oral Health*, 12(1), 31-34.
127. Bauer, D., Evans, C. A., BeGole, E. A. ve Salzman, L. (2012). Severity of occlusal disharmonies in Down syndrome. *International Journal of Dentistry*, 2012.
128. Sá, J., Araújo, L., Guimarães, L., Maranhão, S., Lopes, G., Medrado, A., Coletta, R. ve Reis, S. (2016). Dental anomalies inside the cleft region in individuals with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal*, 21(1), e48.
129. Heliovaara, A., Ranta, R. ve Rautio, J. (2004). Dental abnormalities in permanent dentition in children with submucous cleft palate. *Acta Odontologica Scandinavica*, 62(3), 129-131.

130. Eslami, N., Majidi, M. R., Aliakbarian, M. ve Hasanzadeh, N. (2013). Prevalence of dental anomalies in patients with cleft lip and palate. *Journal of Craniofacial Surgery*, 24(5), 1695-1698.
131. Yezioro-Rubinsky, S., Eslava-Schmalbach, J. H., Otero, L., Rodríguez-Aguirre, S. A., Duque, Á. M., Campos, F. M., Gómez, J. P., Gómez-Arango, S., Posso-Moreno, S. L., Rojas, N. E. ve Garzón-Orjuela, N. (2020). Dental anomalies in permanent teeth associated with nonsyndromic cleft lip and palate in a group of colombian children. *The Cleft Palate-Craniofacial Journal*, 57(1), 73-79.
132. Ely, N. J., Sherriff, M. ve Cobourne, M. T. (2006). Dental transposition as a disorder of genetic origin. *European Journal of Orthodontics*, 28(2), 145-151.
133. Schachter, H. (1951). A treated case of transposed upper canine. *The Dental Record*, 71(6), 105-108.
134. Leonardi, R., Farella, M. ve Cobourne, M. T. (2011). An association between sella turcica bridging and dental transposition. *European Journal of Orthodontics*, 33(4), 461-465.
135. Petersen, B.-S., Fredrich, B., Hoepfner, M. P., Ellinghaus, D. ve Franke, A. (2017). Opportunities and challenges of whole-genome and-exome sequencing. *BMC Genetics*, 18(1), 14.
136. Doğan, M., Recep, E., Hüseyin, Y. ve Özmerdivenli, R. (2017). Yeni nesil dizileme (YND) hakkında bilinenler (Literatür taraması). *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 19(1), 27-30.
137. Wu, R. (1970). Nucleotide sequence analysis of DNA. I. Partial sequence of the cohesive ends of bacteriophage lambda and 186 DNA. *Journal of Molecular Biology*, 51(3), 501-521.
138. Sanger, F., Nicklen, S. ve Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 74(12), 5463-5467.
139. Maxam, A. M. ve Gilbert, W. (1977). A new method for sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(2), 560-564.
140. Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G. ve Erlich, H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 51, 263-273.
141. Mullis, K. B. ve Faloona, F. A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155, 335-350.
142. Bentley, D. R., Balasubramanian, S., Swerdlow, H. P., Smith, G. P., Milton, J., Brown, C. G., ve ark. (2008). Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature*, 456(7218), 53.
143. Ulutin, T. (2005). İnsan genom projesi. *Moleküler Hematoloji ve Sitogenetik Alt Komitesi, Temel Moleküler Hematoloji Kursu*, 70-72.
144. Consortium, I. H. G. S. (2004). Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*, 431(7011), 931.
145. **Green, M. R., Sambrook, J. ve Sambrook, J.** (2012). *Molecular cloning : a laboratory manual*. 4th ed. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

146. Consortium, E. P. (2004). The ENCODE (ENCyclopedia of DNA elements) project. *Science*, 306(5696), 636-640.
147. Margulies, M., Egholm, M., Altman, W. E., Attiya, S., Bader, J. S., Bemben, L. A., ve ark. (2005). Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*, 437(7057), 376.
148. Yang, Y., Muzny, D. M., Xia, F., Niu, Z., Person, R., Ding, Y., ve ark. (2014). Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing. *Journal of the American Medical Association*, 312(18), 1870-1879.
149. Collins, F. S. ve Varmus, H. (2015). A new initiative on precision medicine. *New England Journal of Medicine*, 372(9), 793-795.
150. Laver, T., Harrison, J., O'Neill, P., Moore, K., Farbos, A., Paszkiewicz, K. ve Studholme, D. J. (2015). Assessing the performance of the Oxford nanopore technologies minion. *Biomolecular Detection and Quantification*, 3, 1-8.
151. Darcan, C. ve Türkyılmaz, O. (2018). Yeni nesil dizileme teknolojilerine genel bakış. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 5(1), 41-49.
152. Grada, A. ve Weinbrecht, K. (2013). Next-generation sequencing: methodology and application. *The Journal of Investigative Dermatology*, 133(8), e11.
153. Van Dijk, E. L., Auger, H., Jaszczyszyn, Y. ve Thermes, C. (2014). Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends in Genetics*, 30(9), 418-426.
154. Gilissen, C., Hoischen, A., Brunner, H. G. ve Veltman, J. A. (2012). Disease gene identification strategies for exome sequencing. *European Journal of Human Genetics*, 20(5), 490.
155. Brown, T. L. ve Meloche, T. M. (2016). Exome sequencing a review of new strategies for rare genomic disease research. *Genomics*, 108(3-4), 109-114.
156. Majewski, J., Schwartzenruber, J., Lalonde, E., Montpetit, A. ve Jabado, N. (2011). What can exome sequencing do for you? *Journal of Medical Genetics*, 48(9), 580-589.
157. Rabbani, B., Tekin, M. ve Mahdieh, N. (2014). The promise of whole-exome sequencing in medical genetics. *Journal of Human Genetics*, 59(1), 5.
158. Chilamakuri, C. S. R., Lorenz, S., Madoui, M.-A., Vodák, D., Sun, J., Hovig, E., Myklebost, O. ve Meza-Zepeda, L. A. (2014). Performance comparison of four exome capture systems for deep sequencing. *BMC Genomics*, 15(1), 449.
159. Cakan, D. G., Ulkur, F. ve Taner, T. (2013). The genetic basis of dental anomalies and its relation to orthodontics. *European Journal of Dentistry*, 7(Suppl 1), S143.
160. Segura, J. J., Hattab, F. ve Rios, V. (2002). Maxillary canine transpositions in two brothers and one sister: associated dental anomalies and genetic basis. *Journal of Dentistry for Children*, 69(1), 54-58.
161. Hekmatfar, S., Jafari, K., Zadfatah, F. ve Mousavi, S. (2017). Maxillary canine-second molar transposition: A rare case report. *Journal of Dental Research Dental Clinics Dental Prospects*, 11(2), 131-134.
162. Nambiar, S., Mogra, S. ve Shetty, S. (2014). Transposition of teeth: A forensic perspective. *Journal of Forensic Dental Sciences*, 6(3), 151-153.

163. Andreeva, T. V., Tyazhelova, T. V., Rykalina, V. N., Gusev, F. E., Goltsov, A. Y., Zolotareva, O. I., Aliseichik, M. P., Borodina, T. A., Grigorenko, A. P., Reshetov, D. A., Ginter, E. K., Amelina, S. S., Zinchenko, R.A. ve Rogaev, E. I. (2016). Whole exome sequencing links dental tumor to an autosomal-dominant mutation in ANO5 gene associated with gnathodiaphyseal dysplasia and muscle dystrophies. *Scientific Reports*, 6, 26440.
164. Mano, F., LoBue, S. A., Olsen, T. W., Marmorstein, A. D. ve Pulido, J. S. (2018). A novel missense mutation in BEST1 associated with an autosomal-dominant vitreoretinopathopathy (ADVIRC) phenotype. *Ophthalmic Genetics*, 39(6), 749-753.
165. Latif, Z., Chakchouk, I., Schrauwen, I., Lee, K., Santos-Cortez, R. L. P., Abbe, I., ve ark. (2018). Confirmation of the role of DHX38 in the etiology of early-onset retinitis pigmentosa. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 59(11), 4552-4557.
166. **Boğaziçi Üniversitesi Türkiye Genom Araştırması -Türkiye genom araştırması konusunda sıkça sorulan sorulara cevaplar.** Erişim: 15.1.2020.
<http://turkiyegenomprojesi.boun.edu.tr/sorularacevaplari.html>
167. McCarthy, D. J., Humburg, P., Kanapin, A., Rivas, M. A., Gaulton, K., The WGS500 Consortium, Cazier, J.-B. ve Donnelly, P. (2014). Choice of transcripts and software has a large effect on variant annotation. *Genome Medicine*, 6(3), 26.
168. den Dunnen, J. T., Dalgleish, R., Maglott, D. R., Hart, R. K., Greenblatt, M. S., McGowan-Jordan, J., Roux, A.-F., Smith, T., Antonarakis, S. E. ve Taschner, P. E. M. (2016). HGVS recommendations for the description of sequence variants: 2016 update. *Human Mutation*, 37(6), 564-569.
169. Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., Grody, W. W., Hegde, M., Lyon, E., Spector, E., Voelkerding, K. ve Rehm, H. L. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine*, 17(5), 405-423.
170. Smith, R. J. (1991). Identifying normal and abnormal development of dental occlusion. *Pediatric Clinics of North America*, 38(5), 1149-1171.
171. Miletich, I. ve Sharpe, P. T. (2003). Normal and abnormal dental development. *Human Molecular Genetics*, 12 Spec No 1, R69-73.
172. De Coster, P. J., Marks, L. A., Martens, L. C. ve Huysseune, A. (2009). Dental agenesis: genetic and clinical perspectives. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 38(1), 1-17.
173. Telang, L., Nerali, J., Telang, A. ve Chakravarthy, P. (2012). A rare case report of bilateral maxillary canine. *Annals of Dentistry University of Malaya*, 19(1), 24-27.
174. Mattos, B. S. C., Carvalho, J. C. M., Matusita, M. ve Alves, A. P. P. P. (2006). Tooth transposition-A literature review and a clinical case. *Brazilian Journal of Oral Sciences*, 5(16), 953-957.
175. Türkkahraman, H., Sayın, M. ve Yılmaz, H. H. (2005). Maxillary canine transposition to incisor site: a rare condition. *The Angle Orthodontist*, 75(2), 284-287.

176. Jackson, M. (1951). Upper canine in position of upper central incisor. *British Dental Journal*, 90(9), 243.
177. Peck, S., Peck, L. ve Hirsh, G. (1997). Mandibular lateral incisor-canine transposition in monozygotic twins. *ASDC Journal of Dentistry for Children*, 64(6), 409.
178. Dinckan, N., Du, R., Petty, L. E., Coban-Akdemir, Z., Jhangiani, S. N., Paine, I., Baugh, E. H., Erdem, A. P., Kayserili, H., Doddapaneni, H., Hu, J., Muzny, D. M., Boerwinkle, E., Gibbs, R. A., Lupski, J. R., Uyguner, Z. O., Below, J. E. ve Letra, A. (2018). Whole-exome sequencing identifies novel variants for tooth agenesis. *Journal of Dental Research*, 97(1), 49-59.
179. Salvi, A., Giacomuzzi, E., Bardellini, E., Amadori, F., Ferrari, L., De Petro, G., Borsani, G. ve Majorana, A. (2016). Mutation analysis by direct and whole exome sequencing in familial and sporadic tooth agenesis. *International Journal of Molecular Medicine*, 38(5), 1338-1348.
180. Takahashi, M., Hosomichi, K., Yamaguchi, T., Yano, K., Funatsu, T., Adel, M., Haga, S., Maki, K. ve Tajima, A. (2017). Whole-exome sequencing analysis of supernumerary teeth occurrence in Japanese individuals. *Human Genome Variation*, 4, 16046.
181. Ma, D., Wang, X., Guo, J., Zhang, J. ve Cai, T. (2018). Identification of a novel mutation of RUNX2 in a family with supernumerary teeth and craniofacial dysplasia by whole-exome sequencing: a case report and literature review. *Medicine*, 97(32).
182. Poulter, J. A., El-Sayed, W., Shore, R. C., Kirkham, J., Inglehearn, C. F. ve Mighell, A. J. (2014). Whole-exome sequencing, without prior linkage, identifies a mutation in LAMB3 as a cause of dominant hypoplastic amelogenesis imperfecta. *European Journal of Human Genetics*, 22(1), 132-135.
183. Lu, T., Li, M., Xu, X., Xiong, J., Huang, C., Zhang, X., Hu, A., Peng, L., Cai, D., Zhang, L., Wu, B. ve Xiong, F. (2018). Whole exome sequencing identifies an AMBN missense mutation causing severe autosomal-dominant amelogenesis imperfecta and dentin disorders. *International Journal of Oral Science*, 10(3), 26.
184. Wang, S. K., Hu, Y., Simmer, J. P., Seymen, F., Estrella, N. M., Pal, S., Reid, B. M., Yildirim, M., Bayram, M., Bartlett, J. D. ve Hu, J. C.-C. (2013). Novel KLK4 and MMP20 mutations discovered by whole-exome sequencing. *Journal of Dental Research*, 92(3), 266-271.
185. Bloch-Zupan, A., Jamet, X., Etard, C., Laugel, V., Muller, J., Geoffroy, V., Strauss, J.-P., Pelletier, V., Marion, V., Poch, O., Strahle, U., Stoetzel, C. ve Dollfus, H. (2011). Homozygosity mapping and candidate prioritization identify mutations, missed by whole-exome sequencing, in SMOC2, causing major dental developmental defects. *The American Journal of Human Genetics*, 89(6), 773-781.
186. Gu, K., Chang, S., Ritchie, H. H., Clarkson, B. H. ve Rutherford, R. B. (2000). Molecular cloning of a human dentin sialophosphoprotein gene. *European Journal of Oral Sciences*, 108(1), 35-42.
187. Ogbureke, K. U. ve Fisher, L. W. (2007). SIBLING expression patterns in duct epithelia reflect the degree of metabolic activity. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 55(4), 403-409.

188. MacDougall, M., Simmons, D., Luan, X., Nydegger, J., Feng, J. ve Gu, T. T. (1997). Dentin phosphoprotein and dentin sialoprotein are cleavage products expressed from a single transcript coded by a gene on human chromosome 4 - Dentin phosphoprotein DNA sequence determination. *Journal of Biological Chemistry*, 272(2), 835-842.
189. Ogbureke, K. U. ve Fisher, L. W. (2005). Renal expression of SIBLING proteins and their partner matrix metalloproteinases (MMPs). *Kidney international*, 68(1), 155-166.
190. Sreenath, T., Thyagarajan, T., Hall, B., Longenecker, G., D'Souza, R., Hong, S., Wright, J. T., MacDougall, M., Sauk, J. ve Kulkarni, A. B. (2003). Dentin sialophosphoprotein knockout mouse teeth display widened predentin zone and develop defective dentin mineralization similar to human dentinogenesis imperfecta type III. *Journal of Biological Chemistry*, 278(27), 24874-24880.
191. Yamashiro, T., Zheng, L., Shitaku, Y., Saito, M., Tsubakimoto, T., Takada, K., Yamamoto-Takano, T. ve Thesleff, I. (2007). Wnt10a regulates dentin sialophosphoprotein mRNA expression and possibly links odontoblast differentiation and tooth morphogenesis. *Differentiation*, 75(5), 452-462.
192. Song, S., Zhao, R., He, H., Zhang, J., Feng, H. ve Lin, L. (2014). WNT10A variants are associated with non-syndromic tooth agenesis in the general population. *Human Genetics*, 133(1), 117-124.
193. Xiao, S., Yu, C., Chou, X., Yuan, W., Wang, Y., Bu, L., Fu, G., Qian, M., Yang, J., Shi, Y., Hu, L., Han, B., Wang, Z., Huang, W., Liu, J., Chen, Z., Zhao, G. Kong, X. (2001). Dentinogenesis imperfecta 1 with or without progressive hearing loss is associated with distinct mutations in DSPP. *Nature Genetics*, 27(2), 201-204.
194. Zhang, X., Zhao, J., Li, C., Gao, S., Qiu, C., Liu, P., Wu, G., Qiang, B., Lo, W. H. Y. ve Shen, Y. (2001). DSPP mutation in dentinogenesis imperfecta shields type II. *Nature Genetics*, 27(2), 151-152.
195. Lee, S.-K., Hu, J. C.-C., Lee, K.-E., Simmer, J. P. ve Kim, J.-W. (2008). A dentin sialophosphoprotein mutation that partially disrupts a splice acceptor site causes type II dentin dysplasia. *Journal of Endodontics*, 34(12), 1470-1473.
196. Barron, M. J., McDonnell, S. T., MacKie, I. ve Dixon, M. J. (2008). Hereditary dentine disorders: dentinogenesis imperfecta and dentine dysplasia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 3(1), 31.
197. Sapir, S. ve Shapira, J. (2001). Dentinogenesis imperfecta: an early treatment strategy. *Pediatric Dentistry*, 23(3), 232-237.
198. Whittock, N. V., Ashton, G. H., Dopping-Hepenstal, P. J., Gratian, M. J., Keane, F. M., Eady, R. A. ve McGrath, J. A. (1999). Striate palmoplantar keratoderma resulting from desmoplakin haploinsufficiency. *Journal of Investigative Dermatology*, 113(6), 940-946.
199. Bitar, F., Najjar, T., Hayashi, R., Nemer, G., Shigehara, Y., Hamie, L., Abbas, O., Kibbi, A. G., Shimomura, Y. ve Kurban, M. (2016). A novel heterozygous mutation in desmoplakin gene in a Lebanese patient with Carvajal syndrome and tooth agenesis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 30(12), e217.
200. Armstrong, D. K. B., McKenna, K. E., Purkis, P. E., Green, K. J., Eady, R. A., Leigh, I. M. ve Hughes, A. E. (1999). Haploinsufficiency of

- desmoplakin causes a striate subtype of palmoplantar keratoderma. *Human Molecular Genetics*, 8(1), 143-148.
201. Norgett, E. E., Hatsell, S. J., Carvajal-Huerta, L., Ruiz Cabezas, J.-C., Common, J., Purkis, P. E., Whittock, N., Leigh, I. M., Stevens, H. P. ve Kelsell, D. P. (2000). Recessive mutation in desmoplakin disrupts desmoplakin–intermediate filament interactions and causes dilated cardiomyopathy, woolly hair and keratoderma. *Human Molecular Genetics*, 9(18), 2761-2766.
 202. Jonkman, M. F., Pasmooij, A. M., Pasmans, S. G., van den Berg, M. P., ter Horst, H. J., Timmer, A. ve Pas, H. H. (2005). Loss of desmoplakin tail causes lethal acantholytic epidermolysis bullosa. *The American Journal of Human Genetics*, 77(4), 653-660.
 203. Boulé, S., Fressart, V., Laux, D., Mallet, A., Simon, F., de Groote, P., Bonnet, D., Klug, D. ve Charron, P. (2012). Expanding the phenotype associated with a desmoplakin dominant mutation: Carvajal/Naxos syndrome associated with leukonychia and oligodontia. *International Journal of Cardiology*, 161(1), 50-52.
 204. Boyden, L. M., Kam, C. Y., Hernández-Martín, A., Zhou, J., Craiglow, B. G., Sidbury, R., Mathes, E. F., Maguiness, S. M., Crumrine, D. A., Williams, M. L., Hu, R., Lifton, R. P., Elias, P. M., Green, K. J. ve Choate, K. A. (2016). Dominant de novo DSP mutations cause erythrokeratoderma-cardiomyopathy syndrome. *Human Molecular Genetics*, 25(2), 348-357.
 205. Chalabreysse, L., Senni, F., Bruyère, P., Aime, B., Ollagnier, C., Bozio, A. ve Bouvagnet, P. (2011). A new hypo/oligodontia syndrome: Carvajal/Naxos syndrome secondary to desmoplakin-dominant mutations. *Journal of Dental Research*, 90(1), 58-64.
 206. Zeng, B., Lu, H., Xiao, X., Yu, X., Li, S., Zhu, L., Yu, D. ve Zhao, W. (2019). KDF1 is a novel candidate gene of non-syndromic tooth agenesis. *Archives of Oral Biology*, 97, 131-136.
 207. Ruppert, J. M., Kinzler, K. W., Wong, A. J., Bigner, S. H., Kao, F.-T., Law, M. L., Seunemann, H. N., O'Brien, S. J. ve Vogelstein, B. (1988). The GLI-Kruppel family of human genes. *Molecular and Cellular Biology*, 8(8), 3104-3113.
 208. Ruppert, J. M., Vogelstein, B., Arheden, K. ve Kinzler, K. W. (1990). GLI3 encodes a 190-kilodalton protein with multiple regions of GLI similarity. *Molecular and Cellular Biology*, 10(10), 5408-5415.
 209. Laclef, C., Anselme, I., Besse, L., Catala, M., Palmyre, A., Baas, D., Paschaki, M., Pedraza, M., Métin, C., Durand, B. ve Schneider-Maunoury, S. (2015). The role of primary cilia in corpus callosum formation is mediated by production of the Gli3 repressor. *Human Molecular Genetics*, 24(17), 4997-5014.
 210. Kang, S., Rosenberg, M., Ko, V. D. ve Biesecker, L. G. (1997). Gene structure and allelic expression assay of the human GLI3 gene. *Human Genetics*, 101(2), 154-157.
 211. Wild, A., Kalff-Suske, M., Vortkamp, A., Bornholdt, D., König, R. ve Grzeschik, K.-H. (1997). Point mutations in human GLI3 cause Greig syndrome. *Human Molecular Genetics*, 6(11), 1979-1984.

212. Hardcastle, Z., Mo, R., Hui, C. ve Sharpe, P. T. (1998). The Shh signalling pathway in tooth development: defects in Gli2 and Gli3 mutants. *Development*, 125(15), 2803-2811.
213. Zurawel, R. H., Allen, C., Chiappa, S., Cato, W., Biegel, J., Cogen, P., de Sauvage, F. ve Raffel, C. (2000). Analysis of PTCH/SMO/SHH pathway genes in medulloblastoma. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 27(1), 44-51.
214. Dassule, H. R., Lewis, P., Bei, M., Maas, R. ve McMahon, A. P. (2000). Sonic hedgehog regulates growth and morphogenesis of the tooth. *Development*, 127(22), 4775-4785.
215. Harjunmaa, E., Kallonen, A., Voutilainen, M., Hämäläinen, K., Mikkola, M. L. ve Jernvall, J. (2012). On the difficulty of increasing dental complexity. *Nature*, 483(7389), 324-327.
216. Motoyama, J., Liu, J., Mo, R., Ding, Q., Post, M. ve Hui, C.-c. (1998). Essential function of Gli2 and Gli3 in the formation of lung, trachea and oesophagus. *Nature Genetics*, 20(1), 54-57.
217. Litingtung, Y., Dahn, R. D., Li, Y., Fallon, J. F. ve Chiang, C. (2002). Shh and Gli3 are dispensable for limb skeleton formation but regulate digit number and identity. *Nature*, 418(6901), 979-983.
218. Altamirano, A. R. (1999). Gli proteins and Hedgehog signaling: development and cancer. *Trends in Genetics*, 15(10), 418-425.
219. Sasaki, H., Nishizaki, Y., Hui, C.-c., Nakafuku, M. ve Kondoh, H. (1999). Regulation of Gli2 and Gli3 activities by an amino-terminal repression domain: implication of Gli2 and Gli3 as primary mediators of Shh signaling. *Development*, 126(17), 3915-3924.
220. Kang, S., Graham, J. M., Jr., Olney, A. H. ve Biesecker, L. G. (1997). GLI3 frameshift mutations cause autosomal dominant Pallister-Hall syndrome. *Nature Genetics*, 15(3), 266-268.
221. Vortkamp, A., Gessler, M. ve Grzeschik, K. H. (1991). GLI3 zinc-finger gene interrupted by translocations in Greig syndrome families. *Nature*, 352(6335), 539-540.
222. Liu, H., Han, D., Wong, S., Nan, X., Zhao, H. ve Feng, H. (2013). rs929387 of GLI3 is involved in tooth agenesis in Chinese Han population. *PLOS One*, 8(11), e80860.
223. Marañón-Vásquez, G. A., Dantas, B., Kirschneck, C., Arid, J., Cunha, A., Ramos, A. G. C., ve ark. (2019). Tooth agenesis-related GLI2 and GLI3 genes may contribute to craniofacial skeletal morphology in humans. *Archives of Oral Biology*, 103, 12-18.
224. Cunha, A. S., Dos Santos, L. V., Marañón-Vásquez, G. A., Kirschneck, C., Gerber, J. T., Stuari, M. B., Matsumoto, M. A. N., Vieira, A. R., Scariot, R. ve Küchler, E. C. (2020). Genetic variants in tooth agenesis-related genes might be also involved in tooth size variations. *Clinical Oral Investigations*, 1-12.
225. Hatsell, S. J. ve Cowin, P. (2006). Gli3-mediated repression of Hedgehog targets is required for normal mammary development. *Development*, 133(18), 3661-3670.
226. Sarkar, L., Cobourne, M., Naylor, S., Smalley, M., Dale, T. ve Sharpe, P. T. (2000). Wnt/Shh interactions regulate ectodermal boundary formation during mammalian tooth development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(9), 4520-4524.

227. Ahn, Y., Sanderson, B. W., Klein, O. D. ve Krumlauf, R. (2010). Inhibition of Wnt signaling by Wise (Sostdc1) and negative feedback from Shh controls tooth number and patterning. *Development*, 137(19), 3221-3231.
228. Li, Z., Yu, M. ve Tian, W. (2013). An inductive signalling network regulates mammalian tooth morphogenesis with implications for tooth regeneration. *Cell proliferation*, 46(5), 501-508.
229. **Shadad, O.** (2016). *Semaphorin Signalling in Neuronal and Vascular Development in the Tooth*. (Doktora Tezi). University of Bergen, Faculty of Medicine and Dentistry, Department of Biomedicine, Bergen, Norveç.
230. **Mustonen, T.** (2004). *Ectodermal organ development: regulation by Notch and Eda pathways*. (Doktora Tezi). University of Helsinki, Faculty of Biosciences, Department of Biological and Environmental Sciences, Helsinki, Finlandiya.
231. Ross, D. A. ve Kadesch, T. (2001). The notch intracellular domain can function as a coactivator for LEF-1. *Molecular and Cellular Biology*, 21(22), 7537-7544.
232. Mitsiadis, T. A., Henrique, D., Thesleff, I. ve Lendahl, U. (1997). Mouse Serrate-1 (Jagged-1): expression in the developing tooth is regulated by epithelial-mesenchymal interactions and fibroblast growth factor-4. *Development*, 124(8), 1473-1483.
233. **Mokhtar, K. I.** (2007). *The Role of Jagged2 (Jag2) During Secondary Palate Development*. (Doktora Tezi). The University of Manchester, Faculty of Life Sciences, Manchester, Birleşik Krallık.
234. Siar, C. H., Nagatsuka, H., Chuah, K. S., Rivera, R. S., Nakano, K., Ng, K. H. ve Kawakami, T. (2010). Notch4 overexpression in ameloblastoma correlates with the solid/multicystic phenotype. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 110(2), 224-233.
235. Artavanis-Tsakonas, S., Rand, M. D. ve Lake, R. J. (1999). Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science*, 284(5415), 770-776.
236. Cai, X., Gong, P., Huang, Y. ve Lin, Y. (2011). Notch signalling pathway in tooth development and adult dental cells. *Cell Proliferation*, 44(6), 495-507.
237. Peters, H. ve Balling, R. (1999). Teeth: where and how to make them. *Trends in Genetics*, 15(2), 59-65.
238. Sowers, L. P., Loo, L., Wu, Y., Campbell, E., Ulrich, J., Wu, S., Paemka, L., Wassink, T., Meyer, K., Bing, X., El-Shanti, H., Usachev, Y. M., Ueno, N., Manak, R. J., Shepherd, A. J., Ferguson, P. J., Darbro, B. W., Richerson, G. B., Mohapatra, D. P., Wemmie, J. A. ve Bassuk, A. G. . (2013). Disruption of the non-canonical Wnt gene PRICKLE2 leads to autism-like behaviors with evidence for hippocampal synaptic dysfunction. *Molecular Psychiatry*, 18(10), 1077-1089.
239. Katoh, M. ve Katoh, M. (2003). Identification and characterization of human PRICKLE1 and PRICKLE2 genes as well as mouse Prickle1 and Prickle2 genes homologous to Drosophila tissue polarity gene prickle. *International Journal of Molecular Medicine*, 11(2), 249-256.
240. **Prickle, Planar Cell Polarity Protein 2; Prickle2; 608501.** (1996-2020). Erişim Tarihi 15.03.2020

<https://www.omim.org/entry/608501?search=prickle2&highlight=prickle2#5>

241. Tao, H., Manak, J. R., Sowers, L., Mei, X., Kiyonari, H., Abe, T., ve ark. (2011). Mutations in prickle orthologs cause seizures in flies, mice, and humans. *The American Journal of Human Genetics*, 88(2), 138-149.
242. Obara, N., Suzuki, Y., Irie, K. ve Shibata, S. (2017). Expression of planar cell polarity genes during mouse tooth development. *Archives of Oral Biology*, 83, 85-91.
243. Özdil, B., Gürel, Ç., Kılıç, K. D., Kuşçu, G. C., Adalı, Y. ve Aktuğ, H. (2017). Hücre içi trafik ve hücre davranış özellikleri. *Ege Tıp Dergisi*, 56(2), 102-110.
244. Shafer, B., Onishi, K., Lo, C., Colakoglu, G. ve Zou, Y. (2011). Vangl2 promotes Wnt/planar cell polarity-like signaling by antagonizing Dvl1-mediated feedback inhibition in growth cone guidance. *Developmental Cell*, 20(2), 177-191.
245. Nishikawa, S. ve Kawamoto, T. (2015). Localization of core planar cell polarity proteins, PRICKLES, in ameloblasts of rat incisors: possible regulation of enamel rod decussation. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 14046.
246. Vladar, E. K., Bayly, R. D., Sangoram, A. M., Scott, M. P. ve Axelrod, J. D. (2012). Microtubules enable the planar cell polarity of airway cilia. *Current Biology*, 22(23), 2203-2212.
247. Tamura, M. ve Nemoto, E. (2016). Role of the Wnt signaling molecules in the tooth. *Japanese Dental Science Review*, 52(4), 75-83.
248. Huang, X., Goudy, S. L., Ketova, T., Litington, Y. ve Chiang, C. (2008). Gli3-deficient mice exhibit cleft palate associated with abnormal tongue development. *Developmental Dynamics*, 237(10), 3079-3087.
249. Ranta, R. (1986). A review of tooth formation in children with cleft lip/palate. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 90(1), 11-18.
250. Cakan, D. G., Yilmaz, R. B. N., Bulut, F. N. ve Aksoy, A. (2018). Dental anomalies in different types of cleft lip and palate: is there any relation? *Journal of Craniofacial Surgery*, 29(5), 1316-1321.
251. Howe, B. J., Cooper, M. E., Vieira, A. R., Weinberg, S. M., Resick, J. M., Nidey, N. L., Wehby, G. L., Marazita, M. L. ve Uribe, L. M. M. (2015). Spectrum of dental phenotypes in nonsyndromic orofacial clefting. *Journal of Dental Research*, 94(7), 905-912.
252. Korolenkova, M., Starikova, N. ve Udalova, N. (2019). The role of external aetiological factors in dental anomalies in non-syndromic cleft lip and palate patients. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 20(2), 105-111.
253. Delaire, J. (1979). Anatomy and physiology of the nasolabial muscles in normal patients and patients with surgically treated cleft lips and palates. Outcome in the treatment of the surgical results during the orthodontic period. *Archivio Stomatologico*, 20(4), 477.



EKLER

EK A: Etik Kurul Kararı

EK B: Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP Birimi Desteklenmiş Proje Sözleşmesi

EK C: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

EK D: Sendromik Olmayan Dental Transpozisyon Muayene Formu



EK A: Etik Kurul Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 27/06/2018-10276

**BEZMİÂLEM**
VAKIF ÜNİVERSİTESİ

T.C.
BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 71306642-050.01.04-
Konu : Etik Kurul Kararı

Sayın Prof.Dr. Gökmen KURT
Ortodonti Anabilim Dalı Başkanlığı - Anabilim Dalı Başkanı

06.06.2018 tarihinde yapılan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu toplantısında
"Ailesel Dental Transpozisyon Olgularında Ekzom Dizileme Yöntemi Kullanılarak Aday Gen
Araştırılması" başlıklı başvurunuz değerlendirilmiş olup karar yazısı ektedir.
Bilgilerinize.

e-imzalıdır
Prof.Dr. Özcan KARAMAN
Başkan

Ek: -Karar yazısı (3 sayfa)

27/06/2018 Mem. Merve İNCE

Adres: Bezmialem Vakıf Üniversitesi Adnan Menderes Bulvarı (Vatan Caddesi) Fatih / İstanbul
Telefon: 0 (212) 523 22 88 Faks: 0 (212) 533 23 26
e-Posta: info@bezmialem.edu.tr Elektronik Ağ: www.bezmialem.edu.tr

Bilgi için: Merve İNCE
Unvanı: Memur

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Ailesel Dental Transpozisyon Olgularında Ekzon Dizileme Yöntemi Kullanılarak Aday Gen Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

06.06.2018

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ	İdesi 34093 Fatih/İstanbul
	TELEFON	
	FAKS	
	E-POSTA	

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Gökmen KURT			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Ortodonti			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP Birimine başvuru yapılacaktır.			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
Gözlemsel ilaç çalışması		☐			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		☐			
In vitro tıbbi tam cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐			
İlaç dışı klinik araştırma (akademik amaçlı / uzmanlık tezi)		☒	Gen tedavisi klinik araştırması		
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Version Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	15.05.2018	1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	-	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

Etik Kurul Başkanı
Prof. Dr. Özcan K.

Sayfa 1 / 3

GAZİ İZMİR VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Ailesel Dental Transpozisyon Olgularında Ekzom Dizileme Yöntemi Kullanılarak Adlay Gen Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
		SIGORTA	☐
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	28.09.2015, V.2, 15.05.2018 imza tarihli
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☒	- Klinik Araştırma Başvuru Formu (doküman no: KA-2, 01.08.2016) - Sorumlu araştırmacı ve yardımcı araştırmacılara ait özgeçmiş formları - Çalışmanın Helsinki Bildirgesi, İKÜ/İLU' ya uygun yürütüleceğine dair taahhütname - Araştırma ile ilgili yayınlar
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 11 / 28	Tarih: 06.06.2018	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacı/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmacı/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU

ARAŞTIRILANIN ADI	Ailesel Dental Transpozisyon Olgularında Ekzom Dizileme Yöntemi Kullanılarak Aday Gen Araştırılması
ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Özcan KARAMAN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişkisi	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Özcan KARAMAN	İç Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Selhattin TUĞRUL	Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Dr. Öğr. Üyesi Harun BAŞOĞLU	Biyofizik	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Arzu ŞAKUL	Tabii Farmakoloji	Medipol Üniversitesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Akın İŞCAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ali Akçahan GEPDİREMEN	Tabii Farmakoloji	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ümmihan İŞOĞLU	Fizyoloji	İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ÜYÜKLÜ	Fizyoloji	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Dr. Öğr. Üyesi Meltem BAKKAL	Pedodonti	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Dr. Öğr. Üyesi Alper YENİGÜN	Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Ömer UYSAL	Bioistatistik ve Tıp Bilişimi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Tülin KUZU	Sivil Üye	-	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Avukat Mustafa Fırat ALKAYA	Hukuk	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

* :Toplantıda Bulunma

Karar: ☒ Onaylandı ☐ Reddedildi

Sayfa 3 / 3

Etik Kurul Başkanı
Prof. Dr. Özcan KARAMAN

EK B: Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP Birimi Desteklenmiş Proje Sözleşmesi

BEZMİALEM VAKIF

ÜNİVERSİTESİ

BAP Birimi

DESTEKLENMİŞ PROJE SÖZLEŞMESİ

1. Bu sözleşme, Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP Birimi Komisyonu tarafından desteklenmesine karar verilen ve aşağıda başlığı, numarası ve bütçesi belirtilen projenin, Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP Birimi Yönergesi'yle belirlenen esaslar dahilinde yürütülmesi ve sonuçlandırılması amacıyla Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP Birimi Komisyonu adına Komisyon Başkanı ile proje yöneticisi arasında aşağıda belirlenen koşullarla imzalanmıştır.

Projenin Başlığı	Ailesel dental transpozisyon olgularında ekzom dizileme yöntemi kullanılarak aday gen araştırılması	
Proje No: 9.2018/6		Proje Bütçesi: 20.000,00 TL
Proje Yöneticisi: Prof.Dr.Gökmen KURT		

2. Proje yöneticisi, projenin Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP Birimi yönergesi ve bu sözleşme hükümlerinde öngörülen amaç, kapsam, süre ve diğer hususlara uygun olarak yürütülmesi ve sonuçlandırılmasından sorumludur.

3. Desteklenmesi kabul edilen projenin amaç, kapsam, süre, program, ve bütçesinde yapılacak değişiklikler, BAP Birimi Komisyonu'nun kararıyla mümkündür.

4. Proje yöneticisi, proje başvuru formunda belirtilen tarihlerde ara ve sonuç raporlarını istenilmeden teslim etmek zorundadır. Ayrıca, istenildiğinde proje ile ilgili ayrıntılı bilgileri ve kayıtları BAP Birimi Komisyonu'na vermekle yükümlüdür. Ara raporların, kabul edilebilir mazeret bildirmeksizin belirlenen tarihlerde teslim edilmemesi halinde proje yöneticisine ödeme yapılmaz ve bu durumda BAP Birimi Komisyonu projeyi iptal edebilir. Zorunlu durumlarda proje yöneticisi ve/veya araştırmacıların değiştirilmesi kararını verir.

5. Proje yöneticisi, tamamlanan projenin tüm yönlerini ve sonuçlarını kapsayan sonuç raporunu yönergeye uygun biçim ve sürede BAP Birimi Komisyonu'na vermekle yükümlüdür. Sonuç raporunun kabul edilen sürede sunulmaması veya kabul edilebilir bir mazeret bildirilmemesi halinde proje iptal edilir.

6. Proje yöneticisi, proje ile ilgili verileri ve bulguları, yayınladığı her türlü yazı, makale ve sunduğu bildirilerde "Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP Birimi Komisyonu tarafından desteklenmiştir" ibaresini belirtmek zorundadır.
7. Bilimsel ve tıbbi etiğe aykırılık tespit edilen projeler hakkında "Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP Birimi Yönergesi"nin ilgili maddelerine göre işlem yapılır.
8. Proje ile ilgili çalışmaların sürdürülmesinde, iş yeri ve proje çalışanları yönünden çalışmanın gerektirdiği her türlü güvenlik önlemlerinin alınmasından proje yöneticisi sorumludur.
9. Projenin gerçekleştirilmesi sonucunda bir iktira meydana gelirse bu iktira ve projeden elde edilen bilimsel sonuçların telif hakkı Bezmialem Vakıf Üniversitesine aittir.
10. Bilimsel araştırma projelerinin ödeneklerinin nakit akışında meydana gelebilecek kısıntıların neden olacağı aksamalar zorunlu sebep olarak kabul edileceğinden, bu nedenle işbu sözleşme ile öngörülen toplam maddi destek miktarı ve ödeme planında meydana gelecek aksamalardan taraflar sorumlu tutulamazlar.
11. Proje kapsamında alınan araç, gereç, vs üniversitemiz öğretim elemanlarının kullanımına açıktır.
12. / 2018 tarihinde taraflarca imzalanan bu sözleşmenin yürürlük süresi ay / yıldır. Proje yöneticisine ek süre verilmesi halinde bu sözleşme ek sürede de geçerli olup, ayrı bir sözleşme imzalanmaz.

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
BAP Birimi Komisyonu Başkanı

Adı Prof. Dr. Orhan ÖZTURAN

İmza

Proje Yöneticisi

Adı Prof.Dr.Gökmen KURT

İmza

EK C: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Ailesel Dental Transpozisyon Olgularında Ekzom Dizileme Yöntemi Kullanılarak Aday Gen Araştırılması

*Aşağıda bilgileri yer almakta olan bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını, bilgilerinizin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neleri içerdiğini, olası yararları ve risklerini ya da rahatsızlık verebilecek yönlerini anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız. Eğer çalışmaya katılma kararı vererseniz, **Çalışmaya Katılma Onay Formunu** imzalayınız.*

Sayın katılımcımız,

Projemizde; dental transpozisyon (dişlerin yer değiştirerek sürmesi) tanımlı hastalardan ve sağlıklı aile bireylerinden ağız içi epitel dokusu örnekleri alınacaktır. Bu örnekler laboratuvar ortamında ‘tüm ekzom dizileme’ yöntemiyle analiz edilerek genetik inceleme yapılacaktır. Sağlıklı ve etkilenmiş bireylerin örnekleri birbiriyle kıyaslanacaktır. Bu kıyaslama sonucu dental transpozisyona sebebiyet veren gen değişimleri ve mutasyonları belirlenecektir.

Ağız içerisinden fırça yardımıyla doku örneği alınacaktır. Az miktarda kanama ihtimali dışında herhangi bir riski bulunmamaktadır.

Bu çalışmaya katıldığınızda, dişlerin yer değiştirerek sürmesine sebebiyet veren genlerin tespit edilmesine katkıda bulunarak, daha ileri tedavilerin uygulanabilmesine yardımcı olacaksınız. Bu araştırma çalışması herhangi bir tedavi yöntemi içermemektedir, sadece tanısal yaklaşım sağlamaktadır.

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Çalışmaya katılmak için herhangi bir maddi yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Kişisel bilgileriniz araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanılacak olup tamamen gizli tutulacaktır. Yalnızca gereği halinde, bilgilerinizi etik kurullar ve resmi makamlar inceleyebilir. Çalışma bittiğinde kendi sonuçlarınızla alakalı bilgi istemeye hakkınız vardır. Sonuçlar tıbbi literatürde yayınlanabilir fakat kişisel bilgileriniz tamamen gizli kalacaktır.

Yukarıdaki bilgileri okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü

açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

**Gereği Halinde İrtibata
Geçilecek Araştırmacı:
Dt. Abdurrahman
BALABAN/05423050026**

Gönüllünün: Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no.)

Gönüllünün yasal velisinin: Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no.)

Açıklamaları yapan araştırmacının: Adı-soyadı, İmzası

**Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin:
Adı-soyadı, İmzası, Görevi**

EK D: Sendromik Olmayan Dental Transpozisyon Muayene Formu

NON-SENDROMİK DENTAL TRANSPOZİSYON MUAYENE FORMU

Olgu No:

Tarih:

Protokol No:

DNA No:

Ad-Soyad:

D.T/Yaşı:

Cinsiyet:

Adres Bilgileri:

Tel:

Özgeçmiş:

Akrabalık:

Soygeçmiş:

Antenatal/Natal/Postnatal:

Öykü:

Psikososyal Motor Gelişme:

Aile Ağacı:

Fizik Muayene:

Baş Çevresi:

Tartı:

Boy:

Ağız-İçi Bulgular:

Kraniyofasiyal Bulgular:

Sistemik Muayene:

Panoramik Görüntüleme:

Ek Tetkikler:

Pozitif Bulgular:

TANI:

Moleküler Analizler:

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

ADI, SOYADI			
DOĞUM TARİHİ ve YERİ		Posta	

Eğitim

Mezun olduğu yıllar	Okullar
2006	Milli Egemenlik İlköğretim Okulu Tavşanlı/Kütahya
2010	Kütahya Nafi Güral Fen Lisesi Kütahya/Merkez
2015	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği İstanbul/Fatih

Akademik Deneyim

Görev Dönemi	Ünvan	Bölüm	Üniversite
2016-2020	Diş Hekimliğinde Uzmanlık Öğrencisi	Ortodonti Anabilim Dalı	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Katıldığı bilimsel toplantılar ve sunumlar

16. Uluslararası Türk Ortodonti Derneği Kongresi'nde "Açık Kapanış Vakasının Dört Premolar Çekimi ile Tedavisi" konulu vaka sunumu.

16. Uluslararası Türk Ortodonti Derneği Sempozyumu'nda de 'Multidisipliner Tedavi: Non-Sendromik Oligodonti ve Lateral Openbite Vakası' konulu ödüle aday vaka sunumu.

Uluslararası Yayınlar

Aksakalli, S., Balaban, A., Nazaroglu, K., & Saglam, E. (2017). Accelerated Tooth Movement with Orthodontic Mini-Screws. Case reports in dentistry, 2017.