

PAPER DETAILS

TITLE: Sendromik Olmayan Konjenital Yarik Damak-Dudak Bulunan Hastalarda Kopya Sayisi Varyasyonlarinin Belirlenmesi

AUTHORS: Emine Ikbali ATLI,Engin ATLI,Sinem YALÇINTEPE,Selma DEMİR,Yasemin ÖZTEN,Hakan GURKAN

PAGES: 462-470

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/1688413>

Sendromik Olmayan Konjenital Yarık Damak-Dudak Bulunan Hastalarda Kopya Sayısı Varyasyonlarının Belirlenmesi

Determination of Copy Number Variations in Non-Syndromic Congenital Cleft Palate - Lip Patients

Emine İkbal Atlı, Engin Atlı, Sinem Yalçın-tepe, Selma Demir, Yasemin Özen, Hakan Gürkan













Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Edirne, Türkiye

Özet

Dudak damak yarığı en sık görülen kraniyofasiyal anomalidir. Olguların %70 inde eşlik eden anomali bulunmaz ve non sendromik dudak damak yarığı olarak adlandırılır. Genetik bilimde moleküler ve kantitatif olarak meydana gelen gelişmeler bu patolojinin sendromik ve sendromik olmayan her iki tipinde de genetik mekanizmalarının rol oynuyor olabileceğini düşündürmektedir. Sendromik olmayan yarık dudak/damak, embriyonik dönemde gerçekleşen yaygın bir gelişimsel anormalliktir. Bu çalışma, yarık dudak/damak patogeneğinde yer alan kopya sayısı değişimlerine bağlı genetik anormallikleri tanımlamak amacı taşımaktadır. Genom çapında kopya sayısı varyasyonlarını saptama hedefli CytoScan 180K dizisi kullanılarak yaptığımız çalışma, 1-15 yaşları arasındaki 17 yarık damak dudak olan hasta örneği ile gerçekleştirilmiştir. Yedi önemli kopya sayısı değişimi saptanmıştır. Bu değişimler yarık damak dudak hastalarında, duplikasyonlardan (9p23-p24, 18q12.1, Xp22.12, Xp22.31, Yq11.21/16q24.1) ve delesyonlardan (5q21.3 ve 6p22.3-23) oluşuyordu. Genetik faktörlerin sendromik olmayan vakalarda da rol oynadığı çalışmamız ile de gösterilmiştir. Daha geniş ölçekli genom tarama çalışmaları farklı populasyonlarda da devam etmektedir. İleriye yönelik hasta yönetiminde göz önünde tutulması gereken; aile ve akrabalarda yarık dudak ve damak bulunması halinde sonraki çocukta yarık damak dudak görülme riskinin arttığıdır. Anne babanın etkilenmediği sporadik vakalarda dahi, bir sonraki çocukta oral yarık riskinin arttığı göz önünde tutulmalı ve aile, sonraki gebelik için mutlaka bilgilendirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Nonsendromik dudak ve damak yarığı; genetik tanı; a-CGH; kopya sayısı değişimleri

Abstract

Cleft lip and palate is the most common craniofacial anomaly. There is no concomitant anomaly in 70% of the cases and it is called non-syndromic cleft lip and palate. Molecular and quantitative developments in the science of genetics suggest that genetic mechanisms may play a role in both syndromic and non-syndromic types of this pathology. Non-syndromic cleft lip / palate is a common developmental abnormality that occurs during the embryonic period. This study aims to define genetic abnormalities due to copy number changes in cleft lip / palate pathogenesis. Our study, using the CytoScan 180K sequence targeted to detect genome-wide copy number variations, was performed with a sample of 17 patients with cleft lip and palate aged 1-15 years. Seven significant copy number changes were detected. These changes consisted of duplications (9p23-p24, 18q12.1, Xp22.12, Xp22.31, Yq11.21 / 16q24.1) and deletions (5q21.3 and 6p22.3-23) in patients with cleft lip and palate. It has also been shown in our study that genetic factors play a role in non-syndromic cases. Larger scale genome screening studies continue in different populations as well. The important point to be kept in mind in prospective patient management is this; If there is a cleft lip and palate in the family and relatives, the risk of cleft lip and palate increases in the next child. Even in sporadic cases where parents are not affected, it should be kept in mind that the risk of oral cleft in the next child is increased and the family should be informed about the next pregnancy.

Keywords: Nonsyndromic cleft lip and palate; genetic diagnosis; a-CGH; copy number variations

Correspondence:

Emine İkbal ATLI
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı,
Edirne, Türkiye
e-mail: emine.ikbal@gmail.com

Received 06.04.2021 Accepted 17.05.2021 Online published 18.05.2021

Atlı EI, Atlı E, Sinem Yalçın-tepe, Demir S, Özen Y, Gürkan H, Determination of Copy Number Variations in Non-Syndromic Congenital Cleft Palate - Lip Patients, Osmangazi Journal of Medicine, 2021 43(5) 462-470, Doi: 10.20515/otd.910654

1. Giriş

Kraniyofasiyal malformasyonlar (CFM'ler), insanlarda en sık görülen doğum malformasyonları arasındadır ve orofasiyal yarıklar, tüm canlı doğumlarda konjenital malformasyonların yaklaşık % 13'ünü oluşturur¹. Orofasiyal yarıklar, özellikle yarık dudak (CL) ve yarık damak (CP), insanlarda en sık görülen kraniyofasiyal doğum kusurlarıdır ve önemli bir kişisel ve toplumsal yükü temsil eder. Yarıklar, ömür boyu 700 kişiden yaklaşık 1'ini etkiler. Etkilenen bireyler başlangıçta beslenme güçlükleri yaşarlar ve ayrıca konuşma, işitme ve diş problemleri yaşarlar². Yarıklar cerrahi olarak onarılabilmesine rağmen, hastalar genellikle birden fazla kraniyofasiyal ve diş ameliyatının yanı sıra konuşma ve işitme terapisine de tabi tutulur. Bu müdahalelere rağmen hastalar malformasyondan ömür boyu sürecek psikososyal etkiler yaşayabilir. Aslında, bu malformasyonla doğan bireyler, yaşamın her aşamasında zihinsel sağlık sorunları görülme sıklığını ve daha yüksek ölüm oranlarını görmüştür³. Ayrıca, yarık damak/dudak olan bireyde ve aile üyelerinde meme, beyin ve kolon kanserleri dâhil olmak üzere çeşitli kanser türlerinin daha yüksek riskiyle ilişkilidir^{4,5}. Yarık etiyojilerini anlamak, yalnızca gelişimsel biyoloji bilgimiz için değil, aynı zamanda orofasiyal yarıktan etkilenen bireyler için daha iyi tedavi ve prognoz için de önemlidir.

Dudak damak yarıkları bir sendromla ilişkili veya nonsendromik olabilirler. İzole CP hastaların %50'si nonsendromik iken CL+CP hastaların %70'inin nonsendromik olduğu düşünülmektedir.

Dudak ve damak yarıklarının 300 civarında sendromun içerisinde yer aldığı bilinmektedir. Yarık dudak ve damak anomalisinin sendromlarla birliktelik insidansı %3-22,4 arasındadır. Tunçbilek ve ark.yaptıkları çalışmada yarık dudak yarık damaklı olguların %4,4'nün sendromik olduğu saptanmıştır ve en sık Pierre Robin Sendromu görülmüştür⁶.

Orofasial yarıkları 4 grupta inceleyebiliriz.

- I. Non sendromik yarık damak olsun olmasın yarık dudak olgusu

- II. Non sendromik izole yarık damak olgusu
- III. Sendromik yarık damak olsun olmasın yarık dudak olgusu
- IV. Sendromik izole yarık damak olgusu

Sendromik Olmayan Orofasial Yarıklar

Orofasiyal yarık vakalarının çoğu ek özelliklerden yoksundur ve "sendromik olmayan" olarak kategorize edilir⁷. Birçok çalışma CL / P prevalansını bildirmiş olsa da CLP'yi CL'den ayıranlar CLP'nin CL'den iki kat daha yaygın olduğunu gözlemlemiştir⁸. Sendromik olmayan yarıklar arasında, CL / P erkeklerde kadınlara göre iki kat, CP kadınlarda iki kat daha siktir⁹. Dudağı tutan yarıkların yaklaşık % 75'i tek taraflıdır. Tek taraflı yarıklar arasında, sol tarafı etkileyenler, sağ taraftaki yarıklara göre iki kat daha yaygındır¹⁰. İlginç bir şekilde, damak yarığı olan veya olmayan sendromik olmayan yarık dudak (NSCL / P) prevalansı da atalara göre değişir. NSCL / P en yaygın olarak Asya veya Amerika kökenli olanları (1/500 canlı doğum) ve en az yaygın olarak Afrika kökenli olanları (1/2500) etkiler¹¹. Kafkas popülasyonları, yaklaşık 1/1000 oranında orta düzeyde bir yaygınlık oranına sahiptir⁸. Türkiye'de ise bu oran 1-2/1000 olarak bildirilmiştir¹².

NSCL/P, çoklu genetik ve çevresel risk faktörlerinin etkileşiminden kaynaklanan genetik olarak karmaşık bir hastalıktır. Segregasyon analizi ve ikiz çalışmaları sonrasında NSCL/P'nin genetik yatkınlığı desteklendi. NSCL/P, yüksek bir aile nüksü oranına sahiptir; birinci derece akrabalarındaki CL riskinin, ailesinde CL geçmişi olmayan bireylere oranla 32 kat fazla olduğu tahmin edilmektedir¹³.

NSCL/P'ye katkıda bulunan genlerin tanımlanması, yakın zamana kadar sadece mütevazı bir başarıya sahip olan çeşitli yaklaşımlar (örneğin, bağlantı analizi, genomik yeniden düzenlemeler, aday genler, genom çapında ilişkilendirme çalışmaları) kullanılarak onlarca yıllık çalışmaların konusunu oluşturmuştur¹⁴.

Bağlantı analizi çalışmaları, genetik lokusların hastalıkla ilişkisinin aydınlatılmasına dayanmaktadır ve büyük, multipleks ailelerde veya etkilenen akraba çiftlerinde gerçekleştirilebilirler. Bugüne kadar NSCL/P için 13 genom çapında bağlantı taraması yapılmıştır. Yedi popülasyondan 388 geniş aileyi kapsayan geniş bir bağlantı çalışması ve yayınlanan bağlantı bölgesinden altısını birleştiren meta-analiz taramaları, 1q32, 2p13, 3q27–28, 9q21, 14q21–24 ve 16q24'te genom çapında ilk önemli bağlantı sonuçlarını belirlemiştir¹⁵. Devamında yapılan 9q21 bölgesinin ince haritalaması, *FOXE1*'i bu lokustaki nedensel gen olarak tanımlamıştır¹⁶. Genomik yeniden düzenlemeler, kromozomların uygunsuz rekombinasyonundan kaynaklanır ve kromozomlar içinde veya arasında meydana gelebilecek delesyonlar, duplikasyonlar, translokasyonlar ve inversiyonlar bu değişimleri kapsar.

Dengeli yeniden düzenlemelere sahip hastalarda kırılma noktalarının analizi, *CLPTM1*, *SATB2*, *SUMO1* ve *FGFR1*'i CL/P için aday genler olarak tanımladı ve 9q ve 17q'yi potansiyel risk lokusları olarak gösterdi¹⁷.

Genom çapında ilişki çalışmaları (GWAS), NSCL/P gibi karmaşık özelliklerle ilişkili aday genleri veya lokusları tanımlamak için tarafsız yaklaşımları için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bugüne kadar, NSCL/P için dört bağımsız GWAS ve bir meta-analiz yayımlandı¹⁸⁻²¹. Birnbaum ve ark., Alman popülasyonunda 8q24 ve NSCL/P üzerindeki belirteçler arasında son derece güçlü bir ilişki buldu ve daha sonra Amerika Birleşik Devletleri'nde de aynı çalışma tekrarlanarak bu bağlantı farklı bir popülasyonda doğrulanmış oldu^{18,19}. Üçüncü çalışmada, Mangold ve ark. 10q25 kromozomunda *VAX1* ve 17q22 kromozomunda *NOG* yakınında ek önemli sinyaller belirledi²¹. NSCL/P'nin dördüncü GWAS'ı GENEVA Cleft Consortium çalışması olarak Beaty ve ark. tarafından gerçekleştirildi¹⁷. Bu çalışmanın özellikleri, bir NSCL/P GWAS'da ilk kez vaka-ebeveyn triosu kullanılması ve Avrupa, Asya ve çeşitli soy ailelerinin dâhil edilmesiydi. Tüm popülasyonlar için kombine analizde, çalışma 1q32 ve 8q24 ile önceki

ilişkileri doğruladı ve 1p22 ve 20q12'de yeni lokusların belirlenmesini sağladı.

Popülasyona göre katmanlandırıldığında, 1q32, 1p22 ve 20q12'ye yakın belirteçler Asyalılarda genom çapında önem kazanırken, Avrupalılarda yalnızca 8q24 sinyali belirgin olarak farklılık göstermiştir. Daha fazla şüpheli kromozomal lokus belirlemek için, Ludwig ve ark. GENEVA Cleft Consortium ve Mangold ve ark.'nın çalışmalarını birleştirerek yayınlanmış en büyük GWAS olan bir meta-analiz gerçekleştirdi^{20,21}.

Avrupa vaka kontrol verilerini Avrupa Amerikan trioları ile birleştirmek, altı lokusun genom çapında anlamlılığa ulaşmasıyla sonuçlanmıştır (8q24, 10q25, 17q22, 2p21, 13q31 ve 15q22). GENEVA çalışmasından Asya üçlülerinin eklenmesi, bu lokusların beşi için (15q22 hariç) daha küçük p-değerleri ile sonuçlandı ve bu lokusların hem Avrupa hem de Asya popülasyonlarında NSCL/P'ye katkıda bulunduğunu göstermiştir. Ek olarak, altı ek bölge genom çapında önem kazanmıştır (1p36, 1p22, 1q32, 3p11, 8q21 ve 20q12). Mangold ve ark. 13q31 lokusunun yalnızca CLP ile ilişkili olduğunu gösteren CL ve CLP için ayrı analizler de gerçekleştirmiştir.

Gelecekteki çalışmalar için gerekli olan diğer araştırma temaları arasında fenotipik ve etnik çeşitliliğin çalışmalara dâhil edilmesi, gen etkileşimleri yoluyla yolların ve genin incelenmesi, fonksiyonel varyantların belirlenmesi ve etiyolojik öneminin anlaşılması ve nihayetinde bu sonuçların yarık dudak ve yarık damağın dünya çapında klinik yönetimine çevrilmesi yer almasıdır.

NSCL/P hastalarında karyotip sapmalarıyla bozulan aday genlere veya lokuslara odaklanarak bunları tanımlamak için ilişkilendirme çalışmaları yapılmıştır.

Bu çalışmanın amacı, daha önce Avrupa ve Asya örneklerinde tespit edilen risk lokuslarının Türk popülasyonunda NSCL/P etiyolojisinde de rol oynayıp oynamadığını belirlemek ve böylece orofasiyal yarık genetiğinin popülasyon spektrumunu genişletmektir.

2. Gereç ve Yöntemler

Çalışma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Tüm hasta örnekleri 2016 ile 2020 yılları arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalına yönlendirilen hastaların periferik kan örneklerinden oluşmaktadır. Vakalar için dâhil edilme kriterleri 1-15 yaş arası NSCL/P çocuklarıdır. NSCL/P vakaları için dışlama kriterleri, sadece yarık damaklı olanlar ve ektodermal displazi veya Axenfeld-Rieger sendromları gibi diğer sendromları olan hastalardır. Olası spesifik bir malformasyon sendromu olan hastalar ve zeka geriliği veya diğer anomalileri olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Hem probandlar hem de velileri, kapsamlı araştırma prosedürü hakkında bilgilendirilmiş ve bu çalışmaya kaydedilmeden önce bilgilendirilmiş onam imzalamıştır. 18 yaşından küçük katılımcıların onayı ebeveynlerden alındı. Hastalar klinik olarak değerlendirildi ve altta yatan bir sendromu düşündüren herhangi bir anormalliği belirlemek için ayrıntılı bir anket dolduruldu.

Tıbbi kayıtları kontrol ederek veya katılımcıların vasileriyle görüşerek tüm vakaların ve kontrollerin genetik olarak ilgisiz olduğunu gördük. Hastalardan EDTA'lı tüpe alınan 2 cc periferik venöz kandan genomik DNA izolasyonu yapılarak, aCGH çalışması gerçekleştirildi. Oligonucleotide aCGH, üreticinin protokolüne göre 180.000 oligonucleotide microarray (Sure Print G3 Human 4x180k CGH Mikroarray Kiti, Agilent Technologies, Santa Clara, CA) ile lenfositlerden ekstrakte edilen gDNA'lar üzerinde gerçekleştirildi. 4x180K platformu, ortalama mekânsal çözünürlüğü 13-25kb olan 170.000'den fazla 60-mer oligonükleotid probundan oluşur. Slaytlar, Agilent mikrodizi

tarayıcı G2565CA üzerinde tarandı. Görüntü verileri çıkarıldı ve Feature Extraction Agilent Technologies (9.5.3.1) ile metin dosyalarına dönüştürüldü. Anormal bir log oranı veren en az üç bitişik oligonükleotidin, bir kopya sayısı değişikliği (copy number variation, CNV) işaret ettiği düşünülmüştür. Sonuçlar hg19 genom versiyonunda verilmektedir. CNV'nin heterozigot bir delesyonun olarak tanımlanması için $\log_2 \text{ratio Cy5 / Cy3}$ 'ün -0.8 ila 1 olması beklenir.

İstatistiksel Analiz

İzole yarık damak ve dudak bulgusu ile 17 hasta çalışmaya dâhil edilmiştir. Kategorik değişkenlerin (cinsiyet) gruplara göre karşılaştırılmasında Ki-kare analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

Verilerin değerlendirilmesinde IBM SPSS Statistics 21.00 paket programı kullanıldı. Olguların demografik özellikleri, elde edilen veriler SPSS programına kaydedildi.

3. Bulgular

Hasta grubunda en küçük bir ay, en büyük 180 ay olmak üzere ortalama yaş $\sim 38,04$ ay saptandı. Hasta grubunda dokuz (%52.94) erkek, sekiz (%47.05) kadın olmak üzere 17 yarık damak ve/veya yarık dudaklı olgu mevcuttu. Her iki grubunu cinsiyet dağılımlarının homojen olduğu gözlenmektedir ($p=1$). Olguların ebeveynlerinin hiçbirinde akraba evliliği öyküsü saptanmadı.

On yedi hastanın yedisinde (%41,17) 547kb ila 10 Mb arası büyüklükte CNV saptandı (Tablo 1). Hastaların majör ve minör bulguları ile aCGH analizi sonuçları Tablo 1'de yer almaktadır. Sekiz patojenik CNV 'nin hepsi denovo olarak tespit edilmiştir. Bir hastamızda farklı iki kromozomda varyasyon saptanmıştır.

Tablo 1: Hasta grubumuzun endikasyonları ve a-CGH sonuçları

Hasta no	Cinsiyet	Endikasyon	Kromozomal Değişim Bölgesi	Kromozomal Değişim Büyüklüğü	Kromozomal Değişim Türü
1.	K	Konuşma geriliği + Opere yarık damak/dudak	6p22.3-23	10747 kb	Delesyon
2.	E	Dudak/damak yarığı	Normal		
3.	E	Dudak/damak yarığı	9p23-p24	547 kb	Duplikasyon
4.	E	Epikantus, yarık damak/dudak	Normal		
5.	E	Dudak/damak yarığı	Normal		
6.	E	Dudak yarığı/damak	Normal		
7.	K	Yarık damak/dudak, retromikrognati	18q12.1	2,282.338kb	Duplikasyon
8.	K	Dudak-damak yarığı	Normal		
9.	K	Yarık dudak /damak, up-slanting palpebral fissür, retrognati	5q21.3	1,830.984kb	Delesyon
10.	K	Yüksek damak, yarık damak/dudak	Normal		
11.	E	Hidrocefali, basık burun kökü, yüksek damak/dudak	Xp22.12	192.882kb	Duplikasyon
12.	K	Yüksek-dar damak, yarık damak/dudak	Normal		
13.	E	Yarık damak, dudak,	Yq11.21 16q24.1	476.899kb 94.361kb	Duplikasyon
14.	K	Yarık damak dudak	Xp22.31	1,608.791kb	Duplikasyon
15.	E	Yarık dudak ve damak	Normal		
16.	K	Damak/dudak yarığı, retromikrognati	Normal		
17.	E	Retro-mikrognati, damak agenezisi, anvert burun delikleri, dış kulak yolu anomalisi, damak/dudak yarığı,	Normal		

4. Tartışma ve Sonuç

Dudak damak yarıklarının ortaya çıkmasında birçok genetik ve çevresel faktör karşılıklı etkileşim halinde birlikte rol oynar. Nonsendromik dudak ve damak yarıkları belirgin bir genetik altyapıya sahiptir. Collins ve ark., nonsendromik dudak damak yarığı gelişimi ile bağlantılı 16 adet gen bölgesi tanımlamışlardır²². IRF6 genindeki polimorfizm nonsendromik dudak damak yarığı gelişimi için güçlü derecede ilişkili bulunmuştur²³. Ayrıca *MSX1*, *PVRL1*, *FGFR2*, *PAX7*, *NOG* ve *SPRY2* genleri de daha zayıf olmakla birlikte ilişkili bulunmuştur. 1,2,4,6,14,17 ve 19. kromozomlardaki defektlerin (*MTHFR*, *TGFA*, *D4S175*, *F13A1*, *TGFB3*, *D17S250*, ve *APOC2* genlerin) dudak ve damak yarığı ile ilişkili olduğu bulunmuştur²⁴⁻²⁶.

Çalışmamızda, izole opere edilmiş yarık damak/dudak ve konuşma geriliği ile Genetik Hastalıklar Tanı Merkezimize müracaat eden altı yaşındaki erkek hastamızda, 6p22.3-23 delesyonu saptanmıştır. Orofasial yarıklarla bağlantılı ilk genomik bölge, kromozom 6p üzerindeki *F13A* lokusu olarak bildirilmiştir²⁷. Ek bağlantı çalışmaları (insan genomunun haritalanmasıyla desteklenen) daha başarılı oldu ve CL/P ile ilişkili altı kromozomal bölge bulunmuştur (1q32, 6p23, 6q23-25, 9q21, 14q21-24 ve 15q15). Bu bölgelerdeki genleri değerlendiren tamamlayıcı çalışmalarla, bu bölgeler CLP'ye önemli katkıda bulunanlar olarak daha da desteklenmiştir²⁸.

Literatür taramaları sonucunda; *CLP* geninin altıncı kromozom (*OCF1* olarak adlandırılır) üzerindeki lokalizasyonunu çelişkili sonuçlarla bildirildiği belirlenmiştir. NSCL/P'nin, kromozom altının (6p) kısa kolunu içeren kromozomal anormalliklerle ilişkili olduğu rapor edilmiştir. İlgili lokuslar, *HGP22* ve *AP2* genlerinin yakınındaki 6p24.3 bölgesi olarak düşünülmüştür. Sendromik olmayan 21 farklı CLP İtalyan aile üzerine yapılan bir araştırmada, 6p23 bölgesinde bu anomaliyle bağlantı gözlenmiştir²⁹.

Dudak/damak yarığı bulguları ile tarafımıza müracaat eden yeni doğan dönemindeki bir başka hastamızda, 9p24-p23 kromozomal bölgesinde 547 kb büyüklüğünde artış saptanmıştır. Bu artış *PTPRD* genini içine almaktaydı. Daha önce tek bir çalışmada yarık damak ve dudak ile ilişkilendirilmiştir³⁰. Fakat bu çalışmada bildirilen bu geni içine alan kromozomal bölgenin delesyonudur. Bu açıdan bulgumuz literatürde yardık damak ve dudakla ilişkili olduğu öngörülen ilk veridir. *PTPRD*, hipokampal CA2 ve CA3 dahil olmak üzere beynin özel bölgelerinde, B lenfositlerinde ve timik medullada eksprese edilen reseptör tipi bir protein-tirozin fosfatazıdır. Klinikte *PTPRD* genindeki varyasyon ile huzursuz bacak sendromu arasındaki olası bir ilişki olduğu bildirilmiştir.

Yarık dudak/damak, retromikrognati nedeniyle değerlendirilen yenidoğan grubundan kız bebekte 18q12.1 bölgesinin duplikasyonu saptanmıştır. 18.kromozomdaki değişimlerle ilgili olarak özellikle duplikasyon durumlarında klinik etkinin asıl sorumlusunun 18q11-q13 and 18q22-qter bölgeleri olduğu bildirilmiştir³¹.

Mewar ve ark. çalışmasında dört hastanın sitogenetik olarak belirlenen kırılma noktalarının karşılaştırılması ile ortak kopyalanan bölgenin 18q12-q22 olduğunu göstermiştir. Bu kromozomal bölgenin, tüm bireyler tarafından paylaşılan klinik özelliklerden, büyüme geriliği, zihinsel ve gelişimsel gecikmeler ve muhtemelen nöbetler gibi özelliklerden sorumlu olabileceğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, Edwards sendromunun birçok özelliğine sahip hastaların her ikisinin de 18q bölümleri için trizomik iken diğer kromozomal bölgeler için

monozomik olduğunu belirtmişlerdir³². PubMed yer alan literatürlerde ve DECIPHER veri tabanının araştırılması, vakamızla örtüşen 18q12.1'de değişim içeren 4 ek vaka belirledi (bir duplikasyon, iki delesyon ve bir dengeli translokasyon). Özellikle, otizm ve entelektüel yetmezlikte, 18q12.1'de genomik kazanç veya kayıp, ayrıca duplikasyon vakalarında epilepsi ve kısa boy ve delesyon vakalarında hipotoni ve uzun boy ile görülür. İncelenen vakalar arasında tutarlı bir dismorfik özellik kaydedilmemiştir³³. Bu nedenle yarık damak ve dudak ile 18q12.1 kazancı ya da kaybı bağdaştırılamamıştır.

Yarık damak, up-slanting palpebral fissür, hipertelorizm, retrognati bulguları olan başka bir yenidoğan hastamızda 5q21.3 bölgesinin 1,8 Mb'lık delesyonu saptanmıştır. Hastamızda saptadığımız delesyon bölgesine dört adet gen (*FBXL17*, *FER*, *EFNA5*, *LINC01023*) tekabül etmektedir. Clinvar veritabanında *FBXL17*, *FER*, *EFNA5* delesyonları için klinik önemi bilinmeyen (*VUS*) olarak giriş yapılmasına rağmen davranışsal anormallik ve gelişimsel gecikmede bildirilmiştir³⁴. OMIM, *FER* geni için, doğuştan gelen bağışıklığın düzenlenmesinde bir rolü olduğunu bildirmektedir³⁵. *FBXL17* gibi F-box protein ailesinin üyeleri, yaklaşık olarak 40 amino asitlik bir F-kutusu motifi ile karakterize edilmektedir³⁶. Efrin gen ailesinin bir üyesi olan *EFNA5*, geç evre sinir sistemi gelişimi ve farklılaşması modeli olan kortikal nöronların astrositlerle birlikteki kültürlerinde akson demetlenmesini önler. *EFNA5*, diğer dokularda daha düşük ifade edilmekle birlikte, insan beyni, kalp, plasenta, akciğer ve böbrekte yüksek oranda ifade olmaktadır³⁷. *LINC01023* geni için ise literatürde, *IGF1R* / *AKT* sinyal yolağının aktivasyonu yoluyla gliomada onkogenik bir rol oynadığı bildirilmiştir³⁸. Hastamızın delesyon bölgesinde bulunan bu genler ile ilgili bildirilen fenotiplerde yarık damak dudak yer almamaktadır. Lei ve ark. nın yaptıkları çalışmada orafasial yarık hastalarında 5q21.1 bölgesinde delesyon saptanmıştır. Bu bölgede bulunan *PAM* (MIM 170270) geninin tek kopya olarak taşındığı bildirilmiştir³⁹.

Tonk ve ark'nın yaptığı başka bir çalışmada hafif motor geriliği, müteakip öğrenme

farklılıkları, nöbetler ile kromozomal 5q14.3q21.3 delesyonu olan bir hastayı bildirmişlerdir. Her iki çalışmada da yarık damak dudak anomalisi bildirilmemiştir⁴⁰.

Hidrosefali, hidrosel, basık burun kökü, yarık damak/dudak bulgusu olan 2 yaşındaki erkek hastada 192 kb büyüklüğünde Xp22.12 duplikasyonu saptanmıştır. Olgumuza benzer duplikasyon bölgesi olan bir başka olgu literatürde; Lintas ve ark. tarafından Xp22.33p22.12 kromozomunda denovo 19Mb duplikasyonu olan, şiddetli zihinsel engel, konjenital hipotoni ve belirgin glabella, kısa filtrum, mikrogna, yüksek alın dahil olmak üzere hipertelorizm, epikantal kıvrımlar, aşağı eğimli palpebral fissürler, geniş burun köprüsü ve kısa üst dudak dismorfik özelliklerden etkilenen 30 yaşındaki bir erkeği bildirilmiştir⁴¹.

Hastamızın delesyon bölgesinde PDHA1 ve MAP3K15 genleri yer almaktadır. Bu genlere ait ClinVar veritabanında konjenital sinir sistemi bozukluğu ile birlikte yumuşak damak yarığının eşlik ettiği olgular bildirilmiştir.

Yenidoğan anomalisi olan ve ~1,6 Mb büyüklüğünde Xp22.31 duplikasyonu olan diğer bir hastamızda izole yarık damak dudak tespit edilmiştir. Daha önce bildirilen olgular araştırıldığında Liu ve ark. Xp22.31 ekstra kopyasının, anormal fenotipler için bir risk faktörü olarak hizmet edebileceğini savunmuşlardır⁴².

Yarık damak, dudak ile araştırmaya dâhil olan son hastamız erkek yenidoğan döneminde bir olguydu. Hastada yapılan a-CGH analizi sonucunda Yq11.21/16q24.1 bölgelerinin duplikasyonu saptanmıştır. 16q24.1 de gözlenen artış 94kb büyüklüğünde ATP2C2 ve TLDC1 genlerini kapsamaktaydı. Yq11.21

bölgesindeki artış 476kb büyüklüğünde ve üç gen bölgesini içine alıyordu (USP9Y, GYG2P1, TTTY15). Kromozomal kazanım bölgelerinde yer alan genler detaylı incelendiğinde; ATP2C2 ve TTTY15 yarık damak dudak anomalisi ile ilişkilendirilmiştir⁴³. Ek olarak USP9Y-TTTY15 füzyon transkriptleri, transkripsiyon aracılı kimerik RNA'lar olarak bilinir. Prostat kanseri dâhil olmak üzere çeşitli kanser türleri arasında tümörjenik yollarda yer aldığı bildirilmiştir⁴⁴.

5. Sonuç

Orofasial yarıklar hem psikolojik hem de fiziksel sorunlara neden olduğu için ciddi bir doğumsal defektir. Etiyolojisindeki müphem durum bu patolojinin daha fazla araştırılmasını gerektirmektedir. Epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar çevresel faktörlerin yarık damak dudak gelişiminde etkili olduğunu göstermiştir. Hamilelik sırasında, annenin tütün ve alkol kullanımı, malnütrisyon, viral enfeksiyonlar, ilaç kullanımı embriyo üzerinde teratojenik etki gösterirler. Etiyoloji de sorumlu genetik ve çevresel faktörlerin daha geniş bir toplumda çalışılması gerekmektedir. Özellikle genetik ve çevresel faktörlerin birlikte analiz edilmesi bu konudaki problemlerin çözümüne daha fazla katkıda bulunacaktır. Bütün bu gelişmeler; genetik taramalarda daha kesin metodlara izin vererek yüksek riskli bireylerin veya aile gruplarının ortaya çıkarılmasını ve erken prenatal teşhis konmasını sağlayacaktır. Etiyolojinin tespiti ile risk gurubundaki aileler prekonsepsiyonel dönemde detaylı olarak bilgilendirilmeli ve risk faktörleri anlatılmalıdır. Günümüzdeki tedavi yöntemleri de etiyojide sorumlu genlerdeki düzensizlik sorununu çözerek çözüm bulmaya çalışmaktadır

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastaların ebeveynlerinden alınmıştır.

KAYNAKLAR

1. Nazer J, Ramirez MC, Cifuentes L. Evolution of prevalence rates of orofacial clefts in a maternity of a Chilean clinical hospital. *Rev Med Chil.* 2010;138: 567–72.
2. Rahimov F, Jugessur A, Murray JC. Genetics of nonsyndromic orofacial clefts. *Cleft Palate Craniofacial Journal.* 2012; 49:73–91.

3. Christensen K, Juel K, Herskind AM et al. Long term follow up study of survival associated with cleft lip and palate at birth. *BMJ*. 2004; 328:1405.
4. Menezes R, Marazita ML, Goldstein McHenry T et al. AXIS inhibition protein 2, orofacial clefts and a family history of cancer. *J Am Dent Assoc*. 2009; 140:80–84.
5. Dietz A, Pedersen DA, Jacobsen R et al. Risk of breast cancer in families with cleft lip and palate. *Ann Epidemiol*. 2012; 22:37–42.
6. Tunçbilek G, Özgür F, Balcı S. 1229 yarık dudak ve damak hastasında görülen ek malformasyon ve sendromlar. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 2004; 47: 172-6.
7. Jugessur A, Farlie PG, Kilpatrick N. The genetics of isolated orofacial clefts: from genotypes to subphenotypes. *Oral Dis*. 2009a; 15:437–453.
8. Jensen BL, Kreiborg S, Dahl E et al. Cleft lip and palate in Denmark, 1976–1981: epidemiology, variability, and early somatic development. *Cleft Palate J*. 1988; 25:258–269.
9. Mossey PA, Little J, Munger RG et al. Cleft lip and palate. *Lancet*. 2009; 374: 1773–1785.
10. Gundlach KK, Maus C. Epidemiological studies on the frequency of clefts in Europe and world-wide. *J Craniomaxillofac Surg*. 2006; 34(Suppl 2):1–2.
11. Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH et al. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet*. 2011; 12:167–178.
12. Tomatr AG, Demirhan H, Sorkun HÇ et al. Major congenital anomalies: a five year retrospective regional study in Turkey. *Genet Mol Res* 2009;8:19-27.
13. Sivertsen A, Wilcox AJ, Skjaerven R et al. Familial risk of oral clefts by morphological type and severity: population based cohort study of first degree relatives. *BMJ*. 2008; 336:432–434.
14. Marazita ML. The Evolution of Human Genetic Studies of Cleft Lip and Cleft Palate. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2012;13:263-83.
15. Marazita ML, Murray JC, Lidral AC et al. Meta-analysis of 13 genome scans reveals multiple cleft lip/palate genes with novel loci on 9q21 and 2q32–35. *Am J Hum Genet*. 2004; 75:161–173.
16. Letra A, Menezes R, Govil M et al. Follow-up association studies of chromosome region 9q and nonsyndromic cleft lip/palate. *Am J Med Genet A*. 2010; 152A:1701–1710.
17. Beaty TH, Ruczinski I, Murray JC et al. Evidence for gene-environment interaction in a genome wide study of nonsyndromic cleft palate. *Genet Epidemiol*. 2011; 35: 469–478.
18. Birnbaum S, Ludwig KU, Reutter H et al. Key susceptibility locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate on chromosome 8q24. *Nat Genet*. 2009; 41:473–477.
19. Grant SF, Wang K, Zhang H et al. A genome-wide association study identifies a locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate on 8q24. *J Pediatr*. 2009; 155:909–913.
20. Ludwig KU, Mangold E, Herms S et al. Genomewide meta-analyses of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate identify six new risk loci. *Nat Genet*. 2012 ;44:968-71
21. Mangold E, Ludwig KU, Birnbaum S et al. Genomewide association study identifies two susceptibility loci for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Nat Genet*. 2010; 42:24–26.
22. Collins A, Arias L, Pengelly R et al. The potential for next generation sequencing to characterise the genetic variation underlying nonsyndromic cleft lip and palate phenotypes. *OA Genet* 2013; 1: 10.
23. Zuccherro TM, Cooper ME, Maher BS et al. Interferon Regulatory Factor 6 (IRF6) Gene Variants and the Risk of Isolated Cleft Lip or Palate. *N Engl J Med* 2004; 351: 769-80.
24. Lidral AC, Romitti PA, Basart AM et al. Association of MSX1 and TGFB3 with Nonsyndromic Clefting in Humans. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 557-68.
25. Van Den Boogaard MJH, Dorland M, Beemer FA et al. MSX1 mutation is associated with orofacial clefting and tooth agenesis in humans. *Nat Genet* 2000; 24: 342-3.
26. Leslie EJ, Marazita ML. Genetics of cleft lip and cleft palate. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 2013; 163: 246-58.
27. Eiberg H, D Bixler, LS Nielsen, et al. Suggestion of linkage of a major locus for nonsyndromic orofacial cleft with F13A and tentative assignment to chromosome 6. *Clin Genet* 32: 129-132.
28. Marazita ML, JC Murray, AC Lidral et al. Meta-analysis of 13 genome scans reveals multiple cleft lip/palate genes with novel loci on 9q21 and 2q32-35. *Am J Hum Genet*. 2004 Aug;75:161-73.
29. Carinci F, Pezzetti F, Scapoli L et al. Nonsyndromic cleft lip and palate: evidence of linkage to a microsatellite marker on 6p23 *Am J Hum Genet*. 1995 ;56:337-9.
30. Ann LL. "The role of structural variation in cleft lip and palate." PhD (Doctor of Philosophy) thesis, University of Iowa, 2018.
31. Turleau C, Chavin-Colin F, Narbouton R et al. Trisomy 18q-: trisomy mapping of chromosome 18 revisited. *Clin Genet*.1980;18: 20-26
32. Mewar R, Kline AD, Harrison W et al. Clinical and molecular evaluation of four patients with partial duplications of the long arm of chromosome 18. *Am J Hum Genet*. 1993 ;53:1269-78.
33. Wang P, Carrion P, Qiao Y et al. Genotype-phenotype analysis of 18q12.1-q12.2 copy number variation in autism. *Eur J Med Genet*. 2013 ;56:420-5
34. National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000441691.1], <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000441691.1> (accessed May 11, 2021).
35. Morris C, Heisterkamp N, Hao QL et al. The human tyrosine kinase gene (FER) maps to chromosome 5 and is deleted in myeloid leukemias with a del(5q). *Cytogenet. Cell Genet*. 1990; 53: 196-200.
36. Jin J, Cardozo T, Lovering RC et al. Systematic analysis and nomenclature of mammalian F-box proteins. *Genes Dev*. 2004;18: 2573-2580.
37. Winslow JW, Moran P, Valverde J et al. Cloning of AL-1, a ligand for an Eph-related tyrosine kinase receptor involved in axon bundle formation. *Neuron*. 1995; 14: 973-981.

38. Yu M, Yu S, Gong W et al. Knockdown of linc01023 restrains glioma proliferation, migration and invasion by regulating IGF-1R/AKT pathway. *J Cancer*. 2019;10:2961-2968.
39. Lei TY, Wang HT, Li F et al. Application of high resolution SNP arrays in patients with congenital oral clefts in south China. *J Genet*. 2016 Dec;95:801-809.
40. Tonk V, Kyhm JH, Gibson CE et al. Interstitial deletion 5q14.3q21.3 with MEF2C haploinsufficiency and mild phenotype: when more is less. *Am J Med Genet A*. 2011 Jun;155A:1437-41.
41. Lintas C, Picinelli C, Piras IS et al. Xp22.33p22.12 Duplication in a Patient with Intellectual Disability and Dysmorphic Facial Features. *Mol Syndromol*. 2016 ;6:236-41.
42. Liu P, Erez A, Nagamani SC et al. Copy number gain at Xp22.31 includes complex duplication rearrangements and recurrent triplications. *Hum Mol Genet*. 2011 15;20:1975-88.
43. Buniello A, MacArthur JAL, Cerezo M et al. The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019. *Nucleic Acids Research*, 2019, Vol. 47 (Database issue): D1005-D1012.
44. Kasajima R, Yamaguchi R, Shimizu E et al. Variant analysis of prostate cancer in Japanese patients and a new attempt to predict related biological pathways. *Oncol Rep*. 2020 ;43:943-952.