

## DUDAK DAMAK YARIKLARINA MOLEKÜLER YAKLAŞIM

### MOLECULAR APPROACH TO CLEFT LIP AND PALATE

Deniz AŞLAR ÖNER<sup>1</sup>, Hakkı TAŞTAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

#### ÖZET

Dudak damak yarıkları, dünya genelinde görülen en yaygın doğum anomalilerinden birisidir. Görülme sıklığı, etnik geçmiş, coğrafi köken ve sosyo-ekonomik duruma göre değişkenlik göstermektedir. Hamilelik sırasında annenin sigara içmesi, alkol tüketmesi, folik asit, B6 ve B12 vitaminlerince yetersiz beslenmesi gibi çevresel faktörler ile beraber genetik faktörlerin etkileşimi, yarık dudak damak oluşumuna sebep olabilmektedir. Dudak damak yarıklarının genetik açıdan incelenmesi için birçok aday gen araştırılmıştır. *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*, *TGFβ* ve *PVRL1* genleri dudak damak yarıklarının oluşumuna sebep olan önemli genlerdir. Yarık dudak ve damak oluşumunun erken teşhis edilememesi, embriyogenez sırasında dudak ve damak gelişimini düzenleyen gen ekspresyon kalıplarının ve etkili sinyal moleküllerinin etki mekanizmalarının yeterli bilinmemesinden kaynaklanmaktadır. Yarık dudak ve damak etiyojisine sebep olan faktörlerin belirlenmesi, yarık dudak damak oluşumunun önlenmesi ve gerekli tedbirlerin alınması açısından çok büyük önem taşımaktadır. Bu derlemede yarık dudak damak hastalığının genetik faktörler ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**ANAHTAR KELİMELE:** Yarık dudak-damak sendromu, Polimorfizm, Folik asit, MTHFR eksikliği

#### ABSTRACT

Cleft lip and palate is one of the most common birth anomalies world wide although its prevalence rate varies based on geographical origin, ethnic background, and socioeconomic status. The interaction of genetic factors and environmental factors such as maternal smoking, alcohol consumption, inadequate intake of folic acid, B6 and B12 vitamins during pregnancy can cause cleft lip and palate formation. Genetic studies on this disorder have investigated numerous candidate genes. *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*, *TGFβ* and *PVRL1* genes are important genes that cause cleft lip and palate. The inability to detect cleft lip and palate formation early is probably due to lack of knowledge of the mechanisms of gene expression patterns and action of effective signaling molecules that regulate lip and palate development during embryogenesis. Determination of the factors causing the cleft lip and palate etiology is very important in terms of prevention of cleft lip and palate formation and taking necessary precautions. In this review, it is aimed to determine the relationship between cleft lip palate disease and genetic factors.

**KEYWORDS:** Cleft lip-palate syndrome, Polymorphism, Folic Acid, MTHFR deficiency

**Geliş Tarihi / Received:** 07.02.2020

**Kabul Tarihi / Accepted:** 13.07.2020

**Yazışma Adresi / Correspondence:** Öğr.Gör.Dr.Deniz AŞLAR ÖNER

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu

**E-mail:**denizaslar@gmail.com

**Orcid No (Sırasıyla):** 0000-0002-9515-0073, 0000-0001-9540-2931



sağlar. Çünkü diyetle alınan metil grupları, folat ve metiyonin yollarıyla DNA'ya aktarılır. Düşük folat ya da metiyonin alımı sonucunda DNA metilasyonunda bozukluklar oluşur. Diyetteki bu yetersiz beslenme hipometilasyona yol açarak, gen ifadesinde bozukluğa neden olur. Böylece dudak ve damak oluşumunu sağlayan genlerin transkripsiyonunu değiştirebilir. Bu sebepten dolayı folik asit alımı hamile bayanlar için çok önemlidir.

Aynı zamanda B12 vitamini homosisteinin metiyonine dönüşümü için gerekli olduğundan, hamilelik öncesi B12 vitamin alımı da anneler için büyük önem taşımaktadır. B12 vitamini yeterli alınmadığında, homosisteinin metiyonine dönüşümü olamayacağından deoksiuridin monofosfatın (dUMP)-deoksitimidin monofosfata (dTMP) dönüşümü gerçekleşemeyecek ve DNA sentezi yapılamayacaktır. Dolayısıyla hamile bayanların beslenmesinde folik asitle birlikte B12 vitaminin yeterli miktarda alınması, sağlıklı bebeklere sahip olmaları açısından önemlidir.

#### **Metiltetrahidrofolat Homosistein Metiltransferaz (MTR) Geni**

*MTR* geni, 60-428 baz çifti uzunluğundaki 33 ekzondan ve 310 baz çifti ile 7,7 kilo baz uzunluğundaki intronlardan oluşur. Kromozomun 1q42.3-q43 bölgesinde lokalize olan *MTR* geni metiyonin sentaz enzimini (EC 2.1.1.13) kodlar.

Metiyonin sentaz enzimi, 140,5 kDa ağırlığında 1265 amino asitten oluşan büyük bir proteindir. Domainler arası bağlayıcı proteinlerle doğrusal şekilde düzenlenmiş dört işlevsel kısımdan oluşur. Üç metil transfer reaksiyonlarının her biri, farklı bir substrat bağlama bölgesi tarafından katalizlenir. N terminal kısmı (Hcy domaini),  $(\text{Cys})_3\text{Zn}^{2+}$  kümesini kullanarak homosisteini aktifleştirir. İkinci kısım (folat domaini) metil transferi için metilentetrahidrofolatı aktive eder, üçüncü kısım kobalamine (B12) bağlanır. Dördüncü kısım olan C terminal, S-Adenozil metiyonine bağlanır (13).

Metionin sentaz enzimi homosisteinin metiyonine dönüştürülmesinde metiltetrahidrofolattan metil gruplarının homosisteine transferini yürütmektedir. Reaksiyonun gerçekleşmesi için kofaktör olarak kobalaminden (B12 vitamini) meydana gelen metil kobalamini kullanmakta-

dır. Homosisteinin metiyonine remetilasyonu ile 5-metil tetrahidrofolat (5-MTHF), DNA sentezi için gerekli olan 5,10-metilen-tetrahidrofolata (5, 10-MTHF) dönüşür. 5,10-MTHF, MTHFR enzimi ile 5-metiltetrahidrofolata dönüştürülerek aktif folat formunun oluşturulması sağlanır (8,9).

Memeli hücrelerinde metionin sentaz düzeyi folat ile ilişkili olduğundan, metiyonin yokluğunda hücrelerin büyümesi enzim aktivitesinin durumuna göre sınırlanmaktadır. Homosistein remetilasyonunda rol alan bu enzimlerin gen ve protein çalışmaları bu sebepten dolayı önem taşımaktadır.

Yapılan birçok araştırma, plazma homosistein seviyesinin *MTR* gen polimorfizmi ile ters orantılı bir ilişki içinde olduğunu göstermiştir ve değişimin "aktive edici bir polimorfizm" olduğuna dair kanıtlar sunmuştur. *MTR* A2756G polimorfizmi, *MTR* proteininin enzimatik aktivitesini artırarak ya da kofaktörü bağlama kabiliyetini geliştirerek enzim aktivitesini arttırmaktadır. *MTR* enzim aktivitesindeki artış, SAM sentezinin ve DNA metilasyonunun artması ile sonuçlanmaktadır (14).

Bezerra ve ark. dudak damak yarıklı hasta çocuklar ve anneleri ile kontrol çocuklar ve annelerinin dâhil edildiği bir çalışma yürütmüşlerdir. Folik asit konsantrasyonu, vitamin B12 konsantrasyonu, total plazma homosistein seviyesi ve hamilelik sırasında annenin alkol tüketim miktarına bakılarak yapılan çalışmada, folik asit konsantrasyonu hem dudak damak yarıklı çocuklarda hem de annelerinde kontrol gruba göre daha düşük seviyede saptanmıştır ( $P < 0,001$ ). Hasta çocuk ve annelerinde düşük folik asit düzeyi dudak damak yarıkları riskinde artış ile değerlendirilmiştir. Vitamin B12 konsantrasyonu ve total plazma homosistein seviyeleri hasta ve kontrol gruplarıyla benzer bulunmuştur. Dudak damak yarıklı çocukların annelerinde hamilelik sırasında alkol tüketimi kontrollere göre yüksek bulunmuştur ve dudak damak yarıklı çocuk doğurma riski ile ilişkilendirilmiştir ( $P < 0,001$ ) (15).

*MTR* gen polimorfizmi taşıyan dudak damak yarıklı hastalarda homosistein artışı S-adenozilhomosisteinin (SAH) de artmasına neden olabilmektedir. Artış gösteren SAH konsantrasyonu ile DNA hipometilasyonu arasındaki ilişki-

yi gösteren çalışmalar bulunmaktadır (16, 17). *MTR* gen polimorfizmi tespit edilen hastalarda DNA hipometilasyonu, kraniyofasiyal yapıların oluşumundan sorumlu genlerin ekspresyon düzeylerinin değişmesine neden olabilir. Üstelik artan DNA hipometilasyonunun gelişme üzerindeki olumsuz etkisi, kromozom kararsızlığın oluşması, transpoze edilebilir elementlerin yeniden aktifleştirilmesi ve damgalamanın kaybolmasının bir sonucu olabilir.

#### **Metiltetrahidrofolat Homosistein Metiltransferaz Redüktaz (MTRR) Geni**

*MTRR* geni, 43-380 baz çifti uzunluğundaki 15 ekzondan ve 108 baz çifti ile 4,8 kilo baz uzunluğundaki intronlardan oluşmaktadır. Kromozomun 5p15.2-15.3 bölgesinde lokalize olan *MTRR* geni metiyonin sentaz redüktaz enzimini kodlamaktadır (18).

725 amino asitten oluşan metiyonin sentaz redüktaz enzimi (EC 1.16.1.8), elektron transferazlarının ferredoksin-nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP+) redüktaz (FNR) ailesinin bir üyesidir. Bir N-terminal NADPH / FAD bağlayıcı (FNR ile ilişkili) domain, bir bağlantı domaini ve bir C-terminal flavodoksin benzeri FMN- bağlama domaini içeren 80 kDa'luk bir proteindir (19).

Metabolizmada MTR ve MTRR enzimlerinin rolü çok yönlüdür. Homosisteinin yeniden oluşmasını, tetrahidrofolatın salınmasını ve metiyoninin oluşumunu sağlamaktadırlar. Bu enzimlerin aktivitesinin azalması homosistein seviyesinin yüksekliğine sebep olmaktadır. Bu durum hücre döngüsünde, DNA sentezinde ve proteinlerin yapımında bozukluklara yol açarak tetrahidrofolat seviyesinde azalmalara neden olmaktadır.

Yapılan çalışmalarla MTRR A66G gen polimorfizmi (66G) allel frekansı farklı popülasyonlarda rapor edilmiştir. İtalya'da 0,52, Avrupa'da 0,55, Fransa'da 0,57, Polonya'da 0,59, Ukrayna'da 0,62, Rusya'da 0,64, İsrail'de 0,42, Güney Afrika'da 0,12, Brezilya'da 0,07, Meksika'da 0,21 olarak bildirilmiştir (20, 21).

Allel frekanslarındaki bu farklılık, popülasyonun bu allel frekanslarının değiştirilmesine olanak sağlayan bazı faktörlere duyarlı olmasından kaynaklanmaktadır. Yabanıl tip allellerin

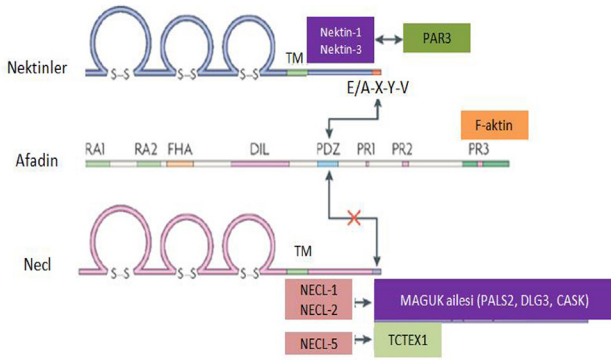
belirlenmesiyle ilgili tartışmalar ve araştırmalar devam etmektedir. Bazı araştırmacılar 66G allelinin yabanıl tip allel olabileceğini ileri sürmektedirler.

Bunun yanında, özellikle B12 eksikliği ve aktif folat eksikliği, kan plazmasında hiperhomosisteinemi ve embriyogenezin kritik aşamasında yarık dudak damak oluşumunu kolaylaştırabilir. 1997 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde uygulamaya giren, zenginleştirilmiş tahıl ürünleri ile beslenme sayesinde folat eksikliği %92, hiperhomosisteinemi %48 oranında azalmıştır. Dolayısıyla popülasyonların beslenme şekilleri düzeldiğinde, düşük folat ve B12 vitamini hiperhomosisteinemi için en önemli bir faktör olmayı bırakabilir (22).

#### **Poliovirüs İlişkili Reseptör 1 (PVRL1) Geni**

*PVRL1* geni, 152-610 baz çifti uzunluğundaki 6 ekzondan ve 557 baz çifti ile 49 kilo baz uzunluğundaki intronlardan oluşmaktadır. Kromozomun 11q23.3 bölgesinde lokalize olan *PVRL1* geni Nektin-1'i kodlamaktadır (23). Nektin-1, 57 kDa ağırlığında 517 amino asitten oluşan bir proteindir. Her nektin üyesi önce homofilik cis-dimer, daha sonra immunoglobulin domainleri aracılığıyla homofilik veya heterofilik trans-dimerleri (trans-etkileşimler) oluşturmaktadırlar. Heterofilik trans-etkileşimler homofilik trans-etkileşimlere göre daha güçlüdürler.

Nektinler sadece nektinlerle değil nektin benzeri (Necl) diğer moleküllerle de etkileşime girmektedirler. Nektin benzeri moleküller Necl-1, Necl-2, Necl-3, Necl-4 ve Necl-5 olmak üzere beş üyeden oluşmaktadır. Nektin benzeri (Necl) moleküller nektinlere benzerler ancak doğrudan afadine bağlanamazlar (24). Nektinler ve nektin benzeri moleküller üç lg-benzeri alan içeren bir ekstrasellüler bölge, tek bir transmembran segment ve sitoplazmik bir kuyruğa sahiptirler. Nektin ailesi adaptör protein afadini etkileyen C terminal bölgede, 4 amino asitin bulunduğu korunmuş bir motife sahiptir (Glu/Ala-X-Tyr-Val, E/A-X-Y-V; X herhangi bir amino asiti temsil etmektedir). Nektin ve afadinin doğrudan bağlanması nektinlerin C terminal bölgesi ile, Afadinin PDZ (postsynaptic density protein-95) domaini ile ve aktin hücre iskeletinin nektin bağlantıları aracılığıyla gerçekleşmektedir (**Şekil 2**).



**Şekil 2:** Nektinler, necl ve afadinin moleküler yapısı (Takai, Miyoshi, Ikeda ve Ogita, 2008'den değiştirilerek alınmıştır) (25).

Hücre çoğalması, farklılaşması, hareketi ve adezyonu çok hücreli organizmalarda temel hücrel süreçlerdir. Nektinler bu süreçte önemli rol oynayan moleküllerdir. Nektin-1 epidermisen farklılaşması için gereklidir. Aynı zamanda sıkı bağlantı komplekslerinin ve adherens komplekslerinin oluşumu için desmozomların oluşumunu düzenlemektedirler.

*PVRL1* geni ile dudak damak yarıkları arasındaki ilişki ilk olarak Suzuki ve arkadaşları (2000) tarafından ortaya koyulmuştur. Suzuki ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Margarita Adası (Venezüela), İsrail ve Brezilya'lı yarık dudak/damak ektodermal displazi sendromlu (CLPED1) ailelerinde *PVRL1* gen değişimlerini (W185X) tespit etmişlerdir (26). Aynı gen varyantı daha sonra Kuzey Venezüela popülasyonunda sporadik, sendromsuz yarık dudak/damak ile de ilişkili bulunmuştur (27). Avila ve ark yapmış oldukları çalışmada, *PVRL1*'in V1 ve C1 ekstraselüler domainde bulunan varyantların epiteliyal adezyon olayları sırasında nektin moleküllerinin dimerleşmesine müdahale ederek *PVRL1* protein fonksiyonunu olumsuz yönde etkilediğini bildirmişlerdir (28).

Nektin, sitoplazmik kuyruk bağlama proteinleri olan afadin ve katenin vasıtasıyla E-kadherin kompleksiyle de ilişkilendirilmektedir. *PVRL1* gen mutasyonlarının proteinin hem alfa hem beta izoformlarını kestiği daha önce rapor edilmiştir (26). Bu bağlamda hücre içi domain kaybı, hücre-hücre adezyon sürecini harekete geçirmek için gerekli olan protein-protein etkileşimlerini bozarak yüzün morfogenezini etkilemektedir (28).

### Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta (*TGFβ*) Geni

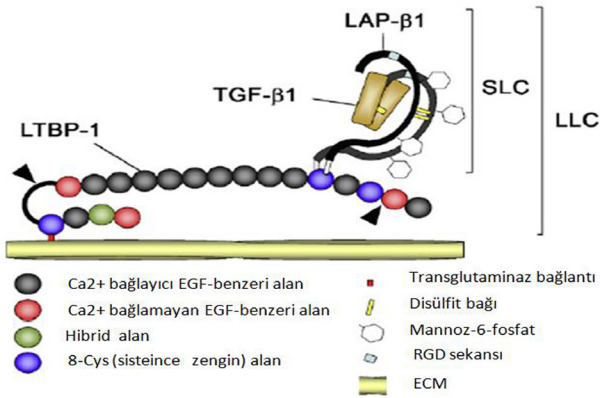
*TGFβ* ailesi palatogenesis sırasında hücre bölünmesi, farklılaşması, hücre göçü, ekstraselüler matriks oluşumu ve apoptoz gibi çeşitli biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (29).

*TGFβ*'nin üç izoformu vardır: *TGFβ1*, *TGFβ2* ve *TGFβ3*. Her izoform farklı bir gen tarafından kodlanmaktadır ve hem dokuya özgü hem de gelişimsel düzenlenme şeklinde eksprese edilmektedirler. *TGFβ1*, kromozomun 19q13.1 (kromozom 19: 41,301,587-41,353,911) bölgesinde lokalize olan transforme edici büyüme faktörü beta 1 geni tarafından kodlanmaktadır.

*TGFβ* izoformları büyük prekürsör proteinler olarak kodlanmaktadır. *TGFβ1* 390 amino asitlik, *TGFβ2* ve *TGFβ3* ise 412 amino asitlik polipeptid zincire sahiptir. Her biri hücreden salgılanması için gerekli olan 20-30 amino asitlik bir N-terminal sinyal peptidi, latens ilişkili peptid veya LAP olarak adlandırılan pro-bölgeye ve olgun *TGFβ* molekülünün oluşması için gerekli olan 112-114 amino asitlik bir C-terminal bölgeye sahiptir.

Salgılanma sırasında LAP, *TGFβ1*'in olgun bölgesi ile kovalent olmayan bağlarla ilişkili olarak kalır. LAP-1 uzaklaştırılmadıkça biyolojik olarak aktif olmayan latent *TGFβ1* olarak adlandırılır (30).

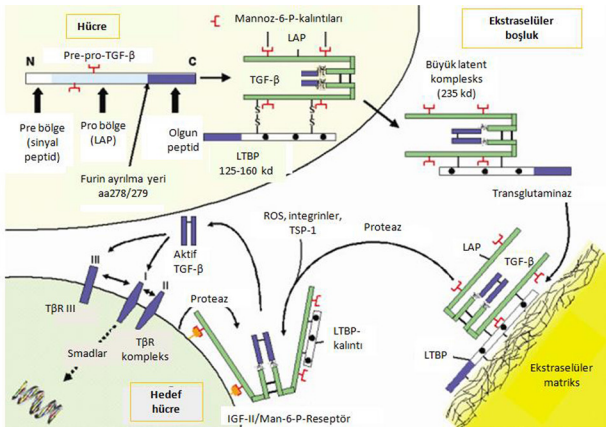
Pro-*TGFβ1* molekülü, olgun *TGFβ1*'i oluşturmak için bir endoproteaz olan furin tarafından kesilir. *TGFβ1*'e kovalent olmayan bağlarla bağlı olan olgun *TGFβ1* ve LAP ilişkisi küçük latent *TGFβ1* kompleksi (SLC) olarak adlandırılır. Bu ilişki yüksek affiniteli reseptörler ve diğer reseptörler tarafından *TGFβ1*'in tanınmasını engeller (SLC=*TGFβ1*+LAP-β). SLC'nin LAP kısımları, farklı *TGFβ* isoformları arasında sekans değişimleri gösterdiğinden dolayı, LAP-β1, LAP-β2 ve LAP-β3 olarak adlandırılırlar. Kemik hücre hattı gibi birkaç hücre tipi SLC formunda latent *TGFβ* üretir ve salgılar ancak hücre tiplerinin çoğu büyük latent kompleksin (LLC) bir parçası olarak, *TGFβ* salgılar (31). Latent *TGFβ1*'e bağlanan LTBP proteini ile SLC arasında kovalent disülfid bağları aracılığıyla LLC oluşturulur (**Şekil 3**).



**Şekil 3:** TGF β1'in büyük latent kompleks içinde salgılanması (Wipff ve Hinz, 2008'den değiştirilerek alınmıştır) (30)

Latent TGFβ1'e bağlanan protein ailesinin 4 izoformu vardır: LTBP-1, LTBP-2, LTBP-3 ve LTBP-4. LTBP'leri fibrilin benzeri ekstraselüler matriks (ECM) proteinlerinin süper ailesine aittir ve transglutaminasyon aşamasında fibrilin-1 ve vitronektin dâhil olmak üzere diğer ECM proteinlerine bağlanmaktadır. Bu özelliğinden dolayı LLC, ekstraselüler matrikste TGFβ deposu olarak görev yapmaktadır (31).

TGFβ sinyal yolağının aktive olması TGFβ ligandının reseptörlere bağlanması ile gerçekleşmektedir (**Şekil 4**).



**Şekil 4:** Ekstraselüler matriks ve TGFβ'nin sentezlenmesi (Gressner, Weiskirchen ve Gressner, 2007'den değiştirilerek alınmıştır) (32)

Reseptörleri aktive etmek için otokrin TGFβ molekülleri salgılanır. TGFβ homodimer sinyalleri transmembran serin/treonin kinaz reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirilir. Damak gelişimi sırasında önemli rol oynayan bu reseptörlerin üç tipi bulunur: TGFβ tip I (TβRI), TGFβ tip II (TβRII) ve TGFβ tip III (TβRIII). TβRI ve TβRII ligand varlığında homodimer olarak bulunan sinyal reseptörleridir. Sitoplazmik bir domaini bulunmayan TβRIII'ün fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber TβRII'ye ligandın bağlanmasını kolay-

laştırdığı düşünülmektedir. TβRI ve TβRII yapısal olarak birbirine çok benzemektedir. Ancak, TβRII'ye göre TβRI daha kısa ekstraselüler domaine sahiptir ve C-terminal bölgesinde yüksek oranda korunmuş GC (glisin, serin) zengin bölge bulunmaktadır. TGFβ ligandının TβRII'ye bağlanması, kinaz aktivitesinin ortaya çıkmasını ve TβRI GC domaininde serin ve treonin amino asidinin fosforile olmasını sağlamaktadır. Tip I sinyal reseptörü aktif hale geldikten sonra sinyali hücre içi araçlar olan ve memelilerde 8 farklı üyesi olan Smad (Sma- ve Mad ile ilişkili protein) ailesine iletmektedir (29).

Yapısal ve fonksiyonel özelliklerine göre SMAD'lar 3 ayrı alt gruba ayrılırlar:

1. Reseptör ile regüle edilen SMAD'lar (R-SMAD'lar); TGFβ ailesi reseptör kinazlarının direkt substratlarıdır (SMAD 1, 2, 3, 5 ve 8).
2. Ortak-mediatör SMAD'lar (Co-SMAD'lar); R-Smad'larla birleşerek sinyal iletimine katılan SMAD'lardır (SMAD 4).
3. İnhibitör SMAD'lar (ISMAD'lar); R-SMAD ve Co-SMAD gruplarının sinyal fonksiyonunu inhibe eden antagonist SMAD'lardır (SMAD 6 ve SMAD 7).

TGFβ sinyalizasyonunun gerçekleşmesi için nükleusta Smad2/Smad3-Smad4 kompleksinin oluşması gereklidir. Nükleoporinler aracılığıyla bu kompleksin geçişi gerçekleştikten sonra Smad2/Smad3-Smad4 kompleksi yaklaşık 300'e yakın genin promotor bölgesine bağlanmakta ve transkripsiyonun regülasyonu gerçekleştirilmektedir (33, 34).

TGFβ1 ve TGFβ3'ün yarık dudak damak oluşumu ile ilişkisini ilk kez Bodo ve ark. 1999 yılında yaptıkları çalışmada göstermişlerdir. Aynı zamanda CL/P fibroblastların *TGFβ1* transkripsiyonunda paralel bir azalma ile daha az aktif TGFβ1 ürettiklerini rapor etmişlerdir (35).

TGFβ1 izoformlarının sinyalleşmesi palatal rafaların füzyonunu hızlandırmada önemli bir role sahiptir (36). *TGFβ1* gen polimorfizmlerinin, sinyal peptid sekansında bulunduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Sinyal sekansı, yeni sentezlenen proteinin endoplazmik retikulum membranlarından dışa aktarılmasına izin verir. Sinyal pep-

tidleri çok çeşitli sekanslara sahip olmalarına rağmen bir bütün olarak işlev sergilerler ve üç bölgeden oluşurlar: pozitif yüklü N-terminal bölgesi, merkezi hidrofobik çekirdek ve polar C-terminal bölgesi (37). Sinyal peptid sekansında bulunan bu polimorfizmler, sinyal peptidinin işlevini ve sentezlenen TGFβ1 proteinin sekresyonunu etkilemektedirler (38).

Bugüne kadar yapılan genetik çalışmalarda ön plana çıkan aday genler arasında interferon düzenleyici faktör 6 (*IRF6*) geni de yer almaktadır. Kromozomun 1q32.3-q41 bölgesinde lokalize olan interferon düzenleyici faktör 6 geni viral enfeksiyondan sonra interferon alfa ve betanın ekspresyonunu düzenleyen dokuz transkripsiyon faktörü ailesinden birisidir. Yapılan araştırmalarda sadece *IRF6* geninin kraniofasiyal gelişme ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (39). Aynı zamanda TGFβ sinyali yolağında, çoğalma ve farklılaşma arasındaki dengeyi kontrol ettiği gösterilmiştir (40).

*IRF6* geni ile dudak damak yarığı arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla farklı popülasyonlarda araştırmalar yapılmıştır. Asya, Avrupa ve Güney Amerika kökenli 10 popülasyonda 8003 bireyin dâhil edildiği bir araştırmada, V274I değişiminin p değeri <10<sup>-9</sup> olarak tespit edilmiş ve dudak damak yarıkları ile ilişkili olduğu bulunmuştur (41).

*IRF6* geni sadece sendromsuz dudak damak yarığının oluşumunda değil, aynı zamanda sendromik dudak damak yarığının oluşumunda da etkin olan faktörlerden birisidir. *IRF6* geninde meydana gelen patojenik mutasyonların 2 allelik duruma neden olduğu gösterilmiştir: Van der Woude Sendromu (VWS) ve Popliteal Pterijum Sendromu (PPS) (42). Van der Woude Sendromu (OMIM 119300), *IRF6* genindeki hem DNA bağlama domaininde hem de protein bağlama domaininde meydana gelen missense mutasyonların sebep olduğu otozomal dominant bir bozukluktur. Diş eksikliği ve alt dudaklarda pit oluşumu ile beraber seyreden ve yarık dudak damak ile birliktelik gösteren en sık rastlanılan sendromlardan birisidir (43). Popliteal Pterijum Sendromu (OMIM 119500), Van der Woude Sendromunun karakteristik özelliklerine ek olarak popliteal, pterijum, sindaktili ve anormal dış genital bölge gibi anomalilere sahip bir konje-

nital anomalidir. Sendromda görülen missense mutasyonların büyük çoğunluğunun, DNA bağlama alanında ortaya çıktığı bildirilmiştir (44).

Dudak ve damak yarıklarının moleküler temeli halen tam olarak anlaşılabilmiş olmamakla birlikte, çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi sonucu oluşan multifaktöriyel bir hastalık olduğu bilinmektedir. Dudak damak yarıklarının genetik açıdan incelenmesi için birçok aday gen araştırılmıştır ve çalışmanın yapıldığı popülasyonlara bağlı olarak farklı parametreler yayınlanmıştır (1, 45).

Dudak damak yarıklarıyla ilgili literatür araştırması yapıldığında Türkiye’de çok az sayıda istatistiksel çalışma yapıldığı görülmektedir. Yapılan çalışmalarda da dudak damak yarıklı hastaların genetik temellerine dayalı bilgilerin çok az nitelikte olması dikkat çekmektedir. 1988 - 2005 yılları arasında Gazi Üniversitesi’nde Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı’nda gerçekleştirilen 17,259 doğumla ilişkili olarak, toplam malformasyon sıklığı, bu malformasyonların tipleri, izole ve kombine olarak görülme oranları, anne yaşına göre ve cinsiyete göre dağılımlarını belirlemek için bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada toplam 205 anomali tespit edilmiştir. Bu anomalilere göre, konjenital malformasyonlu fetüs doğma oranı %1,18 olarak bulunmuştur. Erkek çocuklarda herhangi bir konjenital malformasyon bulunma oranı %1,21 ve kızlarda %1,15 olarak saptanmıştır. Çalışmanın sonucunda, yarık dudak %2,43, yarık damak ise %1,95 olarak rapor edilmiştir (46).

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde 2004 yılında yarık dudak ve damak hastalarında görülen ek malformasyonların ve sendromların saptanması amacıyla bir çalışma yapılmıştır.

Çalışmaya yarık dudak ve damak nedeniyle izlenen ve tedavi edilen 1229 hasta katılmıştır. Bu hastaların 793’ünde (%64,4) hem dudak hem damak yarığı, 436’sında ise (%35,6) izole damak yarığı olduğu görülmüştür. Hem dudak hem damak yarığı olan 793 hastanın 91’inde (%11,4), izole damak yarığı olan 436 hastanın ise 60’ında (%13,7) ek malformasyon olduğu saptanmıştır.

En sık görülen malformasyonların başında da ekstrakranial iskelet sistemi malformasyonlarının olduğu sonucuna varılmıştır (47).

Semiç-Jusufagiç ve ark., Türk populasyonunda dudak ve damak yarıkları ile MTHFR (C677T ve A1298C) polimorfizmlerini araştırmak için, 56 vaka-aile üçlüsü üzerinde çalışmışlardır. 677 TT genotipi taşıyan annelerin dudak damak yarıklı çocuğa sahip olma riski sağlıklı kontrollere göre 3 kat artış göstermiştir (OR=3,14, P=0,03) (48).

Yarık dudak ve damak oluşumuna yol açan mutasyonların kesin olarak tespit edilememesi, embriyogenezde damak gelişimi sırasında gen ekspresyonunun düzenlenmesi ve sinyal moleküllerinin etki mekanizmalarının yeterli bilinmemesinden kaynaklanmaktadır. Moleküller düzeyde yapılacak olan çalışmalar, dudak damak gelişimi ile ilgili sinyal yollarının işleyiş mekanizmasının aydınlatılmasına ve dolayısıyla yarık dudak ve damak patogenezinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacaktır. Ayrıca hastalığın ortaya çıkmasında önemli çevresel faktörlerden olan B6, B12 vitamini ve folik asit düzeylerinin de tespit edilmesi hastalığın prognozu açısından daha fikir verici olabilir. Aynı zamanda yarık dudak ve damak etiyojisine katkıda bulunan faktörlerin belirlenmesi, yarık dudak damak oluşumunun önlenmesi ve gerekli tedbirlerin alınması açısından önem taşımaktadır.

#### KAYNAKLAR

1. Pezzetti F, Martinelli M, Scapoli L, et al. Maternal MTHFR Variant Forms Increase the Risk in Offspring of Isolated Nonsyndromic Cleft Lip With or Without Cleft Palate. *Hum Mutat.* 2004; 24(1): 104-5.
2. Güvenç TN, Aksu M, Kocadereli I. The role of orthodontics in the treatment of cleft lip-palate patients. *Dental Journal of Dicle.* 2010; 11(1): 57-65.
3. Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, et al. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet.* 2011; 12(3): 167-78.
4. Goyette P, Pai A, Milos R, et al. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate. *Mamm Genome.* 1998; 9(8): 652-6.
5. Goyette P, Sumner JS, Milos R, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet.* 1994; 7(2): 195-200.
6. Blanton SH, Henry RR, Yuan Q, et al. Folate Pathway and Nonsyndromic Cleft Lip and Palate. *Birth Defects Res Part A.* 2011; 91(1): 50-60.
7. Bhaskara LV, Murthy J, Venkatesh Babu G. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism and orofacial clefts. *Arch Oral Biol.* 2011; 56: 723-37.
8. Vaughn JD, Bailey LB, Shelnett KP, et al. Methionine synthase reductase 66A->G polymorphism is associated with increased plasma homocysteine concentration when combined with the homozygous methylenetetrahydrofolate reductase 677C->T variant. *J Nutr.* 2004; 134(11): 2985-90.
9. Barbosa PR, Stabler SP, Machado AL, et al. Association between decreased vitamin levels and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms as determinants for elevated total homocysteine concentrations in pregnant women. *Eur J Clin Nutr.* 2008; 62: 1010-21.
10. Refsum H. Folate, vitamin B12 and homocysteine in relation to birth defects and pregnancy outcome. *Br J Nutr.* 2001; 85(2): 109-13.
11. Dikmen M. Molecular Biology of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Enzyme and Its Association with Diseases. *Kocatepe Medical Journal.* 2004; 5: 9- 16.
12. Lamprecht SA, Lipkin M. Chemoprevention of colon cancer by calcium, vitamin D and folate: molecular mechanisms. *Nat Rev Cancer.* 2003; 3(8): 601-14.
13. Evans JC, Huddler DP, Hilgers MT, et al. Structures of the N-terminal modules imply large domain motions during catalysis by methionine synthase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101(11): 3729-36.
14. Yi P, Melnyk S, Pogribna M, Pogribny IP, et al. Increase in plasma homocysteine associated with parallel increases in plasma S-adenosylhomocysteine and lymphocyte DNA hypomethylation. *The Journal of Biological Chemistry.* 2000; 275(38), 29318-23.
15. Bezerra JF, Oliveira GH, Soares CD, et al. Genetic and non-genetic factors that increase the risk of non-syndromic cleft lip and/or palate development. *Oral Dis.* 2015; 21(3): 393-9.
16. Weiner AS, Boyarskikh UA, Voronina EN, Mishukova OV, Filipenko ML. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and methionine synthase A2756G polymorphisms influence on leukocyte genomic DNA methylation level. *Gene.* 2014;533(1):168-72.
17. James SJ, Melnyk S, Pogribna M, et al. Elevation in S-adenosylhomocysteine and DNA hypomethylation: potential epigenetic mechanism for homocysteine-related pathology. *J Nutr.* 2002; 132(8): 2361-6.
18. Leclerc D, Wilson A, Dumas R, et al. Cloning and mapping of a cDNA for methionine synthase reductase, a flavoprotein defective in patients with homocystinuria. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998; 95: 3059-64.
19. Wolthers KR, Scrutton NS. Protein interactions in the human methionine synthase-methionine synthase reductase complex and implications for the mechanism of enzyme reactivation. *Biochemistry.* 2007; 46(23): 6696-709.
20. Chorna LB, Akopyan HR, Makukh HV, Fedoryk IM. Allelic polymorphisms in the MTHFR, MTR and MTRR genes in patients with cleft lip and/or palate and their mothers. *Cytology and Genetics.* 2011; 45(3):177-81.



- 21.** Brandalize AP, Bandinelli E, Borba JB, et al. Polymorphisms in genes MTHFR, MTR and MTRR are not risk factors for cleft lip/palate in South Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 2007; 40(6): 787-91.
- 22.** Gaughan DJ, Kluijtmans LA, Barbaux S, et al. The methionine synthase reductase (MTRR) A66G polymorphism is a novel genetic determinant of plasma homocysteine concentrations. *Atherosclerosis.* 2001; 157(2): 451-6.
- 23.** Cheng HQ, Huang EM, Xu MY, et al. PVRL1 as a Candidate Gene for Nonsyndromic Cleft Lip With or Without Cleft Palate: No Evidence for the Involvement of Common or Rare Variants in Southern Han Chinese Patients. *DNA Cell Biol.* 2012;31(7): 1321-7.
- 24.** Sakisaka T, Ikeda W, Ogita H, et al. The roles of nectins in cell adhesions: cooperation with other cell adhesion molecules and growth factor receptors. *Curr Opin Cell Biol.* 2007;19(5): 593-602.
- 25.** Takai Y, Miyoshi J, Ikeda W, et al. Nectins and nectin-like molecules: roles in contact inhibition of cell movement and proliferation. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008; 9(8): 603-15.
- 26.** Suzuki K, Hu D, Bustos T, et al. Mutations of PVRL1, encoding a cell-cell adhesion molecule/herpesvirus receptor, in cleft lip/palate-ectodermal dysplasia. *Nat Genet.* 2000;25(4): 427-30.
- 27.** Sözen MA, Suzuki K, Tolarova MM, Bustos T, Fernandez Iglesias JE, Spritz RA. Mutation of PVRL1 is associated with sporadic, non-syndromic cleft lip/palate in northern Venezuela. *Nat Genet.* 2001; 2:141-2.
- 28.** Avila JR, Jezewski PA, Vieira AR, et al. PVRL1 variants contribute to non-syndromic cleft lip and palate in multiple populations. *Am J Med Genet A.* 2006;140(23): 2562-70.
- 29.** Nawshad A, LaGamba D, Hay ED. Transforming growth factor beta (TGFbeta) signalling in palatal growth, apoptosis and epithelial mesenchymal transformation (EMT). *Arch Oral Biol.* 2004;49(9): 675-89.
- 30.** Khalil N, Parekh TV, O'Connor R, et al. Regulation of the effects of TGF-beta 1 by activation of latent TGF-beta 1 and differential expression of TGF-beta receptors (T beta R-I and T beta R-II) in idiopathic pulmonary fibrosis. *BMJ Thorax.* 2001; 56(12): 907-15.
- 31.** Wipff PJ, Hinz B. Integrins and the activation of latent transforming growth factor beta1 - an intimate relationship. *Eur J Cell Biol.* 2008; 87(8-9): 601-15.
- 32.** Gressner OA, Weiskirchen R, Gressner AM. Evolving concepts of liver fibrogenesis provide new diagnostic and therapeutic options. *Comp Hepatol.* 2007; 6: 7.
- 33.** Barutcuoglu M, Umur AS, Vatansever HS, et al. TGF-βs and Smads activities at the site of failed neural tube in the human embryos. *Turkish Neurosurgery.* 2013;23(6): 693-9.
- 34.** Vural P. The Suppressing Role of Transforming Growth Factor- B in Cancer. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi.* 2010; 8(1): 35-42.
- 35.** Bodo M, Baroni T, Carinci F, et al. TGFbeta isoforms and decorin gene expression are modified in fibroblasts obtained from non-syndromic cleft lip and palate subjects. *J Dent Res.* 1999; 78(12): 1783-90.
- 36.** Bush JO, Jiang R. Palatogenesis: morphogenetic and molecular mechanisms of secondary palate development. *Development.* 2012; 139: 231-43.
- 37.** Cambien F, Ricard S, Troesch, A, et al. Polymorphisms of the transforming growth factor-beta 1 gene in relation to myocardial infarction and blood pressure. The Etude Cas-Témoign de l'Infarctus du Myocarde (ECTIM) Study. *Hypertension.* 1996; 28(5): 881-7.
- 38.** Dunning AM, Ellis PD, McBride S, et al. A transforming growth factorbeta1 signal peptide variant increases secretion in vitro and is associated with increased incidence of invasive breast cancer. *Cancer Res.* 2003; 63(10): 2610-15.
- 39.** Scapoli L, Palmieri A, Martinelli M, et al. Strong evidence of linkage disequilibrium between polymorphisms at the IRF6 locus and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate, in an Italian population. *Am J Hum Genet.* 2005; 76(1): 180-3.
- 40.** Iwata J, Parada C, Chai Y. The mechanism of TGF-β signaling during palate development. *Oral Dis.* 2011; 17(8): 733-44.
- 41.** 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(8): 769-80.
- 42.** Parada-Sanchez MT, Chu EY, Cox LL, et al. Disrupted IRF6-NME1/2 Complexes as a Cause of Cleft Lip/Palate. *J Dent Res.* 2017; 96(11): 1330-8.
- 43.** Kondo S, Schutte BC, Richardson RJ, et al. Mutations in IRF6 cause Van der Woude and popliteal pterygium syndromes. *Nat Genet.* 2002; 32(2): 285-9.
- 44.** Little HJ, Rorick NK, Su LI, et al. Missense mutations that cause Van der Woude syndrome and popliteal pterygium syndrome affect the DNA-binding and transcriptional activation functions of IRF6. *Hum Mol Genet.* 2009; 18(3): 535-45.
- 45.** Schutte BC, Murray JC. The many faces and factors of orofacial clefts. *Hum Mol Genet* 1999; 8(10): 1853-9.
- 46.** Biri A, Onan A, Kocrucuoğlu Ü, Tıraş B, Himmetoğlu Ö. Bir Üniversite Hastanesinde Konjenital Malformasyonların Görülme Sıklığı ve Dağılımı. *Perinatoloji Dergisi.* 2005; 13(2): 86-90.
- 47.** Tunçbilek G, Özgür F, Balcı S. 1229 yarık dudak ve damak hastasında görülen ek malformasyonlar ve sendromlar, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 2004; 47(1): 172-6.
- 48.** Semiç-Jusufagiç A, Bircan R, Çelebiler Ö, et al. Association between C677T and A1298C MTHFR gene polymorphism and nonsyndromic orofacial clefts in the Turkish population: a case-parent study. *The Turkish Journal of Pediatrics.* 2012; 54(6): 617-25.