

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DIŞ ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

ASEMPTOMATİK TAM GÖMÜK ALT YİRMİ YAŞ
DİŞLERİNİN FOLİKÜLLERİNDE Ki-67 VE P53 GEN
AİLESİNİN EKSPRESYONUNUN VE MUTASYONLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Ender BURHANOĞLU

Doktora Tezi

I. DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY

II. DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR

Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 3608-D2-13 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez. No: 118

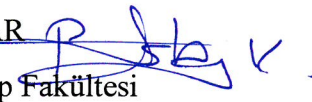



ISPARTA, 2015

KABUL ve ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/06/2015

- Tez Danışmanı I :Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY 
Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD.
- Tez Danışmanı II :Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR 
Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji AD.
- Üye : Prof. Dr. Timuçin BAYKUL 
Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi AD.
- Üye : Prof. Dr. Adnan ÖZTÜRK 
Sakarya Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve
Çene Cerrahisi AD.
- Üye : Prof. Dr. Alper ALKAN 
Erciyes Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve
Çene Cerrahisi AD.

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

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 çalışmayla 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.

“Asemptomatik Tam Gömük Alt Yirmi Yaş Dişlerinin Foliküllerinde Ki-67 ve P53 Gen Ailesinin Ekspresyonunun ve Mutasyonlarının Değerlendirilmesi” adlı Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Dt. Ender BURHANOĞLU

İmza

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY

İmza

2. Danışman

Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR

İmza

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca emeğini, bilgisini, tecrübesini ve desteğini benden esirgemeyen sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY'a,

Çalışmam boyunca beni destekleyen, bana yol gösteren, bilgilerini benimle paylaşan ikinci danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR'a,

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Timuçin BAYKUL'a, Doç. Dr. Nurgül KÖMERİK'e, Doç. Dr. Gülperi KOÇER'e, Yrd. Doç. Dr. Yavuz FINDIK'a ve Yrd. Doç. Dr. Fatih ŞENTÜRK'e,

Doktora hayatım boyunca büyük uyum içinde çalıştığım ve çalışmam boyunca desteklerini benden esirgemeyen asistan arkadaşlarıma ve S.D.Ü Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi klinik ve ameliyathane personeline,

Tez çalışmamın istatistiksel analizlerinde bana yardımcı olan sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Özgür KOŞKAN'a,

Çalışmama maddi destek sağlayan S.D.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Doktora eğitimi konusunda beni cesaretlendiren, eğitim hayatım boyunca maddi manevi desteklerini her an arkamda hissettiğim, en zor zamanlarımda daha güçlü hissetmemi sağlayan sevgili annelerim Işık BURHANOĞLU, Müşerref BULUT ve sevgili babam Recep BURHANOĞLU'na,

Bugüne kadar her türlü zorluğa beraber göğüs gerdiğimiz, mutlulukları ve hüznüleri paylaştığımız ve bundan sonra da paylaşmak isteyeceğim sevgili eşim Şule BULUT BURHANOĞLU'na,

Doktora eğitimimiz sürecinde ailemize dahil olan ve hayatımıza, neşe, bereket ve enerji getiren çocuklarım Doruk ve Ateş BURHANOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Ender BURHANOĞLU

Isparta, 2015

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL ve ONAY	ii
BEYAN	iii
ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Gümük Alt Yirmi Yaş Dişleri	3
2.1.1. Gümük Kalma Nedenleri	3
2.1.2. Gümük Alt Yirmi Yaş Dişleri ile İlişkili Patolojiler ve Çekim Endikasyonları	4
2.1.3. Gümük Alt Yirmi Yaş Dişlerinin Çekim Kontrendikasyonları	8
2.1.4. Perikoronar Folikül	9
2.2. Ki-67.....	11
2.3. p53 ve p63	14
2.3.1. p53	14
2.3.2. p63	19
2.4. Sigara.....	21
2.4.1. Sigara Dumanının Kimyasal Bileşenleri	22
2.4.2. Sigara Kullanımı ve Ağız Sağlığı	24
2.5. Mutasyon	25
2.5.1. TP53 Mutasyonları	28
2.5.2. TP63 Mutasyonları	30
2.5.3. DNA Sentezleme ve Genotipleme	31
2.5.3.1. PZR (Polymerase Chain Reaction- Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ...	31
2.5.3.2. PZR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism, Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Sınırlayıcı Parça Uzunluk Polimorfizmi)	33

3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	34
3.1. Gereç	34
3.2. Yöntem	34
3.2.1. Hastalara Uygulanan İşlemler.....	34
3.2.2. İmmunohistokimyasal Boyama	36
3.2.2.1. Dokuların Hazırlanması	36
3.2.2.2. İmmunohistokimyasal Çalışmalar.....	38
3.2.2.3. İmmunohistokimyasal Boyamada Kullanılan Kimyasalların Hazırlanışı	38
3.2.2.4. İmmunohistokimyasal Boyama İşlemi.....	39
3.2.2.5. İmmunohistokimyasal Boyanmanın Skorlanması ve Değerlendirilmesi	41
3.2.3. DNA Dizilimi ve Mutasyon Analizi.....	42
3.2.3.1. DNA İzolasyonu ve Kalitesi	43
3.2.3.2. Çalışma Dilüsyonu	43
3.2.3.3. Genotipleme Testi İçin Gereken PZR Primer ve Uzama Probu Dizaynı	43
3.2.3.4. Sequenom MassARRAY® Protokol.....	44
3.2.3.4.1. DNA'nın Genotipleme İçin Çoğaltılması	44
3.2.3.4.2. dNTP Nötralizasyonu (SAP Reaksiyonu)	44
3.2.3.4.3. iPLEX Gold® Reaksiyonu Hazırlama (Tek Baz Spesifik Uzama Reaksiyonu).....	44
3.2.3.4.4. Rezin ile Temizleme	44
3.2.3.4.5. SpectroCHIP® Dağılımı.....	45
3.2.3.4.6. MALDI-TOF MS ile Veri Analizi	45
3.3. İstatistiksel Analiz	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. İmmunohistokimyasal Boyama Sonuçları.....	49
4.2. DNA Dizilimi ve SNP Analizi Sonuçları.....	50
5. TARTIŞMA.....	60
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	78
ÖZET	80
ABSTRACT.....	81
KAYNAKLAR	82
EKLER.....	99

Ek 1. Etik Kurul Onayı.....	99
Ek 2. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Destekleme Protokolü	101
Ek 3. Hasta Anamnez ve Aydınlatılmış Onam Formu	103
ÖZGEÇMİŞ.....	108

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Adenin
bcl-2	: <i>b-cell lymphoma- 2</i> (b hücreli lenfoma-2)
C	: Sitozin
°C	: Santigrat derece
cc	: santimetreküp
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNDP	: Deoksinükleotid difosfat
dNTP	: deoksinükleotid trifosfat
dk	: dakika
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor (Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü)
G	: Guanin
G₀	: Gap 0 evresi
G₁	: Gap 1 evresi
gDNA	: Genomik DNA
HCl	: Hidroklorik asit
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HPV	: Human Papilloma Virüs
K⁺	: Potasyum
kDA	: kilo Dalton
M	: Mitoz evresi
MALDI-TOF MS	: Matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry
MCM2	: Minichromosome maintenance protein-2
Mg⁺	: Magnezyum
mg/ml	: miligram/mililitre
mm	: milimetre
µm	: mikrometre
mRNA	: <i>messenger Ribonucleic acid</i> (mesajcı Ribonükleik asit)
Na⁺	: Sodyum
NCBI dbSNP	: National Center for Biotechnolgy Information data base of Single Nucleotide Polymorphisms

ng/µl	: nanogram/mikrolitre
nm	: nanometre
PCNA	: Proliferating cell nuclear antigen (Prolifere hücre çekirdek antijeni)
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu (<i>Polymerase chain reaction</i>)
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i> (Reaktif oksijen türleri)
rpm	: <i>revolutions per minute</i> (dakikada dönüş hızı)
rs	: Reference Single Nucleotide Polymorphism
SAP	: Shrimp alkaline phosphatase
SNP	: <i>Single nucleotide polymorphism</i> (Tek baz polimorfizmleri)
T	: Timin

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmaya dahil edilen hastaların sigara kullanma durumu ve cinsiyete göre yaş ortalamaları dağılımı.....	47
Tablo 2. Cinsiyetlere göre sigara kullanım durumu dağılımı.....	48
Tablo 3. Çalışmaya katılan hastaların sosyodemografik bilgileri.	49
Tablo 4. Çalışmada SNP gözlenen rs bölgeleri ve SNP500Cancer Sistemindeki kodu ile bölgede meydana gelen baz çifti değişimi.	53
Tablo 5. SNP gözlenen rs noktalarında genotiplerin görülme sıklıkları ve sigara ile ilişkileri	55
Tablo 6. Her bir rs noktasında genotiplerin cinsiyete göre görülme oranları.....	56
Tablo 7. Dişlerin kemik retansiyonu durumuna göre rs noktalarında genotiplerin görülme oranları.	57
Tablo 8. Dişlerin pozisyonlarına göre genotiplerin görülme sayıları.....	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Diş çekim kararını verirken dikkate alınması gereken durumlar.....	7
Şekil 2. Ki-67'nin hücre döngüsünde ekspresyonu.....	12
Şekil 3. p53'ün şematik görüntüsü.....	15
Şekil 4. Sağlıklı ve mutant p53'ün genotoksik streslere karşı yanıtı.....	16
Şekil 5. Genotoksik strese karşı oluşan yanıtta, p53 stabilizasyonu ve fonksiyonunu düzenleyici mekanizmalar.....	18
Şekil 6. p63 proteininin yapısının şematik görünümü.....	19
Şekil 7. Radikallerin ve antioksidanların tümör oluşumundaki rolleri.....	25
Şekil 8. Kanseri oluşumu ve yaşlanmada DNA hasarı ve DNA tamirinin rolü.....	26
Şekil 9. PZR (Polimeraz zincir reaksiyonu).....	32
Şekil 10. DNA izolasyonu, PZR ile DNA'nın çoğaltılması ve MassARRAY analizi için hazırlanması.....	45
Şekil 11. MALDI-TOF MS yöntemi ile DNA analizi.....	46
Şekil 12. p53'ün ve gözlenen SNPlerin gen üzerindeki konumlarının şematik görüntüsü.....	51

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Panoramik radyografide gömük alt yirmi yaş dişinin kronu etrafında yer alan perikoronar follikülün görüntüsü.....	9
Resim 2. Çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan panoramik radyografide yapılan dijital ölçüm.....	35
Resim 3. Doku takip kasetlerine alınan örnekler.....	37
Resim 4. Örneklerle antikor uygulanması.....	41
Resim 5. İmmünohistokimyasal boyamaya tabi tutulan örnekler.....	41
Resim 6. MassARRAY analiz cihazı.....	42
Resim 7. Demirjian ve ark.'nın sınıflandırmasına göre çalışmada çekilen dişlerin gelişim evreleri.....	48
Resim 8. Örneklerin immünohistokimyasal boyanma sonuçları.....	50
Resim 9. rs17880560 bölgesinde tespit edilen SNP sonucu farklı genotiplerin MALDI-TOF MS analiziyle elde edilen görüntüleri.....	52

1. GİRİŞ

Gömük dişlerin çekimi, oral ve maksillofasiyal cerrahların en sık gerçekleştirdikleri cerrahi işlemlerden birisidir. Gömük alt yirmi yaş dişleri, gömük kalma prevalansı en yüksek olan dişlerdir (1-3). Gömük dişler uzun yıllar ağızda semptom vermeden kalabildikleri gibi bazen semptomatik veya asemptomatik olarak patoloji gelişmesine de neden olabilirler. Gömük dişlerin foliküllerinden oral kavitenin en çok görülen ikinci odontojenik kisti ve en çok görülen gelişimsel odontojenik kisti olan dentigeröz kist gelişebilir (4).

Dişlerin çekimini gerektiren endikasyonlar dışında hiçbir semptom vermeyen, radyografik muayenede sağlıklı görüntü veren gömük yirmi yaş dişlerinin çekim kararı ile ilgili tam bir fikir birliğine varılamamıştır. Asemptomatik ve radyografik olarak sağlıklı görünen gömük yirmi yaş dişlerinin foliküllerinde yapılan histolojik incelemelerde tespit edilen patolojik değişiklikler profilaktik çekimin tercih edilmesi gerektiği şeklinde yorumlanmaktadır (5-8).

Histolojik değişimler bazı çevresel faktörlere bağlı gelişebilmektedir. Bu nedenle asemptomatik gömük yirmi yaş dişlerinin foliküllerinde histolojik incelemeler sonucu tespit edilen patolojik değişiklikler, bu değişikliklere neden olabilecek çevresel faktörlerin neler olabileceği konusunu gündeme getirmiştir.

Sigara kullanımı en sık akciğer kanserine neden olmakla beraber, baş-boyun bölgesi kanserlerinin de en büyük etkenlerinden biridir ve erkeklerdeki baş-boyun bölgesi kanserlerinin %23'ünden sorumlu tutulmaktadır (9-11). Baş-boyun bölgesi kanserlerinin yaklaşık %65'i oral kavitede ve farinkste meydana gelirken, bu kanserlerden skuamoz hücreli karsinom en sık görülen altıncı kanser türüdür ve en çok oral kavitede ve orofarinkste görülmektedir (9, 12). Sigara içinde yer alan kanserojen maddelere tekrarlayan şekilde maruz kalma, oral kavitenin çok katlı yassı epitel hücrelerinde neoplastik değişikliklere yol açmaktadır (13).

Dokuların kansere yatkınlığını ve kanserin prognozunu değerlendirmek için yapılan çalışmalarda Ki-67 ve p53 proteinlerinin yanı sıra p63 proteinin de kanserle ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (14-18). Ki-67, hücre proliferasyonu için hayati öneme sahip bir proteindir ancak etki mekanizması hakkında net bir bilgi

bulunmamaktadır (19). Ki-67 proteininin dokulardaki ekspresyonu, patolojide tümör hücrelerin büyüme fraksiyonunu ölçmek için hücre çoğalması belirleyicisi olarak kullanılır (14).

p53 ve p63 proteinleri p53 gen ailesinin üyeleridir (17, 20, 21). p53 proteini normal koşullar altında dokularda çok az miktarda bulunur. Normal hücre siklusunda herhangi bir değişiklik yaratacak veya hücrenin kanserli hücreye dönüşmesine yol açacak bir mutasyonu tetikleyebilecek hücresel stress varlığında aktive olur. Aktive olan p53 proteini hücre siklusunu durdurarak veya apoptozu başlatarak hasarlı hücrelerin yok edilmesini sağlar (20). p63 proteini de benzer şekilde tümör baskılayıcı protein olarak işlev görür (17).

Organizmanın genomunda meydana gelen değişikliklere DNA lezyonları denir (22). DNA hasarları oluştuğlarında, hücre içinde yer alan çok sayıda kontrol mekanizması devreye girerek DNA'nın kendisini tamir etmesi için hücre siklusunu durdurur. Eğer hasar tamir edilemiyorsa, hücre apoptozu yönlendirilir. Mutasyonlar ise kontrol mekanizmalarından kaçmayı başaran ve sonraki nesillere aktarılan DNA hasarlarıdır (23, 24). Sigara içinde DNA hasarı oluşturduğu bilinen çok sayıda bileşik mevcuttur.

Bu çalışmanın amacı, radyografik olarak sağlıklı ve asemptomatik olan gömük alt yirmi yaş dişlerinden elde edilen perikoronar foliküllerde, Ki-67 ve p53 proteinlerinin immunohistokimyasal boyanmaları ve dağılımının yanı sıra p53 ve p63 proteinlerinin sentezlendiği DNA bölgelerinde herhangi bir mutasyon olup olmadığının tespit edilmesi ve elde edilen bulguların sigara kullanımıyla ilişkili olup olmadığının araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gömük Alt Yirmi Yaş Dişleri

Dental arkta yeterli yer olmaması sonucu komşu dişin engellemesi, odontoma veya kist gibi patolojik bir oluşum veya anormal pozisyonda gelişmiş olması nedeniyle normal sürme yaşında ağız içinde normal fonksiyonel pozisyona sürmesi engellenmiş olan dişlere “gömük diş” denir. Ağızda gömük kalma oranı en fazla olan diş, en son süren alt yirmi yaş dişleridir (1-3). Bu dişler ortalama 20 yaş civarında sürmekle beraber sürme yaşı 24'e kadar çıkabilmektedir (2). Daha da ötesi bu dişlerin gömük olsalar bile 30'lu yaşlara kadar çene kemiği içinde hareket ettikleri, pozisyonlarının değiştiği ve hatta ağız içine sürebildikleri rapor edilmiştir (25, 26). Bu dişlerin gömük kalma prevalansı farklı populasyonlarda yapılan çalışmalar sonucunda %7-72 arasında bulunmuştur (3, 27-31)

2.1.1. Gömük Kalma Nedenleri

Dişlerin gömük kalmasında sistemik ve lokal faktörler etkilidir. Kleidokraniyal displazi gibi genetik sendromlar nedeniyle dişlerin gömük kalmasına “primer retansiyon” denir. Hipotiroidizm, hipopituitarizm gibi endokrin hastalıklar, ateşli hastalıklar, Down sendromu ve radyasyona maruz kalma dişlerin gömük kalmasına neden olabilecek sistemik faktörlerdir (2).

Daha sıklıkla dişlerin gömük kalmasında lokal faktörler rol oynamaktadır. Dişlerin gömük kalmasına neden olabilecek lokal faktörler:

- I. süt dişi retansiyonu
- II. malpoze diş germi
- III. dental ark boyu yetersizliği
- IV. süpernumere diş
- V. odontojenik tümörler
- VI. anormal sürme yolu
- VII. damak dudak yarığıdır (2).

2.1.2. Gmk Alt Yirmi Yaş Dişleri ile İlişkili Patolojiler ve Çekim Endikasyonları

Gmk dişlerin patolojiye neden olabilme potansiyellerinin olması bu dişlerin profilaktik olarak çekilmesini savunanların en önemli gerekçesini oluşturmaktadır. Gmk alt yirmi yaş dişlerinden gelişebilecek patolojiler şunlardır:

- I. Perikoronitis: Yarı gömük alt yirmi yaş dişinin kronunu çevreleyen yumuşak dokularda gingivitise benzer enflamatuvar yanıt oluşma ihtimali vardır (2). Gmk alt yirmi yaş dişlerinin takip edildiği çalışmalarda perikoronitis gelişme insidansı %8 ile %64 arasında bulunmuştur (32-34). Gmk alt yirmi yaş dişlerinin çekim nedenlerine bakıldığında, perikoronitise bağlı gömük alt yirmi yaş dişlerin çekilme prevalansı ise %6 ile %26 arasında rapor edilmiştir (31, 35).
- II. Ağrı: Nadiren hastalar hiçbir klinik veya radyografik patoloji bulgusu olmamasına rağmen çenelerinde gömük yirmi yaş dişi bölgelerinde ağrıdan şikayet ederler. Nedeni tam olarak bilinmese de bu dişlerin çekilmesiyle genellikle bu ağrılar son bulur (2). Gmk mandibular yirmi yaş dişlerinde ağrı insidansı tam gömük dişlerde %13, yarı gömük dişlerde %22 ile 40 arasında rapor edilmiştir (3, 32, 33).
- III. Komşu dişlerde kök rezorpsiyonu: Yirmi yaş dişleri komşu dişlerin köklerinde rezorpsiyona yol açabilir. Yapılan çalışmalarda, gömük yirmi yaş dişlerine bağlı komşu dişlerin köklerinde rezorpsiyon görülme sıklığı, radyografik incelemeler sonucunda, %0-7,5, (29, 33, 36, 37). Komşu dişin köklerinde rezorpsiyon meydana geldiği farkedilirse gömük dişi hemen çekilmelidir. Rezorpsiyon çok şiddetliyse ve yirmi yaş dişi belirgin şekilde ikinci moların köklerinin içine doğru yer değiştirmişse her iki dişin de çekilmesi gerekebilir (2).

IV. Ortodontik problemler: Gömük yirmi yaş dişleri, özellikle mandibular dişler, bazı ortodontik problemlere neden olabilir. Bu problemler üç başlık altında toplanır:

Alt Keser Dişlerde Çapraşıklık: Gömük alt yirmi yaş dişlerinin alt keser dişlerde çapraşıklığa yol açtığına dair net bir kanıt mevcut değildir (38, 39).

Ortodontik Tedavinin Engellenmesi: Bazı durumlarda molar dişlerin ortodontik olarak distalize edilmesi gerekmektedir. Bu vakalarda gömük yirmi yaş dişlerinin çekimi tedaviyi hızlandırır ve daha öngörülebilir sonuçlar elde edilmesini sağlar (2).

Ortognatik Cerrahiye Hazırlık: Mandibular osteotomi planlanan hastalarda osteotomi hattındaki gömük dişlerin çekiminin ertelenmesi, özellikle mandibular ilerletme cerrahilerinde, distal segmentin proksimal tarafında lingual kemiğin kalınlığında ve kalitesinde azalmaya neden olur ve fiksasyonu zorlaştırır. Dişler cerrahi öncesi çekilecekse çekim boşluğunun olgun kemikle dolması için yeterince beklenmesi gerekir (2).

V. Çene kırıkları: Mandibula yüzün alt üçlüsünü oluşturan kemik yapıdır ve en sık kırık görülen yüz kemiğidir. Mandibular angulus bölgesi, kondilar proçes ve mentumun her iki tarafı mekanik olarak zayıf bölgelerdir. Gömük yirmi yaş dişlerinin varlığının mandibular angulus bölgesinde kemik yüzey alanını azaltarak kırık oluşma riskini arttırdığı bilinmekte ve bu nedenle özellikle fizik güce dayalı sporlarla uğraşan gençlerde bu dişlerin proflaktik olarak çekilmesi gerektiği görüşü savunulmaktadır (1, 2). Ancak Iida ve ark. ile Zhu ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda gömük mandibular yirmi yaş dişlerinin varlığının kondil kırığı riskini azalttığını göstermişlerdir (40, 41).

VI. Protez altında kalan dişler: Hareketli veya sabit protez yapımından önce, protezlerin yer alacağı alanda herhangi bir gömük dişin olmamasına dikkat edilmelidir. Tam kemik retansiyonlu, asemptomatik dişler, hasta 40 yaşın üzerindeyse bırakılabilir. Ancak doku destekli bir hareketli protezin oturacağı alanda ince kemik retansiyonlu ya da mukoza retansiyonlu bir gömük diş mevcutsa, bu diş çekilmelidir. Eğer bu dişler çekilmezse protez kullanımına

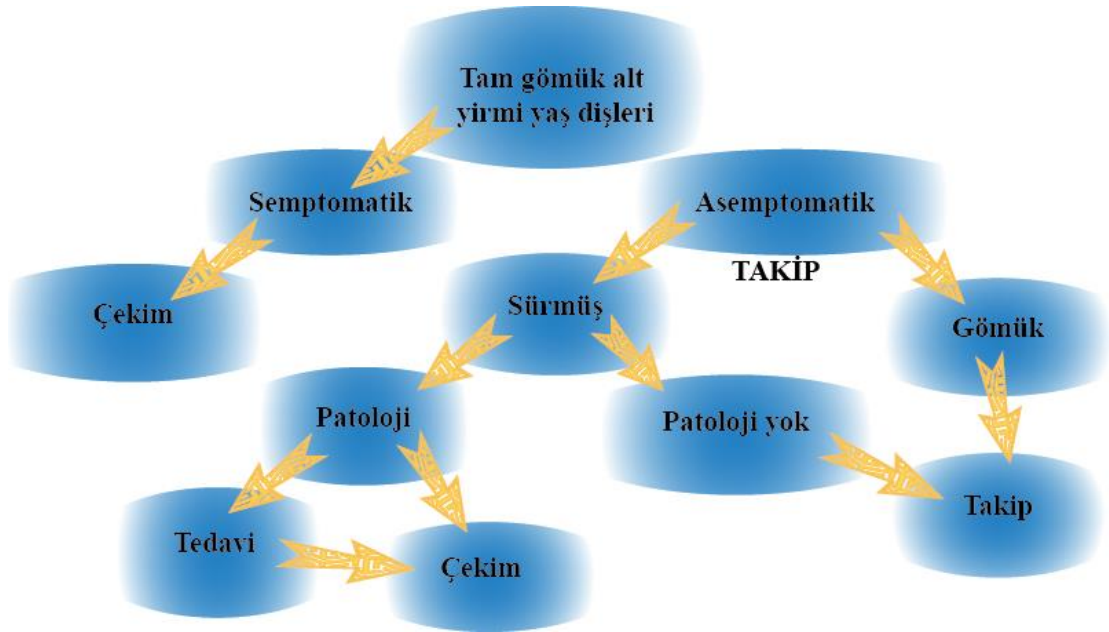
bağlı olarak meydana gelecek kemik rezorpsiyonu sonucu üzerini örten mukozayı perforate ederek ağız içine sürecektir. Bu bölgede ağrı ve iltihap oluşma riski yüksektir ve protezin kullanımını engeller (2).

- VII. Periodontal hastalıklar: Periodontal dokuların sağlığı için gömük yirmi yaş dişlerin çekilmesi gerekebilir. Dicus-Brookes ve ark. yaptıkları çalışmada perikoronitis şikayetiyle başvuran hastalarda, gömük yirmi yaş dişlerin çekiminin hem ikinci molar dişlerin hem de daha anteriordaki dişlerin periodontal sağlığına kavuşmasında etkili olduğunu rapor etmişlerdir (42). Yapılan çalışmalarda gömük alt yirmi yaş dişi olan bireylerde mandibular ikinci molar dişin distalinde 5mm'den derin cep bulunma oranı %9 bulunmuştur (3). Gömük yirmi yaş dişlerinin yaklaşık %5'i periodontal nedenlerle çekilmektedir (2).
- VIII. Diş çürükleri: Mandibular yirmi yaş dişinde veya komşu ikinci molar dişte en sık servikal bölgede çürük gelişir. Bu bölgeyi etkili şekilde temizleyemeyeceği ve diş hekimi de üçüncü molar dişe erişmekte zorluk yaşayacağı için bu dişler çekilir. Ayrıca bu dişlerde çok farklı kök-kanal morfolojileri görülebilmesi nedeniyle kök kanal tedavisi yerine çekim kararı verilebilir (43). Gömük yirmi yaş dişlerinin %15'i dişlerde oluşan çürük nedeniyle çekilmektedir (2).
- IX. Odontojenik kist ve tümör oluşumu: Çene içinde gömük kalmış yirmi yaş dişleri kistik veya neoplastik değişimlere uğrayabilirler. Kronun oluşumundan sorumlu olan foliküler kese kistik dejenerasyona uğradığında dentigeröz kist oluşumuna neden olur. Bu keseden odontojenik tümör veya daha nadir olarak malignansi de gelişebilir (2). Çenelerde en sık görülen gelişimsel kist olan dentigeröz kist indirgenmiş mine epitelinin proliferasyonu, kemik rezorpsiyon faktörlerinin salgılanması ve kist sıvısının osmolaritesinde artış sonucu meydana gelir. En sık hayatın ikinci ve üçüncü dekadlarında görülür ve erkeklerde görülme insidansı kadınlara göre daha fazladır (4). Genellikle kadınlarda, 40 yaş altında ve maksillada görülen gelişimsel odontojenik bir kist olan kalsifiye odontojenik kistin odontojenik epitel artıklarından köken aldığı düşünülmektedir. Çoğunlukla maksillada görülmekle beraber gömük alt yirmi yaş dişi folikülünde de epitelyal odontojenik kist görülmüştür (4, 44).

Gömük alt yirmi yaş dişlerinin foliküllerinden gelişen kist prevalansını, %2,31 ile %2,9 gibi düşük bulan çalışmalar olduğu gibi, %23, %34, %37 %46 ve %50 gibi yüksek oranlarda bulan çalışmalar da vardır (5-7, 44-47).

Curran ve ark. yaptıkları çalışmada gömük alt yirmi yaş dişlerinin foliküllerinden odontojenik keratokistik tümör, odontoma, ameloblastoma, karsinoma, kalsifiye epitelyal odontojenik tümör ve odontojenik miksuma gelişebildiğini belirtmişlerdir (44). Gömük alt yirmi yaş dişi folikülü ile ilişkili teşhis edilen tümörlerin patogeneğinde foliküler bağ dokusu, dental lamina artıkları, mine organı, odontojenik artıklar, indirgenmiş mine epiteli ve özellikle dentigeröz kist olmakla beraber odontojenik kistlerin epitel duvarları rol almaktadır. Ancak bu hücrelerin neoplastik dönüşüm geçirmesine neden olan faktörler bilinmemektedir (4).

Gömük alt yirmi yaş dişlerinin foliküllerinin histopatolojik incelemelerinde tümör gelişme riski %0,79 ile %1,17 bulunmuştur. Bunların %0,2'si malign tümörlerdir (Şekil 1) (6, 44).



Şekil 1. Diş çekim kararını verirken dikkate alınması gereken durumlar.

Kandasamy ve ark. (2009)'dan modifiye edilmiştir.

2.1.3. Gmk Alt Yirmi Yaş Dişlerinin Çekim Kontrendikasyonları

Gmk yirmi yaş dişlerinin çekiminin riskleri, hastaya sağlayacağı faydadan daha fazlaysa, dişlerin çekimi kontrendikedir. Buna göre:

- I. Hastanın çok genç veya çok yaşlı olması: Dokuların iyileşmesi genellikle genç hastalarda daha çabuk ve tam olur ancak yine de çok genç hastalarda gömük yirmi yaş dişlerinin çekimi kontrendikedir. Bazı hekimler büyüme ve gelişimin doğru analiz edilmesiyle bir dişin gömük kalıp kalmayacağını çok önceden belirlenebileceğini ve buna göre gömük kalacağı düşünülen dişlerin germ halindeyken erken yaşlarda çekilebileceğini savunmuşlardır. Ancak günümüzde, bu dişlerin ileride sürebileceği düşünülmektedir ve bu nedenle bu dişlerin erken yaşlarda çekilmemesi gerektiği savunulmaktadır (2).

Hastanın yaşı ilerledikçe kemik daha kalsifiye bir hal alır ve esnekliğini kaybeder. Ayrıca iyileşme mekanizması zayıflar. Bu nedenle hastada gömük yirmi yaş dişi çekiminden sonra daha büyük bir defekt meydana gelir. 40 yaş üzeri hastalarda, çekimden sonra iyileşme süreci 18 yaşındaki bir hastaya göre daha uzun sürer (2). Ayrıca ilerlemiş yaşla beraber intraoperatif ve postoperatif komplikasyon gelişme riski de artmaktadır (48).

Genel kural olarak, hasta 40 yaşın üzerindeyse, tam kemik retansiyonlu, oral kavite ile iletişimi olmayan ve patoloji bulgusu olmayan dişler çekim yerine takip edilebilir.

- II. Sistemik hastalık varlığı: Gmk dişi olan hastalarda özellikle ileri yaşta olanlarda eşlik eden sistemik hastalık bulunma ihtimali de yüksektir. Yaşla beraber kardiyovasküler hastalık, pulmoner hastalık ve diğer hastalıkların görülme insidansı artar. İlerlemiş yaş ve sistemik hastalıklar bu dişlerin çekilmesi için kontrendikasyon oluştururlar (2).

Konjenital koagulopati, astım, epilepsi gibi diğer rahatsızlıklar genç bireylerin sağlık durumlarını etkileyebilir. Bu bireylerde gömük dişlerin patoloji gelişmeden çekilmesi gerekebilir (2).

III. Komşu anatomik oluşumlara zarar verme riski: Eğer gömük yirmi yaş dişinin çekilmesinin, komşuluğunda bulunan sinir, diş, sinüs gibi önemli anatomik yapılara zarar verme riski yüksekse bu dişlerin yerinde bırakılması gerekir. Ayrıca yaşlı hastalarda gömük yirmi yaş dişi çekiminden sonra oluşan kemik defektleri tam olarak dolmayacağından ikinci molar dişin kaybına neden olabilir (2).

2.1.4. Perikoronel Folikül

Primitif dental sak veya dental folikül, odontojenik ektomezenşimden köken alır ve diş germinin sement, periodontal ligament ve alveolar kemik yapımından sorumlu olan kısmını oluşturur. Dişler çene içinde gelişimini tamamladıktan sonra folikülün koronal parçası perikoronel kese veya folikül (PF) olarak adlandırılır ve sürmemiş dişlerde krona yapışık durumda bulunur (Resim 1) (49, 50). Fibröz bağ dokusu ve odontogenezisin epitel artıklarından oluşur ve patolojiye neden olan bu epitel artıklarıdır (50).



Resim 1. Panoramik radyografide gömük alt yirmi yaş dişinin kronu etrafında yer alan perikoronel folikülün görüntüsü.

Perikoronel foliküllerden, dentigeröz kist, keratistik odontojenik tümör, ameloblastoma gibi kist ve tümörler gelişebilmektedir (5, 46, 47, 51). Ayrıca nadiren de olsa malign lezyonlar geliştiği de rapor edilmiştir (6, 44, 52).

Perikoronar folikül radyografide gömük dişin kronu çevresinde radyoopak sınırla çevrilmiş radyolüsent alan olarak izlenir. Asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dişlerinin çekim kararını vermek için yapılan radyografik tetkiklerde kron çevresindeki radyolüsent alanın genişliğinin en önemli kriter olduğu savunulur. Buna göre intraoral radyografide 2,5 mm, panoramik radyografide magnifikasyon hatası da hesap edilerek 3 mm'den daha geniş folikül aralığı şüpheli olarak değerlendirilmelidir (50, 53). Ancak bazı araştırmacılar, radyografide normal kabul edilen folikül genişliğine sahip vakalarda histolojik incelemelerde patolojik değişiklikler görülebileceği gibi 3mm'den geniş folikül aralığı olan vakalarda da sağlıklı folikül tespit edilebileceğini rapor etmişlerdir (5, 7, 45-47, 49, 52, 54). Ancak yapılan histolojik incelemelerde, folikülde kistik değişiklik olup olmadığını belirlemek için kullanılan kriterler tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar folikül kesitlerinde yoğun bağ dokusu üzerinde indirgenmiş mine epitelini yerine devamlı çok katlı yassı epitel varlığının veya bağ dokusu içinde epitel adacıklarının varlığının kistik dönüşümü işaret ettiğini öne sürerken bazı araştırmacılar ise bu farklılığın kist tanısı konması için yeterli olamayacağını, 2,5mm'nin altında folikül genişliği olan vakalarda folikülde çok katlı yassı epitel izlenebileceği gibi folikül aralığı genişlemiş hiperplastik foliküllerin kesitlerinde de indirgenmiş mine epitelinin izlenebileceğini belirtmişlerdir (7, 44, 46, 47, 55). Bu nedenle kist tanısı konabilmesi için patolojik bir kavitenin olması, sıvı veya yarı-katı içeriğinin olması ve kistik epitel varlığı gibi kriterlere sahip olması gerektiğini savunurlar (56). Bazı yazarlar bütün çıkarılan perikoronar foliküllerin rutin olarak histolojik incelemeye gönderilmesi gerektiğini savunmaktadırlar (52).

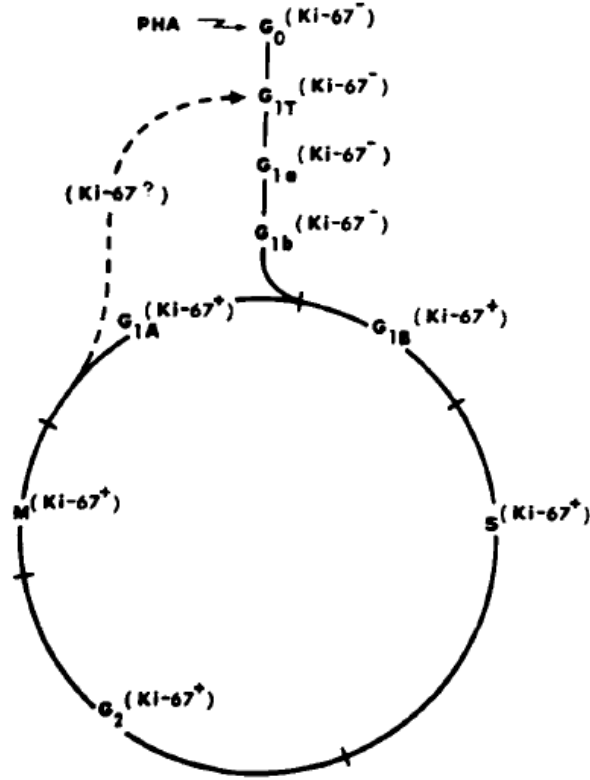
Perikoronar foliküllerin patolojik incelemelerinde, epiteldeki kistik değişiklikler, enflamasyon varlığı, *epidermal growth factor receptor* (EGFR), Ki-67, p53, p63, integrin, *Minichromosome maintenance protein-2* (MCM2), *proliferating cell nuclear antigen* (PCNA), *b-cell lymphoma-2* (bcl-2) proteinlerinin epitel hücrelerindeki dağılımı ve yoğunluğu gibi parametreler araştırılmıştır (8, 45, 50, 57-61).

2.2. Ki-67

Hücre çekirdeği proteini olan Ki-67 (pKi-67), 395 kDa ağırlığında ve genomdaki yaklaşık 30,000 baz çifti tarafından kodlanan büyük bir proteindir (19). Bu antijeni tanıyıp, bağlanan Ki-67 ise IgG1 sınıfından murin monoklonal bir antikordur (62). İlk olarak Kiel (Almanya) şehrinde yapılan bir çalışmada tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan kültür örnekleri içinden 67. örnekte tespit edilen bu proteine şehrin adı ve tespit edildiği örnek numarasının adı verilmiştir. Ki-67'nin iki izoform proteini bulunur ve bu iki izoform protein de dahil olmak üzere en az 6 farklı mRNA dizilimi olduğu kabul edilir. cDNA'ların her iki izoformunun da merkez parçası 6845 baz çiftinden oluşan ekzon 13 tarafından kodlanır ve zincir şeklinde 16 tekrardan oluşur. Bu tekrarlara “Ki-67 tekrarları” denir. Bu tekrarlarda 66 baz çifti yüksek oranda korunur bunlara “Ki-67 motifi” denir ve bu motifler antikorun bağlandığı epitoplara kodlar (63). Bu proteinin yapısıyla ilgili yapılan çalışmalar sonucunda daha önceden keşfedilmiş olan hiçbir polipeptide benzemediği ortaya çıkmıştır. Bu nedenle protein yapısıyla ilgili ne kadar çok şey biliniyor olsa da hücre fonksiyonu ve biyokimyasal özellikleri ile ilgili çok az şey bilinmektedir (64, 65).

Gerdes ve ark. yaptıkları çalışmada Ki-67 proteininin sadece çoğalan hücrelerin çekirdeklerinde bulunan bir antijene bağlandığını ve dinlenme fazında (G_0) olan hücrelerde bu antijenin bulunmadığını rapor etmişlerdir (66). Yapılan araştırmalar, hücre çoğalmasıyla ilişkili bu antijenin hücre döngüsünün bütün aktif dönemlerinde (G_1 , S, G_2 ve mitoz) var olduğunu, ancak ilk kez bölünmeye başlayacak olan hücrelerde G_1 fazının erken evrelerinde ve dinlenme safhasındaki hücrelerde (G_0) bulunmadığını göstermiştir (Şekil 2) (67). Gerdes ve ark. tonsillerdeki germinal merkez hücrelerinin, epitelin bazal hücrelerinin, testislerin farklılaşmamış spermatogonialarının tümünün Ki-67 ile boyanmasının pozitif olması ve karaciğer, böbrek ve beyin hücrelerinin Ki-67 boyanmasının negatif bulunması ayrıca fitohemaglutinin ile çoğalması için stimule edilen periferik kandaki lenfositlerin pozitif boyanırken, forbol esterleri tarafından makrofaj hücrelerine farklılaşması indüklenen HL-60 hücrelerinde (premyelositik hücre dizini) boyanmanın görülmemesi bu proteinin hücre proliferasyonu ile ilişkili olduğu

görüşünü desteklemektedir (66). Ayrıca immunohistokimyasal boyamalar, bu nükleer antijeninin mitozun bütün evrelerinde kromozom üzerinde ayrıca interfaz evresindeki hücrelerin de çekirdeğinde yer aldığını göstermiştir (66).



Şekil 2. Ki-67'nin hücre döngüsünde ekspresyonu.

Gerdes ve ark. (1984)'ten izin alınarak kullanılmıştır.

Ki-67'nin mitoz aşamasındaki hücrelerde dağılımlarının incelendiği çalışmalarda Ki-67 antijeninin dağılımının DNA veya histon varlığından bağımsız olduğu gösterilmiştir. Buna göre Ki-67 antijeninin kromozom iskeleti olarak bilinen non-histon protein yapılarla ilişkili olabileceği belirtilmiştir (65). Bridger ve ark. Ki-67'nin mitozdan çıkarak G₁ evresine giren hücrelerde iki farklı dağılım gösterdiğini rapor etmişlerdir. G₁'in erken evrelerinde, Ki-67 nükleoplazmada sentromerlere ve satellit DNA'lara bağlı odaklar halinde boyanırken ilerleyen süreçte çekirdekçi içindeki pKi-67 boyanması artarken nükleoplazmadaki Ki-67 boyanması azalmaktadır. Buna göre araştırmacılar, Ki-67'nin satellit DNA'lara bağlanarak bu bölgeleri mitoz bölünmeden sonra yeniden organize olan çekirdekçi içine yönlendiriyor olabileceğini öne sürmüşlerdir (68). MacCallum ve ark. ise Ki-67 ve diğer çekirdek proteinlerinin hücre döngüsü sırasındaki dağılımlarını incelemişler ve

Ki-67'nin hücrenin metabolik ihtiyaçlarının arttığı hücre bölünmesi sırasında, ribozom biyogenezinde verimliliği arttıran faktör olarak etki ediyor olabileceğini iddia etmişlerdir (69).

Ki-67 ve hücre çoğalması arasındaki bu yakın ilişki, bu proteinin belirli bir hücre popülasyonunun büyüme fraksiyonunun (hücre döngüsü içindeki hücre sayısı) belirlenmesinde mükemmel bir belirleyici olmasını sağlamıştır ve bu nedenle kanser teşhislerinde ve kanserin prognozunu belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (63, 64). Ayrıca bazı çalışmalarda Ki-67'nin, anti-proliferatif ilaçların ve radyoterapinin terapötik etkinliğini tespit etmek için kullanılabilmesi belirtilmiştir (62, 70). Ancak besin yetersizliğine bağlı olarak S, G2 ve M evrelerinde olan hücrelerin büyük bir kısmının Ki-67 boyanmasının negatif olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (65). Buna bağlı olarak büyük tümörlerin merkezinden alınan biyopsilerde hücrelerin beslenmesi bozulacağından büyüme fraksiyonu hatalı olarak düşük gözlenebilir (62).

Monoklonal Ki-67 antikorunun en büyük dezavantajı, boyama için taze veya dondurulmuş dokulara ihtiyaç duyulmasıdır. Daha güncel antikorlar olan poliklonal Ki-67 ve MIB-1, Ki-67 geninin rekombinant fragmanlarından kodlanan peptitlere karşı oluşur ve formaldehitte saklanmış olan histolojik kesitlerde ve mikrodalgaya maruz kalan konvansiyonel kesitlerde de etkilidirler (71, 72). Hücre çoğalmasının immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesinde kullanılan farklı proteinlerden poliklonal Ki-67 ve MIB-1'in en iyi hücre çoğalması belirleyicisi olduğu rapor edilmiştir (72, 73).

Yapılan çalışmalarda, sağlıklı, displazik ve kanserli dokularda Ki-67 seviyeleri farklılık göstermiştir (74). Ayrıca odontojenik keratokistik tümörde, dentigeröz kistten ve dentigeröz kistte, dental folikül ve oral mukozadan daha yüksek oranda Ki-67 tespit edilmiş ve Ki-67 boyanan hücreler sağlıklı dokuda bazal tabakada sınırlı iken displazik ve kistik dönüşüm görülen olgularda yüzeysel tabakalarda da Ki-67 boyanan hücreler görülmüştür (59, 73, 75, 76). Enflamasyon varlığının, Ki-67 seviyesinin yükselmesine neden olduğu rapor edilmiştir (59, 74, 76, 77). Bu bulgular ışığında Ki-67'nin hastalığın ilerleyişi ile ilgili fikir verebileceği ancak neoplastik dönüşümü göstermeyeceği savunulmuştur (74).

2.3. p53 ve p63

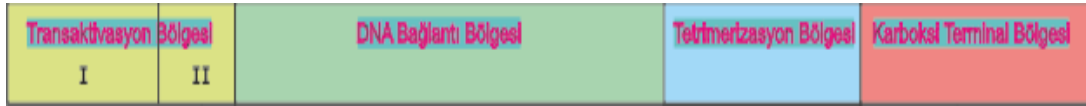
p53 ve p63, p53 gen ailesine ait olan transkripsiyon faktörleridir ve gelişme, farklılaşma ve strese karşı hücre cevabında görev alırlar. Bu gen ailesinin ilk görüldüğü canlılar denizşakayığı ve kamçılı organizmaların atalarıdır ve p63/p73 genine daha çok benzerler. Bu genlerin görevi üreme hücrelerinin DNA hasarından korunmasıdır. Kıkırdaklı balıklar gibi ilk omurgalı türlerinde ise bu ata genler çift kopya oluşturarak p53 genine benzer bir gen ortaya çıkmıştır. Bu aşamada yetişkin dokuların rejenerasyonunda somatik kök hücreler görev almaya başlarken, p53 geni de tümör baskılayıcı fakörlerde görülen, kök hücreleri ve projenitör hücreleri DNA hasarından kaynaklı mutasyonlardan koruma görevini üstlenmeye başlamıştır (78). p63'ün memelilerde oositlerin genetik stabilitesinin sağlanmasından sorumlu olduğunun ve hasarlı hücreleri yok ettiğinin keşfedilmesi, bu genin evrimsel olarak en eski form olduğunu düşündürür (79). Canlının ortalama ömrünün, herhangi bir hücrenin ortalama ömründen daha uzun olması nedeniyle doku yenilenmesi zorunlu hale gelmiştir. Buna bağlı olarak da p63 geninin rol oynadığı ve germ hücrelerindeki genetik sağlığın korunması için gerekli olan kontrol mekanizmasından, p53 geninin rol oynadığı ve somatik hücrelerdeki genetik sağlığın korunması için gerekli olan daha kompleks ve genel kontrol mekanizmalarına geçişe ihtiyaç duyulmuştur (21).

2.3.1. p53

TP53 geni retinoblastoma geninden sonra keşfedilen ikinci tümör baskılayıcı gendir. p53, ilk olarak 1979 yılında 53 kd ağırlığında bir protein olarak tanımlanmıştır. Sağlıklı hücrelerde düşük seviyelerde bulunurken, SV40-transforme hücrelerde ekspresyonunun arttığının gösterilmesi, ilk başta hatalı şekilde onkogen olarak sınıflandırılmasına neden olmuştur. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise sağlıklı p53 proteininin ekspresyonunun transformasyonu durdurduğu yani tümör baskılayıcı bir gen olduğu belirtilmiştir (80).

İnsanlarda *TP53* geni kromozom 17p13.1'de yer alır. 1. ekzondan 11. ekzona kadar 19.198 nükleotidden oluşur. Kodlayıcı sekans ikinci ekzondan başlar ve son ekzona kadar devam eder (78). *TP53* geninin kodladığı ve 393 amino asitten oluşan proteinin adı ise p53'tür (81). Bu proteinde amino-terminal uçtaki 1-42. rezidüel

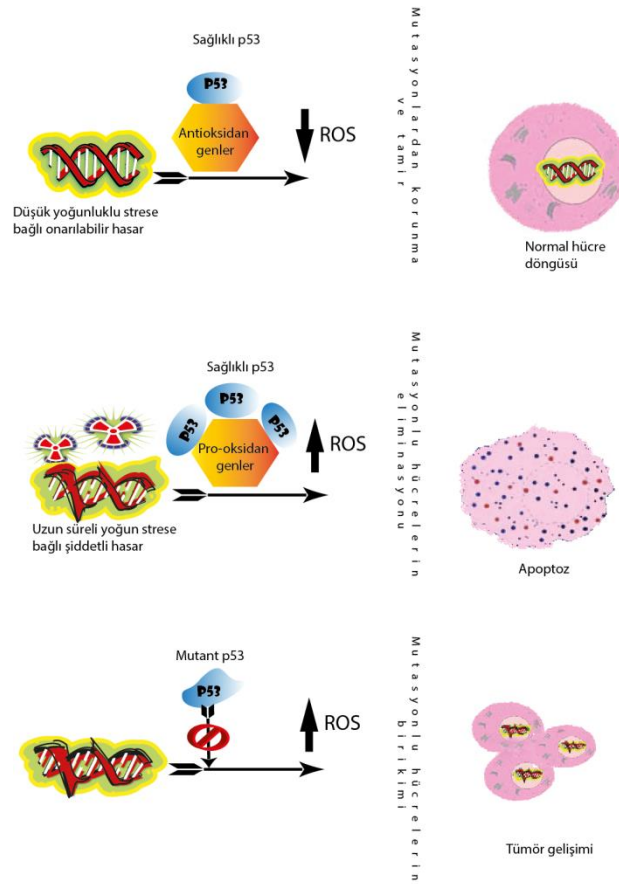
transaktivasyon alanını içerir. Bunlardan 22 ve 23. rezidüler bu aktivite için kritik öneme sahiptir. 43-63. rezidüler arasında yer alan ikinci bir transaktivasyon alanının genomdaki p53 tarafından düzenlenen genlerin transkripsiyonunu aktive ettiği düşünülür. Bu alanı prolinden zengin olan ve apoptoziste ve protein-protein etkileşimlerinde rol oynayan bir alan takip eder. 102 ve 292. rezidüler, p53 tarafından kontrol edilen genlerin intronlarında veya bu intronların yakınlarındaki DNA sekanslarında dejenerasyonu tespit eden DNA bağlantısı alanını oluşturur. 324 ve 355. rezidüler arası p53 proteininin tetramerizasyon alanını oluşturur. 356 ile 393. rezidülerden oluşan karboksi-terminal alan p53 proteinin stabilitesini ve DNA bağlanma aktivitesini kontrol eder (Şekil 3). p53 ve p63 genlerinin amino-terminal uçlarında meydana gelen *splicing* (amino-terminal transaktivasyon alanının kaynaşması) transkripsiyonu baskılayan izoform proteinlerin yapımına yol açar. Karboksi-terminal uca meydana gelen *splicing* proteinin stabilitesini ve DNA'ya bağlanmasını kontrol eden izoform proteinlerin yapılmasına neden olur (78).



Şekil 3. p53'ün şematik görüntüsü. 1-42. rezidüler arası aktivasyon bölgesi; 102-292. rezidüler arası dizilime özgü DNA bağlantı bölgesi; 324-355. rezidüler arası tetramerizasyon bölgesi; 356-393. rezidüler arası karboksi terminal alan.

p53 ailesi hakkında yapılan çalışmalar özellikle tümör baskılayıcı rolleri üzerine odaklanmıştır (21). p53 proteini normal koşullar altında dokularda çok az miktarda bulunur. Ancak normal hücresel döngüsünün ilerleyişini bozan veya hücrenin genomunda bir mutasyona neden olabilecek herhangi bir hücresel stres varlığında aktive olarak hücre döngüsünü durdurur (20, 82). *TP53* geninin aktive olmasına neden olabilecek üç genetik açıdan belirgin yolak olduğu bilinmektedir: 1) onkogenler, 2) UV ışınları ve iyonize radyasyon ve 3) hipoksi, sitokinler ve büyüme faktörleri gibi diğer uyarılar (81). Aktive olan p53 proteini ya hücre döngüsünü G1 evresinde durdurarak hücrenin DNA hasarını tamir etmesi için zaman sağlar ya da hücreyi apoptoza yönlendirerek hasarlı DNA'nın çoğalmasını engeller (83). Aslında *TP53*'ün hücresel streslere cevabı stresin türüne göre çok farklılık gösterebilmektedir. Yapılan çalışmalar hücrelerin besin eksikliğine karşı verdiği yanıtlarda glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde veya oksidatif stres varlığında ROS (reaktif

oksijen türleri) seviyesini indirgenmesinde p53'ün rol aldığını göstermiştir. Bu veriler ışığında, p53'ün strese verilen yanıtta iki önemli ancak birbiriyle zıt fonksiyonu olduğu söylenebilir (84). Bu fonksiyonlardan birincisi, günlük yaşamda karşılaşılan düşük dereceli ve devamlı streslere bağlı olarak meydana gelen küçük DNA hasarlarında, ROS seviyesini düşürerek ve hasarlı hücrenin DNA'sını tamir etmesini sağlayarak hücrenin yaşamasını sağlamaktır. İkinci bir fonksiyonu ise, onkogen aktivasyonu veya yüksek dozda radyasyona maruz kalma gibi şiddetli ve devamlı streslerde, ROS seviyesini yükselterek hücreyi apoptoza yönlendirmektir (Şekil 4) (85-87).



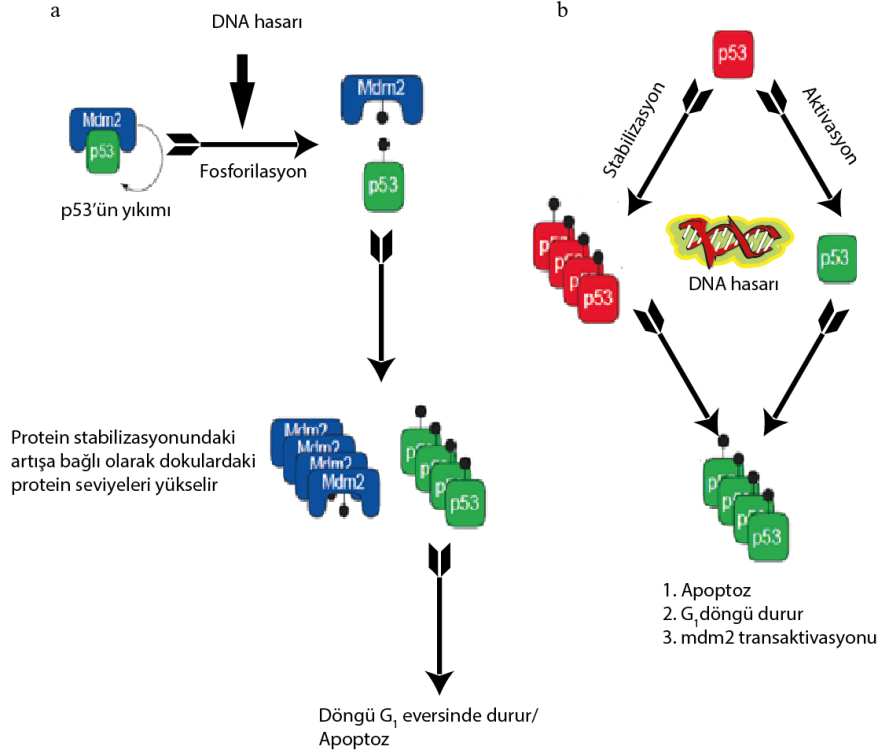
Şekil 4. Sağlıklı ve mutant p53'ün genotoksik streslere karşı yanıtı.

Bensaad ve ark. (2005)'den modifiye edilmiştir.

p53'ün tümör baskılayıcı özelliğinin yanı sıra bazı kanser tedavilerinin etki mekanizmasında da rol oynadığı düşünülmektedir. p53 proteininin kanser hücrelerinin radyoterapiye ve kemoterapiye yanıtında da rol oynadığı gösterilmiştir (88, 89). Ancak p53 proteininin kemoterapötik ilaçlara yanıtı tek düze değildir.

Kanser hücrelerinde, *TP53* geninde mutasyon olması veya olmaması ve mutasyonların çeşidi gibi faktörler, farklı kemoterapötik ilaçlara olan direnci etkiler (88-90).

p53 proteininin yarı ömrü çok kısa olduğu için (4-20 dk.) normal dokularda immünohistokimyasal boyamalarla tespit edilemez (24, 81, 91-95). Boyanma gözlenen çok az sayıdaki hücre ise epitelin bazal tabakasında yer alır (81). Ancak hücrelerde meydana gelen strese ve bu stres sonucu oluşan DNA hasarına bağlı olarak aktive olan p53 proteini dokularda daha uzun süre kalabilir (82, 96-98). p53'ün dokularda daha uzun süre kalmasını sağlayan farklı mekanizmalar mevcuttur. Bunlar p53'ün fosforilasyonu, Mdm2 fosforilasyonu, p53'ün sitoplazmik sekestrasyonu, p14^{ARF} aktivasyonu gibi mekanizmalardır. Bu mekanizmaların tümü de p53 proteininin düzenleyicisi ve yıkımını kontrol eden protein olan Mdm2'nin p53'e bağlanarak, p53'ün hücre çekirdeğinden sitoplazmaya aktarılmasını ve yıkımının başlatılmasını engellemektedir (Şekil 5) (81, 99). Ayrıca *TP53* geninde meydana gelen mutasyon sonucu üretilen mutant p53 proteinleri de hücrelerde uzun süre kalabilir. Üretilen mutant p53 proteinleri hem tümör baskılayıcı özelliklerini kaybederler hem de Mdm2'yi aktive edemezler. Bu nedenle p53 proteininin yıkımı meydana gelmez (81, 92, 100).



Şekil 5. Genotoksik strese karşı oluşan yanıtta, p53 stabilizasyonu ve fonksiyonunu düzenleyici mekanizmalar.

Kubbutat ve ark. (1998)'den izin alarak kullanılmıştır.

Farklı lezyonlarda veya hastalıklarda p53 proteininin varlığı araştırılırken immünohistokimyasal boyama tekniği kullanılır. Ancak immünohistokimyasal boyamalarda kullanılan antikolar sağlıklı ve mutant p53'leri ayırt edemezler (81). Ayrıca immünohistokimyasal boyamalarda kullanılan farklı antikolar farklı izoform p53 proteinlerini tespit edebilirler ancak bunları ayırt edemezler (20, 101). Bu nedenle p53 proteininin sağlıklı mı yoksa mutant mı olduğunu belirlemek için TP53 geninin incelenmesinde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tekniği ve sonrasında dizilim analizi veya çeşitli jel analizleri uygulanmaktadır (81). Son yıllarda nested PZR tekniği ile yapılan çalışmalarda özellikle yassı hücreli karsinom gibi hastalıklı doku örneklerinde p53'ün farklı izoformlarını sentezleyen mRNA'ların varlığı tespit edilmiştir (101). Ancak mevcut antikor boyamaları ile bu izoform proteinlerin dokularda varlığı tespit edilememiştir (94).

Farklı lezyonlarda p53 proteininin varlığının araştırıldığı çalışmalarda, oral pemalign lezyonların ve durumların malign transformasyon olasılığını belirlemede p53 ve Ki-67 ekspresyonunun belirleyici olabileceğini gösteren çalışmaların yanı sıra

(16, 102-104), tam tersi görüşü destekleyen çalışmalar da mevcuttur (105). Bu çalışmalarda, örneklerde p53 tespit edilmesinin nedeni olarak *TP53*'teki mutasyona bağlı mutant p53 proteinlerin sentezlenmesi ve bu proteinlerin yarı ömrünün daha uzun olması nedeniyle dokularda daha uzun süre kalması olduğu öne sürülmüştür. p53 boyanması ile kanser gelişimi arasındaki ilişki de bu proteinlerin hasarlı proteinler olması nedeniyle tümör baskılayıcı özelliklerini kaybetmiş olmalarına bağlanmıştır (16, 81, 95, 104, 106-108). Ancak mutasyon izlenmeden de p53 proteininin ekspresyonunun artabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca farklı odontojenik patolojilerin farklı biyolojik davranışlar göstermelerinin nedeninin de p53 proteini olabileceği düşünülmektedir (96, 109, 110).

2.3.2. p63

p63, tümör baskılayıcı transkripsiyon faktörü olan p53 ile yapısal ve fonksiyonel olarak homolog olan bir proteindir. Diziliminin p53'e benzer olması ve yapısında p53 ile benzer alanlar içermesi nedeniyle oligomer oluşturabilir, DNA'ya bağlanabilir, DNA hasarına yanıt olarak p53'e duyarlı genleri aktive ederek hücre döngüsünü durdurabilir ve apoptozu tetikleyebilir (21). *TP63* geni kromozom 3q27-29 üzerinde yer alır ve 14 ekzonda 265,822 nükleotitten oluşur (Şekil 6). p53 gen ailesinin en son keşfedilen üyesi olmasına rağmen yapılan araştırmalar bu genin bu ailenin en eski üyesi olduğunu ortaya koymuştur (21, 78, 79, 111).



Şekil 6. p63 proteininin yapısının şematik görünümü.

p63'ün, transaktivasyon alanı içeren tam boyuttaki izoformları TA63, amino uçtan budanmış olan ve transaktivasyon alanı içermeyen izoformları ise Δ N63 olarak adlandırılır (21). Transaktivasyon alanı bulunmadığı için transkripsiyon özelliği bulunmayan Δ N63 proteininin Δ N63 α , Δ N63 β ve Δ N63 γ olmak üzere üç izoformu vardır (21, 111). Bunun dışında karboksi ucunda eklentiye uğramış olan üç izoform protein ile beraber en az 6 tane izoform protein olduğu düşünülmektedir (111).

p63'ün evrimsel gelişim sürecinde ilk görüldüğü organizmalar olan denizşakayığı ve kamçılı organizmalardaki görevinin üreme hücrelerini stres ve

çevresel etkenlere bağılı hasarlardan korumak ve sağılıklı nesillerin gelişimini sağılamak olduğu bilinmektedir (21, 78). Organizma gelişip daha karmaşık yapılarla geçildiğinde, p53 gen ailesi bu görevlerinin yanında başka görevlerde almaya başlamıştır (78). Tam boy p63 proteini olan TA63, p53'e benzer şekilde görev yaparken, budanmış olan ΔN izoformlarının aktif izoformların inhibitörü olarak görev yaptığı düşünülür (21, 111, 112). p63'ün, tümör baskılayıcı mekanizmalarda p53'le beraber çalışmasının yanı sıra, stres yokluğunda en önemli görevi gelişim ve farklılaşmanın düzenlenmesidir (21). p63, gelişim sürecinde epitel katmanlarının oluşmasının indüksiyonunda ve olgun epidermiste pluripotent kök hücre popülasyonunun korunmasında önemli rol oynar (111). Yassı epitel ve türevlerinin, ekstremitelerin ve kraniofasiyal yapıların gelişiminde de p63'ün rolü vardır (21, 113, 114). p63'ün, epiderminin gelişiminin önemli bir parçası olan keratinositlerin çoğalması ve farklılaşması olaylarını düzenleyen ana faktör olduğu çalışmalar sonucunda rapor edilmiştir (111, 115). p63 knockout fareler kullanılarak yapılan deneylerde, yavrular canlı doğmuşlar ancak derileri ve lakrimal epitel, tükürük bezi epiteli gibi çok katlı epitelleri olmadığı için kısa süre içinde ölmüşlerdir (21, 78, 113). p63^{-/-} embrioların gelişimi incelendiğinde embriyolojik 11. günde (E11) dental lamina oluşumunun sağılıklı embriolarla aynı şekilde geliştiğı ancak E12 ve E13'te dişlerin oluşmasında öncü olan dental plakodların gelişmediğı görülmüştür (112). Bu çalışmalarda elde edilen bir başka bulgu ise embriyolojik gelişim döneminde epitel ve epidermis katmanlarının oluşumundan, hayat boyu bu dokuların rejenerasyonundan, kök hücre popülasyonunun varlığının devamlılığından ve farklılaşmasından sorumlu olan p63'ün, transaktivasyon bölgesi içermeyen ΔNp63 olduğu tespit edilmiştir (112, 113, 115). Ayrıca ΔNp63'ün klonojenik ve çoğalma kapasitesi yüksek epitel hücrelerinde ekspresyonunun fazla olması ve p63^{-/-} epitel kök hücrelerinin prematüre proliferasyona uğraması, bu genin epitel kök hücrelerinin çoğalma kapasitelerini belirleyen anahtar faktör olduğunu düşündürür (116). Lee ve ark.'nın zebra balıkları üzerinde yaptıkları çalışmalarda, epitel hücrelerinin proliferasyonunu ΔNp63'ün sağladığını ve bunun içinde p53'ün transkripsiyonel olarak aktive olmasını engellediğini belirtmişlerdir (115). Sağılıklı oral epitelde p63 izoformlarının varlığının incelenmesinde, sağılıklı oral epitelin bazal tabakalarında ΔNp63α yoğun olarak izlenirken, üst tabakalarda TAp63α boyanmasının daha yoğun

olduğu rapor edilmiştir. Yani epitelin rejenerasyonundan sorumlu olan kök hücre popülasyonun bulunduğu bazal tabakada $\Delta Np63\alpha$, epitelin farklılaşmasını tamamlamış hücrelerden oluşan üst katmanlarındaysa TAp63 α tespit edilmiştir. Bu sonuca göre, kök hücre popülasyonunun devamlılığını $\Delta Np63\alpha$ sağlarken farklılaşmada ise TAp63 α 'nın görevi olabileceği öne srlmştir (117). p63 ve p53'n hücre çoğalması, hücre çoğalmasının durdurulması ve apoptozda nasıl görev aldıklarını araştıran çalışmalarda, hücre kültürlerinde $\Delta Np63$ 'n ve p53'n hücre döngüsünün durdurulması, DNA tamiri ve apoptozda görev alan hedef genlerde konsensus bağlantı noktalarına bağlandıkları, hücrelerde DNA hasarı oluşturulduğunda ise $\Delta Np63$ miktarının azalırken p53'n aynı kaldığı gösterilmiş ve $\Delta Np63$ ile p53'n zıt etki gösterdikleri ve birbirlerinin düzenleyicisi olabilecekleri sonucuna varılmıştır (118). Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda, $\Delta Np63$ 'n baskılandığı hücre kültürlerinde, p53'n durumundan bağımsız olarak hücrelerin apoptozu uğradığı, bu nedenle $\Delta Np63$ 'n p53'ten bağımsız bir mekanizmayla apoptozu inhibe etmiş olabileceği belirtilmiştir (112, 119, 120). Oral displazi ve oral yassı hücreli karsinomlarda p53 ve p63 boyanması arasında korelasyon bulunmaması da iki proteinin birbirinden bağımsız işlevleri olduğu görüşünü desteklemektedir (103).

p63 ve Ki-67 ekspresyonunun beraber izlendiği mesane kanseri ve myoepitelyal karsinoma hastalarında hastalık daha şiddetli seyretmiş ve daha çok rekürens ve metastaz izlenmiştir (18, 121). Oral premalign lezyonların malign transformasyon riskinin belirlenmesinde de $\Delta Np63$ 'n belirleyici olabileceği belirtilmiştir (122) Yapılan bir çalışmada, p63'n kemiğin dev hücreli tümöründe varlığı tespit edilmiş ve santral dev hücreli tümörle ayırıcı tanıda kullanılabileceği rapor edilmiştir (15). Benzer şekilde akciğerlerde yassı hücreli karsinomla adenokarsinomun ayırıcı tanısında, ürotelyal karsinomla renal hücreli karsinomun ayırıcı tanısında, prostat kanserinin teşhisinde ve bazı meme kanserlerinin bazal fenotipinin belirlenmesinde de p63 kullanılabilir (123).

2.4. Sigara

Antik Mısır'de, Perslerde, in'de ve Mayalarda tütün kullanıldığı bilinmektedir. Ancak tütünün Avrupa'ya gelişi, Kristof Kolomb'un Yeni Dünya'yı ilk

keşfettiği seyahatinden sonradır. Yaygınlaşması ise 16. yüzyılda olmuştur. İlk zamanlar tedavi edici etkileri olduğuna inanılan, kutsal bir bitki olarak kabul edilmiştir. Tütünün, sağırılık, baş ağrısı, diş ağrısı, karın ağrısı, parazit, öksürük, astım, yanık, epilepsi, kanser, kolik ve karaciğer, dalak ve uterus hastalıklarının tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir (124, 125). Ancak 17. yüzyılın sonunda tütünün tedavi edici özelliklerinin büyük bir kısmı kanıtlanamamıştır (124).

Tütüne karşı ilk görüş 1604 yılında İngiltere Kralı I. James tarafından ortaya atılmıştır. Bir sene sonra Oxford'da halka açık bir tartışma gerçekleştirilmiş ve burada tütün kullanımının körlüğe, sağırlığa, vücutta güçsüzlüğe ve yaşam süresinin kısılmasına yola açabileceği görüşü belirtilmiştir (124).

Sigara yapımı ise ilk olarak 1880'lerde başlamıştır ancak 1920'lere kadar yaygın bir tütün ürünü olarak kabul görmemiştir. Sigara dışında tütün, tütün yapraklarına sarılarak, pipo denilen bir ucunda tütün konulan bir haznesi olan tahta çubuk ile veya nargile adı verilen ve tütün dumanının suyun içinden geçirilerek filtrelendiği mekanizmalarla kullanılabildiği gibi direkt olarak çiğneyerek veya toz haline getirip burundan çekerek de tüketilebilmektedir (124).

2.4.1. Sigara Dumanının Kimyasal Bileşenleri

Sigaranın içinde yaklaşık 5000 kimyasal bileşen bulunur (126-128). Bunlardan 81 tanesi Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından kanserojen madde olarak sınıflandırılmıştır (126). Sigara dumanı dört sınıfta sınıflandırılmıştır (129):

Ana akım dumanı: Sigara içen kişi, yanan sigarayı içine çektiği sırada sigaranın 1200-1600°C sıcaklıkta yanması sonucu oluşan sigara dumanıdır.

Yan akım dumanı: Sigara içen kişi, sigaradan bir nefes içtikten sonra bir sonraki nefese kadar sigaranın yanan ucu yaklaşık 900°C'de yanmaya devam ederken çıkan sigara dumanıdır.

İkincil sigara dumanı: %85 yan akım ve %15 kişinin dışarı üflediği ana akım dumanının karışımıdır.

Üçüncül sigara dumanı: Yeni tanımlanan bu duman türü sigara kullanımı bittikten sonra mekanda bulunan duvar, kapı, eşyalar, giysiler, cilt vb. yüzeyler tarafından emilen ve kimyasal dönüşüme uğrayarak yeni toksik bileşenler oluşmasına neden olan artık tütün dumanıdır (130).

Sigara dumanının %95'i gazlardan oluşur ve yoğunluklu olarak azot, oksijen ve karbondioksit bulunur. (131) Sigara dumanında bulunan kanserojen bileşikler ise ana grup olarak:

- Polisiklik hidrokarbonlar
- Aza-arenler
- N-nitrozaminler
- Aromatik aminler
- Heterosiklik aromatik aminler
- Aldehitler
- Çeşitli organik bileşikler
- İnorganik bileşiklerden

oluşur (131).

Sigara dumanında bulunan formaldehit ve α,β -doymamış aldehitler gibi kanserojenler direkt olarak DNA'ya bağlanarak kovalent eklentiler oluşturabilirken, çoğu kanserojenik bileşikler prokanserojen olarak sınıflandırılır ve kanserojenik etki gösterebilmeleri için metabolik olarak aktive olmaları gerekir (129). Sigara dumanında bulunan kanserojen maddeler, sitokrom P450 enzimi tarafından metabolize edilerek vücuttan atılır. Ancak bu işlem sırasında ortaya çıkan ve elektrofilik bölge içeren metabolitler oldukça reaktiftirler ve kolayca DNA ile etkileşime girerek DNA eklentileri oluşturabilirler (132).

Sigara dumanında bulunan bir diğer zararlı madde grubu ise serbest radikallerdir. Sigara dumanının gaz fazında ağırlıklı olarak nitrik oksit, partikül fazında ise kinon-hidrokinon karışımı bulunmaktadır. Nitrik oksit ve partikül fazında bulunan kinonlar sinerjistik etki göstererek redoks tepkimelerini başlatırlar ve son

ürün olarak da oksijen moleküllerinden hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif ürünler meydana gelir. Bu reaktif ürünler hücrelerde DNA hasarı oluşturur (131).

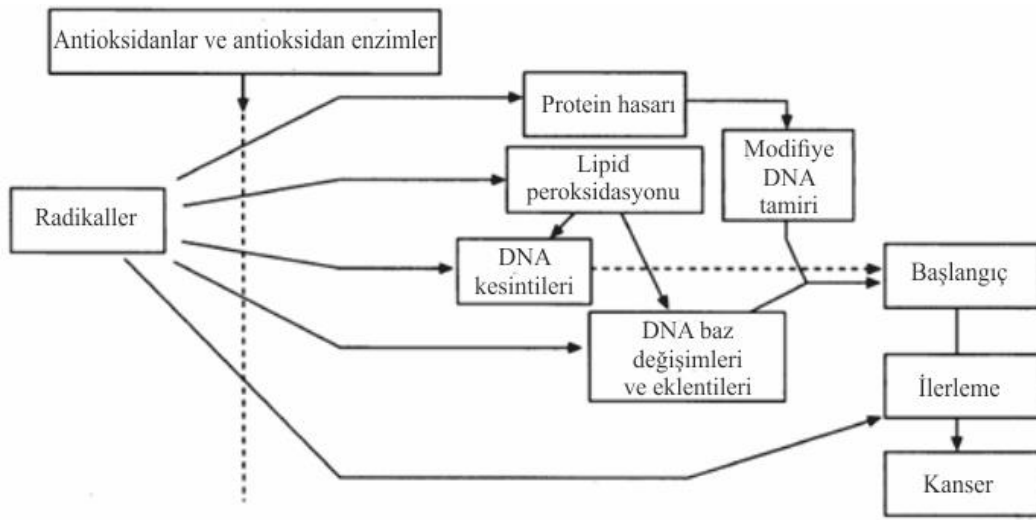
2.4.2. Sigara Kullanımı ve Ağız Sağlığı

Vücutta sigara dumanına ilk maruz kalan bölge ağız içi olduğu için, sigaranın ağız içi dokularda yıkıcı etkileri olabileceği düşünülmüştür ve yapılan çalışmalarda sigara kullanımı ile periodontal hastalıklar, diş çürükleri, oral kanserler arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (133). Ayrıca hamilelikte sigara kullanımının bebekte yarı damak-dudak gelişimi riskini arttırdığı gösterilmiştir (134, 135). Ayrıca sigara kullanımının sigaraya bağlı melanozis, nikotin stomatiti, kıllı dil, halitozis, oral kandidiyazis, kuru soket gibi durumlarla da ilişkili olduğu gösterilmiştir (133).

Sigaranın yara iyileşmesi üzerindeki etki mekanizmaları tam olarak bilinmese de olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir (136). Sigarada bulunan kimyasal maddeler, nötrofiller ve makrofajlar gibi vücudun savunma hücrelerinin yapısını bozarak yara iyileşmesinde gecikmelere veya kötü yara iyileşmesine neden olur. Ayrıca vazokonstriktör etkisi ve eritrosit proliferasyonunu azaltan etkisi nedeniyle dokulara taşınan O₂ miktarı azalarak hipoksiye neden olur. Fibroblast yapımının azalması sonucu kollajen üretimi azalır ve yaraların gerinim dayanımları azalır (128).

Tütünde bulunan kanserojen maddeler çok farklı DNA lezyonlarına neden olabilirler. Bunlar, şeker hasarı, apuridik/aprimididik (AP) bölgeler, modifiye bazlar (ör. O⁶-mG ve 8-oxoG) baz eklentileri gibi küçük lezyonlar olabileceği gibi DNA çapraz bağlantıları ve kırılmaları gibi daha ciddi lezyonlar da olabilir. Sigara kullanımı, baş-boyun bölgesi kanserlerinin en büyük etkenlerinden biridir (9-11). Yassı hücreli karsinom en çok görülen baş-boyun kanseri türlerinden biridir ve en sık oral kavite ve orofarinkste görülür (12). Sigara içinde yer alan kanserojen maddelere tekrarlayan şekilde maruz kalma, oral kavitenin çok katlı yassı epitel hücrelerinde neoplastik değişikliklere yol açar (13). Yapılan çalışmalarda günlük tüketilen sigara miktarının ve sigara kullanma süresinin oral kanser riskini arttırdığı belirtilmiştir (137). Sigara dumanında bulunan kanserojen maddeler çok iyi bilinmekle beraber kansere yol açma mekanizmaları tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (138). Sigara içilirken maruz kalınan PAH (polisiklik aromatik hidrokarbonlar), nikotin türevi N-

nitrozamin ketonlar ve diğer kanserojen maddeler, metabolik detoksifikasyon işlemi ile vücuttan atılabilir veya metabolik aktivasyon sonucu DNA'ya bağlanabilir. DNA, ya kendini tamir eder ya da apoptozla hücre kendini yok eder. Ancak p53, p26 gibi genlerde meydana gelen bazı mutasyonlar sonucu hasarlı DNA kendini kodlamaya devam ederek çoğalır ve akciğer kanseri gelişebilir (131). Ayrıca sigaranın içinde bulunan kinon ve hidrokinon gibi serbest radikaller oksijen molekülleri ile etkileşime girerek reaktif oksijen türevleri oluşturup hücre DNA'larında hasara yol açabilir (127, 131). Serbest radikaller, farklı mekanizmalarla kanserin farklı basamaklarında rol oynayabilir (Şekil 7).



Şekil 7. Radikallerin ve antioksidanların tümör oluşumundaki rolleri.

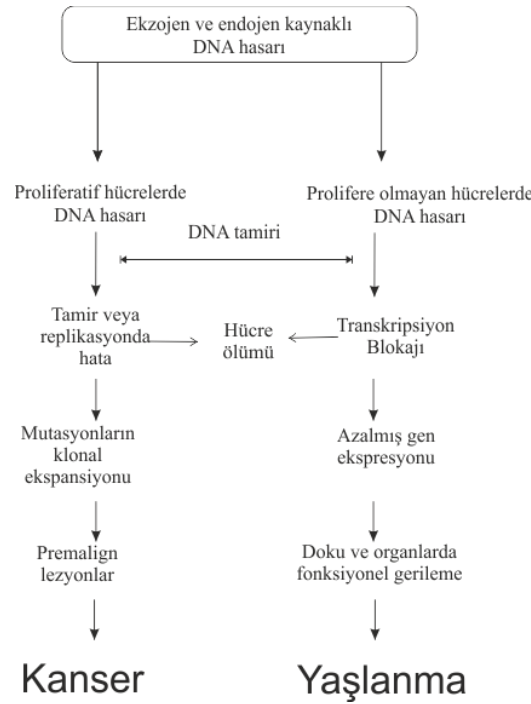
Pryor ve ark. (1997)'den alınmıştır.

Uzun süreli sigara kullanımının hücrelerdeki mitokondrilerde mutasyona yol açtığı ve bu mitokondrilerin apoptoza dirençli hale geldikleri gösterilmiştir (138).

2.5. Mutasyon

Organizmanın genomunda meydana gelen değişikliklere DNA lezyonları denir. DNA lezyonları spontan olarak gelişebilir (depürinasyon), endojen olarak tetiklenebilir (reaktif oksijen türevleri), radyasyon (UV ışınları, X-ışınları) ve kimyasallara maruz kalınması sonucunda meydana gelebilir. DNA hasarına yol açan etkenler mutasyona ve kanser oluşumuna neden oldukları için mutajenik ve kanserojen olarak adlandırılırlar (22). Ancak DNA'da kimyasal hasar meydana gelmesi tek başına mutajenik bir olay değildir. DNA hasarı meydana geldikten sonra

bu DNA'nın kendi kopyasını çoğaltarak diğer nesillere aktarmasını engelleyen çok sayıda kontrol mekanizması mevcuttur (22, 24). Eğer hasarlı DNA bu kontrol mekanizmalarından kaçıp kendini çoğaltabilirse ve sonraki hücelere bu hasarlı DNA dizilimi aktarılırsa mutasyon gerçekleşmiş demektir (Şekil 8). Yani mutasyon, hücre çoğalması ile sonraki hücelere aktarılabilen genetik materyaldeki değişiklik demektir (23, 24). Hücrede meydana gelen mutasyon kansere neden olabilecek bir proteinin aktivitesini arttırıyorsa, mutasyonun meydana geldiği gen onkogen olarak sınıflandırılır; eğer mutasyon genin aktivitesini azaltarak kanser oluşumunu tetikliyorsa, bu genler tümör baskılayıcı gen olarak sınıflandırılır (24).



Şekil 8. Kanser oluşumu ve yaşlanmada DNA hasarı ve DNA tamirinin rolü.

Mutasyonlar genomdaki değişikliğin türüne göre sınıflandırılır. Bunlar:

- ❖ Baz çifti (nükleotit çifti) değişikliği: İkiye ayrılır, pürin grubu nükleobazlar veya pirimidin grubu nükleobazlar aynı grup nükleobazlarla yer değiştirebilir (A→G), (C→T) veya karşıt grup nükleobazlar ile yer değiştirebilir (A→C), (G→T). Bu baz değişiklikleri oluşturdukları etkilere göre:
 - a. Etkisiz (*silent*) mutasyon : Yeni kod, farklı bir amino asit kodlamaz, eski amino asit kodlanmaya devam eder.

- b. Hatalı anlamlı (*missense*) mutasyon : Yeni baz dizilimi eski amino asitten farklı bir amino asit kodlar.
- c. Anlamsız (*nonsense*) mutasyon : Yeni baz dizilimi herhangi bir amino asit kodlamaz, sonlama kodonuna dönüşür ve normalden kısa protein sentezlenerek genin normal fonksiyonunu yerine getirmesine engel teşkil eder.

Eğer baz çifti değişikliği genin 5' ucundaki düzenleyici bölgelerde meydana gelirse, genin transkripsiyon, translasyon ve *splicing* özelliklerinde değişikliğe yol açabilir.

- ❖ Çerçeve kayması (*frame shift*) : Genin kodlama bölgesinde bir veya daha çok nükleotitin eklenmesi veya silinmesi ile meydana gelir. Genlerde amino asit kodlayan kodonlar üç nükleotitten oluşur ve protein kodlayan dizilim bir çerçeve oluşturur. Bu nükleotit dizilimine bir veya daha fazla nükleotit eklenir veya çıkarılırsa kodlama çerçevesinde kayma meydana gelir ve protein içindeki tüm amino asit dizilimi değişir. Doğru protein kodu dışındaki tüm kod çerçeveleri genellikle durdurucu kodon (*stop kodonu*) içerecekleri için kodlanan protein normalden kısa budanmış mutant bir protein olacaktır (23).

Mutasyonlar hücre döngüsünün doğal bir sonucu olarak spontan şekilde meydana gelebilir. Bu tür mutasyonlara spontan mutasyon denir. Eğer mutasyon DNA'nın çevresel ajanlarla veya mutajen faktörlerle etkileşimi sonucu meydana geliyorsa indüklenmiş mutasyon adını alır (23).

İndüklenmiş mutasyona yola açabilen mutajenik faktörler ise şunlardır:

- ❖ Kimyasal Mutajenler
 - ◇ Baz analogları : Bromourasil ve aminopurin
 - ◇ Bazların yapılarını ve eşleşme özelliklerini bozan kimyasallar : Nitroz asit, nitrozoguanidin, metil metansulfonat, etil metansulfonat
 - ◇ Dizin arasına eklenen ajanlar : akridin orange, proflavin, etidium bromid
 - ◇ DNA yapısını bozan ajanlar : peroksitler, psoralen, NAAAF

❖ İyonize Radyasyon

- ◇ Elektromanyetik spektrum : Elektromanyetik dalgalar farklı dalga boylarında ve farklı enerjilerde olur. Dalga boyu kısaldııkça içerdiği enerji fazlalaşır. Biyolojik etkileri açısından önemli olanlar ise UV, X ışını ve gamma radyasyonudur.
- ◇ İyonize radyasyon : X ve gamma ışınları yüksek enerjileri sayesinde biyolojik moleküllerle temas ettiklerinde reaktif iyonlar oluşturabilirler. Bu ışınlara *iyonize radyasyon* denir.
- ◇ UV (ultraviyole) : UV ışınları daha az enerjiye sahip oldukları için biyolojik molekülleri iyonize etme kapasitesine sahip değillerdir ancak dalga boyları nedeniyle DNA bazları ve proteinlerin aromatik amino asitleri tarafından emilirler. Bu nedenle önemli biyolojik ve genetik etkileri vardır (23).

İnsanlarda yaygın görülen hastalıkların genetik özelliklerini araştırmak için oluşturulmuş “DNA Polimorfizmi Keşif Kaynağı”ndan elde edilen verilere göre DNA'da gözlenen dizilim farklılıklarının %90'ı tek baz değişimi yani SNP'dir (*Single nucleotide polymorphism*) (139).

2.5.1. TP53 Mutasyonları

Tümörlerde en sık görülen genetik bozukluk *TP53* geninde meydana gelen mutasyonlardır ve %50'den fazla oranda görülür (132, 140). Baş boyun bölgesinde ve ağız içinde en sık görülen kanser türlerinden birisi yassı hücreli karsinomdur (12, 141). Yapılan çalışmalarda yassı hücreli karsinomlarda yüksek oranda *TP53* mutasyonu bulunmuştur %75 (142), %21 (141), %33 (91). Bunun yanı sıra ameloblastomada, ameloblastik karsinomada, oral liken planusta, oral epitelyal displazilerde, oral hiperkeratozda, karsinoma in situ'da, granüler hücreli tümörde, keratokistik odontojenik tümörde ve dentigeröz kistte de *TP53* geni mutasyonu rapor edilmiştir (91, 110, 142-146). *TP53* geninde mutasyon gözlenmeyen kanserlerin büyük bir kısmında ise p53 proteininin inaktivasyonu söz konusudur (20, 147). Yapılan çalışmalarda p53'ün kanser kök hücreleri ile alakalı olduğu ve kök hücre belirteçleri içeren kanserlerde p53 mutasyonu gözlenirken, iyi farklılaşmış kanser

hücrelerinde sağlam p53 görüldüğü rapor edilmiştir (148). Bu mutasyonlar sonucunda p53 proteini ya tümör baskılayıcı özelliğini kaybeder ya da onkogenik özellik kazanır (132). Çok çeşitli tümör vakaları üzerinde yapılan çalışmalarda kolon kanserlerinin %75-80'inde p53'ün her iki alelinde de kayıp olduğu, bunlardan birinde delesyon (silinme) diğerinde ise nokta mutasyon meydana geldiği gösterilmiştir. Nokta mutasyon sonucu sıklıkla yanlış kodlama ve hatalı protein sentezi gerçekleşir. Benzer şekilde akciğer kanserlerinde, beyin ve meme tümörlerinde de p53 bölgesinde homozigotlukta azalma görülür. p53'ün tek bir alelinde meydana gelen mutasyonlar (delesyon-silinme) çekinik özelliklidir ve sağlam alelde de inaktivasyon meydana geldiğinde tümör oluşumuna neden olurlar (149). İlk başlarda p53 proteinindeki mutasyonların büyük çoğunluğunun 5 ve 8. ekzonlar arasında meydana geldiği düşünülürken daha sonraları 4., 10. ve daha az oranda 9. ekzonlarda da sık mutasyon gözlemlendiği belirtilmiştir (147). p53 mutasyonlarının büyük çoğunluğu, proteinin DNA'yı bağlayan bölgesinde meydana gelen, hatalı kodlamaya yol açan nokta mutasyonlar olmaları nedeniyle daha stabil ancak inaktif olan ve tümör hücrelerinin çekirdeklerinde biriken proteinlerin sentezlenmesine neden olur (90, 132, 147). *TP53* mutasyonları ile dokularda p53 birikimi meydana gelmesi arasındaki korelasyon %80'dir (147, 150). %20 oranında görülen çerçeve kayması mutasyonları veya anlamsız mutasyonlar daha çok 4., 9. ve 10. ekzonlarda meydana gelir ve protein sentezi olmadığı için immünohistokimyasal yöntemlerle tespit edilemez (147). Diğer tümör baskılayıcı genlerin aksine p53 mutasyonu görülen hücrelerde tam boy mutant p53 proteininin ekspresyonunun yüksek seviyelerde izlenmeye devam etmesi ve insan kanserlerinde p53 geninde silinme mutasyonlarından ziyade hatalı kodlama mutasyonlarının daha çok görülmesi bu proteinlerin bir şekilde işlev kazanımı yoluyla onkogenik özellik kazanmış olabileceğini veya kanserin ilerlemesinde rol oynayabileceğini düşündürür (90, 147, 151). Sağlıklı ve mutant p53 proteinlerinin beraber görüldüğü durumlarda mutant proteinler sağlıklı proteinler ile tetramer oluşturarak sağlıklı proteinlerin fonksiyonlarını inhibe edici etki gösterirler (24, 147, 152).

TP53 geninde meydana gelen somatik mutasyonların dışında germ hattında meydana gelen mutasyonlar, Li-Fraumeni Sendromu'na neden olur (153, 154). Li-Fraumeni Sendromu teşhisinde klinik olarak, hasta bireyde erken yaşta sarkoma,

birinci derece akrabalarından birinde <45 yaşında kanser gelişimi ve yine birinci veya ikinci derece akrabalarından birinde <45 yaşında kanser veya herhangi bir yaşta sarkoma gelişimi olması gerekir (155).

Oral bölgede en sık görülen kanser tipi olan yassı hücreli karsinomun etyolojisinde tütün mamüllerinin büyük bir rolü olması ve bu kanser türlerinde aynı zamanda yüksek oranda *TP53* geni mutasyonu izlenmesi, tütün mamüllerinin *TP53* geninde mutasyona yol açabileceği düşüncesini doğurmuştur. Yapılan çalışmalarda tütün ürünlerini kullananlarda *TP53* mutasyonuna daha sık rastlandığı rapor edilmiştir (10, 156-160). Ayrıca oral yassı hücreli karsinomlarda ve akciğer kanserinde sigara kullanan bireylerde G:C→A:T transizyonu ve G:C→T:A transversiyonlarının daha çok görülmesi tütün mamüllerinin içinde yer alan kanserojen maddelerin *TP53* geni üzerinde belli bir mutajenik etki gösterdiği görüşünü desteklemektedir (132, 161). Yapılan araştırmalarda akciğer kanserlerinin etyolojisinde sigarada bulunan kanserojen maddelerden PAH ve akroleinin DNA eklentisi oluşturarak rol oynadığı ve bu eklentilerin aynı zamanda p53 geninin en sık mutasyon gözlenen *hotspots* bölgelerinde meydana geldiği rapor edilmiştir. Ayrıca bu kanserojen maddelerin oluşturduğu DNA eklentilerinin en sık G→T transversiyonuna neden olduğu belirtilmiştir. (132, 162).

2.5.2. TP63 Mutasyonları

TP53 geninin tersine *TP63* geninde mutasyon nadiren izlenir (111, 163). Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda p63^{+/-} farelerin yaşam sürelerinin p63^{+/+} farelerden daha kısa olduğu rapor edilmiştir. p63^{+/-} farelerde, yassı hücreli karsinom, histiyositik sarkoma gibi malign tümörlerin yanı sıra, yassı hücreli hiperplazi, akciğer adenomu gibi premalign lezyonlar gelişmiştir (164).

Kanserlerde *TP63* geninde mutasyon nadir olarak izlenirken kanserlerin büyük çoğunluğunda p63 proteininin ekspresyonunda artış gözlenir (103, 111). Oral yassı hücreli kanserlerde kanser evresi ile p63 ekspresyonu arasındaki bağlantı, tümör hücresi neslinin olgunlaşmamış olmasına bağlanmıştır. Kötü farklılaşmış kanserlerde p63 ekspresyonunun izlenmemesinin ise bu kanser hücrelerinin tamamen farklılaşmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür (103). Farklı p63 izoform proteinlerini tespit etme yeteneğine sahip güncel antikorlar kullanılarak yapılan

immunohistokimyasal analizlerde özellikle yassı hücreli karsinomda Δ Np63 proteininin ekspresyonunda artış gözlenmiştir (123, 165).

Bununla beraber Stransky ve ark. baş boyun bölgesi kanserlerinde gözlenen mutasyonları inceledikleri çalışmalarında *TP53* dışında en çok mutasyon görülen gen grubunun epidermal yapıların gelişiminden sorumlu *NOTCH1*, *IRF6* ve *TP63* genleri olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, bu genlerdeki mutasyonların, prekürsör hücrelerin çok katlı yassı hücrelere farklılaşma sürecini sekteye uğratarak yassı hücreli karsinom gelişimine neden oldukları hipotezini öne sürmüşlerdir (166).

Ağız içi dokularda ve lezyonlarda p63 ekspresyonunun incelendiği çalışmalarda, p63'ün en yoğun olarak keratokistik odontojenik tümörlerde boyandığı ve p63 boyanan hücrelerin, normal ağız içi mukozasının tersine bazal tabakayla sınırlı kalmadığı belirtilmiştir (167). Yapılan çalışmalarda, oral epitelyal displazide, oral yassı hücreli karsinomda, oral submuköz fibroziste, eritrolökoplakide p63 ekspresyonunun yoğun olarak izlendiği rapor edilmiştir (103, 168-170). p63 α ve Δ Np63 α 'ya özgü monoklonal antikolarla boyama yapılan sağlıklı oral epitel ve yassı hücreli karsinom örneklerinde bu proteinlere rastlanmıştır. Sağlıklı oral epitelde, hiperplazi gözlenen bölgelerde p63 α / Δ Np63 α boyanması epitelin spinoz tabakasına kadar uzanırken, p53 boyanması bazal tabakayla sınırlı kalmıştır. Folikülde bulunan odontojenik epitelde ise p53 ve p63 proteinlerine rastlanmamıştır. Bununla beraber yassı hücreli karsinom örneklerinde p63 α / Δ Np63 α ve p53 boyanmasının dağılımı benzer şekilde olmuştur (81, 117). Özellikle ameloblastomanın farklı türlerinin ve diğer epitel kökenli odontojenik tümörlerin farklı klinik ve patolojik özellikler göstermelerinde p63'ün rolü olabileceği öne sürülmüştür (171).

2.5.3. DNA Sentezleme ve Genotipleme

2.5.3.1. PZR (Polymerase Chain Reaction- Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

“İlk olarak 1983 yılında Kary Mullis tarafından icat edilen polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) DNA'nın belirli bir bölgesinin özel primerler kullanılarak zincirleme reaksiyonlarla çoğaltılması işlemidir. PZR işleminde kopyalanacak DNA bölgesi 'şablon', bu şablonun kopyalanacak sekansını belirleyen ve kopyalama işlemini başlatan özel ajanlar ise 'primer' olarak adlandırılır. Primerler bağlanmış

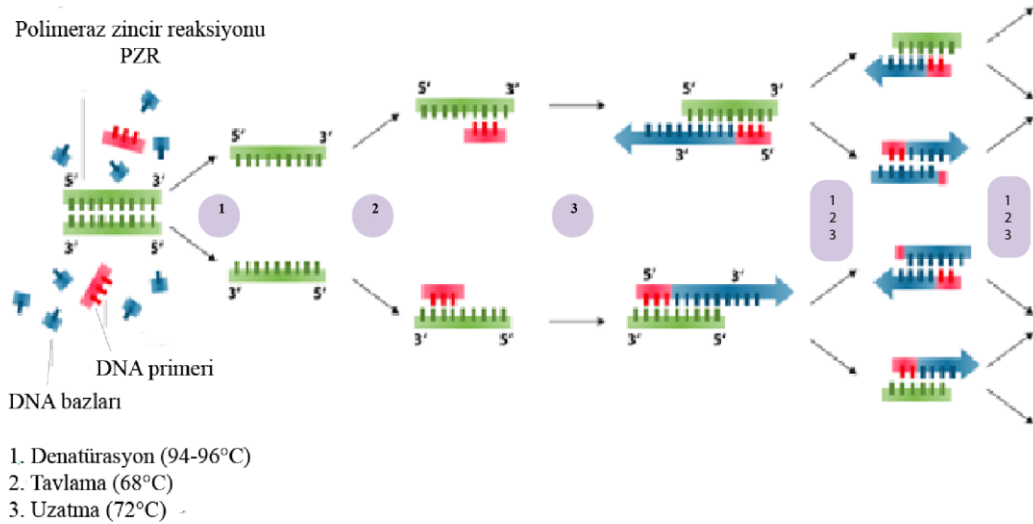
oldukları DNA'nın sentezlenecek olan bölgesindeki baz dizilimine uygun baz dizilimine sahip oligonükleotit zincirlerdir. Her iki DNA zincirinin kopyalanması için 3' uçları birbirine doğru yönlenmiş iki farklı primer DNA zincirleri ile birleşir. Bu primerler DNA polimeraz enziminin DNA sentezini başlatacağı bölgeleri oluşturarak, şablon DNA'nın kopyalanacak olan bölgesini sınırlar. Reaksiyonun başlangıcında çok eser miktarlarda bulunan DNA şablonu reaksiyon ilerledikçe çoğalırken, primerlerin konsantrasyonu reaksiyon boyunca aynı kalır. PZR farklı sıcaklık değerlerinde gelişen üç aşamada gerçekleşir.

94°C'de şablon DNA denatüre olarak tamamlayıcı zincirler birbirinden ayrılır.

Reaksiyon soğurularak, 40-72°C arasında primerlerin şablon DNA ile birleşmesi sağlanır.

Son olarak reaksiyon polimerizasyon reaksiyonu için optimum sıcaklık olan 72°C'ye ısıtılarak polimerizasyon işlemi başlatılır.

İlk üç basamak uygulama için istenilen DNA miktarı elde edilinceye kadar 25-40 defa tekrarlanır. En son olarak reaksiyon, uygulamaya ve kullanılan termal siklus cihazına göre oda sıcaklığına veya 4°C'ye kadar soğutulur.” (172)



Şekil 9. PZR (Polimeraz zincir reaksiyonu).

McPherson ve ark. (2000)'den izin alınarak kullanılmıştır.

2.5.3.2. PZR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism, Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Sınırlayıcı Parça Uzunluk Polimorfizmi)

Hastalıklarla ilişkili genlerde meydana gelen somatik mutasyonlar çoğu zaman izole edilmelerini sağlayacak fonksiyonel değişikliklere yol açmazlar. Bu nedenle in vitro yöntemlerle izole edilmeleri veya çoğaltılmaları mümkün olmaz. Bu nedenle mutasyona uğramış hücrelerin tespitinde değişen fenotipik özelliklerinin yerine ilgili gendeki dizilim farklılıklarını tespit edecek biyokimyasal ayırma ve tespit yöntemlerine ihtiyaç duyulur (173). Sınırlayıcı parça uzunluk polimorfizmi, homolog DNA dizilimlerinde, özel *restriksiyon endonükleaz* enzimleri ile parçalandıktan sonra farklı uzunluklarda parçaların meydana gelmesiyle tespit edilebilen farklılıklardır (174).

PZR-RFLP işleminde ilk olarak izole edilen DNA, RFLP işlemi için yeterli miktar elde edilene kadar PZR ile çoğaltılır. PZR işleminde polimorfizm incelenecek gen bölgesinin çoğaltılması hedeflenir (175). Yeterli miktarda PZR ürünü elde ettikten sonra, daha önceden tespit edilmiş olan SNP'lere uygun restriksiyon enzimleri kullanılarak DNA parçalara ayrılır. Restriksiyon enzimlerinin kesim noktalarında polimorfizm varlığına veya yokluğuna bağlı olarak ya kesim gerçekleşir veya gerçekleşmez. Böylece farklı uzunluklarda DNA parçaları elde edilmiş olur. Bu DNA parçaları agar elektroforezde yürütülerek aralarındaki ağırlık farkı nedeniyle birbirinden ayrışması sağlanır ve kişinin gen diziliminde incelenen polimorfizmin varlığı değerlendirilir (174).

Bizim çalışmamızda amaç, sigara içen ve içmeyen, sistemik olarak sağlıklı bireylerin, asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dişlerinin perikoronar foliküllerinde, Ki-67 ve p53 proteinlerinin ekspresyonunun immunohistokimyasal metotlarla değerlendirilmesi ve *TP53* ve *TP63* genlerinde, oral bölgede görülen kanser türleri ile ilişkili SNP'lerin en çok görüldüğü 29 nokta tespit ederek, SNP varlığının MALDI-TOF MS tekniği kullanılarak incelenmesidir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Çalışma için 08.05.2013 tarihinde, 125 sayı ile Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı (Ek-1). Proje Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Destekleme Protokolü tarafından, 28.05.2013 tarihli karar ve 3608-D2-13 proje numarası ile desteklendi (Ek-2).

3.1. Gereç

Çalışmaya, Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı kliniğine, tam gömük alt yirmi yaş dişi çekimi için başvuran hastalar dahil edildi. Çalışmaya, 18 yaşından büyük, sistemik olarak sağlıklı, son bir ay içerisinde analjezik veya antibiyotik kullanmamış, klinik olarak asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dişi olan ve panoramik radyografide perikoronar aralığın 2,5 mm'den az olduğu hastalar dahil edildi. 50 sigara içen ve 50 sigara içmeyen olmak üzere toplam 100 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların sosyodemografik bilgileri, sigara kullanma durumları kaydedildi. Çekim endikasyonu konan dişlerin kemik retansiyonu durumları (tam-yarım), Winter's sınıflandırmasına göre pozisyonları (distoanguler, mezioanguler, horizontal, vertikal) ve diş gelişim evreleri kaydedildi. Diş gelişim evrelerini sınıflandırmak için Demirjian ve ark.'nın, çalışmasında geliştirdiği sistem kullanıldı (176, 177).

3.2. Yöntem

3.2.1. Hastalara Uygulanan İşlemler

Çalışma kriterlerine uyan hastalara, yapılacak işlemler ve olası riskleri anlatıldıktan sonra çalışma hakkında bilgi verildi. Çalışmaya dahil olmayı kabul eden hastalara “Aydınlatılmış onam formu” imzalatılarak onayları alındı (Ek-3).

Çalışmaya dahil olan tüm hastaların işlem öncesinde Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı'nda panoramik radyografları alındı (Resim 1). Radyograflar

Planmeca, ProMax (Planmeca Oy, Helsinki, Finlandiya) X-ray cihazı ile çekildi. Elde edilen radyograflar Planmeca Romexis (Planmeca Oy, Helsinki, Finlandiya) yazılımı aracılığıyla dijital ortama aktarıldı. Programdaki araçlar kullanılarak çalışmaya dahil edilen gömük yirmi yaş dişlerinin perikoronar aralıkları, en geniş noktaları baz alınarak dijital olarak ölçüldü. Perikoronar aralığı 2,5 mm'den geniş olan dişler çalışmaya dahil edilmedi.



Resim 2. Çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan panoramik radyografide yapılan dijital ölçüm.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan medikal ve dental anamnez alındı. Tüm hastaların yaşı, cinsiyeti, sigara kullanma durumları kaydedildi. Sistemik rahatsızlığı olan, son bir ay içinde herhangi bir nedenle analjezik, antiinflamatuvar veya antibiyotik kullanmış olan hastalar ve 18 yaşını doldurmamış olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Sigara kullanan hastaların, sigara kullanma süreleri yıl olarak ve günde içtikleri sigara miktarı kaydedildi. Bir günde tüketilen paket sayısı ile sigara kullanılan yıl sayısı çarpılarak paket yılı hesaplandı.

Araştırmaya katılan hastaların cerrahi işlemleri Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı ameliyathanesinde, lokal anestezi altında, asepsi-antisepsi koşulları sağlanarak gerçekleştirildi. Ameliyata başlamadan önce 40 mg/ml articaine HCl ve

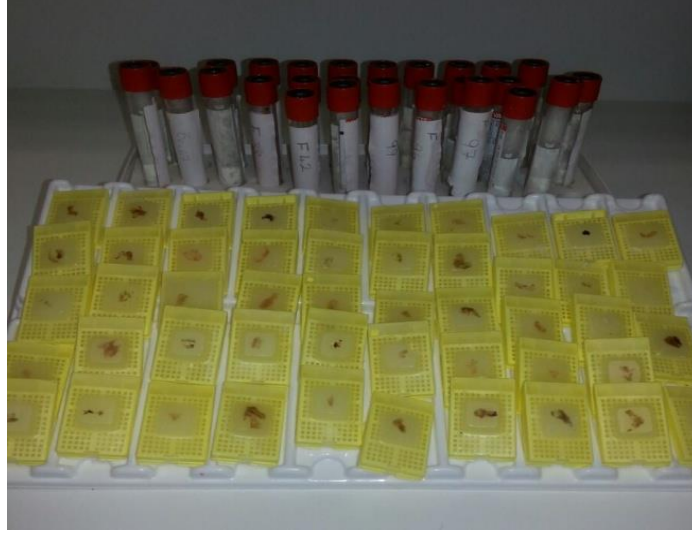
0,012 mg/ml epinefrin HCl içeren 4cc lokal anestezi madde (Ultracaine DS forte, Aventis İlaç Sanayi Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) kullanılarak inferior alveoler, lingual ve bukkal sinir bloğu ile lokal anestezi sağlandı. Anestezi sağlandıktan sonra rutin gömük yirmi yaş dişi çekim teknikleri ve prensipleri uygulanarak diş çekimi yapıldı. Perikoronar folikül tek parça halinde ve zedelenmeden çıkarılmaya çalışıldı. Foliküller iki eşit parçaya ayrıldıktan sonra immunohistokimyasal boyama uygulanacak parça %10'luk formaldehit içinde, genetik analiz uygulanacak parça ise serum fizyolojik içinde ve +4°C'de muhafaza edildi. Çekim soketi kürete edilip, kanama kontrolü sağlandıktan sonra, yara ağzları tam yuvarlak iğneli 3/0 ipek dikiş (Doğsan Tıbbi Mal. Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) kullanılarak primer kapatıldı. Tüm hastalara ameliyat sonrası öneriler ve yara bakımı anlatıldı. Analjezik, antibiyotik ve gargara reçete edilen hastalar işlem sonrası 7. günde kontrol ve dikişlerin alınması için tekrar çağrıldı.

3.2.2. İmmunohistokimyasal Boyama

Örneklerin immunohistokimyasal incelemesi özel bir patoloji laboratuvarında yapıldı.

3.2.2.1. Dokuların Hazırlanması

Nötral formaldehit solüsyonunda, immersiyon fiksasyon yöntemi uygulanarak tespit edilen dokular, çeşme suyu altında bir gece süren yıkama işleminden sonra doku takip kasetlerine alındı.



Resim 3. Doku takip kasetlerine alınan örnekler.

Daha sonra sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı.

A. Dehidratasyon

Dokular dereceli alkollerde aşağıda belirtilen sürelerde bekletildi.

Alkol Derecesi	Süre
%50'de	1 saat
%70'te	1 saat
%96'da	1 saat
%96'da	1 saat
%100'de	1 saat
%100'de	1 saat

B. Şeffaflaştırma

Ksilolde	1 saat
----------	--------

C. Emdirme

Yumuşak parafinde (60°C etüvde) 1 saat.

Yumuşak parafinde (60°C etüvde) 1 saat

Yumuşak parafinde (60°C etüvde) 1 saat

D. G6mme

Boncuk parafin kullanılarak dokular bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan kızaklı mikrotom kullanılarak 4 mikron kalınlığında kesitler alındı.

3.2.2.2. İmmunohistokimyasal alışmalar

Elde edilen t6m doku 6rnekleri rutin histolojik y6ntemler kullanılarak parafine g6m6ld6. Dokulardan (American Optical 820 Rotary Microtome, New York, ABD) alınan 4  m kalınlığında seri kesitler lizinli lamlara alındı.

3.2.2.3. İmmunohistokimyasal Boyamada Kullanılan Kimyasalların Hazırlanışı

1. Primer antik6rler:

Ki-67

p53

2. Sekonder antik6r:

Biotinylated Goat-Anti Polyvalent (link/sarı sol6syon).

Streptavidin Peroxidase (laber/pembe sol6syon).

3. TBS (Tris Buffered Saline) hazırlanışı:

TBS sol6syonu, her biri 500 ml'lik mezur ile 25 ml TBS ve 475 ml distile suda 6z6nerek hazırlandı. Her boyama için taze sol6syon hazırlandı.

4. Sitrat Buffer hazırlanışı:

Sitrat buffer sol6syonu, her biri 100 ml'lik mezur ile 10 ml Sitrat buffer ve 10 ml distile suda 6z6nerek hazırlandı ve taze olarak kullanıldı.

5. %3`l6k Hidrojen Peroksit Sol6syonu:

90 ml metanol 6zerine 10 ml %30`luk hidrojen peroksit eklenerek karıştırıldı. Her boyama için taze sol6syon hazırlandı.

6. Kromojen:

DAB (diaminobenzidin), horseradish-peroksidaz enziminin substratı olarak kullanıldı. Üretici firmanın (Labvision, Kaliforniya, ABD) önerisine göre 2 ml substrat için 1 damla kromojen içerecek şekilde karıştırıldı. Her karışım kullanımından yaklaşık 10 dk önce taze olarak hazırlandı.

3.2.2.4. İmmunohistokimyasal Boyama İşlemi

4 µm kalınlığında elde edilen parafin kesitler etüvde 60°C'de yarım saat bekletildi.

- Parafin giderme (deparafinizasyon) işlemi için ksilol-1`de 15 dk
- Parafin giderme (deparafinizasyon) işleminin devamı ksilol-2`de 15 dk
- %100`lük alkolde 5 dk
- %96`lık alkolde 5 dk
- %70`lik alkolde 5 dk bekletildi.
- PBS solüsyonunda 5 dk bekletildi.
- Kesitler sodyum sitrat tamponunda mikrodalga fırında 4 kez 5 dk. kaynatıldı ve oda ısısında 20 dk. soğumaya bırakıldı.
- 20 dk. soğumadan sonra lamlar distile su ile yıkandı.
- PAP pen kalem ile polilizinli lamların üzerindeki doku kesitlerinin etrafı çizildi. Bu işlem ileriki safhalarda da gerektiğçe tekrarlandı.
- Dokuların üzerini kaplayacak şekilde ve diğer dokularla karışmamasına dikkat edilerek %3`lük H₂O₂ solüsyonu damlatıldı. 10 dk oda sıcaklığında bekletildi.
- Kesitler akan musluk suyunda 6 defa yıkandı.
- Kesitler TBS solüsyonunda 1 kez yıkandı.
- Dokunun üzerini kapatacak şekilde Large Volume Ultra V block (Labvision, Kaliforniya, ABD) damlatıldı ve 10 dk bekletildi.

- Lamlardaki son kesitlere kontrol amacıyla sekonder antikor, diğer kesitlerin üzerine de primer antikor damlatıldı. Lamlar nemli kabin içerisinde +4C⁰ de bir saat bekletildi.

- Kesitler TBS ile 2 kez 5'er dk. bekleterek yıkandı.

- Sekonder antikor, dokuların üzerine kaplayacak şekilde damlatılarak 10 dk. beklendi.

- Kesitler TBS ile 2 kez 5'er dakika bekleterek yıkandı.

- Dokunun üzerine tamamen kaplayacak şekilde streptavidin peroksidaz (Labvision, Kaliforniya, ABD) damlatıldı ve 10 dk. beklendi.

- Kesitler, TBS ile 2 kez 5'er dk. bekleterek yıkandı.

- DAB solüsyonu (Labvision, Kaliforniya, ABD), dokuların üzerine damlatıldı ve reaksiyon vermesi için 10 dk beklendi.

- Kesitler distile su ile yıkandı.

- Zıt boyama hematoksilen (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Almanya) ile 10 sn süresince yapıldı.

- Çeşme suyunda 5 dk yıkandı.

- Sırasıyla %70, %90 ve %100'lük alkol serilerinden batır çıkar yapılarak geçirildi.

- Kesitler şeffaflaşana kadar ksilolde bekletildi.

- Biomount kullanılarak kapama yapıldı.



Resim 4. Örneklerle antikör uygulanması.



Resim 5. İmmunohistokimyasal boyamaya tabi tutulan örnekler.

3.2.2.5. İmmunohistokimyasal Boyanmanın Skorlanması ve Değerlendirilmesi

İmmunohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde iki faktör göz önünde bulunduruldu. İlk olarak, hücre çekirdeği boyanan hücre sayısı skorlandı. Daha sonra ise hücre çekirdeklerinin boyanma yoğunluğu skorlandı.

Örnekler skorlanırken:

Boyanan hücre sayısına göre

0 puan : boyanma yok

1 puan : % 1'den az boyanma var

2 puan : % 1-10 arası boyanma var

3 puan : % 11-33 arası boyanma var

4 puan : % 34-66 arası boyanma var

5 puan : % 67'den fazla boyanma var

Boyanma yoğunluğuna göre

0 puan : boyanma yok

1 puan : zayıf boyanma var

2 puan : orta derecede boyanma var

3 puan : yoğun boyanma var

şeklinde skorlandı ve iki skorun toplamı, incelenen örneğin skoru olarak alındı. Skorlama işleminden sonra toplam skoru 4'ten küçük olan örnekler “negatif”, 4'ten büyük olanlar ise “pozitif” olarak değerlendirildi (178).

3.2.3. DNA Dizilimi ve Mutasyon Analizi

Örneklerden elde edilen DNA'larda *TP53* ve *TP63* genlerindeki olası mutasyonları incelemek için MALDI-TOF MS yöntemi uygulanmıştır. Nükleik asit değişikliklerini saptamak için hedef bölgeler MassARRAY® TYPER 4.0 (Agena Bioscience Inc., San Diego, A.B.D) genotipleme yazılımı ve özel olarak tasarlanmış primer çiftleri kullanılarak çoğaltıldı (Resim 6).



Resim 6. MassARRAY analiz cihazı

3.2.3.1. DNA İzolasyonu ve Kalitesi

Yüksek miktarda PZR amplikonu yapmak için genomik DNA (gDNA) kalıbının saf olması ve degrade olmaması gerekmektedir. İzolasyon sonrasında ve PZR öncesinde gDNA kantitasyonu yapılarak ultraviyole spektrofotometre ölçümlerinde 260 nm ve 280 nm dalga boyu sonuç oranlarının 1,8-2,0 aralığında olduğu teyit edildi.

3.2.3.2. Çalışma Dilüsyonu

Kantitasyon sonrasında DNA'nın büyük bir kısmı 50 ng/μl stok konsantrasyonunda dilüe edildi. Genotipleme çalışmasında her bir reaksiyon için 25-30 ng DNA gerekmektedir.

3.2.3.3. Genotipleme Testi İçin Gereken PZR Primer ve Uzama Probu Dizayını

1. **SNP veya mutasyon bölgesi seçimi:** Yapılan çalışmada, sigaranın *TP53* ve *TP63* genleri üzerindeki mutajenik etkilerini değerlendirmek ve bu genlerde mutasyon varlığını incelemek amacıyla en sık SNP izlenen, *TP63* geni için 8 (rs113993963, rs113993964, rs113993965, rs121908835, rs121908836, rs121908837, rs121908838, rs121908839), *TP53* geni için 21 (rs2287497, rs2287498, rs2287499, rs2909430, rs3021069, rs8079544, rs9895829, rs11540654, rs12947788, rs12951053, rs17551157, rs17880560, rs59758982, rs121912658, rs121912662, rs121912664, rs121912665, rs141402957, rs281865547, rs397516435, rs397516436) farklı bölgede SNP varlığı araştırıldı. Genler üzerinde incelenecek noktaları belirlemek için *National Center for Biotechnolgy Information data base of Single Nucleotide Polymorphisms* (NCBI dbSNP) veri tabanında tarama yapıldı ve her iki gen için “*clinical significance*” bölümünde *pathologic* veya *likely pathologic* yazan rs bölgeleri seçildi. Bunun yanında SNP analizinde kullanılacak kitin dizayını gereği bazı rs noktaları elendi bu bölgelerin yerine kit dizaynında yer alan rs bölgeleri eklendi.
2. **Amplifikasyon primerleri dizayn edilmesi:** PZR multipleks amplifikasyon primerleri Assay Design Suite 1.0 yazılımı (Agena Bioscience Inc., San Diego,

A.B.D) kullanılarak dizayn edildi. Amplifikasyon primer çiftleri ortamda yer alan template dizileri ile hibridize olarak reaksiyonu başlattı.

3. **Uzama problemlerinin dizayn edilmesi:** Tek baz uzama problemleri Assay Design Suite 1.0 yazılımı (Agena Bioscience Inc., San Diego, A.B.D) kullanılarak dizayn edildi. Problemler amplifikasyon aşamasında modifiye edilen PZR ürününe spesifik hibridizasyon gerçekleştirerek ortamda var olan her bir allelin belirlenmesi için tek baz spesifik uzama gerçekleştirir.

3.2.3.4. Sequenom MassARRAY® Protokol

3.2.3.4.1. DNA'nın Genotipleme İçin Çoğaltılması

Nükleik asit değişimlerinin belirlenebilmesi ve MassARRAY® (Agena Bioscience Inc., San Diego, A.B.D) sisteminde kullanılabilmesi için önce gDNA'daki hedef bölge, dizayn sonucu elde edilen primer çiftleri kullanılarak multipleks PZR ile çoğaltıldı.

3.2.3.4.2. dNTP Nötralizasyonu (SAP Reaksiyonu)

Amplifikasyon ürünlerindeki bağlanmamış dNTP'ler *shrimp alkaline phosphatase* (SAP) ile nötralize edildi. SAP, serbest dNTP'den bir fosfat kopararak geri dönüşümsüz olarak dNDP'ye çevirir.

3.2.3.4.3. iPLEX Gold® Reaksiyonu Hazırlama (Tek Baz Spesifik Uzama Reaksiyonu)

Ürünler daha sonra iPLEX (Agena Bioscience Inc., San Diego, A.B.D) uzama reaksiyonuna tabi tutuldu. Dizayn edilen problemler, hedef bölge ile hibridizasyonu ve tek kütle modifiye nükleotid uzaması gerçekleşti.

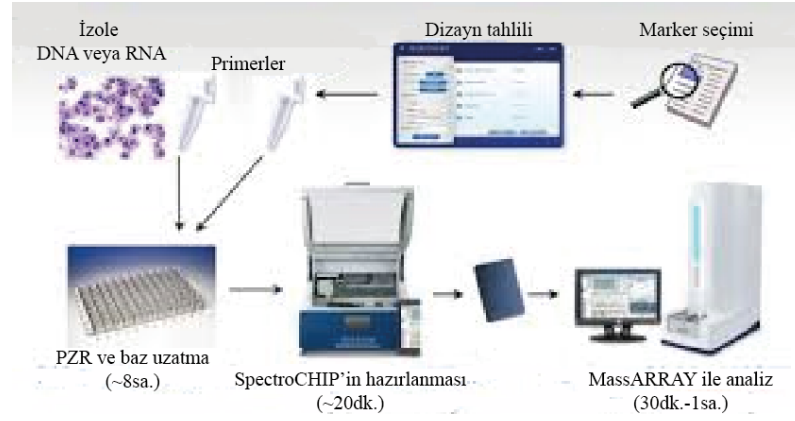
3.2.3.4.4. Rezin ile Temizleme

Kütle spektrometrik analiz optimize edilmesi için, iPLEX reaksiyon ürünleri Na⁺, K⁺, Mg⁺ gibi iyonları uzaklaştırarak arka plan kirliliğini en aza indirmek için katyonik değişim sağlayan rezin ile en az 30 dk. muamele edildi. İşlem

sonrası PZR ürünleri, 4000 rpm hızında santrifüj edilerek fazla rezinin dibe çökmesi sağlandı.

3.2.3.4.5. SpectroCHIP® Dağılımı

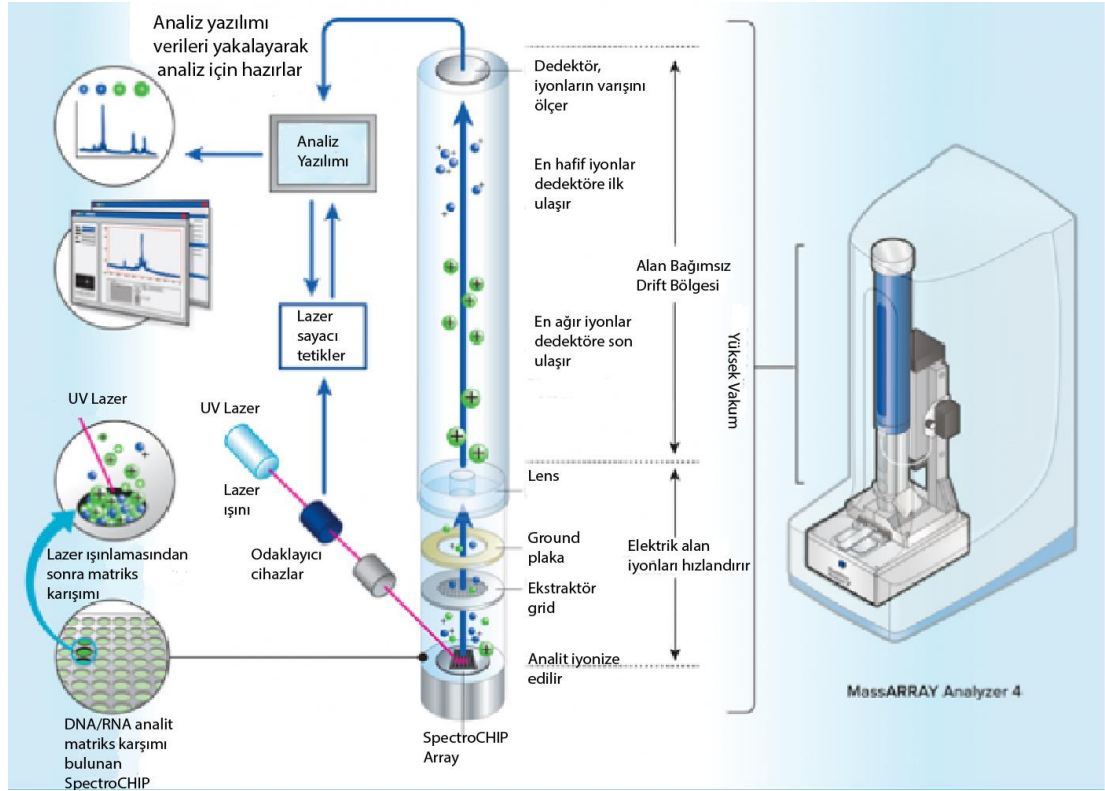
Hedef bölgenin amplifikasyonu, SAP uygulaması ile bağlanmamış serbest bulunan dNTP'lerin defosforile edilmesi, tek baz spesifik uzama reaksiyonu ve ortamdaki tuzların uzaklaştırılması için rezin uygulaması aşamalarını takiben elde edilen modifiye ürün, 384-element SpectroCHIP® II (Agena Bioscience Inc., San Diego, A.B.D) üzerine dağıtıldı. Bu işlemde yaklaşık 15 nl PZR ürününün SpectroCHIP® II üzerine dağıtılması için nanodispenser cihazı kullanıldı (Şekil 10).



Şekil 10. DNA izolasyonu, PZR ile DNA'nın çoğaltılması ve MassARRAY analizi için hazırlanması.

3.2.3.4.6. MALDI-TOF MS ile Veri Analizi

MassARRAY Nanodispenser (Agena Bioscience Inc., San Diego, A.B.D) ile üzerine PZR ürünü dağıtılan 384-element SpectroCHIP® II (Agena Bioscience Inc., San Diego, A.B.D), analiz için MassARRAY® Analyser 4 (Agena Bioscience Inc., San Diego, A.B.D) cihazına yüklendi. Lazer atımı sonrası elde edilen verilerin analizi, spektro görüntüsünün ve allel spesifik piklerin elde edilmesi için (iPLEX SpectroCHIP® II analizi) MassARRAY® TYPER 4.0 (Agena Bioscience Inc., San Diego, A.B.D) genotipleme yazılımı kullanıldı (Şekil 11).



Şekil 11. MALDI-TOF MS yöntemi ile DNA analizi.

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmada hasta bilgileri ve gen bölgelerine ait sınıflandırılmış verilerde sayı ve %'ler hesaplandı. Daha sonra gen bölgeleri ile sigara kullanımı arasında iki yönlü tablolar oluşturularak χ^2 bağımsızlık testi ve kritik görülen oranlarda da iki oran karşılaştırmasında z testi kullanılmıştır.

Kemik retansiyonu durumu ile gen bölgeleri arasında iki yönlü tablolar oluşturularak χ^2 bağımsızlık testi ve kritik oranlar görüldüğünde iki oran karşılaştırılmasında z testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmaya 18-50 yaş arasında, radyografik ve klinik olarak asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dışı bulunan, 58'i kadın, 42'si erkek toplam 100 hasta dahil edildi. Sigara içen 50 hasta çalışma grubuna, içmeyen 50 hasta kontrol grubuna dahil edildi.

Çalışmaya katılan hastaların yaş ortalaması $22,85\pm 5,85$ 'ti. Sigara kullanmayan kontrol grubunun yaş ortalaması $21,36\pm 5,12$, sigara kullanan çalışma grubunun yaş ortalaması ise $24,34\pm 6,20$ olarak bulunmuştur. Kadınların yaş ortalaması $23,21\pm 6,89$, erkeklerinki ise $22,36\pm 4,04$ 'tür (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışmaya dahil edilen hastaların sigara kullanma durumu ve cinsiyete göre yaş ortalamaları dağılımı.

	Sigara kullanma durumu		Yaş ortalaması
	+	-	
Kadın	26,89±8,23	21,55±5,55	23,21±6,89
Erkek	22,91±4,21	20,60±2,95	22,36±4,04
Yaş ortalaması	24,34±6,20	21,36±5,12	22,85±5,85

Çalışmaya dahil edilen hastaların %58'i kadın, %42'si erkektir. Sigara içen hastaların %36'sı kadın, %64'ü erkek hastadan oluşmaktadır. Sigara kullanmayan hastaların ise %80'i kadın, %20'si erkek hastadan oluşmaktadır (Tablo 2).

Çalışmaya dahil edilen hastaların sigara kullanma alışkanlıkları incelendiğinde, en kısa süredir sigara kullanan hasta 7 aydır sigara kullanırken, en uzun süredir sigara kullanan hasta 33 yıldır sigara kullanmaktaydı. Ortalama sigara kullanma süresi $7,67\pm 6,35$ yıldır. Sigara kullanma miktarına göre ise en az sigara kullanan hasta ayda 1-2 adet sigara kullandığını belirtirken, en çok sigara kullanan hasta günde 30 adet sigara kullandığını belirtmiştir. Çalışma grubunun ortalama günde kullandığı sigara adedi $12,49\pm 7,48$ bulunmuştur. Günlük tüketilen sigaranın paket cinsinden miktarı ile toplamda sigara kullanılan sürenin yıl olarak çarpımı ile elde edilen "paketyıl" değerleri ise en düşük 0,006, en yüksek 25 bulunmuştur. Çalışma grubunun ortalama "paketyıl" değeri ise $4,90\pm 5,06$ olarak bulunmuştur.

Tablo 2. Cinsiyetlere göre sigara kullanım durumu dağılımı.

		Cinsiyet		
		Kadın (%)	Erkek (%)	Toplam (%)
Sigara	-	40 (40)	10 (10)	50 (50)
	+	18 (18)	32 (32)	50 (50)
Toplam		58 (58)	42 (42)	100 (100)

Dişlerin kemik retansiyonu değerlendirilirken tam kemik ve yarım kemik retansiyonlu olarak sınıflandırıldı. Buna göre çalışma boyunca çekilen dişlerin 70'i tam, 30'u ise yarım kemik retansiyonlu (Tablo 3).

Dişlerin pozisyonları Winter's sınıflandırmasına göre sınıflandırıldı. Çalışmaya dahil olan dişlerin 2'si distoanguler, 17'si mezioanguler, 26'sı horizontal ve 55 tanesi vertikal (Tablo 3).

Diş gelişim evreleri değerlendirilirken Demirjian sınıflandırılması kullanılmıştır (Resim 7). Buna göre çalışmaya dahil edilen 100 hastadan çekilen gömük yirmi yaş dişlerinin 4 tanesi D evresinde, 36 tanesi E evresinde, 28 tanesi F evresinde, 10 tanesi G evresinde ve 14 tanesi de H evresindeydi (Tablo 3).



Resim 7. Demirjian ve ark.'nın sınıflandırmasına göre çalışmada çekilen dişlerin gelişim evreleri. **A:** D Evresi, **B:** E Evresi, **C:** F Evresi, **D:** G Evresi, **E:** H Evresi.

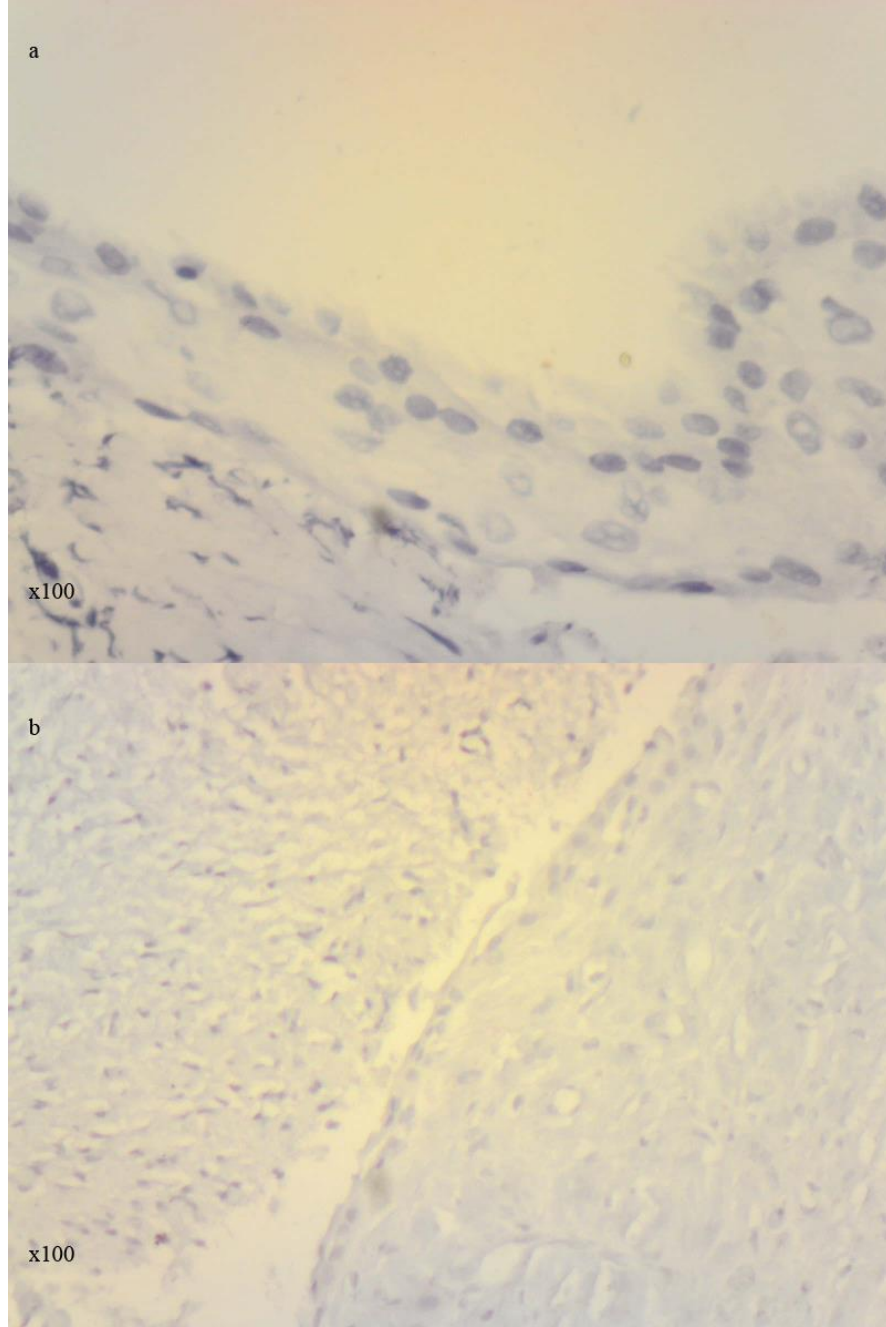
Tablo 3'de çalışmaya katılan hastaların sosyodemografik bilgileri, diş retansiyonu, dişin pozisyonu ve diş gelişim evreleri verilmiştir.

Tablo 3. Çalışmaya katılan hastaların sosyodemografik bilgileri.

	Sayı (%)
Cinsiyet	
Kadın	58 (58)
Erkek	42 (42)
Sigara kullanımı	
Evet	50 (50)
Hayır	50 (50)
Kemik retansiyonu	
Tam	70 (70)
Yarım	30 (30)
Diş pozisyonu	
Distoanguler	2 (2)
Vertikal	55 (55)
Mezioanguler	17 (17)
Horizontal	26 (26)
Diş gelişim evresi	
D	4 (4)
E	36 (36)
F	28 (28)
G	10 (10)
H	14 (14)

4.1. İmmunohistokimyasal Boyama Sonuçları

Kontrol ve çalışma grubunda yapılan immunohistokimyasal analizlerde, p53 ve Ki-67 proteinlerinin boyanma skorları değerlendirilmiş ve doku örneklerinin boyanma skorları 4'den düşük bulunduğu için “negatif” olarak rapor edilmiştir. Bu verilere istatistiksel analiz uygulanamamıştır.

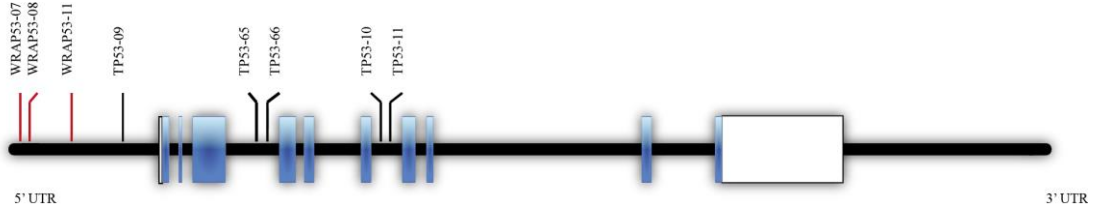


Resim 8. Örneklerin immünohistokimyasal boyanma sonuçları. **a** Ki-67 boyaması, **b** p53 boyaması, x100 büyütme.

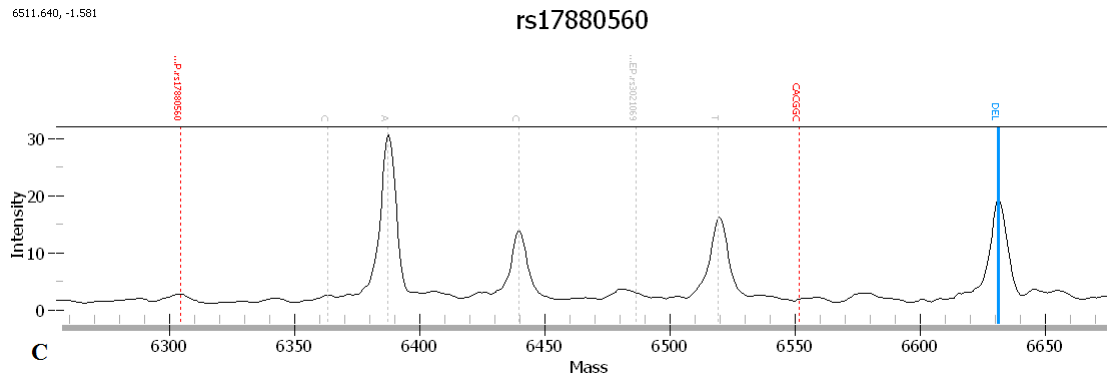
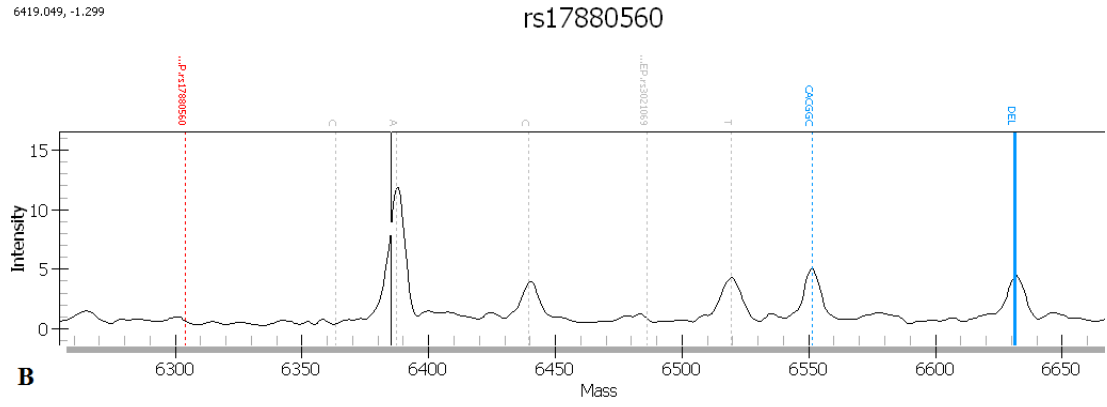
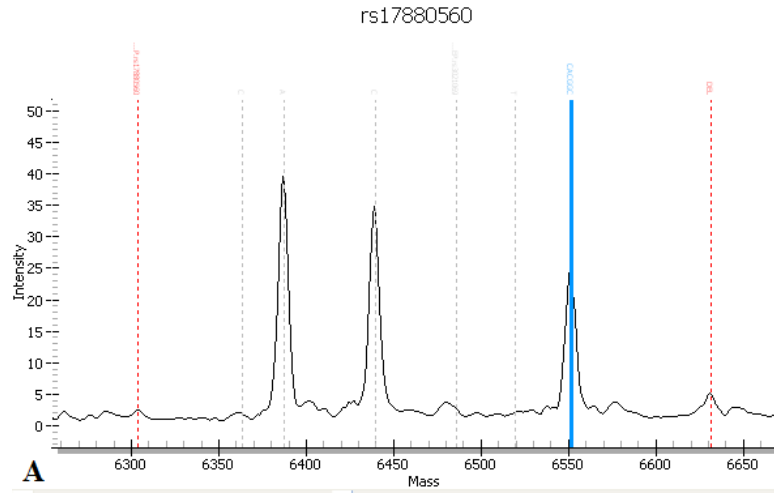
4.2. DNA Dizilimi ve SNP Analizi Sonuçları

Daha önceden veritabanı taraması sonucu belirlenmiş olan, *TP53* geni üzerinde 21, *TP63* geni üzerinde ise 8 bölgede MALDI-TOF MS (Sequenom, San Diego, ABD) yöntemi ile SNP varlığı araştırılmıştır. Analiz sonucunda *TP63* geni üzerinde herhangi bir SNP varlığı tespit edilmemiştir. *TP53* geni üzerinde ise 10

bölgede SNP varlığı gözlenmiştir (Şek. 12, Resim 9). SNP gözlenen bölgeler ve meydana gelen baz değişimleri tablo 4'te verilmiştir.



Şekil 12. p53'ün ve gözlenen SNPlerin gen üzerindeki konumlarının şematik görüntüsü. **a** İçi boş kutucuklar kodlama yapmayan ekzon bölgeleri. **b** Mavi kutucuklar kodlayıcı ekzon bölgeleri. **c** Kutucukları birleştiren çizgiler intronlar.



Resim 9. rs17880560 bölgesinde tespit edilen SNP sonucu farklı genotiplerin MALDİ-TOF MS analiziyle elde edilen görüntüleri. **A:** Homozigot sağlıklı genotip **B:** Heterozigot genotip ve **C** Homozigot polimorfik genotip.

Tablo 4. Çalışmada SNP gözlenen rs bölgeleri ve SNP500Cancer Sistemindeki kodu ile bölgede meydana gelen baz çifti değişimi.

RefSNP Numarası (SNP500Cancer ID)	Baz-çifti değişimi
rs2287497 (<i>WRAP53-07</i>)	C>T
rs2287498 (<i>WRAP53-08</i>)	Ex2+19A>G
rs2287499 (<i>WRAP53-11</i>)	Ex1-230C>G
rs2909430 (<i>TP53-66</i>)	IVS4-91A>G
rs8079544 (<i>TP53-09</i>)	IVS1-112C>T
rs9895829 (<i>TP53-65</i>)	IVS4-125A>G
rs12947788 (<i>TP53-10</i>)	IVS7+72G>A
rs12951053 (<i>TP53-11</i>)	IVS7+92A>C
rs17551157	delC
rs17880560	delCACGGC

Bu bölgelerdeki baz değişimlerinin sigara kullanımı ile arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için χ^2 testi kullanılmıştır. Yapılan χ^2 analizine göre, rs2287497 gen bölgesinin baz dizilimi ile sigara içip içmeme durumu arasında hesaplanan χ^2 test istatistiği 3,84 olarak bulunmuş olup istatistik olarak önemli değildir. Ayrıca rs 2287497 gen bölgesindeki sigara içmeyenlerde C bazı görülme oranı (38/50'den 0,76) ile sigara içenlerde C bazı görülme oranı (45/50'den 0,90) arasındaki fark, yapılan z testi sonucunda istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Bunun anlamı, rs2287497 gen bölgesinin baz dizilimi, sigara kullanımından bağımsızdır.

rs2287498 gen bölgesinin baz dizilimi ile sigara içip içmeme durumu arasında hesaplanan χ^2 test istatistiği 1,50 olarak bulunmuş olup istatistik olarak önemli değildir. rs 2287498 gen bölgesinde, sigara içmeyenlerde G bazı görülme oranı (29/50'den 0,58) ile sigara içenlerde G bazı görülme oranı (33/50'den 0,66) arasındaki fark, yapılan z testi sonucunda istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Sonuç olarak, rs2287498 gen bölgesinin baz dizilimi sigara kullanımından bağımsızdır.

rs2287499 gen bölgesinin baz dizilimi ile sigara içip içmeme durumu arasında hesaplanan χ^2 test istatistiği 3,275 olarak bulunmuş olup istatistik olarak önemli değildir. rs2287499 gen bölgesinde, sigara içmeyenlerde G bazı görülme oranı (43/50'den 0,86) ile sigara içenlerde G bazı görülme oranı (48/50'den 0,96)

arasındaki fark, yapılan z testi sonucunda istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Sonuç olarak, rs2287499 gen bölgesinin baz dizilimi sigara kullanımından bağımsızdır.

rs2909430 gen bölgesinin baz dizilimi ile sigara içip içmeme durumu arasında hesaplanan χ^2 test istatistiği 1,67 olarak bulunmuş olup istatistik olarak önemli değildir. Bunun anlamı, rs2909430 gen bölgesinin baz dizilimi sigara kullanımından bağımsızdır.

rs8079544 gen bölgesinin baz dizilimi ile sigara içip içmeme durumu arasında hesaplanan χ^2 test istatistiği 1,895 olarak bulunmuş olup istatistik olarak önemli değildir. Bunun anlamı, rs8079544 gen bölgesinin baz dizilimi sigara kullanımından bağımsızdır.

rs9895829 gen bölgesinin baz dizilimi ile sigara içip içmeme durumu arasında hesaplanan χ^2 test istatistiği 1,895 olarak bulunmuş olup istatistik olarak önemli değildir. Sonuç olarak, rs9895829 gen bölgesinin baz dizilimi sigara kullanımından bağımsızdır.

rs12947788 gen bölgesinin baz dizilimi ile sigara içip içmeme durumu arasında hesaplanan χ^2 test istatistiği 1,012 olarak bulunmuş olup istatistik olarak önemli değildir. Bunun anlamı, rs12947788 gen bölgesinin baz dizilimi sigara kullanımından bağımsızdır.

rs12951053 gen bölgesinin baz dizilimi ile sigara içip içmeme durumu arasında hesaplanan χ^2 test istatistiği 1,012 olarak bulunmuş olup istatistik olarak önemli değildir. Bunun anlamı, rs12951053 gen bölgesinin baz dizilimi sigara kullanımından bağımsızdır.

rs17551157 gen bölgesinin baz dizilimi ile sigara içip içmeme durumu arasında hesaplanan χ^2 test istatistiği 2,178 olarak bulunmuş olup istatistik olarak önemli değildir. rs17551157 gen bölgesinde, sigara içmeyenlerde C bazında delesyon görülme oranı (43/50'den 0,86) ile sigara içenlerde C bazında delesyon görülme oranı (47/50'den 0,94) arasındaki fark, yapılan z testi sonucunda istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Sonuç olarak, rs17551157 gen bölgesinin baz dizilimi sigara kullanımından bağımsızdır.

rs17880560 gen bölgesinin baz dizilimi ile sigara içip içmeme durumu arasında hesaplanan χ^2 test istatistiği 1,89 olarak bulunmuş olup istatistik olarak önemli değildir. Bunun anlamı, rs17880560 gen bölgesinin baz dizilimi sigara kullanımından bağımsızdır.

rs bölgelerinde gözlenen SNPLerin sigara kullanma durumuna göre dağılımları ve χ^2 testi sonuçları tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. SNP gözlenen rs noktalarında genotiplerin görülme sıklıkları ve sigara ile ilişkileri (AA sağlıklı baz dizisi homozigot; Aa heterozigot; aa polimorfik baz dizisi homozigot; + sigara kullanıyor, - sigara kullanmıyor).

	Sigara Kullanımı	Genotip			χ^2
		AA	Aa	aa	
rs2287497	+	0,900	0,100	0	3,840
	-	0,760	0,220	0,020	
		0,830	0,160	0,010	
rs2287498	+	0	0,340	0,660	1,501
	-	0,020	0,400	0,580	
		0,010	0,370	0,620	
rs2287499	+	0	0,040	0,960	3,275
	-	0,020	0,120	0,860	
		0,010	0,080	0,910	
rs2909430	+	0,020	0,260	0,720	1,670
	-	0,020	0,380	0,600	
		0,020	0,320	0,660	
rs8079544	+	0,980	0,020	0	1,895
	-	0,920	0,080	0	
		0,950	0,050		
rs9895829	+	0,980	0,020	0	1,895
	-	0,920	0,080	0	
		0,950	0,050		
rs12947788	+	0,860	0,140	0	1,012
	-	0,840	0,140	0,020	
		0,850	0,140	0,010	
rs12951053	+	0,860	0,140	0	1,012
	-	0,840	0,140	0,020	
		0,850	0,140	0,010	
rs17551157	+	0	0,060	0,940	2,178
	-	0,020	0,120	0,860	
		0,010	0,090	0,900	
rs17880560	+	0,120	0,340	0,540	1,890
	-	0,060	0,280	0,660	
		0,090	0,310	0,600	

rs noktalarında görülen genotiplerin cinsiyetlere göre dağılımı incelenirken χ^2 testi uygulanmıştır. Yapılan analizler sonucunda rs bölgelerinde görülen genotiplerin dağılımı, cinsiyetten bağımsız bulunmuştur. Cinsiyet ve genotip dağılımı ve χ^2 testi sonuçları tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Her bir rs noktasında genotiplerin cinsiyete göre görülme oranları.

	Cinsiyet	Genotip			χ^2
		AA	Aa	aa	
rs2287497	K	0,810	0,173	0,017	0,921
	E	0,857	0,143	0	
		0,830	0,160	0,010	
rs2287498	K	0,017	0,345	0,638	1,032
	E	0	0,405	0,595	
		0,010	0,370	0,620	
rs2287499	K	0,017	0,086	0,897	0,818
	E	0	0,071	0,929	
		0,010	0,080	0,910	
rs2909430	K	0,034	0,362	0,603	2,881
	E	0	0,262	0,738	
		0,020	0,320	0,660	
rs8079544	K	0,931	0,069	0	1,046
	E	0,976	0,024	0	
		0,950	0,050		
rs9895829	K	0,931	0,069	0	1,046
	E	0,976	0,024	0	
		0,950	0,050		
rs12947788	K	0,845	0,138	0,017	0,733
	E	0,857	0,143	0	
		0,850	0,140	0,010	
rs12951053	K	0,845	0,138	0,017	0,733
	E	0,857	0,143	0	
		0,850	0,140	0,010	
rs17551157	K	0,017	0,086	0,897	0,748
	E	0	0,095	0,905	
		0,010	0,090	0,900	
rs17880560	K	0,052	0,345	0,603	2,791
	E	0,143	0,262	0,595	
		0,090	0,310	0,600	

Dişlerin tam veya yarım kemik retansiyonlu olma durumu ile rs noktalarında görülen genotiplerin dağılımını incelemek için χ^2 testi uygulanmıştır. Analiz sonuçlarına göre rs bölgelerinde görülen genotiplerin dağılımı dişlerin tam veya yarım kemik retansiyonlu olma durumundan bağımsızdır. χ^2 değerleri 0,251 ile 4,924 arasında değişmektedir. Dişlerin kemik retansiyon durumu ile genotiplerin görülme oranları ve χ^2 değerleri tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7. Dişlerin kemik retansiyonu durumuna göre rs noktalarında genotiplerin görülme oranları.

	Kemik Retansiyonu	Genotip			χ^2
		AA	Aa	aa	
rs2287497	tam	0,829	0,157	0,014	0,441
	yarım	0,833	0,167	0	
		0,830	0,160	0,010	
rs2287498	tam	0,014	0,343	0,643	1,090
	yarım	0	0,433	0,567	
		0,010	0,370	0,620	
rs2287499	tam	0,014	0,086	0,900	0,549
	yarım	0	0,067	0,933	
		0,010	0,080	0,910	
rs2909430	tam	0	0,314	0,686	4,924
	yarım	0,067	0,333	0,600	
		0,020	0,320	0,660	
rs8079544	tam	0,943	0,057	0	0,251
	yarım	0,967	0,033	0	
		0,950	0,050		
rs9895829	tam	0,943	0,057	0	0,251
	yarım	0,967	0,033	0	
		0,950	0,050		
rs12947788	tam	0,843	0,143	0,0140	0,456
	yarım	0,867	0,133		
		0,850	0,140	0,010	
rs12951053	tam	0,857	0,129	0,0140	0,660
	yarım	0,833	0,167		
		0,850	0,140	0,010	
rs17551157	tam	0,014	0,071	0,914	1,376
	yarım	0	0,133	0,867	
		0,010	0,090	0,900	
rs17880560	tam	0,100	0,300	0,600	0,335
	yarım	0,067	0,333	0,600	
		0,090	0,310	0,600	

Dişlerin çene içindeki pozisyonu ile rs bölgelerinde görülen genotiplerin oranlarının kıyaslanmasında χ^2 testi kullanılmış ve iki değişken arasında ilişki bulunamamıştır. Elde edilen χ^2 değerleri 0,251 ile 9,070 arasında bulunmuştur. Diş pozisyonu ve rs bölgelerindeki görülen genotiplerin dağılımı tablo8'de verilmiştir.

Tablo 8. Dişlerin pozisyonlarına göre genotiplerin görülme sayıları.

	Diş Pozisyonu	Genotip			χ^2
		AA	Aa	aa	
rs2287497	distoanguler	1	0	0	1,632
	horizontal	0,852	0,148	0	
	mezioanguler	0,875	0,125	0	
	vertikal	0,800	0,182	0,018	
		0,830	0,160	1	
rs2287498	distoanguler	0	1	0	4,717
	horizontal	0	0,407	0,593	
	mezioanguler	0	0,375	0,625	
	vertikal	0,018	0,327	0,655	
		0,010	0,370	0,620	
rs2287499	distoanguler	0	1	0	1,194
	horizontal	0	0,074	0,926	
	mezioanguler	0	0,063	0,937	
	vertikal	0,018	0,091	0,891	
		0,010	0,800	0,910	
rs2909430	distoanguler	0	0	1	9,070
	horizontal	0,074	0,296	0,600	
	mezioanguler	0	0,500	0,500	
	vertikal	0	0,291	0,709	
		0,020	0,320	0,660	
rs8079544	distoanguler	1	0	0	1,301
	horizontal	0,926	0,074	0	
	mezioanguler	1	0	0	
	vertikal	0,945	0,055	0	
		0,950	0,050	0	
rs9895829	distoanguler	1	0	0	0,251
	horizontal	0,926	0,074	0	
	mezioanguler	1	0	0	
	vertikal	0,945	0,055	0	
		0,950	0,050	0	
rs12947788	distoanguler	1	0	0	2,742
	horizontal	0,926	0,074	0	
	mezioanguler	0,813	0,187	0	
	vertikal	0,818	0,164	0,018	
		0,850	0,140	0,010	

rs12951053	distoanguler	1	0	0	3,767
	horizontal	0,926	0,074	0	
	mezioanguler	0,750	0,250	0	
	vertikal	0,836	0,146	0,018	
		0,850	0,140	0,010	
rs17551157	distoanguler	0	0	1	1,351
	horizontal	0	0,074	0,926	
	mezioanguler	0	0,125	0,875	
	vertikal	0,018	0,091	0,891	
		0,010	0,090	0,900	
rs17880560	distoanguler	0,500	0	0,500	8,572
	horizontal	0,148	0,222	0,630	
	mezioanguler	0	0,313	0,687	
	vertikal	0,073	0,364	0,563	
		0,090	0,310	0,600	

5. TARTIŞMA

Gömük diş çekimi oral ve maksillofasiyal cerrahide en sık gerçekleştirilen cerrahi işlemdir (1, 2, 179). Gömük kalma prevalansı en yüksek diş olan alt yirmi yaş dişleri, uzun yıllar semptom vermeden durabildiği gibi bazen de perikoronit, ağrı, çene kırıkları ve odontojenik kist ve tümörler gibi patolojik durumlara yol açabilirler (1-3, 6, 33, 47, 52, 180). Çekim endikasyonu oluşturan durumların varlığı dışında, asemptomatik gömük dişlerin proflaktik çekimi hakkında henüz görüş birliğine varılamamıştır. Proflaktik çekimin karşısında olan araştırmacılar, bu dişlerin uzun yıllar hiçbir semptom vermeden durabildiğini, bu dişlerin çekim kararı ile hastaların gereksiz yere postoperatif komplikasyon riski ile karşı karşıya bırakıldıklarını ve sağlık masraflarının gereksiz yere arttırıldığını belirtmektedirler (38, 39, 181). Ayrıca yapılan uzun süreli çalışmalarda, bu dişlerin 30'lu yaşlarda bile ağızda normal konumlarına sürebildikleri rapor edilmiştir (25, 26). Proflaktik çekimi savunanlar ise bu dişlerin her zaman patolojik dönüşüm riski taşıdıklarını ve ilerleyen yaşlarda hastaların hem yaşlanmaya bağlı hem de olası eşlik eden sistemik hastalıklar nedeniyle postoperatif komplikasyonları ve tedaviyi daha zor tolere edeceklerini öne sürmektedirler (35, 48).

Asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dişlerinden bahsederken sadece klinik olarak semptom vermemiş dişler değil, aynı zamanda hiçbir hastalık bulgusu olmayan dişler kastedilmektedir (38). Bu nedenle hekim tam gömük alt yirmi yaş dişinin çekim endikasyonuna karar verirken, klinik semptom ve bulguların yanında radyografik görüntüleri de değerlendirmelidir.

Literatürde, panoramik radyografide perikoronar radyolusensinin, magnifikasyon payı da göz önünde bulundurularak, 2,5-3 mm'den geniş olduğu dişlerin şüpheli olarak değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir (50, 53). Ancak yapılan çalışmalarda perikoronar radyolusensinin 2,5 mm'den daha dar olduğu ve klinik olarak asemptomatik olan dişlerin perikoronar foliküllerinde de histopatolojik değişikliklerin görülebileceği rapor edilmiştir. Bu tür dişlerde en çok görülen patoloji dentigeröz kist olurken, odontojenik keratokistik tümör, ameloblastoma, kalsifiye epitelyal odontojenik tümör, odontojenik miksona, odontojenik fibroma ve malign fibrosarkoma gibi patolojiler de rapor edilmiştir (5, 7, 45-47, 52, 180, 182). Ayrıca

yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dişlerin foliküllerinde, EGFR, Ki-67, p53, bcl-2, p63, integrin, MCM2, PCNA gibi hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozunda görevli proteinlerin varlığı ve dağılımı araştırılmıştır (8, 45, 50, 57-60).

Odontojenik patolojilerin etyolojisinde, epitel artıklarının proliferasyonunun rol oynadığı düşünülmektedir. Odontojenik keratokistik tümör, dentigeröz kist, dental folikül ve oral mukoza üzerinde yapılan çalışmada, odontojenik keratokistik tümörde dentigeröz kistten ve dentigeröz kistte dental folikül ve oral mukozadan daha yüksek oranda Ki-67 tespit edilmiş ve Ki-67 boyanan hücreler sağlıklı dokuda bazal tabakada sınırlı iken displazik ve kistik dönüşüm görülen olgularda boyanmanın yüzeysel tabakalara da uzandığı görülmüştür (59, 73, 75).

İlk olarak 1983 yılında Gerdes ve ark. tarafından keşfedilen Ki-67 antijeni, hakkında çok az şey bilinmesine rağmen çok kısa zamanda klinik kullanımı, özellikle patolojide, oldukça yaygınlaşmış bir protein olmuştur (64, 65, 69, 183). Ki-67 üzerine yapılan çalışmalar, bu proteinin hücre döngüsü sırasında çekirdek organizasyonunun sağlanması, ribozom biyogenezinin etkinliğinin artırılması gibi görevleri olabileceğini rapor etmişlerdir ancak bu proteinin bilinen en önemli özelliği sadece çoğalan hücrelerin çekirdeklerinde (G₁, S, G₂ ve M evreleri) bulunurken dinlenme fazındaki hücre çekirdeklerinde (G₀) görülmemeleridir (67-69). Ki-67 proteini üzerine yapılan çalışmalar sonucunda, bu proteinin belirli bir hücre popülasyonunun “büyüme fraksiyonunu” (hücre döngüsü içindeki hücre sayısı) belirlemede kullanılabileceği gösterilmiştir (63, 64).

p53, ilk keşfedilen tümör baskılayıcı genlerden biridir. *TP53* geni kromozom 17p13.1'de yer alır ve 11 ekzondan oluşur. Kodlama ikinci ekzondan başlar 11. ekzona kadar devam eder (78). İlkel tek hücreli canlılarda yer alan p53 proteininin ilkel türlerinin görevi gamet hücrelerini DNA hasarlarından korumak iken, daha gelişmiş ilk omurgalı canlılardan itibaren p53 proteininin görevi somatik kök hücreleri ve projenitör hücreleri DNA hasarlarından korumak olmuştur (78). p53 proteini normal sağlıklı dokularda çok az miktarda bulunur ve yarı ömrü çok kısa olduğu için rutin immunohistokimyasal yöntemlerle tespit edilemez (24, 81, 91-95, 184). Ancak normal hücre döngüsünün ilerleyişini bozan veya hücrenin genomunda

bir mutasyona neden olabilecek herhangi bir hücresel stres varlığında p53 proteini çeşitli yollarla stabilize olarak hücrelerde daha uzun süre kalır ve hücre döngüsünü, DNA tamiri için zaman kazandırmak amacıyla durdurur (20). Eğer DNA hasarı geri döndürülemez düzeyde ise hücreyi apoptoza yönlendirerek hasarlı genomun çoğalmasını engeller (92). Çeşitli lezyonlarda immunohistokimyasal yöntemlerle p53 proteininin ekspresyonunun araştırıldığı çalışmalarda, normal sağlıklı dokularda p53 proteini gözlenmezken ya da sadece hücre çoğalmasının olduğu bazal tabakada gözlenirken, farklı evrelerdeki kanser dokularında ve premalign lezyonlarda p53 proteininin ekspresyonunun arttığı ve suprabazal tabakalara da yayıldığı gösterilmiştir (16, 75, 91, 93, 95, 102-104, 185-188). Premalign ve malign lezyonlarda p53'ün yüksek oranda ekspresyonunun izlenmesi, bu proteinler hakkında iki görüşü öne çıkarmıştır. Bazı çalışmacılar, p53 proteininin tümör baskılayıcı özelliğinden dolayı malign ve premalign lezyonların etyolojisinde rol oynayan DNA hasarlarının tamiri için hücre döngüsünü durdurmak veya hasarlı DNA'ya sahip hücreleri apoptoza yönlendirmek, böylelikle tümör hücrelerinin aşırı çoğalmasını ve ilerlemesini engellemek amacıyla transkripsiyonunun arttığını iddia etmektedirler (82, 97, 98, 189, 190). Bu süreçte farklı mekanizmalar, p53'ün yıkımında rol oynayan MDM2 proteini ile bağlanarak p53'ün yıkılmasını engellemektedir ve proteinin yarı ömrü 48 saate kadar uzayabilmektedir (81, 99, 184). İkinci bir görüşe göre ise *TP53* geninde meydana gelen bir mutasyon nedeniyle mutant ve yarı ömrü daha uzun olan (yaklaşık 9 saat) bir protein sentezlenmektedir ve dokularda tespit edilebilen protein, mutant p53 proteinidir (81, 92, 100, 184, 191).

TP63 geni kromozom 3q27-29 üzerinde yer alır ve 265,822 nükleotitten oluşur. 14 ekzon vardır ve kodlama 1. ekzondan başlar. Omurgalı canlılar geliştikçe p53 gen ailesinin fonksiyonları artar ve p63 deri ve diğer organların gelişimini kontrol eden transkripsiyonel düzenleyici olarak görev alır. p53 gen ailesi üyelerinin ilk görüldüğü canlılar, deniz şakayıkları ve kamçılı organizmalardır. Bu canlılarda görülen p53 ailesine üye genler daha çok günümüz canlılarındaki p63 genine benzemektedir ve gamet hücrelerinin DNA hasarından korunmasında görevlidir. Omurgalı canlılara geçişle beraber p63 geni ikiye ayrılır ve p63 dışı eşey hücrelerinin DNA hasarından korunmasındaki görevini sürdürürken ek olarak epitel hücre yüzeylerinin ve bazı organların oluşumunda da rol almaya başlar (78). p63

mutasyonları sonucunda bireylerde ektoaktili, ektodermal displazi, damak dudak yarığı, EEC sendromu, yarık el/ayak malformasyonu gözlenirken, kanser insidansında artış gözlenmemiştir. Ayrıca kanserlerde görülen somatik mutasyonların çok az bir kısmı p63 mutasyonlarıdır (78). Farklı lezyonlarda p63 ekspresyonunun araştırıldığı bir çalışmada Vered ve ark., Δ Np63 izoform proteininin bazal/kök hücrelerde görüldüğünü, bununla beraber daha üst katmanlarda bulunan tamamen farklılaşmış keratinositlerde TAp63'ün daha yoğun gözlendiğini rapor etmiştir. Ancak displazik değişiklikler sonucunda bu dağılım bozularak Δ Np63'ün baskın hale geldiği belirtilmiştir (102). Kanserlerde *TP63* geninde mutasyon nadir olarak izlenirken kanserlerin büyük çoğunluğunda p63 proteininin ekspresyonunda artış gözlenir (103, 111) Oral premalign lezyonların malign transformasyon riskinin belirlenmesinde de Δ Np63'ün belirleyici olabileceği öne sürülmüştür (122). Kanserlerin alt türlerinin ayırıcı tanısında da p63'ün ekspresyonunun faydalı olabileceği belirtilmiştir (15, 123).

Sigaranın içinde yaklaşık 5000 kimyasal bileşen bulunur ve ağız sağlığı üzerinde çok çeşitli etkileri vardır. Bunlardan en önemlisi ve hayati olanı ise yassı hücreli karsinomdur. Baş boyun bölgesi kanserleri arasında en çok görülen kanser türleri arasında yer alan yassı hücreli karsinomun etyolojisinde sigara kullanımı önemli bir faktördür. Sigara dumanına tekrarlayan maruziyet sonucunda oral kavitenin çok katlı yassı epitel hücrelerinde DNA hasarı meydana geldiği ve neoplazilerin geliştiği düşünülmektedir. Yassı hücreli kanserlerin yaklaşık %50'sinde *TP53* geninde mutasyon görülmesi ve yapılan çalışmalarda tütün ürünlerini kullananlarda *TP53* mutasyonuna daha sık rastlanması, bu iki faktör arasındaki ilişkiyi doğrulamaktadır (10, 156-160).

Radyografik olarak sağlıklı, asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dişlerinin çekimi ile ilgili yapılan çalışmalarda bu dişlerin perikoronar dokuları histopatolojik incelemeye tabi tutulmuş ve farklı oranlarda patolojik değişikliklerin olduğu rapor edilmiştir. Histopatolojik incelemeye ek olarak yapılan immunohistokimyasal boyama çalışmalarında bu dokularda EGFR, Ki-67, p53, p63, integrin, MCM2, PCNA, bcl-2 gibi proteinlerin epitel hücrelerindeki dağılımı ve yoğunluğu gibi parametreler araştırılmıştır (8, 45, 50, 57-61). p53 ve p63 proteinlerinin immunohistokimyasal yöntemlerle dokularda incelenmesi yaygın olarak kullanılan

bir metottur. Baas ve ark. tarafından hatalı pozitif sonuç verme ihtimalinin bulunduğu rapor edilmesine rağmen özellikle sağlıklı dokularda, düşük seviyelerdeki p53 proteininin boyanmasını sağlamak için *antijen retrieval* yöntemi ve sinyal amplifikasyon yöntemi ile antikoların hassasiyetinin artırılması yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (95, 192). Ancak bu proteinlerin farklı lezyonlarda ve kanser türlerinde ekspresyonunun artmasının, proteinlerin stabilizasyonunun artmasından mı kaynaklandığı yoksa bu proteinleri sentezleyen gen bölgelerinde bir mutasyon sonucu yarı ömrü daha uzun proteinlerin sentezlenmesinden mi kaynaklandığı tam olarak açıklanamamıştır. Genel görüş lezyonların şiddeti arttıkça özellikle p53 proteininin boyanma yoğunluğu ve dağılımının deđiştđi yönündedir. Ayrıca p53 proteininin ekspresyonundaki artışla, *TP53* geninde mutasyon görülme sıklığı arasında korelasyon bulunmuştur (147, 150).

p53 boyanmasını değerlendirirken, pozitiflik için %10-30 eşik değerı koyan çalışmalar vardır (105). Bu tür çalışmaların yanında literatürde doku örneklerinde en yoğun boyanma izlenen alanlarda boyanan hücrelerin sayısını yüzdesel olarak veren (16, 109), hücrelerin yüzdesel oranlarını 0'dan 4'e kadar skorlayan (104, 142) boyanma yoğunluğuna ve dağılımına göre değerlendiren (146, 191), epitel boyunca p53 pozitif hücreleri sayan ve milimetre başına düşen p53 pozitif hücre sayısını *Labeling Index* (LI) olarak belirleyen (193), hem boyanma yüzdesi hem de boyanma yoğunluğu skorlarının toplamını değerlendiren çalışmalar da (61) mevcuttur.

Bizim çalışmamızda, gömük alt yirmi yaşı dişlerinin folikül hücrelerinin büyüme fraksiyonunu belirlemek için dokularda Ki-67 boyanması incelenmiştir. Ayrıca sigara içen ve içmeyen bireylerin dokularının hücre çoğalma indeksi arasında fark olup olmadığı araştırılmıştır. Sigaranın hücreler üzerindeki genotoksik etkilerinin belirlenmesi için hücre genomunun koruyucusu olan p53 proteininin ekspresyonu immunohistokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Ayrıca sigaranın mutajenik özelliğinin *TP53* ve *TP63* genleri üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla foliküllerden izole edilen DNA'larda, NCBI dbSNP veritabanı yardımıyla belirlenmiş, sık mutasyon gözlenen ve klinik olarak önem arz eden 29 noktada MALDI-TOF MS yöntemiyle SNP varlıkları incelenmiştir.

Yapılan çalışmada sigara içen ve içmeyen bireylerde, radyografik ve klinik olarak sağlıklı tam gömük alt yirmi yaş dişlerinin perikoronar foliküllerinde yapılan immunohistokimyasal boyama işleminde, Ki-67 boyanma sonuçları “negatif” olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar daha önce Toptaş ve ark. (61), Cabbar ve ark. (59), Edamatsu ve ark.'nın (194) yaptıkları çalışmalarının sonuçlarından farklı bulunmuştur. Edamatsu ve ark.'nın çalışmasında, Ki-67 ekspresyonunun folikül epitelinin morfolojik özelliklerinin farklılığından etkilenebileceği belirtilmiştir. Çalışmasında, proliferatif rete çıkıntıları bulunan folikül epitellerinde Ki-67 indeksinin, indirgenmiş mine epiteli ve çok katlı yassı epitel içeren foliküllerdekenden daha yüksek olduğunu rapor etmiştir (194). Benzer şekilde Cabbar ve ark. da çalışmalarında inceledikleri foliküllerde, folikül epitelindeki histolojik değişikliklerin Ki-67 indeksini etkilediğini rapor etmişlerdir (59). Toptaş ve ark. ise çalışmasında Ki-67 indeksindeki farklılığı bireylerin sigara kullanımına bağlamıştır (61).

Bizim çalışmamızın Ki-67 ekspresyonu ile ilgili sonuçları, Saraçoğlu ve ark. çalışmasıyla uyumlu bulunmuştur. Saraçoğlu ve ark. çalışmalarında odontojenik epitel artıklarında Ki-67 boyanmasının bulunmamasını, bu hücrelerin dinlenme fazında olmasına bağlamıştır (77). Adelsperger ve ark., asemptomatik gömük yirmi yaş dişleri üzerinde yaptıkları histopatolojik ve immunohistokimyasal çalışmada da benzer sonuçlar bulmuşlardır. Çalışmacılar asemptomatik dişlerin foliküllerinde histopatolojik incelemede patolojik dönüşüm izlemedikleri örneklerde, hücre proliferasyonu belirleyicisi olan PCNA boyanmasının izlenmediğini ancak patolojik dönüşüm tespit ettikleri örneklerde yüksek oranda PCNA boyanması gözlemlediklerini rapor etmişlerdir (45). Oliveira ve ark. dental folikülün morfolojik yapısını inceledikleri çalışmalarında %23 oranında epitelin bulunmadığını, %63 oranında indirgenmiş mine epitelinin bulunduğunu ve %14 oranında çok katlı yassı epitel bulunduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca diş gelişimi ilerledikçe folikül epitelindeki aktivitenin azaldığını belirtmişlerdir. Bunu da folikülün zamanla olgunlaşmasına bağlamışlardır (49). Villalba ve ark., çalışmasında enflamasyon gözlenen folikülleri çalışma dışı bırakmış ve sonuçta diğer çalışmacılardan daha düşük Ki-67 indeksi rapor etmiştir. Daha önceki çalışmalarda yüksek Ki-67 indeksi bulunmasını bu foliküllerde enflamasyon varlığına bağlamıştır (50). Bizim

çalışmamızda Ki-67 boyanmasının gözlenmemesinin nedeni folikülde epitel izlenmemesi veya epitel hücrelerinin dinlenme fazında olması olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışmaya 18 yaş üstü bireylerin dahil edilmiş olması ve bu bireylerin diş gelişimlerinin ileri safhalarında olmaları folikül epitelinin olgunlaşmış olmasına ve bu nedenle proliferasyon izlenmemesine, dolayısıyla Ki-67 ekspresyonu izlenmemesine neden olmuş olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca klinik ve radyografik olarak asemptomatik dişlerin seçilmesi nedeniyle, her ne kadar histopatolojik incelemelerle teyit edilmemiş olsa da, folikül örneklerinde enflamasyon olmaması da Ki-67 ekspresyonunun izlenmemesine sebep olarak gösterilebilir.

Bizim çalışmamızda yapılan immunohistokimyasal boyamalarda dental foliküllerde p53 boyanma sonuçları “negatif” olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Toptaş ve ark.'nın çalışmasının sonuçlarıyla uyumluluk göstermemektedir. Toptaş ve ark. çalışmasında sigara içen bireylerde daha yoğun olmak üzere sigara içmeyen bireylerde de p53 ekspresyonu gözlemlendiğini belirtmiştir. Sigara içen bireylerde ekspresyonun daha yoğun olmasını ise sigaranın kanserojen etkisi dolayısıyla *TP53* geninde meydana gelmiş olabilecek mutasyonlara bağlamıştır (61). Kaur ve ark. ve Field ve ark. normal sağlıklı mukozada, oral malign lezyonlu bölgenin karşıt tarafında yer alan sağlıklı mukozada, oral malign lezyon çevresindeki sağlıklı mukozada ve nonmalign lezyonlarda p53 boyanmasının izlenmediğini bununla beraber displazik lezyonlarda ve oral yassı hücreli karsinomda aşırı ekspresyonunun izlendiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca p53'ün aşırı ekspresyonunun tütün ürünlerinin kullanımıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir (157, 195). Ralhan ve ark. tütün ürünü kullanan, premalign lezyon ve yassı hücreli karsinom teşhisi konmuş hastalarda *TP53* mutasyonu ve p53 ekspresyonunu araştırmışlar ve missense mutasyon görülen vakalarda p53 ekspresyonu izlenirken, nonsense mutasyon izlenen vakalarda p53 boyanması izlenmediğini rapor etmişlerdir (196). Ancak missense mutasyonun varlığının tek başına boyanma görülmesi için yeterli bir neden olmadığını, aynı zamanda mutasyonun gözlemlendiği bölgenin de boyanmada etkili olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızda yüksek oranda missense mutasyon izlenmesine rağmen, bu mutasyonların *TP53* ile kısmen çakışan ve bu gen üzerinde susturucu

etkisi olan *WRAP53* geninde meydana gelmiş olması, p53 boyanması izlenmemesinin nedeni olarak gösterilebilir.

Bizim çalışmamızda elde edilen p53 ekspresyonu sonuçları Matsumoto ve ark., Kaur ve ark. ve Nylander ve ark.'in çalışmalarının sonuçları ile uyumludur (57, 195, 197). Matsumoto ve ark. indirgenmiş epitel ve çok katlı yassı epitel içeren dental foliküllerde p53 tespit edilmediğini rapor etmiştir (57). Semenzati ve ark., sigara dumanına maruz bırakılan ratlarda Ki-67 ekspresyonu izlenirken, p53 ekspresyonu izlenmediğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, sigaranın oluşturduğu hasar nedeniyle dokularda proliferasyonun arttığını ve bu nedenle Ki-67 ekspresyonu izlendiğini ancak deney süresinin kısa olması nedeniyle neoplastik dönüşümün başlamadığını ve bu nedenle p53 ekspresyonunun gözlenmemiş olabileceğini iddia etmişlerdir (9). Bizim çalışmamızda, Ki-67 skorlarına bakarak, örneklerde sigaraya bağlı hücre proliferasyonunda artış meydana gelmediği söylenebilir. Örneklerin p53 skorlarının “0” bulunmasının nedeni olarak, hücrelerin proliferasyon hızında artış olmaması, sigaranın kanserojen etkilerine bağlı *TP53* geninde yarı ömrü uzun mutant p53 proteini sentezlenmesine neden olacak bir mutasyon meydana gelmemiş olması ve sağlıklı p53 proteininin yarı ömrünün çok kısa olması gösterilebilir. p53 ve Ki-67 proteinlerinin ekspresyonlarını değerlendirmek amacıyla, asemptomatik dişlerle beraber klinik ve radyografik olarak semptom vermiş dişlerin de dahil edildiği ve histopatolojik incelemelerin de yapıldığı daha kapsamlı bir çalışma yapılabilir.

DNA'da spontan olarak gelişen hasarlara DNA lezyonları denir. Eğer DNA hasarları kontrol mekanizmalarından kaçmayı başarıp bu hasarı sonraki nesillere aktarmayı başarabilirse DNA'da mutasyon meydana gelmiş demektir (23, 24). Hücrede meydana gelen mutasyon kansere neden olabilecek bir proteinin aktivitesini arttırıyorsa, mutasyonun meydana geldiği gen, onkogen olarak sınıflandırılır; eğer mutasyon genin aktivitesini azaltarak kanser oluşumunu tetikliyorsa, bu genler tümör baskılayıcı gen olarak sınıflandırılır (24).

TP53, kanserlerde en sık mutasyonu rapor edilen tümör baskılayıcı genidir (132, 140). Baş boyun bölgesinde en çok görülen yassı hücreli karsinomda da en sık *TP53* geninde mutasyon izlenir (91, 140-142, 198). Bunun yanı sıra ameloblastoma, ameloblastik karsinoma, oral liken planus, keratokistik odontojenik tümör, epitelyal

displazi gibi oral lezyonlarda da *TP53* geninde mutasyon rapor edilmiştir (91, 110, 142-146). Ancak kanserlerde görülen *TP53* mutasyonlarında diğer tümör baskılayıcı genlerde olduğu gibi delesyon veya budanmış protein sentezlenmesi çok sık olarak gözlenmez. Bunun yerine sağlıklı genin yanında tam boy protein sentezleyen ancak mutasyona uğramış olan alel yer alır (152). Mutant katlanmamış p53 proteini sağlıklı p53 proteinine bağlanarak tetramer oluşturur. Bu oligomerizasyon sonucunda sağlıklı p53 proteini de mutant p53'ün şeklini alır ve fonksiyonunu kaybeder (152, 190). Mutant p53 proteinlerinin DNA'ya bağlanma özellikleri kaybolur çünkü mutasyonlar bağlantı yollarının birini veya hepsini etkiler (152, 190). p53'te meydana gelen mutasyonlar sıklıkla hatalı protein sentezine yol açan missense mutasyonlardır ve gen dizilimi üzerinde rastgele dağılım göstermezler (199). *TP53* geninde meydana gelen polimorfizmlerin %90'dan fazlası kodlayıcı bölgeler dışında meydana gelir (199). En çok mutasyon izlenen bölgeler 130 ve 290, amino asit rezidüleri arasında kalan bölgelerdir. Bu mutasyonların büyük çoğunluğu ise farklı türler arasında yüksek oranda korunmuş olan 4 bölgede izlenir; bunlar: 117-142. rezidüleri, 171-181. rezidüleri, 234-258. rezidüleri, 270-286. rezidülerdir (149).

Yapılan çalışmalar tütün ürünlerinin kullanımının *TP53* mutasyonuna yol açtığını göstermiştir (10, 156-160). Oral yassı hücreli karsinomlarda ve akciğer kanserinde sigara kullanan bireylerde G:C→A:T transizyonu ve G:C→T:A transversiyonlarının daha çok görülmesi ve sigarada bulunan kanserojen maddelerden PAH ve akroleinin *TP53* geninde *hotspots* olarak adlandırılan ve en sık mutasyon gözlenen bölgelerde DNA eklentisi oluşturması, tütün mamüllerinin içinde yer alan kanserojen maddelerin *TP53* geni üzerinde belli bir mutajenik etki gösterdiği görüşünü desteklemektedir (132, 161, 162).

TP53'ün tersine *TP63* geninde nadiren mutasyon izlenir (111, 163). Ancak, baş boyun bölgesi kanserlerinde *TP53*'den sonra en çok mutasyon görülen gen grubunun epidermal yapıların gelişiminden sorumlu olan *NOTCH1*, *IRF6* ve *TP63* genleri olduğu rapor edilmiştir (166).

Dizilim varyasyonları, genom içinde tanımlanmış bölgelerde meydana gelen baz değişiklikleridir. SNP, *single nucleotide polymorphism* tanımının kısaltması olmakla beraber sadece tek baz değişikliklerini kapsamamaktadır. Kısa baz dizisi

eklenmesi veya silinmesi, mikrosatelit tekrar varyasyonları da SNP tanımının içinde yer almaktadır. Bu değişimler, farklı fenotipik özelliklerden sorumlu tutulmaktadır. Kanser, kalp hastalıkları vb. hastalıklara yatkınlık açısından da genomda yer alan bu varyasyonların rolü olduğu düşünölmektedir. İlk olarak 1998 yılında, genetik çalışmalarda genom varyasyonlarını içeren bir kataloga duyulan ihtiyaç üzerine kurulan dbSNP'e ilk zamanlar teknolojik imkanların yetersizliği nedeniyle çok az ve sağlıksız veri girişı yapılabilmiş olsa da, son dönemdeki teknolojik gelişmelerle daha detaylı DNA analizlerinin daha az maliyetlerle yapılabilmesi sayesinde artık tüm gen bölgelerinde SNP analizi yapılabilmektedir (200).

Çalışmamızda, NCBI dbSNP veri tabanı taranarak *TP63* geni üzerinde 8, *TP53* geni üzerinde ise 21 rs bölgesinde SNP varlığı araştırılmıştır.

MALDI-TOF MS analizi ile foliküllerden izole edilen DNA'lar üzerinde yapılan çalışma sonucunda *TP63* geni üzerindeki 8 rs noktasında (rs113993963, rs113993964, rs113993965, rs121908835, rs121908836, rs121908837, rs121908838, rs121908839) herhangi bir SNP varlığı gözlenmedi. *TP53* geni üzerinde de 11 rs bölgesinde (rs3021069, rs11540654, rs59758982, rs121912658, rs121912662, rs121912664, rs121912665, rs141402957, rs281865547, rs397516435, rs397516436) SNP varlığı tespit edilemedi. Bununla beraber, rs2287497 (*WRAP53* intronik), rs2287498 (*WRAP53* ekzon 2), rs2287499 (promotör bölge), rs2909430 (intron 4), rs8079544 (intron 1), rs9895829 (intron 4), rs12947788 (intron 7), rs12951053 (intron 7), rs17551157, rs17880560 (3' çevreleyici bölge) bölgelerinde ise sigaradan bağımsız SNP varlığı tespit edildi.

TP53 geninde SNP gözlenen rs noktaları incelendiğinde, *TP53* geninin 5' ucuna komşu ve kısmen bu genle çakışan ve *TP53* geninin düzenleyicisi olan *WRAP53* geni bölgesinde intronik bir değişim olan rs2287497'de, normal dizilimde olması gereken C bazının yerine T bazının geçtiği göröldü. Yapılan çalışmalarda rs2287497 bölgesinde meydana gelen C>T değişiminin yumurtalık kanseri ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (201). Pineada ve ark., urotelyal mesane kanserinde *TP53* varyantlarının rollerini araştırdıkları çalışmalarında, Beyaz Avrupa ırkında sağlıklı homozigot genotip görölme oranını 0,799, heterozigot genotip oranını 0,190 ve polimorfik homozigot oranını ise 0,010 olarak bulmuşlardır. Kanser teşhisi konan

hastalarda ise bu oranlar 0,813, 0,178 ve 0,008 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak Avrupa ırkında, rs2287497 bölgesinde görülen varyasyonların mesane kanseri ile ilişkili olmadığını öne sürmüşlerdir (202). Medrek ve ark. ise invaziv yumurtalık kanseri teşhisi konmuş hastalarla, sağlıklı bireylerin genotiplerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, çalışma grubunda rs2287497 bölgesinde kontrol grubuna kıyasla daha fazla oranda T/T homozigot genotipi görüldüğünü belirtmiş ve bu genotipin invaziv yumurtalık kanseri riskini arttırdığını öne sürmüşlerdir (203). Bizim çalışmamızda rs2287497 bölgesinde C/C homozigot görülme oranı 0,830, C/T heterozigot görülme oranı 0,160 ve T/T homozigot görülme oranı 0,010 bulunmuştur. Sigara kullananlarda bu oranlar sırasıyla 0,900, 0,100 ve 0 iken kullanmayanlarda 0,760, 0,220 ve 0,020 bulunmuştur. Bizim çalışmamızda tüm populasyonda elde edilen sonuçlar, Pineada ve ark. ile Medrek ve ark.'nın çalışmalarında buldukları sonuçlarla uyumludur (202, 203). rs2287497 bölgesinde SNP görülme oranı (C/T ve T/T) %17'dir.

rs2287498 bölgesi, *WRAP53* geninin 2. ekzonuna denk gelmektedir. Bu bölgedeki SNP sonucunda fenilalanin aminoasitini kodlayan baz diziliminde bulunan G bazı A bazı ile yer değiştirir ancak oluşan sessiz mutasyon nedeniyle aynı aminoasit yani fenilalanin kodlanmaya devam eder (204). Bununla beraber yapılan çalışmalar sonucunda, rs2287498 ve rs12951053 bölgesindeki varyantların birlikte birleşme bölgelerinin fonksiyonunu etkilediği düşünülmektedir (201). Ayrıca rs2287498 bölgesindeki G>A değişiminin yumurtalık kanseri ve meme kanseri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (203-205). Closas ve ark.'nın çalışmasında, Polonyalı ve Norveçli sağlıklı populasyonda sağlıklı homozigot genotip 0,838 oranında görülürken meme kanserli bireylerde bu oran 0,818 olarak bulunmuştur. Meme kanserinin alt grupları karşılaştırıldığında ise rs2287498 bölgesindeki SNP varlığında, ÖR (östrojen reseptörü) negatif meme kanseri riskinin arttığı rapor edilmiştir (205). Bizim çalışmamızda rs2287498 bölgesinde A/A homozigot görülme oranı 0,010, G/A heterozigot görülme oranı 0,370, G/G homozigot görülme oranı 0,620 olarak bulunmuştur. Sigara kullananlarda ve kullanmayanlarda bu oranlar 0/0,020, 0,340/0,400, 0,660/0,580 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda tüm populasyonda elde edilen sonuçlar Medrek ve ark.'nın çalışmasında bulunduğu sonuçlarla benzer bulunmuştur ancak araştırmacı bizim çalışmamızda sağlıklı

genotip kabul edilen A/A homozigot genotipinin hasta bireylerde daha çok gözlemlendiğini belirtmiştir (203). rs2287498 bölgesinde SNP görülme oranı (A/G ve G/G) %99 bulunmuştur.

rs2287499 bölgesi *WRAP53* geninin 1. ekzonunda yer alır (206). Bu bölgede arjinin amino asidi kodlayan baz diziliminde yer alan C bazının yerini G bazı alır ve glisin amino asidi kodlanmaya başlar (missense-kayıp mutasyon) (207). Bu değişim, SIFT ve Polyphen-2 sunucuları tarafından benign değişim olarak sınıflandırılmıştır (208). rs2287499 bölgesindeki polimorfizmin meme kanseri ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (205, 209, 210). Baynes ve ark.'nın çalışmalarında kontrol grubunda buldukları sağlıklı homozigot genotip oranı 0,790 iken, hasta grubunda bu oran 0,777 olmuştur. Heterozigot genotip ise sırasıyla kontrol grubunda 0,193, hasta grubunda 0,207, homozigot polimorfizm ise kontrol grubunda 0,017, hasta grubunda 0,016 bulunmuştur (210). Bonab ve ark. İran'da Azeri popülasyonu üzerinde yaptığı çalışmada, kontrol grubunda sağlıklı homozigot genotip oranını 0,665, heterozigot genotip oranını 0,276 ve homozigot polimorfik genotip oranını 0,059 olarak rapor etmişlerdir. Hasta grubunda ise bu oranlar 0,694, 0,277 ve 0,029 olarak rapor edilmiştir (209). Baynes ve ark. ile Bonab ve ark. yaptıkları çalışmaların sonuçlarına göre rs2287499 bölgesinde görülen SNPlerin meme kanseri ile ilişkisi olmadığını belirtmişlerdir (209, 210). Closas ve ark.'nın çalışmasında, homozigot sağlıklı genotip görülme oranı, sağlıklı popülasyonda 0,771, hasta popülasyonunda ise 0,747; heterozigot genotip görülme oranı sağlıklı grupta 0,217, hasta grupta 0,234; homozigot polimorfik genotip görülme oranı ise sağlıklı grupta 0,012, hasta grubunda 0,019 olarak bulunmuştur (205). Closas ve ark. ise 2287499 bölgesindeki farklı genotiplerin, ÖR negatif meme kanseri ile ilişkili olabileceğini belirtmiştir (205). Lan ve ark. ise benzene maruz kalan işçilerle, maruz kalmayan kontrol grubunun kandaki beyaz küre sayısını karşılaştırdığı çalışmada, kontrol grubunda rs2287499 bölgesinde üç farklı genotipteki (C/C, C/G, G/G) bireyler arasında fark olmadığını ancak benzene maruz kalan işçilerden G/G genotipine sahip olanların beyaz küre sayısının anlamlı oranda düşük olduğunu rapor etmiştir. Bunu da, *WRAP53* dahil, bazı genlerdeki farklı genotiplerin, benzene bağlı gelişen hematotoksositeye duyarlılığı etkilediği şeklinde yorumlamıştır (206). Bizim çalışmamızda rs2287499 bölgesinde C/C homozigot genotip görülme oranı 0,010,

C/G heterozigot genotip oranı 0,080, G/G homozigot genotip oranı 0,910 olarak bulunmuştur. Sigara kullanan grupta oranlar sırasıyla, 0/0,040/0,960, kullanmayanlarda ise 0,020/0,12/0,86 olarak bulunmuştur. Genel popülasyonda görülen oranlar daha önce yapılmış çalışmalarla uyumluluk göstermemektedir (205, 209-211). Daha önceki çalışmalarda C/C genotipi önemli oranda fazla görülürken (0,665-0,778), bizim çalışmamızda C/C genotipi görülme oranı oldukça düşüktür (0,010). rs2287499 bölgesinde SNP oranı %99 bulunmuştur.

TP53 geninin 4. intronunda yer alan rs2909430'da A bazının yerini G bazı alır. Bu bölgede meydana gelen SNP'lerin 50 yaş altındaki kadınlarda invaziv meme kanseri riskini azalttığı rapor edilmiştir (212). Pineda ve ark. *TP53* geninde yaygın olarak görülen SNPlerin mesane kanseri ile ilişkilerini araştırdıkları çalışmalarında, rs2909430 bölgesinde sağlıklı homozigot genotip görülme oranını 0,727, heterozigot genotip görülme oranını 0,247 ve homozigot polimorfik genotip görülme oranını 0,025 olarak bulmuşlardır. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda rs2909430 bölgesinde görülen SNPlerin mesane kanseri ile ilişkili olmadığını belirtmişlerdir (202). Closas ve ark.'nın çalışmasında bu oranlar, 0,807/0,178/0,015 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, bu bölgede görülen SNPlerin meme kanseri ile ilişkili olmadığı rapor edilmiştir (205). Mechanic ve ark. çalışmasında ise Afro-Amerikan popülasyonda rs2909430 bölgesindeki polimorfizmlerin rs1042522, rs9895829, rs1625895 ve rs12951053 bölgelerindeki polimorfizmlerle beraber görüldüğü durumlarda akciğer kanseri riskinin arttığını ve prognozunun da daha kötü olduğunu rapor etmişlerdir. Beyaz ırkta ise böyle bir durumun olmadığını belirtmişlerdir. Çalışmalarında elde ettikleri oranlar, Afro-Amerikan ve Beyaz ırkta sırasıyla homozigot sağlıklı genotip için 0,530/0,780, heterozigot genotip için 0,400/0,210 ve homozigot polimorfik genotip için 0,070/0,020 olmuştur (213). Bizim çalışmamızda rs2909430 bölgesinde, A/A genotipi 0,660, A/G genotipi 0,320, G/G genotipi ise 0,020 oranında görülmüştür. Sigara kullananlarda bu oranlar sırasıyla 0,720, 0,260 ve 0,020, kullanmayanlarda ise 0,600, 0,380 ve 0,020 olarak bulunmuştur. Çalışmamıza dahil edilen popülasyonda görülen genotip oranları farklı popülasyonlardan elde edilen oranlarla uyumaktadır (202, 205, 212-214). rs2909430 bölgesinde SNP görülme oranı (A/G, G/G) %34'tür.

rs8079544, 1. intronda yer alır. Baz dizisindeki C bazının yerini T bazı alır. rs8079544 üzerinde yapılan az sayıda çalışma sonucunda herhangi bir kanser türüyle ilişkilendirilememiştir. Pineda ve ark., Beyaz Avrupa ırkı üzerinde yaptığı çalışmada sağlıklı popülasyonda sağlıklı homozigot genotip oranını 0,904, heterozigot genotip oranını 0,093 ve homozigot polimorfik genotip oranını 0,003 olarak rapor etmişlerdir. Bu oranlar mesane kanseri teşhisi konmuş hastalarda görülen oranlardan farklı bulunmamıştır (202). Koshiol ve ark. da Human Papilloma Virüs (HPV) enfeksiyonu olan veya servikal intraepitelyal neoplazi görülen hastalardan oluşan popülasyonda sağlıklı homozigot genotip oranını 0,931, heterozigot genotip oranını 0,065 ve homozigot polimorfik genotip oranını da 0,004 olarak rapor etmişlerdir. Bu oranlar sağlıklı hastalarla karşılaştırdığında (0,937/0,061/0,002) istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (214). Bizim çalışmamızda C/C genotipi 0,950, C/T genotipi ise 0,050 oranında görülmüştür. T/T homozigot genotipi görülmemiştir. Sigara kullananlarda C/C genotipi 0,980, C/T genotipi 0,020 oranında, kullanmayanlarda ise C/C genotipi 0,920, C/T genotipi 0,080 oranında görülmüştür. Çalışma popülasyonunda görülen oranlar NCBI dbSNP CAUC1 (Beyaz ırk) popülasyonunda görülen oranlarla uyumludur (215). rs8079544 bölgesinde SNP görülme oranı %5 bulunmuştur.

rs9895829'ta görülen SNP intronik bir polimorfizmdir. *TP53* geninin 4. intronunda meydana gelir. Baz dizisindeki A bazının yerini G bazı alır. Mesane kanseri olan hastalarda, rs9895829 bölgesinde G aleli görülme oranı istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (216). Bizim çalışmamızda rs9895829 bölgesinde A/A genotipi 0,950 (sigara +: 0,980; sigara -: 0,920), A/G genotipi ise 0,050 (sigara +: 0,020; sigara -: 0,080) oranında görülmüştür. Lin ve ark. çalışmasında sağlıklı popülasyonda homozigot sağlıklı genotip 0,904 oranında, heterozigot genotip 0,096 oranında bulunurken, homozigot polimorfik genotip tespit edilmemiştir (216). Bizim çalışmamızın sonuçları, NCBI dbSNP CAUC1 popülasyonunun sonuçlarıyla uyumaktadır (215). rs9895829 bölgesinde SNP görülme oranı %5 bulunmuştur.

rs12947788 bölgesindeki SNP, 7. intronda G bazının yerine A bazının geçmesiyle oluşur. Yapılan çalışmalarda malign plevral mezotelyoma ve akciğer kanseri olan hastalarda rs12947788 bölgesinde SNP görülme oranı daha fazla

bulunmuştur (217). Sprague ve ark., *TP53* polimorfizmleri ile meme kanseri gelişme riskini araştırdıkları çalışmalarında, 7. introndaki polimorfizmlerin meme kanseri riskinde artışa yol açtığını rapor etmişlerdir (212). Kolorektal kanserli vakaların sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışmada ise minör alel olan T alelinin kolorektal kanserli hastalarda daha az görüldüğü ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı belirtilmiştir (218). Bizim çalışmamızda ise, rs12947788 bölgesinde A/A genotipi 0,010 (sigara +: 0; sigara -: 0,020), A/G genotipi 0,140 (sigara +:0,140; sigara -: 0,140), ve G/G genotipi 0,850 oranında görüldü. Bizim çalışmamızdaki dağılım NCBI dbSNP CAUC1 popülasyonunda görülen dağılımla benzer bulunmuştur (215). rs12947788 bölgesinde SNP görülme oranı % 15'tir.

rs12951053, rs12947788 ile beraber 7. intronda yer alır. Bu bölgedeki baz diziliminde yer alan A bazının yerini C bazı alır. rs12951053, yumurtalık kanseri, invaziv meme kanseri, akciğer kanseri, malign plevral mezotelyoma ve servikal kanser ile ilişkili bulunmuştur (201, 212-214, 217). Her ne kadar çalışmamızda elde edilen genotip oranları (A/A=0,850; A/C=0,140; C/C=0,010) literatürde rapor edilen oranlarla uyumlu bulunmuş olsa da, diğer çalışmalarda, çalışmamızdaki A>C değişimi yerine T>G değişimi değerlendirilmiş olduğundan bu çalışmaların sonuçları verilmemiştir (202, 212-214). Sigara kullanımına göre genotip dağılımları sigara kullananlarda A/A= 0,860, A/C= 0,140, C/C= 0; sigara kullanmayanlarda ise A/A= 0,840, A/C= 0,140, C/C= 0,020'dir. rs12951053 bölgesinde SNP görülme oranı %15'tir.

3' UTR'de yer alan rs17880560'ta SNP, baz dizilimine 6bp eklenmesi/silinmesi ile oluşur. rs17880560 bölgesinde tek başına SNP varlığı olan hastalarda ilk kanser teşhisinin konulduğu yaşla, SNP görülmeyen bireylerde ilk kanser teşhisinin konulduğu yaş arasında fark bulunmazken, *TP53* geninin farklı bir bölgesinde germline mutasyon olan bireylerde, rs17880560 bölgesinde SNP varlığı daha ileri yaşlarda kanser başlangıcı ile ilişkilendirilmiştir (219). Bizim çalışmamızda popülasyonda sağlıklı homozigot genotip görülme oranı (CACGGC/CACGGC) 0,090, heterozigot genotip görülme oranı (CACGGC/delCACGGC) 0,310 ve polimorfik genotip görülme oranı da (delCACGGC/delCACGGC) 0,600 bulunmuştur. Sigara kullanma alışkanlığı olanlarda sağlıklı genotip oranı 0,120, heterozigot genotip oranı 0,340 ve polimorfik

genotip oranı 0,540 iken sigara kullanmayanlarda bu oranlar sırasıyla 0,060, 0,280 ve 0,660 olarak bulunmuştur. Bu oranlar literatürdeki oranlardan farklıdır. Ancak bu çalışmada 6 baz çifti silinmesi değil eklenmesi değerlendirilmiştir. rs17880560 bölgesinde SNP oranı %91'dir.

Çalışmada incelenen rs'ler arasında hakkında en az bilgiye sahip olduğumuz bölge rs17551157'dir. *WRAP53* geni bölgesinde yer alır (215). Literatürde farklı hastalıklarla ilişkisi hakkında yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda popülasyonda rs17551157 bölgesinde görülen genotip dağılımı C/C= 0,010, C/delC= 0,090 ve delC/delC= 0,900 şeklinde olmuştur. Sigara kullananlarda bu oranlar sırasıyla 0, 0,060 ve 0,940, kullanmayanlarda ise 0,020, 0,120 ve 0,860 olarak bulunmuştur. rs17551157 bölgesinde SNP görülme oranı %99'dur.

Ağız içinde en sık rastlanan kanser türlerinden biri olan yassı hücreli karsinomun görülme oranları kadınlarda ve erkeklerde aynı değildir. Literatürde yassı hücreli karsinomun erkeklerde kadınlara kıyasla daha çok görüldüğü rapor edilmiştir (10, 220, 221). Sigaranın kanser oluşumu üzerine etkilerini araştıran çalışmalarda, tek başına sigara kullanımının ağız içi yassı hücreli karsinom oluşumunda en önemli faktör olduğu ve yassı hücreli karsinomlarda en sık karşılaşılan genetik bozukluk olan *TP53* geninde mutasyonun sigara kullanımıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (11, 137). Ancak bizim çalışmamızda, rs bölgelerinde izlenen SNPLerin cinsiyete göre dağılımlarının incelenmesi sonucunda, SNP varlığının, sigara kullanma alışkanlığı ve cinsiyetten bağımsız olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara göre popülasyonda görülen genotipler sigara kullanımından ziyade farklı çevresel faktörlere bağlı gelişmiş olabilir. Ayrıca farklı popülasyonlarda genotiplerin görülme oranları farklılık arz edebilmektedir (201, 213). Örneğin Mechanic ve ark., çalışmalarında Beyaz ırkta ve Afro-Amerikan kökenli popülasyonda, rs2909430 bölgesinde SNP oranlarını farklı bulmuştur (213). Dolayısıyla bizim çalışmamızda elde edilen SNP oranlarının ırka bağlı bir özellik olduğu söylenebilir.

Kanser gelişimiyle ilişkilendirilen germline mutasyonların aksine polimorfizmlerin erken yaşta kansere yakalanma riski oluşturma gibi nispeten daha hafif etkiler oluşturmaları beklenir. Ayrıca polimorfizmlerin her popülasyonda aynı

etkileri göstermediği rapor edilmiştir. Örneğin Mechanic ve ark. çalışmasında rs2909430 bölgesindeki SNPlerin Afro-Amerikan popülasyonda akciğer kanseri riskini arttırırken, Beyaz ırkta böyle bir durumun olmadığını belirtmişlerdir (213). Schildkraut ve ark. da, rs12951053 bölgesinde SNP varlığının Hispanik kökenli olmayan Beyaz ırkta olduğu gibi Afrika kökenli Siyah popülasyonda da seröz yumurtalık kanseri riskini arttırdığını ancak rs2287498 bölgesinde SNP varlığının Afrika kökenli Siyah popülasyonda kanser riskini arttırmadığını belirtmişlerdir (204). Bu nedenlerden dolayı *TP53* geni üzerinde tespit edilen SNPlerin büyük çoğunluğunun etkileri tam olarak aydınlatılamamıştır (217).

TP53 geni üzerinde tespit edilen SNPlerin etkilerini araştıran çalışmalardan Andujar ve ark.'nın yaptığı çalışmada, 7. intronda meydana gelen SNPlerin *TP53* mRNA ekspresyonunu etkilemediği belirtilmiştir (217). Bununla beraber *WRAP53* geninin aşırı ekspresyonunun ise p53'ün stabilitesini arttırdığı, böylece dokulardaki p53 protein seviyesinin arttığı, *WRAP53*'ün inhibe olduğu durumlarda ise p53 seviyesinin düştüğü belirtilmiştir (209). Bizim çalışmamızda *WRAP53* bölgesinde yer alan rs2287497, rs2287498 ve rs2287499 bölgelerinde yüksek oranda SNP varlığı tespit edilmiştir. rs2287499 bölgesinde yapılan SNP analizleri daha önceki popülasyon bazlı çalışmaların tam tersi sonuçlar vermiştir (205, 209-211). Bu sonuçlar, p53'ün immunohistokimyasal boyama işleminde tespit edilememesini açıklayabilir. Daha kesin sonuçlar elde etmek için daha geniş bir popülasyonda çalışma tekrarlanmalı ve tespit edilen SNPlerin etkilerini değerlendirmek amacıyla p53 mRNA analizi de çalışmaya dahil edilmelidir.

Asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dişlerin profilaktik çekimi konusunda henüz görüş birliğine varılabilmemiş değildir. Bu dişlerin perikoronar dokularında yapılan histopatolojik incelemeler sonucunda patolojik değişiklikler meydana gelebileceği gösterilmiştir. Bu çalışmalarda en sık rastlanan patoloji olan kist prevalansı %2-50 arasında bulunmuştur (5-7, 44-47). Çalışmalar arasındaki farkın ise kist teşhisi kriterlerindeki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu dişlerdeki malign tümör prevalansı ise %1'den düşük bulunmuştur (6, 44). p53 ve Ki-67 ile yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda da birbiriyle çelişen sonuçlar elde edilmiştir. Bu farklı sonuçların hem kullanılan antikorun çeşidine, hem de dokuların morfolojik özelliklerine bağlı olduğu öne sürülmüştür (45, 50, 57, 59, 61, 77, 157,

194, 195, 197). p53 boyanması tespit edilen çalışmalarda dokuların histolojik incelemelerinde displazi, metaplazi ve enflamasyon izlenmesi bu dişlerin gerçekte asemptomatik olmadığını, patolojik dönüşümün başladığını ancak klinik ve radyografik olarak bulgu vermediğini düşündürmektedir. p53 boyanmasının elde edildiği çalışmalarda öne sürülen bir diğer hipotez, p53'ün sigara gibi kanserojen maddelere maruziyet sonucu mutasyona uğramış olması nedeniyle dokularda birikmiş olabileceğidir. Ancak bizim çalışmamızda elde edilen bulgular ışığında, sağlıklı populasyonda *TP53*'de görülen polimorfizmlerin sigara ve cinsiyetten bağımsız olduğu ancak Isparta bölgesinde yaşayan populasyona veya bu bölgedeki çevresel faktörlere (hava kirliliği, zirai ilaçlar vb.) bağlı olabileceği söylenebilir. Ancak çalışmamızda *TP53* geninin sadece bir bölümünün incelendiği unutulmamalıdır. İleriki çalışmalarda sigaranın bu gen üzerindeki etkisini daha detaylı inceleyebilmek adına, tüm gen dizisinin araştırılmasının daha uygun olacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, sigara kullanımının herhangi bir patolojik dönüşüm riskini arttırdığına dair veya sigara kullanan hastalarda proflaktik çekimin düşünülmesi gerektiğine dair bulgulara rastlanmamıştır. Sonuç olarak asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dişlerinin çekim kararını verirken, dişin klinik ve radyografik değerlendirmesi dikkatli bir şekilde yapılmalıdır. Hasta, sosyokültürel durumu da dikkate alınarak, cerrahi çekimin komplikasyonları hakkında detaylı bir şekilde bilgilendirilmeli, dişin çekilmesi durumunda ne gibi durumlarla karşılaşabileceği, çekilmeden takip edilirse ne gibi sonuçlar doğurabileceği anlatılmalı ve karar hasta ile beraber verilmelidir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda, sigara kullanan ve kullanmayan bireylerin asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dişlerinden elde edilen perikoronar dokularında, Ki-67 boyanması “negatif” bulunmuştur. Bu sonuçlar asemptomatik dişlerin perikoronar folikül hücrelerinde sigaraya bağlı proliferasyonda artış meydana gelmediğini göstermektedir.

Çalışmamızda, sigara kullanan ve kullanmayan bireylerden elde edilen perikoronar foliküllerde p53 boyanması “negatif” bulunmuştur. Çalışmada kullanılan dokuların asemptomatik dişlerden elde edilmiş olması, bu dokularda sigaraya bağlı patoloji meydana gelmemiş olması ve sağlıklı p53 proteininin yarı ömrünün çok kısa olması nedeniyle boyanma sonuçlarının “negatif” bulunduğu düşünülebilir.

TP53 geninin regülatörü olan WRAP53 geninde yüksek oranda SNP tespit edilmiştir. Bu gen üzerinde meydana gelmiş olan SNPlerin TP53 geni üzerindeki etkisi nedeniyle p53 ekspresyonunun durdurduğu ve dokularda p53 birikmesinin önüne geçtiği, bu nedenle p53 boyanmasının “negatif” bulunduğu düşünülebilir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz örnekler üzerinde yapmış olduğumuz DNA analizleri sonucunda, örneklerde yüksek oranda SNP varlığı tespit edildi. Bu varyasyonlar sigara ve cinsiyetten bağımsız bulundu. Bu varyasyonların farklı çevresel faktörlerden kaynaklanıyor olabileceğini veya çalışmaya dahil edilen hasta popülasyonuna özgü bir özellik olabileceği düşünülebilir.

Varyasyonların bir bölümü TP53 geninin negatif regülatörü olan WRAP53 geni üzerinde tespit edildi. TP53 geni üzerinde susturucu etkisi olan WRAP 53 geninde tespit edilen bu varyasyonların p53 proteini sentezlenmesini inhibe etmiş olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar ışığında, asemptomatik tam gömük dişlerin tedavisinde hastanın sosyokültürel durumunu da göz önünde bulundurarak takip edilmesinin ve rutin kontrollerde herhangi bir patolojik değişim gözlemlendiğinde çekim kararının verilmesinin daha uygun olacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda tespit etmiş olduğumuz SNPlerin etkileri tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle çalışmanın, hasta ve sağlıklı bireylerin de dahil

edildiği daha geniş bir populusyonda yapılmasının, histopatolojik değişimlerin etkilerini gormek için histopatolojik incelemenin ve SNPlerin p53 ekspresyonu üzerindeki etkilerinin de incelenebilmesi açısından mRNA analizlerinin de dahil edilmesinin uygun olacağını düşünmekteyiz. Ayrıca sigaranın TP53 geni üzerindeki etkilerinin daha detaylı araştırılabilmesi için tüm gen dizisinin incelenmesinin uygun olacağını düşünmekteyiz.

ÖZET

Asemptomatik Tam Gömük Alt Yirmi Yaş Dişlerinin Foliküllerinde Ki-67 ve P53 Gen Ailesinin Ekspresyonunun ve Mutasyonlarının Değerlendirilmesi

Gömük diş çekimi, özellikle en sık gömük kalan dişler olan alt yirmi yaş dişlerinin çekimi, en çok gerçekleştirilen oral cerrahi işlemdir. Asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dişlerinin çekimi konusunda net bir görüş birliğine varılamamıştır.

Ki-67, farklı hücre popülasyonlarının büyüme hızını yani proliferasyon indeksini belirlemede kullanılmaktadır. p53 ise tümör baskılayıcı bir proteindir. Sağlıklı dokuların tersine, tümör hücrelerinde p53 proteininin ekspresyonu artmaktadır. Bu değişime *TP53* geninde meydana gelen mutasyonların neden olduğu düşünülmektedir.

TP53, kanserlerde en sık mutasyonu gözlenen genidir. Kanserlerde en önemli etyolojik faktörlerden biri olan sigara kullanımı *TP53* geninde mutasyonlara yol açmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, sigara kullanan ve kullanmayan bireylerin, asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dişlerinin perikoronar foliküllerinde p53 ve Ki-67 proteinlerinin ekspresyonlarının karşılaştırılması ve *TP53* ile *TP63* geninde mutasyon varlığının araştırılmasıdır. Çalışmaya 50 sigara kullanan, 50 sigara kullanmayan 100 hastanın asemptomatik tam gömük alt yirmi yaş dişlerinin perikoronar folikülleri dahil edildi. Dokuların bir yarısında, p53 ve Ki-67 antikorları ile immunohistokimyasal boyama yapıldı ve değerlendirildi. Diğer yarı da ise, MALDI-TOF MS yöntemi ile *TP53* ve *TP63* genleri üzerinde belirlenen 29 noktada SNP varlığı araştırıldı.

Çalışmamızda, sigara kullanan ve kullanmayan hastaların perikoronar foliküllerinde, Ki-67 ve p53 proteinlerinin boyanması “negatif” olarak bulundu. Ayrıca yapılan DNA analizlerinde, *TP63* geni üzerinde SNP tespit edilmezken, *TP53* geni üzerinde 10 noktada yüksek oranda SNP varlığı tespit edildi. *TP53* geni üzerinde tespit edilen SNPler sigara kullanımından ve cinsiyetten bağımsız bulundu.

Çalışmamızın sonuçlarına göre, her ne kadar sigaranın genel sağlık açısından bir risk faktörü oluşturduğu biliniyor olsa da, asemptomatik tam gömük dişlerin patolojik dönüşüm riskini arttırdığına dair net bir kanıt bulunamamıştır. *TP53* geninde tespit etmiş olduğumuz varyasyonların sigara kullanımından bağımsız olması da sigaranın bu dişler üzerinde net bir etkisi olduğu görüşünü desteklememektedir. Bu nedenle, bu dişlerin tedavisinde, hastanın sosyokültürel düzeyi göz önünde bulundurularak, takip edilmesi kararı uygun bir seçenek olabilir.

Anahtar Kelimeler: Dental folikül, immunohistokimya, MALDI-TOF MS, PZR, SNP

ABSTRACT

Evaluation of Ki-67 and P53 Expression and Investigation of Mutations of P53 Gene Family Members In Dental Follicles of Asymptomatic Fully Impacted Lower Third Molar Teeth

Extraction of impacted tooth, especially the lower third molars which have highest prevalence of impaction, is the most common surgical procedure performed in oral surgery. There is still an ongoing debate about the extraction of asymptomatic fully impacted lower third molars.

Ki-67 is a proliferation marker protein used to evaluate the proliferative index of various cell populations. p53 is a tumor suppressor protein. Unlike healthy cells, there is an increased expression of p53 in tumor cells. This change in expression is attributed to mutations existing on *TP53* gene.

TP53, is the most commonly mutated gene in cancers. Smoking is one of the major etiological factors in cancers and also causes mutations on *TP53*.

The aim of this study was to evaluate the Ki-67 and p53 protein expression in dental follicles of asymptomatic fully impacted lower third molar teeth of smoking and non smoking patients. Also mutations of *TP53* and *TP63* genes were investigated. Study population comprised 50 smoking and 50 non smoking patients. Dental follicles of asymptomatic fully impacted lower third molar teeth attained from the patients were stained immunohistochemically with Ki-67 and p53 antibodies and staining intensities and patterns of the specimens were evaluated. The other halves of the follicles were investigated with MALDI-TOF MS technique in order to detect SNPs in 29 regions on *TP53* and *TP63* genes.

In our study, Ki-67 and p53 stainings were found to be “negative” in both the study and the control group. The results of DNA analysis detected no SNPs on *TP63* gene while high rates of SNPs were detected on ten regions of *TP53* gene. SNP rates detected on *TP53* gene were found to be independent of smoking habit as well as gender.

Although it is known that smoking has adverse effects on health, in our study, we were unable to find any finding confirming that smoking habit increases pathological transformation risk of asymptomatic fully impacted teeth. Variants detected on *TP53* gene independent of smoking does not support the concept that smoking has direct effects on these teeth. Therefore, when dealing with these teeth, with sociocultural aspects taken into consideration, monitorization can be the treatment of choice.

Keywords: Dental follicle, immunohistochemistry, MALDI-TOF MS, PCR, SNP

KAYNAKLAR

1. Adeyemo WL. Do pathologies associated with impacted lower third molars justify prophylactic removal? A critical review of the literature. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2006;102(4):448-52.
2. Miloro M, Ghali G, Waite P, Larsen P. Peterson's principles of oral and maxillofacial surgery. Miloro M, editor: PMPH-USA; 2004.
3. Chu F, Li T, Lui V, Newsome P, Chow R, Cheung L. Prevalence of impacted teeth and associated pathologies-a radiographic study of the Hong Kong Chinese population. *Hong Kong Medical Journal*. 2003;9(3):158-64.
4. Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan RC. *Oral pathology: clinical pathologic correlations*: Elsevier Health Sciences; 2012.
5. Yildirim G, Ataoglu H, Mihmanli A, Kiziloglu D, Avunduk MC. Pathologic changes in soft tissues associated with asymptomatic impacted third molars. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2008;106(1):14-8.
6. Güven O, Keskin A, Akal ÜK. The incidence of cysts and tumors around impacted third molars. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2000;29(2):131-5.
7. Baykul T, Saglam AA, Aydin U, Basak K. Incidence of cystic changes in radiographically normal impacted lower third molar follicles. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2005;99(5):542-5.
8. Ozarslan SK, Baykul T, Basak K, Kocer G, Tuzum S. Detection of epidermal growth factor receptor intensity in asymptomatic fully impacted lower third molar follicles of smoking and nonsmoking patients. *The Journal of craniofacial surgery*. 2013;24(2):435-8.
9. de Oliveira Semenzati G, de Souza Salgado B, Rocha NS, Michelin Matheus SM, de Carvalho LR, Garcia Martins RH. Histological and immunohistochemical study of the expression of p53 and ki-67 proteins in the mucosa of the tongue, pharynx and larynx of rats exposed to cigarette smoke. *Inhalation toxicology*. 2012;24(11):723-31.
10. Brennan JA, Boyle JO, Koch WM, Goodman SN, Hruban RH, Eby YJ, et al. Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *New England Journal of Medicine*. 1995;332(11):712-7.
11. Choi Sy, Kahyo H. Effect of cigarette smoking and alcohol consumption in the aetiology of cancer of the oral cavity, pharynx and larynx. *International journal of epidemiology*. 1991;20(4):878-85.
12. Cardesa A, Sliotweg PJ. *Pathology of the Head and Neck*: Springer; 2006.

13. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. "Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium. Clinical implications of multicentric origin. *Cancer*. 1953;6(5):963-8.
14. Prasad SHVR. Expression of p53 protein and ki-67 antigen in oral premalignant lesions and oral squamous cell carcinomas: An immunohistochemical study. *Natl J Maxillofac Surg*. 2011;2(1):38-46.
15. Hammas N, Laila C, Youssef ALM, Hind EF, Harmouch T, Siham T, et al. Can p63 serve as a biomarker for giant cell tumor of bone? A Moroccan experience. *Diagnostic pathology*. 2012;7(1):130.
16. Abbas NF, El-Sharkawy SL, Abbas EA, El-Shaer MAM. Immunohistochemical study of p53 and angiogenesis in benign and preneoplastic oral lesions and oral squamous cell carcinoma. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2007;103(3):385-90.
17. Melino G. p63 is a suppressor of tumorigenesis and metastasis interacting with mutant p53. *Cell Death & Differentiation*. 2011;18(9):1487-99.
18. Jiang Y-H, Cheng B, Ge M-H, Zhang G. The prognostic significance of p63 and Ki-67 expression in myoepithelial carcinoma. *Head Neck Oncol*. 2012;4:9.
19. Brown D, Gatter K. Ki67 protein: the immaculate deception? *Histopathology*. 2002;40(1):2-11.
20. Bourdon J-C. p53 Family isoforms. *Current pharmaceutical biotechnology*. 2007;8(6):332.
21. Dötsch V, Bernassola F, Coutandin D, Candi E, Melino G. p63 and p73, the ancestors of p53. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2010;2(9):a004887.
22. Fuchs R. How DNA lesions are turned into mutations within cells? *Oncogene*. 2002;21(58):8957-66.
23. Montelone BA. Mutations, Mutagens, and DNA Repair Outline 1998 [updated 14 June 1999]. Available from: <http://www-personal.ksu.edu/~bethmont/mutdes.html#origins>.
24. Bertram JS. The molecular biology of cancer. *Molecular aspects of medicine*. 2000;21(6):167-223.
25. Ventä I, Turtola L, Ylipaavalniemi P. Change in clinical status of third molars in adults during 12 years of observation. *Journal of oral and maxillofacial surgery*. 1999;57(4):386-9.
26. Kruger E, Thomson WM, Konthasinghe P. Third molar outcomes from age 18 to 26: findings from a population-based New Zealand longitudinal study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2001;92(2):150-5.
27. Ahlqwist M, Gröndahl HG. Prevalence of impacted teeth and associated pathology in middle - aged and older Swedish women. *Community dentistry and oral epidemiology*. 1991;19(2):116-9.

28. Etöz DM, Şekerci Dae, Şişman Y. Türk toplumunda üçüncü molar dişlerin retrospektif radyografik analizi. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi. 2011;2011(3).
29. Stanley H, Alattar M, Collett W, Stringfellow H, Spiegel E. Pathological sequelae of “neglected” impacted third molars. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 1988;17(3):113-7.
30. Yazici DS, Kökden DA, Tank DA. Gömülü Dişler Üzerine Retrospektif Bir Çalışma.
31. von Wowern N, Nielsen HO. The fate of impacted lower third molars after the age of 20. A four-year clinical follow-up. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 1989;18(5):277-80.
32. Punwutikorn J, Waikakul A, Ochareon P. Symptoms of unerupted mandibular third molars. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 1999;87(3):305-10.
33. Akarşlan ZZ, Kocabay C. Assessment of the associated symptoms, pathologies, positions and angulations of bilateral occurring mandibular third molars: Is there any similarity? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2009;108(3):e26-e32.
34. Knutsson K, Brehmer B, Lysell L, Rohlin M. Pathoses associated with mandibular third molars subjected to removal. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 1996;82(1):10-7.
35. Osborn TP, Frederickson Jr G, Small IA, Torgerson TS. A prospective study of complications related to mandibular third molar surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1985;43(10):767-9.
36. Nitzan D, Keren T, Marmary Y. Does an impacted tooth cause root resorption of the adjacent one? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1981;51(3):221-4.
37. Venta I, Turtola L, Ylipaavalniemi P. Radiographic follow-up of impacted third molars from age 20 to 32 years. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2001;30(1):54-7.
38. Kandasamy S, Rinchuse DJ, Rinchuse DJ. The wisdom behind third molar extractions. *Aust Dent J*. 2009;54(4):284-92.
39. Friedman JW. Containing the cost of third-molar extractions: a dilemma for health insurance. *Public Health Reports*. 1983;98(4):376.
40. Iida S, Nomura K, Okura M, Kogo M. Influence of the incompletely erupted lower third molar on mandibular angle and condylar fractures. *Journal of Trauma-Injury, Infection, and Critical Care*. 2004;57(3):613-7.
41. Zhu S-J, Choi B-H, Kim H-J, Park W-S, Huh J-Y, Jung J-H, et al. Relationship between the presence of unerupted mandibular third molars and fractures of the mandibular condyle. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2005;34(4):382-5.

42. Dicus-Brookes C, Partrick M, Blakey GH, 3rd, Faulk-Eggleston J, Offenbacher S, Phillips C, et al. Removal of symptomatic third molars may improve periodontal status of remaining dentition. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2013;71(10):1639-46.
43. Sidow SJ, West LA, Liewehr FR, Loushine RJ. Root Canal Morphology of Human Maxillary and Mandibular Third Molars. *Journal of Endodontics*. 2000;26(11):675-8.
44. Curran AE, Damm DD, Drummond JF. Pathologically significant pericoronal lesions in adults: Histopathologic evaluation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2002;60(6):613-7.
45. Adelsperger J, Campbell JH, Coates DB, Summerlin D-J, Tomich CE. Early soft tissue pathosis associated with impacted third molars without pericoronal radiolucency. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2000;89(4):402-6.
46. Glosser J, Campbell J. Pathologic change in soft tissues associated with radiographically 'normal' third molar impactions. *British journal of oral and maxillofacial surgery*. 1999;37(4):259-60.
47. Saravana GH, Subhashraj K. Cystic changes in dental follicle associated with radiographically normal impacted mandibular third molar. *The British journal of oral & maxillofacial surgery*. 2008;46(7):552-3.
48. Chuang SK, Perrott DH, Susarla SM, Dodson TB. Age as a risk factor for third molar surgery complications. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2007;65(9):1685-92.
49. de Oliveira DM, de Souza Andrade ES, Da Silveira M, Camargo IB. Correlation of the radiographic and morphological features of the dental follicle of third molars with incomplete root formation. *Int J Med Sci*. 2008;5(1):36-40.
50. Villalba L, Stolbizer F, Blasco F, Mauriño NR, Piloni MJ, Keszler A. Pericoronal follicles of asymptomatic impacted teeth: a radiographic, histomorphologic, and immunohistochemical study. *International journal of dentistry*. 2012;2012.
51. da Silva Baumgart C, da Silva Lauxen I, Filho MS, de Quadros OF. Epidermal growth factor receptor distribution in pericoronal follicles: relationship with the origin of odontogenic cysts and tumors. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2007;103(2):240-5.
52. Leitner C, Hoffmann J, Krober S, Reinert S. Low-grade malignant fibrosarcoma of the dental follicle of an unerupted third molar without clinical evidence of any follicular lesion. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 2007;35(1):48-51.

53. Farah C, Savage N. Pericoronal radiolucencies and the significance of early detection. *Australian dental journal*. 2002;47(3):262-5.
54. Simsek-Kaya G, Ozbek E, Kalkan Y, Yapici G, Dayi E, Demirci T. Soft tissue pathosis associated with asymptomatic impacted lower third molars. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal*. 2011:e929-e36.
55. Godoy GP, da Silveira EJ, Lins RD, de Souza LB, de Almeida Freitas R, Queiroz LM. Immunohistochemical profile of integrins in enlarged dental follicles and dentigerous cysts. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2007;104(6):e29-34.
56. Slater LJ. Dentigerous cyst versus dental follicle. *The British journal of oral & maxillofacial surgery*. 2000;38(4):402.
57. Matsumoto MA, Filho HN, Jorge FM, Salvadori DM, Marques ME, Ribeiro DA. Expression of cell cycle regulatory proteins in epithelial components of dental follicles. *J Mol Histol*. 2006;37(3-4):127-31.
58. Güler N, Çomunoğlu N, Cabbar F. Ki-67 and MCM-2 in dental follicle and odontogenic cysts: the effects of inflammation on proliferative markers. *The Scientific World Journal*. 2012;2012.
59. Cabbar F, Guler N, Comunoglu N, Sencift K, Cologlu S. Determination of potential cellular proliferation in the odontogenic epithelia of the dental follicle of the asymptomatic impacted third molars. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2008;66(10):2004-11.
60. Brkic A, Mutlu S, Kocak-Berberoglu H, Olgac V. Pathological changes and immunoexpression of p63 gene in dental follicles of asymptomatic impacted lower third molars: an immunohistochemical study. *The Journal of craniofacial surgery*. 2010;21(3):854-7.
61. Toptaş O. Sigara İçen ve İçmeyen Bireylerin Tam Gömük Yirmi Yaş Dişi Perikoronar Dokularında Ki67 ve p53 Proteinleri Varlığının Karşılaştırılması [Project Thesis]: T.C Süleyman Demirel Üniversitesi; 2010.
62. Brown D, Gatter K. Monoclonal antibody Ki - 67: its use in histopathology. *Histopathology*. 1990;17(6):489-503.
63. Schluter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Becker M, Key G, Flad H-D, et al. The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67: a very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle-maintaining proteins. *J Cell Biol*. 1993;123(3):513-22.
64. Bullwinkel J, Baron - Lühr B, Lüdemann A, Wohlenberg C, Gerdes J, Scholzen T. Ki - 67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. *Journal of cellular physiology*. 2006;206(3):624-35.
65. Verheijen R, Kuijpers H, Van Driel R, Beck J, Van Dierendonck J, Brakenhoff G, et al. Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferation-related antigen. II. Localization in mitotic cells and association with chromosomes. *Journal of cell science*. 1989;92(4):531-40.

66. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 1983;31(1):13-20.
67. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker H-H, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *The Journal of Immunology*. 1984;133(4):1710-5.
68. Bridger JM, Kill IR, Lichter P. Association of pKi-67 with satellite DNA of the human genome in early G1 cells. *Chromosome Research*. 1998;6(1):13-24.
69. MacCallum DE, Hall PA. The location of pKi67 in the outer dense fibrillary compartment of the nucleolus points to a role in ribosome biogenesis during the cell division cycle. *The Journal of pathology*. 2000;190(5):537-44.
70. Raybaud-Diogene H, Fortin A, Morency R, Roy J, Monteil R, Tetu B. Markers of radioresistance in squamous cell carcinomas of the head and neck: a clinicopathologic and immunohistochemical study. *Journal of clinical oncology*. 1997;15(3):1030-8.
71. Cattoretti G, Becker MH, Key G, Duchrow M, Schlüuter C, Galle J, et al. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki - 67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave - processed formalin - fixed paraffin sections. *The Journal of pathology*. 1992;168(4):357-63.
72. Rose D, Maddox P, Brown D. Which proliferation markers for routine immunohistology? A comparison of five antibodies. *Journal of clinical pathology*. 1994;47(11):1010-4.
73. Liu SC, Klein-Szanto A. Markers of proliferation in normal and leukoplakic oral epithelia. *Oral oncology*. 2000;36(2):145-51.
74. Macluskey M, Ogden G, Green M, Chisholm D, Schor S, Schor A. The association between epithelial proliferation and disease progression in the oral mucosa. *Oral oncology*. 1999;35(4):409-14.
75. T. Takeda KS, Y. Hirayama, M. Hirano, J-I. Tanuma, I. Semba. Immunohistological evaluation of Ki-67, p63, CK19 and p53 expression in oral epithelial dysplasias. *J Oral Pathol Med* 2006;35:369-75.
76. de Oliveira MG, Lauxen Ida S, Chaves AC, Rados PV, Sant'Ana Filho M. Odontogenic epithelium: immunolabeling of Ki-67, EGFR and survivin in pericoronal follicles, dentigerous cysts and keratocystic odontogenic tumors. *Head Neck Pathol*. 2011;5(1):1-7.
77. Saracoglu U, Kurt B, Gunhan O, Guven O. MIB-1 expression in odontogenic epithelial rests, epithelium of healthy oral mucosa and epithelium of selected odontogenic cysts. An immunohistochemical study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2005;34(4):432-5.
78. Belyi VA, Ak P, Markert E, Wang H, Hu W, Puzio-Kuter A, et al. The origins and evolution of the p53 family of genes. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2010;2(6):a001198.

79. Suh E-K, Yang A, Kettenbach A, Bamberger C, Michaelis AH, Zhu Z, et al. p63 protects the female germ line during meiotic arrest. *Nature*. 2006;444(7119):624-8.
80. Cooper GM. *Oncogenes*: Jones & Bartlett Learning; 1995.
81. Nylander K, Dabelsteen E, Hall PA. The p53 molecule and its prognostic role in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Journal of oral pathology & medicine*. 2000;29(9):413-25.
82. Maltzman W, Czyzyk L. UV irradiation stimulates levels of p53 cellular tumor antigen in nontransformed mouse cells. *Molecular and Cellular Biology*. 1984;4(9):1689-94.
83. R. Aloni-Grinstein YS, T. Kaufman, V. Rotter. p53: The barrier to cancer stem cell formation. *FEBS Lett*. 2014.
84. Vousden KH, Lane DP. p53 in health and disease. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2007;8(4):275-83.
85. Lassus P, Ferlin M, Piette J, Hibner U. Anti-apoptotic activity of low levels of wild-type p53. *The EMBO journal*. 1996;15(17):4566.
86. Bensaad K, Vousden KH. Savior and slayer: the two faces of p53. *Nature medicine*. 2005;11(12):1278-9.
87. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: Signaling for suicide and survival*. *Journal of cellular physiology*. 2002;192(1):1-15.
88. Pirollo KF, Hao Z, Rait A, Jang Y-J, Fee Jr WE, Ryan P, et al. p53 mediated sensitization of squamous cell carcinoma of the head and neck to radiotherapy. *Oncogene*. 1997;14(14):1735-46.
89. Bunz F, Hwang PM, Torrance C, Waldman T, Zhang Y, Dillehay L, et al. Disruption of p53 in human cancer cells alters the responses to therapeutic agents. *The Journal of clinical investigation*. 1999;104(3):263-9.
90. Blandino G, Levine AJ, Oren M. Mutant p53 gain of function: differential effects of different p53 mutants on resistance of cultured cells to chemotherapy. *Oncogene*. 1999;18(2):477-85.
91. Kusama K, Okutsu S, Takeda A, Himiya T, Kojima A, Kidokoro Y, et al. p53 gene alterations and p53 protein in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. *The Journal of pathology*. 1996;178(4):415-21.
92. Ashcroft M, Vousden KH. Regulation of p53 stability. *Oncogene*. 1999;18(53):7637-43.
93. Warnakulasuriya K, Johnson N. Expression of p53 mutant nuclear phosphoprotein in oral carcinoma and potentially malignant oral lesions. *Journal of oral pathology & medicine*. 1992;21(9):404-8.
94. Ebrahimi M, Boldrup L, Coates PJ, Wahlin Y-B, Bourdon J-C, Nylander K. Expression of novel p53 isoforms in oral lichen planus. *Oral oncology*. 2008;44(2):156-61.

95. Nasser W, Flechtenmacher C, Holzinger D, Hofele C, Bosch FX. Aberrant expression of p53, p16INK4a and Ki - 67 as basic biomarker for malignant progression of oral leukoplakias. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 2011;40(8):629-35.
96. Gadbail A, Chaudhary M, Patil S, Gawande M. Actual proliferating index and p53 protein expression as prognostic marker in odontogenic cysts. *Oral Diseases*. 2009;15(7):490-8.
97. Hall P, McKee P, Menage H, Dover R, Lane D. High levels of p53 protein in UV-irradiated normal human skin. *Oncogene*. 1993;8(1):203-7.
98. Ranasinghe A, MacGeoch C, Dyer S, Spurr N, Johnson N. Some oral carcinomas from Sri Lankan betel/tobacco chewers overexpress p53 oncoprotein but lack mutations in exons 5-9. *Anticancer research*. 1992;13(6A):2065-8.
99. Prives C, Hall PA. The p53 pathway. *The Journal of pathology*. 1999;187(1):112-26.
100. Kubbutat MHG, Vousden KH. Keeping an old friend under control: regulation of p53 stability. *Molecular Medicine Today*. 1998;4(6):250-6.
101. Boldrup L, Bourdon J-C, Coates PJ, Sjöström B, Nylander K. Expression of p53 isoforms in squamous cell carcinoma of the head and neck. *European Journal of Cancer*. 2007;43(3):617-23.
102. Vered M, Allon I, Dayan D. Maspin, p53, p63, and Ki - 67 in epithelial lesions of the tongue: from hyperplasia through dysplasia to carcinoma. *Journal of oral pathology & medicine*. 2009;38(3):314-20.
103. Shetty S, Krishnapillai R, Prabhu S. Assessment and comparison of p53 and p63 expression in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. *SRM Journal of Research in Dental Sciences*. 2014;5(3):149.
104. Kumar P, Kane S, Rathod GP. Coexpression of p53 and Ki 67 and lack of c-erbB2 expression in oral leukoplakias in India. *Brazilian oral research*. 2012;26(3):228-34.
105. Sittel C, Ruiz S, Volling P, Kvasnicka H, Jungehülsing M, Eckel H. Prognostic significance of Ki-67 (MIB1), PCNA and p53 in cancer of the oropharynx and oral cavity. *Oral oncology*. 1999;35(6):583-9.
106. Kannan S, Chandran GJ, Pillai KR, Mathew B, Sujathan K, Nalinakumary K, et al. Expression of p53 in leukoplakia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa: correlation with expression of Ki67. *Clinical molecular pathology*. 1996;49(3):M170-M5.
107. S. Humayun VRP. Expression of p53 protein and ki-67 antigen in oral premalignant lesions and oral squamous cell carcinomas: An immunohistochemical study. *Natil J Maxillofac Surg*. 2011;2(1):38-46.

108. Yemelyanova A, Vang R, Kshirsagar M, Lu D, Marks MA, Shih IM, et al. Immunohistochemical staining patterns of p53 can serve as a surrogate marker for TP53 mutations in ovarian carcinoma: an immunohistochemical and nucleotide sequencing analysis. *Modern Pathology*. 2011;24(9):1248-53.
109. Salehinejad J, Zare-Mahmoodabadi R, Saghafi S, Jafarian A-H, Ghazi N, Rajaei A-R, et al. Immunohistochemical detection of p53 and PCNA in ameloblastoma and adenomatoid odontogenic tumor. *Journal of oral science*. 2011;53(2):213-7.
110. Malčić A, Jukić S, Anić I, Pavelić B, Kapitanović S, Krušlin B, et al. Alterations of FHIT and P53 genes in keratocystic odontogenic tumor, dentigerous and radicular cyst. *Journal of oral pathology & medicine*. 2008;37(5):294-301.
111. Finlan LE, Hupp TR. p63: the phantom of the tumor suppressor. *CELL CYCLE-LANDES BIOSCIENCE*-. 2007;6(9):1062.
112. Laurikkala J, Mikkola ML, James M, Tummers M, Mills AA, Thesleff I. p63 regulates multiple signalling pathways required for ectodermal organogenesis and differentiation. *Development*. 2006;133(8):1553-63.
113. Yang A, Schweitzer R, Sun D, Kaghad M, Walker N, Bronson RT, et al. p63 is essential for regenerative proliferation in limb, craniofacial and epithelial development. *Nature*. 1999;398(6729):714-8.
114. Mills AA, Zheng B, Wang X-J, Vogel H, Roop DR, Bradley A. p63 is a p53 homologue required for limb and epidermal morphogenesis. *Nature*. 1999;398(6729):708-13.
115. Lee H, Kimelman D. A dominant-negative form of p63 is required for epidermal proliferation in zebrafish. *Developmental cell*. 2002;2(5):607-16.
116. Senoo M, Pinto F, Crum CP, McKeon F. p63 Is essential for the proliferative potential of stem cells in stratified epithelia. *Cell*. 2007;129(3):523-36.
117. Nylander K, Vojtesek B, Nenutil R, Lindgren B, Roos G, Zhanxiang W, et al. Differential expression of p63 isoforms in normal tissues and neoplastic cells. *The Journal of Pathology*. 2002;198(4):417-27.
118. K. L. Schavolt JAP. p53 and DNp63a differentially bind and regulate target genes involved in cell cycle arrest, DNA repair and apoptosis. *Oncogene*. 2007;26:6125-32.
119. Lee H-o, Lee J-H, Choi E, Seol JY, Yun Y, Lee H. A dominant negative form of p63 inhibits apoptosis in a p53-independent manner. *Biochemical and biophysical research communications*. 2006;344(1):166-72.
120. Xiaorong Li JC, Yong Yi, Chenghua Li, Yujun Zhang. DNA damage down-regulates DNp63a and induces apoptosis independent of wild type p53. *Biochemical and biophysical research communications*. 2012;423:338-43.
121. Choi W, Shah JB, Tran M, Svatek R, Marquis L, Lee I-L, et al. p63 expression defines a lethal subset of muscle-invasive bladder cancers. *PLoS One*. 2012;7(1):e30206.

122. P. Saintigny AKE-N, V. Papadimitrakopoulou, H. Ren, Y.H. Fan, L. Feng, J.J. Lee, E.S. Kim, W.K. Hong, S.M. Lippman, L. Mao. DNp63 overexpression, alone and in combination with other biomarkers, predicts the development of oral cancer in patients with leukoplakia. *Clin Cancer Res.* 2009;15(19):6284-91.
123. Nekulova M, Holcakova J, Nenutil R, Stratmann R, Bouchalova P, Müller P, et al. Characterization of specific p63 and p63-N-terminal isoform antibodies and their application for immunohistochemistry. *Virchows Archiv.* 2013;463(3):415-25.
124. Routh HB, Bhowmik KR, Parish JL, Parish LC. Historical aspects of tobacco use and smoking. *Clinics in dermatology.* 1998;16(5):539-44.
125. Lanata SC, editor Tobacco from medicinal use to substance abuse. *Seminars in Integrative Medicine;* 2005: WB Saunders.
126. Smith C, Perfetti T, Garg R, Hansch C. IARC carcinogens reported in cigarette mainstream smoke and their calculated log₁₀ P values. *Food and Chemical Toxicology.* 2003;41(6):807-17.
127. Pryor WA. Cigarette smoke radicals and the role of free radicals in chemical carcinogenicity. *Environmental health perspectives.* 1997;105(Suppl 4):875.
128. McDaniel JC, Browning KK. Smoking, Chronic Wound Healing, and Implications for Evidence-Based Practice. *Journal of Wound Ostomy & Continence Nursing.* 2014;41(5):415-23.
129. Hang B. Formation and repair of tobacco carcinogen-derived bulky DNA adducts. *Journal of nucleic acids.* 2010;2010.
130. Sleiman M, Gundel LA, Pankow JF, Jacob P, Singer BC, Destailats H. Formation of carcinogens indoors by surface-mediated reactions of nicotine with nitrous acid, leading to potential thirdhand smoke hazards. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2010;107(15):6576-81.
131. Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute.* 1999;91(14):1194-210.
132. Pfeifer GP, Denissenko MF, Olivier M, Tretyakova N, Hecht SS, Hainaut P. Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers. *Oncogene.* 2002;21(48):7435.
133. Allam E, Zhang W, Zheng C, Gregory RL, Windsor LJ. Smoking and oral health. *Cigarette Smoke Toxicity: Linking Individual Chemicals to Human Diseases.* 2011:257-80.
134. Little J, Cardy A, Munger RG. Tobacco smoking and oral clefts: a meta-analysis. *Bulletin of the World Health Organization.* 2004;82(3):213-8.
135. Petersen PE. Tobacco and oral health-the role of the World Health Organization. *Oral Health and Preventive Dentistry.* 2003;1(4):309-16.

136. Sørensen LT, Zillmer R, Ågren M, Ladelund S, Karlsmark T, Gottrup F. Effect of smoking, abstinence, and nicotine patch on epidermal healing and collagenase in skin transudate. *Wound Repair and Regeneration*. 2009;17(3):347-53.
137. de Almeida AÁ, Bandeira CM, Gonçalves AJ, Araújo AJ. Nicotine dependence and smoking habits in patients with head and neck cancer. *J Bras Pneumol*. 2014;40(3):286-93.
138. Chang SS, Jiang WW, Smith I, Glazer C, Sun WY, Mithani S, et al. Chronic cigarette smoke extract treatment selects for apoptotic dysfunction and mitochondrial mutations in minimally transformed oral keratinocytes. *International Journal of Cancer*. 2010;126(1):19-27.
139. Collins FS, Brooks LD, Chakravarti A. A DNA Polymorphism Discovery Resource for Research on Human Genetic Variation. *Genome Research*. 1998;8(12):1229-31.
140. Melino G, De Laurenzi V, Vousden KH. p73: Friend or foe in tumorigenesis. *Nature Reviews Cancer*. 2002;2(8):605-15.
141. Ögmundsdóttir HM, Hilmarsdóttir H, Ástvaldsdóttir Á, Jóhannsson JH, Holbrook WP. Oral lichen planus has a high rate of TP53 mutations. A study of oral mucosa in Iceland. *European journal of oral sciences*. 2002;110(3):192-8.
142. Shahnavaiz S, Regezi J, Bradley G, Dube I, Jordan R. p53 gene mutations in sequential oral epithelial dysplasias and squamous cell carcinomas. *The Journal of pathology*. 2000;190(4):417-22.
143. Nodit L, Barnes L, Childers E, Finkelstein S, Swalsky P, Hunt J. Allelic loss of tumor suppressor genes in ameloblastic tumors. *Modern pathology*. 2004;17(9):1062-7.
144. Ögmundsdóttir H, Björnsson J, Holbrook W. Role of TP53 in the progression of pre - malignant and malignant oral mucosal lesions. A follow - up study of 144 patients. *Journal of oral pathology & medicine*. 2009;38(7):565-71.
145. Gomes CC, Fonseca-Silva T, Gomez RS. Evidence for loss of heterozygosity (LOH) at chromosomes 9p and 17p in oral granular cell tumors: a pilot study. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. 2013;115(2):249-53.
146. Cox DP. p53 expression and mutation analysis of odontogenic cysts with and without dysplasia. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. 2012;113(1):90-8.
147. Soussi T, Bérout C. Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome. *Nature Reviews Cancer*. 2001;1(3):233-9.
148. Mizuno H, Spike BT, Wahl GM, Levine AJ. Inactivation of p53 in breast cancers correlates with stem cell transcriptional signatures. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(52):22745-50.
149. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature*. 1991;351(6326):453-6.

150. Takami H, Yoshida A, Fukushima S, Arita H, Matsushita Y, Nakamura T, et al. Revisiting TP53 mutations and immunohistochemistry—a comparative study in 157 diffuse gliomas. *Brain Pathology*. 2014.
151. Soussi T, Lozano G. p53 mutation heterogeneity in cancer. *Biochemical and biophysical research communications*. 2005;331(3):834-42.
152. Lane DP, Hupp TR. Drug discovery and p53. *Drug discovery today*. 2003;8(8):347-55.
153. Olive KP, Tuveson DA, Ruhe ZC, Yin B, Willis NA, Bronson RT, et al. Mutant p53 Gain of Function in Two Mouse Models of Li-Fraumeni Syndrome. *Cell*. 2004;119(6):847-60.
154. Donehower LA, Lozano G. 20 years studying p53 functions in genetically engineered mice. *Nature Reviews Cancer*. 2009;9(11):831-41.
155. Petitjean A, Mathe E, Kato S, Ishioka C, Tavtigian SV, Hainaut P, et al. Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database. *Human mutation*. 2007;28(6):622-9.
156. Chakrobarty B, Roy J, Majumdar S, Uppala D. Relationship among tobacco habits, human papilloma virus (HPV) infection, p53 polymorphism/mutation and the risk of oral squamous cell carcinoma. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2014;18(2):211.
157. Field J, Spandidos D, Malliri A, Gosney J, Yiagnisis M, Stell P. Elevated P53 expression correlates with a history of heavy smoking in squamous cell carcinoma of the head and neck. *British journal of cancer*. 1991;64(3):573.
158. Sharan RN, Mehrotra R, Choudhury Y, Asotra K. Association of betel nut with carcinogenesis: revisit with a clinical perspective. *PloS one*. 2012;7(8):e42759.
159. Field JK, Zoumpourlis V, Spandidos DA, Jones AS. p53 expression and mutations in squamous cell carcinoma of the head and neck: expression correlates with the patients' use of tobacco and alcohol. *Cancer detection and prevention*. 1994;18(3):197-208.
160. Urashima M, Hama T, Suda T, Suzuki Y, Ikegami M, Sakanashi C, et al. Distinct Effects of Alcohol Consumption and Smoking on Genetic Alterations in Head and Neck Carcinoma. *PLoS ONE*. 2013;8(11):e80828.
161. Hsieh L-L, Wang P-F, Chen I-H, Liao C-T, Wang H-M, Chen M-C, et al. Characteristics of mutations in the p53 gene in oral squamous cell carcinoma associated with betel quid chewing and cigarette smoking in Taiwanese. *Carcinogenesis*. 2001;22(9):1497-503.
162. Feng Z, Hu W, Hu Y, Tang M-s. Acrolein is a major cigarette-related lung cancer agent: Preferential binding at p53 mutational hotspots and inhibition of DNA repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(42):15404-9.
163. Weber A, Bellmann U, Bootz F, Wittekind C, Tannapfel A. Expression of p53 and its homologues in primary and recurrent squamous cell carcinomas of the head and neck. *International journal of cancer*. 2002;99(1):22-8.

164. Flores ER, Sengupta S, Miller JB, Newman JJ, Bronson R, Crowley D, et al. Tumor predisposition in mice mutant for *p63* and *p73*: Evidence for broader tumor suppressor functions for the *p53* family. *Cancer cell*. 2005;7(4):363-73.
165. Rocco JW, Leong C-O, Kuperwasser N, DeYoung MP, Ellisen LW. p63 mediates survival in squamous cell carcinoma by suppression of p73-dependent apoptosis. *Cancer cell*. 2006;9(1):45-56.
166. Stransky N, Egloff AM, Tward AD, Kostic AD, Cibulskis K, Sivachenko A, et al. The Mutational Landscape of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Science*. 2011;333(6046):1157-60.
167. Lo Muzio L, Santarelli A, Caltabiano R, Rubini C, Pieramici T, Fior A, et al. p63 expression in odontogenic cysts. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2005;34(6):668-73.
168. Chen Y-K, Hsue S-S, Lin L-M. Expression of p63 (TA and Δ N isoforms) in human primary well differentiated buccal carcinomas. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2004;33(5):493-7.
169. Haniffa AM, Saitoh M, Abiko Y, Takeshima M, Nishimura M, Yamazaki M, et al. Expression pattern of p63 in oral epithelial lesions and submucous fibrosis associated with betel-quid chewing in Sri Lanka. *Medical molecular morphology*. 2007;40(4):203-7.
170. Kövesi G, Szende B. Prognostic value of cyclin D1, p27, and p63 in oral leukoplakia. *Journal of oral pathology & medicine*. 2006;35(5):274-7.
171. Lo Muzio L, Santarelli A, Caltabiano R, Rubini C, Pieramici T, Giannone N, et al. p63 expression correlates with pathological features and biological behaviour of odontogenic tumours. *Histopathology*. 2006;49(2):211-4.
172. McPherson MJ, Moller SG. *Understanding PCR*. PCR. Oxford, GBR: BIOS Scientific Publishers Ltd; 2000.
173. Pourzand C, Cerutti P. Genotypic mutation analysis by RFLP/PCR. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 1993;288(1):113-21.
174. Jarcho J. Restriction fragment length polymorphism analysis. *Current protocols in human genetics / editorial board, Jonathan L Haines [et al]. Chapter 2*. 2008/04/23 ed2001. p. Unit 2.7.
175. Mitra S, Sikdar N, Misra C, Gupta S, Paul RR, Roy B, et al. Risk assessment of p53 genotypes and haplotypes in tobacco-associated leukoplakia and oral cancer patients from eastern India. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2005;117(5):786-93.
176. Demirjian A, Goldstein H, Tanner J. A new system of dental age assessment. *Human biology*. 1973:211-27.
177. Juodzbalys G, Daugela P. Mandibular third molar impaction: review of literature and a proposal of a classification. *Journal of oral & maxillofacial research*. 2013;4(2).

178. Meert AP, Feoli F, Martin B, Verdebout JM, Mascaux C, Verhest A, et al. Ki67 expression in bronchial preneoplastic lesions and carcinoma in situ defined according to the new 1999 WHO/IASLC criteria: a preliminary study. *Histopathology*. 2004;44(1):47-53.
179. Almendros-Marqués N, Alaejos-Algarra E, Quinteros-Borgarello M, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C. Factors influencing the prophylactic removal of asymptomatic impacted lower third molars. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2008;37(1):29-35.
180. Wali GG, Sridhar V, Shyla HN. A study on dentigerous cystic changes with radiographically normal impacted mandibular third molars. *Journal of maxillofacial and oral surgery*. 2012;11(4):458-65.
181. Friedman JW. The prophylactic extraction of third molars: a public health hazard. *American journal of public health*. 2007;97(9):1554.
182. Kotrashetti VS, Kale AD, Bhalaerao SS, Hallikeremath SR. Histopathologic changes in soft tissue associated with radiographically normal impacted third molars. *Indian Journal of Dental Research*. 2010;21(3):385.
183. Scholzen T, Gerdes J. The Ki - 67 protein: from the known and the unknown. *Journal of cellular physiology*. 2000;182(3):311-22.
184. Slade N, Moll U. Mutational Analysis of p53 in Human Tumors. In: Deb S, Deb S, editors. *p53 Protocols. Methods in Molecular Biology*. 234: Springer New York; 2003. p. 231-43.
185. Baweja P, Monappa V, Krishnanand G. P53 Immunohistochemical Staining Patterns in Benign, Premalignant and Malignant Lesions of the Oral Cavity: A Study of 68 Cases. *Journal of Interdisciplinary Histopathology*. 2013;1(3):113-20.
186. Kumamoto H, Izutsu T, Ohki K, Takahashi N, Ooya K. p53 gene status and expression of p53, MDM2, and p14ARF proteins in ameloblastomas. *Journal of oral pathology & medicine*. 2004;33(5):292-9.
187. Cruz IB, Meijer CJ, Snijders PJ, Snow GB, Walboomers JM, van der Waal I. p53 immunoreactivity in non - malignant oral mucosa adjacent to oral squamous cell carcinoma: potential consequences for clinical management. *The Journal of pathology*. 2000;191(2):132-7.
188. Valente G, Pagano M, Carrozzo M, Carbone M, Bobba V, Palestro G, et al. Sequential immunohistochemical p53 expression in biopsies of oral lichen planus undergoing malignant evolution. *Journal of oral pathology & medicine*. 2001;30(3):135-40.
189. Levine AJ. p53, the Cellular Gatekeeper for Growth and Division. *Cell*. 1997;88(3):323-31.
190. Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature*. 1992;358(6381):15-6.
191. Slootweg PJ. p53 protein and Ki - 67 reactivity in epithelial odontogenic lesions. An immunohistochemical study. *Journal of oral pathology & medicine*. 1995;24(9):393-7.

192. Baas IO, Van Den Berg FM, Mulder JWR, Clement MJ, Slebos RJ, Hamilton SR, et al. Potential False-Positive Results With Antigen Enhancement For Immunohistochemistry of the p53 Gene Product in Colorectal Neoplasms. *The Journal of pathology*. 1996;178(3):264-7.
193. Kushner J, Bradley G, Jordan RC. Patterns of p53 and Ki - 67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *The Journal of pathology*. 1997;183(4):418-23.
194. Edamatsu M, Kumamoto H, Ooya K, Echigo S. Apoptosis-related factors in the epithelial components of dental follicles and dentigerous cysts associated with impacted third molars of the mandible. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2005;99(1):17-23.
195. Kaur J, Srivastava A, Ralhan R. Overexpression of p53 protein in betel - and tobacco - related human oral dysplasia and squamous - cell carcinoma in India. *International journal of cancer*. 1994;58(3):340-5.
196. Ralhan R, Agarwal S, Nath N, Mathur M, Wasylyk B, Srivastava A. Correlation between p53 gene mutations and circulating antibodies in betel-and tobacco-consuming North Indian population. *Oral oncology*. 2001;37(3):243-50.
197. Nylander K, Coates PJ, Hall PA. Characterization of the expression pattern of p63 α and δ p63 α in benign and malignant oral epithelial lesions. *International Journal of Cancer*. 2000;87(3):368-72.
198. Olivier M, Eeles R, Hollstein M, Khan MA, Harris CC, Hainaut P. The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users. *Hum Mutat*. 2002;19(6):607-14.
199. Whibley C, Pharoah PDP, Hollstein M. p53 polymorphisms: cancer implications. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(2):95-107.
200. Kitts A PL, Ward M, et al. The Database of Short Genetic Variation (dbSNP): Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2013-; 30 Jun 2013. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK174586/>.
201. Schildkraut JM, Iversen ES, Wilson MA, Clyde MA, Moorman PG, Palmieri RT, et al. Association between DNA damage response and repair genes and risk of invasive serous ovarian cancer. *PLoS One*. 2010;5(4):e10061.
202. Pineda S, Milne RL, Calle ML, Rothman N, de Maturana EL, Herranz J, et al. Genetic variation in the TP53 pathway and bladder cancer risk. A comprehensive analysis. *PloS one*. 2014;9(5):e89952.
203. Mędrek K, Magnowski P, Masojć B, Chudecka-Głaz A, Torbe B, Menkiszak J, et al. Association of common WRAP 53 variant with ovarian cancer risk in the Polish population. *Molecular biology reports*. 2013;40(3):2145-7.
204. Schildkraut JM, Goode EL, Clyde MA, Iversen ES, Moorman PG, Berchuck A, et al. Single nucleotide polymorphisms in the TP53 region and susceptibility to invasive epithelial ovarian cancer. *Cancer research*. 2009;69(6):2349-57.

205. Garcia - Closas M, Kristensen V, Langerød A, Qi Y, Yeager M, Burdett L, et al. Common genetic variation in TP53 and its flanking genes, WDR79 and ATP1B2, and susceptibility to breast cancer. *International journal of cancer*. 2007;121(11):2532-8.
206. Lan Q, Zhang L, Shen M, Jo WJ, Vermeulen R, Li G, et al. Large-scale evaluation of candidate genes identifies associations between DNA repair and genomic maintenance and development of benzene hematotoxicity. *Carcinogenesis*. 2009;30(1):50-8.
207. Saintigny P, Zhang L, Fan Y-H, El-Naggar AK, Papadimitrakopoulou VA, Feng L, et al. Gene expression profiling predicts the development of oral cancer. *Cancer Prevention Research*. 2011;4(2):218-29.
208. Chitralla KN, Yeguvapalli S. Computational Screening and Molecular Dynamic Simulation of Breast Cancer Associated Deleterious Non-Synonymous Single Nucleotide Polymorphisms in TP53 Gene. *PloS one*. 2014;9(8):e104242.
209. Bonab AS, Pouladi N, Hosseinpourfeizi MA, Gavgani RR, Dehghan R, Azarfam P, et al. Single-strand conformational polymorphism analysis of a common single nucleotide variation in WRAP53 gene, rs2287499, and evaluating its association in relation to breast cancer risk and prognosis among Iranian-Azeri population. *Medical Oncology*. 2014;31(9):1-7.
210. Baynes C, Healey CS, Pooley KA, Scollen S, Luben RN, Thompson DJ, et al. Common variants in the ATM, BRCA1, BRCA2, CHEK2 and TP53 cancer susceptibility genes are unlikely to increase breast cancer risk. *Breast Cancer Res*. 2007;9(2):R27.
211. Malmer BS, Feychting M, Lönn S, Lindström S, Grönberg H, Ahlbom A, et al. Genetic variation in p53 and ATM haplotypes and risk of glioma and meningioma. *Journal of neuro-oncology*. 2007;82(3):229-37.
212. Sprague BL, Trentham-Dietz A, Garcia-Closas M, Newcomb PA, Titus-Ernstoff L, Hampton JM, et al. Genetic variation in TP53 and risk of breast cancer in a population-based case-control study. *Carcinogenesis*. 2007;28(8):1680-6.
213. Mechanic LE, Bowman ED, Welsh JA, Khan MA, Hagiwara N, Enewold L, et al. Common genetic variation in TP53 is associated with lung cancer risk and prognosis in African Americans and somatic mutations in lung tumors. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2007;16(2):214-22.
214. Koshiol J, Hildesheim A, Gonzalez P, Bratti MC, Porras C, Schiffman M, et al. Common genetic variation in TP53 and risk of human papillomavirus persistence and progression to CIN3/cancer revisited. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2009;18(5):1631-7.
215. dbSNP: NCBI. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=p53>.
216. Lin H-Y, Yang M-C, Huang C-H, Wu W-J, Yu T-J, Lung F-W, editors. Polymorphisms of TP53 are markers of bladder cancer vulnerability and prognosis. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*; 2013: Elsevier.

217. Andujar P, Pairon J-C, Renier A, Descatha A, Hysi I, Abd-Alsamad I, et al. Differential mutation profiles and similar intronic TP53 polymorphisms in asbestos-related lung cancer and pleural mesothelioma. *Mutagenesis*. 2013;28(3):323-31.
218. Polakova V, Pardini B, Naccarati A, Landi S, Slyskova J, Novotny J, et al. Genotype and haplotype analysis of cell cycle genes in sporadic colorectal cancer in the Czech Republic. *Human mutation*. 2009;30(4):661-8.
219. Sagne C, Marcel V, Bota M, Martel-Planche G, Nobrega A, Palmero EI, et al. Age at cancer onset in germline TP53 mutation carriers: association with polymorphisms in predicted G-quadruplex structures. *Carcinogenesis*. 2014;35(4):807-15.
220. Udeabor SE, Rana M, Wegener G, Gellrich N-C, Eckardt AM. Squamous cell carcinoma of the oral cavity and the oropharynx in patients less than 40 years of age: a 20-year analysis. *Head Neck Oncol*. 2012;4:28.
221. Pezier T, Partridge M. Squamous cell carcinoma of the oral cavity, oropharynx and upper oesophagus. *Medicine*. 2011;39(3):137-41.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı

T.C
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı

SAYI :72867572/050/1775

13 Mayıs 2013

KONU : Etik Kurul Kararı

Sayın : Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY
Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi A.D. Öğretim Üyesi

Sorumlu araştırmacı olduğunuz "Asemptomatik Tam Gömülü 20 Yaş Dişlerinin Foliküllerinde KI-67 ve P53 Gen Ailesi Ekspresyonunun ve Mutasyonlarının Değerlendirilmesi" isimli çalışmanızın kurulumuz tarafından uygun görüldüğüne ilişkin 08.05.2013 tarih ve 125 sayılı Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kararı yazımız ekinde gönderilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.



Yrd. Doç. Dr. Halil AŞÇI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkan V.

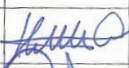
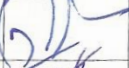
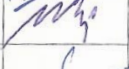

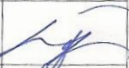

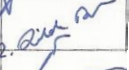


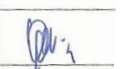
EKİ: 1 Adet Etik Kurulu Kararı (2 Sayfa)

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 125	Tarih: 08.05.2013
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Mustafa AKÇAM

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr.Mustafa AKÇAM	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	SDÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr Halil AŞCI	Farmakoloji	SDÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.A.Nesimi KİŞİOĞLU	Halk Sağlığı	SDÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Mustafa TÜZ	Kulak Burun Boğaz Hast.	SDÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Fatih GÜLTEKİN	Tıbbi Biyokimya	SDÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Serpil DEMİRCİ	Nöroloji	SDÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Doğan ERDOĞAN	Kardiyoloji	SDÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Mekin SEZİK	Kadın Hast. ve Doğum	SDÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Zeynep Dilek AYDIN	İç Hastalıkları	SDÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Derya YILDIRIM	Ağız Diş ve Çene Radyol.	SDÜ Diş Hek. Fak.	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Metin TOPCUOĞLU	Hukuk	SDÜ Hukuk Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Uzm.Dr. Kenan Ahmet TÜRKDOĞAN	Acil Tıp	Isparta Devlet Hast.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Uzm.Dr.Kadir KARAKUŞ	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Isparta Devlet Hast.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzman Halil KARAKOÇ	Biyomedikal	SDU Arş.Uyg.Hast	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Osman PARÇAOĞLU	Sivil Üye	Esnaf	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

* : Toplantıda Bulunma

Ek 2. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Destekleme Protokolü

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ
DESTEKLEME PROTOKOLÜ

Toplantı Tarihi : 28.05.2013

Toplantı No: 2013/04

Proje No : 3608-D2-13
Proje Yöneticisi : Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY
Yöneticinin Adresi : Diş Hekimliği Fakültesi , Klinik Diş Hekimliği Bil.

Proje Başlığı : Asemptomatik Tam Gömülü Alt 20 Yaş Dişlerinin Foliküllerinde Ki-67 Ve P53 Gen Ailesi Ekspresyonunun Ve Mutasyonlarının Değerlendirilmesi

Yayın Şartı : SCI/SSCI/AHCI (Expanded Dahil) İndeksine Giren Yayın
Proje Bütçesi (TL) : 22.500,00
Proje süresi : Başlangıç Tarihi : 10.06.2013 Bitiş Tarihi: 10.12.2015 - 30 ay

Prof.Dr.İskender AKKURT
Rektör Yardımcısı
BAP Komisyon Başkanı

İMZA

Prof.Dr.M.Cengiz KAYACAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA

Yrd.Doç.Dr.Abdullah Şevki DUymAZ
Güzel Sanatlar Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA

Doç.Dr.Nevin AYTEMİZ
Komisyon Üyesi

İMZA

Doç.Dr.Ramazan ERDEM Komisyon
Üyesi

İMZA

Yrd.Doç.Dr.S.Zeynep ALPARSLAN GÖK
Komisyon Üyesi

İMZA

Prof.Dr.Süleyman SEYDİ
Sosyal Bilimler Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA

Prof.Dr.Ibrahim DİLER
Su Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA

Prof.Dr.Kamil EKİNCİ
Komisyon Üyesi

İMZA

Doç.Dr.Bahattin YAMAN
Komisyon Üyesi

İMZA

Doç.Dr.Mustafa KOÇ
Eğitim Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İMZA

Prof.Dr.M.Fehmi ÖZGÜNER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA

Prof.Dr.Hüseyin YORGANCIGİL
Komisyon Üyesi

İMZA

Doç.Dr.Fevzi BEDİR
Komisyon Üyesi

İMZA

Yrd.Doç.Dr.Fatma Handan GİRAY
Komisyon Üyesi

İMZA

Doç.Dr.Mustafa KOÇ
Eğitim Bilimleri Enstitüsü Müdürü

PROJE YÖNETİCİSİNE TEBLİGAT

Sayın: **Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY**


Süleyman Demirel Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun yukarıdaki kararı uyarınca sunduğumuz projenin belirtilen şartlarda desteklenmesine karar verilmiştir.

Proje protokolünü imzalamak üzere aşağıda belirtilen tarih ve saatte Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nde hazır bulunmanızı rica eder, başarılarınızın devamını dilerim.

Tarih ve Saat :


Prof.Dr.İskender AKKURT
Rektör Yardımcısı
BAP Komisyon Başkanı

atıfta bulunularak yayımlanabilir.

GÜVENLİK TEDBİRLERİ:

9. Proje Yöneticisi, proje yerinde kazaları önleme ve sağlık şartları bakımından iş kanunu ve sosyal sigortalar kanunu ve ilgili diğer kanun, tüzük ve yönetmeliklere göre gerekli her türlü güvenlik tedbirlerinin alınmasından sorumludur.

GİZLİLİK:

10. Proje Yöneticisi, projeye ilgili olarak elde edilecek bilgilerin gizliliğinin korunması bakımından BAP Komisyonuna karşı sorumludur.

Proje kesin raporu BAP Komisyonu kabul ve durum tebliğ edilinceye kadar, proje yöneticisi veya projede çalışan diğer personel tarafından BAP Komisyonundan izin alınmadan, projeye ilgili haber veya beyanat verilemez, yayın yapılamaz, rapor açıklanamaz.

PERSONEL VE HARCAMALAR:

11. Projede çalışacak laborant ve teknisyen gibi yardımcı personel ile tam zamanlı araştırmacılar proje yöneticisi tarafından bulunup seçilir ve proje müracaat formler neticesinde görevlendirilir

Bu elamanlara yapılacak ödemeler ve proje bakımından gerekli başka harcamalar proje yöneticisi tarafından, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Biriminden alınacak avansla karşılanabilir. Ücretler ve ödemelerden yapılacak gelir vergisi, sigorta primi, damga vergisi gibi her türlü kesintilerin yapılmasından ve gerekli mercilere yatırılmasından proje yöneticisi sorumludur.

DESTEK MİKTARI:

12. Projeyi desteklemek amacıyla BAP Koordinasyon Biriminden, ayrıntıları protokole ekli araştırma projesi müracaat formunda gösterilen toplam 22.500,00 TL destek sağlanacaktır

ÖDEMENİN KESİLMESİ:

13. Sözleşme gereğince yapılan ödemelerin, proje amaç ve programına, sözleşme şartlarına uygun olarak kullanılmadığı; gelişme raporlarından istenen ayrıntılı bilgilerden, yapılan incelemelerden veya başka şekillerde anlaşılırsa veya proje gelişme raporları yapılan hatırlatmaya rağmen zamanında verilmez ise, başkaca ihbara lüzum kalmadan sözleşme gereğince yapılan ödemeler durdurulabilir. Başka talepler saklı kalmak üzere verilmiş araç, gereç, donatım derhal geri alınır. O güne kadar yapılmış tüm harcamalar sorumlulara faizi ile birlikte ödetilir.

YÜRÜRLÜK SÜRESİ:

14. Bu Protokol 10.06.2013 tarihinden 10.12.2015 tarihine kadar yürürlüktedir.

PROTOKOLUN UZAMASI:

15. Protokol süresinin uzatılması, uzatmanın proje yöneticisi tarafından protokol süresinin bitimi tarihinden 1 ay önce teklif edilmesine ve BAP Komisyonu tarafından uygun görülerek bu konudaki esaslar gereğince kararlaştırılmasına bağlıdır.

GÖREV YERİNİN DEĞİŞTİRİLMESİ:

16. Bu Protokolle ilgili yazışma ve tebligat birinci maddede yazılı adrese yapılır. Proje yöneticisi adresini değiştirdiği takdirde bunu en geç 10 gün içinde BAP Komisyonuna bildirmeye mecburdur. Görev yeri değişikliği bildirilmezse eski görev yerine gönderilen yazı ve tebligat o görev yerinde yapılmış sayılır.

PROTOKOL GİDERLERİ:

17. Protokol giderleri proje yöneticisine aittir

YETKİLİ MERCİ:

18. Anlaşmazlık halinde yetkili merci, Isparta Mahkeme ve icra müdürlükleridir.

Proje Yardımcı Personeli
Ender BURHANOĞLU

Proje Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Merve ÇINA AKSOY

UYGUNDUR
2.../4.../20...
74-116-7113

Prof. Dr. İskender AKKURT
Rektör Yardımcısı
BAP Komisyon Başkanı

Ek 3. Hasta Anamnez ve Aydınlatılmış Onam Formu



T.C.
SDÜ TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağını çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız ve eğer istiyorsanız özel veya aile doktorunuzla konuyu değerlendiriniz. Eğer bir başka çalışmada da yer alıyorsanız bu çalışmada yer alamazsınız

ARAŞTIRMANIN ADI :

ASEMPTOMATİK TAM GÖMÜLÜ ALT 20 YAŞ DIŞLERİNİN FOLİKÜLLERİNDE KI-67 VE P53 GEN AİLESİ EKSPRESYONUNUN VE MUTASYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Asemptomatik tam gömülü alt 20 yaş dişlerinin profilaktik olarak çekilip çekilmemesi gerektiğine karar vermek amacıyla olası risk faktörlerini belirlemek.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

- 1- 19 yaşından büyük olmak
- 2- Sistemik olarak sağlıklı olmak
- 3- Düzenli olarak ilaç kullanmamak ve herhangi bir enfeksiyon nedeniyle antibiyotik kullanmamış olmak
- 4- Sigara kullanmıyor olmak veya hiç sigara kullanmamış olmak.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Araştırma sırasında uygulanacak olan invazif yöntemler dahil olmak üzere izlenecek veya gönüllüye uygulanacak yöntemlerin tümü (*Hastanın anlayabileceği şekilde anlatılmalıdır.*)

Kliniğimizde rutin olarak uygulanan asemptomatik tam gömülü alt 20 yaş dişlerinin cerrahi çekiminden sonra diş ile beraber çekim soketinden temizlenen diş foliküllerinde immünohistokimyasal boyama teknikleri ile Ki-67 ve p53 proteinlerinin ekspresyonları değerlendirilecektir. Ayrıca foliküllerin diğer yarısında PCR-RFLP yöntemi ile p53 ve p53 gen ailesinden bir protein olan p63'ün sentezinden sorumlu DNA bölgesinde olası bir mutasyon varlığı araştırılacaktır.

GÖNÜLLÜ SORUMLULUKLARI (örn. uygulama süresi boyunca hiçbir ilaç kullanmama, uygulanan tedavi şemasına özen gösterme, araştırmacının, vb.).

- 1-
- 2-
- 3-

Bu koşullara uymadığınız takdirde araştırmacı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

UYGULANACAK DENEY YÖNTEMLERİ

- 1- İmmünohistokimyasal boyama
- 2- Diş foliküllerinden DNA izolasyonu ve elde edilen DNA'da PCR-RFLP yöntemi ile olası mutasyon analizi



İLACIN SAKLAMA KOŞULLARI

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 100'dür.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre 1 gündür.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

(*örn, çalışma ilaçlarıyla uygulanan tedavi ile hastalığın kontrol altına alınabilme olasılığı, sonuçların başka insanların yararına kullanılabilir olması, yalnızca araştırma amaçlı olduğu ve doğrudan yarar görmesi ya da tedavinin seyrinin değiştirilmesinin beklenmeyeceği vb.*)

- 1- Asemptomatik ve radyolojik olarak sağlıklı görülen dişlerde histopatolojik olarak görülebilecek patolojilerin teyit edilmesi.
 - 2- Bu tür dişlerin profilaktik olarak çekilip çekilmemesi gerektiğine karar vermek için bir rehber olması

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

(gözlenebilecek istenmeyen etkiler, karşılaşılabilecek sorunlar (allerji, enfeksiyon, baş ağrısı, bayılma, morarma vb.)

- Çekim komplikasyonları (Anesteziye bağlı senkop, allerji, inferior alveolar sinir hasarı, kök kırıkları, dişin komşu anatomik boşluklara kaçması vb.)
 - Çekim sonrası kanama, yüzde morarma, şişlik, ağrı
 - Çekim sonrası komplikasyonlar (Mandibula kırıkları, enfeksiyon vb.)

ÖNÜLLÜYE UYGULANABİLECEK OLAN ALTERNATİF YÖNTEMLER VEYA TEDAVİ ŞEMASI VE BUNLARIN OLASI YARAR VE RİSKLERİ

GEBELİK

..... nin doğmamış fetus ya da anne sütü emen çocuk için riskleri bilinmemektedir. Gebe ya da çocuk emziren kadınlar bu çalışmaya katılmazlar. En iyisi gebe olmadığınızdan ve çalışma boyunca gebe kalmamaya niyetli olduğunuzdan emin olmalısınız. Çocuk doğurma potansiyeliniz varsa çalışma doktoru sizinle uygun doğum kontrol yöntemlerini konuşacaktır. Çalışma sırasında gebe kaldığınızdan şüphelenirseniz, hemen çalışma doktoruna haber vermelisiniz. Gebe iseniz izniniz alınmadan araştırmadan çıkarılacaksınız.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİLEN İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

1-	4-
2-	5-
3-	6-



HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

Uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz,

Çalışma programını aksatmanız,

Gebe kalmanız

Çalışma ilacı ile ilgili bir yan etkiye maruz kalmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle doktorunuz sizin izniniz olmadan sizi çalışmadan çıkarabilir.

DİĞER TEDAVİLER NELERDİR? (şimdilik uygulanmayacak olup ilerde uygulanabilecek tedavi yada işlemler ve bunların riskleri)

- | | |
|----|----|
| 1- | 4- |
| 2- | 5- |
| 3- | 6- |

İLGİ MEVZUAT GEREĞİNCE GEREKİYORSA, GÖNÜLLÜYE VERİLECEK TAZMİNAT VE/VEYA SAĞLANACAK TEDAVİLER, YAPILACAK ULAŞIM, YEMEK GİBİ MASRAFLARA İLİŞKİN ÖDEMELERİN MİKTARI, YÖNTEMLERİ VE ÖDEME PLANI HAKKINDAKİ BİLGİLER

(Uygulama sırasında gelişebilecek herhangi bir hasara karşı (ölüm/sakatlanma dahil) güvence altına alınmaktasınız, oluşabilecek hasar size tarafımızdan yapılan sigorta ile tazmin edilecektir (Sağlık Bakanlığı'ndan izin alınması gerekli olmayan araştırmalar için zorunlu değildir. Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir)

--

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Uygulama süresi boyunca, zorunlu olarak araştırma dışı ilaç almak durumunda kaldığınızda Sorumlu Araştırmacıyı önceden bilgilendirmek için, araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için sorumlu araştırmacıya başvurabilirsiniz. .

İSTEDİĞİM ZAMAN ARAŞTIRMADAN AYRILABİLİRİMİM?

Araştırmaya katılımınızın isteğe bağlı olduğu ve istediğiniz zaman, herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkını kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilirsiniz.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz (tedavinin gizli olması durumunda, gönüllüye kendine ait tıbbi bilgilere ancak verilerin analizinden sonra ulaşabileceği bildirilmelidir).



ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI:

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

Çalışma sırasında elde edilen biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formunda (BGOF):

- “[Çalışmanın Adı] çalışması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar vb.);
- (Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)
- Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- İleride yapılması planlanan tüm çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.”



T.C.
SDÜ TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI&SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

SORUMLU ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI&SOYADI	Ender BURHANOĞLU	
TARİH		

RIZA ALMA İŞLEMİNE BAŞINDAN SONUNA KADAR GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIKLIK EDEN KURULUŞ GÖREVLİSİNİN		İMZASI
ADI&SOYADI	Müge ÇINA AKSOY	
GÖREVİ	Yrd. Doç. Dr.	
TARİH		

ÖZGEÇMİŞ

29.03.1982 tarihinde İzmir'de doğdum. 1993 yılında ilkokuldan (Özel Çorum İlköğretim Okulu), 2000 yılında liseden (Özel İzmir Amerikan Lisesi) mezun oldum. 2000 yılında Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi'nde başladığım lisans eğitiminden 2007 yılında mezun oldum. 2008 yılında Deniz Kuvvetleri Komutanlığı'nda askerlik görevimi yerine getirdikten sonra 2009-2010 yıllarında Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D'da doktora eğitimine başladım. 2010 yılında doktora programından ayrılarak Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Cerrahisi A.D'da doktora eğitimine başladım. Evli ve iki çocuk babasıyım.