

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI**

**AMELX, CA6, DEFB1 ve TAS2R38 GEN POLİMORFİZMİNİN ve
GEN-ÇEVRE ETKİLEŞİMİNİN ERİŞKİNLERDEKİ ÇÜRÜK
ETİYOLOJİSİ ve RİSK DEĞERLENDİRMESİ ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Gül YILDIZ

DOKTORA TEZİ

**I. DANIŞMAN
Prof. Dr. R. Banu ERMİŞ**

**II. DANIŞMAN
Doç. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Yönetim Birimi tarafından 2848-D-11 Proje numarası ile desteklenmiştir**

Tez. No: 107

ISPARTA 2014

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı Doktora Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 20 /10 /2014

Tez Danışmanı: Prof. Dr. R. Banu ERMİŞ, Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi AD

Tez II. Danışmanı: Doç. Dr. Nilüfer SAHİN CALAPOĞLU, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD

Üye: Prof. Dr. Abdülkadir ŞENGÜN, Turgut Özal Üniversitesi Rektörü

Üye: Doç. Dr. Bulem ÜREYEN KAYA, Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti AD

Üye: Yrd. Doç. Dr. Özge KAM HEPCENİZ, Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi AD

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

Doç. Dr. Nejdet ADANIR

Enstitü Müdürü

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.

“AMELX, CA6, DEFB1 VE TAS2R38 GEN POLİMORFİZMİNİN VE GEN-ÇEVRE ETKİLEŞİMİNİN ERİŞKİNLERDEKİ ÇÜRÜK ETİYOLOJİSİ VE RİSK DEĞERLENDİRMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Gül YILDIZ

İmza

Danışman

Prof. Dr. R. Banu ERMİŞ

İmza

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında deneyimleri ve bilimsel katkıları ile bana her zaman destek olan ve hoşgörüsüyle yol gösteren çok değerli danışman hocam Prof. Dr. R. Banu Ermiş'e,

Çalışmamın genetik açıdan gerçekleşmesinde değerli katkıları ve emekleriyle büyük yardımı olan tez ikinci danışman hocam Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Nilüfer Şahin Calapoğlu'na,

Asistanlığım süresince eğitimime katkıda bulunan Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı öğretim üyelerine, çalışmamın planlanma aşamasında değerli akademik bilgisiyle bana yön vermiş olan Doç. Dr. Esra Uzer Çelik'e,

Tezin laboratuvar çalışmaları sırasında imkan sağlayan Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nurten Özçelik'e ve genetik analizlerin yapılması sırasında yardımcı olan Arş. Gör. Gülçin Yavuz'a,

Doktora projemi destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Katkılarından dolayı Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne,

Çok değerli arkadaşlarıma ve her zaman yanımda olarak tüm hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen sevgili aileme,
sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Gül Yıldız
Isparta, 2014

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
İÇ KAPAK	i
KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
BEYAN	iii
ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Çürük Risk Değerlendirmesi	4
2.2. Çürük Risk Faktörleri	5
2.3. Çevresel Çürük Risk Faktörleri	5
2.3.1. Geçmiş Çürük Deneyimi	6
2.3.2. Dental Plak ve Ağız Hijyeni	7
2.3.3. Karyojenik Bakteriler	7
2.3.4. Florür Kullanımı	8
2.3.5. Tükürük	9
2.3.6. Beslenme Alışkanlıkları	10
2.3.7. Modifiye Çürük Risk Faktörleri	11
2.4. Genetik Terminoloji	13
2.5. Genetik Çalışmalar	14
2.5.1.Gen Polimorfizmi Çalışmaları	17
2.5.2. Mineralizasyon ile İlişkili Genler	17
2.5.3. Tükürük Proteinleri ile İlişkili Genler	19
2.5.4. Bağışıklık ile İlişkili Genler	20
2.5.5. Tat Alma ile İlişkili Genler	21
2.6. Çürük Risk Değerlendirmesinde Gen-Çevre Etkileşimi	22
2.7. Çürük Aktivite Testleri	23

2.7.1. Tükürük Akış Hızının Ölçülmesi	24
2.7.2. Tükürük Tamponlama Kapasitesinin Ölçülmesi	25
2.7.3. Fosdick Kalsiyum Çözünme Testi	27
2.7.4. Dewar Test	27
2.7.5. Redüktaz Testi	28
2.7.6. Mutans Streptokok Sayısının Belirlenmesi	28
2.7.7. Laktobasil Sayısının Belirlenmesi	30
2.7.8. Mantar Sayısının Belirlenmesi	32
2.7.9. Snyder Test	33
2.7.10. Alban Test	33
2.7.11. Swab Test	33
2.7.12. Karyostat	34
2.7.13. Ora Test	34
2.8. Rekombinant DNA Teknolojileri	35
2.8.1. DNA İzolasyonu	35
2.8.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	37
2.8.3. Jel Elektroforez Yöntemi	37
2.8.4. Kısıtlayıcı Enzim Kesimi Parça Uzunluğu Polimorfizmi	38
2.9. Gen-Çevre Etkileşimi	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Klinik Uygulama	40
3.1.2. Çalışmaya Katılacak Bireylerin Seçimi	40
3.1.3. Anket Uygulanması	42
3.1.4. Geçmiş Çürük Deneyiminin Hesaplanması	42
3.1.5. Plak İndeksinin Hesaplanması	43
3.1.6. Uyarılmış Tükürük Akış Hızının Hesaplanması	44
3.1.7. Tükürük Tamponlama Kapasitesinin Ölçümü	45
3.1.8. Tükürükte Mutans Streptokok Sayımı Testinin Uygulanması	45
3.1.9. Tükürükte Laktobasil Sayımı Testinin Uygulanması	47
3.1.10. Yanak İçi Sürüntü Örneğinin Alınması	47
3.2. Laboratuvar Uygulama	48
3.2.1. Mutans Streptokok Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi	48

3.2.2. Laktobasil Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi	48
3.2.3. TNP Seçimi	49
3.2.4. DNA İzolasyonu	51
3.2.5. Gen Amplifikasyonu	53
3.2.5.1. Standart PZR Reaksiyon Karışımının Hazırlanması	53
3.2.5.2. PZR Primerlerinin Seçimi ve Hazırlanışı	53
3.2.5.3. PZR Program Dizaynı	56
3.2.5.4. PZR Ürünlerinin Kontrolü	58
3.2.6. RFLP Uygulamaları	58
3.2.6.1. Enzim Karışımının Hazırlanması	59
3.2.6.2. Enzim Kesim Ürünlerinin Değerlendirilmesi	59
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	61
4. BULGULAR	62
4.1. Bireylerin Tanımlayıcı Özelliklerine Ait Bulgular	62
4.2. Çevresel Risk Faktörlerine Ait Bulgular	63
4.3. Gen Polimorfizmine Ait Bulgular	68
4.3.1. AMELX (+522)	68
4.3.2. CA6 (T55M)	70
4.3.3. DEFBI (G-20A)	74
4.3.4. TAS2R38 (A49P)	76
4.4. Gen-Çevre Etkileşimine Ait Bulgular	79
5. TARTIŞMA	82
5.1. Çalışma Dizaynı	82
5.2. Çalışmaya Katılan Bireylerin Seçimi	82
5.3. Çevresel Risk Faktörlerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	84
5.4. Gen polimorfizmlerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	88
5.4.1. AMELX (+ 522) Gen Polimorfizmi	91
5.4.2. CA6 (T55M) Gen Polimorfizmi	92
5.4.3. DEFBI (G-20A) Gen Polimorfizmi	93
5.4.4. TAS2R38 (A49P) Gen Polimorfizmi	94
5.5. Gen-Çevre Etkileşimine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	95
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	100

7. ÖZET	103
SUMMARY	105
8. KAYNAKLAR	107
EKLER	117
EK 1. Özgeçmiş	117
EK 2. Etik Kurul İzni	121
EK 3. Bilgilendirilmiş Olur Formu	123
EK 4. Anket Formu	125

SİMGE VE KISALTMALAR

A:	Adenin
AMELX:	Amelogenin proteinini kodlayan gen
C:	Sitozin
CA6:	Karbonik anhidraz 6 proteinini kodlayan gen
DEFB1:	Beta defensin 1 proteinini kodlayan gen
dk:	Dakika
dH₂O:	Distile su
DMFT:	Çürük, kayıp ve dolgulu diş sayısı
DNA:	Deoksiribonükleik asit
G:	Guanin
kob:	Koloni oluşturan birim
LB:	Laktobasil
MgCl₂:	Magnezyum klorür
ml:	Mililitre
nmol:	Nanomol
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
pmol:	Pikomol
pH:	Bir çözeltinin asitlik veya alkalinite derecesi
RFLP:	Kısıtlayıcı Enzim Kesimi Parça Uzunluğu Polimorfizmi
RNA:	Ribonükleik asit
rpm:	Dakikadaki devir sayısı
s:	Saniye
sa:	Saat
SM:	Mutans Streptokok
T:	Timin
TAS2R38:	Tat reseptörlerinden tip 2, 38. üyeyi kodlayan gen
TNP:	Tek nükleotid polimorfizmleri
UV:	Ultraviyole
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü
°C:	Santigrad derece

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa no
Tablo 1. Çevresel çürük risk faktörlerine ait verilerin toplanması ve skorlanması ..	49
Tablo 2. Çalışmada incelenen genlere ait tek nükleotid değişiklikleri	50
Tablo 3. Tükürük testleri ve DNA izolasyonunda kullanılan kitler	51
Tablo 4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) karışımı için kullanılan bileşenler	55
Tablo 5. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) için kullanılan primerlerin nükleotid dizileri	56
Tablo 6. Çalışmada incelenen genler için polimeraz zincir reaksiyonu şartları	57
Tablo 7. Restraksiyon enzimi karışımı için kullanılan malzemeler	59
Tablo 8. Cinsiyete ait test istatistiği (Ki kare testi)	63
Tablo 9. DMFT ve yaş değişkenlerine ait test istatistiği (Mann-Whitney U testi) ...	63
Tablo 10. Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerin tanımlayıcı özellikleri	64
Tablo 11. Çevresel risk faktörlerine ait test istatistiği (Mann-Whitney U testi)	65
Tablo 12. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında çevresel çürük risk faktörlerine ait skorların ortanca (ÇAG) değerleri	65
Tablo 13. Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerin aldığı skorlara göre çevresel çürük risk faktörlerine ait frekans dağılımı, n (%).....	67
Tablo 14. AMELX polimorfizmine ait genotip dağılımı test istatistiği (Ki kare testi)	69
Tablo 15. AMELX polimorfizmlerine ait alel dağılımı test istatistiği (Ki kare testi)	69
Tablo 16. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında AMELX (+522) gen polimorfizmine ait genotip ve alel dağılımı	70
Tablo 17. CA6 gen polimorfizmine ait genotip dağılımı test istatistiği (Ki kare testi)	71
Tablo 18. CA6 gen polimorfizmlerine ait alel dağılımı test istatistiği (Ki kare testi)	72
Tablo 19. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında CA6 (T55M) gen polimorfizmine ait genotip ve alel dağılımı	73

Tablo 20. Tamponlama kapasitesine göre CA6 geninin alel dağılımı test istatistiği (Ki kare testi).....	73
Tablo 21. Tamponlama kapasitesine göre CA6 genine ait genotip ve alel dağılımı .	73
Tablo 22. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında çalışılan DEFB1 (G-20A) polimorfizmine ait genotip dağılımı test istatistiği (Ki kare testi).....	75
Tablo 23. DEFB1 geni A ve G allel frekans dağılımı ile düşük ve yüksek çürük risk gruplarının karşılaştırılması test istatistiği (Ki kare testi).....	75
Tablo 24. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında DEFB1 (G-20A) gen polimorfizmine ait genotip ve alel dağılımı.....	76
Tablo 25. TAS2R38 polimorfizmine ait genotip dağılımı test istatistiği (Ki kare testi).....	78
Tablo 26. TAS2R38 gen polimorfizmlerine ait alel dağılımı test istatistiği (Ki kare testi).....	78
Tablo 27. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında TAS2R38 (A49P) gen polimorfizmine ait genotip ve alel dağılımı.....	78
Tablo 28. Laktobasil sayısına göre TAS2R38 genine ait genotip ve alel dağılımı	79
Tablo 29. Adımsal ilerlemeli çoklu doğrusal regresyon analizine göre bağımlı değişken olarak alınan çürük deneyimi ile çalışmada incelenen bağımsız değişkenler arasındaki ilişki	80
Tablo 30. Literatürde AMELX, CA6, DEFB1 ve TAS2R38 gen polimorfizmlerini çürük riski ile ilişkisini değerlendiren araştırmalar.....	89

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa no
Şekil 1. Çalışmanın uygulama aşamaları	41
Şekil 2. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında çevresel çürük risk faktörlerine ait kutu-çizgi grafiği.....	66
Şekil 3. <i>AMELX</i> geninin (+522) bölgesinin <i>MseI</i> restriksiyon enzimiyle kesim yapıldıktan sonraki jel elektroforez görüntüsü	68
Şekil 4. <i>CA6</i> geninin (T55M) bölgesinin <i>BtsCI</i> restriksiyon enzimiyle kesim yapıldıktan sonraki jel elektroforez görüntüsü.	71
Şekil 5. <i>DEFB1</i> geninin (G-20A) bölgesinin <i>ScRFI</i> restriksiyon enzimiyle kesim yapıldıktan sonraki jel elektroforez görüntüsü	74
Şekil 6. <i>TAS2R38</i> geninin (A49P) bölgesinin <i>HaeIII</i> restriksiyon enzimiyle kesim yapıldıktan sonraki jel elektroforez görüntüsü	77

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa no
Resim 1. Uyarılmış tükürük akış hızının hesaplanmasında kullanılan malzemeler ..	45
Resim 2. Tükürük tamponlama kapasitesinin ölçümünde kullanılan malzemeler ...	46
Resim 3. Tükürükte mutans streptokok sayımında kullanılan malzemeler	46
Resim 4. Tükürükte laktobasil sayımında kullanılan malzemeler	47
Resim 5. Santrifüj cihazı	52
Resim 6. Çalışmadaki bireylerden elde edilen saf genomik DNA örnekleri.....	52
Resim 7. PZR cihazı	57
Resim 8. Elektroforez cihazı	58
Resim 9. Transillüminatör cihazı	60

1. GİRİŞ

Dünyanın en yaygın kronik hastalıklarından biri olan diş çürüğü; dental plaktaki karyojenik bakterilerin karbonhidratları fermente etmesi sonucu oluşan asit ile diş sert dokularının organo-inorganik moleküllerinin giderek suda erir hale dönüşerek kimyasal bağlarının kopması şeklinde devam eden patolojik olaylar dizisinin bir sonucu olarak tanımlanmaktadır (1-5). Ağız ortamında normal şartlarda belirli bir denge içerisinde birbirini izleyen demineralizasyon ve remineralizasyon olayları bakteri plağı varlığında bozulabilmekte ve demineralizasyonun ön plana geçmesi ile meydana gelen mineral kaybı sonucunda çürük meydana gelmektedir (3, 6, 7).

Diş çürüğünün etiyolojisinde yer alan dört temel faktör olan, biyofilm, diyet, zaman ve konak, etkileşiminin bir sonucu olarak meydana geldiği bilinmektedir (8, 9). Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar ile diş çürüğünün oluşumuna neden olan ve çürüğe yatkınlığı artıran daha fazla risk faktörü belirlenmiştir (9). Dolayısıyla diş çürüğü; içerisinde biyolojik, sosyal, davranışsal ve psikolojik bileşenlerin bulunduğu çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi sonucu oluşan multifaktöriyel bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (10). Çürüğün kompleks ve multifaktöriyel etyolojiye sahip olması nedeniyle, birçok risk faktörünün birlikte değerlendirilmesine dikkat çekilerek, risk faktörlerinin ve bu faktörlerin birbirleri ile olan ilişkilerinin belirlenmesi vurgusuyla çürük riskini değerlendiren çalışmalara önem verilmesi gerektiği belirtilmiştir (11, 12).

Günümüze kadar araştırmacılar birçok çevresel faktörü tek başına veya birlikte ele alarak çürük riskini değerlendirmişlerdir (13-18). Bunun yanında sadece çevresel faktörlerin değerlendirilmesinin diş çürüğünün oluşumunu açıklamadığının altı çizilmiştir. Çünkü aynı çevresel risk faktörlerine maruz kalan bireylerin çürük riskinin aynı olmadığı belirlenmiş, bu sonuç çürüğün etiyolojisinde genetik faktörlerin de rol oynadığını akla getirmiştir (9).

Diş çürükleri toplumun tamamında görüldüğü için geçmişte, genetik faktörlerin diş çürüğünün etiyolojisi üzerine etkisi önemsizdir. Çürük ve genetik arasındaki ilişki kalıtsal özelliklerle açıklanmaya çalışılmıştır. Diş çürüğü ile

ilişkilendirilen bu kalıtsal faktörlerin; dişin yapısal kompozisyonu, diş morfolojisi, ark formu gibi bazı özellikler üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (4, 10).

Diş çürüğü ve genetik arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi ise yakın zamanda gerçekleşen gelişmelerle başlamaktadır. Hastalıkların etiolojisinde rol oynayan ve hastalıklar için risk oluşturabilecek genler hakkında yararlı bilgiler, insan DNA'sındaki üç milyar baz çiftinin dizilimini ortaya çıkaran 'İnsan Genom Projesi'nin 2003 yılında tamamlanmasının ardından elde edilmiştir (19). Bu gelişmenin ışığında 2008 yılında çürükle ilişkili genomik bölgelerin tespiti için yapılan genom taraması sonucu, düşük ve yüksek çürük yatkınlığıyla ilgili olan gen bölgeleri tespit edilmiştir (9, 20). Diş çürüğünde genetiğin rolünün anlaşılması için yapılan ikiz çalışmalarıyla çürüğün oluşumunda genetiğin rolünün tek başına %35-55 oranında olabileceği ifade edilmiştir (21). Günümüze kadar mine ve dentin mineralizasyonu, tükürük proteinleri, ağız içi savunma elemanları, tat alma ve beslenme tercihleri ile ilgili gen polimorfizmleri ve çürük arasındaki ilişki incelenerek genetik faktörlerin çürük riski üzerindeki rolü araştırılmıştır (9, 22). Çürük oluşumunda etkili çevresel ve genetik faktörleri tek başına değerlendiren çalışmalardan elde edilen sonuçlar araştırmacıları çürük oluşumunda etkili faktörleri birlikte değerlendiren çürük risk modelleri geliştirmeye yöneltmiştir (23-25).

Buna göre bu tez çalışmasının amaçları aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Geliştirilecek olan çürük risk modelinde yer alıp almayacağını gözlenebilmesi amacıyla çalışılan popülasyondaki farklı çürük risk gruplarının; plak miktarı, diş fırçalama sıklığı, öğün dışı diyet sıklığı, tükürük akış hızı, tükürük tamponlama kapasitesi, tükürük mutans streptokokları sayısı ve tükürük laktobasil sayısı olarak seçilen çevresel çürük risk faktörleri açısından karşılaştırılması,

- Çürük etiolojisinde rol oynadığı düşünülen gen polimorfizmleri arasından seçilen; mineralizasyonla ilişkili amelogenin proteinini kodlayan *AMELX* genine ait (+522) polimorfizminin, tükürük ile ilişkili karbonik anhidraz 6 proteinini kodlayan *CA6* genine ait (T55M) polimorfizminin, bağışıklıkla ilişkili beta defensin 1 proteinini kodlayan *DEFB1* genine ait (G-20A) polimorfizminin ve tat alma ile ilişkili tat

reseptör ‘tip 2, 38. üye’ proteinini kodlayan *TAS2R38* genine ait (A49P) polimorfizminin çalışılan popülasyonda çürüğe yatkınlığın veya çürük riskinin artmasına neden olup olmadığının değerlendirilmesi,

- Çalışılan popülasyondaki çürük risk grupları arasında yapılan karşılaştırmadan elde edilen sonuca göre, çürük etiolojinde yer aldığı saptanan farklı genlere ait tek nükleotid değişimlerinin ve çürük etiolojisinde rol oynadığı saptanan çevresel çürük risk faktörlerinin birlikte değerlendirilmesi ve böylelikle erişkin bireylerde çürük deneyiminin yüksek olmasını gen-çevre etkileşimi açısından açıklayabilen ve doğruluk oranı yüksek olan bir ‘çürük risk modeli’ geliştirilmesi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Çürük Risk Değerlendirmesi

Diş çürüğünün oluşmadan önce tahmin edilmesi, risk değerlendirmesi konusu içinde incelenmektedir. Çürük riski, çürük oluşumunda rol oynayan birçok faktörün birleştirilmesi ve analiz edilmesi ile belirlenebilmektedir. Günlük pratikte çürük riskinin belirlenmesi çürükte rol alan temel faktörleri belirlemek, hasta riskini önceden değerlendirmek ve hastaya bireysel ihtiyaçlara yönelik spesifik koruyucu önlemleri önermek amacıyla kullanılmaktadır (26).

Çürük risk değerlendirmesinde çalışmanın tipine göre çürük risk faktörü ve çürük risk indikatörü olarak tanımlanan iki tür değişken kullanılmaktadır. Risk faktörü; hastalığın nedeni olarak gösterilmekte ve etiyolojik faktör olarak nitelendirilmektedir (27). Risk faktörü genellikle prospektif çalışmalarda zamana bağlı sonuçlar ile doğrulanan ve hastalığın oluşma olasılığını direkt olarak artıran faktör olarak tanımlanmaktadır (28). Mevcut verilere göre riskin değerlendirildiği kesitsel çalışmalarda ise risk faktörü yerine risk indikatörü teriminin kullanılması gerektiği bildirilmektedir. Bir risk indikatörünün risk faktörü olarak sayılabileceği fakat kesitsel çalışma sonuçlarının uzun dönemde test edilememesinden dolayı bu sonucun yanıltıcı olabileceğine dikkat çekilmektedir (28). Kesitsel çalışmalar çürük oluşmadan önce risk faktörlerini tahmin ederek koruyucu önlemlerin alınması açısından oldukça yararlı kabul edilirken, prospektif çalışmalar belli bir zaman periyodunda oluşmuş olan bulgulara göre değerlendirme yapmaları sebebi ile çürük oluşumunu önlemek adına yarar sağlamamakta fakat riskli bireyleri tahmin etme açısından daha güçlü bulunmaktadır (27, 29, 30).

Çürük riskinin değerlendirilmesinde iki tür modelden bahsedilmektedir. Çürük risk modeli ve çürük öngörme modeli olarak belirtilen söz konusu modeller arasındaki farkları analiz etmek önemlidir (29). Çürük risk modeli; hastalık için bir ya da birden fazla risk faktörünü belirlemenin önemli olduğu durumlarda kullanılmaktadır. Bu modele geçmişteki çürük deneyimi, ağızda kalan diş sayısı gibi gelecekte çürüğe neden olmayacak etkenler dahil edilmemektedir. Çürük öngörme

modeli ise riskli bireyi belirlemenin önemli olduğu durumlarda kullanılmaktadır. Bu model, hem risk faktörlerini hem de risk indikatörlerini içerebilmektedir (27, 29).

Geçmişte yapılan çürük risk modellerinde çürükle ilişkili tek bir değişken incelenirken, 1980 yılından günümüze kadar modellere çoklu değişkenler eklenmiştir (14). Çürüğün multifaktöriyel bir hastalık olması dolayısıyla risk modellerinin birçok faktörü içermesi risk tahmininde daha iyi sonuçlar vermektedir (27, 29, 31).

Günümüzde çürük riskini belirlemek için kullanılan modellerin geçerliliğinin hala kısıtlı olduğu bildirilmektedir (27, 29, 30). İdeal çürük riski belirleme modelinin hastanın yaşına, diş hekiminin çalışma stiline ve popülasyondaki çürük prevalansına uygun olması gerekmektedir. Ayrıca modelin, tek bir faktör yerine kolay temin edilebilen ve pahalı olmayan ölçümlere dayalı çoklu faktörler içermesi ve bu faktörler içinde geçmiş çürük deneyiminin mutlaka yer alması gerektiği vurgulanmaktadır (27, 30, 31).

2.2. Çürük Risk Faktörleri

Çürük risk değerlendirmesi sırasında göz önünde bulundurulması gereken faktörlerin, çürüğün etiolojisinde de rol oynaması dolayısıyla, çevresel ve genetik faktörler olarak sınıflandırılması uygun olmaktadır (9, 23).

2.3. Çevresel Çürük Risk Faktörleri

Ağız sağlığının iyileştirilmesi için riske dayalı yaklaşımda ve diş çürüğü analizinde model oluşturulmasında göz önünde bulundurulacak çevresel risk faktörleri; geçmiş çürük deneyimi, dental plak, ağız hijyen alışkanlıkları, karyojenik bakteriler, tükürük, florür kullanımı, beslenme alışkanlıkları, sağlık sistemi, eğitim, meslek, cinsiyet, yaş, kalıtım, sosyoekonomik durum, diş hekimine gitme sıklığı, yaşam kalitesi ve genel sağlık durumu başlıkları altında incelenmektedir (32-34).

2.3.1. Geçmiş Çürük Deneyimi

Yapılan birçok epidemiyolojik çalışmada geçmiş çürük deneyiminin gelecekte oluşacak yeni çürükler için önemli risk göstergesi olduğu bildirilmiştir (26, 31, 35, 36). Ayrıca çürük riskinin doğru tahmin edilebilmesinde sadece bu faktörü kullanmanın yeterli olabileceği ifade edilmektedir (36).

Geçmiş çürük deneyiminin DMFT ve DMFS değerleri kullanılarak kaydedilmesi hızlı, basit ve ucuz olması dolayısıyla çoğunlukla çürük tahmin modellerinde kullanılmaktadır (29). Kullanılan bu değerlerden “DMFT”; ‘çürük’ (Decayed-D), ‘kayıp’ (Missing-M) ve ‘dolgulu’ (Filled-F) diş sayısı toplamını ifade etmektedir. Diş yüzeylerini değerlendirmek için ise DMFS kullanılmaktadır (1). Çürük riski değerlendirilirken ayrıca çürük nedeniyle kayıp dişlerin ne zaman kaybedildiklerinin, restorasyonların boyutlarının ve ne kadar süre önce yapıldığının, ağızda bulunan çürük lezyonlarının aktivitesinin ve lokalizasyonunun kayıt altına alınması gerektiği vurgulanmaktadır. Erişkinlerde mevcut DMF değerinin koronal çürüklerin tahmininde çocuklara göre daha az hassasiyet gösterdiği, fakat kök çürüğünün oluşma riskiyle arasında çok yakın ilişki bulunduğu bildirilmektedir (26).

Birçok çalışmada geçmiş çürük deneyiminin belirlenmesinde DMFS değerinin kullanıldığı fakat sadece çürük (DT) ya da sadece dolgulu (FT) diş sayısının ayrı olarak değerlendirilmesi hakkında yeterli bilginin bulunmadığı bildirilmektedir (10). Ayrıca başlangıç çürük lezyonlarını değerlendirmenin gelecekte oluşacak çürüğün tahmininde, sadece çürüklü yüzey (DS) veya sadece dolgulu yüzey (FS) sayısının değerlendirilmesinden daha doğru sonuçlar verdiğine dikkat çekilmektedir. Buna rağmen başlangıç çürük lezyonlarının DMFS hesaplamasına çürüklü yüzey (DS) olarak ilave edilmesinin çürük riskinin tahmininde doğruluğu artırmadığı bildirilmektedir (26).

Geçmiş çürük deneyimi çürük lezyonlarının aktif ya da inaktif olduğu hakkında bilgi vermemektedir (35). Çürük riskinin değerlendirilmesinin yanında çürük aktivitesinin de belirlenmesi gerektiğine dikkat çekilmektedir (36). Çürük aktivitesi çürük lezyonunun ilerleme hızının ölçüsüdür ve temel olarak her çürük lezyonunun aktif veya inaktif olduğu dönemlerinin olduğu belirtilmektedir (26). Çürük lezyonunda plak retansiyonunun varlığı, minenin pürüzlü olması, yumuşak ve nemli dentinin varlığı çürük aktivitesinin belirtileri olarak gösterilmektedir.

Günümüzde çürük aktivitesi öznel olarak değerlendirilebilmektedir. Dolayısıyla gelişen teknolojiyle bu tür lezyonların erken evrede tespit edilmesi koruyucu önlemlerin alınmasına katkı sağlayabilecektir (10).

2.3.2. Dental Plak ve Ağız Hijyeni

Çürük bakteriyel plaktaki metabolik aktivitenin bir sonucu olduğundan dolayı, diş yüzeylerinde plak yok ise çürük meydana gelmez (7). Dental plağın çürük riskiyle ilişkili olup olmadığını erişkinler üzerinde değerlendiren epidemiyolojik çalışmalarda plak miktarı arttıkça çürük riskinin de arttığı belirtilmiştir (13, 14, 18, 26, 27, 36). Buna karşın literatürde plak miktarının çürük riskiyle ilişkili olmadığını saptayan bazı çalışmalar da mevcuttur (27).

Ağız hijyeninin sağlanması için diş yüzeyinde oluşan dental plağın ve yiyecek artıklarının mekanik yolla uzaklaştırılması gerekmektedir (3). Çürük riskinde ağız hijyeninin değerlendirmesi, plak indeksleri ile dental plak miktarı ölçülerek yapılabilmektedir (13, 14, 18, 26, 27, 36). Periodontal sağlığı belirlemek için geliştirilen plak indekslerinin daha çok dişlerin düz yüzeyleri değerlendirmesi ve çürüğün daha çok aproksimalde ve fissürlerde oluşması nedeniyle plak indekslerinin çürük riskini belirlemede etkisinin kısıtlı olduğu belirtilmiştir (26, 36). Çürük riskinde ağız hijyeninin etkinliğini değerlendiren diğer bir yöntem bireyin ağız hijyen alışkanlıklarının sorgulanmasıdır. Bu yöntemin kullanılmasıyla çürük riskinin değerlendiren çalışmalarda ağız hijyen alışkanlıklarının çürük riskinin belirlenmesinde önemli olduğu vurgulanmıştır (27, 37, 38, 39, 40). Buna rağmen ağız hijyen alışkanlıklarının sorgulanmasında, florürlü diş macunlarının içeriğindeki florürün koruyucu etkisi dolayısıyla bireyin mekanik temizliğinin etkinliğini değerlendirmenin zorlaştığı da göz önünde bulundurulmalıdır (26).

2.3.3. Karyojenik Bakteriler

Çürük, çevresel etmenler sonucu normal ağız florasında bulunan mikroorganizmaların patojenite ve oran değişiminden kaynaklanan mikrobiyal bir hastalıktır (36). Günümüze kadar mutans streptokoklar ve laktobasiller

araştırmacıların büyük ilgisini uyandırmış ve söz konusu mikroorganizmaların tükürükteki sayılarının çürük riskinin tahmininde kullanılmaları önerilmiştir (29, 36).

Hem çocuk hem yetişkinler üzerinde yapılan çalışmalarda tükürükteki mutans streptokok sayısı ile çürük lezyonu arasında pozitif ilişki tespit edilmiştir (1, 26). Ayrıca erişkinlerde tükürükteki yüksek laktobasil sayısı ile yeni kök çürüğü gelişimi arasındaki ilişkinin anlamlı olduğu belirtilmiştir (1). Diş çürüğü etiyojisinde rol oynamalarına rağmen, çürük riskinin değerlendirilmesinde mutans streptokok sayımının yüksek ve düşük çürük riskli bireyler için etkin, orta çürük risk grubunda yer alan bireyler için etkin bir yöntem olmadığı ifade edilmektedir (26). Ayrıca mutans streptokok sayım testlerinin gelecekte oluşacak yeni çürüklerin belirlenmesindeki doğruluğunun %50'den az olduğu hatta çürük prevalansı düşük olan toplumlarda bu oranın daha da azaldığı bildirilmektedir (26, 36). Buna ek olarak laktobasil sayım testinin duyarlılığının mutans streptokok sayım testinden daha az olduğu saptanmıştır (36). Dolayısıyla gelecekte oluşabilecek çürüklerin tahmininde sadece tükürükteki bakterileri saptayan testlerin kullanımı tavsiye edilmemektedir. Bununla beraber mevcut tükürük testlerinin hastaları motive etmek ve antimikrobiyal tedavilerin etkilerini gözlemlemeye yardımcı olmak için kullanılabileceği ifade edilmektedir (36).

2.3.4. Florür Kullanımı

Florür kullanımının çürük prevalansını ve çürük lezyonlarının ilerleme hızını önemli ölçüde azalttığı bildirilmektedir (36). Tükürükteki florür konsantrasyonunun çürüğe yatkınlıkla ilişkili olduğu fakat tahmin veya teşhis yönünden çürük riskinin değerlendirilmesinde belirgin bir rol oynamadığı ifade edilmektedir (26).

Florürün diş yüzeyindeki remineralizasyon sürecinde rol oynayan lokal etkisinin, diş oluşumu sırasında sert dokularda florür birikimi olan sistemik etkisi kadar önemli olduğuna dikkat çekilmektedir (26). Düzenli florür kullanımı ağız içindeki florür konsantrasyonunu artırmakta ve çürüğün oluşumunu azaltmada önemli rol oynamaktadır (26). Çocuk veya yetişkinler için florür kullanımının yeterliliği belirlenirken içme suyu, yiyecek ve içecekler, florürlü diş macunu, gargara, tablet gibi preparatların kullanımı ve periyodik olarak gerçekleştirilen

profesyonel florür uygulamaları göz önünde bulundurulmaktadır. Örneğin günde bir kez florürlü diş macunu kullanan hasta düşük risk grubuna dahil edilmiş ve çürük aktivitesine dair bir belirti göstermemişse florürün hasta için yeterli olduğu kabul edilebilir. Yeni lezyonlar görülmeye başlar veya mevcut çürük lezyonlarında ilerleme görülürse florürün hasta için yetersiz olduğu kabul edilmektedir (36).

Florür kullanımı çürük riskinin değerlendirilmesinde koruyucu faktör olarak kabul edilmektedir (36). Florürün çürüğün ilerlemesini geciktirdiği bu nedenle florürsüz diş macunu kullanan kişilerin çürüğün oluşumu açısından yüksek risk grubunda yer alabileceği ifade edilmektedir (29). Ayrıca çürükten korunmada özellikle sosyal açıdan geri kalmış bölgelerdeki suları florlanmanın yarar sağladığı vurgulanmaktadır (29).

2.3.5. Tükürük

Tükürük akış hızı ve kalitesi hem çürüğün meydana gelmesinde hem de remineralizasyonda önemli rol oynamaktadır (1). Birçok çalışmada tükürük akış hızının çürük oluşma riskini etkilediği belirtilmektedir (29). Ayrıca yaş veya kullanılan ilaçlara bağlı olarak gözlenen tükürük akış hızının düşük olmasının, çürük riskini ve çürük aktivitesini artırdığı ifade edilmektedir (1, 26).

Tükürük, plak mikroorganizmaları tarafından oluşturulan asit sonucu ağız ortamında pH oranındaki düşüşü tamponlama görevini üstlenir (26, 36). Yüksek tamponlama kapasitesinin kök ve koronal çürük riskini azalttığı bildirilmektedir (26). Bununla beraber tükürüğün tamponlama kapasitesinin akış hızına paralel seyrettiği vurgulanmaktadır. Ayrıca çürük riskinin belirlenmesinde tükürük ile protein konsantrasyonu, değişik iyonlar veya enzim aktiviteleri gibi diğer faktörlerin öneminin az olduğu belirtilmektedir (26).

Tükürük, çürüğün meydana gelmesi ve ilerleyişine karşı koruyucu birçok fonksiyona sahiptir. Çürük riskinde tükürüğü değerlendirilebilmek için hastanın ağzının sık kuruması, yiyecekleri çiğnerken zorlanıp bu esnada sıvı alma ihtiyacı hissetmesi gibi öznel şikayetleri göz önünde bulundurulmaktadır. Buna ek olarak, diş hekimi tarafından tükürük salgılanma oranının azlığı sonucu ortaya çıkabilecek hastaya ait ağız içi semptomlar değerlendirilmektedir. Kronik olarak tükürüğün az

salgılanmasının çürük oluşumu riskini artırması dolayısıyla söz konusu duruma neden olabilecek yaş, genel sağlık durumu, kullanılan ilaçlar, baş ve boyun radyoterapisi gibi etkenlerin dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır. Çürük riskinin tahmininde uyarımsız tükürük akış hızı ölçümünün güçlü bir geçerliliğe sahip olduğu bildirilmektedir. Ayrıca şekersiz sakız çiğneme önerisi veya pilokarpin önerisi gibi koruyucu tedavilerin etkinliğini belirleyebilmek için parafin kullanılarak uyarılmış tükürük akış hızının ölçülmesi tavsiye edilmektedir (36).

2.3.6. Beslenme Alışkanlıkları

Karbonhidrat diş çürüğünün meydana gelmesinde önemli bir etiyolojik faktördür (36). Karbonhidrat içeriğinden zengin bir beslenme, kötü ağız hijyenine sahip bireylerde çürük oluşumu açısından önemli risk faktörü olarak kabul edilirken, aynı beslenme düzenli ağız bakımına sahip, florür preparatları kullanan kişilerde zayıf etkili bir risk faktörüdür (1).

Hastaların beslenmesi değerlendirilirken besinlerin karyojenik özelliğini etkileyen hastaya ve yiyeceklere ait unsurların önemine vurgu yapılmaktadır. Beslenme özelliklerini değerlendirebilmek için hastaya beslenme alışkanlıklarıyla ilgili sorular yöneltilmektedir. Değerlendirmede özellikle ara öğünlerde ve gece geç saatlerde atıştırılan gıdalara ayrıca beslenmesindeki şekeri alım şekline odaklanılması gerektiğine dikkat çekilmektedir. Eğer hastanın çürük açısından riskli olduğu düşünülürse ek olarak uzun dönem beslenme analizi yapılması önerilmektedir. Bu amaçla 24 saatlik, 3, 5 veya 7 günlük besin alımını kaydetme yöntemleri kullanılmaktadır (36).

Sonuçta hastaların beslenme alışkanlıklarının kritik olarak değerlendirilmesi gerektiği fakat değerlendirmenin sadece hastanın beyanı doğrultusunda gerçekleşmesi dolayısıyla beslenmenin çürük riskinde düşük öngörüye sahip olduğunun unutulmaması gerekmektedir (26). Ayrıca çürük riskinin değerlendirilmesinde belirleyici faktör olarak sadece beslenmenin yeterli olmadığı bunun yanında hastanın ağız hijyeninin, karbonhidrat tüketim sıklığının ve şeklinin de göz önünde bulundurulması gereken unsurlar olduğu vurgulanmaktadır (36).

2.3.7. Modifiye Çürük Risk Faktörleri

Yaş, cinsiyet ve kalıtımın yanında sağlık sistemi, eğitim, meslek, sosyoekonomik durum, yaşam tarzı gibi unsurları barındıran sosyokültürel risk faktörleri ve diş hekiminin hastasına uyguladığı tedavi, hastaların sağlık tutumları, genel sağlık durumu modifiye çürük risk faktörleri olarak değerlendirilmektedir.

Çürük riski belirlemede hedef alınan yaş grubunun önemli olduğu ifade edilmektedir (27). Farklı yaş gruplarında farklı risk etkenleri ortaya çıkmaktadır. Özellikle birinci molar dişlerin sürdüğü 5-8 yaşları arası, ikinci molar dişlerin sürdüğü 11-15 yaşları arası ve üçüncü molar dişlerin sürdüğü 19-22 yaşları arasındaki bireyler çürük açısından riskli gruptadır. Bunun yanında mine olgunlaşmasını tamamlamamış yeni sürmekte olan dişlerin okluzal plana ulaşımına mine olgunlaşmalarını tamamlayana kadar özellikle pit ve fissür yüzeyleri çürüğe yatkın olmaktadır (26, 29, 36). Yaşlı bireylerde ise restorasyon sayısının fazla olması sonucu plak retansiyonu artmakta ve periodontal hastalıklar sonucu açığa çıkmış kök yüzeyleri kök çürüklerine karşı hassas olmaktadır (29).

Cinsiyet ve kalıtım çürük riski açısından araştırılan risk faktörleridir. Çocukluk ve ergenlik döneminde kızların DMF skorlarının erkeklerden daha yüksek olduğu bildirilmektedir (26, 29). Buna ek olarak kadınlar, erkeklere göre çürüğe karşı daha fazla hassasiyet göstermektedir. Bunun sebebi olarak, kadınların tükürük akış hızı ve içeriğinin daha az koruyucu özellikte olması, beslenme alışkanlıklarındaki farklılıklar ve hamilelik dönemindeki hormonal değişiklikler gösterilmektedir. Ayrıca genel olarak kadınların ağız hijyeni daha iyi ve çekilen diş sayısı erkeklerden daha az olarak gösterilmektedir (26, 29).

Mine formasyonunu düzenleyen protein olan amelogeninin X kromozomunda bulunan AMELX geni tarafından kontrol edilmesi ve bu gendeki varyasyonların minenin düzensiz oluşmasına sebep olarak çürüğe karşı hassasiyeti artırdığı bildirilmektedir. Kadınlardaki cinsiyet kromozomunun X olması dolayısıyla kadınların erkeklere göre çürük açısından daha riskli olduğu bildirilmektedir (41). Ayrıca dişin yapısı, morfolojisi, ark şekli, diş dizisi gibi bireye ait kalıtsal özelliklerin yeni oluşacak çürüklerin tahmininde önemli faktörler olabileceği bildirilmektedir (1, 10).

Toplumun sağlık sistemi diş hekimini tarafından yapılacak olan tedaviyi dolayısıyla bireylerin şurük riskini etkilemektedir. Bireylerin ağız ve diş sağlığı sigortası toplumun sağlık sistemine göre şekillenir. Diş şurüğü tedavisinin içinde yalnızca restorasyon uygulamalarının değil ayrıca koruyucu uygulamaların da bulunması önerilmektedir (26, 29).

şurük riskinin değerlendirilmesinde eğitim ve meslek iki önemli sosyal faktördür (26). Eğitimin özellikle yüksek şurük prevalansı ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (33). Ailenin ağız ve diş sağlığı hakkında bilgili olması ve kendi ağız hijyen bakımları çocuklarını bu konuda etkilemektedir. Göçmen ailelerde, yer ve alışkanlıkların sürekli değişiyor olması dolayısıyla şekerli gıdalarla atıştırmanın artması sonucu yüksek şurük riski gelişebilmektedir. Meslek olarak ekmek, şeker ve şokolata fabrikalarında çalışan işçilerin diğer endüstrilerde çalışanlara göre daha fazla şurük prevalansına sahip olduğu bildirilmektedir (26).

Sosyoekonomik durumun şurük prevalansı ile yakından ilişkili olduğu düşünölmektedir (26, 29). Sosyoekonomik düzeyi düşük olan topluluklarda yüksek olanlara göre daha fazla şurük görölmektedir. Bunun nedeni diş tedavisi hizmetlerinin pahalı olmasıyla değil sosyoekonomik düzeyi yüksek olan bireylerin ağız ve diş sağlıklarına verdikleri önemle açıklanmaktadır (36). Düşük geçmiş şurük deneyimine sahip erişkinlerin sosyoekonomik düzeyleri incelendiğinde bu gruptaki bireylerin düzenli koruyucu tedavi uyguladıkları ve düzenli diş ipi kullandıkları bildirilmektedir (33). Sosyoekonomik koşulların erişkinlere oranla çocuklarda daha güçlü bir şurük riski belirleyicisi olduğu belirtilmiştir (36).

Yaşam kalitesi şurük riski değerlendirilmesinde göz önünde bulundurulan diğer bir sosyodavranışsal faktördür. Erişkinlerde yaşam kalitesinin düşük olduğu belirtilen kişilerin; şehirli, kadın, maddi geliri az, eğitim seviyesi düşük, diş hekimini kontrolüne düzensiz giden, ağız hijyeni zayıf olan bireyler olduğu gösterilmiştir (33).

Diş hekiminin hastasına uyguladığı tedavi şekli hastanın şurük riskini etkilemektedir. Ayrıca diş hekiminin akademik bilgisi, güncel yenilikleri takip etmesi, koruyucu uygulamalar hakkındaki bilgisi ve modern teknikleri kullanması hastanın aldığı tedaviyi değerıstirmektedir (26, 29).

Hastaların sağlık tutumlarının şurük hassasiyetinde etkili olduğu vurgulanmaktadır. Sağlık konusunda bilinçli olan bireylerde şurük insidansının az

olduğu, özellikle beslenme alışkanlıkları ve düzenli diş hekimi kontrolleri gibi davranışsal olguların çürüğe yatkınlığı ve çürük riskini etkilediği bildirilmektedir (1, 26, 33).

Genel sağlık durumu ve kullanılan ilaçlar çürük riskinin değerlendirilmesinde modifiye edici risk faktörleridir. Tükürük akış hızının azalmasıyla ilişkili Sjögren sendromu, kontrolsüz diyabet gibi hastalıklar ve antidepresanlar, antihipertansifler türündeki ilaçların tükürük akış hızını azaltması dolayısıyla çürük gelişme riskini artırabildiği bildirilmektedir (36). Düzenli yapılması gereken ağız hijyenini etkileyen mental ve fiziksel engeller veya karbonhidrattan zengin beslenme gerekliliği çürük riskini etkileyebilmektedir (26). Ayrıca özellikle kemoteröpatiklerin diş mineralizasyonunu bozarak çürük prevalansını artırmaktadır (26). Bununla beraber uzun dönem düzenli olarak kullanılan içeriğinde glukoz, fruktoz veya sukroz olan ilaçlar çürük riskini artırmaktadır (36).

2.4. Genetik Terminoloji

Genetikle ilgili konuların anlaşılabilmesi için genetik terminolojide sıkça kullanılan bazı terimlerden bahsetmek önemlidir. Genom, bireyin ya da bir hücrenin taşıdığı tüm genetik materyale verilen isim olarak ifade edilmektedir. Tüm organizmalar ve bazı virüslerin canlılık işlevleri ve biyolojik gelişmeleri için gerekli olan genetik bilgileri taşıyan Deoksiribonükleik asit (DNA) molekölü ise; hücre çekirdeğinde kromozom denen ve hücre bölünmesi aşamasında görünür hale gelen ipliksi yapılar üzerinde yer almaktadır (42). Birbirini tamamlayıcı ikili sarmal yapıda uzun bir polimer olan DNA'nın temelini şeker ve fosfat grupları oluşturur. Ayrıca nitrojen içeren nükleotid bazları olan adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve timin (T) ise şeker yapısına bağlanmaktadır. Nükleotid baz çiftlerinin farklı diziler halinde sıralanması ile genetik bilgi oluşmaktadır (43).

Hücrelerin ve dokuların fonksiyonları için, DNA üzerinde protein kodlayan sınırlı bölgeler gen olarak ifade edilir (42). Genlerin ifade edilmesi proteinlerin kodlanması ile gerçekleşir. Protein kodlanması önce yazılım (transkripsiyon) ardından protein sentezi (translasyon) olmak üzere 2 basamakta gerçekleşmektedir. Transkripsiyon; DNA çift sarmalından birisinin şablon olarak kullanılmasıyla baz

sırasının tek zincirli mesajcı Ribonükleik asit (mRNA) molekülüne yazılımdır. Bu esnada DNA üzerinde bulunan 3'lü baz dizisine kodon adı verilen birim ortaya çıkmaktadır. DNA molekülündeki gen dizilerinin polipeptid zincirindeki aminoasit dizisine dönüşmesine translasyon adı verilmektedir (43).

Her gen, biri anneden diğeri babadan gelen ve alel olarak ifade edilen 2 alternatif kopyadan oluşmaktadır. Herhangi bir genin, bir kromozom üzerinde yerleştiği bölge ise lokus terimi ile isimlendirilmektedir (44). Haplotip terimi ise, kromozomlar üzerinde birbirleriyle ilişkili lokuslardaki DNA dizisine verilen isimdir. Popülasyonda %1 veya daha fazla sıklıkta görülen DNA dizi değişiklikleri polimorfizm olarak, %1'den daha az sıklıkta görülenler ise mutasyon olarak adlandırılmaktadır (43, 45). Polimorfik dizi varyantlarının, genelde gen dizilerinin dışında kalan DNA bölgelerinde bulunduğu için herhangi bir hastalığa neden olmadıkları ancak bazı hastalıklar ile paralellik gösterdikleri durumlarda genetik markör olarak kullanıldıkları belirtilmektedir. Polimorfizme örnek olarak popülasyondaki A, B, 0 kan grupları ve *Rh* faktörü gösterilmektedir (43). Tek nükleotid polimorfizmleri (TNP), bireyler arasında DNA dizilerindeki tek nükleotid değişiklikleridir. Tek nükleotid değişikliği sonucu sentezlenen proteindeki aminoasit farklılığı veya sentezlenen protein miktarında değişiklik olabilir (43).

2.5. Genetik Çalışmalar

Genetik temelli multifaktöriyel hastalıkların anlaşılmasının zor olmasından dolayı araştırmacılar genetik temelli hastalıkları tanımlamak ve değerlendirmek için birçok farklı çalışma yapmaktadır (46). Diş çürüklerinin genetik temelini anlaşılması için günümüze kadar yapılan çalışmalar aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir (9):

- 1- Bakteri genetiğinin araştırılması
- 2- Konak genetiğinin araştırılması
 - a) Deneysel hayvan çalışmaları
 - b) Gözlemsel araştırmalar
 - Ailesel yığılım araştırmaları
 - İkiz çalışmaları

c) Bağlantı ve ilişki analizleri

- Hayvan çalışmaları

- İnsan çalışmaları (Gen polimorfizmi çalışmaları)

Bakteri Genetiğinin Araştırılması

Çürüğün genetik yönlerini araştıran 1970 ile 1990 yılları arasındaki çalışmaların büyük çoğunluğu karyojenik bakterilerin gen varyantları üzerinde durmaktadır (9). Bu çalışmalarla, karyojenik bakterilerin genetik yapılarının deşifre edilmesiyle bakterilerin diş çürüklerine neden olan metabolizmalarının aydınlatılması, yeni ve etkin tedavilerin uygulanması amaçlanmaktadır (47). Çalışmalarda mutans streptokok ve çürüğe yatkınlıkla ilişkili diğer suşları araştırılmış ve birçok *S. mutans* türlerinin diş çürüğünü etkilediği belirtilmiştir (9).

Konak Genetiğinin Araştırılması

Deneyisel Hayvan Çalışmaları

Farklı fare suşları ile yapılan çalışmalar çürüğe yatkınlıktaki farklılığın genetik faktörler nedeniyle olabileceği hipotezini desteklemektedir. Genetik olarak heterojen yapıdaki farelerin aynı çevre koşullarında çürüğe farklı yatkınlık ve direnç gösterdiği belirtilmektedir. Ayrıca fareler üzerinde yapılmış araştırmalarda farelerdeki 2, 8 ve 17. kromozomun diş çürüğü ile bağlantılı olduğu saptanmıştır (9).

Gözlemsel Araştırmalar

Ailesel Yığılım Araştırmaları

Ailesel yığılım çalışmaları hastalığın genetik bağlantısını tanımlamak için ilk adım olarak belirtilmektedir (46). Diş çürüğünün ailesel yığılımını inceleyen çalışmalar ilk olarak 1938 yılında başlamıştır. Bu çalışmada geçmiş çürük deneyimine göre hiç çürüğü bulunmayan ve geçmiş çürük deneyimi yüksek olan çocukların kardeşleri incelenmiştir. Buna göre çürüksüz çocukların kardeşlerinde, yüksek çürüklü çocukların kardeşlerine göre daha düşük oranda çürük gözleendiği ifade edilmiştir. Bu yönde yapılan diğer bir çalışmada, dişleri bulunan ve hiç dişi bulunmayan annelerin çocukları karşılaştırmış sonuçta hiç dişi bulunmayan annelerin çocuklarının süt ve kalıcı dişlerinde daha fazla çürük saptandığı belirtilmiştir (9).

İkiz Çalışmaları

Tek yumurta ikizleri birbirleriyle aynı genetik özellikleri göstermektedir. Bu nedenle ikizler bir genetik hastalığın çevresel faktörlerden ne kadar etkilendiğini araştırmak için mükemmel bir olanak sunmaktadır. Çift yumurta ikizleri ise genetik olarak birbirlerine %50 oranında benzerlik göstermektedir. Tek yumurta ikizlerinde görülen hastalıklardaki farklılıklar tamamen çevresel faktörlerden kaynaklanırken çift yumurta ikizleri arasındaki hastalık farklılıkları çevresel ve genetik farklılıkların birleşiminden kaynaklanmaktadır. İkiz çalışmalarından elde edilen sonuçlar bir fenotipe genotipin ne oranda etki ettiğini hesaplamakta kullanılabilir (46). Günümüze kadar çürüğün genetik temelini araştıran çok sayıda ikiz çalışması yapılmıştır. Bununla ilgili olarak, tek yumurta ikizlerinde çürük oluşum insidansının çift yumurta ikizlerine göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Ayrıca ikiz çalışmalarıyla çürükteki genetiğin rolünün %70 oranında olduğu ifade edilmektedir (9).

Bağlantı ve İlişki Analizleri

Bağlantı analizlerinin amacı bir hastalıktan sorumlu olduğu bilinen bir genin kromozom üzerindeki yerini tespit etmektir (46). Bağlantı analizi ile aynı kromozom üzerinde birbirine yakın yerleşmiş iki bölgenin anne ve babadan çocuğa aktarılırken bir arada geçiş olasılığı hesaplanmaktadır (48). Analiz genellikle mutant gen adı verilen hastalığın oluşumuna sebep olan gen ve polimorfizm ile tespit edilen genetik markör arasında ilişki kurmaktadır (46).

Hayvan Çalışmaları

Hayvan modelleri kullanılarak gerçekleştirilen genetik araştırmaların amacı çürüğe yatkınlık veya çürüğe karşı direnç ile ilişkili polimorfizmlerin araştırılması, bunun yanında çürükle ilişkili genlerin ve genomik bölgelerin tespit edilmesidir (9). Bu konuda yapılan bir çalışmada farelerde çürük ile ilişkili olarak, bağışıkta rol oynayan büyük doku uygunluk kompleksi (*MHC*) haplotipinin 2., 8. ve 17. kromozomlarda yer aldığı tespit edilmiştir. Bağışık yanıtın çürük gelişimini etkileyebileceği hipotezinden yola çıkılarak yapılmış başka bir çalışmada ise,

sistemik olarak lenf nodlarının şişmesine neden olan lenfoproliferatif genin çıkarıldığı nokaut adı verilen farelerde daha yüksek oranda çürük oluşumunun gözlemlendiği belirtilmektedir (9).

2.5.1. Gen Polimorfizmi Çalışmaları

Çürükteki multifaktöriyel kalıtımın rolü 1970'lerden günümüze kadar tartışılmaktadır. Muhleman 1972 yılında bazı genlerin mine yüzeyini etkilediğini diğer bir grup genin tükürük kompozisyonu ile ilişkili olduğunu ve bazı genlerin ise enfeksiyona karşı bağışık yanıtın oluşmasında görev aldığını ileri sürmüştür. Buna rağmen insanlarda çürükle ilişkili genomik bölgelerin tespiti ve gen polimorfizmleri ile ilgili çalışmalar yakın geçmişte başlayabilmiştir (9).

Diş çürükleri ile ilgili ilk bağlantı analiz çalışması 2008 yılında gerçekleştirilmiştir. Çürükle ilişkili genomik bölgelerin tespiti için yapılan genom taraması sonucu düşük çürük yatkinlığıyla ilgili üç adet (5q13.3, 14q11.2, ve Xq27.1), yüksek çürük yatkinlığıyla ilgili iki adet (13q31.1 ve 14q24.3) lokus tespit edilmiştir. Söz konusu genlerin tükürük akış hızı, beslenme tercihi ve bağışıklık sistemi ile ilgili olabileceğinin altı çizilmiştir (9, 20). Bu çalışmanın devamı niteliğinde son yıllara ait bir araştırmada 14q11.2 lokusuna ait bağışık yanıtın oluşmasında görev alan *TRAV4* geni incelenmiştir. Sonuçta *TRAV4* geninin çürükten korunmada rol oynayabileceği bildirilmektedir (49).

Hayvan modelleri kullanılarak diş çürüklerinin polimorfizm ile ilişkilendirildiği çalışmalar 1980'li yıllarda başlasa da insanlar üzerindeki ilk çalışma 2005 yılında yayınlanmıştır (9, 23). Günümüze kadar mineralizasyon, tükürük proteinleri, bağışıklık sistemi ve tat alma ile ilgili gen polimorfizmleri ve çürük arasındaki ilişki araştırılmıştır.

2.5.2. Mineralizasyon ile İlişkili Genler

Mine formasyonunun genetik olarak kontrol edilmesi dolayısıyla diş boyutu, diş morfolojisi ve dişin çürüğe yatkinlığı bireyin kalıtsal özelliklerinden etkilenmektedir (21). Bu nedenle mine formasyonunda görev alan proteinleri

kodlayan genler ile çürüğe yatkınlık arasında ilişki olabileceği belirtilmektedir (22, 23, 24, 50, 51). Günümüze kadar çürükle ilişkisi araştırılan amelogenin, enamelin, tuftelin, ameloblastin ve kallikrein proteinleri minenin mineralizasyonunda, sialofosfoprotein ise dentinin mineralizasyonunda rol oynamaktadır (23, 24, 50, 52, 53).

Minenin organik matriksinin %90'ını prolinden zengin protein olan amelogenin oluşturmaktadır (21, 53). Minenin gelişimi sırasındaki mineralizasyona katılan amelogenin proteini *AMELX* geni tarafından kodlanmaktadır (50, 54). Bu nedenle amelogenin proteininin mine dokusunun oluşumu için önemli olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca bu proteindeki normalin dışındaki genetik değişiklikler minenin yapısını değiştirerek mineral kaybına ve mine yüzeyinde biyofilm tabakasının artışına sebep olabilmektedir (24). Mineralizasyonda etkili diğer bir protein olan enamelin olgunlaşmış organik matrikste bulunmakta ve mine formasyonunda görev almaktadır (53). Enamelin proteini *ENAM* geni tarafından kodlanmaktadır (23, 24, 50). Mineralizasyonunun başlamasında rol oynayan tuftelin proteinini ise *TUFT1* geni tarafından kodlanmaktadır. Diğer bir protein olan ameloblastin diş gelişimi sırasında mine kristallerinin uzamasını kontrol etmektedir. Ameloblastin proteini *AMBN* geni tarafından kodlanmaktadır. Minenin maturasyonundan sonraki mine tabakasının oluşmasında matriks minerallerinin düzenli yerleşimini kolaylaştıran protein kallikreindir. Bu protein *KLK4* geni tarafından kodlanmaktadır (23, 53).

Diş çürüğü ve *AMELX*, *AMBN*, *TUFT1*, *TFIP11* ve *KLK4* gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı 3-5 yaşlarındaki çocuklarda çürük ve incelenen genler arasında ilişkinin bulunmadığı ifade edilmektedir. Ayrıca *TUFT1*- *T* alelinin çürük oluşumuna mutans streptokok kolonizasyonu ile birlikte neden olabileceği vurgulanmaktadır (23). Bu sonucun aksine aynı genlerin kullanıldığı farklı yaş grupları üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda *AMELX*, *AMBN* ve *TUFT1* polimorfizmlerinin çürükle ilişkili bulunmaktadır (24, 50, 55). Ayrıca *ENAM* genindeki polimorfizm mutans streptokok varlığında çürükle ilişkili olabilmektedir (21, 24). Çürüğe karşı duyarlılıkta *AMELX* alelinin erkeklerde *AMELY* tarafından kompanse edilmesi erkeklerin kadınlara göre daha az çürük hassasiyeti göstermesini açıklamaktadır (21, 49).

Matriks metalloproteinaz minenin oluşumu esnasında hücre matriks etkileşiminin düzenlenmesi ve dokuların yeniden şekillenmesi işleminde rol almaktadır. Matriks metalloproteinazlar *MMP* geni tarafından kodlanmaktadır. (23, 24, 50, 52, 53). Kötü ağız hijyenine sahip çocuklarda *MMP20* genindeki varyasyonlar, geçmiş çürük deneyimi ile ilişkili olabilmektedir (25).

Dentinin mineralizasyonunda görev alan fosfoprotein ve dentinde bulunan sialoprotein birleşmesi sonrasında oluşan dentin sialofosfoproteini kodlayan gen *DSPP* ile diş çürüğü arasında ilişki olabileceği ifade edilmektedir (42).

2.5.3. Tükürük Proteinleri ile İlişkili Genler

Tükürük proteinlerini kodlayan genler ile çürüğe yatkınlık arasında ilişki olabileceği bildirilmektedir. Günümüze kadar tükürük proteinlerinden karbonik anhidraz 6, prolinden zengin protein, müsün ve aquaporini kodlayan genlerin çürükle ilişkisi araştırılmıştır (52, 56, 57, 58).

Karbonik anhidraz 6, tükürük ve diğer vücut sıvılarında bulunan karbonik anhidraz enziminin salgı formudur. Bu enzim ilk defa parotis ve submandibular bezlerin seröz hücreleri tarafından üretilen tükürük içinde tanımlanmıştır. Tükürükteki karbonik anhidraz 6'nın dental plağa penetre olarak tükürük bikarbonatı ile asit nötralizasyonunu kolaylaştırdığı ifade edilmektedir. Bikarbonat sistemi tükürüğün tamponlama kapasitesine katkıda bulunan ana tampondur. Bikarbonat iyonlarının plak bakterileri tarafından üretilen laktik ve asetik asiti nötr hale getirerek bu şekilde demineralizasyonu azalttığı bildirilmektedir (57, 59). Karbonik anhidraz 6, *CA6* geni tarafından kodlanmaktadır. Diş çürüğü ve *CA6* gen polimorfizmi arasında ilişki bulunmamasına rağmen, tükürük tamponlama kapasitesi *CA6* genindeki polimorfizmden etkilenebilmektedir (57).

Tükürük protein kompleksi adı verilen genler tarafından kodlanan prolinden zengin proteinler tükürük proteinlerinin %37'sini oluşturmaktadır. Prolinden zengin proteinler mutans streptokok türü bakterilerin diş yüzeyinde koloni oluşturarak biyofilm tabakasını meydana getirmelerini kolaylaştırmaktadır (21, 60). Dolayısıyla çürüğe yatkınlık ve mutans streptokok kolonizasyonu arasındaki ilişki büyük oranda genetik varyasyon ile açıklanmaktadır (21). Bireylerin farklı geçmiş çürük

deneyimine sahip olmasına sebep olan tükürükteki polimorfik, asidik prolinden zengin proteinler *PRH1* ve *PRH2* genleri tarafından kodlanmaktadır (21). Beyaz ırkta *PRH1* genine ait Db alelinin bulunmaması çürük oranlarını artırmıştır (60). Ayrıca Pa ve Pr22 genotipine sahip olmak, daimi dişlerde çürük oluşma riskini yükseltmektedir (21).

Tükürük savunma elemanları ağız sağlığının sürdürülmesi ve çürükten korunmada önemli rol oynamaktadır. Tükürük salgısı içinde bulunan antimikrobiyal peptidler (AMP) mikroorganizmaların geniş spektrumlarına karşı ilk savunma hattını oluşturan doğal antibiyotiklerdir. Bu peptidlerin önemi özellikle mikrobiyal floranın sürekli hakim olduğu ağız içinde öne çıkmaktadır (21). Yapısal özelliklerine göre antimikrobiyal peptidleri defensinler, histatinler ve katelisidinler olarak sınıflandırmak mümkündür (21, 61). Alfa defensinler grubunda yer alan insan nötrofil peptidlerinin (HNP1-3) tükürük içindeki seviyeleri genetik olarak kontrol edilmektedir. Bu seviyenin düşük olması, çocuklarda çürük riskini değerlendirmek için kullanışlı bir veri olarak sayılabilmektedir (21).

Tükürük bileşenleri ile çürük oluşumunun ilişkisine yönelik incelenen başka bir tükürük proteini ise müsindir. Müsin proteininin en önemli görevi diş yüzeyine bakterilerin kolonizasyonunu engellemesidir. Yapılan çalışmalarda çürük oluşumu ile müsün proteinini kodlayan *MUC7* geni arasında bir ilişki bulunamamıştır (56).

Tükürükte bulunan aquaporin proteinleri diş gelişiminde ekstrasellüler matriksin su alımı sırasında rol oynamaktadır. Aquaporin 5 proteini *AQP5* geni tarafından kodlanmakta ve tükürük salgısında görev almaktadır. Farelerde *AQP5* eksikliği tükürük akışını azaltarak çürüğe yatkınlıkla ilişkilendirilmiş, insanlarda ise bu gendeki çürüğe karşı koruyucu özellik taşıyan aleller tespit edilmiştir (52).

2.5.4. Bağışıklık ile İlişkili Genler

Diş çürüğünün enfeksiyöz bir hastalık olması sebebiyle insanların bağışıklık sistemlerini kontrol eden genler ve çürük arasındaki ilişkinin araştırılması önemlidir (62). Ağız içi dokularında ve diğer organlarda bağışık sisteminin temel unsurları olarak bulunan beta defensinler konağın enfeksiyöz patojenlere karşı ilk savunmasında rol alan antimikrobiyal etkili peptidlerdir (62, 63). Dişeti oluşu sıvısı

ve tükürükten salgılanan beta defensin 1 (*DEFB1*) proteinine ait gen aktarımındaki değişiklikler periodontal hastalığa ve diş çürüğüne neden olabilmektedir (62). Diş çürüğü ve *DEFB1* gen polimorfizmi arasında anlamlı ilişki tespit edilmesi dolayısıyla araştırmacılar, söz konusu polimorfizmin çürük riskinin klinik göstergesi olarak sayılabileceğini ifade etmektedir (62).

Bağışık yanıtın oluşmasında önemli rol oynayan büyük doku uygunluk kompleksi (*MHC*) insan lökosit antijeni (*HLA*) olarak da adlandırılmaktadır (21). Bu moleküllerdeki değişikliklerin mikroorganizmalara karşı farklı bağışık yanıtı sebep olarak çürüğe yatkınlığı artırabildiği bildirilmektedir (21, 64). Ayrıca mutans streptokok seviyesinin *MHC* molekül geni tarafından kontrol edildiğine dair çalışmalar mevcuttur (21, 64).

Bağışıklık ile ilişkili genler ile çürük oluşumunun ilişkisine yönelik incelenen diğer savunma elemanları, erken çocukluk döneminde önemli rol oynayan mannoz-bağlayıcı lektin (*MBL*) ve bakteri ligandı (*CD14*) gen polimorfizmleridir. Diş çürüğü ve *MBL* gen polimorfizmi arasında ilişki gözlenmezken, bakteri ligandı *CD14* genindeki *CD14-260:TT* genotipi, çürüğün neden olduğu abse veya fistül oluşumunda koruyucu rol oynamaktadır (65, 66).

2.5.5. Tat Alma ile İlişkili Genler

Beslenmenin diş çürüğü patojenitesinde rol oynadığı ve şeker tüketiminin bireylerin önemli ölçüde genetik olarak kontrol edilen tat tercihlerinden etkilendiği bildirilmektedir (67). Günümüze kadar çürük ve tat alma ilişkisine yönelik incelenen gen polimorfizmleri, guanin nükleotid bağlayıcı protein (G proteini) ve tat reseptör genlerine aittir (55, 68). Guanin nükleotid bağlayıcı protein *GNAT3* geni tarafından kodlanarak tat reseptörlerinden gelen sinyali tat tomurcuklarına iletmektedir. Tat reseptörlerinden olan ‘tip 1, 2. üyesi’ *TAS1R2* geni tarafından kontrol edilmektedir. Bu reseptör tatlı tadını algılamaktadır (55). Tat reseptörlerinden ‘tip 2, 38. üyesi’ ise *TAS2R38* geni tarafından kodlanmakta ve acı tadını algılamaktadır (68). Buna ek olarak *TAS2R38* genindeki değişiklikler bireyleri fenotipik üç gruba ayırmaktadır. Bu gruplar; süper tadıcılar, orta seviyedeki tadıcılar ve tat almayanlar olarak sıralanmaktadır. Bireyler arası acı tadının algılanmasındaki fenotipik farklılıkların

TAS2R38 geni tarafından kontrol edilen acı duyusunun propiltiurasil (PROP) ve feniltiokabamid (PTC) gibi acı tadıyla kimyasal olarak ilişkili bileşiklerin farklı algılanması sonucunda meydana geldiği bildirilmektedir (68). Bireylerin tat profillerini ölçmek için PROP şeritleri kullanılabilir. Bu şerit dil yüzeyine bastırıldığında süper tadıcı birey tat almayan bireye kıyasla tadı çok acı olarak algılamaktadır (69). Süper tadıcı bir bireyin, tat almayan bireye göre dilin ön bölgesinde daha çok tat tomurcuğuna sahip olduğu, acı ve şeker gibi tatları daha fazla algıladığı bildirilmektedir (68,69). Bu yönde yapılan bir çalışmada süper tadıcı bireylerin daha az şekerli yiyecek sevdiği ve geçmiş çürük deneyiminin tat almayan bireylere göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır (69).

Tat alma ile ilişkili genlerindeki polimorfizmler değerlendirildiğinde *TAS2R38* ve *TAS1R2* polimorfizmlerinin çürük riskiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (55, 68).

2.6. Çürük Risk Değerlendirmesinde Gen-Çevre Etkileşimi

Günlük yaşamımızda hastalıkların nedeni veya nedenleri konusunda karşılaşılan en sık sorulardan birisi; hastalıklara genlerimizin mi yoksa çevremizin mi neden olduğu sorusudur. Bu alanda yapılan çalışmalar; sadece gen ve sadece çevrenin belirleyici olduğu hastalıkların yanında her ikisinin birlikte fakat farklı oranlarda belirleyici olduğu hastalıkların da bulunduğunu göstermiştir. Toplumlarda yaygın olarak görülen hastalıklara karşı duyarlılığın temelinde yatan birincil etken, genetik farklılıklar ve bu farklılıkların çevreyle olan etkileşimidir. Fenilketonuri, orak hücre anemisi gibi metabolik hastalıkların büyük çoğunluğu tek gen hastalıklarıdır. Bu türden hastalıkların ortaya çıkmasında çevresel faktörlerin etkisi çok azdır. Bunun aksine evinde otururken çatısına yıldırım düşmesinden dolayı yaralanan bir insanın sahip olduğu genler, hiçbir şekilde bu olayın nedeni değildir ve olay sadece çevresel koşulların sebep olmasıyla açıklanmaktadır. Diş çürüğü, kanser, yaşlanma gibi birden fazla genin etkili olduğu ve bu genlerin çevreyle etkileşimi sonucu ortaya çıkan multifaktöriyel ve poligenik kalıtım modeli gösteren hastalıklarda ise gen-çevre etkileşimi oldukça önemlidir (42, 43).

Diş çürüğü multifaktöriyel bir hastalıktır. Aynı çevresel faktörlere maruz kalan bireylerde çürük oluşma oranlarındaki farklılıklar bireylerin genetik özelliklerinden kaynaklanmaktadır (9). Dolayısıyla diş çürüğü üzerine gen ve çevre etkileşimini araştıran çalışmalarda genetik faktörlerin çevresel faktörlerle birlikte çürük oluşumuna nasıl etki ettiği incelenmektedir. Bu konuda günümüze kadar yapılmış olan çalışmalarda mutans streptokok kolonizasyonu ile birlikte mineralizasyonda rol alan bazı genlerinin çürük oluşumunu artırdığı belirtilmektedir (21, 23, 24). Ayrıca çevresel faktörlerden ırk ve cinsiyetin de genetik faktörlerle birlikte diş çürüğü üzerinde rol oynadığı düşünülmektedir (20, 21, 60). Günümüzde çürük fenotipinin aydınlatılmasına yönelik özellikle genetik temelli çalışmaların yetersizliğinden dolayı bu konuda daha çok araştırma yapılması tavsiye edilmektedir (9).

Çevresel faktörlere ait verilerin toplanması ve sonuçların değerlendirilmesi için sıklıkla çürük aktivite testleri kullanılmaktadır. Genetik faktörlere ait verilerin toplanmasında ise DNA izolasyon yöntemi kullanılarak elde edilen veriler rekombinant DNA teknolojileri ile değerlendirilmektedir.

2.7. Çürük Aktivite Testleri

Çürük aktivitesi; belirli bir zaman periyodundaki aktif çürük lezyonlarındaki artışı ifade etmektedir. Çürük lezyonunun ilerleme hızının ölçüsüdür. Retrospektif olarak çürük insidansı kullanılarak bireyin ya da popülasyonun zaman içinde oluşmuş yeni çürük lezyonlarının sayısı belirlenebilir (70).

Çürük duyarlılığı; söz konusu olan dişin çürük oluşturan çevreye yatkınlığı veya direnci olarak tanımlanır. Çürüğün oluşum sürecinde konak veya dişin kendine özgü yatkınlığı ile ifade edilir. Çürük lezyonunun oluşma riski konak, dişteki lokalizasyon, bireyin daha önceki florür maruziyeti gibi faktörlere bağlı olarak farklılık göstermektedir (70).

Çürük aktivite testleri diş hekimliği ile ilgili araştırmalarda yıllardır kullanılmakta ve bu testlerin bazıları klinik uygulamalar içinde rutin olarak uygulanmaktadır (7). Tükürük aktivite testleri olarak da tanımlanan bu testler, bireysel çürük riskini belirlemek için çürük etiyolojisiyle ilişkili olan faktörleri

inceleyen yöntemlerdir. Diş çürüğüne neden olan tükürükle ilgili risk faktörlerinin değerlendirilmesi bireysel koruyucu önlemlerin alınmasında önemlidir. Buna ek olarak, günümüzde çürük riski yüksek bireylerin çürük aktiviteleri hakkında öngöründe bulunmak amacıyla bu testlerden yararlanılmaktadır. Günümüzde çürük aktivite testleri özellikle hasta motivasyonunu artırmak ve plak kontrol programları için kullanılmaktadır (26, 36). Ayrıca güvenli olarak daha uzun kontrol randevularının verilebilmesi için düşük risk grubunda bulunan hastaların belirlenmesinde, pahalı restoratif materyallerin seçiminden önce ve ortodonti hastalarında braketlerin yerleştirilmesinden önce bu testler hekimin doğru yönlendirilmesine imkan vermektedir (7).

Literatürde bugüne kadar çok sayıda çürük aktivite testi tanımlansa da henüz ideal özellikte bir çürük aktivite testi mevcut değildir. Synder'a göre çürük aktivite testlerin ideal olabilmesi için; iyi bir teorik alt yapıya sahip olması, hastanın mevcut klinik durumuyla uyum göstermesi, tekrarlanabilir ve kısa zamanda uygulanabilir olması gerekmektedir (7).

Stolpe 1970 yılında çürük aktivite testlerini, tükürüğün kimyasal özellikleri ile ilişkili testler, tükürüğün bakteriyel bileşenleri ile ilişkili testler ve bakteriyel metabolizma sonucu tükürüğün kimyasal özelliklerindeki belirli değişiklikleri ölçen testler olarak sınıflandırmaktadır (70). Günümüzde tek bir sınıflaması olmamasına rağmen Marya isimli araştırmacı çürük aktivite testlerini, çürük aktivitesini ölçen ve çürüğün duyarlılığını ölçen testler olmak üzere iki başlık altında incelemiştir. Buna göre çürük aktivitesini ölçen testler; laktobasil sayısının belirlenmesi, tükürükte mutans streptokokların sayımı, mutans streptokok dip slide yöntemi, mutans streptokok görüntüleme testi, Alban test, Dewar test, Swab test ve tükürük tamponlama kapasitesinin ölçülmesi olarak, çürük duyarlılığını ölçen testler ise; Snyder testi, mine çözünme testi, Dewar test, Fosdik kalsiyum çözünme testi ve tükürük redüktaz testi olarak sınıflandırılabilir (70).

2.7.1. Tükürük Akış Hızının Ölçülmesi

Bireyin ortalama bir dakikada salgıladığı tükürük miktarını tükürük salgısı uyarılarak veya uyarılmadan ölçen testlerdir. Tükürük akış hızı ölçümleri genellikle

sabah saat 09:00-12:00 arasında yapılmaktadır. Buna ek olarak tükürük örneği alınacak bireylerden en az 1 saat öncesine kadar yemek yememesi ve sıvı gıda tüketmemesi istenir (71).

Uyarılmamış Tükürük Akış Hızının Ölçülmesi

Uyarılmamış tükürük akış hızının ölçümü için birey dik olarak oturtulur ve başı öne doğru eğdirilerek ağız tabanında tükürüğün toplanması sağlanır. Bireyin steril tükürük kabına 15 dk boyunca tükürmesi sonrası toplanan tükürük miktarı ölçülerek sonuç dakikada ml olarak hesaplanır. Tükürme sırasında oluşan köpükler ölçüme dahil edilmez (72). Uyarılmamış tükürük akış hızı 0.25 ml/dk ise normal, 0.1 ile 0.25 ml/dk arası düşük, 0.1 ml/dk ise çok düşük (kserostomi) olarak sınıflandırılmaktadır (7).

Uyarılmış Tükürük Akış Hızının Ölçülmesi

Uyarılmış tükürük bireye 5 dk boyunca parafin veya şekersiz sakız çiğnetilerek elde edilir. Birey öncelikle sakız veya parafin yumuşayana kadar oluşan tükürüğü yuttuktan sonra çenesinin her iki yanını kullanarak çiğnemeye devam eder ve oluşan tükürüğü sık aralarla steril kap içine tükürür. Beş dakikada toplanan tükürük miktarı ölçülür ve sonuç dakikada ml olarak hesaplanır. Toplanan tükürük üzerinde oluşan köpükler ölçüme dahil edilmez (72). Uyarılmış tükürük akış hızı 1.1 ml/dk normal, 1.1 ile 0.9 ml/dk arası normalden biraz düşük, 0.8 ile 0.5 ml/dk arası düşük ve 0.5 ml/dk çok düşük (kserostomi) olarak nitelendirilmektedir (7).

2.7.2. Tükürük Tamponlama Kapasitesinin Ölçülmesi

Ortamdaki H^+ ve OH^- iyonlarına bağlı olarak değişebilen pH değişikliklerine karşı direncin gücüne tamponlama kapasitesi denir (6). Tükürük pH'ı 6.5-7.5 arasında değişen alkalen bir sıvıdır ve ağız içinde oluşan organik asitlerin nötralize edilmesinde etkili tamponlama sistemlerine sahiptir (72). Organik kimya ve biyokimyada sulu çözeltilerin pH ölçümü elektrometrik ve kolorimetrik adı verilen başlıca iki yöntemle yapılmaktadır (73).

Elektrometrik yöntem

Bu yöntemde pH metre olarak adlandırılan dijital cihazla tükürük tamponlama kapasitesi ölçümü kantitatif olarak yapılır (74, 75).

Uygulamaya başlamadan önce pH metre 4.0-7.0 arasına kalibre edilir. Hastadan alınan tükürük örneği pH metrenin elektrotuna damlatılır. Tükürük örneğinin üzerine HCl eklenerek elektrotun üzerinde bulunan plastik kapak CO₂ çıkışını önlemek için kapatılır. Tükürük örneği ve asidin karışması için pH metre birkaç kez hareket ettirilerek pH sabitlenir (75).

Kolorimetrik yöntem

Bu yöntemde pH indikatör kağıtları yada kolorimetrik kitler kullanılmaktadır. İndikatör kağıtları indikatör çözeltileri ile doyurulmuş ve kurutulmuş yüksek kalitede filtre kağıtlarıdır. Bu kağıtların pH tayinindeki kullanımı, tükürüğün H⁺ iyonu konsantrasyonuna göre renk değiştirmesi esasına dayanır (73).

Klinikte tükürük tamponlama kapasitesi piyasada kolorimetrik kit şeklindeki *Dentobuff strip* (Orion Diagnostica, Espoo, Finlandiya) ile ölçülebilir. Kitin içinde kurutulmuş asit ve renk indikatörü içeren plastik çubuk bulunmaktadır. Çubuğun üzerine tükürük damlatılır ve beş dakika sonunda oluşan renk değişimine göre skaladan pH belirlenerek sonuçlar; düşük, orta ve yüksek tamponlama kapasitesi olarak üç grupta değerlendirilir. Mavi renk yüksek (pH ≥ 6), yeşil renk orta (pH 4.5-5.5) ve sarı renk düşük (pH ≤ 4) tamponlama kapasitesini ifade eder (76).

Klinikte kullanılan diğer bir kolorimetrik kit *CRT buffer* (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), kurutulmuş renk indikatörü içeren çubuklardan oluşmaktadır. Tükürük tamponlama kapasitesinin ölçümü için plastik çubuk üzerine hastadan alınan uyarılmış tükürük damlatılır. Beş dakika sonunda oluşan renk değişimine göre skaladan pH belirlenir. Mavi renk yüksek, yeşil renk orta ve sarı renk düşük tamponlama kapasitesini ifade eder (77).

Kolorimetrik yöntemle tükürük tamponlama kapasitesinin ölçümünde kullanılabilecek diğer bir ürün *GC Saliva-Check Buffer* (GC, Tokyo, Japonya) kitidir. Uygulama için kitin içerisinde bulunan plastik çubuk üzerindeki üç ayrı bölmeye hastadan alınan uyarılmış tükürük damlatılır. İki dakika sonunda oluşan her bölümdeki renk değişimi ayrı olarak skorlanır. Yeşil renk 4 puan, yeşil/mavi renk 3

puan, mavi renk 2 puan, kırmızı/mavi renk 1 puan, kırmızı renk 0 puan olarak skorlanır. Her üç bölümün puanları skorlandıktan sonra toplanarak sonuç hesaplanır. 0-5 puan arası çok düşük, 6-9 puan arası düşük, 10-12 puan arası normal ya da yüksek tamponlama kapasitesini ifade eder (78).

Ericsson yöntemi

Uyarılmış tükürük için 0.005 mol HCl; uyarılmamış tükürük için 0.0033 mol HCl'den 3 ml alınıp üzerine 1 ml tükürük eklenir. Karbondioksit çıkışı için tüp iyice çalkalanır ve 10-20 dk bekleme süresi sonunda pH metre veya pH indikatörü ile ölçüm yapılır (79).

2.7.3. Fosdick Kalsiyum Çözünme Testi

Test, tükürükteki mikroorganizmaların oluşturduğu organik asitlerin mineden çözdüğü kalsiyum miktarını ölçerek çürük riskini belirlemektedir. Testin uygulanması için hastadan 25 ml uyarılmış tükürük örneğinin alınması gereklidir. Alınan tükürük örneğinin yarısının kalsiyum içeriği analiz edildikten sonra geri kalan kısmı glikoz ve toz haline getirilmiş mine ile birlikte steril test tüpüne ilave edilir. Tüp 4 sa etüvde bekletildikten sonra kalsiyum içeriği analiz edilir ve ilk analiz edilen tükürükteki kalsiyum miktarı ile karşılaştırılır. Böylece aradaki fark tükürüğün tamponlama kapasitesi hakkında fikir vermektedir (7).

2.7.4. Dewar Test

Fosdick kalsiyum çözünme testinin aynısıdır. Dewar testindeki tek fark, 4 sa sonunda tüpün içindeki kalsiyum içeriğinin analizi yerine final pH değerinin ölçülmesidir (70).

2.7.5. Redüktaz Testi

İndikatör bir molekül olan diazoresorkinolün tükürük florası ile karşılaştığında oluşan renk değişimine göre tükürüğün redüktaz enziminin aktivitesini ölçme esasına dayanır. Redüktaz enzimi dış yüzeyinde zararlı ürünlerinin açığa çıktığı bazı reaksiyonlarda kısıtlayıcı enzim olarak rol oynamaktadır. Testi uygulamak için hastadan 5 ml uyarılmış tükürük örneği eşit miktarda diazoresorkinol ile karıştırılır. Bu işlemin ardından 30 s ve 15 dk sonra gözlenen renk değişimi hastanın çürük aktivitesini belirler. İlk 15 dk sonrasında renk mavi ise hasta çürük aktif değil, orkide renginde ise çok az çürük aktif, kırmızı ise orta derecede çürük aktif olarak yorumlanır. İlk 30 s sonrasında renk kırmızı ise hasta, yüksek derecede çürük aktif, pembe veya beyaz ise şiddetli derecede çürük aktif olarak belirlenir (7).

2.7.6. Mutans Streptokok Sayısının Belirlenmesi

Birçok in vivo ve in vitro çalışmada mutans streptokok sayısı ile çürük lezyonu arasında ilişki tespit edilmiştir (80, 81). Dolayısıyla mutans streptokok sayısının belirlenmesi sık kullanılan çürük aktivite testlerinden biridir.

Mutans streptokok sayısı; tükürükte, plakta, bağlanma yoluyla, replika tekniğiyle veya dip slide yöntemi ile tespit edilebilir (7). Mutans streptokokların sayısını belirleyen testlerin antibakteriyel ağız gargaralarının kullanımından en az 12 sa, florürlü jel uygulamasından en az 2 hafta, antibiyotik tedavisinden ise en az 4 hafta sonra yapılması önerilmektedir (82).

Tükürükte Mutans Streptokokların Sayımı

Tükürükte mutans streptokok sayımı için hastaya parafin çiğnetilir ve uyarımlı tükürük salgılatılır. Bu işlemin ardından abeslang (tahta dil basacağı) hastanın dili üzerine tükürükle kontaminasyonunun sağlanması için on kez bastırılır. Dudaklar kapatılıp arasından çekilerek çıkarılan abeslang besiyerinde 37 °C de 48 sa inkübe edilir. Besiyerinde üretilen streptokok kolonileri stereomikroskop veya bir büyüteç aracılığı ile incelenir. Tipik koloniler sayılır ve ml'de kob (koloni oluşturan birim)

olarak hesaplanır. Değer 10^6 kob/ml ve üstü ise yüksek, 10^5 ile 10^6 kob/ml arasında ise orta, 10^5 kob/ml'den daha az ise düşük düzey olarak yorumlanır (7).

Plakta Mutans Streptokokların Sayımı

Bu yöntem; selektif bir besiyerinde çizgi şeklinde hazırlanan seyreltilmiş plak örneklerinin incelenmesi esasına dayanır. Plak örnekleri dişlerin bukkal yüzlerinin gingival üçlüsünden steril kürdan yardımıyla alınarak besiyerinde 37°C 'de 72 sa inkübe edilir (7).

Mutans Streptokokların Bağlanma Metodu

Mutans streptokokların cam yüzeylere bağlanma yeteneğine göre tükürük örneklerini sınıflandıran bir yöntemdir. Bu yöntemin uygulanması için Mitis Salivarius Basitrasin agar (MSB) besiyeri içeren tüplerin içine basitrasin içeren strip kağıtlar ilave edilir. Tükürük besiyeri içeren tüplere aktarıldıktan sonra tüpler 60° açıyla etüve yerleştirilir ve oksijenli ortamda 37°C 'de 24 sa inkübe edilir. Çoğalma gözlemlendikten sonra besiyeri tüpten uzaklaştırılır ve cam yüzeylere yapışan mikroorganizmalar makroskobik olarak incelenir. Çoğalma yok veya çok az ise değer $<10^4$ kob/ml, yirmiden fazla yaygın birikimler gözlemlenmekte ise değer $>10^5$ kob/ml olarak yorumlanır (7).

Mutans Streptokok Replika Tekniği

Şeker ve sakız esaslı katı bir matriksle diş yüzeyi üzerinden alınan ölçü ile mutans streptokoklar besiyerine taşınır. Besiyerine yerleştirilen matriks 37°C 'de 24 sa inkübe edildikten sonra ölçü üzerinde mutans streptokok kolonilerinin ürediği bölgeler belirlenebilir (7).

Mutans Streptokok Dip Slide Yöntemi

Testler, modifiye mitis-salivarius agarda üreyen mutans streptokok kolonilerine göre tükürük örneklerini sınıflandıran yöntemlerdir. Bu yöntemlerden biri olan *Dentocult SM* kiti (Orion Diagnostica, Espoo, Finlandiya) tükürükte mutans

streptokok sayımını belirleyen bir testtir. Kit içerisinde besiyerini içeren cam tüp, plastik çubuk, parafin, basitrasin diskleri ve sonuçları değerlendiren skala bulunmaktadır. Dentocult SM kitinin uygulama aşamaları besiyerinin bulunduğu cam tübe basitrasin eklenip, 15 dk beklenilmesi ile başlar. Daha sonra hastaya parafin pelet yumuşayana kadar çiğnetilip, salgılanan tükürük hasta tarafından yutulur. Kit içerisinde bulunan plastik çubuk dil yüzeyinde tükürükle kontaminasyonu sağlanır ve ağız kapatılarak çubuk dudaklar arasından çekilerek çıkartılır. Bu işlemin ardından plastik çubuk cam tüp içine yerleştirilir ve 35-37°C'de 48 sa inkübe edilir. Sonuç kit içindeki 1000, 10.000, 100.000 ve 1000.000 kob/ml'lik değerleri şematik olarak gösteren skalayla karşılaştırılır (82).

Tükürükte mutans streptokok sayımını belirleyen bir diğer dip slide testi *GC Saliva-Check Mutans* kiti (GC, Tokyo, Japonya) içerisinde parafin, karıştırma kabı, pipet, 1. ve 2. belirleyici solüsyon ve sonuçları değerlendirildiği test cihazı bulunmaktadır. Uygulamaya başlamak için öncelikle hasta parafini 1 dk boyunca çiğner ve salgılanan uyarılmış tükürüğü karıştırma kabına tükürür. Kap içerisine 1. belirleyici solüsyondan bir damla eklenerek karıştırma kabına 15 kez hafifçe vurulur. Bu işlemin ardından kap içerisine 2. belirleyici solüsyondan dört damla eklenerek tükürük örneğinin rengi yeşile dönüncüye kadar beklenir. Pipet yardımıyla kapta bulunan tükürük örneği test cihazının haznesine damlatılır ve 15 dk beklenir. Cihazın C penceresinde kırmızı çizginin varlığından kesin emin olunduktan sonra T penceresinde kırmızı çizginin varlığına göre sonuç negatif veya pozitif olarak yorumlanır. T penceresinde negatif sonuç mutans streptokok sayısının 100.000'den az olduğunu, pozitif sonuç mutans streptokok sayısının 100.000'den fazla olduğunu göstermektedir (83).

2.7.7. Laktobasil Sayısının Belirlenmesi

Laktobasillerin çürüğün ilerlemesinde rol oynadığı ve karbonhidratların fazla miktarda tüketimi sonucunda ağız içinde sayılarının arttığı bilinmektedir (84). Çürük aktivite testlerinde laktobasil sayımı tükürükte, plakta veya dip slide yöntemi ile gerçekleştirilmektedir.

Tükürükte Laktobasil Sayımı

Besiyeri olarak Rogasa agar kullanılmaktadır. Laktobasil sayımı için en az 4 petri hazırlanır. Petrilerin birine 1 ml tükürük örneği; ikincisine 1 ml 1/10, üçüncüsüne 1 ml 1/100, dördüncüsüne de 1/1000 seyreltilmiş örnek damlatılır. Petrilerin içine steril edilmiş ve 45°C sıcaklıktaki besiyeri dökülür ve 37°C'de 48-72 sa inkübe edilir. Değer 10^4 kob/ml üstünde ise yüksek, 10^3 ile 10^4 kob/ml arasında ise orta düzey, 10^3 kob/ml'den az ise düşük düzey olarak yorumlanır (7).

Plakta Laktobasil Sayımı

Fissürler, ara yüzeyler veya düz yüzeylerdeki plaktan alınan örnekler özel transport sıvısı içinde laboratuvara ulaştırılır. Plak örnekleri laktobasil için seçilen LBS agar (Rogasa) besiyerlerine ekilir ve oluşan tipik kolonilerin sayımı yapılır (72).

Dip Slide Yöntemi

Bu testler piyasada hazır olarak bulunan kitlerin içindeki agarda tükürükteki laktobasil kolonilerinin üremesi sonucu laktobasil sayısının tespiti esasına dayanır. Piyasadaki *Dentocult LB* (Dentocult LB, Orion Diagnostica, Espoo, Finlandiya) kiti parafin, besiyeri içeren çubuk ve plastik tüp içermektedir. Dentocult LB kitini uygulamak için parafin 1 dk boyunca hasta tarafından çiğnenerek salgılanan uyarılmış tükürük steril kaba tükürtülür. Kap içinde toplanan tükürük çubuğun iki yüzeyine dökülür ve çubuk tüpün içine yerleştirilip, sıkıca kapatılır. Tükürük ile enfekte edilmiş çubuğu içeren tüp 37°C'de 96 sa inkübe edilir. Plastik çubuk üzerindeki koloni yoğunluğu 1000, 10.000, 100.000 ve 1000.000 kob/ml'lik değerlere sahip skala ile karşılaştırılır (85).

Laktobasil sayısını dip slide yöntemi ile belirleyen bir diğer test *CRT bacteria* kitidir (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein). Bu test ile mutans streptokok ve laktobasil sayısı aynı anda belirlenmektedir. Kit içerisinde bir yüzü mavi renkte MSB agar, diğer yüzeyinde sarı renkte Rogosa agar bulunan çubuk yer almaktadır (86). CRT bacteria kiti uygulamak için hastaya parafin çiğnetilir ve uyarılan tükürük steril bir kap içerisinde toplanır. Besiyerinin bulunduğu çubuk tüp içerisinden çıkarılır ve NaHCO₃ tableti tüp içerisine atılır. Açığa çıkan CO₂ bakteriyel üreme için uygun

ortam hazırlar. Daha sonra besiyerinin üzerindeki koruyucu folyalar çıkarılır ve üzerine tükürük örnekleri dökülür. Fazla tükürüğün akması sağlandıktan sonra çubuk tüp içerisine sıkıca yerleştirilir ve 37°C’de 48 sa inkübe edilir. Bekleme süresinin ardından besiyeri üzerinde oluşan koloni yoğunluğu mutans streptokok ve laktobasil için ayrı ayrı değerlere sahip sakala ile karşılaştırılır (86).

2.7.8. Mantar Sayısının Belirlenmesi

Asidürik ve hafif asidojenik mikroorganizma olan mantarların, uzun süreli antibiyotik kullanımı sonucu azalan tükürük akış hızı ve ağız içinde kullanılan apareylere bağlı olarak sayıları artabilir. Mantar sayısının belirlenmesi; tükürükte veya dip slide yöntemi ile gerçekleştirilmektedir (72).

Tükürükte Mantar Sayımı

Bu amaçla Sabouraud Dextrose Agar besiyeri kullanılmaktadır. Tükürükte mantar sayımı için üç petri hazırlanır. Petrilerin birine 1 ml tükürük örneği; ikincisine 1 ml 1/10 seyreltilmiş örnek, üçüncüsüne ise 1 ml 1/100 seyreltilmiş örnek damlatılır. Petriler 37°C’de 48 sa bekletilir. Oluşan koloniler sayılır ve ml’de kob olarak hesaplanır. Sonuçlar 10^6 kob/ml ve daha üstü ise yüksek, 10^5 ile 10^6 kob/ml arasında ise orta, 10^5 kob/ml’den daha az ise düşük düzey olarak sınıflandırılır (87).

Dip Slide Yöntemi

Dentocult CA (Orion Diagnostica, Espoo, Finlandiya) tükürükte mantar sayımını dip slide yöntemiyle belirleyen kit şeklinde bir üründür. İçerisinde parafin, besiyerinin yer aldığı cam tüp ve tüpün içinde plastik çubuk yer almaktadır. *Dentocult CA* kitini uygulamak için öncelikle hastadan aplikatörlerle alınan tükürük örnekleri besiyeri içeren plastik çubuğun üzerine sürülür. Plastik çubuk tüpün içine yerleştirilip, sıkıca kapatılır. Tükürük ile enfekte edilmiş plastik çubuğu içeren tüp 37°C’de 96 sa inkübe edildikten sonra çubuk üzerindeki koloni yoğunluğu 1000, 10.000, 100.000 ve 1000.000 kob/ml’lik değerlere sahip skala ile karşılaştırılır (88).

2.7.9. Snyder Test

Snyder testi asit oluşum hızının ölçülmesi esasına dayanan bir testtir. Buna ek olarak, asidojenik ve asidürük bakterileri değerlendirir. Ayrıca ağızdaki çürük yatkinliğini gösteren asit üretimi oranını test etmek amacıyla kullanılan kalorimetrik bir testtir. Bu test esas olarak çürük oluşumundan laktobasilin sorumlu olduğunu baz alır. Dişler üzerinde biriken laktobasil tarafından üretilen asit nedeniyle oluştuğu düşünülen çürüklerin değerlendirilmesi amacıyla kullanılır. Testin uygulanabilmesi için hastadan alınan uyarımlı tükürük örneği ve renk indikatörü olarak bromkrezol yeşili içeren asidik Snyder agar kullanılmaktadır. Laktobasil gibi tükürükte asit üreten mikroorganizmalar rengin mavi-yeşilden sarıya dönmesine neden olur. İnkübasyon periyodu olarak 24, 48 ve 72 sa sonrasında oluşan renk değişimi inkübe edilmemiş örnekle beyaz bir arka plan üzerinde karşılaştırılır. Hızlı bir değişim olması yüksek çürük aktivitesini göstermektedir. İlk 24 ve 48 sa sonrasında renk sarı ise belirgin çürük aktivitesi olarak yorumlanır, renk yeşil ise teste devam edilir. Bekleme süresi olarak 72 sa sonunda renk sarı ise sınırlı çürük aktivitesinin olduğu, yeşil ise çürük aktif olmadığı sonucuna ulaşılır (7).

2.7.10. Alban Test

Alban test, Synder testinin basitleştirilmiş modifiye formudur. Bu yöntemde Alban besiyeri içeren tüp kullanılmaktadır. Hasta tüpün içine direkt olarak tükürük ve tüp 37°C'de 4 gün inkübe edilir. Her günün sonunda tüpdeki renk değişimine göre hastanın çürük aktivitesi belirlenir. Synder testine göre daha az ekipman kullanılması ve daha yumuşak bir agar sayesinde tükürüğün ve asidin daha iyi diffüze olması Alban testinin avantajlarıdır (70).

2.7.11. Swab Test

Synder testi ile aynı yöntemi içermektedir. Swab testinde pamuklu çubuk kullanılarak dişin bukkal yüzünden örnek alınır ve besiyeri içinde etüvde inkübe

edilir. İnkübasyon süresi 48 saattir. Bu sürenin sonunda pH değişikliğine göre çürük aktivitesi belirlenir (70).

2.7.12. Karyostat

Dental plakta asit üreten mikroorganizmaların aktivitesini ölçme esasına dayanan kolorimetrik bir test olan Karyostat, dental plaktaki asit içeren mikroorganizmaların mevcut sıvının rengini maviden sarıya döndürmesine göre değerlendirilir. Pamuk aplikatörlerle dişlerin bukkal yüzeylerinden plak örnekleri alınarak Karyostat besiyerinin bulunduğu tübe aktarılır. Örnekler 37°C'de 48 sa inkübasyondan sonra solüsyonun rengine göre skorlanır. Solüsyon mavi (pH 6.1±0.3), yeşil (pH 5.4±0.3), yeşil-sarı (pH 4.7±0.3) veya sarı renk (pH 4.0±0.3) olabilir (89).

2.7.13. Ora Test

Ora test, mikroorganizmaların oksijen tüketim oranına göre değerlendirme yapan bir yöntemdir. Aerobik ortam koşullarında bakteriyel enzim olan aerobik dehidrogenaz, elektron veya protonları oksijene transfer eder. Ağız içinde aerobik mikroorganizmaların oksijeni kullanmaları sonucunda ortam anerobik hale dönüşmektedir. Dolayısıyla ortamda serbest elektron bulunmakta ve elektron alıcısı gibi rol oynayan metilen mavisi, lökometilen mavisine dönüşmektedir. Ora testin uygulanması için öncelikle hasta steril süt ile ağzını 30 dk çalkalar böylece ağız içindeki mikroorganizmalar süte taşınmış olur. Daha sonra %1 oranında 12 ml metilen mavisi içeren örnek tüpünde bekletilen sütteki maviden beyaza renk değişimiyle sonuç belirlenir. Ora testin süt ile yapılması sayesinde hastaya toksik bir etkisinin bulunmaması yöntemin avantajı, ağız içindeki spesefik organizmaları tespit edememesi ise bu testin dezavantajı olarak belirtilmektedir (70).

2.8. Rekombinant DNA Teknolojileri

Rekombinant DNA, çeşitli tekniklerin kullanılmasıyla oluşturulan yeni gen kombinasyonuna sahip DNA molekülünün oluşturulması işlemidir. Gen mühendisliği terimi ile de tanımlanan bu işlem, kesim (restriksiyon) enzimlerinin bulunmasından sonra 1970'li yıllarda başlayarak günümüze kadar önemli bir disipline dönüşmüştür. Rekombinant DNA teknolojisinin gelişimindeki en önemli adımlar sırasıyla; genetik bilginin nükleik asitler ile taşındığının bulunması, DNA'nın çift iplikli bir yapıda olduğunun keşfi, DNA molekülünü belli noktalardan kesebilen enzimlerin (restriksiyon enzimleri) saptanması böylece ilk rekombinant DNA molekülünün oluşturulması şeklinde sıralanabilir. Rekombinant DNA teknolojisindeki buluşlara her geçen gün bir yenisi eklenerek bu genetik manipulasyonlar sayesinde bazı hastalıkların tedavisi için gerekli hormon ve moleküllerin sentezlenmesi, rekombinant aşı üretimi ve gen tedavisi gibi uygulamalar yapılabilmektedir (43).

2.8.1. DNA İzolasyonu

Doğadaki canlıların tümüne yakın kısmında genetik materyalin DNA olması nedeniyle biyolojik örneklerden genomik DNA izolasyonunun moleküler tanı yöntemlerinin uygulamasında gerekli ilk adım olduğu ifade edilmektedir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR, "polymerase chain reaction, PCR") tabanlı moleküler tekniklerin kullanılmaya başlamasından günümüze kadar pek çok farklı DNA izolasyon yöntemi gösterilmiştir (90). Geleneksel izolasyon metotlarından fenol-kloroform ayırma yöntemi ve etanol presipitasyonu ile DNA'nın yoğunlaştırılmasına dayanan yöntemler en çok bilinenleridir. Bununla birlikte, sağlık açısından son derece zararlı olan fenol gibi toksik maddelerin kullanılmasının yanı sıra uzun inkübasyon basamaklarının olması bu metotların dezavantajlarından bazılarıdır. Verimliliği yüksek bir DNA izolasyon metodunun basit ve hızlı olması, yüksek kalitede DNA eldesi sunması ve multipleks polimeraz zincir reaksiyonu, gerçek zamanlı PZR, DNA dizi analizi gibi gelişmiş moleküler tekniklerin uygulamalarına imkan verecek özellikte olması gerektiği vurgulanmaktadır. Bu amaçla standart DNA izolasyon metotlarının çeşitli modifikasyonları ve yeni hızlı izolasyon protokollerinin

yanında reaktif hazırlamayı gerektirmeyen kullanıma hazır ve izolasyon işlemini oldukça kolaylaştıran ticari manuel DNA izolasyon kitleri geliştirilmiştir. Ayrıca artan test sayısı ve çeşitlilik moleküler tanı laboratuvarlarında otomatik DNA izolasyonu ihtiyacını gündeme getirmiş ve bu amaçla otomatize cihazlar geliştirilmiştir (91).

Restriksiyon Enzimleri

Genetik uygulamalarda kullanılan restriksiyon enzimleri, genom içinde bulunan özel DNA dizilerini tanıyarak onları şeker-fosfat omurgasından kesebilme özelliği taşıyan enzimlerdir. İlk olarak 1975 yılında tanımlanmış olan restriksiyon enzimlerinin yaklaşık 100 tanesi genetik araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (43).

Restriksiyon enzimlerinin isimlendirilmesi genel olarak üç harf üzerinden yapılır. Bunlardan birinci harf cins, ikinci ve üçüncü harfler ise enzimin elde edildiği tür adını tanımlamaktadır. Üç grupta toplanan restriksiyon enzimlerinden sadece Tip-II olarak tanımlanan grubu DNA molekülünü özgül olarak kesebilme özelliğindedir. Bu enzimlerin tanıma dizileri, 4-13 nükleotid arasında değişmekle birlikte genellikle 4-6 nükleotid uzunluğunda olanlar tercih edilmektedir (43).

Prob ve primerler

Prob, özel bir nükleik asit dizisini, hibridizasyon prensibine göre tespit etmeye yarayan değişik uzunluktaki radyoaktif veya floresans işaretli tek zincirli nükleotid polimerleridir (43).

Primerler ile proplar arasında kullanım alanlarından kaynaklanan farklılıklar bulunmasına rağmen yapısal olarak primerler ile kısa oligonükleotid proplar arasında herhangi bir farklılık yoktur. Örnek olarak primerler, genellikle PZR döngülerinde ilgilenilen DNA bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan 18-24 nükleotid uzunluğundaki oligonükleotidler olarak anlaşılmaktadır (43).

2.8.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Hedeflenmiş DNA veya RNA dizisinin uygun primerler ve ortam sayesinde in vitro koşullarda kopyalanma işlemidir. Herhangi bir DNA bölgesinin hem 5' hem 3' ucu bulunmaktadır. PZR tekniğinde de çoğaltılması istenen DNA dizisinin ilgilenilen mutasyon veya polimorfizm noktasının arada kalması koşuluyla kullanılan 5' ve 3' primerler aynı bölgedeki DNA dizisine karşılık gelecek şekilde dizayn edilmiştir. PZR tüplerine konulan genomik DNA, ilk önce tek zincirli hale dönüştürülmek amacıyla programlanarak ısı ile denatürasyon sağlanır. Daha sonra primer hibridizasyonu ve en son basamakta ise DNA polimeraz ve uygun deoksitripleotidlerin ilavesiyle zincir uzaması şeklinde döngü tamamlanır. Bu işlem yaklaşık 30 kez tekrarlanmak üzere programlanarak çok miktarda hedeflenmiş özgün DNA klonları elde edilir (43).

2.8.3. Jel Elektroforez Yöntemi

Jel elektroforez yöntemi, farklı boyutlardaki DNA moleküllerinin elektrik yüklü ortamda ayrılmaları ve analiz edilmeleri için kullanılan bir tekniktir. Ayırma işleminde yaygın olarak kullanılan agaroz ve poliakrilamid jellerinin üzerinde örnek maddenin konulacağı kuyucuklar açmak için özel taraklar kullanılmaktadır. Hazırlanan jel uygun bir tampon sıvısı ile doldurulan elektroforez tankına yerleştirildikten sonra kuyucuklara, örnek DNA materyali konur ve elektrik akımı uygulanır. Nükleik asitler negatif yüklü oldukları için elektroforez tankının kuyucukları içeren ucu anoda, diğer ucu ise katoda bağlanır. Akım verildiğinde küçük moleküller hızlıca (+) yüklü uca doğru hareket ederken, büyük moleküller porları geçemedikleri ve hız bakımından geride kaldıkları için kuyucuklara daha yakın olan bölgelerde kalırlar. Daha sonra agaroz ve poliakrilamid jeller üzerindeki DNA parçaları, etidium bromid ile boyanarak, ultraviyole ışık altında bakıldığında fluoresan veren bantlar şeklinde gözlenebilirler (43).

2.8.4. Kısıtlayıcı Enzim Kesimi Parça Uzunluğu Polimorfizmi “Restriction Fragment Length Polymorphism” (RFLP)

Kısıtlayıcı Enzim Kesimi Parça Uzunluğu Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) analizinde, restriksiyon enzimleri ile gen bölgesindeki uzunluk polimorfizmleri incelenmektedir. Restriksiyon enzimlerinin DNA molekülündeki 4-8 baz uzunluğunu tanıma ve kesme özelliğine sahip olduğu ifade edilmektedir. Bu yöntemde eğer restriksiyon enzimi için kesim bölgesi oluşturan bir polimorfizm söz konusu ise deneye ait DNA örneğinde kesim yapıldığı için iki bant, kontrole ait DNA örneğinde ise tek bant gözlenmesi gerekmektedir. Bunun tersi durumunda polimorfizm, restriksiyon enziminin kesim bölgesini yok ediyorsa deneye ait örnekte tek bant, kontrole ait örnekte ise iki bant gözlenmektedir (43).

RFLP tekniğinde PZR işlemine tabi tutularak çoğaltılan DNA bölgesi uygun restriksiyon enzimleri ile kesilmektedir. Kesilen parçalar elektroforez yöntemi ile jelde yürütüldükten sonra ultraviyole (UV) ışığı altında fluoresan etki gösteren ethidium bromid ile boyanmaktadır (90). Son olarak örnekler ultraviyole ışık altında DNA parçalarının uzunlukları incelenerek fragmentlerin büyüklüklerine göre analiz yapılmaktadır (43).

2.9. Gen-çevre etkileşimi

Geçmişte yapılan çürük risk modellerinde çürükle ilişkili tek bir değişken incelenirken, günümüzde ise modellere çoklu değişkenler eklenmiş ve özellikle gen-çevre etkileşimi konusu popüler hale gelmiştir. Günümüzde çürük risk modellerinde en çok kullanılan istatistiksel yöntem çoklu regresyon analizleridir (27, 29, 31). Regresyon analizi kullanılarak değişkenler arasındaki ilişkinin varlığı, eğer ilişki var ise bunun gücü hakkında bilgi edinilebilmektedir. (92). Literatürde çürük riskinin genetik ve çevresel faktörlerle birlikte değerlendirildiği çalışmalarda gen-çevre etkileşimi regresyon analizleri kullanılarak incelenmektedir. Böylece genetik ve çevresel risk faktörleri arasındaki korelasyon değerlendirilerek çürük risk modelleri oluşturulmaktadır (23, 24)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı Kliniği ve Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışma, klinik uygulama, laboratuvar uygulama ve istatistiksel değerlendirme olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır (Şekil 1).

Araştırmanın uygulama aşamaları:

A. Klinik Uygulama

1. Etik kurul izninin alınması
2. Çalışmaya katılacak bireylerin seçimi
3. Anket uygulanması
4. Geçmiş çürük deneyiminin hesaplanması
5. Plak indeksinin hesaplanması
6. Uyarılmış tükürük akış hızının hesaplanması
7. Tükürük tamponlama kapasitesinin ölçümü
8. Tükürükte mutans streptokok sayımı testinin uygulanması
9. Tükürükte laktobasil sayımı testinin uygulanması
10. Yanak içi sürüntü örneğinin alınması

B. Laboratuvar Uygulama

1. Mutans streptokok test sonuçlarının değerlendirilmesi
2. Laktobasil test sonuçlarının değerlendirilmesi
3. TNP seçimi; *AMELX* (+522), *CA6* (T55M), *DEFB1* (G-20A), *TAS2R38* (A49P)
4. DNA izolasyonu
5. Gen amplifikasyonu
 - a. Standart PZR reaksiyon karışımının hazırlanması
 - b. PZR primerlerinin seçimi ve hazırlanışı
 - c. PZR program dizaynı
 - d. PZR ürünlerinin kontrolü
6. RFLP uygulamaları
 - a. Enzim karışımının hazırlanması

b. Enzim kesim ürünlerinin değerlendirilmesi

C. İstatistiksel Değerlendirme

1. Çevresel faktörlere ait bulguların değerlendirilmesi
2. Gen polimorfizmine ait bulguların değerlendirilmesi
3. Gen-çevre etkileşimine ait bulguların değerlendirilmesi

3.1. Klinik Uygulama

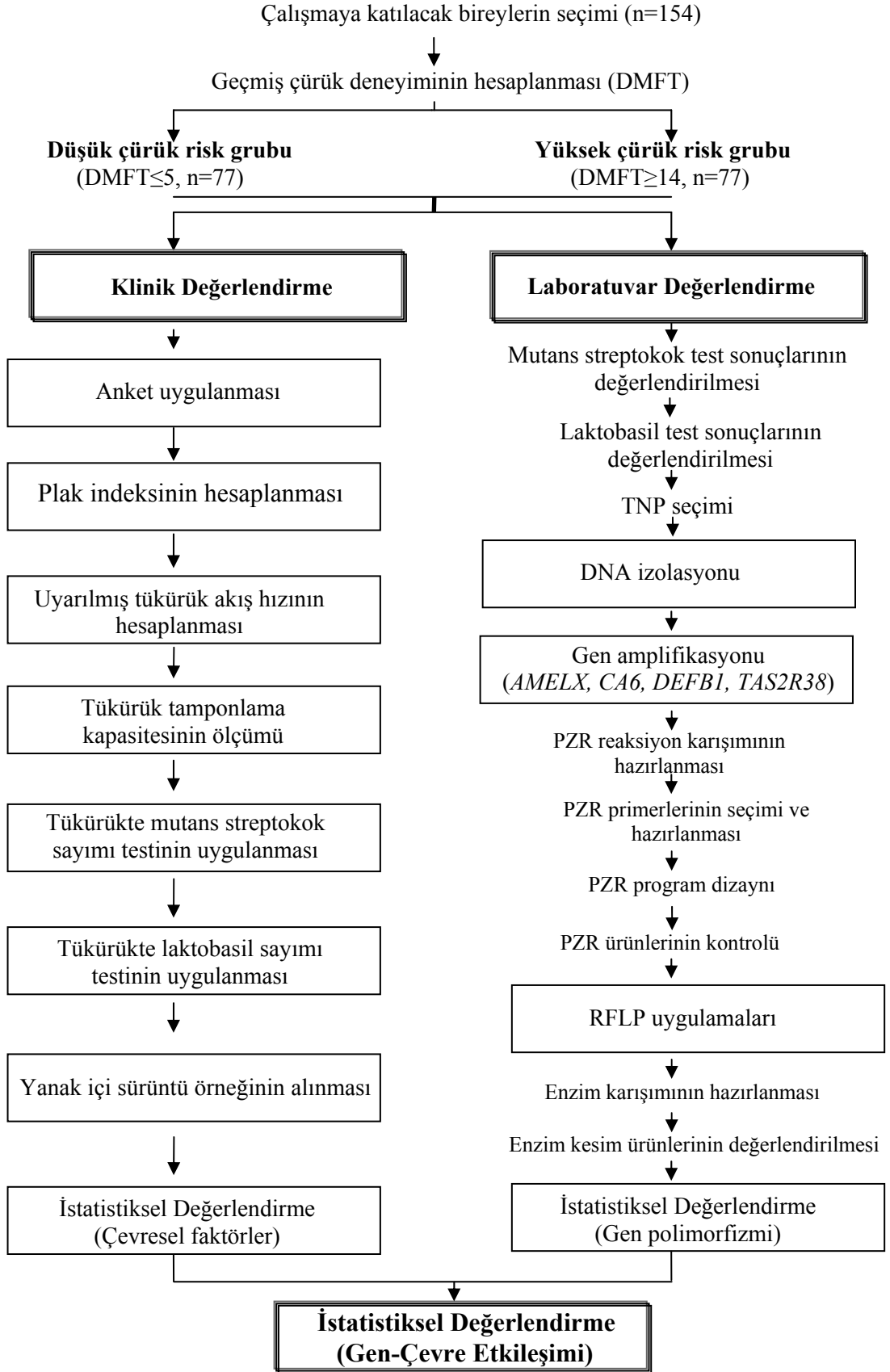
3.1.1. Etik Kurul İzininin Alınması

Çalışma protokolü Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından ‘Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar’ kategorisinde değerlendirilerek onaylandı (B.30.2.SDÜ.0.20.05.07-50/3932). Buna göre hazırlanan bilgilendirilmiş gönüllü olur formları çalışmaya dahil edilen her katılımcıya imzalatıldı (Ek 1).

3.1.2. Çalışmaya Katılacak Bireylerin Seçimi

Çalışmada kullanılacak denek sayılarını belirleyebilmek amacı ile G*Power paket programı (G*Power Ver. 3.0.10, Franz Faul, Universität Kiel, Germany, <http://www.psych.uni-duesseldorf.de/aap/projects/gpower>) kullanıldı. Çalışmada kontrol ve deney grupları arasında $d=0.40$ ’lık etki genişliğinde, %90 güç için $\alpha=0.05$ tip I hata, $\beta=0.05$ tip II hata oranları ile her bir grupta en az 70’er hastaya ihtiyaç olduğu belirlendi. Olası veri kayıplarını telafi etmek amacı ile her iki gruba %10 (7’şer kişi) yedek denek eklenerek toplam 154 hasta (deney grubu 77 kişi, kontrol grubu 77 kişi) ile çalışılmasına karar verildi.

Çalışmaya Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) kriterlerine göre erişkin olarak kabul edilen 20-65 yaş aralığındaki bireyler katıldı. Çalışma grubunda $DMFT \geq 14$ olan yüksek çürük riskli 77 birey, kontrol grubunda ise $DMFT \leq 5$ olan düşük çürük riskli 77 birey yer aldı. Araştırmaya aşağıdaki kriterlere uyan hastalar dahil edilmedi.



Şekil 1. Araştırma uygulama aşamaları

Hastaların araştırmaya dahil edilmeme kriterleri:

- Nörolojik, mental, sistemik ve genetik hastalığı olan veya şiddetli fiziksel sakatlığı bulunan hastalar,
- Akut veya kronik üst solunum yolu hastalığı bulunan hastalar,
- Düzenli ilaç kullanan hastalar,
- Üç ay içerisinde klorheksidin içerikli preparat kullanmış olan hastalar,
- Ortodontik tedavi gören hastalar,
- Son bir yıldan daha uzun süredir içme suyu florür düzeyi yüksek olan Isparta il merkezinde oturan hastalar ve
- Dental florozisi olan hastalar.

3.1.3. Anket Uygulanması

Katılımcılara klinik muayene öncesinde verilen anket formları araştırmacının gözetimi altında dolduruldu. Anket formlarında sistemik, kronik hastalıklar, düzenli kullanılan ilaçlar, radyoterapi veya kemoterapi tedavisi görmüş olup olmaması, ağız kuruluğu şikayeti ile ilgili sorular yer aldı. Formda ayrıca, diş hekimine gitme sıklığı, ağız hijyen alışkanlıkları, koruyucu diş tedavisine yönelik uygulamalar ve beslenme alışkanlıkları ile ilgili sorulara yer verildi (Tablo 1, Ek 3).

3.1.4. Geçmiş Çürük Deneyiminin Hesaplanması

Geçmiş çürük deneyimi; klinik ve radyolojik değerlendirmenin sonucuna göre hesaplandı. Klinik muayenede reflektör ışığı, ayna ve sond kullanılarak dişlerin tüm yüzeyleri çürük ve plak varlığı açısından değerlendirildi. WHO'nun kriterlerine göre; klinik olarak gözle görülen kavitasyon oluşmuş lezyonlar, sondun takıldığı yumuşamış mine yüzeyleri, radyografilerde mine-dentin sınırından dentine ilerlediği gözlenen radyolüsent alanlar 'çürük lezyonu' olarak kaydedildi. Sondun takılmadığı beyaz, kahverengi renk değişiklikleri çürük olarak kabul edilmedi (32).

Arayüz çürüklerinin tespiti için radyolojik muayeneden yararlanıldı. Bunun için hastaların Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi Anabilim Dalı'ndaki muayeneleri sırasında çekilmiş olan dijital

panoramik radyografilerden (Planmeca, Helsinki, Finlandiya, 66 kVp, 0.8 Ma, 16 s) yararlanıldı. Dijital radyografide çürük teşhisini engelleyen süperpozisyonların olması durumunda hastanın sağ ve sol posterior bölgesinden E-speed filmlerle (Eastman Kodak, Rochester, NY, ABD) iki adet ısırtma radyografisi (Planmeca, Helsinki, Finlandiya, 63 kVp, 0.8 mA, 0.5 s) alındı. Standardizasyonun sağlanmasında Rinn film tutucusundan (Dentsply/Rinn Corporation, Elgin, III, Illinois, ABD) yararlanıldı. Banyo işlemleri, otomatik banyo makinesi (Dürr XR 24Bietigheim, Almanya, 4.5 dk) ile taze solüsyon kullanılarak tamamlandı. Elde edilen filmler negatoskop altında standart koşullarda değerlendirildi.

Klinik ve radyolojik değerlendirmenin sonunda WHO kriterlerine göre geçmiş çürük deneyimi hesaplandı (32). Dişin herhangi bir bölgesinde çürük lezyonu bulunan dişler çürük (D), çürük nedeniyle çekilen dişler çekilmiş (M), sekonder çürük bulunmayan dolgu ile restore edilmiş dişler ve çürük nedeniyle kron ya da köprü ayağı şeklinde restore edilen dişler dolgulu (F) skorunu aldı. Eğer çürük dışında estetik, travma ya da köprü ayağı olması için kaplanmış diş varsa hesaplama alınmadı. Yirmi yaş dişleri hesaplama dahil edilmedi. Sonuç olarak, çürük dişlerin (D), çürük nedeniyle çekilmiş dişlerin (M) ve dolgulu dişlerin (F) sayısı toplanarak her bireye özgü WHO'nun kriterlerine göre DMFT değerleri elde edildi (32). DMFT değerleri hazırlanan hasta kayıt formlarına kaydedildi.

3.1.5. Plak İndeksinin Hesaplanması

Plak indeksi; her dişin bukkal, lingual ve aproksimal yüzeyi için Silness ve Løe'nün kullandığı kriterlere göre skorlandı (93). Bireye ait plak indeksinin hesaplanması için; 12, 24, 16, 32, 44 ve 36 numaralı dişlerin bukkal, lingual ve aproksimal yüzeylerden elde edilen sonucun dörde bölünmesiyle o dişe ait skor belirlendi. Tüm dişlere ait skorlar toplanıp, diş sayısı olan altıya bölünerek o hastaya ait ortalama plak indeks skoru saptandı. Plak indeks değerleri hazırlanan hasta kayıt formlarına kaydedildi (Tablo 1). Silness ve Løe'ye göre plak indeks skorları aşağıdaki gibidir (94).

Plak indeks skorları (Silness and L e, 1964):

0: Plak yok

1: Serbest diş eti kenarı ve ona komşu diş bölgesine yapışık ince bir tabaka plak. Plak, klinik olarak sadece diş yüzeyinde sond kullanılarak veya plak boyama ajanı uygulamasından sonra görülebilir

2: Diş üzerinde ve diş eti kenarında veya diş eti cebinde çıplak gözle görülebilen orta miktarda plak birikimi

3: Diş üzerinde ve diş eti kenarında ve/veya diş eti cebinde fazla miktarda plak birikimi

3.1.6. Uyarılmış Tükürük Akış Hızının Hesaplanması

Tükürük  rnekleri sabah saat 10:00-12:00 arasında alındı. Tükürük  rneği alınacak bireylerden en az bir saat öncesine kadar yemek yememesi ve sigara içmemesi istendi. Bir adet parafin hastaya 1 dk süreyle  iğnetilerek parafinin yumuşaması sağlandı ve yumuşayana kadar oluşan tükürük hasta tarafından yutuldu. Daha sonra hastadan yumuşamış parafini 5 dk süreyle her iki yarım  neyi kullanarak çiğnemesi ve bu sırada oluşan t k r ğu yutmaması istendi. Çiğneme süresince oluşan tükürük, derecelendirilmiş steril kaba (Firat Plastik, İstanbul, Türkiye) toplandı (Resim 1). Kontaminasyonun engellenmesi için steril kabın kapağının parafini çiğneme sırasında kapalı tutulmasına ve sadece tükürme sırasında açılmasına dikkat edildi. Toplanan tükürük miktarı 10 cc'lik enjektörlerle  l ld  ve elde edilen tükürük miktarı toplama süresi olan 5 dk'ya bölünüp tükürük akış hızı dakikada ml olarak hesaplandı. Uyarılmış tükürük akış hızının değerlendirilmesi aşağıdaki şekilde yapıldı (Tablo 1).

Uyarılmış tükürük akış hızının değerlendirilmesi:

>1.1 ml/dk: Normal

1.1-0.9 ml/dk: Normalden biraz düşük

0.8-0.5 ml/dk: Düşük

<0.5 ml/dk: Çok düşük (Kserostomi)



Resim 1. Uyarılmış tükürük akış hızının hesaplanmasında kullanılan malzemeler (parafin, derecelendirilmiş steril kap, 10 cc'lik enjektör)

3.1.7. Tükürük Tamponlama Kapasitesinin Ölçümü

Tükürük tamponlama kapasitesi içerisinde parafin, steril pipet, test şeridi ve renk skalası bulunan bir kolorimetrik kit (CRT buffer, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein, Tablo 3) kullanılarak belirlendi. Kit içerisindeki parafin ile uyarılan tükürük, steril bir kaba toplandı. Elde edilen tükürük örnekleri steril pipetler aracılığı ile test şeridine damlatıldı. Sonuç 5 dk sonunda oluşan renk değişimine göre yüksek (mavi, $\text{pH} \geq 6$), orta (yeşil, $\text{pH}: 4.5-5.5$) ve düşük (sarı, $\text{pH} \leq 4$) tamponlama kapasitesini ifade eden skaladan belirlendi (Resim 2). Tükürük tamponlama kapasitesinin değerlendirilmesi aşağıdaki gibi yapıldı (Tablo 1).

Tükürük tamponlama kapasitesinin değerlendirilmesi:

$\text{pH} \geq 6.0$: Normal veya iyi tamponlama kapasitesi (mavi renk)

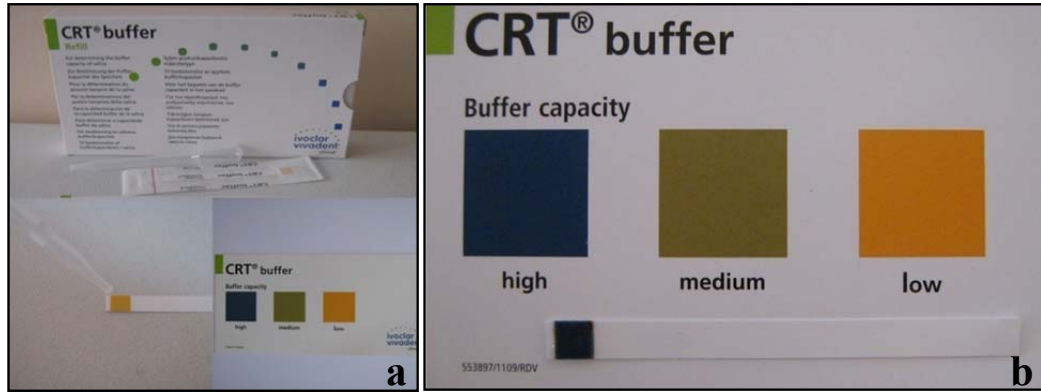
$\text{pH}: 4.5-5.5$: Azalmış, normalden kötü tamponlama kapasitesi (yeşil renk)

$\text{pH} \leq 4.0$: Düşük tamponlama kapasitesi (sarı renk)

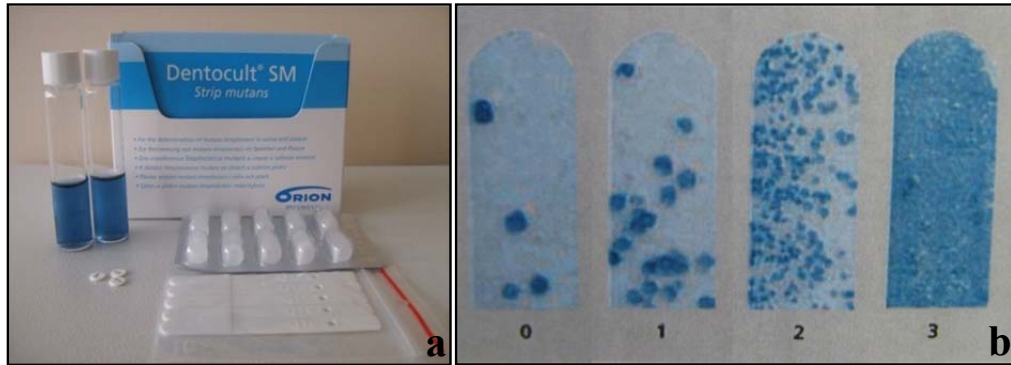
3.1.8. Tükürükte Mutans Streptokok Sayımı Testinin Uygulanması

Tükürükte mutans streptokok sayımı, içerisinde besiyerini içeren cam tüp, örnek almakta yararlanılan plastik çubuk, basitrasin, parafin ve sonuçları değerlendiren skala bulunan bir dental kit (Dentocult SM, Orion Diagnostica, Espoo, Finlandiya, Tablo 3) kullanılarak yapıldı. Besiyerinin bulunduğu cam tüpe basitrasin eklenip 15 dk beklendi. Hastaya parafin pelet yumuşayana kadar çiğnetilip salgılanan tükürük

hasta tarafından yutuldu. Kit içerisinde bulunan plastik çubuğun dil yüzeyinde tükürükle kontaminasyonu sağlandı ve ağız kapatılarak çubuk dudaklar arasından çekilerek çıkartıldı. Plastik çubuk cam tüp içine yerleştirilip inkübasyon için 35-37°C'deki etüve yerleştirildi (Resim 3). Sonuçların değerlendirilmesi laboratuvar aşamasında yapıldı.



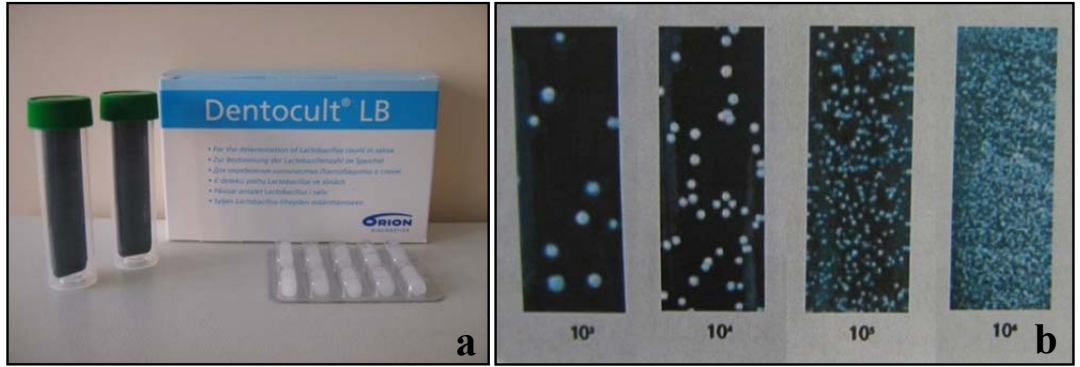
Resim 2. (a) Tükürük tamponlama kapasitesinin ölçümünde kullanılan malzemeler (steril pipet, test şeridi ve renk skalası), **(b)** sonuçların değerlendirilmesine ait skala (CRT buffer, Ivoclar Vivadent)



Resim 3. (a) Tükürükte mutans streptokok sayımında kullanılan malzemeler (besiyerini içeren cam tüp, plastik çubuk, basitrasin, parafin), **(b)** sonuçların değerlendirilmesine ait skala (Dentocult SM, Orion Diagnostica)

3.1.9. Tükürükte Laktobasil Sayımı Testinin Uygulanması

Tükürükte laktobasil sayısını belirlemek için içerisinde parafin, besiyeri içeren çubuk ve plastik tüp bulunan bir dental kit (Dentocult LB, Orion Diagnostica, Espoo, Finlandiya, Tablo 3) kullanıldı. Parafin 1 dk boyunca hasta tarafından çiğnenerek uyarılmış tükürük steril kaba tükürtüldü. Kap içinde toplanan tükürük çubuğun her iki yüzeyine döküldü. Çubuk tüpün içine yerleştirilip sıkıca kapatıldı. Tükürük ile enfekte edilmiş çubuğu içeren tüp inkübasyon için 37°C'deki etüve yerleştirildi (Resim 4). Sonuçların değerlendirilmesi laboratuvar aşamasında yapıldı.



Resim 4. (a) Tükürükte laktobasil sayımında kullanılan malzemeler (parafin, besiyeri içeren çubuk ve plastik tüp), **(b)** sonuçların değerlendirilmesine ait skala (Dentocult LB, Orion Diagnostica)

3.1.10. Yanak İçi Sürüntü Örneğinin Alınması

DNA izolasyonu için hastaların yanak içi mukozasından alınan sürüntü örnekleri kullanıldı. Sürüntü örneklerini almak için pamuklu çubuk ve içerisinde stabilizasyon sıvısı bulunan plastik tüp kullanıldı (Saliva Gene Buccal Swab, Stratec Molecular GmbH, Berlin, Almanya, Tablo 3). DNA izolasyonu yapılırken DNA kalitesinin etkilenmemesi için hastalardan bir saat öncesine kadar yemek yememesi ve sigara içmemesi istendi. Hastanın önce sağ yanak içi, kit içerisinden çıkartılan pamuklu çubukle 30 s boyunca hafifçe ovuldu ve pamuklu ucun tükürükle kontaminasyonu sağlandı. Aynı işlem 30 s boyunca sol yanak içinde tekrarlandı. Her iki yanak içinden sürüntü alındıktan sonra plastik tüpün kapağı açıldı ve içerisine pamuklu çubuk yerleştirildi. Pamuklu çubuk, işaretli kırılma noktasından kırılarak plastik tüpün kapağı kapatıldı ve örnekler oda ısısında saklandı.

3.2. Laboratuvar Uygulama

3.2.1. Mutans Streptokok Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Mutans streptokok testi için enkübasyon yapılması ve test sonuçlarının değerlendirilmesi laboratuvar aşamasında yapıldı. Plastik çubuk içeren cam tüp 35-37°C'de 48 sa etüvde (Binder, İstanbul, Türkiye) inkübe edildi. Sonuç, kit içindeki 10.000'den az, 100.000'den az, 10.000 ile 100.000 arası ve 1000.000'den fazla kob/ml lik değerleri şematik olarak gösteren skalayla görsel olarak değerlendirildi (Resim 3). Tükürükteki mutans streptokok sayısının değerlendirilmesi aşağıdaki gibi yapıldı (Tablo 1).

Tükürük mutans streptokok sayısının değerlendirilmesi:

$<10^4$ kob/ml: Tükürükte mutans streptokokları miktarı çok az veya hiç yok

$<10^5$ kob/ml: Tükürükte mutans streptokokları miktarı düşük

10^5 - 10^6 kob/ml: Tükürükte mutans streptokokları miktarı yüksek

$>10^6$ kob/ml: Tükürükte mutans streptokokları miktarı çok yüksek

3.2.2. Laktobasil Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Laktobasil testi için enkübasyon yapılması ve test sonuçlarının değerlendirilmesi laboratuvar aşamasında yapıldı. Tükürük ile enfekte edilmiş çubuğu içeren tüp 37°C'de 96 sa etüvde inkübe edildi. Sonuç çubuk üzerindeki koloni yoğunluğu 1.000, 10.000, 100.000 ve 1000.000 kob/ml'lik değerlere sahip skala ile görsel olarak karşılaştırıldı (Resim 4). Tükürükteki laktobasil sayısının değerlendirilmesi aşağıdaki şekilde yapıldı (Tablo 1).

Tükürük laktobasil sayısının değerlendirilmesi:

10^3 kob/ml: Tükürükte laktobasil miktarı düşük

10^4 kob/ml: Tükürükte laktobasil miktarı orta

10^5 kob/ml: Tükürükte laktobasil miktarı yüksek

10^6 kob/ml: Tükürükte laktobasil miktarı çok yüksek

Tablo 1. Çevresel çürük risk faktörlerine ait verilerin toplanması ve skorlanması

Faktör	Veri Toplama	Skor
Plak miktarı	Ağız hijyeninin klinik muayenede Silness ve Løe Plak İndeksine göre değerlendirilmesi	0: PI<0.4 1: PI 0.4-1.0 2: PI 1.1-2.0 3: PI>2
Diş fırçalama sıklığı	Ağız hijyen alışkanlıklarının anket uygulamasında toplanan verilere göre değerlendirilmesi	0: günde 3 kez 1: günde 2 kez 2: günde 1 kez 3: günde <1 kez
Öğün dışı diyet sıklığı	Günlük ana öğünler dışındaki öğün sıklığının anket uygulamasında toplanan verilere göre değerlendirilmesi	0: günde 0 kez 1: günde 1-2 kez 2: günde 3-4 kez 3: günde >4 kez
Tükürük akış hızı	Parafin çiğnetilmesi ile uyarılmış tükürük akış hızının dakikada mililitre olarak hesaplanması	0: >1.1 ml/dk 1: 0.9-1.1 ml/dk 2: 0.5-0.9 ml/dk 3: <0.5 ml/dk
Tamponlama kapasitesi	Tükürük tamponlama kapasitesinin CRT buffer kiti kullanılarak değerlendirilmesi	0: pH≥6.0 1: pH 4.5-5.5 2: pH≤4.0
Mutans streptokok sayısı	Tükürükte mutans streptokokları sayısının Dentocult SM kiti kullanılarak ve 35-37°C'de 48 sa enküasyon süresi sonrasında hesaplanması	0: <10 ⁴ kob/ml 1: <10 ⁵ kob/ml 2: 10 ⁵ -10 ⁶ kob/ml 3: >10 ⁶ kob/ml
Laktobasil sayısı	Tükürükte laktobasil sayısının Dentocult LB kiti kullanılarak ve 37°C'de 96 sa enküasyon süresi sonrasında hesaplanması	0: 10 ³ kob/ml 1: 10 ⁴ kob/ml 2: 10 ⁵ kob/ml 3: 10 ⁶ kob/ml

3.3.3. TNP Seçimi

AMELX geni, X kromozomunda p22.31-p22.1'de lokalize 835 baz çifti uzunluğunda ve 7 eksona sahiptir. Ensembl veri tabanında AMELX geni için 76 TNP girişinin mevcut olduğu tespit edildi. Çalışmamızda incelenmek üzere çürük riski ile ilişkilendirilmesi nedeniyle AMELX (+522) polimorfizmi seçildi. Söz konusu polimorfizmde Lösin (Leu) aminoasitinde değişiklik gözlenmemektedir (95).

CA6 geni, 1. kromozomda p36.2'de lokalize 1319 baz çifti uzunluğunda ve 8 eksona sahiptir. Ensembl veri tabanında CA6 geni için 103 TNP girişinin mevcut olduğu tespit edildi. Çalışmamızda incelenmek üzere çürük riski ile ilişkilendirilmesi

nedeniyle *CA6* (T55M) polimorfizmi seçildi. Bu polimorfizmde Treonin (Thr) aminoasiti Metiyonin (Met) aminoasidine dönüşmektedir (95).

DEFB1 geni, 8. kromozomda p23.1’de lokalize 478 baz çifti uzunluğundadır. Ensembl veri tabanında *DEFB1* geni için 35 TNP girişinin mevcut olduğu tespit edildi. Çalışmamızda incelenmek üzere çürük riski ile ilişkilendirilmesi nedeniyle *DEFB1* (G-20A) polimorfizmi seçildi. Bu polimorfizm *DEFB1* geninin promotor bölgesinde gerçekleştiği için aminoasit değişimi oluşturmamaktadır (95).

TAS2R38 geni, 7. kromozomda q34’de lokalize 1143 baz çifti uzunluğunda ve 1 eksone sahiptir. Ensembl veri tabanında *TAS2R38* geni için 106 TNP girişinin mevcut olduğu tespit edildi. Çalışmamızda incelenmek üzere çürük riski ile ilişkilendirilmesi nedeniyle *TAS2R38* (A49P) polimorfizmi seçildi. Bu polimorfizmde Alanin (Ala) aminoasiti Prolin (Pro) aminoasidine dönüşmektedir (95, Tablo 2)

Tablo 2. Çalışmada incelenen genlere ait tek nükleotid değişiklikleri

Gen	Ekson	Lokus	Referans Sekans No	Baz Değişimi	Aminoasit Değişimi
Amelogenin (<i>AMELX</i>)	Ekson 6	Xp22.31-p22.1	rs6639060	C/T	Leu/Leu
Karbonik anhidraz 6 (<i>CA6</i>)	Ekson 2	1p36.2	rs2274327	C/T	Thr/Met
Beta defensin 1 (<i>DEFB1</i>)	Promotor bölge	8p23.1	rs11362	G/A	-
Tat reseptör ‘tip 2, 38. üye’ (<i>TAS2R38</i>)	Ekson 1	7q34	rs713598	C/G	Ala/Pro

Referans Sekans No; Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi tarafından verilen tek nükleotid polimorfizmi referans numarası, Leu; Lösin, Thr; Treonin, Met; Metiyonin, Ala; Alanin, Pro; Prolin

Tablo 3. Tükürük testleri ve DNA izolasyonunda kullanılan kitler

Test	Ticari İsim	Üretici Firma/Kutu No
Tükürük tamponlama kapasitesinin ölçümü	CRT buffer	Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein/553544
Tükürükte mutans streptokok sayısı	Dentocult SM	Orion Diagnostica, Espoo, Finlandiya/67647
Tükürükte laktobasil sayısı	Dentocult LB	Orion Diagnostica, Espoo, Finlandiya/67671
Yanak içi sürüntü örneğinin alınması	SalivaGene Buccal Swab	Stratec Molecular Berlin, Almanya/1035230200
DNA izolasyonu	PSP SalivaGene DNA	Invitek GmbH, Berlin, Almanya/1035200300

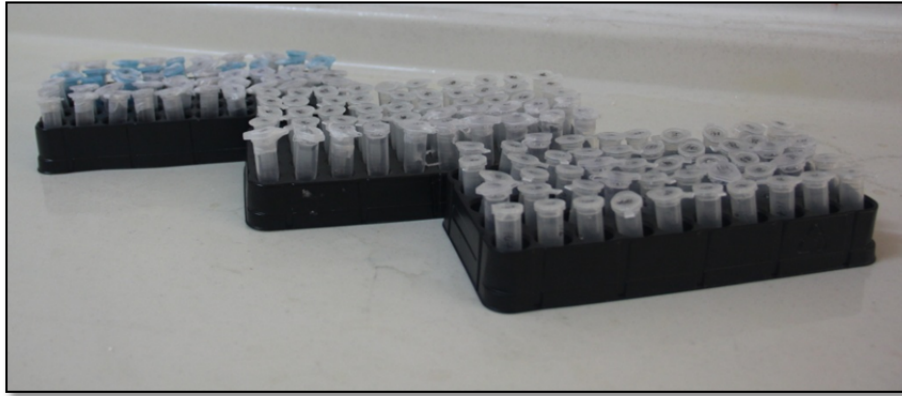
3.2.4. DNA İzolasyonu

Hastalardan yanak içi sürüntü örnekleri alındıktan sonra örneklerin laboratuvar ortamında izolasyonu sağlandı. Bunun için içerisinde Proteinaz K, Binding Buffer A, Wash Buffer 1, Wash Buffer 2 ve Elution Buffer D bulunan DNA izolasyon kiti (PSP SalivaGene DNA, Invitek, Berlin, Almanya, Tablo 3) kullanıldı. DNA izolasyonu için ilk olarak 500 µl yanak içi sürüntü örneği eppendorf tüpüne eklendi. Tüp, 20 µl Proteinaz K ilave edildikten sonra 48°C’de su banyosunda (Termal Laboratuvar Aletleri 820-3, İstanbul, Türkiye) 20 dk bekletildi ve daha sonra 200 µl Binding Buffer A eklenerek 10 s girdaplı tüp karıştırıcısında (Nüve NM 110, Ankara, Türkiye) tutuldu. Tüm süspansiyon, filtreli tüpetransfer edilerek oda ısısında 1 dk beklendi ve 12.000 rpm’de 2 dk santrifüj (Heraus Biofuge D-37520, Thermo Fisher Scientific Waltham, ABD, Resim 5) edildi. Daha sonra 500 µl Wash Buffer 1 eklenerek 12.000 rpm’de 2 dk santrifüj edildi. Tüpe 600 µl Wash Buffer 2 eklenerek 12.000 rpm’de 2 dk santrifüj edildikten sonra tekrar 600 µl Wash Buffer 2 eklendi ve santrifüj tekrarlandı. Son olarak etanolü uzaklaştırmak için maximum hız kullanılarak 5 dk santrifüj yapıldı. Filtreli tüpün filtreli kısmı yeni bir steril eppendorf tüpüne yerleştirildi ve filtreli kısma 48°C’de ısıtılmış olan Elution

Buffer D'den 50-100 µl eklendi. Son olarak oda ısısında 1 dk beklenecek 12.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi. Böylelikle eppendorf tüpünde yanak içi sürüntü örneğine ait saf genomik DNA elde edilmiş olundu (Resim 6).



Resim 5. Santrifüj cihazı (Heraeus Biofuge D-37520, Thermo Fisher Scientific Waltham, ABD)



Resim 6. Çalışmadaki bireylerden elde edilen saf genomik DNA örnekleri

3.2.5. Gen Amplifikasyonu

İzole edilen DNA örnekleri kullanılarak gen polimorfizmlerinin bulunduğu bölgeler, her gene özgü ileri primer (forward, F) ve geri primer (reverse, R) varlığında polimeraz zincir reaksiyonu (PZR, "polymerase chain reaction, PCR") yöntemi ile çoğaltıldı. Böylece *AMELX* geni için (+522) polimorfizm bölgesinin, *CA6* geni için (T55M) polimorfizm bölgesinin, *DEFB1* geni için (G-20A) polimorfizm bölgesinin ve *TAS2R38* geni için (A49P) polimorfizm bölgesinin çoğaltılması (amplifikasyonu) sağlandı.

3.2.5.1. Standart PZR Reaksiyon Karışımının Hazırlanması

PZR yöntemi için standart PZR reaksiyon karışımı hazırlandı ve çalışmada incelenen genlerin tümü için aynı karışım kullanıldı. Bu karışım; tampon solüsyonu (Taq Buffer), deoksinükleosit trifosfat karışımı (dNTP Mix), ısıya dayanıklı DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polimeraz), her gene özgü 'Forward' primer (F) ve 'Reverse' primer (R), magnezyum klorür ($MgCl_2$), distile su (dH_2O) ve izole edilen DNA örneği kullanılarak hazırlandı (Tablo 4).

PZR reaksiyon karışımının hazırlanmasına ilk olarak dNTP karışımı ile başlandı. Bunun için, her bir dNTP'den (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) 50 µl alınarak üzerine 800 µl distile su eklendi ve dNTP karışımı elde edildi. Daha sonra bu karışıma tampon solüsyonu, ısıya dayanıklı DNA polimeraz enzimi, her gene özgü forward ve reverse primer, magnezyum klorür ve distile su bileşenleri eklendi. Son olarak 0.2 ml'lik PZR tüplerine hazırlanan reaksiyon karışımından 20 µl dağıtılarak, her bir tüpe 5 µl DNA ilave edildi. Toplam hacim 25 µl olacak şekilde bir bireye ait örnek hazırlandı.

3.2.5.2. PZR Primerlerinin Seçimi ve Hazırlanması

AMELX, *CA6*, *DEFB1* ve *TAS2R38* genlerine ait polimorfizm bölgelerinin çoğaltılmasında kullanılan primerlerin nükleotid dizileri Tablo 5'de gösterildiği şekildedir (57, 62, 96, 97).

AMELX (+522) forward primerin 54.6 nmol lyofilize formda gönderilmesi dolayısıyla üzerine 546.4 µl distile su eklenerek 100 pmol stok primer elde edildi. Daha sonra 90 µl distile su üzerine 10 µl stok primerden eklenerek 10 pmol/µl primer hazırlandı. *AMELX* (+522) reverse primer ise 16.5 nmol lyofilize formda gönderildiği için üzerine 165.5 µl distile su eklendi ve 100 pmol stok primer elde edildi. Daha sonra 90 µl distile su üzerine 10 µl stok primerden eklenerek 10 pmol/µl primer hazırlandı.

CA6 (T55M) forward primerin 42.2 nmol lyofilize formda gönderilmesi dolayısıyla üzerine 422.4 µl distile su eklendi ve 100 pmol stok primer elde edildi. Daha sonra 90 µl distile su üzerine 10 µl stok primerden eklenerek 10 pmol/µl primer hazırlandı. *CA6* (T55M) reverse primer ise 42.1 nmol olarak lyofilize formda gönderildiği için üzerine 421.0 µl distile su eklenerek 100 pmol stok primer elde edildi. Bu işlemin ardından 90 µl distile su üzerine 10 µl stok primerden eklenerek 10 pmol/µl primer hazırlandı.

DEFB1 (G-20A) forward primerin 20.8 nmol lyofilize formda gönderilmesi dolayısıyla üzerine 207.7 µl distile su eklendi ve 100 pmol stok primer elde edildi. Daha sonra 90 µl distile su üzerine 10 µl stok primerden eklenerek 10 pmol/µl primer hazırlandı. *DEFB1* (G-20A) reverse primer ise 22.2 nmol olarak lyofilize formda gönderildiği için üzerine 222.3 µl distile su eklendi ve 100 pmol stok primer elde edildi. Bu işlemin ardından 90 µl distile su üzerine 10 µl stok primerden eklenerek 10 pmol/µl primer hazırlandı.

TAS2R38 (A49P) forward primerin 26.3 nmol olarak lyofilize formda gönderildiği için üzerine 263.5 µl distile su eklendi ve 100 pmol stok primer elde edildi. Daha sonra 90 µl distile su üzerine 10 µl stok primerden eklenerek 10 pmol/µl primer hazırlandı. *TAS2R38* (A49P) reverse primerin 46.5 nmol lyofilize formda gönderilmesi dolayısıyla üzerine 465.4 µl distile su eklendi ve 100 pmol stok primer elde edildi. Son olarak 90 µl distile su üzerine 10 µl stok primerden eklenerek 10 pmol/µl primer hazırlandı.

Tablo 4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) karışımı için kullanılan bileşenler

Bileşenler	Üretici Firma/Lot No	Konsantrasyon	Hacim
Taq Buffer	Fermantes, Vilnius, Litvanya/00096448	10x	2,5µl
dNTP Mix (dATP, dTTP, dCTP, dGTP)	Promega, Medison, ABD/ 100157,100162,100212,100236	200 µM	1,0 µl
Taq DNA Polymerase	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/00100787	5 u/µl	0,3 µl
<i>AMELX</i> Forward	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/20180358	10 pmol	1,5 µl
<i>AMELX</i> Reverse	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/20180359	10 pmol	1,5 µl
<i>CA6</i> Forward	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/20180360	10 pmol	1,5 µl
<i>CA6</i> Reverse	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/20180361	10 pmol	1,5 µl
<i>DEFBI</i> Forward	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/20180362	10 pmol	1,5 µl
<i>DEFBI</i> Reverse	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/20180363	10 pmol	1,5 µl
<i>TAS2R38</i> Forward	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/20180364	10 pmol	1,5 µl
<i>TAS2R38</i> Reverse	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/20180365	10 pmol	1,5 µl
MgCl ₂	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/00100787	1.25 mL	1,0 µl
dH ₂ O	Sigma, Missouri, ABD/ 9A0001	-	12,2 µl
İzole DNA örneği	-	30 ng	5,0 µl

Tablo 5. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) için kullanılan primerlerin nükleotid dizileri (57,62, 96, 97).

Gen	PZR Primer
<i>AMELX</i> (+522)	
Forward	5'GCCAACACTCCATGACTCCAATCC3'
Reverse	5'GCATGGGGAACATCGGAGGCAGAGGTGGCTGTGGCGTTA3'
<i>CA6</i> (T55M)	
Forward	5'TGTCTTAGAAGGGGCACTGG3'
Reverse	5'CCTTCCTCTTACCTGTGTGG3'
<i>DEFB1</i> (G-20A)	
Forward	5'CTTGACTGTGGCACCTCCCTTCAG3'
Reverse	5'CAGCCCTGGGGATGGGAAACT3'
<i>TAS2R38</i> (A49P)	
Forward	5'CCTTCGTTTTCTTGGTGAATTTTTGGGATGTAGTGAAGAGGCGG3'
Reverse	5'AGGTTGGCTTGGTTTGCAATCATC 3'

3.2.5.3. PZR Program Dizayını

Standart PZR reaksiyon karışımı tüplere dağıtıldıktan sonra tüpler hızlı santrifüj yapıldı ve PZR cihazına (Primus 96, PeQLab, Erlangen, Almanya) yerleştirildi (Resim 7). PZR işleminde çift sarmallı DNA yapısının tek sarmallı hale dönüşmesi için örnekler ısı ile denatüre edildi. Bu işlemin ardından soğumuş ortamda, incelenen gen polimorfizmine özgü primerler tek sarmallı DNA'ların uygun bölgelerine bağlandı. Daha sonra Taq DNA polimeraz enzimi primerlerin bağlandığı yerlerden başlayarak DNA'nın kalan kısmının sentezlenmesini sağladı. Çalışmada incelenen her gen için farklı PZR program dizayını kullanıldı. Tablo 6'da *AMELX*, *CA6*, *DEFB1* ve *TAS2R38* genlerine ait polimorfizm bölgelerinin çoğaltılması için gerekli PZR şartları gösterilmektedir.



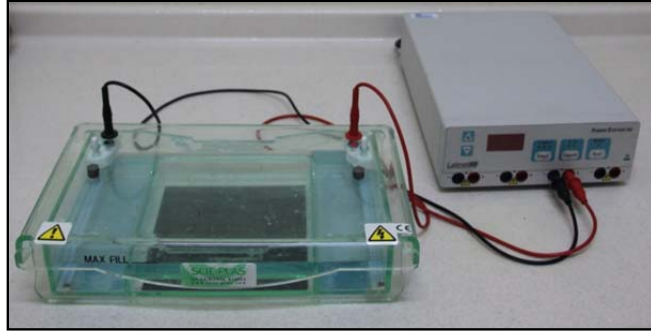
Resim 7. PZR cihazı (Primus 96, PeQLab, Erlangen, Almanya)

Tablo 6. Çalışmada incelenen genler için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) şartları

PZR Basamakları	Sıcaklık	Süre	Siklus Sayısı
<i>AMELX (+522)</i>			
İlk denatürasyon	96°C	2 dk	-
Denatürasyon	94°C	1 dk	45
Primer bağlanma	58°C	1.5 dk	45
Uzama	72°C	1 dk	45
Son uzama	74°C	7 dk	-
<i>CA6 (T55M)</i>			
İlk denatürasyon	95°C	5 dk	-
Denatürasyon	95°C	1 dk	35
Primer bağlanma	59°C	1 dk	35
Uzama	72°C	1 dk	35
Son uzama	72°C	7 dk	-
<i>DEFBI (G-20A)</i>			
İlk denatürasyon	95°C	15 dk	-
Denatürasyon	94°C	30 s	35
Primer bağlanma	67°C	30 s	35
Uzama	72°C	30 s	35
Son uzama	72°C	5 dk	-
<i>TAS2R38 (A49P)</i>			
İlk denatürasyon	94°C	5 dk	-
Denatürasyon	94°C	30 s	30
Primer bağlanma	64°C	45 s	30
Uzama	72°C	45 s	30
Son uzama	72°C	5 dk	-

3.2.5.4. PZR Ürünlerinin Kontrolü

PZR işleminden sonra çoğaltılan *AMELX* (+522), *CA6* (T55M), *DEFB1* (G-20A) ve *TAS2R38* (A49P) gen polimorfizmlerine ait DNA varlığı ‘Jel Elektroforez’ yöntemi ile kontrol edildi. Bunun için PZR tüpünden alınan 10 µl örnek 2 µl yükleme tamponu (Favorgen, Biotech Corp, Ping Tung, Taiwan) ile karıştırılarak %3 oranında hazırlanmış olan agaroz jelde (Serva 11380, Heidelberg, Almanya) bulunan kuyucuklara eklendi. Daha sonra jel, elektroforez cihazında (Scie Plas V-Gel, Cambridge, İngiltere, Resim 8) 100 voltta 30 dk yürütüldü. PZR ürünü oluşumu gözlenen örnekler +4°C’de enzim kesim reaksiyonu için saklandı. Amplifikasyonun gerçekleşmediği örneklerde ise yeniden PZR yapıldı. Bazı kuyucuklarda ise DNA gözlenemediğinden dolayı ilgili numuneler için yeniden DNA izolasyonu ve PZR işlemi yapıldı.



Resim 8. Elektroforez cihazı (Scie Plas V-Gel, Cambridge, İngiltere)

3.2.6. RFLP Uygulamaları

PZR işleminden sonra çoğaltılan DNA örnekleri üzerinde ‘Kısıtlayıcı Enzim Kesimi Parça Uzunluğu Polimorfizmi’ (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) tekniği kullanılarak enzim kesim reaksiyonu gerçekleştirildi. Bu teknikte çalışmada incelenen her gene özgü kesim (restriksiyon) enzimleri kullanılarak DNA örnekleri restriksiyon enzimleri ile kesildi ve kesilen parçaların elektroforez cihazında jel üzerinde yürütülmesi sonucu birbirinden ayrılması sağlandı. Böylece enzim reaksiyonu sonrası DNA üzerinde polimorfizm gözlenen bölgenin tespit edilmesi amaçlandı.

3.2.6.1. Enzim Karışımının Hazırlanması

Enzim kesim reaksiyonu gerçekleştirebilmek için Tablo 7’de belirtilen bileşenler kullanılarak restriksiyon enzim karışımı hazırlandı. Karışımı hazırlarken *AMELX*, *CA6*, *DEFBI* ve *TAS2R38* genleri için farklı restriksiyon enzimleri kullanıldı. Bu karışımından her bir birey için 21 µl elde edildi. Daha sonra PZR işleminde elde edilen üründen 10’ar µl bu karışım üzerine eklendi ve hızlı santrifüjlenerek etüvde 65°C’de 3-5 sa inkübe edildi.

Tablo 7. Restriksiyon enzimi karışımı için kullanılan bileşenler

Bileşenler	Üretici Firma/Lot No	Konsantrasyon	Hacim
Taq Buffer	Fermantes, Vilnius, Litvanya/00096448	10x	2 µl
<i>AMELX</i> (+522) MseI restriksiyon enzimi	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/00100195	5U/µl	1 µl
<i>CA6</i> (T55M) BtsCI restriksiyon enzimi	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/00096540	5U/µl	1 µl
<i>DEFBI</i> (G-20A) ScRFI restriksiyon enzimi	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/00098427	5U/µl	1 µl
<i>TAS2R38</i> (A49P) HaeIII restriksiyon enzimi	Thermo Fisher Scientific, Waltham, ABD/00048641	5U/µl	1 µl
Distile su (pH 7.0)	Sigma, Missouri, ABD/9A000	-	18 µl
PZR ürünü	-	-	10 µl

3.2.6.2. Enzim Kesim Ürünlerinin Değerlendirilmesi

Enzim kesim reaksiyonunda DNA örneklerinde oluşan kesim bölgelerinin birbirinden ayrılmasını sağlamak amacıyla jel elektroforez yöntemi kullanıldı. Bunun için agaroz jel %3 oranında hazırlanarak, restriksiyon enzimi ile kesilen DNA örneğinden yaklaşık 8 µl ve yükleme tamponundan 2 µl alınarak karıştırılıp agaroz jeldeki kuyucuklara yükleme yapıldı. Kesim ürünleri, DNA moleküler markör

(Promega G 2101 Medison, ABD) ile birlikte elektroforez cihazında 100 voltta 30 dk yürütüldü. Yürütme sonrası ayrılan parçalar jel üzerinde bant şeklinde görüntüledi ve bantların büyüklükleri transillüminatör cihazında (Ultra Lum. Inc., Kaliforniya, ABD, Resim 9) değerlendirildi.

Değerlendirme sonucunda DNA örneğinin *AMELX* geni (+522) polimorfizmi için genotip görünümü CC ise homozigot normal, CT ise heterozigot normal, TT ise homozigot polimorfik olduğuna, *CA6* geni (T55M) polimorfizmi için genotip görünümü CC ise homozigot normal, CT ise heterozigot normal, TT ise homozigot polimorfik olduğuna, *DEFBI* geni (G-20A) polimorfizmi için genotip görünümü GG ise homozigot normal, GA ise heterozigot normal, AA ise homozigot polimorfik olduğuna ve *TAS2R38* (A49P) polimorfizmi için genotip görünümü CC ise homozigot normal, CG ise heterozigot normal, GG ise homozigot polimorfik olduğuna karar verildi.

İncelenen genlere ait tek nükleotid polimorfizmlerinin varlığı; *AMELX* geni (+522) bölgesinde Sitozin bazının Timine (C/T) dönüşmesi, *CA6* geni (T55M) bölgesindeki Sitozin bazının Timine (C/T) dönüşmesi, *DEFBI* geni (G-20A) bölgesinde Guanin bazının Adenine (G/A) dönüşmesi, *TAS2R38* geni (A49P) bölgesindeki Sitozin bazının Guanine (G/A) dönüşmesi sonucu tespit edildi. Buna göre *AMELX* (+522) polimorfizmi için C normal, T polimorfik alel olarak, *CA6* (T55M) polimorfizmi için C normal, T polimorfik alel olarak *DEFBI* (G-20A) polimorfizmi için G normal, A polimorfik alel olarak, *TAS2R38* (A49P) polimorfizmi için C normal, G polimorfik alel olarak saptandı (Tablo 2).



Resim 9. Transillüminatör cihazı (Ultra Lum. Inc., Kaliforniya, ABD)

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada yer alan yaş değişkeninin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilks testi ile değerlendirildi. Düşük ve yüksek çürük risk grupları arasında yaş ve cinsiyet açısından fark olup olmadığı Ki kare (χ^2) testi ile incelendi.

Plak miktarı, diş fırçalama sıklığı, öğün dışı diyet sıklığı, tükürük akış hızı, tükürük tamponlama kapasitesi, tükürükte mutans streptokok sayısı ve tükürükte laktobasil sayısı gibi değişkenlerin düşük ve yüksek çürük risk gruplarında farklılığını değerlendirmek amacıyla Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Çalışmadaki seçilen bireylerin incelenen genlere özgü kararlı bir popülasyonu yansıtmayı yansıtmadığı Hardy-Weinberg yasası ile incelendi. Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında *AMELX*, *CA6*, *DEFB1* ve *TAS2R38* genlerinin genotip ve allel frekans dağılımı açısından farklılık gösterip göstermediği Ki kare (χ^2) testi ile değerlendirildi.

DMFT skoruna etki eden genlerle birlikte çevresel faktörleri belirleyebilmek için adımsal ilerlemeli çoklu doğrusal regresyon (stepwise multiple linear regression) modeli kullanıldı. Modele giriş için olasılık değeri 0.05, modelden çıkarılma için olasılık değeri 0.10 olarak belirlendi.

İstatistiksel analizler ve hesaplamalar için IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) ve MS Excel 2007 (Microsoft Office Excel 2007 for windows 2007) programları kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Bireylerin Tanımlayıcı Özelliklerine Ait Bulgular

Çalışmaya katılan 154 birey, düşük ve yüksek çürük risk grubunda eşit sayıda yer aldı (n=77). Düşük ve yüksek çürük risk gruplarının cinsiyet açısından karşılaştırmalı tanımlayıcı test istatistiği Tablo 8’de, yaş ve DMFT değişkenleri açısından tanımlayıcı istatistikleri ise Tablo 9’da gösterilmektedir. Bireylerin %43.5’inin (n=67) erkek, %56.5’inin (n=87) kadınlardan oluştuğu saptandı. Düşük ve yüksek çürük risk grubu arasında kadın ve erkek bireylerin dağılımı açısından fark yoktu (Ki kare testi, $p=0.871$, Tablo 10).

Normal dağılım göstermediği belirlenen yaş ve DMFT değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinin gösteriminde ortanca (medyan) ve çeyreklikler arası genişlik (ÇAG) kullanıldı. Çalışmaya katılan 20-60 yaş aralığındaki bireylerin yaş ortancası 28.0 (ÇAG=19.0; min=20.0; mak=60.0) olarak saptandı. Yaş ortancası, düşük çürük risk grubunda 23.0 (ÇAG=11.0) ve yüksek çürük risk grubunda 37.0 (ÇAG=18.0) olarak hesaplandı. Düşük ve yüksek çürük risk grupları arasında yaş açısından anlamlı farklılık olduğu belirlendi (Mann-Whitney U testi, $p<0.001$, Tablo 10). Yaş aralıklarına göre genç erişkin (20-24 yaş), orta yaş erişkin (25-44 yaş) ve erişkin (45-64 yaş) birey olarak ayrılan gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak fark saptandı (Ki kare testi, $p<0.001$, Tablo 10).

Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerin DMFT ortanca değerleri ve gruplara göre DMFT skorlarının dağılımı Tablo 10’de gösterilmiştir. Yüksek çürük risk grubunun DMFT ortancası 16.0 (ÇAG=4.0) ve düşük çürük risk grubunun DMFT ortancası 2.0 (ÇAG=3.0) olarak elde edildi. Yüksek çürük risk grubunda yer alan bireylerin DMFT değeri düşük çürük risk grubundaki bireylerin DMFT değerine göre anlamlı düzeyde daha yüksekti (Mann-Whitney U testi, $p<0.001$).

Tablo 8. Cinsiyete ait test istatistiği (Ki kare testi)

	Değer	Serbestlik derecesi	p değer	Anlamlılık seviyesi (çift yönlü)	Anlamlılık seviyesi (tek yönlü)
Ki kare	0,026	1	0,871		
Devamlılık düzeltmeli ki kare	0,000	1	1,000		
Olasılık oranı	0,026	1	0,871		
Fisher'ın kesin ki kare testi				1,000	0,500
Doğrusal olarak çakışma	0,026	1	0,871		
Kişi sayısı (N)	154				

Tablo 9. DMFT ve yaş değişkenlerine ait test istatistiği (Mann-Whitney U testi)

	DMFT	Yaş
U değer	0,000	1684,000
Wilcoxon W	3003,000	4687,000
Z değer	-10,761	-4,640
Anlamlılık düzeyi (p)	0,000	0,000

4.2. Çevresel Risk Faktörlerine Ait Bulgular

Çalışmaya katılan bireylerde sistemik ve kronik hastalıkların bulunmadığı gözlemlendi. Bireylerin hiçbirinin radyoterapi veya kemoterapi tedavisi görmediği belirlendi. Çalışmada yer alan hastaların ek florür preparatı kullanmadığı tespit edildi. Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerde çevresel faktörlere ait incelenen değişkenlerin aldığı ortanca skor değerleri ve istatistiksel olarak karşılaştırılmaları Tablo 11, Tablo 12 ve Şekil 2’de gösterilmektedir. Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerin aldığı skora göre çevresel çürük risk faktörlerine ait frekans dağılımı ise Tablo 13’de gösterilmektedir.

Tablo 10. Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerin tanımlayıcı özellikleri

Özellikler	Düşük Çürük Risk Grubu	Yüksek Çürük Risk Grubu
Toplam birey sayısı	77	77
Cinsiyet, n (%)		
Erkek	33 (49,3)	34 (50,7)
Kadın	44 (50,6)	43 (49,4)
		p=0.871*
Yaş, ortanca (ÇAG)	23,0 (11,0)	37,0 (18,0)
		p<0.001**
Yaş aralığı, n (%)		
20-24 yaş	42 (73,7)	15 (26,3)
25-44 yaş	31 (41,3)	44 (58,7)
45-64 yaş	4 (18,2)	18 (81,8)
		p<0,001*
DMFT, ortanca (ÇAG)	2,0 (3,0)	16,0 (4,0)
		p<0,001**
DMFT skor dağılımı, n (%)		
0	8 (5,2)	0 (0)
1	15 (9,7)	0 (0)
2	17 (11,0)	0 (0)
3	18 (11,7)	0 (0)
4	13 (8,4)	0 (0)
5	6 (3,9)	0 (0)
6	-	-
7	-	-
8	-	-
9	-	-
10	-	-
11	-	-
12	-	-
13	-	-
14	0 (0)	22 (14,3)
15	0 (0)	11 (7,1)
16	0 (0)	14 (9,1)
17	0 (0)	8 (5,2)
18	0 (0)	9 (5,8)
19	0 (0)	4 (2,6)
20	0 (0)	3 (1,9)
21	0 (0)	1 (0,6)
22	0 (0)	1 (0,6)
23	0 (0)	1 (0,6)
24	0 (0)	3 (1,9)

*Ki kare testi, **Mann-Whitney U testi, p<0.05

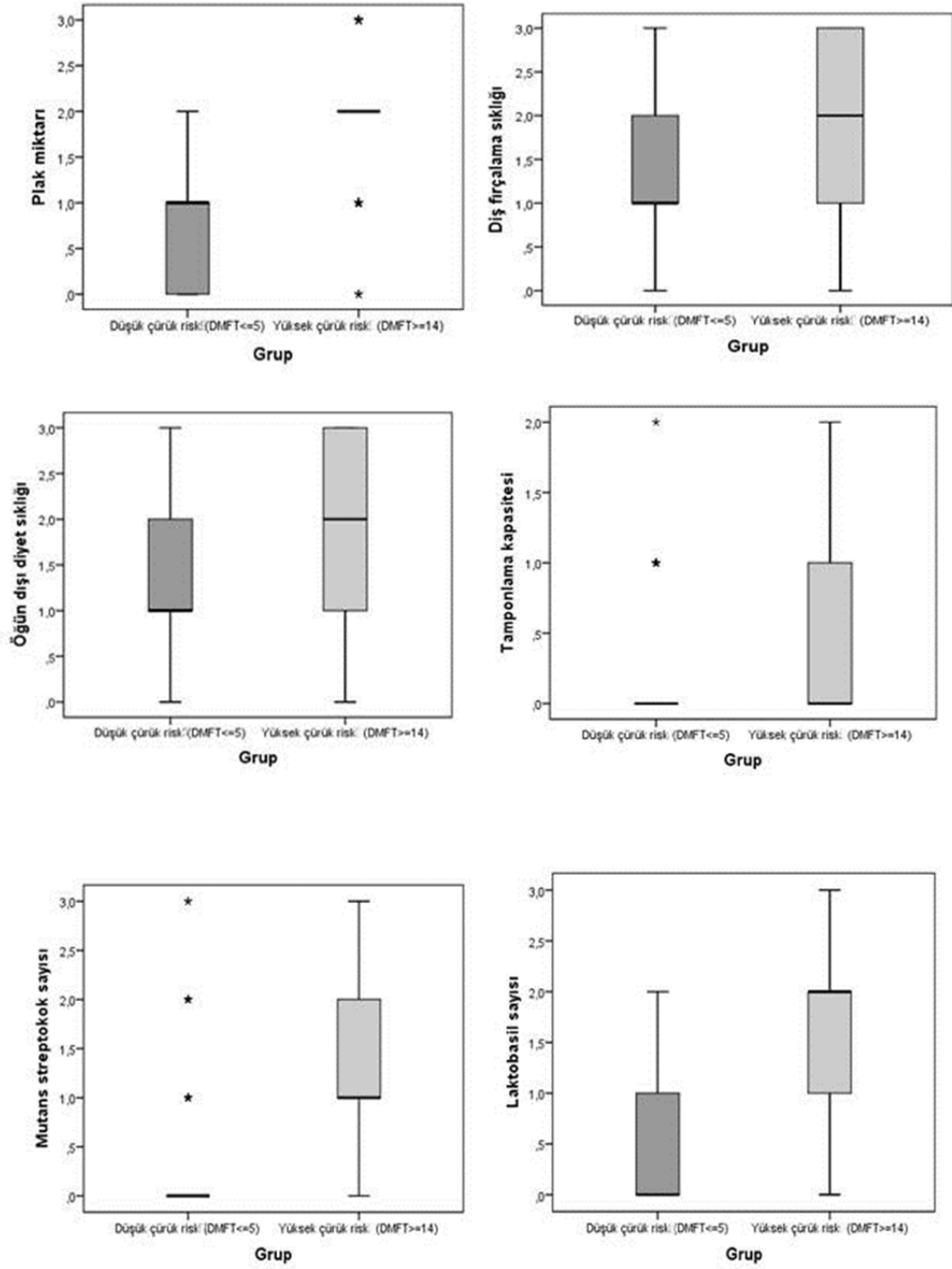
Tablo 11. Çevresel risk faktörlerine ait test istatistiği (Mann-Whitney U testi)

	U değeri	Wilcoxon W	Z değeri	p değeri
Plak miktarı	753,500	3756,500	-8,440	0,000
Diş fırçalama sıklığı	1961,000	4964,000	-3,829	0,000
Öğün dışı diyet sıklığı	2154,500	5157,500	-3,126	0,002
Tükürük akış hızı	2575,000	5578,000	-1,773	0,076
Tamponlama kapasitesi	2235,500	5238,500	-3,252	0,001
Mutans streptokok sayısı	956,500	3959,500	-7,724	0,000
Laktobasil sayısı	982,000	3985,000	-7,776	0,000

Tablo 12. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında çevresel çürük risk faktörlerine ait skorların ortanca (ÇAG) değerleri

Risk Faktörü	Düşük Çürük Risk Grubu (DMFT≤5, n=77)	Yüksek Çürük Risk Grubu (DMFT≥14, n=77)	p Değeri*
Plak miktarı	1,0 (1,0)	2,0 (0,0)	<0,001
Diş fırçalama sıklığı	1,0 (1,0)	2,0 (2,0)	<0,001
Öğün dışı diyet sıklığı	1,0 (1,0)	2,0 (2,0)	0,002
Tükürük akış hızı	0,0 (0,0)	0,0 (1,0)	0,076
Tamponlama kapasitesi	0,0 (0,0)	0,0 (1,0)	0,001
Mutans streptokok sayısı	0,0 (0,0)	1,0 (1,0)	<0,001
Laktobasil sayısı	0,0 (1,0)	2,0 (1,0)	<0,001

*Mann-Whitney U testi, p<0,05



Şekil 2. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında çevresel çürük risk faktörlerine ait kutu-çizgi grafiği

Tablo 13. Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerin aldığı skorlara göre çevresel çürük risk faktörlerine ait frekans dağılımı, n (%)

Risk Faktörü	Skor	Düşük Çürük Risk Grubu (DMFT≤5, n=77)	Yüksek Çürük Risk Grubu (DMFT≥14, n=77)
Plak miktarı, PI			
<0.4	0	38 (95,0)	2 (5,0)
0.4-1.0	1	27 (67,5)	13 (32,5)
1.1-2.0	2	12 (19,0)	51 (81,0)
>2	3	0 (0,0)	11 (100,0)
Diş fırçalama sıklığı, günde			
3 kez	0	6 (60,0)	4 (40,0)
2 kez	1	41 (67,2)	20 (32,8)
1 kez	2	20 (43,5)	26 (56,5)
<1 kez	3	10 (27,0)	27 (73,0)
Öğün dışı diyet sıklığı, günde			
0 kez	0	6 (75,0)	2 (25,0)
1-2 kez	1	39 (58,2)	28 (41,8)
3-4 kez	2	25 (50,0)	25 (50,0)
>4 kez	3	7 (24,1)	22 (75,9)
Tükürük akış hızı, ml/dk			
>1.1	0	59 (53,6)	51 (46,4)
0.9-1.1	1	13 (56,5)	10 (44,5)
0.5-0.9	2	5 (25,0)	15 (75,0)
<0.5	3	0 (0,0)	1 (100,0)
Tamponlama kapasitesi, pH			
≥6.0	0	62 (58,4)	44 (41,6)
4.5-5.5	1	14 (35,0)	26 (65,0)
≤4.0	2	1 (12,5)	7 (87,5)
Mutans streptokok sayısı, kob/ml			
<10 ⁴	0	60 (88,2)	8 (11,8)
<10 ⁵	1	8 (20,6)	31 (79,4)
10 ⁵ -10 ⁶	2	7 (18,4)	31 (81,6)
>10 ⁶	3	2 (22,2)	7 (77,8)
Laktobasil sayısı, kob/ml			
10 ³	0	57 (82,6)	12 (17,4)
10 ⁴	1	10 (50,0)	10 (50,0)
10 ⁵	2	10 (16,7)	50 (83,3)
10 ⁶	3	0 (0,0)	5 (100,0)

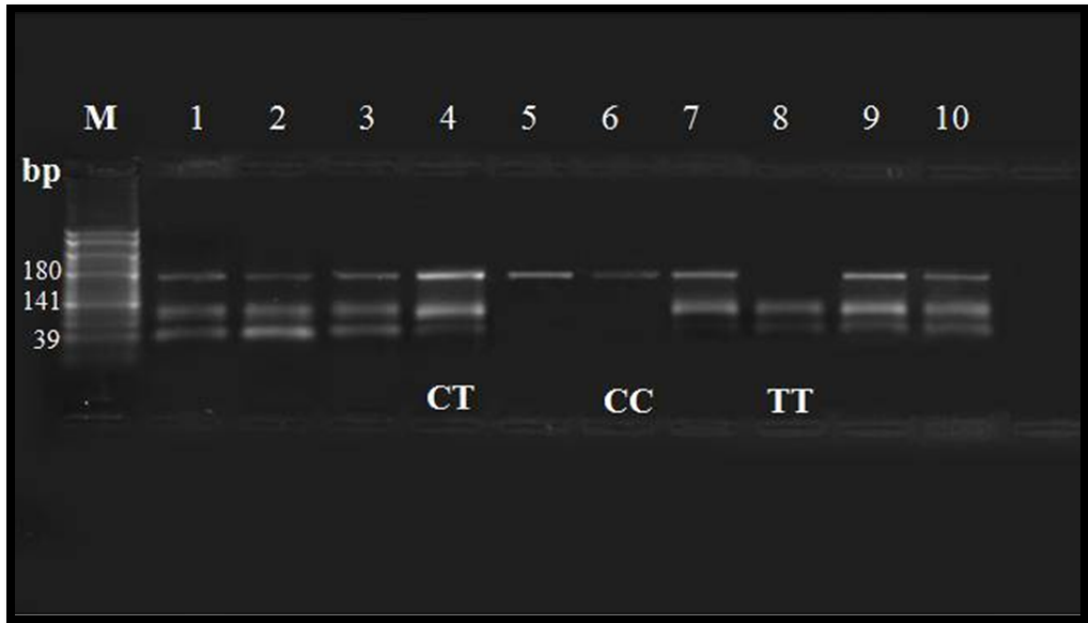
Yüksek çürük risk grubundaki bireylerin plak miktarı, tükürükteki mutans streptokok sayısı ve laktobasil sayısı düşük çürük risk grubundaki bireylere göre anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu (Mann-Whitney U testi, p<0.001). Diş fırçalama sıklığı düşük çürük risk grubundaki bireylerde yüksek çürük risk grubundaki bireylere göre anlamlı derecede daha fazlaydı (Mann-Whitney U testi,

p<0.001). Düşük çürük risk grubundaki bireylerin öğün dışı diyet sıklığı yüksek çürük risk grubundaki bireylere göre anlamlı derecede daha azdı (Mann-Whitney U testi, p=0.002). Tükürük akış hızı düşük ve yüksek çürük risk grubunda benzerdi (Mann-Whitney U testi, p=0.076). Düşük çürük risk grubuna göre yüksek çürük risk grubunda tükürük tamponlama kapasitesi anlamlı derecede daha düşüktü (Mann-Whitney U testi, p<0.001).

4.3. Gen Polimorfizmine Ait Bulgular

4.3.1. *AMELX* (+522)

Çalışmada incelenen *AMELX* geninin jel elektroforez görüntüsü Şekil 3’de gösterilmektedir. *AMELX* geninin (+522) bölgesi, *MseI* restriksiyon enzimiyle kesim yapıldığında CC homozigot normal genotipinde olan bireylerde enzim kesim bölgesi olmadığı için 180 baz çifti uzunluğunda tek parça oluşmaktadır. CT heterozigot normal genotipinde olan bireylerde 180, 141 ve 39 baz çifti uzunluklarında üç parça oluşmaktadır. TT homozigot polimorfik genotipinde olan bireylerde ise 141 ve 39 baz çifti uzunluğunda iki parça oluşmaktadır.



Şekil 3. *AMELX* geninin (+522) bölgesinin *MseI* restriksiyon enzimiyle kesim yapıldıktan sonraki jel elektroforez görüntüsü. (M) Moleküler markör, (bp) baz çifti (CC) homozigot normal: 180 bp. (CT) heterozigot: 180 + 141 + 39 bp. (TT) homozigot polimorfik: 141 + 39 bp.

Genotip ve Alel Dağılımı

Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerin *AMELX* genine ait genotip ve alel frekans dağılımlarına ait tanımlayıcı test istatistikleri Tablo 14 ve Tablo 15’de, risk gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırılmaları ise Tablo 16’da gösterilmektedir. *AMELX* gen popülasyonunun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı tespit edildi ($p < 0.001$). Dişin mineralizasyonunda rol oynayan *AMELX* geninin CC homozigot normal genotipi düşük çürük risk grubunda %50.9, yüksek çürük risk grubunda % 49.1, CT heterozigot normal genotipi düşük risk grubunda %45.0, yüksek çürük risk grubunda %55.0, TT homozigot polimorfik genotipi düşük risk grubunda %50.0, yüksek çürük risk grubunda %50.0 olarak bulundu. Düşük ve yüksek çürük risk grupları arasında *AMELX* genotip dağılımları açısından istatistiksel açıdan fark gözlenmedi (Ki kare testi, $p=0.889$, Tablo 16).

AMELX geninin C alel frekansı, düşük çürük risk grubunda %50.4, yüksek çürük risk grubunda %49.6 olarak bulundu. Alel frekansı T olanların oranı düşük çürük risk grubunda %48.5 iken yüksek çürük risk grubunda %51.5 olarak tespit edildi. Düşük ve yüksek çürük risk grubuna ait bireyler *AMELX* geninin alel frekans dağılımları açısından karşılaştırıldıklarında her iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı (Ki kare testi, $p=0.784$, Tablo 16).

Tablo 14. *AMELX* polimorfizmine ait genotip dağılımı test istatistiği (Ki kare testi)

	Değer	Serbestlik derecesi	p değeri
Ki kare	0,236	2	0,889
Olasılık oranı	0,237	2	0,888
Doğrusal olarak çakışma	0,046	1	0,830
Kişi sayısı (N)	154		

Tablo 15. *AMELX* polimorfizmlerine ait alel dağılımı test istatistiği (Ki kare testi)

	Değer	Serbestlik derecesi	p değeri	Anlamlılık seviyesi (çift yönlü)	Anlamlılık seviyesi (tek yönlü)
Ki kare	0,075	1	0,784		
Devamlılık düzeltilmeli ki kare	0,019	1	0,891		
Olasılık oranı	0,075	1	0,783		
Fisher'in kesin ki kare testi				0,891	0,445
Doğrusal olarak çakışma	0,075	1	0,784		
Kişi sayısı (N)	308				

Tablo 16. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında AMELX (+522) gen polimorfizmine ait genotip ve alel dağılımı

<i>AMELX</i> (+522)	Düşük Çürük Risk Grubu (DMFT≤5, n=77)	Yüksek Çürük Risk Grubu (DMFT≥14, n=77)	p Değeri*
Genotip			
CC	56 (50,9)	54 (49,1)	
CT	9 (45,0)	11 (55,0)	0,889
TT	12 (50,0)	12 (50,0)	
Alel			
C	121 (50,4)	119 (49,6)	0,784
T	33 (48,5)	35 (51,5)	

*Ki kare testi, $p<0.05$

4.3.2. CA6 (T55M)

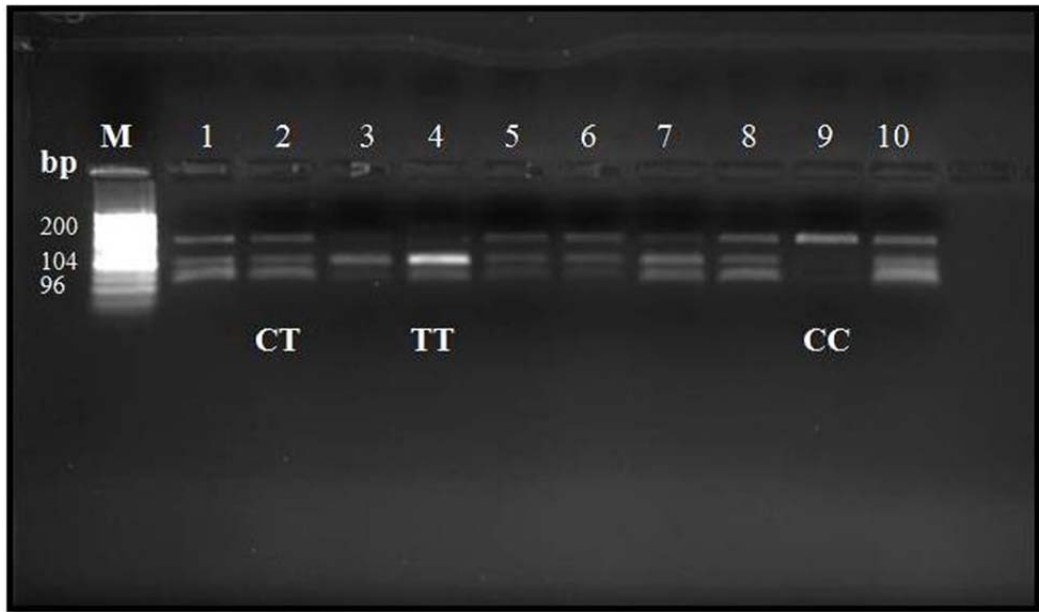
Çalışmada incelenen CA6 geninin jel elektroforez görüntüsü Şekil 4’de gösterilmektedir. CA6 geninin (T55M) bölgesi, *BtsCI* restriksiyon enzimiyle kesim yapıldığında CC homozigot normal genotipinde olan bireylerde enzim kesim bölgesi olmadığı için 200 baz çifti uzunluğunda tek parça oluşmaktadır. CT heterozigot normal genotipinde olan bireylerde 200, 104 ve 96 baz çifti uzunluklarında üç parça oluşmaktadır. TT homozigot polimorfik genotipinde olan bireylerde ise 104 ve 96 baz çifti uzunluğunda iki parça oluşmaktadır.

Genotip ve Alel Dağılımı

Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerin CA6 genine ait genotip ve alel frekans dağılımlarına ait tanımlayıcı test istatistikleri Tablo 17 ve Tablo 18’de, risk gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırılmaları ise Tablo 19’da gösterilmektedir. CA6 gen popülasyonunun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı tespit edildi ($p=0.010$). Tükürük proteinleri ile ilişkili CA6 geninin; CC homozigot normal genotipi düşük çürük risk grubunda %53.8, yüksek çürük risk grubunda %46.2, CT heterozigot normal genotipi düşük çürük risk grubunda %52.0, yüksek çürük risk grubunda %48.0, TT homozigot polimorfik genotipi düşük risk grubunda %39.3, yüksek çürük risk grubunda %60.7 olarak bulundu. Düşük ve yüksek çürük

risk grupları arasında CA6 geninin genotip dağılımları açısından istatistiksel açıdan fark gözlenmedi (Ki kare testi, $p=0.449$, Tablo 19).

CA6 geninin C ve T alel frekans dağılımları açısından düşük ve yüksek çürük risk grupları incelendiğinde; düşük çürük risk grubunda (% 52.6), yüksek çürük risk grubuna (%47.4) göre daha fazla oranda C alelinin bulunduğu gözlemlendi. T aleli açısından düşük ve yüksek çürük risk grupları incelendiğinde T alelinin düşük risk grubunda (%47.4), yüksek çürük risk grubuna (%52.6) göre daha az oranda bulunduğu gözlemlendi. Düşük ve yüksek çürük risk grubuna ait bireyler CA6 geni alel frekansı açısından karşılaştırıldıklarında bireyler arasında anlamlı farklılık saptanmadı (Ki kare testi, $p=0.362$, Tablo19).



Şekil 4. CA6 geninin (T55M) bölgesinin *BtsCI* restriksiyon enzimiyle kesim yapıldıktan sonraki jel elektroforez görüntüsü. (M) Moleküler markör, (bp) baz çifti. (CC) homozigot normal: 200 bp. (CT) heterozigot: 200 + 104 + 96 bp. (TT) homozigot polimorfik: 104 + 96 bp.

Tablo 17. CA6 gen polimorfizmine ait genotip dağılımı test istatistiği (Ki kare testi)

	Değer	Serbestlik derecesi	p değeri
Ki kare	1,600	2	0,449
Olasılık oranı	1,610	2	0,447
Doğrusal olarak çakışma	1,178	1	0,278
Kişi sayısı (N)	154		

Tablo 18. CA6 gen polimorfizmlerine ait alel dağılımı test istatistiği (Ki kare testi)

	Değer	Serbestlik derecesi	p değeri	Anlamlılık seviyesi (çift yönlü)	Anlamlılık seviyesi (tek yönlü)
Ki kare	0,831	1	0,362		
Devamlılık düzeltilmiş ki kare	0,636	1	0,425		
Olasılık oranı	0,832	1	0,362		
Fisher'in kesin ki kare testi				0,425	0,213
Doğrusal olarak çakışma	0,829	1	0,363		
Kişi sayısı (N)	308				

Tablo 19. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında CA6 (T55M) gen polimorfizmine ait genotip ve alel dağılımı

CA6 (T55M)	Düşük Çürük Risk Grubu (DMFT≤5, n=77)	Yüksek Çürük Risk Grubu (DMFT≥14, n=77)	p Değeri*
Genotip			
CC	14 (53,8)	12 (46,2)	
CT	52 (52,0)	48 (48,0)	0,449
TT	11 (39,3)	17 (60,7)	
Alel			
C	80 (52,6)	72 (47,4)	0,362
T	74 (47,4)	82 (52,6)	

*Ki kare testi, p<0.05

CA6 (T55M) Polimorfizmi ve Tamponlama Kapasitesi

Çalışmadaki tüm bireyler (n=154) tükürük tamponlama kapasitesine göre üç gruba (0: pH≥6.0, 1: pH 4.5-5.5, 2: pH≤4.0) ayrıldı. Grupların CA6 geninin genotip ve alel frekans dağılımına göre karşılaştırılması Tablo 20 ve Tablo 21’de gösterilmektedir. Genotip dağılımına bakıldığında bazı gruplarda hiçbir bireyin yer almadığı gözlemlendiğinden dolayı gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırma sadece alel dağılımına göre yapıldı (Ki kare testi, p<0.05).

CA6 geni CC homozigot normal genotipindeki bireylerin %84.6’sının tükürük tamponlama kapasitesi normal, %15.4’ünün tükürük tamponlama kapasitesi azalmış olarak gözlemlendi. Tükürük tamponlama kapasitesi düşük grubunda CC

homozigot normal genotipinde birey tespit edilmedi. *CA6* geni TT homozigot polimorfik genotipinde olan bireylerin %32.1'inin tükürük tamponlama kapasitesi normal olarak gözlenirken, %42.9'unun tükürük tamponlama kapasitesi azalmış, %25'inin tükürük tamponlama kapasitesi düşük olarak bulundu.

Çalışmadaki bireylerin tükürük tamponlama kapasitesine göre *CA6* geninin alel frekans dağılımı incelendiğinde alel frekansı C olanların %78.3'ünün tükürük tamponlama kapasitesi normal, alel frekansı T olanların ise %59.6'sının tükürük tamponlama kapasitesi normal olarak elde edildi. Tükürük tamponlama kapasitesi düşük olanların %0.7'sinin *CA6* geni alel frekansı C olarak, %9.6'sının *CA6* geni alel frekansı T olarak tespit edildi. Normal, azalmış ve düşük tükürük tamponlama kapasitesi gruplarındaki bireyler *CA6* geni aleli frekans dağılımı açısından karşılaştırıldıklarında fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Ki kare testi, $p < 0.001$).

Tablo 20. Tamponlama kapasitesine göre *CA6* geninin alel dağılımı test istatistiği (Ki kare testi)

	Değer	Serbestlik derecesi	p değeri
Ki kare	18,590	2	0,000
Olasılık oranı	21,066	2	0,000
Doğrusal olarak çakışma	17,474	1	0,000
Kişi sayısı (N)	308		

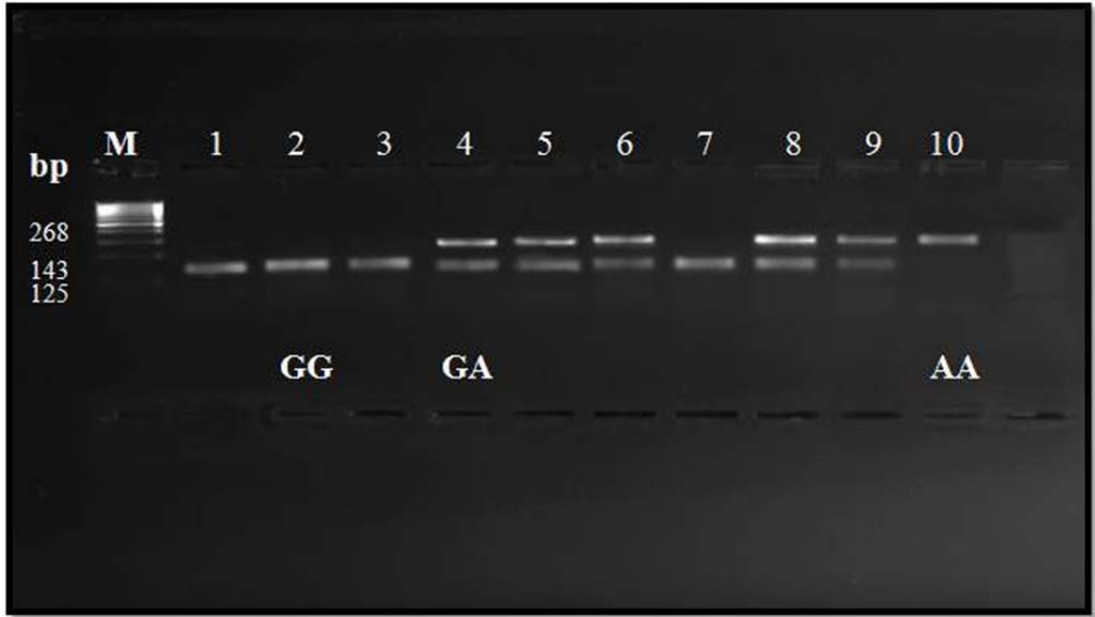
Tablo 21. Tamponlama kapasitesine göre *CA6* genine ait genotip ve alel dağılımı

Genotip	Tamponlama Kapasitesi			p Değeri**
	Skor 0 n (%)	Skor 1 n (%)	Skor 2 n (%)	
CC	22 (84,6)	4 (15,4)	0 (0,0)	-*
CT	75 (75,0)	24 (24,0)	1 (1,0)	-
TT	9 (32,1)	12 (42,9)	7 (25,0)	-
Alel				
C	119 (78,3)	32 (21,1)	1 (0,7)	<0,001
T	93 (59,6)	48 (30,8)	15 (9,6)	

*İstatistik yapılamadı, **Ki kare testi, $p < 0.05$, tükürük tamponlama kapasitesi; 0: $pH \geq 6.0$, 1: $pH 4.5-5.5$, 2: $pH \leq 4.0$

4.3.3. *DEFB1* (G-20A)

Çalışmada incelenen *DEFB1* geninin jel elektroforez görüntüsü Şekil 5’de gösterilmektedir. *DEFB1* geninin (G-20A) bölgesi, *ScRFI* restriksiyon enzimiyle kesim yapıldığında GG homozigot normal genotipinde olan bireylerde 143 ve 125 baz çifti uzunluğunda iki parça oluşmaktadır. GA heterozigot normal genotipinde olan bireylerde 268, 143 ve 125 baz çifti uzunluklarında üç parça oluşmaktadır. AA homozigot polimorfik genotipinde olan bireylerde ise enzim kesim bölgesi olmadığı için 268 baz çifti uzunluğunda tek parça oluşmaktadır.



Şekil 5. *DEFB1* geninin (G-20A) bölgesinin *ScRFI* restriksiyon enzimiyle kesim yapıldıktan sonraki jel elektroforez görüntüsü. (M) Moleküler markör, (bp) baz çifti (GG) homozigot normal: 143 + 125 bp. (GA) heterozigot: 268 + 143 + 125 bp. (AA) homozigot polimorfik: 268 bp

Genotip ve Alel Dağılımı

Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerin *DEFB1* genine ait genotip ve alel frekans dağılımlarına ait tanımlayıcı test istatistikleri Tablo 22 ve Tablo 23’de, risk gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırılmaları ise Tablo 24’de gösterilmektedir. *DEFB1* gen popülasyonunun Hardy-Weinberg uyumu gösterdiği saptandı ($p=0.45$). Bağışıklık ile ilişkili *DEFB1* geni (G-20A) polimorfizmi için; GG homozigot normal genotipi düşük çürük risk grubundaki bireylerin %86.5’inde, yüksek çürük risk grubundaki bireylerin %13.5’inde görüldü. GA heterozigot normal

genotipinin görülme oranı, düşük çürük risk grubunda %55.7, yüksek çürük risk grubunda %44.3 olarak tespit edildi. AA homozigot polimorfik genotipinin düşük çürük risk grubundaki bireylerde görülme oranı %12.8 iken yüksek çürük risk grubundaki bireylerde görülme oranı %87.2 olarak bulundu. Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireyler arasında *DEFB1* geni genotip dağılımı açısından farklılık anlamlıydı (Ki kare testi, $p<0.001$). Farklılığa neden olan grubu belirlemek amacıyla ikili karşılaştırmalar yapıldığında GG homozigot normal ile GA heterozigot normal (Ki kare testi, $p=0.001$), GG homozigot normal ile AA homozigot polimorfik (Ki kare testi, $p<0.001$), GA heterozigot normal ile AA homozigot polimorfik (Ki kare testi, $p<0.001$) genotip dağılımları açısından düşük ve yüksek çürük riskli bireyler arasında tüm sonuçlar anlamlı bulundu (Tablo 24).

DEFB1 geni alel frekansı açısından düşük ve yüksek çürük risk grupları karşılaştırıldıklarında, düşük çürük risk grubunda yer alan bireylerin G alel frekansı %71.5 iken yüksek çürük risk grubundaki bireylerin %28.5 olarak bulundu. A alel frekansı düşük çürük risk grubundaki bireylerin %31.1'inde, yüksek çürük risk grubundaki bireylerin %68.9'unda görüldü. Düşük ve yüksek çürük risk grupları arasında *DEFB1* geni G ve A alel frekansı açısından fark anlamlıydı (Ki kare testi, $p<0.001$, Tablo 24).

Tablo 22. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında çalışılan *DEFB1* (G-20A) polimorfizmine ait genotip dağılımı test istatistiği (Ki kare testi)

	Değer	Serbestlik derecesi	p değeri
Ki kare	46,681	2	0,000
Olasılık oranı	52,159	2	0,000
Doğrusal olarak çakışma	45,819	1	0,000
Kişi sayısı (N)	154		

Tablo 23. *DEFB1* geni A ve G alel frekans dağılımı ile düşük ve yüksek çürük risk gruplarının karşılaştırılması test istatistiği (Ki kare testi)

	Değer	Serbestlik derecesi	p değeri	Anlamlılık seviyesi (çift yönlü)	Anlamlılık seviyesi (tek yönlü)
Ki kare	50,133	1	0,000		
Devamlılık düzeltilmeli ki kare	48,529	1	0,000		
Olasılık oranı	51,619	1	0,000		
Fisher'ın kesin ki kare testi				0,000	0,000
Doğrusal olarak çakışma	49,971	1	0,000		
Kişi sayısı (N)	308				

Tablo 24. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında *DEFB1* (G-20A) gen polimorfizmine ait genotip ve alel dağılımı

<i>DEFB1</i> (G-20A)	Düşük Çürük Risk Grubu (DMFT≤5, n=77)	Yüksek Çürük Risk Grubu (DMFT≥14, n=77)	p Değeri*
Genotip			
GG	32 (86,5)	5 (13,5)	
GA	39 (55,7)	31 (44,3)	<0,001
AA	6 (12,8)	41 (87,2)	
Alel			
G	103 (71,5)	41 (28,5)	<0,001
A	51 (31,1)	113 (68,9)	

*Ki kare testi, p<0.05

4.3.4. *TAS2R38* (A49P)

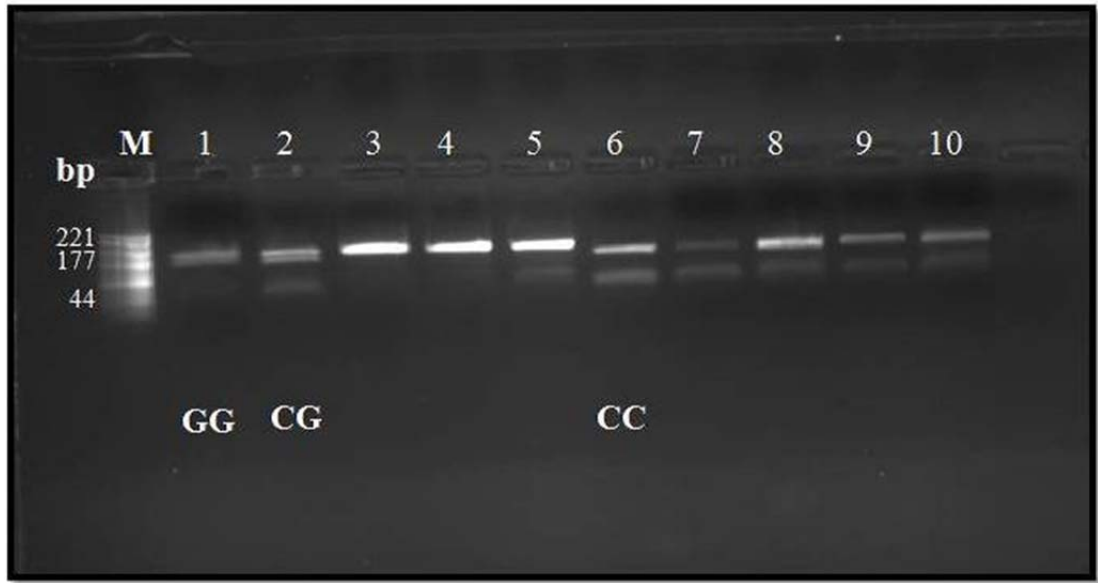
Çalışmada incelenen *TAS2R38* geninin jel elektroforez görüntüsü Şekil 6'da gösterilmektedir. *TAS2R38* geninin (A49P) bölgesi, *HaeIII* restriksiyon enzimiyle kesim yapıldığında CC homozigot normal genotipinde olan bireylerde 177 ve 44 baz çifti uzunluğunda iki parça oluşmaktadır. CG heterozigot normal genotipinde olan bireylerde 221, 177 ve 44 baz çifti uzunluklarında üç parça oluşmaktadır. GG homozigot polimorfik genotipinde olan bireylerde ise enzim kesim bölgesi olmadığı için 221 baz çifti uzunluğunda tek parça oluşmaktadır.

Genotip ve Alel Dağılımı

Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerin *TAS2R38* genine ait genotip ve alel frekans dağılımlarına ait tanımlayıcı test istatistikleri Tablo 25 ve Tablo 26'da, risk gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırılmaları ise Tablo 27'de gösterilmektedir. *TAS2R38* gen populasyonunun Hardy-Weinberg uyumu gösterdiği saptandı (p=0.28). *TAS2R38* geni (A49P) polimorfizmi için; CC homozigot normal genotipi düşük çürük risk grubundaki bireylerin %21.1'inde, yüksek çürük risk grubundaki bireylerin %78.9'unda görüldü. CG heterozigot normal genotipinin görülme oranı, düşük çürük risk grubunda %51.8, yüksek çürük risk grubunda %48.2 olarak tespit edildi. GG homozigot polimorfik genotipinin düşük çürük risk grubundaki bireylerde görülme oranı %78.8 iken yüksek çürük riskli bireylerdeki

görülme oranı %21.2 olarak bulundu. Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireyler arasında *TAS2R38* geni genotip dağılımı açısından farklılık anlamlıydı (Ki kare testi, $p<0.001$). Farklılığa neden olan grubu belirlemek amacıyla ikili karşılaştırmalar yapıldığında CC homozigot normal ile CG heterozigot normal (Ki kare testi, $p=0.001$), CC homozigot normal ile GG homozigot polimorfik (Ki kare testi, $p<0.001$), CG heterozigot normal ile GG homozigot polimorfik (Ki kare testi, $p=0.008$) genotip dağılımları açısından düşük ve yüksek çürük riskli bireyler arasında tüm sonuçlar anlamlı bulundu (Tablo 27).

TAS2R38 geni alel frekansı açısından düşük ve yüksek çürük risk grupları karşılaştırıldıklarında, düşük çürük risk grubunda yer alan bireylerin C alel frekansı %37.1 iken yüksek çürük risk grubundaki bireylerin %62.9 olarak bulundu. G alel frekansı düşük çürük risk grubundaki bireylerin %63.8'inde, yüksek çürük risk grubundaki bireylerin %36.2'sinde görüldü. Düşük ve yüksek çürük risk grupları arasında *TAS2R38* geni G ve C alel frekansı açısından fark anlamlıydı (Ki kare testi, $p<0.00$, Tablo 27).



Şekil 6. *TAS2R38* geninin (A49P) bölgesinin *HaeIII* restriksiyon enzimiyle kesim yapıldıktan sonraki jel elektroforez görüntüsü. (M) Moleküler markör, (bp) baz çifti (CC) homozigot normal: 177 + 44 bp. (CG) heterozigot: 221 + 177 + 44 bp. (GG) homozigot polimorfik: 221 bp.

Tablo 25. TAS2R38 polimorfizmine ait genotip dağılımı test istatistiği (Ki kare testi)

	Değer	Serbestlik derecesi	P değeri
Ki kare	23,785	2	0,000
Olasılık oranı	25,316	2	0,000
Doğrusal olarak çakışma	23,576	1	0,000
Kişi sayısı (N)	154		

Tablo 26. TAS2R38 gen polimorfizmlerine ait alel dağılımı test istatistiği (Ki kare testi)

	Değer	Serbestlik derecesi	p değeri	Anlamlılık seviyesi (çift yönlü)	Anlamlılık seviyesi (tek yönlü)
Ki kare	21,854	1	0,000		
Devamlılık düzeltmeli ki kare	20,801	1	0,000		
Olasılık oranı	22,121	1	0,000		
Fisher'ın kesin ki kare testi				0,000	0,000
Doğrusal olarak çakışma	21,783	1	0,000		
Kişi sayısı (N)	308				

Tablo 27. Düşük ve yüksek çürük risk gruplarında TAS2R38 (A49P) gen polimorfizmine ait genotip ve alel dağılımı

TAS2R38 (A49P)	Düşük Çürük Risk Grubu (DMFT≤5, n=77)	Yüksek Çürük Risk Grubu (DMFT≥14, n=77)	p Değeri*
Genotip			
CC	8 (21,1)	30 (78,9)	
CG	43 (51,8)	40 (48,2)	<0,001
GG	26 (78,8)	7 (21,2)	
Alel			
C	59 (37,1)	100 (62,9)	<0,001
G	95 (63,8)	54 (36,2)	

*Ki kare testi, p<0.05

TAS2R38 (A49P) Polimorfizmi ve Laktobasil Sayısı

Çalışmadaki tüm bireyler (n=154), tükürükteki laktobasil sayısına göre dört gruba (0: 103 kob/ml, 1: 104 kob/ml, 2: 105 kob/ml, 3: 106 kob/ml) ayrıldı. Gruplardaki bireylerin TAS2R38 geninin genotip ve alel frekansı açısından dağılımları Tablo 28'te gösterilmektedir. Genotip ve alel dağılımına bakıldığında

bazı gruplarda hiçbir bireyin yer almadığı gözlemlendiğinden dolayı gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırma yapılamadı.

TAS2R38 geni CC homozigot normal genotipindeki bireylerin hiçbirinin tükürükteki laktobasil sayısı düşük değildi (%0.0). *TAS2R38* geni GG homozigot polimorfik genotipinde olan bireylerin %84.8'inin (n=28) ise tükürükteki laktobasil sayısı düşük olarak gözlemlendi.

Çalışmadaki bireylerin tükürükteki laktobasil sayısına göre *TAS2R38* geninin alel frekans dağılımı incelendiğinde, alel frekansı C olan 78 (%49.1) bireyin tükürük laktobasil sayısı yüksek olarak saptandı. Alel frekansı G olan 97 (%65.1) bireyin ise tükürük laktobasil sayısı düşüktü.

Tablo 28. Laktobasil sayısına göre *TAS2R38* genine ait genotip ve alel dağılımı

Genotip	Laktobasil Sayısı				p Değeri*
	Skor 0 n (%)	Skor 1 n (%)	Skor 2 n (%)	Skor 3 n (%)	
CC	0 (0,0)	11 (28,9)	22 (57,9)	5 (13,2)	-
CG	41 (49,4)	8 (9,6)	34 (41,0)	0 (0,0)	-
GG	28 (84,8)	1 (3,0)	4 (12,1)	0 (0,0)	-
Alel					
C	41 (25,8)	30 (18,9)	78 (49,1)	10 (6,3)	-
G	97 (65,1)	10 (6,7)	42 (28,2)	0 (0,0)	-

*İstatistik yapılamadı, tükürük laktobasil sayısı; 0: 10^3 kob/ml, 1: 10^4 kob/ml, 2: 10^5 kob/ml, 3: 10^6 kob/ml

4.4. Gen-Çevre Etkileşimine Ait Bulgular

Çalışmada yer alan bireylerin DMFT değerindeki artışı değerlendirebilmek için genetik ve çevresel faktörler birlikte incelendi. Bunun için adımsal ilerlemeli çoklu doğrusal regresyon modeli ile *AMELX*, *CA6*, *DEFB1* ve *TAS2R38* genleriyle birlikte çevresel risk faktörlerinden plak miktarı, diş fırçalama sıklığı, öğün dışı diyet sıklığı, tükürük akış hızı, tükürük tamponlama kapasitesi, tükürükte mutans streptokok sayısı, tükürükte laktobasil sayısı ve yaş incelendi. Regresyon modelinin yedi adımı ve her bir adımdaki açıklayıcılık (R^2), düzeltilmiş açıklayıcılık (R_a^2), F değeri ve Beta katsayısı ile istatistiksel anlamlılık Tablo 29'da gösterilmektedir.

Tablo 29. Adımsal ilerlemeli çoklu doğrusal regresyon analizine göre bağımlı değişken olarak alınan çürük deneyimi ile çalışmada incelenen bağımsız değişkenler arasındaki ilişki

Model	R ²	R _a ²	R ² Değişimi	F Değeri	Beta Katsayısı	p Değeri
1	0,776 (a)	0,774	0,776	528,883	0,881 ^a	<0,001
2	0,830 (b)	0,828	0,055	49,031	0,569 ^a	<0,001
3	0,855 (c)	0,853	0,025	26,244	0,390 ^b	<0,001
4	0,862 (d)	0,858	0,006	6,630	0,418 ^a	0,011
5	0,870 (e)	0,865	0,008	9,360	0,319 ^b	0,003
6	0,873 (f)	0,868	0,003	3,953	0,265 ^c	0,049
7	0,878 (g)	0,872	0,005	6,007	0,338 ^a	0,015
					0,261 ^b	
					0,254 ^c	
					0,160 ^d	
					0,314 ^a	
					0,293 ^b	
					0,202 ^c	
					0,301 ^d	
					-0,148 ^e	
					0,322 ^a	
					0,303 ^b	
					0,218 ^c	
					0,353 ^d	
					-0,128 ^e	
					-0,111 ^f	
					0,331 ^a	
					0,276 ^b	
					0,204 ^c	
					0,367 ^d	
					-0,114 ^e	
					-0,170 ^f	
					0,096 ^g	

Bağımlı değişken: DMFT

- a Tahmin değişkenleri: (Sabit), Plak miktarı
b Tahmin değişkenleri: (Sabit), Plak miktarı, *DEFB1*
c Tahmin değişkenleri: (Sabit), Plak miktarı, *DEFB1*, Laktobasil sayısı
d Tahmin değişkenleri: (Sabit), Plak miktarı, *DEFB1*, Laktobasil sayısı, Yaş
e Tahmin değişkenleri: (Sabit), Plak miktarı, *DEFB1*, Laktobasil sayısı, Yaş, *TAS2R38*
f Tahmin değişkenleri: (Sabit), Plak miktarı, *DEFB1*, Laktobasil sayısı, Yaş, *TAS2R38*, *CA6*
g Tahmin değişkenleri: (Sabit), Plak miktarı, *DEFB1*, Laktobasil sayısı, Yaş, *TAS2R38*, *CA6*, Tamponlama kapasitesi

DMFT değerini etkileyen genler ve çevresel faktörleri içeren regresyon modeli toplam 7 adımda tamamlandı. Sadece plak miktarını içeren ilk modelin, DMFT değerini %77.6 oranında açıkladığı görüldü ($R^2=0.776$, $p<0.001$). İkinci

modelde, plak miktarının yanında *DEFB1* geni yer aldı. İkinci modelin DMFT değerini %83 oranında açıkladığı tespit edildi ($R^2=0.830$, $p<0.001$). Plak miktarı, *DEFB1* geni ve tükürükteki laktobasil sayısından oluşan üçüncü model, DMFT değerini %85.5 oranında açıkladı ($R^2=0.85.5$, $p<0.001$). Dördüncü modelde plak miktarı, *DEFB1* geni, tükürükteki laktobasil sayısı ve yaş yer adı. Dördüncü modelin DMFT değerini %86.2 oranında açıkladığı görüldü ($R^2=0.862$, $p=0.011$). Dördüncü modele *TAS2R38* geni eklenerek oluşturulan beşinci modelin DMFT değerini %87 oranında açıkladığı bulundu ($R^2=0.870$, $p=0.003$). Beşinci modele *CA6* geni eklenerek oluşturulan altıncı model ise DMFT değerini %87.3 oranında açıkladı ($R^2=0.873$, $p=0.049$). Yedinci adımdaki en karmaşık modelin; plak miktarı, *DEFB1* geni, tükürükteki laktobasil sayısı, yaş, *TAS2R38* geni, *CA6* geni ve tükürük tamponlama kapasitesinden oluştuğu saptandı. Yedinci adımdaki bu son modelin DMFT değerini %87.8 oranında açıkladığı bulundu ($R^2=0.878$, $p=0.015$).

5. TARTIŞMA

5.1. Çalışma Dizaynı

Diş çürüğü oluşumunun önüne geçmek için, bireylerdeki çürük riskini sınıflandıran ve bireylerdeki çürük risk faktörlerini belirleyen klinik çalışmalar üzerinde durulmaktadır (98). Bu amaçla iki farklı şekilde dizayn edilebilen araştırmalarda ‘çürüğü öngörme modeli’ veya ‘çürük risk modeli’ olarak tanımlanan modeller oluşturularak çürük risk değerlendirmesi yapılmaktadır (27, 29, 99).

Günümüzde çürük oluşumunda rol oynayan etiyolojik faktörler kesin olarak ortaya konmuş olsa da, bu faktörlerin değerlendirilmesi ile yapılan çürük risk tahminindeki başarının henüz yeterli olmadığı ifade edilmektedir (26, 30). Bu nedenle ‘çürük risk modeli’ çalışmaları, hastalık oluşmadan önce çürük risk faktörlerini tahmin etme açısından oldukça yararlı kabul edilmektedir (30).

Bu kesitsel çalışmada da çürük etiyolojisinde rol oynayan risk faktörlerinin belirlenmesi amaçlanmış ve bireylerdeki genetik ve çevresel faktörlere ait elde edilen verilerin adimsal ilerlemeli çoklu doğrusal regresyon analizine tabi tutulmasıyla yüksek çürük deneyimini en fazla açıklayan bir ‘çürük risk modeli’ oluşturulmaya çalışılmıştır.

5.2. Çalışmaya Katılan Bireylerin Seçimi

Erişkin bireylerde çürük risk faktörü olarak değerlendirilen sistemik hastalıklar ve düzenli kullanılan ilaçlara bağlı olarak tükürük akış hızında meydana gelen değişiklik, dental plak miktarının artmasına neden olan hijyenik olmayan restorasyonların, açığa çıkmış kök yüzeylerinin ve sekonder çürüklerin varlığı çocuk ve gençlere göre daha sık görülmektedir (26). Ayrıca erişkin bireylerde tedaviye yönelik dental uygulamaların koruyucu uygulamalardan daha çok yapıldığı görülmektedir (26). Dolayısıyla erişkin bireylerde risk faktörlerinin belirlenmesi, çürük riskinin saptanması ve bunun sonucunda bireye özgü koruyucu tedavilerin önerilmesi önemlidir (26). Bununla birlikte literatürde çürük riskini değerlendiren çalışmaların daha çok çocuklar üzerinde yapıldığı, erişkin bireylerde yapılan az

sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün kriterlerine göre 15-24 yaş aralığı genç erişkin, 25-44 yaş aralığı erişkin ve 45-64 yaş aralığı orta yaş erişkin olarak sınıflandırılmaktadır (34). Bu çalışmaya 20-60 yaş aralığındaki erişkin bireyler dahil edilmiştir.

Yapılan birçok epidemiyolojik çalışmada geçmiş çürük deneyiminin gelecekte oluşacak yeni çürükler için önemli bir risk göstergesi olduğu bildirilmiştir (26, 31, 35, 36). Çürük riskinin değerlendirildiği birçok çalışmada, çürük risk gruplarının belirlenmesi geçmiş çürük deneyimine göre yapılmaktadır (57, 36, 99). Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre erişkin bireylerdeki çürük riskinin düşük sayılabilmesi için DMFT değerinin 5'den küçük, çürük riskinin yüksek sayılabilmesi için DMFT değerinin 13.9'dan yüksek olması gerektiği bildirilmiştir (22, 34). Bu nedenle çalışmamızda araştırmaya dahil edilen bireylerin risk gruplarının belirlenmesi geçmiş çürük deneyimine göre yapılarak, DMFT değeri 5'den az olan bireyler düşük çürük risk grubuna ve DMFT değeri 14'den fazla olan bireyler yüksek çürük risk grubuna dahil edilmiştir. Geçmiş çürük deneyiminin hesaplanması ise klinik ve radyolojik değerlendirmenin sonucuna göre yapıldı. Klinik çalışmalarda arayüz çürüklerinin teşhisi için ısırtma radyografisi uzun yıllardır kullanılmaktadır (100). Teknolojinin ilerlemesiyle çürük teşhisinde ağız içi radyografilerle kıyaslanabilecek duruma gelen panoramik radyografinin uygulama kolaylığı, düşük radyasyon dozu ve ağız dışı bir metot olmasından kaynaklanan hasta rahatlığı nedeni ile önemi atmış bir görüntüleme metodu olarak gösterilmektedir. Yapılan çalışmalarda özellikle posterior bölgede arayüz çürüğünün tespitinde panoramik filmlerin ısırtma radyografileriyle desteklenmesiyle elde edilen sonuçların, ağız içi seri radyografilerle elde edilen sonuçlara çok yakın olduğu bildirilmiştir (101). Bu çalışmada, arayüz çürüklerinin teşhisi için radyografik muayene aşamasında dijital panoramik radyografiler kullanılmış, çürük teşhisini engelleyen süperpozisyonların olması durumunda ise ısırtma radyografilerinden yararlanılmıştır.

Kontrolsüz diyabet ve sjögren sendromu gibi sistemik hastalıklar, antikolinergik ve antihipertansif ilaçlar, baş ve boyun radyoterapisi kronik olarak tükürüğün az salgılanmasına neden olmaktadır (36, 102). Bu nedenle çalışmaya sistemik hastalığı olan, düzenli ilaç kullanan, radyoterapi tedavisi görmüş hastalar dahil edilmemiştir. Ayrıca üç ay içerisinde klorheksidin içerikli preparat kullanmış

olan ve ortodontik tedavi gören hastalarda tükürükteki karyojenik mikroorganizmaların seviyesinin etkilenebileceği düşünülerek bu hastalar çalışmaya katılmamıştır.

Çalışmanın Isparta il merkezinde gerçekleşmesi nedeniyle hastalar dental florozis açısından da değerlendirilmiştir. Dişlerin mineralizasyon döneminde florür düzeyi 0.5-1 mg/lit'nin üzerinde olan içme suyunun kullanılması dental florozise yol açmaktadır (103). Isparta'da 1962-1995 yılları arasında içme suyunun florür düzeyi yüksek olan Gölcük gölü ve Andık deresinden sağlandığı bilinmektedir. Şebeke suyundaki florür düzeyinin düşürülmesi amacıyla 1995 yılından itibaren şehrin içme suyu için, florür düzeyi WHO standartlarına uygun olan Eğirdir gölünden yararlanılmaktadır (104, 105). Çürük riskini etkilememesi için dişlerinde florozis bulunan bireyler çalışmaya dahil edilmemiştir. Ayrıca çalışmaya katılan en genç bireyin 20 yaşında olması ve bu yaş grubundaki bireylerin diş mineralizasyonunu tamamlamış olması dolayısıyla sadece son bir yıldır Isparta il merkezinde ikamet eden ve dental florozisi bulunmayan erişkin bireyler çalışmaya dahil edilmiştir (n=17).

5.3. Çevresel Risk Faktörlerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

PubMed veri tabanında Aralık 1992-Temmuz 2014 yılları arasında "caries" ve "prediction" anahtar kelimeleri kullanılarak son yirmi iki yılda 20-82 yaşları arasındaki erişkinlerde yapılmış çevresel çürük risk faktörlerini değerlendiren on altı araştırma makalesine ulaşılmıştır. Çalışmamızda çürük riski düşük ve yüksek olan erişkinlerde; dental plak miktarı ve diş fırçalama sıklığı değerlendirilerek ağız hijyeni açısından, öğün dışı diyet sıklığı sorgulanarak beslenme alışkanlıkları açısından, tükürük akış hızı ve tamponlama kapasitesi incelenerek tükürüğe ait özellikler açısından, tükürükteki mutans streptokokları sayısı ve laktobasil sayısı ölçülerek karyojenik bakteriler açısından çevresel risk faktörlerine ait bir değerlendirme yapılmıştır.

Ağız hijyen alışkanlıklarının etkinliği; diş fırçası, diş ipi ve arayüz fırçasının kullanım sıklığının sorgulanması veya plak miktarının değerlendirilmesi ile belirlenmektedir (5). Çürük riskinin değerlendirildiği çalışmalarda plak miktarı

ölçümü için sıklıkla Silness&Løe plak indeksinin uygulandığı görülmüştür (18, 84, 106). Bu nedenle çalışmamızda da plak miktarının değerlendirilmesi için Silness&Løe plak indeksi kullanılmıştır. Ayrıca ağız hijyen alışkanlıklarını değerlendirmek için ankette yer alan diş fırçalama sıklığı sorularına hastalar tarafından verilen cevaplar incelenmiştir. Araştırmamızda çürük riski düşük ve yüksek olan erişkin bireyler dental plak miktarı açısından değerlendirildiğinde, yüksek risk grubundaki bireylerin plak miktarının düşük risk grubundaki bireyelerinkine göre anlamlı olarak daha fazla olduğu saptanmıştır ($p<0.001$, Tablo 12). Bu sonuç literatürde dental plağın çürük riskiyle ilişkili olup olmadığını erişkinler üzerinde değerlendiren çalışmaların sonuçlarına paralellik göstermektedir. Karyogram ve regresyon analizi kullanılarak çürük riskini artıran veya çürük risk modeline dahil edilecek olan faktörlerin belirlendiği bu çalışmalarda, dental plak miktarının çürük riskini artırdığı ve risk faktörü olarak ele alınması gerektiği bildirilmiştir (14, 16, 17, 18, 107, 108). Ayrıca çalışmamızda düşük ve yüksek çürük risk grubundaki erişkin bireylerin diş fırçalama sıklığı açısından ağız hijyen alışkanlıkları incelendiğinde, diş fırçalama sıklığı çürük riski ile ilişkili olarak bulunmuş ($p<0.001$, Tablo 12) ve bu sonucun literatürdeki ağız hijyen alışkanlıkları kötü olan erişkinlerde çürük riskinin daha fazla olduğunu gösteren çalışmaların sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür (37, 38, 109).

Çürük riski değerlendirmesinde beslenme alışkanlıkları incelenirken, özellikle ara öğünlerde ve gece geç saatlerde atıştırılan gıdalara odaklanılması gerektiği vurgulanmıştır (36). Literatürde beslenme içeriğinin analizinde sıklıkla anket ve diyet analiz yöntemleri kullanılmıştır (5, 26, 36). Çalışmamızda beslenme alışkanlığı anket yöntemi kullanılarak öğün dışı diyet sıklığının analiz edilmesi ile değerlendirilmiş ve sonuç olarak, öğün dışı beslenme sıklığının yüksek çürük risk grubundaki erişkin bireylerde anlamlı olarak daha fazla olduğu bulunmuştur ($p=0.002$, Tablo 12). Bu sonuç karyogram ve regresyon analizi kullanılarak, diyetle fazla şeker tüketiminin erişkinlerde çürük riskini artırdığı ve risk faktörü olarak ele alınması gerektiğini bildiren çalışmaların sonuçları ile uyumludur (14, 17, 38, 110). Bunun yanında, beslenme alışkanlıklarının çürük riskini artırıp artırmadığını veya çürük riskini açıklayan modele dahil edilip edilmeyeceğini araştıran çalışmalarda, bu faktörü değerlendirmenin sadece hastanın beyanı doğrultusunda gerçekleşmesi

dolayısıyla beslenme alışkanlıklarının çürük riskinde etkili bulunmadığı da literatürde bildirilen sonuçlar arasındadır (18, 27, 107, 111). Ayrıca karbonhidratı metabolize ederek laktik asit üreten laktobasillerin bireyin şeker tüketimi fazla olduğunda ağız içindeki sayılarının arttığı bilinmektedir (7). Nitekim Brathall ve ark. bireyin karbonhidrat ağırlıklı beslenip beslenmediğinin belirlenmesinde tükürükte laktobasil sayım testinin kullanılmasını önermişlerdir (84). Çalışmamızda yüksek çürük risk grubunda yer alan erişkinlerde tükürükteki laktobasil sayısının anlamlı düzeyde daha yüksek olması öğün dışı diyet sıklığı ile ilgili bulunan sonucu desteklemiştir ($p<0.001$, Tablo 12).

Çürük riski araştırmalarında, uyarımlı veya uyarımsız tükürük akış hızı ve tükürük tamponlama kapasitesi ölçümü ile tükürüğe ait özellikler değerlendirilmektedir. Yemek yedikten hemen sonra tükürük akış hızı, tükürük tamponlama kapasitesi ve tükürük pH'nın en yüksek seviyeye ulaştığı ve böylece uyarılan tükürüğün remineralizasyona katkı sağladığı bildirilmiştir (112). Bu nedenle çalışmamızda uyarılmış tükürük akış hızı hesaplanmıştır. Sabah saatlerinde düşük seviyede olan tükürük akış hızının öğle saatlerine doğru giderek arttığı belirtilmesi dolayısıyla çalışmamızda tükürük akış hızı saat 10:00-12:00 saatleri arasında ölçülmüştür (113). Çürük riskinin değerlendirildiği araştırmalarda, kolay ve hızlı olması sebebiyle kolorimetrik kit şeklindeki ürünler ile tükürük tamponlama kapasitesi ölçülebilmektedir (14, 93, 106). Çalışmamızda da, kullanımının kolay olması sebebiyle CRT buffer kiti (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) kullanılmıştır. Araştırmamızda elde edilen bulgulara göre düşük ve yüksek çürük risk grubunda uyarılmış tükürük akış hızının düşük olduğu birey sayısı açısından belirgin bir farkın olmaması nedeniyle tükürük akış hızı ile çürük risk grupları arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanamıştır ($p=0.076$, Tablo 12 ve 13). Bu sonuç, tükürük akış hızının erişkinlerde çürük riskini etkilemediğini veya çürük risk modelinde yer almadığını gösteren çalışmaların sonuçlarına benzerlik göstermektedir (17, 81, 107, 111). Tükürük akış hızının sistemik hastalıklar ve kullanılan ilaçlara bağlı olarak azaldığı göz önüne alındığında, araştırmamızdaki tüm bireylerin genel sağlık durumunun iyi olması ve düzenli kullandıkları ilaçların bulunmaması nedeniyle, tükürük akış hızının çürük riskinin düşük ve yüksek olmasında fark oluşturmadığını düşündürmüştür. Bu sonucun aksine literatürde tükürük akış hızının düşük olmasının

çürük aktivitesini artırarak erişkinlerde çürük risk faktörü olarak ele alınması gerektiğini veya çürük risk modeline dahil edilmesi gerektiğini belirten çalışmalar da mevcuttur (14, 110, 114, 115). Çalışmamızda ayrıca tükürük tamponlama kapasitesi açısından düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireyler karşılaştırılmış, yüksek çürük risk grubundaki erişkinlerde, düşük risk grubundaki erişkin bireylere göre daha düşük tamponlama kapasitesi değerlerine rastlanmıştır ($p<0.001$, Tablo 12). Bazı araştırmacılar, tükürük tamponlama kapasitesinin düşük olmasının ağız içerisindeki karyojenik bakterilerin üremesine izin veren asidik ortamın uzun süre devam etmesine yol açarak erişkin bireylerde çürük riskinin artmasına neden olduğunu belirtmişlerdir (18, 108, 116). Bulgularımız araştırmacıların bulguları ile uyumludur. Buna rağmen tamponlama kapasitesinin düşük olmasının çürük riskini arttıran bir faktör olmadığını saptayan araştırmalar da bulunmaktadır (14, 107, 111).

Mutans streptokok ve laktobasil sayısının belirlenmesi için tükürükten ve dental plaktan alınan örnekler kullanılmaktadır (7). Dental plaktan alınan örnekler sadece o bölgedeki karyojenik bakteri düzeyini yansıtırken, tükürükten alınan örnekler tüm ağız dokularındaki mikroorganizma düzeyi hakkında bilgi vermektedir (7). Bu nedenle çalışmamızda tükürükten alınan örnekler kullanılarak Dentocult SM dental kiti (Orion Diagnostica, Espoo, Finlandiya) ile mutans streptokok düzeyi ve Dentocult LB dental kiti (Orion Diagnostica, Espoo, Finlandiya) kullanılarak laktobasil düzeyi belirlenmiştir. Araştırmamızda elde edilen bulgulara göre, yüksek çürük risk grubundaki erişkin bireylerin tükürükteki mutans streptokok ve laktobasil sayısı düşük çürük risk grubundaki erişkin bireylere göre anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p<0.001$, Tablo 12). Bu sonuç, bireylerin çürük risk düzeyini saptamaya yönelik olarak yapılan ve tükürükte mutans streptokok ve laktobasil sayısının yüksek olmasının çürük riskini artırdığını saptayan çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir (13, 27, 108). Bazı araştırmacılar mutans streptokok sayısının erişkinlerde çürük risk faktörü olarak ele alınması gerektiğini bildirmekle birlikte, laktobasil sayım testlerinin hassasiyetlerinin daha düşük olduğunu ve bunun laktobasillerin çürük riskinde etkili bir karyojenik bakteri olarak saptanamamasına yol açtığını belirtmişlerdir (18, 81, 107). Bunun yanında ileri yaş erişkinlerde çürük riskini değerlendiren bazı araştırmacılar ise, laktobasillerin kök çürüklerinde mutans streptokoklara göre daha çok bulunduğunu ve dolayısıyla bu bireylerde tükürükteki

laktobasil sayısının çürük riskinde değerlendirilmesi gereken bir faktör olduğunu belirtmişlerdir (17, 111, 116). Dolayısıyla çürük riskinin değerlendirildiği araştırmalarda incelenecek olan karyojenik bakterilerin belirlenmesinde, çalışmaya dahil edilen bireylerin yaş grubunun dikkate alınması ve buna göre çürük aktivite testlerinin seçilmesi önemlidir denilebilir.

5.4. Gen Polimorfizmlerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Geçmişte genetik faktörlerin diş çürüğünün etiyolojisi üzerine etkisi önemsenmemiş olsa da zamanla tek ve çift yumurta ikizlerini kapsayan geniş popülasyon çalışmalarının gerçekleşmesi ve genetik haritalama çalışması ile diş çürüklerinin genetik temelleri araştırılmıştır (9). Çürükle ilişkili genomik bölgelerin tespiti için yapılan insan genom projesi sonucu çürük yatkınlığının düşük olmasıyla ilgili 5q13.3, 14q11.2, ve Xq27.1 lokusları, çürük yatkınlığının yüksek olmasıyla ilgili 13q31.1 ve 14q24.3 lokusları tespit edilmiştir. Söz konusu genlerin tükürük akış hızı, beslenme tercihi ve bağışıklık sistemi ile ilgili olabileceği belirtilmiştir (9, 22). Bu yönde günümüze kadar mineralizasyon, tükürük proteinleri, bağışıklık sistemi ve tat alma ile ilgili gen polimorfizmleri ve çürük arasındaki ilişki araştırılmış ve çürük riski ile ilişkili gen polimorfizmleri tanımlanmıştır (9, 21). Yapılan literatür taramasında "caries risk" ve "genetic" anahtar kelimeleri kullanılarak PubMed veri tabanında Ocak 1992-Temmuz 2014 yılları arasında *AMELX*, *CA6*, *DEFBI* ve *TAS2R38* gen polimorfizmlerine ait ulaşılan araştırma makaleleri Tablo 30'da gösterilmiştir. Farklı gen polimorfizmleri ile diş çürüğü arasında ilişki kuran bu çalışmalara ek olarak sonuçların başka araştırmalarla tekrarlanması gerektiği de belirtilmiştir (9). Yine günümüzde diş çürüklerine yatkınlık oluşturan veya diş çürüklerinden korunmayı sağlayan moleküler markörlerin tam olarak belirlenemediği ifade edilmiştir (47).

Tablo 30. Literatürde *AMELX*, *CA6*, *DEFB1* ve *TAS2R38* gen polimorfizmlerini çürük riski ile ilişkisini değerlendiren araştırmalar

Çalışma	Çalışma popülasyonu	Gen-Lokasyon	Sonuç
<i>AMELX</i>			
Gasse B ve ark. J Dent Res 2013 92(5): 418-24	Fransa 18-30 yaş DMFT=0, (n=146) 2-17 yaş DMFT, dmft ≥4, (n=212)	<i>AMELX</i> (rs184371797) <i>AMELX</i> (rs946252) <i>AMELX</i> (rs200163085) <i>AMELX</i> (rs2106416) <i>AMELX</i> (rs138249749) <i>AMELX</i> (rs7052450) <i>AMELX</i> (g.5432C> A)	X X X X X X X
Olswski T ve ark. Oral Diseases 2012 18(4): 389-95	Polonya 5-13 yaş DMFT, dmft <3, (n=84) DMFT, dmft ≥3, (n=95)	<i>AMELX</i> (+522,rs6639060) <i>AMELX</i> (+287, rs2106416) <i>MBL2</i> (C-290G, rs7096206) <i>MASP2</i> (A359G, rs 72550870) <i>ENAM</i> (+2452, rs3796703)	X X √ X X
Kang SW ve ark. Oral Diseases 2011 17(4): 399-406	Kore 12 yaş DMFT, DMFS≤2, (n=61) DMFT, DMFS≥3, (n=179)	<i>AMELX</i> (rs17878486) <i>AMELX</i> (rs5933871) <i>AMELX</i> (rs5934997)	X √ √
Ouryouji K ve ark. Pediater Dent J 2008 18(2): 79-85	Japonya 3-6 yaş dmft =0, (n=67) dmft≥10, (n=80)	<i>AMELX</i> (+522, rs6639060) <i>AMELX</i> (+287, rs2106416) <i>ENAM</i> (+2452, rs3796703)	X X X
Patir A ve ark. Caries Res 2008 42(5):394-400	Türkiye 3-6 yaş dmfs=0, (n=82) dmfs≥4, (n=91)	<i>AMELX</i> (rs17878486) <i>AMBN</i> (rs34538475) <i>TUFT1</i> (rs3790506) <i>TUFT1</i> (rs2337360) <i>ENAM</i> (rs3790506) <i>TFPI1</i> (rs134136)	√ √ √ X √ X
Deeley K ve ark. Caries Res 2008 42(1): 8-13	Guatemala 14-60 yaş DMFT≤2, (n=44) DMFT≥3, (n=66)	<i>AMELX</i> (hCV2190967) <i>AMBN</i> (hCV496502) <i>ENAM</i> (rs3796704) <i>TUFT1</i> (rs2337360) <i>TUFT II</i> (rs134136)	√ X X X X
Slayton RL ve ark. J Dent Res 2005 84(8):711-714	ABD 3-5 yaş dmfs=0, (n=343) dmfs>4, (n=92)	<i>AMELX</i> (SNP-1,SNP-3,SNP-4) <i>AMBN</i> (SNP-1) <i>TUFT1</i> (SNP-1, SNP-2) <i>ENAM</i> (SNP-1) <i>TFPI1</i> (SNP-2, SNP-3) <i>KLK4</i> (SNP-1)	X X √ X X X

√: İncelenen gen polimorfizmi ile çürük riski arasında ilişkili var

X: İncelenen gen polimorfizmi ile çürük riski arasında ilişkili yok

Tablo 30 (devamı). Literatürde *AMELX*, *CA6*, *DEFBI* ve *TAS2R38* gen polimorfizmlerini çürük riski ile ilişkisini değerlendiren araştırmalar

Çalışma	Çalışma popülasyonu	Gen-Lokasyon	Sonuç
CA6			
Peres RC ve ark.	Brezilya	<i>CA6</i> (rs2274327)	X
Pharmacogenomics J	7-9 yaş	<i>CA6</i> (rs2274328)	X
2010; 10(2): 114-119	DMFT, dmft=0, (n=120) DMFT, dmft≥0, (n=125)	<i>CA6</i> (rs2274333)	X
DEFBI			
Ozturk A ve ark.	ABD	<i>DEFBI</i> (G-20A, rs11362)	√
J Dent Res 2010	17-84 yaş	<i>DEFBI</i> (C-44G, rs1800972)	X
89(6): 631-36	yaş<30 DMFT<14 (n = 34) DMFT≥14 (n = 152) yaş>30 DMFT<9, (n=61) DMFT≥9, (n=49) DMFS<yaş, (n=157) DMFS≥yaş (n=139)	<i>DEFBI</i> (G-52A, rs1799946)	√
TAS2R38			
Wendell S ve ark.	ABD	<i>TAS2R38</i> (A49P, rs713598)	√
J Dent Res 2010	Ort. 3,4 yaş (n=496)	<i>TAS2R38</i> (A262V, rs1726866)	√
89(11): 1198-1202	Ort. 9,8 yaş (n=562) Ort. 29,4 yaş(n=1391) DMFT,dft=0 DMFT,dft>0	<i>TAS2R38</i> (V296I, rs10246939) <i>TASIR2</i> (SNP-1, rs4920566) <i>TASIR2</i> (SNP-2, rs9701796) <i>GNAT3</i> (SNP-1, rs2074674) <i>GNAT3</i> (SNP-1, rs6962693)	√ √ √ X X

√: İncelenen gen polimorfizmi ile çürük riski arasında ilişkili var

X: İncelenen gen polimorfizmi ile çürük riski arasında ilişkili yok

Literatürde yer alan gen polimorfizmi ve çürük arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda sadece mineralizasyonla, sadece tükürük proteinleriyle, sadece bağışıklıkla veya sadece tat alma ile ilişkili olan genler seçilerek bu genlere ait farklı polimorfizmlerin incelendiği görülmüştür (54, 55, 57, 62). Ek olarak, çürük açısından gen polimorfizminin çevresel faktörlerle ilişkisini araştıran 2005, 2008 ve 2012 yıllarında yapılmış üç çalışmaya rastlanmıştır (23, 24, 25). Bu nedenle çalışmamız erişkinlerde bugüne kadar çürükle ilişkisi araştırılan mineralizasyon, tükürük proteinleri, bağışıklık sistemi ve tat alma ile ilgili dört gen polimorfizmini aynı anda değerlendirerek gen polimorfizmlerinin çevresel faktörlerle ilişkisini inceleyen ilk çalışma olarak literatürde yerini alacaktır.

Moleküler tanı yöntemlerinin uygulamasında gerekli ilk adım olan DNA izolasyonu için; doku, kan, idrar, tükürük gibi biyolojik numunelerin

kullanılabileceği ifade edilmektedir (117). Daha az invaziv olması açısından çalışmamızda DNA izolasyonu için yanak içinden alınan sürüntü örneklerine ait epitel dokusu kullanılmıştır. Moleküler yöntemlerden biri olan RFLP (Kısıtlayıcı Enzim Kesimi Parça Uzunluğu Polimorfizmi, Restriction Fragment Length Polymorphism) analizi, çürükle ilişkisi araştırılan gen polimorfizmlerinin tespiti için birçok çalışmada kullanılmıştır (66, 96, 118, 119). Çalışmamızda da kolay uygulanabilmesi ve ucuz olması dolayısıyla çok sayıda örneğin incelenmesine imkan verebilen RFLP analizi tercih edilmiştir. Bu amaçla çürük riski düşük ve çürük riski yüksek olan bireylerden elde edilen DNA örnekleri kullanılarak *AMELX* geni için (+522), *CA6* geni için (T55M), *DEFB1* geni için (G-20A) ve *TAS2R38* geni için (A49P) tek nükleotid polimorfizmleri (TNP) incelenerek düşük ve yüksek çürük risk grupları arasında allel ve genotip dağılımı açısından farklılık olup olmadığı değerlendirilmiştir.

5.4.1. *AMELX* (+ 522) Gen Polimorfizmi

AMELX geni X kromozomunda p22.31-p22.1'de yer almakta ve minenin gelişimi sırasındaki mineralizasyonda rol oynayan amelogenin proteinini kodlamaktadır (50,54). Genom veri tabanlarından biri olan Ensembl veri tabanında *AMELX* geni için 76 TNP girişinin mevcut olduğu tespit edilmiştir (95). Yapılan çalışmalarda çürük riski ile ilişkisi araştırılmış olması nedeniyle çalışmamızda *AMELX* genine ait seçilen polimorfizm, Lösin (Leu) aminoasitinde değişiklik oluşturmayan *AMELX* (+522, rs6639060) polimorfizmidir (95, Tablo 2).

Çalışmamızda yer alan 20-60 yaş aralığındaki çürük riski düşük ($DMFT \leq 5$) ve çürük riski yüksek ($DMFT \geq 14$) olan erişkin bireylerde *AMELX* (+522, rs6639060) polimorfizmi ile çürük arasında ilişki gözlenmemiştir. Bu sonuç 2008 yılında *AMELX* gen polimorfizmi ve çürük arasında ilişki bulan iki çalışmadan farklılık göstermektedir (50, 24). Çalışmalardan Deeley ve ark., 14-60 yaş arasındaki genç ve erişkinlerde *AMELX* gen polimorfizminin (hCV2190967), amelogenin proteinini etkileyerek mine prizmalarının düzensiz yerleşmesine neden olduğunu dolayısıyla Guatemala toplumundaki bireylerin çürük yatkınlığını yükselttiğini bildirmiştir (50). Çalışmamızdan farklı olarak erişkin bireylerde *AMELX* gen

polimorfizmi ve çürük arasında ilişkinin bulunması, bu araştırmanın Guetemala toplumunda gerçekleşmesine bağlanabilir. Patir ve ark. ise Türk toplumundaki 3-6 yaş arasındaki çocuklarda *AMELX* genindeki polimorfizmin (rs17878486), minenin yapısını değiştirerek asidik ortamda mineral kaybını artırdığı ve karyojenik bakterilerin diş yüzeyine tutunmasını kolaylaştırdığını bildirmiş ve bu polimorfizmin çürüğe yatkınlığı artırabileceğini saptamıştır (24). Çalışmanın Türk toplumunda gerçekleştirilmiş olmasına rağmen, *AMELX* gen polimorfizminin süt dişlerindeki çürük ile ilişkilendirilmesi, erişkin bireylerin daimi dişlerinde gerçekleştirilmiş olan çalışmamızın sonuçlarından farklılık göstermesine neden olmuş olabilir. Nitekim süt ve daimi dişler üzerinde farklı genlerin etkili olması veya aynı genin süt ve daimi dişler üzerinde farklı etkiler göstermesi dolayısıyla bebek ve erişkinler üzerinde genetik etkinin farklı olabileceği bildirilmiştir (21, 52).

Homojen ve heterojen özellik gösteren toplumlar üzerinde son yıllarda yapılmış olan DNA dizi analizi çalışmalarında *AMELX* gen polimorfizmi ile çürük arasında ilişki bulunamamıştır (22, 120, 121, Tablo 30). Bununla beraber çürük yatkınlığını artıran mineralizasyonda rol oynayan matriks metalloproteinazları kodlayan *MMP20* gibi diğer gen polimorfizm çalışmalarının da göz ardı edilmemesi gerektiği bildirilmiştir (25, 120).

5.4.2. CA6 (T55M) Gen Polimorfizmi

CA6 geni 1.kromozomda p36.2'de yer almakta ve tükürükte pH homeostaz fonksiyonuna sahip enzim sınıfı olan karbonik anhidraz enzimlerini kodlamaktadır (57,62). Ensembl veri tabanında *CA6* geni için 103 TNP girişinin mevcut olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda çürük riski ile ilişkisi araştırılmış olması nedeniyle çalışmamızda *CA6* genine ait seçilen polimorfizm, Treonin (Thr) aminoasitini Metiyonin (Met) aminoasidine dönüştüren *CA6* (T55M, rs2274327) polimorfizmidir (95, Tablo 2).

Çalışmamızda çürük riski düşük ve yüksek olan erişkin bireyler arasında *CA6* gen polimorfizmi açısından farklılık gözlenmemiştir. Literatürde *CA6* gen polimorfizmi ve diş çürüğü arasındaki ilişkinin araştırıldığı sadece bir çalışmaya rastlanmış ve çalışmamız bu araştırmanın sonucu ile benzerlik göstermiştir. Söz

konusu araştırmada Peres ve ark. Brezilyalı 7-9 yaşındaki çocuklarda *CA6* genine ait üç polimorfizm bölgesini (T55M,rs2274327, rs2274328, rs2274333) incelemişlerdir. İncelenen polimorfizmler ile hiç çürüğü olmayan grup (DMFT, dmft=0) ve en az bir çürüğü olan (DMFT, dmft>0) risk grupları arasında ilişki bulunmamıştır. Bunun nedeni çalışmada, çürük oluşunu üzerine etkili olabilecek çevresel faktörler ile genetik etkileşiminin değerlendirilmemesi veya çevresel faktörlerin müdahil değişken olarak alınmaması ile açıklanmıştır. Aynı alışmada *CA6* genine ait (T55M, rs2274327) polimorfizminin karbonik anhidراز enziminin fonksiyonunda değişiklik oluşturması dolayısıyla bu polimorfizmin tükürük tamponlama kapasitesinin düşük olması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (57).

Çalışmamızda da *CA6* geni tükürük tamponlama kapasitesi açısından değerlendirilmiş ve Peres ve ark.'nın çalışmasına benzer olarak T alelinin tamponlama kapasitesi düşük olan bireylerde anlamlı düzeyde daha fazla görüldüğü saptanmıştır. Buna göre; *CA6* genine ait (T55M, rs2274327) polimorfizminin çürük riskinde direkt etkili olmadığı fakat karbonik anhidraz enziminin fonksiyonunu etkileyebileceği ve dolayısıyla tamponlama kapasitesinin düşük olmasında rol oynayabileceği düşünölmektedir.

5.4.3. *DEFB1* (G-20A) Gen Polimorfizmi

DEFB1 geni 8. kromozomda 8p23.1'de yer almakta ve dişeti oluğu sıvısı ve tükürükten salgılanan beta defensin 1 proteinini kodlamaktadır (62). Ensembl veri tabanında *DEFB1* geni için 35 TNP girişinin mevcut olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda çürük riski ile ilişkisi araştırılmış olması nedeniyle alışmamızda *DEFB1* genine ait seçilen polimorfizm, genin promotor bölgesinde gerçekleştiği için aminoasit değişimi oluşturmayan *DEFB1* (G-20A, rs11362) polimorfizmidir (95, Tablo 2).

Çalışmamızda *DEFB1* genine ait rs11362 (G-20A) polimorfizminin çürük ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Buna göre yüksek çürük risk grubunda istatistiksel olarak anlamlı çoğunlukta AA homozigot polimorfik genotipteki bireyler yer alırken, düşük çürük risk grubunda anlamlı olarak daha çok GG homozigot normal genotipi göröldü. Bu sonuç literatürde 2010 yılında *DEFB1* gen polimorfizmi ve çürük

ilişkisinin araştırıldığı yapılan tek çalışma ile de benzerlik göstermiştir. Öztürk ve ark.'nın yapmış oldukları bu çalışmada Türk 17-84 yaş aralığındaki bireylerde periodontitis varlığı, yaş, cinsiyet, ırk ve sigara kullanımı müdahil değişkenleriyle birlikte *DEFBI* genine ait (G-20A, rs11362), (G-52A, rs179946) ve (C-44G, rs1800972) polimorfizm bölgeleri ile çürük arasındaki ilişki incelenmiştir. *DEFBI* (G-20A, rs11362) polimorfizmi çürük riskinin yüksek olmasıyla, (G-52A, rs179946) polimorfizmi ise çürük riskinin düşük olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Çeşitli araştırmalarda *DEFBI* gen polimorfizmleri aynı zamanda periodontitis açısından da incelenmiş sonuçta periodontal hastalık ve *DEFBI* gen polimorfizmleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (62, 122). Araştırmacılar beta defensin 1 proteininin ağız içindeki diğer beta defensinlere göre daha az antimikrobiyal etki göstermesine rağmen bu proteinin çürükte rol oynayan mutans streptokok, laktobasil ve aktinomiçes türleri üzerinde etkili olduğunu bildirmiştir (62). Bu bulgular ışığında, *DEFBI* genine ait (G-20A) polimorfizmi, beta defensin proteinini olumsuz etkileyerek karyojenik bakterilere karşı zayıf antimikrobiyal özellik göstermesine neden olabilir. Dolayısıyla (G-20A) polimorfizmi erişkinlerde çürük riskinin yüksek olmasına sebebiyet verebilir.

5.4.4. *TAS2R38* (A49P) Gen Polimorfizmi

TAS2R38 geni 7. kromozomda 7q34'de yer almakta ve acı tadını algılayan tat reseptörlerinden 'tip 2, 38. üye' proteinini kodlamaktadır (68). Ensembl veri tabanında *TAS2R38* geni için 106 TNP girişinin mevcut olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda çürük riski ile ilişkisi araştırılmış olması nedeniyle çalışmamızda *TAS2R38* genine ait seçilen polimorfizm, Alanin (Ala) aminoasitini Prolin (Pro) aminoasidine dönüştüren *TAS2R38* (A49P, rs713598) polimorfizmidir (95, Tablo 2).

TAS2R38 genindeki değişikliklerin bireyleri fenotipik olarak 'süper tadıcılar', 'orta seviyedeki tadıcılar' ve 'tat almayanlar' olarak üç gruba ayırdığı bildirilmiştir (68). Süper tadıcı bir bireyin, tat almayan bireye göre dilin ön bölgesinde daha çok tat tomurcuğuna sahip olduğu, acı ve şeker gibi tatları daha fazla algıladığı bildirilmiştir (68, 69).Yapılan bir çalışmada süper tadıcı 6-12 yaş aralığındaki

çocukların daha az şekerli yiyecek sevdiği ve geçmiş çürük deneyiminin tat almayan bireylere göre anlamlı derecede daha düşük olduğu saptanmıştır (69). *TAS2R38* gen polimorfizmi ile çürük arasındaki ilişki literatürde tek bir çalışmada değerlendirilmiştir. Bu çalışmada Wendell ve ark. *TAS2R38* genine ait A49P polimorfizminde GG homozigot polimorfik genotipindeki bireylerin fenotipini ‘super tadıcı’ olarak belirtmiştir (68). Dolayısıyla G aleline sahip olan süt dişlenme dönemindeki çocukların daha az şeker tükettiği ve buna bağlı olarak A49P polimorfizminin çürükten korunmada önemli olduğu bildirilmiştir (68). Çalışmamızda da *TAS2R38* geni ile 20-60 yaş aralığındaki erişkin bireylerin yer aldığı çürük risk grupları arasında Wendell ve ark.’nın çalışma bulguları ile benzer sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 27). *TAS2R38* geni CC homozigot normal olanların %78.9’u, CG heterozigot olanların %48.2’ si yüksek çürük riskli grupta yer almış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 27).

TAS2R38 genindeki değişikliklerin bireylerin şeker tüketimini etkilemesinden yola çıkarak çalışmamızda ayrıca *TAS2R38* geni ile tükürükteki laktobasil sayısı arasındaki ilişki de değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, GG homozigot polimorfik genotipinde bireylerin %84.8’inin laktobasil sayısı sınıfı 0 olarak bulunmuş bu bireylerin daha az şeker tükettiği saptanmıştır. *TAS2R38* genine ait A49P polimorfizmi ile şeker tüketimi arasındaki ilişkinin 20-29 yaşları arasındaki erişkinlerde araştırıldığı başka bir çalışmada, CC homozigot normal genotipteki bireylerin ‘tat almayanlar’ grubunda olması dolayısıyla GG polimorfik genotipteki bireylere göre acı tadını daha az algıladıkları bulunmuştur (123). Sonuç olarak *TAS2R38* genine ait A49P polimorfizminin çürük riskiyle ilişkili olabileceği ve GG genotipine sahip olan erişkinlerin süper tadıcı olarak daha az şeker tüketmesi dolayısıyla çürük yatkınlığının düşük olabileceği düşünülmektedir.

5.5. Gen-Çevre Etkileşimine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Literatürde doğrusal ve lojistik regresyon analizleri kullanılarak erişkinler için geliştirilen çürük risk modellerinin çoğunlukla sadece çevresel risk faktörlerini içerdiği ve farklı çevresel faktörlerin birarada değerlendirildiği bu çalışmalarda, geliştirilen risk modellerinin açıklayıcılık değerlerinin %16.6 ile %77 oranında

değiştirdiği görülmüştür (14, 38, 108, 111, 124). Literatürde genetik faktörleri ele alarak çürük risk modeli geliştiren bir çalışmaya rastlanmamasının yanında, gen polimorfizmlerinin çevresel faktörlerle birlikte çürük oluşumuna etkisini, regresyon analizi kullanarak risk modelleri ile inceleyen sadece üç araştırmaya rastlanmıştır (23, 24, 25). Bu çalışmalardan birincisi Slayton ve ark.'nın 2005 yılında gen-çevre etkileşimini Amerikalı 3-5 yaşındaki çocuklarda değerlendirdiği çalışmadır. Irk ve yaşın müdahil değişken olarak alındığı çalışmada, çürük riski açısından mineralizasyonda rol oynayan *AMELX*, *AMBN*, *ENAM*, *KLK 4*, *TFIP 11* ve *TUFT1* gen polimorfizmleri ile tükürükte mutans streptokok ve laktobasil sayımından oluşan çevresel faktörlerin etkileşimi incelenmiştir. *TUFT1* genine ait polimorfizm ve mutans streptokok sayımını içeren çürük risk modeli doğruluğunun %26.8 olarak tespit edildiği çalışmada, mineralizasyonda rol oynayan *TUFT1* gen polimorfizminin, olgunlaşma safhasında minenin yapısında değişikliğe neden olduğu fakat çürüğün oluşması için tükürükte mutans streptokok sayısının da yüksek olması gerektiği bildirilmiştir (23).

Slayton ve ark.'nın çalışmasına benzer yaş aralığındaki (3-6 yaş) Türk çocuklarında yapılan başka bir çalışmada da Patir ve ark., mineralizasyonda rol oynayan *AMBN*, *AMELX*, *ENAM*, *TFIP 11* ve *TUFT1* gen polimorfizmleri ile mutans streptokok sayısı, cinsiyet, yaş ve çürük lokalizasyonunu içeren çevresel faktörlerin etkileşimini adimsal ilerlemeli regresyon analizi kullanarak incelemiştir. Geçmiş çürük deneyimini en iyi açıklayan modelin, %40.2 doğruluk oranı ile hem anterior ve hem posterior dişlerinde çürük lezyonu bulunan kız çocuklarındaki *TUFT1* (rs3790506) ve *AMELX* (rs17878486) genlerine ait polimorfizm varlığı olduğu saptanmıştır (24). Bu çalışmada Slayton ve ark.'nın yaptığı araştırmadan farklı olarak, *TUFT1* gen polimorfizminin mutans streptokok varlığından bağımsız olarak çürük riskinde etkili olduğu bulunmuş ve bunun nedeni ise genetik açıdan Türk ve Amerikan nüfusunun farklı olmasına bağlanmıştır (24).

Gen-çevre etkileşimini 5-14 yaşındaki Amerikalı çocuklarda değerlendiren 2012 yılında yapılmış diğer çalışmada ise mine formasyonunda rol oynayan matriks metalloproteinaz proteinini kodlayan *MMP20* (rs1784418) polimorfizmi ile çevresel faktörler olarak ırk ve öğün dışı şekerli atıştırma sıklığının etkileşimi lojistik regresyon analizi ile incelenmiştir ve geliştirilen modelin yüksek oranda çürük riskini

açıkladığı saptanmıştır. Bu modele göre, prizmaların düzensiz yerleşmesine ve minenin mikroyapısında değişikliğe neden olan *MMP20* (rs1784418) polimorfizminin saptandığı siyah ırka mensup ve ayrıca öğün aralarında şekerli yiyecek tüketen çocuklarda çürük meydana gelme riski %74.61 oranında artmaktadır (25).

Çalışmamızda ise çürük riski ile ilişkili olarak; çevresel faktörler ayrı olarak değerlendirilmiş, gen polimorfizmlerinin etkisi incelenmiş ve bunların yanında adimsal ilerlemeli çoklu doğrusal regresyon analizi kullanılarak gen polimorfizmleri ve çevresel faktörler birlikte değerlendirilmiştir. Çevresel faktörlerden plak miktarı, tükürük akış hızı, tükürük tamponlama kapasitesi, mutans streptokok sayısı, laktobasil sayısı, öğün dışı diyet sıklığı, diş fırçalama sıklığı ve yaş, genetik faktörlerden *AMELX*, *CA6*, *DEFBI* ve *TAS2R38* genlerine ait polimorfizmlerin yüksek çürük deneyimi üzerine etkileri incelenmiş, toplam yedi adımda tamamlanan çürük risk modeli oluşturulmuştur. Sonuç olarak; plak miktarı, tükürük tamponlama kapasitesi, laktobasil sayısı, yaş, *DEFBI* (G-20A, rs11362) gen polimorfizminde AA genotipi, *TAS2R38* (A49P, rs713598) polimorfizminde CC genotipi ve *CA6* (T55M, rs2274327) polimorfizminde TT genotipi çürük riskiyle ilişkili bulunarak bu faktörleri içeren modelin açıklayıcılığı %87.8 olarak saptanmıştır. Elde edilen bu modelin, literatürde yer alan diğer çalışmalar göz önüne alındığında çürük riskini en yüksek oranda açıklayan model olduğu görülmüştür.

Saptadığımız bu modelde yedi adımda tamamlanan regresyon analizinin ilk sırasında dental plak miktarının yer aldığı, başka bir deyişle çürük deneyimini en yüksek oranda açıklayan faktörün dental plak miktarı olduğu belirlenmiştir. Plak miktarı açısından çürük risk grupları arasında yapılan karşılaştırmada, yüksek risk grubundaki plak miktarının istatistiksel olarak daha fazla olduğunun saptanması regresyon analizi sonucunu destekler niteliktedir. Yine yapılan ikili karşılaştırmada düşük risk grubuna göre yüksek risk grubunda erişkin ve orta yaş erişkin bireylerin daha fazla olduğu belirlenmiş ve ayrıca çürük deneyiminin yüksek olmasında etkili olduğu regresyon analizi ile de saptanan yaş faktörü çürük risk modelinde yer almıştır. Bu sonuç ilerleyen yaşla birlikte çürük prevalansının arttığını bildiren çalışmalar ile uyumludur (26, 29, 36, 125). Genotip ve alel dağılımı açısından risk grupları arasında yapılan karşılaştırmada iki grup arasında fark olduğu belirlenen

polimorfizmler, adımsal ilerlemeli regresyon analizi sonucuna göre sırasıyla ikinci ve beşinci adımda modele dahil olan *DEFB1* (G-20A) ve *TAS2R38* (A49P) gen polimorfizmleri idi.

Çalışmamızda ayrıca bireylerin şeker tüketimini etkileyen *TAS2R38* genindeki değişikliklerin tükürükteki laktobasil sayısı ile de ilişki olduğu gösterilmiştir (Tablo 28). Tükürükteki laktobasil sayısının regresyon analizi sonucunda elde edilen modele üçüncü adımda dahil olduğu görülmektedir. Bu sonuç laktobasil sayısının model dışında kaldığı Slayton ve ark.'nın yaptığı araştırmanın sonuçlarından farklılık göstermektedir. Bunun nedeni yukarıda belirtildiği gibi *TAS2R38* genindeki çürüğe yatkınlık oluşturan C alelini taşıyan bireylerdeki laktobasil sayısının daha fazla olmasına bağlanabilir.

İkili test istatistiği kullanılarak düşük ve yüksek çürük risk grupları *CA6* (T55M) gen polimorfizminin genotip ve alel dağılımı açısından incelendiğinde gruplar arasında fark gözlenmemiş, fakat bu polimorfizmin regresyon analizi ile elde edilen çürük risk modelinde yer aldığı görülmüştür. Bu sonuç, *CA6* (T55M) polimorfizminde polimorfik T alelini taşıyan bireylerde istatistiksel olarak daha düşük olduğu belirlenen tükürük tamponlama kapasitesi göz önüne alındığında, *CA6* (T55M) gen polimorfizminin, tükürük tamponlama kapasitesi ile birlikte artmış çürük deneyimini açıklayan bir faktör olabileceğini düşündürmektedir.

Elde edilen modelde yer almayan tek gen polimorfizminin *AMELX* (+522) polimorfizmi olduğu görülmüştür. Patir ve ark. tarafından yapılan çalışmada, *AMELX* gen polimorfizmi açısından çürüklü ve çürüksüz risk grupları karşılaştırmış, gen polimorfizminin çürüklü risk grubundaki çocuklarda dmft skorunun artışına neden olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada aynı zamanda regresyon analizi de yapılmış ve yüksek çürük deneyimini açıklayan modelde çevresel faktörlerle birlikte *AMELX* (rs17878486) genine ait polimorfizmin de yer aldığı saptanmıştır (24). Bu bulgunun aksine Slayton ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, *AMELX* (TNP 1-3-5) gen polimorfizmi açısından çürük risk grupları (dmfs=0, dmfs>4) arasında fark bulunmamış ve bu polimorfizmin gen-çevre etkileşimini açıklayan modelde yer almadığı belirtilmiştir (23, Tablo 30). Buna ek olarak, *AMELX* (+522) gen polimorfizmi açısından düşük ve yüksek çürük risk grupları arasında ikili karşılaştırmanın yapıldığı çalışmamızda da gruplar arasında fark olmadığı saptanmış

ve bu bulgu literatürde mevcut aynı gen polimorfizm bölgesini araştıran iki çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermiştir (96, 119). Çalışmamızda ayrıca bu polimorfizmin regresyon analizi sonucunda yüksek çürük deneyimini açıklayan modele dahil olmaması, ileride yapılacak olan çalışmalarda, tartışmanın 5.4.1 bölümünde açıklandığı üzere, mineralizasyonda rol oynayan diğer gen polimorfizmlerinin çürük risk faktörü olarak değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmüştür .

Çalışmamızda ağız hijyen durumu; dental plak miktarının kantitatif olarak ölçülmesi ve diş fırçalama sıklığının hastaların verdiği cevaplar doğrultusunda belirlenmesi ile değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, yüksek çürük risk grubunda daha düşük olarak belirlenmesine rağmen, diş fırçalama sıklığının çürük risk faktörü olarak değerlendirilmemesi, ağız hijyeni ile ilişkili diğer faktör olan dental plağın yüksek çürük deneyimini açıklayan modelde ilk sırada yer almasına bağlanabilir.

Yapılan anket değerlendirmesine göre öğün dışı diyet sıklığı yüksek olan bireylerde, bu ara öğünlerin genellikle şekerli yiyeceklerden oluştuğu belirlenmiştir. Karbonhidrat ağırlıklı beslenildiğinde ağız içindeki laktobasil sayısının yükselmesi dolayısıyla, bireyin şeker tüketiminin belirlenmesinde tükürükte laktobasil sayım testinin kullanılabilmesi önerilmiştir (84). Bu çalışmada, yüksek çürük risk grubunda daha yüksek olarak belirlenmesine rağmen, öğün dışı diyet sıklığının çürük risk faktörü olarak değerlendirilmemesi, tükürükte laktobasil sayımı faktörünün yüksek çürük deneyimini açıklayan modelde yer almasına bağlanabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız bugüne kadar yapılan gen polimorfizmleri ve çevresel faktörlerin çürük riski üzerindeki etkilerinin birlikte araştırıldığı çalışmalardan bazı yönleriyle farklılık göstermiştir. Literatürde mineralizasyon, tükürük proteini, ağız içi bağışıklık sistemi, tat alma/diyet tercihi olmak üzere çürük ile ilişkilendirilmiş dört farklı kategorideki gen polimorfizmlerinin herbirinden birer adet seçilmiş (sırasıyla AMELX, CA6, DEFB1 ve TAS2R38) ve bu polimorfizmlerin çürük riski üzerindeki etkisi bir arada değerlendirilmiştir. Ayrıca hem bu gen polimorfizmlerine hem de çevresel faktörlere ait toplam 12 adet çürük risk faktörü kullanılarak yapılan değerlendirme sonucunda bir 'çürük risk modeli' geliştirilmiş ve erişkin bireylerdeki yüksek geçmiş çürük deneyimi gen-çevre etkileşimi ile açıklanmaya çalışılmıştır.

Buna göre araştırmamızdan elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Tükürük akış hızı dışında çevresel risk faktörü olarak değerlendirilen plak miktarı, diş fırçalama sıklığı, öğün dışı diyet sıklığı, tükürük tamponlama kapasitesi, tükürük mutans streptokokları sayısı, tükürük laktobasil sayısı çalışılan bu hasta populasyonunda çürük riskinin artması ile ilişkilidir. Bununla birlikte sadece plak miktarının, tükürük tamponlama kapasitesinin ve tükürük laktobasil sayısının, yüksek geçmiş çürük deneyimini gen-çevre etkileşimi ile açıklayan çürük risk modelinde yer alması yeterli olabilir.

- *AMELX* (+522, rs6639060) gen polimorfizminin çürük riskinin artması ile ilişkili bulunmaması ve aynı zamanda yüksek geçmiş çürük deneyimini açıklayan çürük risk modelinde yer almaması, *AMELX* gen polimorfizminin çürük etiyojisinde rol oynamadığı anlamına gelebilir.

- *CA6* (T55M, rs2274327) gen polimorfizminin tek başına çürük riskini arttırmayabileceği fakat polimorfik T alelini taşıyan erişkin bireylerde tükürük tamponlama kapasitesinin daha düşük olarak saptanması dolayısıyla, *CA6* gen

polimorfizminin ancak tamponlama kapasitesiyle birlikte ele alındığında çürük risk modelinde yer alabileceği söylenebilir.

- *DEFBI* (G-20A, rs11362) gen polimorfizmi varlığında AA homozigot polimorfik genotipindeki erişkin bireylerde çürük riskinin yüksek olabileceği ve bu nedenle *DEFBI* gen polimorfizminin yüksek geçmiş çürük deneyimini açıklayan çürük risk modeline dahil edilmesi gerektiği söylenebilir.

- *TAS2R38* (A49P, rs713598) gen polimorfizmi varlığında CC homozigot normal genotipini taşıyan erişkin bireylerde çürük riskinin arttığı söylenebilir. Ayrıca bu polimorfizmin gözlemlendiği erişkinlerin ‘tat alamayan’ fenotip sergilemesi, daha çok karbonhidratlı besin tüketilmesine ve dolayısıyla tükürükteki laktobasil sayısının artmasına yol açabilir. Bu nedenle; yüksek geçmiş çürük deneyimini açıklayan bir çürük risk modelinde yer alacak faktörler arasında *TAS2R38* gen polimorfizminin ve tükürükteki laktobasil sayısının birlikte bulunması gerektiği söylenebilir.

- Erişkinlerde geçmiş çürük deneyimini %87.8 oranında açıklayabilen bir ‘çürük risk modeli’ elde etmek için modele dahil edilmesi gereken çürük risk faktörlerinin; plak miktarı, tükürük tamponlama kapasitesi, tükürük laktobasil sayısı, yaş, *CA6* (T55M, rs2274327) gen polimorfizmi, *DEFBI* (G-20A, rs11362) gen polimorfizmi ve *TAS2R38* (A49P, rs713598) gen polimorfizmi olduğu söylenebilir.

Çalışmamızın sonuçları ile doğru orantılı olarak aşağıda bahsedilen öneriler bu konu ile yapılacak olan çalışmalara yön verebilir. Çürük riskini yüksek oranda açıklayabilen bir risk modeli geliştirmek için bireyin eğitim seviyesi, sosyoekonomik durumu, mesleği, diş hekimine gitme sıklığı gibi sosyal ve davranışsal faktörler de çürük risk faktörlerinin değerlendirildiği çalışmalara dahil edilebilir. İleride yapılacak olan araştırmalarda *AMELX* genine ait çalışmamızda incelenen polimorfizm bölgesi yerine diğer tek nükleotid değişikliklerinin veya mineralizasyonda rol oynayan farklı genlerin değerlendirilmesi, geliştirilecek olan çürük risk modelinin açıklayıcılığının artmasına neden olacaktır. Çalışmamızda araştırılan genlerden farklı olarak, çürük riskinde etkili olabileceği belirlenmiş olan

mineralizasyonla ilişkili *MMP20*, tükürük proteinleriyle ilişkili *PRH1* ve *PRH2*, bağışıklık sistemi ile ilişkili *MHC* ve tat alma ile ilişkili *TAS1R2* gibi diğer genlere ait tek nükleotid polimorfizmleri incelenebilir. Buna ek olarak, otomatik DNA dizi analizleri kullanılarak yapılacak olan gen analizi sonucu diş çürüğü ile ilişkili yeni tek nükleotid polimorfizmleri saptanabilir.

Son olarak, çevresel ve genetik tüm risk faktörlerinin doğru olarak tespit edilmesi sonucu popülasyondaki çürüğe yatkınlığı olan bireylerin tam, doğru, kolay ve hızlı bir şekilde saptanması mümkün olacaktır. Diş çürüğü etiolojisinde genetiğin rolünün daha fazla aydınlatılması, ileride moleküler aşı ve hatta gen terapisi gibi koruyucu ve terapötik amaçlı yeni yöntemlerin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

7. ÖZET

AMELX, CA6, DEFB1 ve TAS2R38 GEN POLİMORFİZMİNİN ve GEN-ÇEVRE ETKİLEŞİMİNİN ERİŞKİNLERDEKİ ÇÜRÜK ETİYOLOJİSİ ve RİSK DEĞERLENDİRMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

AMAÇ: Diş çürüğü çevresel ve genetik risk faktörlerinin etkileşimi sonucu oluşan multifaktoriyel bir hastalıktır. Genetik faktörlerin varlığına dair güçlü kanıtlar olmasına rağmen diş çürüğü ve gen polimorfizmleri ile ilişkili az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmanın amacı; AMELX, CA6, DEFB1 ve TAS2R38 gen polimorfizminin ve gen-çevre etkileşiminin erişkinlerdeki çürük etiyojisi ve risk değerlendirmesi üzerindeki etkilerinin araştırılmasıdır.

YÖNTEM: Yaş aralığı 20-60 olan ‘düşük çürük risk’ (DMFT≤5) grubundaki 77 birey ve ‘yüksek çürük risk’ (DMFT≥14) grubundaki 77 bireyden alınan yanak içi sürüntü örneklerinden genomik DNA izolasyonu yapıldı. *AMELX* (+522), *CA6* (T55M), *DEFB1* (G-20A) ve *TAS2R38* (A49P) tek nükleotid polimorfizmlerinin dağılımları, PCR-RFLP yöntemi ile değerlendirildi. Çalışmada çevresel risk faktörleri olarak plak miktarı, diş fırçalama sıklığı, öğün dışı diyet sıklığı, tükürük akış hızı, tamponlama kapasitesi, tükürükteki mutans streptokok ve laktobasil sayısı incelendi. İstatistiksel anlamlılık değeri $p < 0.05$ olarak belirlendi.

BULGULAR: Çürük risk grupları arasında *AMELX* (+522) polimorfizmi açısından anlamlı farklılık bulunmadı (χ^2 test, $p > 0.05$). *DEFB1* (G-20A) polimorfizmi ile çürük riski arasında pozitif, *TAS2R38* (A49P) polimorfizmi ile çürük riski arasında negatif ilişki saptandı (χ^2 test, $p < 0.001$). Tükürük akış hızı haricindeki çevresel risk faktörleri ile çürük yatkınlığı arasında anlamlı farklılık bulundu (Mann-Whitney U test, $p < 0.001$). Adımsal ilerlemeli çoklu doğrusal regresyon analizine göre dental plak miktarı, *DEFB1* (G-20A) polimorfizmi, laktobasil sayısı, yaş, *TAS2R38* (A49P) polimorfizmi, *CA6* (T55M) polimorfizmi ve tamponlama kapasitesi DMFT değerini %87.8 oranında açıkladı.

SONUÇ: Elde edilen bulgulara, *CA6* (T55M), *DEFB1*(G-20A), *TAS2R38* (A49P) gen polimorfizmleri ile dental plak miktarı, laktobasil sayısı, yaş ve tamponlama

kapasitesinin bulunduğu çürük risk modeli çalışılan bu popülasyonda DMFT değerindeki artışı %87.8 oranında açıklayabilir.

Anahtar Kelimeler: Diş ürüğü, AMELX, CA6, DEFB1, TAS2R38, tek nükleotid polimorfizmi

SUMMARY

EFFECTS OF AMELX, CA6, DEFB1, TAS2R38 GENE POLYMORPHISM AND GENE-ENVIRONMENT INTERACTIONS ON DENTAL CARIES ETIOLOGY AND CARIES RISK ASSESSMENT IN ADULTS

OBJECTIVE: Dental caries is a multifactorial disease and can be conceptualized as an interaction between genetic and environmental risk factors. There have been few studies of gene polymorphisms and dental caries despite strong evidence of genetic factors. The aim of this study is to examine effects of *AMELX*, *CA6*, *DEFB1* and *TAS2R38* gene polymorphism and gene-environment interactions on caries etiology and risk assessment in adults.

METHODS: Genomic DNA of 77 adults between 20-60 ages with 'low caries risk group' (DMFT \leq 5) and 77 adults with 'high caries risk group' (DMFT \geq 14) was extracted from the buccal mucosa. The frequency of *AMELX* (+522), *CA6* (T55M), *DEFB1* (G-20A) and *TAS2R38* (A49P) single nucleotide polymorphisms were genotyped with the PCR-RFLP method. The environmental risk factors such as plaque amount, tooth brushing, between-meal snacks, saliva secretion rate, buffer capacity, mutans streptococci and lactobacilli counts were examined in the study. Statistically significant difference was defined as a P value of <0.05.

RESULTS: There was no difference between the caries risk groups in relation to *AMELX* (+522) gene polymorphism (χ^2 test, $p>0.05$). Polymorphism of *DEFB1* (G-20A) was positively and *TAS2R38* (A49P) was negatively associated with caries risk (χ^2 test, $p<0.001$). There were significant differences between environmental risk factors and caries susceptibility except of saliva secretion rate (Mann-Whitney U test, $p<0.001$). Based on stepwise multiple linear regression analyses, dental plaque amount, *DEFB1*(G-20A) gene polymorphism, lactobacilli count, age, *TAS2R38* (A49P) and *CA6* (T55M) gene polymorphism and buffer capacity explained a total of 87.8% of the variations in DMFT scores.

CONCLUSIONS: Present results suggest that, when the *CA6* (T55M), *DEFB1*(G-20A), *TAS2R38* (A49P) gene polymorphisms and dental plaque amount, lactobacilli

count, age, buffer capacity are present, the caries risk model may yield 87.8% value to explain DMFT increase in the studied population.

Key words: Dental caries, AMELX, CA6, DEFB1, TAS2R38, single nucleotide polymorphism

8. KAYNAKLAR

1. Axelsson P. Diagnosis and Risk Prediction of Dental Caries. Illinois, USA, Quintessence Publishing Co, Inc, 2000.
2. Cengiz T. Endodonti. 4. Baskı, İzmir, Barış Yayınları, Fakülteler Kitapevi, 1996.
3. Fejerskov O, Kidd E. Dental Caries the Disease and Its Clinical Management. 1st Ed., Oxford: Blackwell Munksgaard, 2000.
4. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. Lancet 2007; 369(9555): 51–59.
5. Kidd EAM. Essentials of Dental Caries. 3rd Ed., New York, USA: Oxford, 2005.
6. Koray F. Diş Çürükleri. İstanbul: Altın Matbaacılık, 1981.
7. Newburn, E. Cariology. 3rd Ed., Chicago: Quintessence Publishing Co, Inc, 1989.
8. Evans R, Lo E, Darwell B. Determinants of variation in dental caries experience in primary teeth of Hong Kong children aged 6–8 years. Community Dent Oral Epidemiol. 1993; 21: 1-3.
9. Werneck RI, Mira MT, Trevilatto PC. A critical review: an overview of genetic influence on dental caries. Oral Dis. 2010; 16(7): 613-623.
10. Zero DT. Dental caries process. Dent Clin North Am. 1999; 43(4): 635-664.
11. Beck JD. Risk re-visited. Comm Dent Oral Epidemiol. 1998; 26(4): 220-225.
12. Hausen H. Caries prediction - state of the art. Community Dent Oral Epidemiol. 1997; 25(1): 87-96.
13. Al Mulla AH, Kharsa SA, Kjellberg H, Birkhed D. Caries risk profiles in orthodontic patients at follow-up using Cariogram. Angle Orthod. 2009; 79(2): 323-330.
14. Celik EU, Gokay N, Ates M. Efficiency of caries risk assessment in young adults using Cariogram. Eur J Dent. 2012; 6(3): 270-279.
15. Drake CW, Hunt RJ, Beck JD, Koch GG. Eighteen-month coronal caries incidence in North Carolina older adults. J Public Health Dent. 1994; 54(1): 24-30.
16. Joshi A, Papas AS, Giunta J. Root caries incidence and associated risk factors in middle-aged and older adults. Gerodontology. 1993; 10(2): 83-89.
17. MacEntee MI, Clark DC, Glick N. Predictors of caries in old age. Gerodontology. 1993; 10(2): 90-97.

18. Ruiz Miravet A, Montiel Company JM, Almerich Silla JM. Evaluation of caries risk in a young adult population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2007; 12(5): 412-418.
19. Shuler C. Inherited risks for susceptibility to dental caries. *J Dent Educ*. 2001; 65(10): 1038-1045.
20. Vieira AR, Marazita ML, Goldstein-McHenry T. Genome-wide scan finds suggestive caries loci. *J Dent Res*. 2008; 87(5): 435-439.
21. Renuka P, Pushpanjali K, Sangeetha R. Review on “Influence of host genes on dental caries” *Journal of Dental and Medical Sciences* 2013; 4(3): 86-92.
22. Vieira AR, Modesto A, Marazita ML. Caries: Review of Human Genetics Research. *Caries Res*. 2014; 48(5): 491-506.
23. Slayton RL, Cooper ME, Marazita ML. Tuftelin, mutans streptococci, and dental caries susceptibility. *J Dent Res*. 2005; 84(8): 711-714.
24. Patir A, Seymen F, Yildirim M, Deeley K, Cooper ME, Marazita ML and et al. Enamel formation genes are associated with high caries experience in Turkish children. *Caries Res*. 2008; 42(5): 394-400.
25. Tannure PN, Kuchler EC, Lips A, Costa Mde C, Luiz RR, Granjeiro JM, Vieira AR. Genetic variation in MMP20 contributes to higher caries experience. *J Dent*. 2012; 40(5): 381-386.
26. Reich E, Lussi A, Newbrun E. Caries risk assessment. *Int Dent J*. 1999; 49(1): 15-26.
27. Powell LV. Caries risk assessment: Relevance to practitioner. *J Am Dent Assoc*. 1998; 129(3): 349-353.
28. Burt BA. Concepts of risk in dental public health. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2005; 33: 240-247.
29. Basavaraj P, Khuller N, Khuller RI, Sharma N. Caries risk assessment and control. *J Oral Health Comm Dent*. 2011; 5(2): 58-63.
30. Tellez M, Sohn W, Burt BA, Ismail AI. Assessment of the relationship between neighborhood characteristics and dental caries severity among low-income African-Americans: A multilevel approach. *J Public Health Dent*. 2006; 66(1): 30-36.

31. Powell LV. Caries prediction: a review of the literature. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1998; 26(6): 361-371.
32. World Health Organization, *Oral Health Surveys: Basic Methods*, 4th ed. Geneva: 1997.
33. Petersen PE. Sociobehavioural risk factors in dental caries – international perspectives. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2005; 33(4): 274–279.
34. Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century--the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2003; 31 (Suppl 1): 3-23.
35. Zero D, Fontana M, Lennon ÁM. Clinical applications and outcomes of using indicators of risk in caries management. *J Dent Educ.* 2001; 65(10): 1126-1132.
36. Fontana M, Zero DT. Assessing patients' caries risk. *J Am Dent Assoc* 2006; 137(9): 1231-1239.
37. Behram Ö, Lofça G, Efes BG. Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı ilk muayene kliniğine başvuran hastalarda DMFT indeksi ile tükürük özellikleri arasındaki ilişki. *İstanbul Dişhek Fak Derg.* 2011; 45(2): 29-36.
38. Rwenyonyi CM, Muwazi LM, Buwembo W. Assessment of factors associated with dental caries in rural communities in Rakai District, Uganda. *Clin Oral Invest.* 2011; 15(1): 75-80.
39. Jamieson LM, Roberts-Thomson KF, Sayers SM. Risk indicators for severe impaired oral health among indigenous Australian young adults. *BMC Oral Health.* 2010; 10(1): 10-11.
40. Imazato S, Ikebe K, Nokubi T, Ebisu S, Walls AW. Prevalence of root caries in a selected population of older adults in Japan. *J Oral Rehabil.* 2006; 33: 137-143.
41. Ferraro M, Vieira AR. Explaining gender differences in caries: A multifactorial approach to a multifactorial disease. *Int J Dent.* 2010; 2010: 649643.
42. Çoğulu Ö, Durmaz B, Özkınay F. Genetik Hastalıklara Temel Yaklaşım. *Ege Pediatri Bülteni* 2006; 13(1): 57-66.
43. Lüleyap HÜ. *Moleküler Genetiğin Esasları*. Ankara: Nobel Kitabevi, 2008.
44. Bozkaya ÖG. *Pediyatrik genetik*. DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi 2008; 22(3): 171 - 179.

45. Ekmekçi A, Konaç E, Önen Hİ. Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Medical Journal* 2008; 21(3); 282-295.
46. Pal GP, Mahato NK. *Genetics in Dentistry*. 2010 1st ed., New Delhi, India: Jaypee, 2010.
47. Ulucan K, Pul U, Akçay T. Diş çürüklerinin oluşumuna moleküler yaklaşım. *Journal of Cell and Molecular Biology* 2010; 8(2): 35-39.
48. Boyacıoğlu SÖ, Dündar M. Gen haritalama stratejileri. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 2012; 21(1): 50-60.
49. Briseño-Ruiz J, Shimizu T, Deeley K, Dizak PM, Ruff TD, Faraco IM Jr and et al. Role of TRAV locus in low caries experience. *Hum Genet*. 2013; 132(9): 1015-1025.
50. Deeley K, Letra A, Rose EK, Brandon CA, Resick JM, Marazita ML and et al. Possible association of amelogenin to high caries experience in a Guatemalan-Mayan population. *Caries Res*. 2008; 42(1): 8-13.
51. Gasse B, Grabar S, Lafont AG, Quinquis L, Opsahl Vital S, Davit-Béal T. Common snps of *Amelogeninx (AMELX)* and dental caries susceptibility. *J Dent Res*. 2013; 92(5): 418-424.
52. Wang X, Willing MC, Marazita ML, Wendell S, Warren JJ, Broffitt B and et al. Genetic and environmental factors associated with dental caries in children: the Iowa Fluoride Study. *Caries Res*. 2012; 46(3): 177-184.
53. Nikiforuk G. *Understanding Dental Caries*. Vol. 1: Etiology & Mechanism. Switzerland: S. Karger AG, 1985.
54. Kang SW, Yoon I, Lee HW, Cho J. Association between AMELX polymorphisms and dental caries in Koreans. *Oral Diseases* 2011; 17(4): 399-406.
55. Wright JT. Defining the contribution of genetics in the etiology of dental caries. *J Dent Res*. 2010; 89(11): 1173-1174.
56. Buczkowska-Radlińska J, Pol J, Szmidt M, Bińczak-Kuleta A. The influence of polymorphism of the MUC7 gene on the teeth and dental hygiene of students at a faculty of dentistry in Poland. *Postepy Hig Med Dosw (online)*. 2012; 66: 204-209.
57. Peres RC, Camargo G, Mofatto LS, Cortellazzi KL, Santos MC, Nobre-dos-Santos M and et al. Association of polymorphisms in the carbonic anhydrase 6 gene

with salivary buffer capacity, dental plaque ph, and caries index in children aged 7–9 years. *Pharmacogenomics J.* 2010; 10(2): 114-119

58. Özata F, Demirbaş Kaya A. Diş çürüğü ve genetik. *EÜ Dişhek Fak Derg.* 2001; 22: 13-21

59. Kivelä J, Parkkila S, Parkkila AK, Rajaniemi H. A low concentration of carbonic anhydrase isoenzyme VI in whole saliva is associated with caries prevalence. *Caries Res.* 1999; 33(3):178-184

60. Zakhary GM, Clark RM, Bidichandani SI, Owen WL, Slayton RL, Levine M. Acidic proline-rich protein Db and caries in young children *J Dent Res* 2007; 86(12): 1176-1180.

61. Türkoğlu O, Atilla G. Ağız boşluğunda bir antimikrobiyal peptid ailesi: Katelisinler. *SÜ Dişhek Fak Der.* 2008; 17(2): 146-154.

62. Öztürk A, Famili P, Vieira AR. The antimicrobial peptide *DEFBI* is associated with caries. *J Dent Res.* 2010; 89(6): 631-636.

63. Özenci H. Behçet hastaları ve sağlıklı kontrollerde ağız epitel hücrelerinin antibakteriyel etkinliğinde beta defensinlerin (HBD-1, HBD-2 ve HBD-3) rolünün araştırılması. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu 2010; Proje No: 06B3330012

64. Bagherian A, Nematollahi H, Afshari JT, Moheghi N. Comparison of allele frequency for HLA-DR and HLA-DQ between patients with ECC and caries-free children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2008; 26(1): 18-21.

65. De Soet JJ, van Gemert-Schriks MC, Laine ML, van Amerongen WE, Morré SA, van Winkelhoff AJ. Host and microbiological factors related to dental caries development. *Caries Res.* 2008; 42(5): 340-347.

66. Pehlivan S, Koturoğlu G, Ozkinay F, Alpoz AR, Sipahi M, Pehlivan M. Might there be a link between mannosebinding lectin polymorphism and dental caries? *Mol Immunol.* 2005; 42(9): 1125-1127.

67. Bretz WA, Corby PM, Melo MR, Coelho MQ, Costa SM, Robinson M. and et al. Heritability estimates for dental caries and sucrose sweetness preference. *Archives of Oral Biology* 2006; 51: 1156-1160

68. Wendell S, Wang X, Brown M, Cooper ME, DeSensi RS, Weyant RJ and et al. Taste genes associated with dental caries. *J Dent Res.* 2010; 89(11): 1198-1202.

69. Rupesh S, Nayak UA. Genetic sensitivity to the bitter taste of 6-n propylthiouracil: A new risk determinant for dental caries in children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2006; 24(2): 63-68.
70. Marya CM. *A Textbook of Public Health Dentistry.* 1st ed., New Delhi, India: Jaypee, 2011.
71. Apillioğulları S, Şener Y, Can S, Yegin Z, Çelik JB, Tosun G. Midazolam ve tükürük akış hızı: Çocuklarda midazolamın tükürük akış hızı üzerine etkisi. *SÜ Dişhek Fak Derg.* 2010; 19(2): 145-149.
72. Siso ŞH, Hürmüzlü F. Çürük Aktivite Testleri. *Cumhuriyet Dent J.* 2005; 8 (2): 113-118.
73. Öncel I, Üstün S, Keleş Y. *Bitki Fizyolojisi Laboratuvar Klavuzu.* Ankara: A.Ü.F.F. Döner Sermaye İşletme Yayınları, 2004.
74. Kitasako Y, Moritsuka M, Foxton RM, Ikeda M, Tagami J, Nomura S. Simplified and quantitative saliva buffer capacity test using a hand-held pH meter. *Am J Dent.* 2005; 18:147-150.
75. Moritsuka M, Kitasako Y, Burrow MF, Ikeda M, Tagami J, Nomura S. Quantitative assessment for stimulated saliva flow rate and buffering capacity in relation to different ages. *J Dent.* 2007; 34: 716-720.
76. *Dentobuff Strip Instructions for Use.* Orion Diagnostica, Espoo, Finland.
77. *CRT Buffer Brochure.* Ivoclar Vivadent, Schaen, Liechtenstein.
78. *GC Saliva-Check Buffer Instruction for Use.* GC, Tokyo, Japonya.
79. Ericson D and Brathall D. Simplified methods to estimate salivary buffer capacity. *Scand J Dent Res.* 1989; 97: 405-407.
80. Ravald N, Birkhed D. Factors associated with active and inactive root caries in patients with periodontal disease. *Caries Res.* 1991; 25(5): 377-384.
81. Sánchez-García S, Gutiérrez-Venegas G, Juárez-Cedillo T, Reyes-Morales H, Solórzano-Santos F, García-Peña C. A simplified caries risk test in stimulated saliva from elderly patients. *Gerodontology.* 2008; 25(1): 26-33.
82. *Dentocult MS. Instructions for Use.* Orion Diagnostica, Espoo, Finland.
83. *GC Saliva-Check Mutans Instruction for Use.* GC, Tokyo, Japonya
84. Bratthall D, Petersson GH. Cariogram-a multifactorial risk assessment model for a multifactorial disease. *Comm Dent Oral Epidemiol.* 2005; 33(4): 256-264.

- 85.** Dentocult LB. Instructions for Use. Orion Diagnostica, Espoo, Finland.
- 86.** CRT Bacteria Instructions for Use. Ivoclar Vivadent, Schaen, Liechtenstein.
- 87.** Ersin NK, Eronat N, oğulu D, Uzel A, Aksit S. Association of maternal-child characteristics as a factor in early childhood caries and salivary bacterial counts. *J Dent Child.* 2006; 73: 105-111.
- 88.** Dentocult CA Instructions for Use. Orion Diagnostica, Espoo, Finland.
- 89.** Ramesh K, Kunjappan S, Ramesh M, Shankar S, Reddy S. Comparative evaluation of predictive value of three caries activity tests-snyder, lactobacillus count and cariostat in mixed dentition children with and without caries. *J Pharm Bioallied Sci.* 2013; 5(Suppl 1): 63-68.
- 90.** Temizkan G, Arda N. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, “DNA’ nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile oğaltılması” İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1999.
- 91.** Yıldırım A, Turhan H, Yanmaz V, Bakan E. EDTA’lı tam kan örneklerinden otomatik DNA izolasyonu: Manuel DNA izolasyonu ile karşılaştırma. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2008; 3: 32-38
- 92.** Vanobbergen J, Martens L, Lesaffre E, Bogaerts K, Declerck D. Assessing risk indicators for dental caries in the primary dentition. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2001; 29: 424-434.
- 93.** Brathall D, Hansel PG. Cariogram- a multifactorial risk assessment model for a multifactorial disease. *Comm Dent Oral Epidemiol.* 2005; 33(4): 256-264.
- 94.** Silness P, Løe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand.* 1964; 22: 121-135.
- 95.** www.ensembl.org.tr (Erişim tarihi: 07 Mayıs 2014).
- 96.** Ouryouji K, Imamura Y, Fujigaki Y, Oomori Y, Yanagisawa S, Miyazawa H and et al. Analysis of mutations in the amelogenin and the enamel genes in severe caries in Japanese pediatric patients. *Pediatr Dent J.* 2008; 18(2): 79-85.
- 97.** Lucock M, Ng X, Boyd L, Skinner V, Wai R, Tang S and et al. TAS2R38 bitter taste genetics, dietary vitamin C, and both natural and synthetic dietary folic acid predict folate status, a key micronutrient in the pathoaetiology of adenomatous polyps. *Food Funct.* 2011; 2(8): 457-465.

- 98.** Johnson MF. The role of risk factors in the identification of appropriate subjects for caries clinical trials: design considerations. *J Dent Res.* 2004; 83(Spec Iss C): 116-118.
- 99.** Aleksejūnienė J, Holst D, Brukienė V. Dental caries risk studies revisited: causal approaches needed for future inquiries. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2009; 6(12): 2992-3009.
- 100.** Khan EA, Tyndall DA, Caplan D. Extraoral imaging for proximal caries detection: Bitewings vs scanogram. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004; 98(6): 730-737.
- 101.** Akkaya N, Kansu O, Kansu H, Cagirankaya LB, Arslan U. Comparing the accuracy of panoramic and intraoral radiography in the diagnosis of proximal caries. *Dentomaxillofac Radiol.* 2006; 35(3): 170-174.
- 102.** Fontana M, Gonzalez-Cabezas C. Minimal intervention dentistry: part 2. Caries risk assessment in adults. *Br Dent J.* 2012; 213(9): 447-451.
- 103.** World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality. Vol. 2. Geneva, 1999 (Second edition).
- 104.** Davraz A, Şener E, Şener Ş. Temporal variations of fluoride concentration in Isparta public water system and health impact assessment (SW-Turkey). *Environ Geol.* 2008; 56(1): 159-170.
- 105.** Kürkçüoğlu I, Karakılıç V, Kürkçüoğlu ME. Isparta ilinde yüksek florlu su kaynaklarını kullanan iki bölgede atmosferik radon düzeylerinin incelenmesi. *S.D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2010; 1(2): 49-61.
- 106.** Sonbul H, Al-Otaibi M, Birkhed D. Risk profile of adults with several dental restorations using the Cariogram model. *Acta Odontol Scand.* 2008; 66(6): 351-357.
- 107.** Ravald N, Birkhed D, Hamp SE. Root caries susceptibility in periodontally treated patients. Results after 12 years. *J Clin Periodontol.* 1993; 20(2):124-129.
- 108.** Daryani H, Nagarajappa R, Sharda AJ, Asawa K, Tak M, Sanadhya S, Batra M. Cariogram Model in Assessment of Dental Caries among Mentally Challenged and Visually Impaired Individuals of Udaipur, India. *J Clin Diagn Res.* 2014; 8(1): 206-210.

- 109.** Pakpour AH, Hidarnia A, Hajizadeh E, Kumar S, Harrison AP. The status of dental caries and related factors in a sample of Iranian adolescents. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16(6): 822-827.
- 110.** Hänsel Petersson G, Fure S, Bratthall D. Evaluation of a computer-based caries risk assessment program in an elderly group of individuals. *Acta Odontol Scand*. 2003; 61(3): 164-171.
- 111.** Scheinin A, Pienihakkinen K, Tiekso J, Holmberg S. Multifactorial modeling for root caries prediction. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1992; 20(1): 35-37.
- 112.** Mori F, Hiraishi N, Otsuki M, Tagami J. Effect of mastication on flow and properties of saliva. *Asian Pac J Dent*. 2012; 12: 1-5
- 113.** Flink H, Tegelberg A, Lagerlöf F. Influence of the time of measurement of unstimulated human whole saliva on the diagnosis of hyposalivation. *Arch Oral Biol*. 2005; 50(6): 553-559.
- 114.** Percival RS, Challacombe SJ, Marsh PD. Flow rates of resting whole and stimulated parotid saliva in relation to age and gender. *J Dent Res*. 1994; 73(8): 1416-1420.
- 115.** Spak CJ, Johnson G, Ekstrand J. Caries incidence, salivary flow rate and efficacy of fluoride gel treatment in irradiated patients. *Caries Res*. 1994; 28(5): 388-393.
- 116.** Faine MP, Allender D, Baab D, Persson R, Lamont RJ Dietary and salivary factors associated with root caries. *Spec Care Dentist*. 1992; 12(4): 177-182.
- 117.** Açıkgöz N, Hancı İH, Çakır H. Olay yerinden DNA analizi için biyolojik örnek toplama ve örneklerin laboratuara gönderilme usulleri 2002. acikarsiv.ankara.edu.tr/browse/1119/1701.pdf
- 118.** Valarini N, Maciel SM, Moura SK, Poli-Frederico RC. Association of dental caries with HLA class II allele in Brazilian adolescents *Caries Res*. 2012; 46(6): 530-535.
- 119.** Olszowski T, Adler G, Janiszewska-Olszowska J, Safranow K, Kaczmarczyk M. MBL2, MASP2, AMELX, and ENAM gene polymorphisms and dental caries in Polish children. *Oral Diseases* 2012; 18(4): 389-395.

- 120.** Gasse B, Grabar S, Lafont AG, Quinquis L, Opsahl Vital S, Davit-Béal T and et al. Common SNPs of AmelogeninX (AMELX) and dental caries susceptibility. *J Dent Res.* 2013; 92(5): 418-424.
- 121.** Shaffer JR, Feingold E, Wang X, Lee M, Tcuenco K, Weeks DE and et al.. GWAS of dental caries patterns in the permanent dentition. *J Dent Res.* 2013; 92(1): 38-44.
- 122.** Wohlfahrt JC, Wu T, Hodges JS, Hinrichs JE, Michalowicz BS No association between selected candidate gene polymorphisms and severe chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2006; 77: 426-436.
- 123.** Khataan NH, Stewart L, Brenner DM, Cornelis MC, El-Sohemy A. TAS2R38 genotypes and phenylthiocarbamide bitter taste perception in a population of young adults. *J Nutrigenet Nutrigenomics.* 2009; 2(4-5): 251-256.
- 124.** Jain M, Mathur A, Sawla L, Choudhary G, Kabra K, Duraiswamy P, Kulkarni S. Oral health status of mentally disabled subjects in India. *J Oral Sci.* 2009; 51(3): 333-340.
- 125.** Gökalp S, Doğan BG, Tekçiçek M, Berberoğlu A, Ünlüer Ş. Erişkin ve yaşlılarda ağız-diş sağlığı profili Türkiye-2004. *Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 2007; 31(4): 11-18.

EKLER

Ek 1. ÖZGEÇMİŞ

Adı:	Gül	Soyadı:	Yıldız
Doğum Yeri:	Isparta	Doğum Tarihi:	10.02.1984
Uyruğu:	T.C.	Tel:	(0246) 211 8837
Email:	gulyildiz@gmail.com		

Eğitim Düzeyi		
	Mezun Olduğu Kurum	Mezuniyet Yılı
Doktora	Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi A.D.	2014
Lisans & Yüksek lisans	Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2008
Lise	Isparta Milli Piyango Anadolu Lisesi	2002
İş Deneyimi		
Görevi	Kurum	Süre
Araştırma Görevlisi	Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2010-2014
Yabancı Dili	ÜDS	
İngilizce	72.5	

YAYINLAR

SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler

Celik EU, Yıldız G, Yazkan B. Clinical Evaluation of Enamel Microabrasion for the Aesthetic Management of Mild-to-Severe Dental Fluorosis, J Esthet Restor Dent. 2013 Dec;25(6):422-30.

Celik EU, Yıldız G, Yazkan B., Comparison of enamel microabrasion with a combined approach to the esthetic management of fluorosed teeth, Oper Dent. 2013 Sep-Oct;38(5):E134-43.

Diğer dergilerde yayınlanan makaleler

Ermis RB, Yildirim D, Yıldız G, Gormez O. Radiopacity evaluation of contemporary resin composites by digitization of images. 2014; 8(3): 342-347

Yildirim D, Ermis RB, Gormez O, Yıldız G. Comparison of radiopacities of different flowable resin composites. J Oral Maxillofac Radiol. 2014;2:21-25.

Yıldız G, Celik EU, A minimally invasive technique for the management of severely fluorosed teeth: A two-year follow-up., Eur J Dent. 2013;7(4):504-508.

Çelik EU, Yıldız G, Katırcı G. “Sklerotik dentine bağlanma” Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi, 2009; 30: 61-74

Hakemli konferans/sempozyumların bildiri kitaplarında yer alan yayınlar

Ermiş RB, Yıldız G. Dişhekimliği Pratiğinde Kolay, Hızlı ve Maliyetsiz Çürük Risk Değerlendirmesi: Olgu Sunumları. TDB 20. Uluslar arası Diş Hekimliği Kongresi, Kuşadası, 2014

Yıldız G, Ermiş RB. Koruyucu Diş Hekimliğinde Tükürük Aktivite Testleri. 17. Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalları Toplantısı, Kıbrıs, 2012

Ermif RB, Yıldız G. Çürük Riski Değerlendirme Yöntemlerinin Etkinliği: Çevresel Faktörler. 17. Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Daları Toplantısı, Kıbrıs, 2012.

Yıldız G, Çelik EU. Şiddetli florozisli dişlerin minimal invaziv yöntemle tedavisi: Vaka raporu. 18. Ege Bölgesi Dişhekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve Sergisi, İzmir, 2012.

Celik EU, Yıldız G, Yazkan B. Comparison of the microabrasion with a combined approach for aesthetic management of fluorosed teeth. Across European Borders 5th Conseuro Meeting, İstanbul, Turkey 2011.

Yazkan B, Yıldız G, Çelik EU, Esenlik E. “Ortodontik tedavi sonrası oluşan başlangıç çürük lezyonlarının mikro-invaziv yöntemle tedavisi: Olgu Sunumları” 15. Ege Bölgesi Dişhekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve Sergisi, Fethiye 2011.

Yıldız G, Yazkan B, Çelik EU, Türkün M. “Farklı ajanların devital dişlerin ağartılmasındaki etkinliklerinin değerlendirilmesi: Olgu sunumları” 15. Ege Bölgesi Dişhekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve Sergisi, Fethiye 2011

Yıldız G, Yazkan B, Çelik EU. Kompozit restorasyonlarla estetik düzenlemeler: Olgu sunumları. 13. Ege Bölgesi Dişhekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve Sergisi, Antalya, 2010.

Yazkan B, Yıldız G, Çelik EU. “Yaygın çürüklerin Equia sistemiyle restorasyonu: Vaka raporu” 13. Ege Bölgesi Dişhekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve Sergisi, Antalya, 2010.

Çelik EU, Yıldız G, Ermif RB. “Florozisli dişlerin mikroabrazyon ve muayenehane tipi ağartma yöntemi ile tedavisi: Vaka raporu” 12. Ege Bölgesi Dişhekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve Sergisi, İzmir 2009.

Ödüller

Poster Ödülü, 13. Ege Bölgesi Dişhekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve Sergisi, Antalya, 2010.

Burslar

Tübitak 1002 Hızlı Destek Programı "Erişkinlerde Antimikrobiyal Peptit DEFB1 ve Çürük Arasındaki İlişki" Proje no: 112S392, 2013

Ek 2. ETİK KURUL İZİNİ

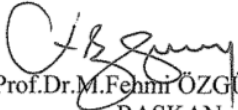
T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Etik Kurulu

Sayı : B.30.2.SDÜ.0.20.05.07-50 / 3932
Konu : Etik Kurul

04.10/2011

Sayın ; Prof.Dr.R.Banu ERMİŞ
Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Araştırma Yürütücüsü olduğunuz, “Erişkinlerde Genetik ve Çevresel Faktörlerin Çürük Deneyimi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi” adlı çalışma Kurulumuz tarafından 29.09.2011 tarih ve 03 sayılı toplantıda değerlendirilmiş olup, kurul kararı ekte sunulmuştur


Prof.Dr.M.Fehmi ÖZGÜNER
BAŞKAN

Ek: Kurul Kararı sureti (1 sayfa)

Telefon: (0246) 2113245
e-posta: tip@sdu.edu.tr

Faks: (0246) 2371165
Elektronik Ağ: www.sdu.edu.tr
SDÜ Tıp Fak. Dekanlığı Doğu Kampusu 32260 Çünür/İSPARTA

Bilgi için irtibat: İ.AYGÜL

S.D.Ü. TIP FAKÜLTESİ ETİK KURULU KARARLARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
29.09.2011	03	10

Fakülte Etik Kurulu 06 Eylül 2011 tarihinde Saat 10:30'da toplanarak aşağıdaki kararı almıştır.,

10- Üniversitemiz Dış Hekimliği Fakültesi Dış Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.R.Banu ERMİŞ'in Araştırma Yürütücüsü olduğu ve Yrd.Doç.Dr.Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU ile Araştırma Görevlisi Dr.Gül YILDIZ'ın araştırma yardımcısı oldukları "Erişkinlerde Genetik ve Çevresel Faktörlerin Çürük Deneyimi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi" adlı çalışma hk.

Üniversitemiz Dış Hekimliği Fakültesi Dış Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.R.Banu ERMİŞ'in Araştırma Yürütücüsü olduğu ve Yrd.Doç.Dr.Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU ile Araştırma Görevlisi Dr.Gül YILDIZ'ın araştırma yardımcısı oldukları "Erişkinlerde Genetik ve Çevresel Faktörlerin Çürük Deneyimi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi" adlı araştırma çalışması;

Etik Kurul tarafından uygun görülmüştür.

Prof.Dr.M.Fehmi ÖZGÜNER
BAŞKAN
(İMZA)

Prof.Dr. Fatih GÜLTEKİN
ÜYE
(İMZA)

Prof.Dr.Mustafa TÜZ
ÜYE
(İMZA)

Prof.Dr.Abdullah DOĞAN
ÜYE
(İMZA)

Prof.Dr.Hüseyin OKUTAN
ÜYE
(İMZA)

Doç.Dr.Metin TOPÇUOĞLU
ÜYE
(İMZA)

Doç.Dr.Mekin SEZİK
ÜYE
(İMZA)

Doç.Dr.Doğan ERDOĞAN
ÜYE
(İMZA)

Doç.Dr.Mustaf AKÇAM
ÜYE
(İMZA)

Yrd.Doç.Dr.Zeynep Dilek AYDIN
ÜYE
(İMZA)

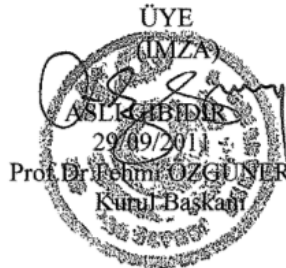
Yrd.Doç.Dr.Şükran ÖZKAHRAMAN
ÜYE
(İMZA)

Yrd.Doç.Dr.Müge AKSOY
ÜYE
(İMZA)

Yrd.Doç.Dr.Derya YILDIRIM
ÜYE
(İMZA)

Uzm.Dr.Halil AŞCI
ÜYE
(İMZA)

Uzm.Halil KARAKOÇ
ÜYE
(İMZA)



**Ek 3. SDÜ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU**

**SDÜ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK
KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU**

Sayın Katılımcı;

Bu katılacağınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı '*Erişkinlerde Genetik ve Çevresel Faktörlerin Çürük Deneyimi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi*'dir. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

- Bu araştırmanın amacı, genetik ve çevresel etkenlerin erişkin bireylerin çürük deneyimi üzerine etkilerini değerlendirmektir. Bu araştırmada yer almanız için bir defa gelmeniz, anket sorularını cevaplamanız ve tükürük örneği vermeniz yeterli olacaktır.
- Bu araştırmada sizin için beklenen yararlar; genetik ve çevresel etkenlerin çürük deneyiminize olan etkilerinin incelenebilecek olmasıdır.
- Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk ve zarar söz konusu değildir.
- Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için **0.246.211.8757** numaralı telefonda araştırmacı doktorunuz **Arş. Gör. Dt. Gül YILDIZ**'a başvurabilirsiniz.
- Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır. Ayrıca bu araştırma kapsamındaki bütün muayene ve testler için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma Süleyman Demirel Üniversitesi tarafından desteklenmektedir.
- Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz. Bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır.

- Araştırıcı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır, çalışmadan çekilmeniz veya araştırıcı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.
- Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayımlansa 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.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Araştırma hakkında bana sözlü ve yazılı açıklama yapıldı. Bilmek istediğim her Őeyi sordum. Bu araştırmaya, kendi rızamla, hiç baskı ve zorlama olmadan katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Telefon:

Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı: Gl YILDIZ

Görevi: Doktora ğrencisi

Adresi: Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı
ISPARTA

Telefon: (0246) 211 87 57

Faks: (0246) 237 06 07

Tarih ve İmza:

Ek 4. ANKET FORMU

Hasta Ad-Soyad:

1. Herhangi bir kronik/sistemik hastalığınız var mı?
2. Düzenli kullanılan ilaçlar?
3. Herhangi bir nedenle radyoterapi ya da kemoterapi gördünüz mü?.....
4. Ağızınızın sık kuruduğunu hissedip sıvı bir şey içme ihtiyacı duyuyor musunuz?.....
5. Teşhis edilmiş ağız kuruluğu şikayetiniz var mı?.....
6. Yiyecekleri çiğnerken zorlanıp, bu esnada sıvı alma ihtiyacı hissediyor musunuz?.....
7. Düzenli dişhekimine gider misiniz?

Hayır

Evet *Altı ayda bir* *Yılda bir kez*

8. Dişlerinizi günde kaç kez fırçalarsınız?

Gün aşırı *Günde 1 kez* *Günde 2 kez*

Günde 3 kez *Günde 3 kezden fazla*.....

9. Hangi diş macununu kullanıyorsunuz?.....

10. Diş ipi veya arayüz fırçası kullanıyormusunuz?

Hayır

Evet *Gün aşırı* *Günde 1 kez* *Günde 1 kezden fazla*.....

11. Koruyucu diş tedavisine yönelik herhangi bir uygulama yapıyor/yaptırıyor musunuz?

Hayır.....

Evet *Florürlü tablet*..... *Florürlü gargara*..... *Florürlü diş*

macunu..... *Florürlü jel* *Florürlü*

vernik..... *Muayenehanede hekim tarafından florür uygulaması*.....

12. Günde kaç öğün yemek yersiniz?.....

13. Günde kaç ara öğün bir şey yer veya içersiniz?.....

14. Günde kaç öğün şekerli yiyecek/içecek kullanırsınız?.....