

ŞADIYE MERVE ERİŞEN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2015

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

ORAL LİKEN PLANUS HASTALARINDA miRNA
EKSPRESYONLARINDAKİ DEĞİŞİMLERİN
İNCELENMESİ

ŞADIYE MERVE ERİŞEN

DANIŞMAN
PROF. DR. GÜLSÜM AK

AĞIZ, DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
AĞIZ, DIŞ VE ÇENE HASTALIKLARI PROGRAMI

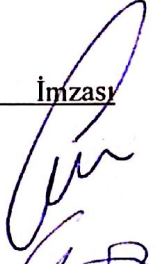

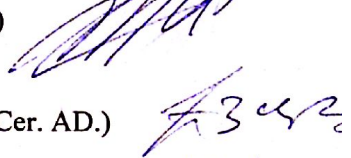
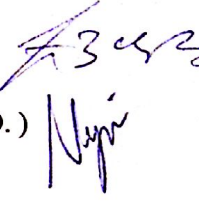
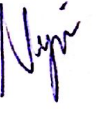
İSTANBUL-2015

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Ağız Hastalıkları Programında Şadiye Merve ERİŞEN tarafından hazırlanan Oral Liken Planus Hastalarında miRNA Ekspresyonlarındaki Değişimlerin İncelenmesi başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

15 / 05 / 2015

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof. Dr. Gülsüm Ak (İÜ. Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş, Çene Cer. AD.) (Tez Danışmanı)	
2.Prof. Dr. Uğur Özbek (İÜ. DETAE, Genetik AD.) (Tez İzleme Komitesi üyesi)	
3. Prof. Dr. Meral Ünür (İÜ. Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş, Çene Cer. AD.) (Tez İzleme Komitesi üyesi)	
4.Prof. Dr. Behçet Erol (İstanbul Aydın Üni. Diş Hekimliği F., Ağız, Diş, Çene Cer. AD.)	
5.Prof. Dr. Nergiz Yılmaz (Bezmi Alem Vakıf Ü. Diş Hekimliği F.,Ağız, Diş, Çene Cer. AD.)	

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 olmadığı beyan ederim.

Şadiye Merve ERİŞEN

İTHAF

Aileme ve sevdiklerime ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Doktora dönemimde her türlü bilgisini, deneyimini ve desteğini benimle paylaşarak mesleki ve akademik gelişimime katkıda bulunan, yakınlığını esirgemeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Gülsüm Ak'a,

Bu tezin yürütülmesinde bana bilgi ve deneyimiyle destek olan İ.Ü. DETAE Enstitü Müdürü Sayın Prof. Dr. Uğur Özbek'e,

Çalışmanın başından sonuna her aşamasında, özellikle moleküler genetik konusunda bilgi ve deneyimiyle bana destek olan, laboratuvar aşamalarında yardımını esirgemeyen, her sorumu bıkmadan yanıtlayan, her sorunumda bir çıkış yolu gösteren, değerli arkadaşım MSc. Özkan Özdemir'e,

Tez konusunun belirlenmesi aşamasında verdiği fikirle ufkumu açan Dr. Feyza Nur Tuncer'e; dokuların dondurulması ve saklanması aşamasında benden yardımını esirgemeyen Biyolog Suzin Çatal Tatonyan'a,

Mesleki gelişimime katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Meral Ünür, Sayın Prof. Dr. Hakkı Tanyeri'ye,

Benden bilgi, yardım ve sıcaklıklarını esirgemeyen, Sayın Doç. Dr. Kıvanç Bektaş Kayhan ve Sayın Dr. Esmâ Kürklü'ye,

Tezin yazım aşamasında eleştiri ve önerileriyle bana yol gösteren Dr. Esra Alpkılıç Başkırt'a,

Bilgi ve deneyimiyle her zaman bana yol gösteren hocam ve babam Sayın Prof. Dr. Raif Erişen'e,

Maddi ve manevi tüm imkanlarıyla her zaman yanımda olan, her kararımda sonsuz destekleriyle beni bu günlere taşıyan annem Nerimen Öğüt ve babam Zeki Öğüt'e; üzerimdeki tüm emeklerinden dolayı ağabeyim Oğuzhan Öğüt'e ve tatlı eşi, biricik ablam Nükhet Öğüt'e,

Sadece varlığıyla huzur ve mutluluk kaynağım olabilen, doktora sürecimdeki tüm sıkıntılara benimle birlikte göğüs geren, sabır gösteren ve bana destek olan, biricik hayat arkadaşım Ahmet Erişen'e teşekkür ederim...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 27707

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Oral Mukozanın Potansiyel Malign Bozuklukları	3
2.1.1. Lökoplaki	3
2.1.2. Eritroplaki	4
2.1.3. Ters Sigara İçimine Bağlı Gelişen Damak Lezyonları	5
2.1.4. Oral Submukoz Fibrozis (OSF)	5
2.1.5. Aktinik Keratoz.....	6
2.1.6. Diskoid Lupus Eritematosus (DLE).....	6
2.1.7. Oral Liken Planus	6
2.2. OLP'nin Kliniği	6
2.2.1. OLP'nin Prevalansı	6
2.2.2. OLP'nin Klinik Görünümü	7
2.2.3. Tanı	10
2.2.4. Histopatoloji.....	10
2.2.5. Tedavi	11
2.2.5.1. Topikal Tedavi	12
2.2.5.2. Sistemik Tedavi.....	12
2.2.6. OLP'nin Malign Değişim Riski	13
2.3. OLP ve Otoimmünite.....	14

2.3.1. Doğal ve Edinsel İmmün Sistem.....	14
2.3.1.1. Doğal İmmün Sistem	14
2.3.1.2. Edinsel İmmün Sistem	14
2.3.1.3. İmmün Sistemin Habercileri: Sitokinler	16
2.3.1.4. İmmün Bellek Oluşumu	17
2.3.2. İmmünolojik Tolerans ve Otoimmünite.....	17
2.4. OLP'nin Moleküler Etiyopatogenezi.....	18
2.4.1. OLP'nin İmmünopatogenezi.....	18
2.4.1.1. Non-Spesifik Mekanizmalar	18
2.4.1.2. OLP'de Antijene Özgülük	19
2.4.1.3. OLP'nin HLA Antijenleriyle İlişkisi	20
2.5. OLP ve Biyobelirteçler	21
2.6. miRNA ve OLP İlişkisi.....	22
2.7. miRNA'ların Moleküler Biyolojisi.....	23
2.7.1. miRNA'ların İmmünolojik Etkileri	25
2.7.2. miRNA Profillendirme.....	26
2.7.2.1. Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR (GZ-PZR).....	28
2.8. Biyoformatik Araçlar	28
2.8.1. miRWalk	29
2.8.2. GeneDistiller	30
2.8.3. OMIM®	31
2.8.4. HomoloGene	31
2.8.5. NCBI/Gene	31
2.9. <i>miR-27b</i> ve Hedef Genler	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1. Kullanılan Materyal	36
3.1.1. Çalışma Grubu	36
3.1.2. Kontrol Grubu	37
3.2. Yöntem.....	37
3.2.1. <i>miR-27b</i> 'nin Hedef Aldığı Genlerin Belirlenmesi	37
3.2.2. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	38
3.2.3. Dokuların Homojenizasyonu ve RNA İzolasyonu	39
3.2.4. RNA Kalite ve Kantite Tayini	39

3.2.5. cDNA Sentezi	40
3.2.6. Primer ve Prob Dizayını.....	41
3.2.7. Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR (GZ-PZR)	44
3.2.8. Verilerin Normalizasyonu ve Kullanılan İstatistiksel Yöntemler.....	45
4. BULGULAR.....	46
4.1. Klinik Bulgular	46
4.1.1. Çalışma Grubu	46
4.1.2. Kontrol Grubu	51
4.2. Moleküler Bulgular	52
4.2.1. RNA Kalite Tayini	52
4.2.2. Çalışma ve Kontrol Grubu Arasındaki <i>miR-27b</i> Sonuçlarının Karşılaştırılması	56
4.2.3. <i>miR-27b</i> 'nin Hedef Aldığı Öngörülen Genler Arasındaki Sonuçlar.....	57
4.2.4. <i>miR-27b</i> 'nin Hedef Aldığı Bilinen Genler Arasındaki Sonuçlar	59
4.2.5. Klinik Özellikere Göre İstatistiksel Karşılaştırma	62
5. TARTIŞMA	75
FORMLAR	93
ETİK KURUL KARARI	100
ÖZGEÇMİŞ	103

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: miR-27b'nin özellikleri	32
Tablo 2-2: <i>miR-27b</i> 'nin hedef aldığı genler ve özellikleri	32
Tablo 2-3: <i>miR-27b</i> 'nin hedef aldığı genlere ait transkript varyantları.....	33
Tablo 3-1: RT-PZR yöntemlerine ait protokoller'	41
Tablo 3-2: Hedef genlere ait GZ-PZR primer dizileri ve UPL prob numaraları	42
Tablo 3-3: <i>ABL</i> 'ye ait GZ-PZR primer dizileri ve UPL prob numarası	43
Tablo 3-4: <i>miR-27b</i> 'ye ait GZ-PZR primerleri, UPL prob numarası ve Stem-loop PZR primer dizisi	43
Tablo 3-5: <i>SNORD24</i> 'e ait GZ-PZR primerleri, UPL prob numarası ve Stem-loop PZR primer dizisi	43
Tablo 3-6: GZ-PZR'de kullanılan karışım	44
Tablo 3-7: GZ-PZR için kullanılan program.	45
Tablo 4-1: Çalışma grubu takip formundan elde edilen veriler.....	48
Tablo 4-2: OLP lezyonlarının klinik görünümü	51
Tablo 4-3: Çalışma grubundan elde edilen miRNA kalite ve kantite bilgileri.....	53
Tablo 4-4: Kontrol grubundan elde edilen miRNA kalite ve kantite bilgileri.....	55
Tablo 4-5: <i>miR-27b</i> için çalışma ve kontrol gruplarının <i>MWU</i> testi sonuçları ve istatistiki değerleri	57
Tablo 4-6: <i>CD28</i> için çalışma ve kontrol gruplarının <i>MWU</i> testi sonuçları ve istatistiki değerleri	58
Tablo 4-7: <i>IL6-R</i> için çalışma ve kontrol gruplarının <i>MWU</i> testi sonuçları ve istatistiki değerleri	59
Tablo 4-8: <i>TNFα</i> için çalışma ve kontrol gruplarının <i>MWU</i> testi sonuçları ve istatistiki değerleri	60
Tablo 4-9: <i>TGFβ</i> için çalışma ve kontrol gruplarının <i>MWU</i> testi sonuçları ve istatistiki değerleri	61
Tablo 4-10: <i>IL1-β</i> için çalışma ve kontrol gruplarının <i>MWU</i> testi sonuçları ve istatistiki değerleri	62

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Retiküler OLP	8
Şekil 2-2: Atrofik OLP	8
Şekil 2-3: Ülseratif OLP	9
Şekil 2-4: miRNA biyogenezi	24
Şekil 2-5: Kantitatif revers transkriptaz PZR	27
Şekil 2-6: miRWalk algoritması ve otomatik metin madenciliği modülü akış şeması...	30
Şekil 3-1: Veri tabanlarından <i>miR-27b</i> 'nin hedef genlerinin belirlenmesi	38
Şekil 4-1: Çalışma ve kontrol grubunda <i>miR-27b</i> 'nin dağılım grafiği	57
Şekil 4-2: Çalışma ve kontrol grubunda <i>CD28</i> 'in dağılım grafiği	58
Şekil 4-3: Çalışma ve kontrol grubunda <i>IL6-R</i> 'nin dağılım grafiği.....	59
Şekil 4-4: Çalışma ve kontrol grubunda <i>TNFα</i> 'nin dağılım grafiği.....	60
Şekil 4-5: Çalışma ve kontrol grubunda <i>TGFβ</i> 'nin dağılım grafiği.....	61
Şekil 4-6: Çalışma ve kontrol grubunda <i>IL1-β</i> 'nin dağılım grafiği.....	62
Şekil 4-7: Kadın ve erkekler arasında <i>miR-27b</i> ve hedef gen ekspresyon dağılımları...	63
Şekil 4-8: 53 yaş ve üstü ile 53 yaş altındaki bireylerin oluşturdukları grupların <i>miR-27b</i> ve hedef gen ekspresyon dağılımları	64
Şekil 4-9: Sistemik hastalığı olan ve olmayan grupların <i>miR-27b</i> ve hedef gen ekspresyon dağılımları.....	65
Şekil 4-10: Sistemik ilaç kullanan ve kullanmayan grupların <i>miR-27b</i> ve hedef gen ekspresyon dağılımları.....	66
Şekil 4-11: Hematolojik eksikliği olan ve olmayan grupların <i>miR-27b</i> ve hedef gen ekspresyon dağılımları.....	67
Şekil 4-12: Sigara kullanan ve kullanmayan grupların <i>miR-27b</i> ve hedef gen ekspresyon dağılımları.....	68
Şekil 4-13: Alkol tüketen ve tüketmeyen grupların <i>miR-27b</i> ve hedef gen ekspresyon dağılımları.....	69
Şekil 4-14: Dental materyallere karşı alerjisi olan ve olmayan grupların <i>miR-27b</i> ve hedef gen ekspresyon dağılımları	70
Şekil 4-15: Dental protez ve/veya restorasyonu olan ve olmayan grupların <i>miR-27b</i> ve hedef gen ekspresyon dağılımları	71

Şekil 4-16: Lezyonda <i>C. albicans</i> üreyen ve üremeyen grupların <i>miR-27b</i> ve hedef gen ekspresyon dağılımları.....	72
Şekil 4-17: OLP lezyonu tek anatomik bölgede lokalize olan ve daha yaygın yerleşimli lezyonları olan bireylerin oluşturduğu grupların <i>miR-27b</i> ve hedef gen ekspresyon dağılımları.....	73
Şekil 4-18: Retiküler ve atrofik/ülseratif OLP görülen grupların <i>miR-27b</i> ve hedef gen ekspresyon dağılımları.....	74

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

cDNA: Komplementer deoksiribonükleik asit

DNA: Deoksiribonükleik asit

IL: İnterlökin

MHC: Majör histokompatibilite kompleksi

MMP-9: Matriks metalloproteinaz-9

mRNA: Messenger ribonükleik asit

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

RNA: Ribonükleik asit

ÖZET

Erişen ŞM. Oral Liken Planus Hastalarında miRNA Ekspresyonlarındaki Değişimlerin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2015.

Oral liken planus (OLP), Dünya Sağlık Örgütü tarafından potansiyel malign bir bozukluk olarak tanımlanan mukokütanöz kronik enflamatuvar bir hastalıktır. OLP'nin patogenezi bilinmemekle birlikte bazı çalışmalar, CD8⁺ T hücrelerinin epitelyal hücreleri hedef alması sonucu ortaya çıkan bir otoimmün hastalık olduğunu ortaya koyar. mikroRNA (miRNA) 18-24 nükleotid uzunluğunda, tek iplikli, protein kodlamayan bir RNA çeşididir. Pek çok hücrel yolakta rol alan miRNA'lar bir çok hastalığın süreciyle de ilişkilendirilmişlerdir. miR-27b bazal keratinosit tabakada eksprese olduğu bilinen miRNA'dır. Enflamatuvar yolak düşünüldüğünde OLP hastalarında düşük ekspresyonu olduğu gösterilmiş olan miR-27b'nin düzenlediği enflamasyonla ilgili genlerin ekspresyon durumlarının OLP hastalarında araştırılması gereği ortaya çıkmıştır.

OLP hastalarında miRNA ve/veya miRNA'lar tarafından hedef alınan genlerin ekspresyonlarında meydana gelen değişimlerinin saptanması OLP'nin halen kesin olarak bilinmeyen etiopatogenezinin anlaşılmasına ışık tutacak veriler elde edilmesi ve tanıda kullanılacak yeni biyobelirteç/biyobelirteçler saptayabilmek açısından önem taşımaktadır.

Bu çalışmada OLP hastalarının doku örneklerindeki miR-27b ve miR-27b'nin hedef aldığı genlerin (IL6-R, CD28, TGF-beta, IL1-beta, TNF-alfa) ekspresyon düzeyleri GZ-PZR yöntemiyle saptanarak kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. OLP hastalarında miR-27b ekspresyonu kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunurken (p=0,0028) hedef aldığı genlerden IL6-R (p<0,0001), CD28 (p<0,0001), TGFβ (p=0,0010), TNFα (p<0,0001) ekspresyonları anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. IL1-β (p=0,2622) ekspresyonunda anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler : miRNA, mikroRNA, oral liken planus, miR-27b, otoimmünite

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 27707

ABSTRACT

Erisen SM. Assesment of miRNA alterations in oral lichen planus patients. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Oral Surgery. Istanbul. 2015.

Oral lichen planus (OLP) is a chronic inflammatory mucocutaneous disease and classified as a potentially malignant disorder by the World Health Organization. Although the etiology and mechanisms of OLP pathogenesis have not been completely discovered, evidence indicates that OLP is an autoimmune disease mediated by cytotoxic T cells targeting epithelial cells. MicroRNAs (miRNAs) are a family of approximately 18-24 nucleotide-long non-coding single-stranded RNA molecules. They regulate gene expression at posttranscriptional level by degrading or blocking the translation of messenger RNA, which plays critical roles in the control of cell division, proliferation, differentiation and death.

The purpose of this study is to investigate the expression of *mir-27b* and the target genes of miR-27b (IL6-R, CD28, TGF-beta, IL1-beta, TNF-alpha) in OLP comparing to healthy oral mucosa samples. Detection of the alterations of miRNA and its target genes expressions has a crucial role to understand the etiopathogenesis of OLP that still remains unclear, and to obtain data leads to develop novel and effective treatment methods. Besides it's also essential to find new biomarker/biomarkers for diagnosis of OLP.

In this study, miR-27b and target gene expression was analyzed by using RT-qPCR. miR-27b expression was found significantly down-regulated in OLP comparing to healthy mucosa ($p=0,0028$). The expressions of IL6-R ($p<0,0001$), CD28 ($p<0,0001$), TGF-beta ($p=0,0010$), TNF-alpha ($p<0,0001$) were found up-regulated in OLP lesions, besides IL1-beta ($p=0,2622$) expression was not altered.

Key Words: miRNA, microRNA, oral lichen planus, miR-27b, autoimmunity

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 27707

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Oral liken planus (OLP) mukokütanöz kronik enflamatuvar bir hastalıktır¹. Dünya Sağlık Örgütü tarafından potansiyel malign bir bozukluk olarak tanımlanan OLP, nüfusun %1-2'sini etkiler; kadınlarda ve orta yaş üstü bireylerde daha sık rastlanır^{2,3}. OLP'nin klinik görünümünü beyaz ağsı çizgiler (Wickham çizgileri), papüller, plaklar ve atrofik (eritematöz), ülseratif, büllöz lezyonlar oluşturabilir³. Atrofik, eroziv ve eritematöz lezyonlarının malign transformasyon riski taşıdığı bildirilmiştir^{2,4}.

Son yıllarda teknolojiye yaşanan gelişmeler sonucu DNA ve RNA'ya ait bilinmeyenler ortaya çıkmaya başlamıştır. Buna göre genomik DNA üzerinde protein kodlamayan, fakat genlerin ekspresyon düzeylerine etki eden genler olduğu bilinmektedir. Bu genlerden biri de RNA interferans mekanizmasıyla iş gören miRNA'lardır.

miRNA, saç tokası yapısı içeren en az 60-70 bç'lik transkriptler halinde sentezlenen ve gen regülasyonunda rol oynadığı düşünülen bir RNA çeşididir.

miR-27b keratinosit tabakada eksprese olduğu bilinen *miR-23* ve *miR-24* ile birlikte aktivite gösteren bir miRNA'dır. Zhang ve ark.² (2012), OLP hastaları ve sağlıklı kontrollerde yaptıkları miRNA profilendirme çalışmasında, kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde en az iki kat değişim gösteren 46 adet miRNA tespit etmişlerdir. Bununla birlikte devamında yaptıkları ileri analizlerde ise *miR-27b*'nin ekspresyonunun OLP grubunda dikkat çekici şekilde düşük olduğunu bulmuşlardır ve *miR-27b*'yi olası prognostik biyobelirteç olarak önermişlerdir.

Enflamatuvar yolak düşünüldüğünde OLP hastalarında düşük ekspresyonu olduğu gösterilen *miR-27b*'nin düzenlediği enflamasyonla ilgili genlerin ekspresyon durumlarının OLP hastalarında araştırılması gereği ortaya çıkmıştır.

Bu çalışmada, OLP hastalarının doku örneklerindeki *miR-27b* ve *miR-27b*'nin hedef aldığı genlerin (*IL6-R*, *CD28*, *TGFβ*, *IL1-β*, *TNFα*) ekspresyon düzeyleri kontrollerle karşılaştırılacak, ekspresyon düzeylerindeki olası değişimler uygun istatistiksel yöntemler kullanılarak incelenecektir. OLP hastalarında miRNA ve miRNA'lar tarafından hedef alınan genlerin ekspresyon değişimlerinin saptanması, OLP'nin halen kesin olarak açıklanamayan etiopatogenezinin anlaşılmasına, yeni ve etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine ışık tutacak veriler elde edebilmek; bunun

yanında tanıda kullanılacak yeni biyobelirteç/biyobelirteçler saptayabilmek açısından önem taşımaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Oral Mukozanın Potansiyel Malign Bozuklukları

Uluslararası literatürde kansere dönüşüm potansiyeli taşıyan klinik tabloları kapsamlı bir biçimde tanımlayabilmek amacıyla “pre-kanseröz”, “prekürsör”, “prealign”, “intra-epitelyal neoplazi” ve “potansiyel malign terimleri” kullanılmıştır. 2007 yılında İngiltere’de yer alan Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Oral Kanser ve Prekanser Ortak Çalışma Merkezi yönetimindeki bir çalışma grubu oral prekanserin terminolojisi, tanımı ve sınıflandırılmasını içeren konuları tartışmışlar ve “potansiyel malign bozukluklar” teriminin kullanılmasını önermişlerdir⁵.

DSÖ 1978’de yaptığı sınıflandırmada Prekanseröz lezyon ve durumları birbirinden ayırmıştır⁶. Prekanseröz lezyonlarla, malignitenin ilk ortaya çıktığı bölge ilişkiliyken; prekanseröz durumlarda ağız veya farenksin her hangi bir bölgesinde, lezyondan uzak, normal görünümlü mukozada da kanser gelişimi gözlemlenebilmektedir. 2007’de önerilen “potansiyel malign bozukluk” ifadesi prekanseröz lezyonları alt sınıflara ayırmadan, kansere dönüşüm riski taşıyan tüm lezyonları tanımlar⁵.

DSÖ’nün Prekanseröz lezyonlar ve durumların sınıflandırması⁶:

Prekanseröz lezyonlar

- Lökoplaki
- Eritroplaki
- Ters sigara içimine bağlı gelişen damak lezyonları
- Submukoz fibrozis

Prekanseröz durumlar

- Aktinik keratoz
- Liken Planus
- Diskoid Lupus Eritematosus

2.1.1. Lökoplaki

DSÖ lökoplakiyi tanısı koyulan diğer hastalıklar ve kanser riski taşımayan bozuklukların dışında kalan beyaz lezyonlar olarak tanımlar. DSÖ’nün 1978’de yaptığı

bu tanımlama günümüzde halen kabul görmektedir^{5,6}. Bununla birlikte lökoplaki özgün bir histolojik özellik taşımayan klinik bir terimdir. Atrofi veya hiperplazi görülebileceği gibi epitelyal displazi de görülebilir⁵.

Lökoplakiler, mukoza yüzey rengi ve morfolojik karakteri (kalınlık) temel alınarak, klinik görünümüne göre homojen ve homojen olmayan olarak iki tipe ayrılır. Homojen lezyonlar; yassı üniform ve incedir, yüzey keratininde sığ çatlaklar gözlemlenir. Bu tipin malign transformasyon riski düşüktür. Homojen olmayan lökoplakiler kendi içlerinde benekli, nodüler, verrüköz olarak adlandırılan klinik varyasyonlar gösterebilir ve homojen lökoplakilere göre malign dönüşüm riskleri çok daha yüksektir. Kırmızı ve beyaz lezyonların bir arada görüldüğü eritrolökoplaki olarak adlandırılan lezyonlar ise kansere dönüşüm açısından en riskli lezyonlar olarak değerlendirilmelidir⁵.

Klinik muayenede oral mukozanın başka bir hastalığı ya da bozukluğu ile açıklanamayan beyaz lezyonlara lökoplaki ön tanısı koyulur. Lökoplakinin kesin tanısı tütün veya areca nut çiğneme alışkanlığı haricindeki etiyolojik faktörlerin elimine edilmesiyle ve histopatolojik incelemede başka bir durumun, bozukluğun ya da hastalığın varlığı doğrulanmadığı durumda koyulur⁵. Histopatolojik inceleme, kesin tanıya yardımcı olmasının yanı sıra, olası malignite varlığının değerlendirilmesi için mutlaka yapılmalıdır⁷.

Lökoplakinin tedavisi için kesin bir fikir birliği yoktur. Malign dönüşüm, lezyonların dışında kalan alanlarda da ortaya çıkabilmekte ve bu nedenle lezyonların cerrahi tedavisi malign dönüşümü engelleyememektedir. Lökoplaki için genel takip önerisi ilk yıl için, cerrahi eksizyon uygulanmış olsun ya da olmasın, her 3 ayda bir muayenedir. Lezyon tekrar etmez ya da reaksiyon paterninde değişiklik olmazsa, kontrol aralıkları 6 ayda bir çıkarılır. Yeni klinik özellikler gözlemlendiği takdirde histopatolojik inceleme yapılmalıdır. 5 yıllık takip sonunda lezyon tekrar etmemişse, hastanın kendi kendine yapacağı muayene yeterli olacaktır⁷.

2.1.2. Eritroplaki

DSÖ eritroplakiyi “klinik ya da patolojik olarak başka bir hastalıkla tanımlanamayan parlak kırmızı, kadifemsi plaklar” olarak tanımlamıştır⁶. Bazı dermatozlar, lokal enfeksiyona bağlı enflamatuvar tablolar, protezlere bağlı subakut ya da kronik stomatitler, tüberküloz, fungal enfeksiyonlar gibi durumlar da oral mukozada

kırmızı alanlar olarak gözlemlenir. Bazı kırmızı alanlar skuamoz hücreli karsinom belirtisi de olabilmektedir. Bunların dışında kalan kırmızı lezyonlar, eritroplaki olarak adlandırılır. Klinik olarak parlak kırmızı kadifemsi görüntüdedir, yüzeyi nodülerdir ve kırmızı arka plan üzerinde sarı-beyaz noktalar gözlemlenebilir, sınırları belirgin ancak düzensizdir. Lökoplakinin beyaz lezyonlarıyla birlikte görülebilir. Mikroskopik olarak epitelyal atrofi ve çeşitli derecelerde displazi gözlemlenir⁶. Malign dönüşüm potansiyeli en yüksek olan oral mukozal lezyon olarak kabul edilir⁵.

2.1.3. Ters Sigara İçimine Bağlı Gelişen Damak Lezyonları

Yanan ucu ağız içinde olacak şekilde sigara ya da puro içen topluluklara özgü bir bozukluktur. Damakta kırmızı, beyaz ya da karışık renkli lezyonlara yol açar. Ters sigara içme alışkanlığı bilinen toplum ya da bireylerde tanı koymak kolaydır. Bu alışkanlığa bağlı tüm lezyonların damakta görüldüğü bildirilmiştir⁵.

2.1.4. Oral Submukoz Fibrozis (OSF)

OSF oral mukozayı, farenksi ve özofagusun üstten üçte ikisini etkileyebilmektedir. OSF'nin etiolojisinde areca nut çiğneme alışkanlığının kritik bir öneme sahip olduğunu destekleyen kanıtlar mevcuttur⁷. Hastalığın klinik görüntüsü lamina propria ve submukozanın fibrozisine bağlı doku hareketliliğindeki azalma ile karakterizedir⁵. Hastalık ilerledikçe atrofik epitelin altında oluşan fibrotik bantlar konuşmayı, dil hareketlerini ve ağız açma becerisini olumsuz etkiler⁷. Tanı, hastanın OSF'nin klinik karakteristik özelliklerini taşıması ve areca nut çiğneme alışkanlığına dayanarak yapılır. Uluslararası konsensusa göre aşağıdaki özelliklerden en az birinin görülmesi gereklidir⁷:

- Palpe edilebilir fibröz bant varlığı,
- Sert ve kösele hissi veren mukoza dokusu,
- OSF ile uyumlu histopatolojik özelliklerle (atrofik epitel, retepeglerde kayıp ve lamina proprianın jukstaepitelyal hiyalinizasyonu) beraber görülen beyazlamış mukoza.

OSF'nin malign dönüşüm oranı yaklaşık %7 ila 13 arasında değişir, 10 yıllık periyotta insidansı yaklaşık %8 olarak bildirilmiştir⁷.

2.1.5. Aktinik Keratoz

Aktinik keratoz, dudanın potansiyel malign lezyonu olarak kabul edilir. Dudak vermilyonunun skuamoz epiteli hiperplastik ya da atrofik olabilir. Mikroskopik incelemede düzensiz bir maturasyon, çeşitli derecelerde keratinizasyon, sitolojik atipi ve artmış mitotik aktivite gösterir⁵. Alttaki bağ dokusunda genellikle kolajenin bazofilik dejenerasyonu ve elastoz gözlemlenir^{5,6}. Ön tanı klinik muayene ile konabilir, ancak kesin tanı için histopatolojik inceleme gereklidir⁵.

2.1.6. Diskoid Lupus Eritematosus (DLE)

DLE etiyojisi bilinmeyen kronik bir otoimmün hastalıktır. Bazen klinik olarak liken planus ve eritroplakiden ayırt etmek zordur. DLE'nin potansiyel malign bir bozukluk olduğunu kabule dair literatürde çelişkili veriler mevcuttur. Oral mukozadansa dudakların DLE'den etkilendiği durumlarda malign dönüşüm rapor edilmiştir⁵.

2.1.7. Oral Liken Planus

İlk kez Erasmus Wilson isimli İngiliz bir doktor tarafından 1869'da tanımlanmış olan liken planus (LP) cilt, saçlı deri, tırnaklar, mukoz membranlar (özellikle ağız mukozası) ve genital organları etkileyebilen kronik enflamatuvar bir hastalıktır^{8,9}. LP ağız içinde tutulum gösteriyorsa oral liken planus (OLP) olarak adlandırılır. Cilt tutulumlu (kütanöz) LP ve OLP aynı anda ortaya çıkabileceği gibi bazı vakalarda tek başına da görülebilir. Cilt lezyonları bulunan LP hastalarının %50'sinde ağız lezyonlarının da bulunduğu tahmin edilmektedir⁹. LP olgularının büyük çoğunluğunda cilt lezyonları kendini sınırlama özelliği taşır, ancak OLP lezyonları çok nadiren spontan gerileme gösterir ve cilt lezyonlarının aksine malign dönüşüm riski taşır (%0-5,3)³.

2.2. OLP'nin Kliniği

2.2.1. OLP'nin Prevalansı

Potansiyel malign bozuklukların prevalans değerleri çalışılan popülasyona, seçim kriterine, veri toplama metoduna göre çeşitlilik gösterebilmekle birlikte en iyi hesaplanmış global prevalans değerinin %2-3 arasında olduğu düşünülmektedir¹⁰. Potansiyel malign bozukluklar arasında yer alan OLP'nin toplumda görülme sıklığı Axell ve Rundquist¹¹ (1987) tarafından %1,9 olarak bildirmiştir. Daha güncel bir çalışmada McCartan ve Healy¹² (2008) dünya çapında yayınlanmış 45 makalenin

prevalans verilerini değerlendirerek OLP için global prevalans değerini %1,27 (erkek: %0,96; kadın: %1,57) olarak hesaplamışlardır. OLP'nin Türk popülasyonundaki prevalansı ise Mumcu ve ark.¹³ tarafından 2005 yılında %0,5 (erkek: %0,5; kadın: %0,5), Cebeci ve ark.¹⁴ tarafından 2009 yılında %0,8 olarak bildirilmiştir. Enfeksiyöz olmayan oral mukozal hastalıklar arasında prevalansı en yüksek olan hastalık OLP'dir^{15,16,17}. OLP, orta yaş ve üstünü etkileyen bir hastalıktır; çocuklarda oldukça nadir (%0.03) görülür ve literatürde bildirilmiş az sayıda olgu mevcuttur^{15,18,19}.

2.2.2. OLP'nin Klinik Görünümü

Cilt lezyonları bulunan LP hastalarının 1/3'ünde ağız mukozasında da lezyonlar mevcuttur. İlk LP lezyonları ağız mukozasında ortaya çıkan hastalarda bu lezyonları takiben ciltte lezyon görülme sıklığı %15 olarak bildirilmiştir^{16,20}.

OLP lezyonları belirgin bir klinik görünüm sergileyen, oral mukozada karakteristik yerleşim gösteren ve genellikle kolay tanınabilen lezyonlardır. Üç temel klinik tipte sınıflandırılırlar¹⁶: Retiküler, atrofik (eritematöz) ve ülseratif (eroziv, büllöz). OLP'nin farklı klinik tiplerde ortaya çıkması subepitelyal enflamasyonun şiddeti ile açıklanmaktadır. Hafif enflamasyon hiperkeratoza yol açarken, yoğun enflamasyon epitelde bozulmaya sebep olur ve histopatolojik olarak atrofi, erozyon veya ülserasyon olarak gözlemlenir²¹.

OLP'nin en sık karşılaşılan tipi olan retiküler OLP'nin lezyonları Wickham çizgileri olarak adlandırılan hiperkeratotik beyaz çizgilerden oluşan ağlar, papüller ve plaklardan oluşabilir. Wickham çizgilerinin varlığı OLP için karakteristiktir (Şekil 2-1). Retiküler OLP oral mukozanın tüm bölgelerinde yerleşim gösterebilmekle beraber, her iki yanak mukozasında sıklıkla, dudak mukozasında ise nadiren gözlemlenir^{7,22}. Retiküler OLP'nin diğer görüldüğü bölgeler arasında dil sırtı ve laterali, diş eti, damak ve vermillion kenarı sayılabilir. Retiküler OLP genellikle asemptomatiktir ve tedaviye gerek yoktur. Eğer ağrı belirtisi varsa hasta kandida enfeksiyonu açısından incelenmelidir⁸.



Şekil 2-1: Retiküler OLP

Atrofik (eritematöz) OLP homojen kırmızı alanlarla karakterizedir. Genellikle bukkal mukozada yerleşmiş eritematöz lezyonların periferinde OLP'ye özgü beyaz çizgiler gözlenir. Yapışık diş etini tutan atrofik OLP'ye beyaz çizgi ya da plaklar eşlik etmiyorsa ortaya çıkan görüntü deskuamatif gingivitis olarak adlandırılır (Şekil 2-2). Böyle bir durumda sadece klinik görünümünden yola çıkarak tanı koymak mümkün değildir ve histopatolojik inceleme yapılması şarttır⁷.



Şekil 2-2: Atrofik OLP

Ülseratif lezyonların klinik görüntüsünü fibrin kaplı ülserler ve bu ülserlerin etrafını saran eritematöz alan ve perifere uzanan beyaz çizgiler oluşturur (Şekil 2-3). Bu

görünüm subepitelyal enflamasyonun lezyonun merkezinde yoğunlaşan ve periferde doğru azalan şiddetinin göstergesidir⁷.



Şekil 2-3: Ülseratif OLP

OLP hastalarının üçte ikisi rahatsızlık hissinden şikayetçidirler. Semptomatik OLP'lerin çoğunluğunda atrofik (eritematöz) ya da ülseratif (eroziv) lezyonlar mevcuttur. Belirtiler hafif mukozal hassasiyetten, devamlı ve kısıtlayıcı ağrıya uzanan bir çeşitlilik gösterir. OLP lezyonları genellikle birbirini takip eden alevlenme ve gerileme dönemleri ile uzun yıllar devamlılık gösterirler. Alevlenme döneminde ağrı ve hassasiyetin eşlik ettiği eritem veya ülserasyon artarken; gerileme döneminde eritem veya ülserasyonla birlikte şikayetler de azalır. Soluk beyaz çizgiler, papül veya plakların görüldüğü semptomsuz gerileme döneminde hasta hastalığın farkında değildir. Semptomsuz OLP bağışıklık sistemi dengesizliğine yol açabilecek herhangi bir durumu (psikolojik stres, sinirlilik vb.) takiben alevlenebilir⁷.

OLP'nin tek belirtisi retiküler lezyonlar olabilir; bununla birlikte hemen hemen tüm eritematöz lezyonlar retiküler lezyonlarla beraber; eroziv lezyonlarsa eritematöz ve retiküler lezyonlarla birlikte ortaya çıkarlar. Bu durum OLP'yi pemfigus veya pemfigoid gibi eritem ve erozyonların tek başına gözlemlendiği diğer vezikülo-eroziv hastalıklardan ayırt etmeye yardımcı olur⁷.

2.2.3. Tanı

OLP'nin karakteristik klinik görünümü doğru tanı koymak için yeterli olabilir. Ancak sorunlu vakalarda tanıyı desteklemesi veya tanı koymaya yardımcı olması ve malign bir hastalık olmadığından emin olmak amacıyla histopatolojik ve immunofloresan incelemelere baş vurulmalıdır⁷.

Sadece gingiva yerleşimli OLP lezyonlarının teşhisi özellikle zordur. Gingival OLP'nin özellikle plak görünümündeki keratotik lezyonları keratoz veya lökoplazi ile karıştırılabilir. Deskuamatif gingivitis görünümündeki lezyonların tanısı ise çoğu zaman daha zordur. Çoğu olguların nedeni OLP olmakla birlikte tanıda pemfigoid, pemfigus, dermatitis herpetiformis, lineer IgA hastalığı, lupus eritematosus ve diğer hastalıklar bertaraf edilmelidir. Alerjik reaksiyonlar veya diğer anormal yanıtlar ve kandidiyazis gibi kronik enfeksiyonların da benzer klinik görüntüye yol açabileceği tanı aşamasında göz önünde bulundurulmalıdır⁷. Bu nedenle kesin teşhis için histopatolojik inceleme gereklidir ve immünofloresan inceleme benzer hastalıkları birbirlerinden ayırt etmek için faydalı olabilir⁷.

2.2.4. Histopatoloji

OLP'nin klasik histopatolojik görüntüsünü oluşturan özellikler şu şekilde sıralanabilir:

- Bazal hücre tabakasında keratinosit apoptozunun eşlik ettiği sıvılaşma (likefaksiyon) dejenerasyonu²³
- Epitel ve bağ dokusu arasında yoğun bant şeklinde lenfosit infiltrasyonu²³
- Odaksal hiperkeratinize ve retepeglerin kısalarak testere dişi görünümünü aldığı atrofik epitel alanlar²³
- Civatte cisimleri (hiyalin cisimleri, kolloid cisimler, sitoid cisimler) olarak adlandırılan erken keratinize olmuş ve papiller mezenkime çıkmış diskeratotik bazal keratinositler⁷

Kırılma, dallanma ve çoğalmayı içeren epitel bazal membran değişikliklerine OLP'de sıkça rastlanır. Bununla birlikte epitel bazal membran ve bazal keratinosit bağlama unsurlarının (hemidesmozomlar, filamanlar ve fibriller) bozulması epitel ve bağ dokusu arasında mikroskobik ayrılmalara yol açar²².

Bazal hücre kaybını takiben bağ dokuda melanin açığa çıkabilir. Melanin daha sonra melanofajlar olarak adlandırılacak olan makrofajlar tarafından yakalanır. Melanin kaçıışı olarak adlandırılan bu durum bazı OLP lezyonlarında görülen morumsu rengin ortaya çıkmasından sorumludur²⁴.

OLP'ye kandida enfeksiyonunun eşlik ettiği durumlarda veya biyopsi örneğinin ülserli lezyondan alınması durumunda histopatolojik tanı güçleşir. Her iki durumda da histopatolojik bulgular non-spesifik kronik enflamasyon olarak yorumlanabilir²³. Bu nedenle biyopsi alınmadan önce, var olan kandida enfeksiyonunun saptanması ve tedavi edilmesi histopatolojik incelemenin doğru sonuç vermesi açısından önem taşır.

Immüнопатолоjik değişiklikler LP'ye özgü değildir, bununla birlikte diğer hastalıklardan ayırtmaya yardımcı olabilir. Direk immünofloresan incelemede bir çok lezyonda, bazal membran tabakasında çizgisel şekilde fibrin ve fibrinojen gözlemlenir. IgM ve özellikle C3, C4, C5 olmak üzere kompleman unsurları da gözlemlenebilir. Bununla birlikte histopatolojiyle birlikte değerlendirilen bu bulgular sadece fikir verir ve LP için tanısız değildir⁷.

Her ne kadar histopatolojik bulgular OLP'de karakteristik olsa da amalgam ya da ilaçlara karşı gelişen oral likenoid reaksiyon veya graft-versus-host hastalığı gibi diğer klinik tablolar da benzer histolojik özellikleri gösterebilirler²³. Bu durumda kesin tanı için hastadan ayrıntılı bir anamnez alınması ve klinik muayene şarttır.

2.2.5. Tedavi

Günümüzde OLP'nin kesin tedavisi yoktur. Mükemmel bir ağız hijyeninin belirtilerin şiddetini azalttığına inanılmaktadır, fakat hastalığın aktif olduğu dönemlerde yüksek düzeyde ağız hijyeni sağlamak hastalar için kolay olmayabilir²³. Mekanik travmalar da lezyonların şiddetlenmesine yok açabileceğinden tüm travmatik unsurlar (pürüzlü restorasyonlar, sivri tüberkül tepeleri, uyumsuz protezler vb.) ortadan kaldırılmalıdır³. Temel tedavi prensibi hastalığın semptomatik alevlenmelerinin süresinin kısaltılması ve şiddetinin hafifletilmesine yöneliktir²³. Belirti vermeyen retiküler OLP hastaları için genellikle herhangi bir tedaviye gerek yoktur. Bununla birlikte semptomatik atrofik ve ülseratif lezyonların görüldüğü OLP'li bireyler için halen yeni tedavi yöntemleri araştırılmaktadır^{23,24}.

2.2.5.1. Topikal Tedavi

Topikal kortikosteroidlerin hücre aracılı immüniteyi baskılama özelliklerinden dolayı OLP tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır

Hafif ve orta şiddetli OLP lezyonlarının tedavisinde topikal kortikosteroidler tedavinin temelini oluşturur²³. Kortikosteroidlerin etki gücü arttıkça OLP üzerindeki etkinliğinin de attığı görülmüştür²⁴. Hızlı klinik yanıt için tedaviye yüksek etkili bir kortikosteroidle başlanmalıdır. Ancak yüksek etkili kortikosteroidlerin yara iyileşmesini geciktirdiği bilindiğinden belirtilerin ortadan kalkmasıyla birlikte tedaviye daha düşük etkili bir kortikosteroidle devam edilmesi önerilir²⁴.

Kontrol altına alınamayan eroziv OLP lezyonları için lezyon içine uygulanan triamsinolon asetonid (10-20 mg/ml) enjeksiyonları oldukça etkilidir. Sonuç elde edilene kadar her 4 haftada bir uygulanabilir²⁴.

Topikal siklosporinler, topikal kortikosteroidlerle birlikte OLP tedavisinde kullanılabilirler. Siklosporin rutin kullanım için oldukça pahalı bir ilaç olduğundan, topikal kortikosteroidlere yanıt vermeyen inatçı lezyonların tedavisinde tercih edilmelidir. Takrolimus, siklosporine göre 10 ila 100 kat daha etkili bir immünsüpresandır. Eroziv OLP tedavisinde etkinliğine ilişkin bir çok yayın mevcuttur ancak bu çalışmalarda kullanılmış olan özel olarak formüle edilmiş preparatlar piyasada bulunmamaktadır²⁴. Bir immünsüpresan olan takrolimusun uzun dönem kullanımının malign dönüşüm riskini arttırabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Takrolimusun OLP üzerine etkinliğinin başka çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir²⁶.

2.2.5.2. Sistemik Tedavi

Her ne kadar topikal steroidler genellikle semptomların kontrol altına alınmasında yeterli olsa da sistemik kortikosteroid kullanımı inatçı lezyonların tedavisinde sıklıkla başvuru olan bir tedavi yöntemidir^{7,24}.

Kortikosteroidlerin sistemik kullanıma bağlı olarak, adrenal süpresyona kadar uzanan bir çok yan etki ortaya çıkabilir. Bu nedenle sistemik kortikosteroidler sadece akut alevlenmelerin veya topikal uygulamaların yetersiz kaldığı inatçı eroziv veya eritematöz lezyonların tedavisinde tercih edilmelidir^{23,24}.

Sistemik immünsüpresif ajanlar topikal uygulamalara yanıt vermeyen şiddetli OLP olgularında tercih edilebilir. Ek topikal tedavi uygulaması yapıldığında daha düşük

dozlarda sistemik immünsüpresan tedavisiyle istenen klinik sonuçlar elde edilebilmektedir. Sistemik immün süpresan ilaçları kullanan hastaların laboratuvar testleri ile yakın takibi şarttır; ancak yine de istenmeyen yan etkilere neden olabilecekleri göz önünde bulundurulmalıdır²⁴.

2.2.6. OLP'nin Malign Değişim Riski

Oral skuamoz hücreli karsinoma dönüşen potansiyel malign bozuklukların oranı kesin olarak bilinmemekle birlikte düşüktür ve yıllık %2'den daha az olduğu düşünülmektedir¹⁰. Mignogna ve ark.²⁷ 2001'de yaptıkları çalışmada OLP'nin kansere dönüşüm oranını %3,7 olarak bildirirken, van der Waal²⁸ OLP'nin yıllık malign dönüşüm oranı %1'in altında bildirilmiştir..

OLP'nin malign dönüşümünde 3 etiyolojik teori ortaya atılmıştır:

1. OLP gerçekten premaligndir ve skuamoz hücreli karsinoma dönüşür.
2. Değişime uğramış epitel yüzeyi karsinojen, virüs ve kimyasallara karşı daha duyarlıdır.
3. Karsinom tesadüfen OLP lezyonu ile aynı yerde ortaya çıkar²⁹.

Mignogna ve ark.³⁰ 2004'te yayınladıkları makalede kronik enflamatuvar otoimmün bir hastalık olan OLP'ye bağlı enflamatuvar mikro-çevrenin, normal epitelde tümör oluşumunu başlatmanın yanı sıra, tütün ve alkol gibi, konvansiyonel çevresel karsinojenlerin yol açtığı moleküler değişiklikler üzerinde predispozan ve şiddeti artırıcı olarak etki edebileceğini öne sürmüşlerdir. Kansere dönüşüm riski düşük görünmekle birlikte, OLP hastalarındaki kanser insidansındaki artış bu hastalığın potansiyel malign bir durum olduğunu ortaya koymaktadır³⁰.

Yukarıda anlatılanların yanı sıra, baş ve boyun skuamoz hücreli karsinomunun karsinogenezinde gen ekspresyonunu translasyon aşamasında düzenlemekle görevli mikroRNA (miRNA) adı verilen küçük protein kodlamayan RNA'ların potansiyel rol oynadığına dair kanıtlar ortaya konmuştur. Güncel bulgular OLP gibi malign dönüşüm potansiyeli olan lezyonların progresyonlarının miRNA'ların ekspresyonlarıyla ilişkili olduğunu öne sürmektedir. Bir çok miRNA'nın bu malign transformasyon ile ilişkisi değerlendirilmiş ve *miR-21*, *miR-181b* ve *miR-345'in* bu süreçteki yüksek ekspresyonlarının malign transformasyon ile olan ilgisi vurgulanmıştır³¹.

2.3. OLP ve Otoimmünite

Daha önce de bahsedildiği gibi OLP otoimmün mekanizmalarla ilerleyen potansiyel malign bir durumdur. Bu patoloji otoimmün hastalıkların genelinde olduğu gibi doğal ve edinsel immün sistem elemanlarının birbirleri arasındaki etkileşimlerden kaynak alır.

2.3.1. Doğal ve Edinsel İmmün Sistem

İmmün sistem ve bununla ilişkili enflamatuvar reaksiyonlar, enfeksiyonlara bağlı olan veya olmayan hasarların onarılmasında ve dokuların korunmasında önemli bir role sahiptir. İmmün sistem, patojenik ajanlarla ilk olarak karşılaşan ve bunlara karşı primer bir koruma engeli oluşturan “doğal immünite” ve daha sonrasında daha yavaş devreye giren ancak patojenlere karşı daha etkili bir savunma sağlayan “edinsel immünite” olarak iki grupta incelenir^{32,33}.

2.3.1.1. Doğal İmmün Sistem

Doğal immün sistem doğuştan vardır, edinsel immünite ise dokuları istila eden patojenlerle harekete geçer ve ortaya çıkan yanıt “uyarana özgü”dür.

Epitel, epitelde bulunan özelleşmiş hücreler ve doğal antibiyotikler doğal immünitenin mikroorganizma girişini engelleyen ilk savunma hattıdır. Ancak patojenler epitel bariyerini aşarak dokulara ya da dolaşıma girerse fagositler, doğal öldürücü hücreler denen özelleşmiş lenfositler ve kompleman sisteminin proteinlerini de içeren bazı plazma proteinlerinden oluşan doğal immün sistem elemanları devreye girer. Kompleman sistemi dolaşımda veya membranda yer alan proteinlerden oluşur. Bu proteinlerin bir çoğu proteolitik enzimlerdir ve sistemin harekete geçmesi enzimlerin birbiri ardına aktive olmasıyla gerçekleşir^{32,33}.

2.3.1.2. Edinsel İmmün Sistem

Edinsel immünite, patojenler ya da antijenleri lenfositler tarafından tanındıkları lenfoid organlara taşındığında devreye girer. Edinsel immünite farklı patojenler için özel mekanizmalar oluşturur³².

Edinsel immünite iki ayrı gruba ayrılır; hümorale ve hücreli immünite. Hümorale immünite B lenfositlerin ürettiği antikör adı verilen proteinler tarafından oluşturulur. Antikörler kanda ve mukozal organların lümenlerinde mevcut olan patojenleri ve onların toksinlerini etkisiz hale getirirler ancak enfekte hücre içindeki patojenlere etki

edemezler. Hücre içi mikroorganizmalara karşı T lenfosit hücreleri tarafından oluşturulan yanıt hücrel immünite adı verilir. $CD4^+$ T hücreleri, fagositleri aktive ederek bu fagositlerin veziküllerinde yer alan patojenlerin yok edilmesini sağlarken, $CD8^+$ T hücreleri sitoplazmasında mikroorganizma veya patojen proteini içeren her türlü hücreyi öldürerek enfeksiyonu ortadan kaldırır. B lenfositleri tarafından üretilen antikorlar özellikle hücre dışı antijenleri tanımak için tasarlanmışken, T lenfositleri hücre içindeki antijenleri tanırlar. T ve B lenfositleri arasındaki başka bir önemli fark ise; çoğu T hücresinin sadece mikrobik protein antijenleri tanınmasına karşın, antikorların; protein, karbonhidrat ve lipid de içeren pek çok değişik mikrobik molekül tipini tanınmasıdır^{32,34}.

Doğal immün sistem vücuda giren yabancı maddeleri tanıyarak bunlara yanıt oluşturma özelliğinde olan elemanlardan oluşur. Bu şekilde meydana gelen yanıt antijene özgü olma özelliğinde değildir. Doğal immün sistem yanıtı ile başlayan immün yanıt daha sonrasında antijen sunan hücreler (ASH) aracılığıyla edinsel immün sistem elemanları tarafından antijene özgü olarak gerçekleştirilir^{32,34}.

Bu şekilde tetiklenen edinsel immün yanıt birbirini izleyen evrelerden oluşur; Vücuda giren bir immünojen ilk olarak doğal immün sistem elemanları tarafından karşılanarak bir enflamasyon süreci başlar. Eş zamanlı olarak antijen sunma özelliğinde olan hücreler hücrel yanıt oluşturmak üzere harekete geçerler. Bunu antijenin lenfositler tarafından tanınması, lenfositlerin proliferasyon üzere efektör konuma geçmesi, efektör ve bellek hücrelere farklılaşması, antijenin ortadan kaldırılması, immün yanıtın gerilemesi ve uzun ömürlü bellek takip eder. Tanıma fazı sırasında, naif lenfositler mikroorganizmaların antijenlerinin yerini bulur ve tanır. Bu işlevden sorumlu olan ASH aynı zamanda lenfosit aktivasyonu için gerekli olan uyaran ve eş-uyaran sinyalleri sağlamaktan sorumludur³².

ASH tarafından sunulan antijenlerin, lenfositlerin antijen reseptörlerine bağlanması birincil uyarıyı oluşturur. T hücre reseptörü (THR), $CD4^+$ veya $CD8^+$ eş-reseptörleri ile birlikte, ASH'deki MHC molekülleri ve peptid antijen kompleksini birlikte tanır, bu tanıma T hücre aktivasyonu için birincil veya başlatıcı uyarıdır. Ekstraselüler mikroorganizmalar ve onlara karşı oluşan doğal immün yanıtlar tarafından oluşturulan diğer sinyaller ikincil uyarı olarak adlandırılır. T hücrelerini uyarmada antijen uyarımı ile birlikte işlev gören moleküllere eş-uyaran adı verilir ve ikincil

uyarayı oluşturur. T hücreleri için en iyi tanımlanmış eş-uyaranlar B7-1 (CD80) ve B7-2 (CD86) olarak adlandırılan iki proteindir. Her ikisi de ASH tarafından sunulur ve mikroorganizmayla karşılaşan ASH'de sunumu hızla artar. B7 proteinleri, T hücrelerinde sunulan CD28 olarak adlandırılan bir reseptör tarafından tanınır. T hücre yüzeyindeki CD28 ile ASH'deki B7 molekülünün bağlanması ile oluşan sinyaller, THR ve eş-reseptör ile aynı ASH yüzeyindeki peptid-MHC kompleksinin bağlanması ile oluşan sinyallerle birlikte çalışır. CD28 aracılı sinyal iletimi naif T hücre yanıtlarının başlangıcıdır ve CD28-B7 bağlantısı yokluğunda THR'nin tek başına kenetlenmesi T hücrelerini aktive edemez ve uzun süreli T hücre yanıtınsızlığına yol açabilir. Edinsel immün yanıtın sadece mikroorganizmalarca oluşturulması ve diğer zararsız enfeksiyöz olmayan antijenlere karşı immün yanıt gelişmemesi için ikincil uyarılara ihtiyaç vardır^{32,33,35}.

Uyarılarak çoğalan T hücreleri efektör hücrelere farklılaşmaya başlarlar. CD4⁺ yardımcı T hücreleri değişik sitokinleri üreterek farklı fonksiyonlara neden olan efektör hücre alt gruplarından T_H1 ve T_H2'ye (Tip 1 yardımcı T hücreleri ve tip 2 yardımcı T hücreleri) farklılaşabilirler. T_H1 tarafından üretilen en önemli sitokin interferon-gamma (IFN- γ) makrofajların güçlü bir aktivatörüdür, ayrıca mikropların fagositozunu uyaran antikor izotiplerinin üretimini de stimüle eder. Bunun yanında T_H1 hücreleri perforin ve granzim aracılı programlı hücre ölümünü (apoptozu) uyarır, bu nedenle hücrel immüntenin yapıtaşıdır. Doğrudan sitoplazmaya giren veya fagozomlardan sitoplazmaya kaçan mikroorganizmalar fagositlere karşı dirençlidirler. Bu tür patojenlerin yok edilebilmesi için CD8⁺ T hücreleri (sitotoksik) enfekte hücre üzerindeki sınıf I MHC ilişkili peptidleri tanırlar ve bu hücreleri öldürerek enfeksiyon kaynağını yok ederler³².

T_H2 hücreleri ise IgE antikor üretimini stimüle eden IL4 ile eozinofilleri uyaran IL5'i üretirler. Bu nedenle T_H2 hücreleri eozinofil aracılı, fagosit-bağımsız immüniteyi stimüle eder³².

2.3.1.3. İmmün Sistemin Habercileri: Sitokinler

Endojen ya da ekzojen uyarılarla karşılaşan immün sistem hücreleri ve diğer hücreler sitokinler olarak tanımlanan ve doğal direnç kapsamında gerçekleşen immün sistem hücreleri ve diğer hücrel reaksiyonları yönlendiren proteinleri salgırlar. Lökositlerin kendi aralarında ve diğer hücrelerle iletişimde rol oynayan sitokinler,

immün yanıt ile enflamasyonu düzenleyen çözülmüş proteinlerdir. Geleneksel olarak lökositler tarafından sentezlendikleri ve lökositlere etki ettikleri için sitokinlerin büyük bir bölümü “interlökinler” olarak adlandırılmıştır. Fakat günümüzde erişilen bilgiler sitokinlerin daha çok lökositler dışındaki hücreler tarafından salgılandığını ortaya çıkarmıştır, dolayısıyla bu isimlendirme çok doğru bir isimlendirme değildir. Tüm sitokinler immünojen bir uyarı sonucu az miktarda üretilir ve hedef hücrelerin yüksek afiniteli reseptörlerine bağlanarak etki gösterirler. Bir çok sitokin sentezlendikleri hücrelerde etki gösterirken (otokrin etki), bazı sitokinler salgılandıkları hücre yakınındaki hücelere etki gösterirler (parakrin etki). Örnek olarak doğal direnç sitokinlerinden olan TNF ve interlökin-1 (IL1) enfeksiyon bölgesine nötrofil ve makrofajları çekmekle yükümlüdür^{32-34,36}.

2.3.1.4. İmmün Bellek Oluşumu

İmmün sistemin aynı antijenle her karşılaştığında daha fazla ve etkili bir yanıt oluşturmasına “bellek” adı verilir. Antijenle ilk karşılaştığında naif lenfositler primer (birincil) immün yanıt adı verilen bir immün yanıt oluşturur. Antijenle daha sonra tekrar karşılaştığında ise primer yanıtı göre daha fazla ve etkili bir yanıt ortaya çıkar. Sekonder (ikincil) immün yanıt olarak adlandırılan bu yanıt, primer immün yanıt esnasında oluşan uzun ömürlü bellek lenfositlerinin efektör konuma geçişi sonucunda oluşur. İmmün bellek, immün sistemin yineleyen ve süreğen enfeksiyonlarında mücadele etme yeteneğini en yüksek düzeye taşır, çünkü bir patojenle her karşılaşma, daha fazla bellek hücresi oluşumuna ve daha fazla önceden oluşmuş bellek hücresi aktivasyonuna yol açar³².

İmmün sistem, normal koşullarda çok fazla sayıda ve çeşitte patojen ile diğer yabancı antijenlere yanıt verebilirken, antijenik potansiyeldeki “öz-antijenlere” yanıt vermez. İmmün sistemin öz-antijenlere yanıt vermediği duruma immünolojik tolerans; verdiği duruma ise otoimmünite denir³².

2.3.2. İmmünolojik Tolerans ve Otoimmünite

Yukarıda bahsedildiği gibi antijen ile karşılaşan lenfositlerin yanıt vermemesi immünolojik tolerans olarak adlandırılır. Bir antijene özgül reseptörü olan lenfosit, o antijenle karşılaştığında üç olasılıktan biri gerçekleşir³²:

1. Lenfosit etkin duruma geçer ve immün yanıt gelişir. Bu durumda antijen immünojenik olarak adlandırılır. Mikroorganizmalar normalde immünojeniktir.
2. Lenfositler işlevsel olarak etkisiz kılınır veya öldürülürler, sonuçta o antijene tolerans gelişir ve tolerojenik olarak adlandırılır.
3. Antijene özgül lenfositler antijeni yok sayarlar.

Bireyin kendi antijenleri ya tolerojeniktir ya da yok sayılırlar.

Otoimmünite, öz antijenlere yönelik immün aktivasyon yanıtı geliştirmeyi tanımlar ve önemli bir hastalık nedenidir. Toplumda otoimmün hastalıklara %1-2 oranında rastlandığı tahmin edilmektedir, ancak kontrolsüz immün yanıtların gözlemlendiği hastalıklar da öz antijenlere yönelik oldukları kanıtlanmadıkları halde otoimmün hastalıklar olarak isimlendirilmektedir³².

Otoimmünitenin ortaya çıkmasında etkin başlıca faktörler; öz toleransın gelişmemesine katkıda bulunabilen yatkınlık genlerinin kalıtsal geçişi ve öze tepkili lenfositleri aktive eden enfeksiyon gibi çevresel tetikleyicilerdir. Otoimmünite, öz antijenlere karşı antikor üretilmesi ya da öz antijenlere tepkili T hücrelerinin aktivasyonu sonucu gelişmektedir^{32,37}.

2.4. OLP'nin Moleküler Etiyopatogenezi

2.4.1. OLP'nin İmmünopatogenezi

OLP'nin gerçek nedeni bilinmemektedir. Ancak hastalığın etiyopatogeneziyle ilgili ortaya atılan hipotezler mevcuttur.

2.4.1.1. Non-Spesifik Mekanizmalar

OLP'de epitelyal bazal membran değişikliklerinin genel olarak görülmesinin yanı sıra, apoptozun da oldukça sık gerçekleştiği ortaya konmuştur³⁸⁻⁴⁰. Sugeran ve ark.⁴¹ (2002) OLP'de keratinosit apoptozunu tetikleyen mast hücre proteazlarının veya T hücre MMP-9'unun epitelyal bazal membran ayrışmasından sorumlu olduğu hipotezini öne sürmüşlerdir. Ancak OLP'de görülen bazal membran bozulmasının mı ya da keratinosit apoptozunun mu daha önce gerçekleştiği bilinmemektedir. OLP'nin patogenezinde etkili olduğu düşünülen diğer non-spesifik mekanizmalar şu şekilde sıralanabilir^{41,42}:

1. Normalde T hücreleri tarafından salgılanan ve T hücre aktivasyonunda regüle edilen sitokinlerin stimüle ettiği mast hücre kemotaksisi ve degranülasyonu
2. Mast hücre tarafından salgılanan TNF α 'nın stimüle ettiği endotelial hücre adezyon molekül ekspresyonu
3. Mast hücre kimaz'ı ile T hücre MMP-9 aktivasyonu
4. Bazal membran açıklıklarından intra-epitelyal CD8+ T lenfosit göçü
5. Normalde T hücreleri tarafından salgılanan ve T hücre aktivasyonunda regüle edilen sitokinler tarafından ömrü uzatılmış enflamatuvar hücreler
6. Keratinosit kaynaklı kemokinlerin non-spesifik olarak T hücreleri devreye sokması

2.4.1.2. OLP'de Antijene Özgülük

OLP'de, yabancı ya da değişmiş algılanan antijenik oral mukozal bazal keratinositler üzerinde kronik, hücre aracılı immün hasar olduğu genel olarak kabul görmüştür⁴³. OLP lezyonunun oluşumunun erken olaylarından biri keratinositlerdeki antijenlerin MHC sınıf I ile birlikte sunulması veya ekzojen bir ajanın ortaya çıkması olabilir⁴¹. Hedef keratinositler antijen sunabilir, böylece aktivasyonlarını takiben intra-epitelyal CD8+ sitotoksik T hücrelerine sunulan kemokinler üretilir. Ancak OLP lamina propriasındaki lenfositlerin çoğu CD4+ yardımcı T lenfositleridir (T_H1). Bu nedenle OLP gelişiminin erken olaylarından birisi epitelde bulunan keratinositler veya Langerhans hücrelerinin aracılığıyla CD4+ yardımcı T lenfositlerine MHC sınıf II antijen sunumu olabilir. CD4+ yardımcı T lenfositleri CD8+ sitotoksik T hücrelerini aktive eden T_H1 sitokinlerini salgılamak üzere uyarılırlar. Bu aktivasyon keratinosit apoptozuna yol açabilir. CD4+ ve CD8+ T lenfositlerinin OLP'nin klinik görünümünde çeşitliliğe de yol açan çok sayıda sitokini ve enflamatuvar mediyatörü ürettikleri ve onlara yanıt verdikleri düşünülmektedir. Özetle OLP'nin patogenezinde bir çok antijen spesifik mekanizmanın etkili olduğu düşünülmektedir. Bu mekanizmalar aşağıdaki şekilde sıralanabilir^{42,44,45}:

1. Lezyonel keratinositler tarafından MHC sınıf I ve MHC sınıf II ile antijen sunumu
2. Antijene özgü CD4+ yardımcı T lenfositleri ve CD8+ sitotoksik T hücrelerinin aktivasyonu

3. Antijen spesifik T hücrelerinin proliferasyonu
4. Antijene özgü CD8+ sitotoksik T lenfositlerinin tetiklemesiyle gelişen keratinosit apoptozu

2.4.1.3. OLP'nin HLA Antijenleriyle İlişkisi

Omurgalıların çoğunda bulunan MHC genlerinin insanda yer alan şekli insan lökosit antijen (HLA) genleri olarak adlandırılır. HLA'lar insanlarda immün sistemin düzenlenmesinden sorumlu hücrelerin yüzey proteinlerini kodlar⁴⁶.

HLA'ların her sınıfı farklı bir görev üstlenmiştir. MHC sınıf I'e denk gelen HLA'lar (A, B ve C) hücre içinden peptidleri sunarlar. Örneğin bir hücre virüs ile enfekte olduğunda HLA sistemi virüs parçalarını hücre yüzeyine taşıyarak CD8+ sitotoksik T hücreleri tarafından tanınmalarını ve yok edilmelerini sağlarlar. MHC sınıf II'ye eş HLA'lar (DP, DM, DOA, DOB, DQ ve DR) hücre dışındaki antijenleri T lenfositlere sunarlar. Bu antijenler yardımcı T hücrelerinin çoğalmasını uyarır ve devamında antikor üreten B hücrelerin spesifik antijen için antikor üretmesine yol açar. Öz-antijenler ise T_{reg} hücreleri tarafından baskılanır. MHC sınıf III'le uyumlu olan HLA'lar ise kompleman sistemin bileşenlerini kodlar⁴⁶.

Jontell ve ark.⁴⁶ (1987) eroziv OLP'de HLA-DR3 frekansının kontrol grubuna göre yüksek olduğunu saptamışlar ve hastalığın patogenezindeki otoimmün bileşenlerden biri olabileceği yorumunu yapmışlardır.

Watanabe ve ark.⁴⁷ (1986) Japon popülasyonunda yaptıkları çalışmada HLA-DRw9/DR9 ve OLP arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir. Lin ve Sun⁴⁸ 1990'da yayınladıkları ve Çin popülasyonunda gerçekleştirdikleri çalışmada HLA-DR9 ve Te22 antijenlerini OLP ile ilişkili bularak Watanabe ve ark.'nın⁴⁷ çalışmasını destekler nitelikte bir sonuç elde etmişlerdir. HLA-DR9'un ve Jontell ve ark.'nın⁴⁶ eroziv OLP ile ilişkisini ortaya koyduğu HLA-DR3'ün SLE, insüline bağımlı diyabet, Haşimoto tiroidi, Graves hastalığı, myasthenia gravis gibi otoimmün hastalıklarla olan ilişkilerinden yola çıkarak OLP'nin bir otoimmün hastalık olarak değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varmışlardır. Britanyalı bireyler üzerinde yapılan bir çalışmada HLA-B27, HLA-B51, ve HLA-Bw57 eroziv OLP ile ilişkili olduğu bulunmuş, ayrıca HLA-DQ1 ekspresyonunda önemli bir düşüş olduğu saptanmıştır⁴⁹. Roitberg-Tambur ve ark.'nın⁵⁰ (1994) İsraili Yahudi popülasyonunda yaptıkları çalışmada eroziv LP ile HLA-DR2 arasında güçlü bir ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır.

2.5. OLP ve Biyobelirteçler

Biyolojik bir durumun ya da hastalığın ölçülebilir göstergeleri biyobelirteç olarak adlandırılır. Hastalıkların teşhis edilebilmesi, ayırıcı tanısının konulabilmesi ve prognozunun öngörülebilmesi için biyobelirteçlerden yararlanır.

Literatürde OLP'nin ayırıcı tanısına yönelik yapılmış biyobelirteç çalışmaları mevcuttur. Ancak daha yoğun olarak OLP'nin malign dönüşümünü öngörmeye yarayan biyobelirteçler üzerinde çalışılmıştır.

Yang ve ark.'nın⁵¹ 2006'da OLP tanısına yönelik biyobelirteç saptamak amacıyla yaptıkları protein düzeyindeki çalışmada, hasta ve kontrollerin tüm salyalarına iki boyutlu elektroforez ve matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi uygulanmıştır. Farklı protein bileşenleri peptit kütle parmak izi ve veri tabanı araştırması ile analiz edilmiştir. Tüm OLP örneklerinde üriner prekallikrein ekspresyon düzeyinin arttığı; *damak, akciğer ve nazal epitel klon proteini* (PLUNC) ekspresyon düzeyinin ise azaldığı sonucuna varılmıştır. Bu sonuçtan yola çıkarak üriner prekallikrein ve PLUNC'ın OLP'nin immün yanıtı ve enflamasyonunda rol oynayan yeni biyobelirteçler olabileceği öne sürülmüştür.

Srinivasan ve ark.⁵², OLP ve yanan ağız sendromu olan bireylerde sCD14 ve sTLR-2'nin potansiyel biyobelirteç olabileceği fikriyle yola çıktıkları çalışmada OLP'li bireylerin tükürüklerinde sCD14 düzeyinin arttığını ancak sekonder *C. albicans* enfeksiyonunun sonuçları değiştirdiğini ortaya koymuşlardır

Yapılan çalışmalarda, OLP, Tip 1 diyabet, multipl skleroz, romatoid artrit, sistemik lupus eritematoz, ülseratif kolit, psöriazis ve Sjögren sendromu gibi insana ait enflamatuvar ve otoimmün hastalıkların tanısında miRNA'ların değerli birer biyobelirteç oldukları ortaya konulmuştur^{2,53-58}.

Dang ve ark.⁵⁸ (2013) OLP prognozuna yönelik bir biyobelirteç bulmayı hedeflemişlerdir. OLP hastalarında *miR-137* promotor metilasyonunu incelemek amacıyla, sağlıklı kontroller ile OSCC'li hastaları karşılaştırmışlardır. Elde ettikleri bulguların *miR-137* metilasyonunun OLP hastalarının malign dönüşüm riskini öngörmek için biyobelirteç kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

miRNA'ların, hücre döngüsü kontrolü, apoptoz, hematopoez, adipozit farklılaşması, insülin salgılanması ve keratinosit proliferasyonu gibi çeşitli hücresel

sürecin anahtar yolağında yer alan bir çok genin regülasyonunda rol aldıkları ortaya konmuştur^{59,60}. miRNA'da oluşabilecek herhangi tür mutasyon, disregulasyon veya işlev bozukluğu nörodejeneratif hastalıklardan diyabete, kalp hastalıklarından kansere kadar pek çok hastalık türlerinden biri ile sonuçlanabilmektedir^{61,62}. Şimdiye kadar İnsan mikroRNA Hastalıkları Veri Tabanı'nda (Human microRNA disease database, HMDD, <http://cmbi.bjmu.edu.cn/hmdd>.) miRNA deregülasyonu ile ilişkilendirilmiş 378 hastalık tanımlanmıştır.

Literatürde miRNA'ların kanser ve otoimmün hastalıkların gelişimindeki rolünü açıklayan bir çok çalışma mevcuttur. OLP'nin otoimmün karakteri ve malign dönüşüm riski taşınmasından yola çıkarak miRNA'larla olan ilişkisinin incelenmesi gereği ortaya çıkmıştır⁶³.

2.6. miRNA ve OLP İlişkisi

Nylander ve ark.⁶³ 2012'de yayınladıkları çalışmada oral, genital ve/veya kütanöz LP hastalarından elde ettikleri serumlarda 375 adet miRNA'nın ekspresyonunu gerçek zamanlı PZR (GZ-PZR) yöntemiyle analiz etmişlerdir. Ancak LP ile ilişkili spesifik bir miRNA profili olmadığı sonucuna varmışlardır. Danielsson ve ark.¹ 2012 yılında yayınlanan araştırmalarında, *miR-21*, *miR-125b* ve *miR-203*'ü ve onların potansiyel hedefleri olan *p53* ve *p63*'ü seçmişler ve bunların ekspresyon düzeylerini OLP hastaları ve sağlıklı kontrollerden elde edilen doku örneklerinde GZ-PZR yöntemi ile analiz ederek karşılaştırmışlardır. miRNA'lardaki değişimlerin hedef proteinlerle korele olduğunu ifade etmişler ancak ilgili miRNA'ların biyobelirteç olabileceklerine dair bir iddiada bulunmamışlardır. Akhtar ve ark.⁶⁴ (2010) *miR-27b*'nin normal ve osteoartrit kondrositlerinde eksprese olduğunu göstermişlerdir. Hildebrand ve ark.⁶⁵ 2011'de aralarında *miR-27b*'nin de bulunduğu dokuz adet miRNA'nın insan keratinositlerinin farklılaşmasıyla (*in vitro* ve *in vivo*) ilişkili bulmuşlardır. Bu sonuçlardan yola çıkan Zhang ve ark.² (2012) OLP hastalarında evrensel miRNA ekspresyon paterni ve keratinositlere özgü miRNA ekspresyonlarında düzensizlikler olabileceğini iddia etmişler ve bu hipotez doğrultusunda OLP hastaları ile sağlıklı kontrollerden elde edilen oral biyopsilerde 667 insan miRNA'sı içeren mikroarray ile miRNA ekspresyonunun evrensel paternlerini karşılaştırmışlardır. Ekspresyonlarında farklılık saptanan 46 miRNA arasından seçtikleri *miR-27b*'nin OLP'nin başlangıcı ve seyrinin şiddeti ile ilişkisi, in-situ hibridizasyon (ISH) ile değerlendirilmiştir.

Mikroarray analiziyle uyumlu olarak GZ-PZR ve ISH analizlerinde *miR-27b* ekspresyonunun OLP dokularında anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır ve *miR-27b* ekspresyonu düşük olan bireylerin OLP'ye yatkınlık gösterebileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca ISH analizleri *miR-27b*'nin hem hasta hem de kontrol grubunda epitelyal keratinosit tabakasında eksprese olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, *miR-27b*'nin epitelyal keratinositlerdeki düşük ekspresyonunun, aktif sitotoksik T hücrelerin epitelyal hücrelerin apoptozunu tetikleyen spesifik enflamatuvar yanıtında rol oynayabileceği ortaya konulmuştur. Bu veriler ışığında Zhang ve ark. *miR-27b*'nin OLP'nin diagnozu ve prognozu için bir biyobelirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir.

2.7. miRNA'ların Moleküler Biyolojisi

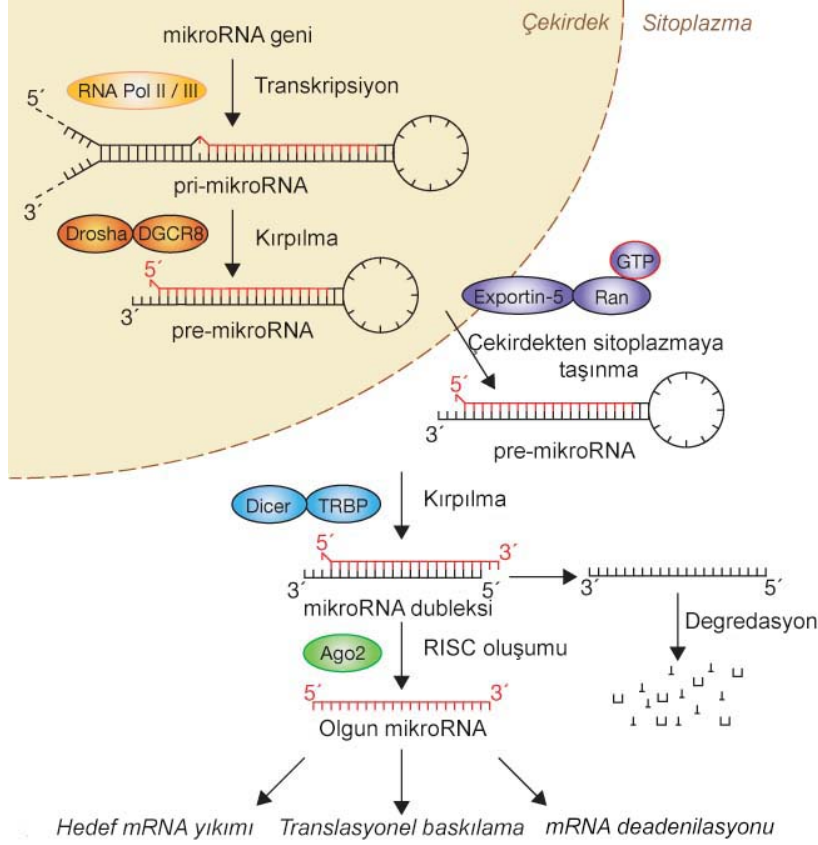
miRNA'lar tek sarmallı, yaklaşık 18-24 nükleotidden oluşan, gen ekspresyonunu hedef mRNA ile baz eşleşmesi yaparak post transkripsiyonel aşamada düzenleyen, endojen kaynaklı RNA dizileridir^{66,67}. mirBase veri tabanı (<http://www.mirbase.org>) Nisan 2015 itibariyle 1881 insan miRNA dizisi içermektedir. Her bir miRNA'nın insanlarda bir çok hedef geni düzenleme potansiyeli taşıdığı göz önünde bulundurulduğunda insanlarda protein kodlayan genlerin yaklaşık yarısı ila üçte birinin ekspresyonunun miRNA'lar tarafından düzenlendiği öngörülmektedir⁶⁸.

İlk miRNA, 1993 yılında Lee ve ark.⁶⁹ tarafından keşfedilmiş olup miRNA terimi 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır^{70,71}. Lee ve ark.⁶⁹ *C. elegans*'da saptadıkları hiç bir protein kodlamayan lin-4 adlı genin 22 nükleotid uzunluğunda küçük bir RNA transkribe ettiklerini bildirmişlerdir. O sıralar bir nametodun yapısal özelliği sanılan ve yaşam döngüsünün zamanlaması ile ilerlemesini kontrol ettiği düşünülen lin-4 keşfedilen ilk miRNA'dır^{72,73}.

Keşiflerinden bugüne ökaryotlarda yüzlercesi daha tanımlanan miRNA'lar, hücre farklılaşması, büyümesi ve gelişmesi, immün reaksiyonlar, stres adaptasyonu gibi fizyolojik ve kanser, otoimmün hastalıklar, kalp hastalıklarının oluşumu gibi patofizyolojik süreçlerle ilişkilendirilmiştir^{74,75,76}.

miRNA'lar birbirini takip eden üç adımı kapsayan süreç sonucunda oluşur. İlk olarak miRNA genlerinden primer miRNA'ların (pri-miRNA) transkripsiyonu gerçekleşir. İkinci adımda pri-miRNA'lar hücre çekirdeği içinde prekürsör miRNA'lara

(pre-miRNA) dönüştürülür. Son olarak olgun miRNA'ların sitoplazma içinde oluşumu gerçekleşir (Şekil 2-4)⁷⁷.



Şekil 2-4: miRNA biyogenezi

İlk aşamada miRNA genlerinden, RNA polimeraz II aracılığıyla pri-miRNA adı verilen uzun öncül çift iplikli transkriptler oluşturulur. Saç tokası yapısındaki pri-miRNA yaklaşık 2 kb uzunluğundaki olgun miRNA dizisini içerir. Çekirdekteki pri-miRNA'ların yaklaşık 70 nt uzunluğundaki prekürsör miRNA'lara (pre-miRNA) dönüştürülmesi RNAz-III enzim ailesinin bir endonükleazı olan DROSHA ve kofaktörü PASHA (DGCR8) tarafından gerçekleştirilir. Çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olan PASHA ile bir nükleaz olan DROSHA'nın oluşturduğu bu yapı, mikro işlemci kompleks olarak adlandırılır. Bu birim pri-miRNA dizisinden karmaşık saç tokası yapısını ayırır. Pri-miRNA'lar çekirdekte DROSHA aracılığıyla 70-90 nükleotid uzunluğundaki çift iplikli pre-miRNA'lara dönüştürülürler⁷⁸. Oluşan Pre-miRNA'lar nükleer transport reseptör 5 (EXPORTIN-5) tarafından çekirdekten sitoplazmaya taşınır. Sitoplazmada bir RNAz-III enzim ailesi üyesi olan DICER, pre-miRNA'dan saç

tokası yapısını enzimatik olarak keser ve yaklaşık 22 nükleotidlik olgun çift iplikli miRNA yapısı oluşur⁷⁹. İki iplikten birisi kılavuz zincir olarak seçilir ve diğer iplik yapısı bozularak kaybolur. Kılavuz zincir, multiprotein yapıdaki RNA ile uyarılmış susturucu kompleks (*RNA-induced silencing complex*, RISC) ile hedef mRNA susturulması için etkileşime girer. RISC, mRNA'nın komplementer dizisini saptamak için miRNA'yı kullanır; komplementer diziyi bulduğunda ise bünyesindeki *argonaute* isimli proteini aktive ederek çift zincirli RNA'nın zincirlerini ayırır⁸⁰.

Hedef mRNA'nın 3'UTR bölgesine miRNA'nın 5'UTR bölgesindeki 6-8 nükleotidin bağlanmasıyla oluşan bu miRNA-mRNA birimi ya yazılımı baskılayıp protein ekspresyonunu azaltarak ya da mRNA'nın yapısını bozarak gen ekspresyonunu susturur⁸¹. miRNA olgunlaşmasından sonra, genellikle miRNA'ya bağlı gen susması; hedef mRNA'nın 3'UTR ucu ile tam olmayan baz eşleşmesi yapan miRNA'nın translasyonunun baskılanması ve mRNA degradasyonu ile sonuçlanır. miRNA'lar, hedef mRNA'nın 5'UTR bölgesi, açık okuma çerçevesi (ORF) ya da doğrudan DNA dizisi ile de etkileşime girerek transkripsiyonu düzenlemektedir⁸².

2.7.1. miRNA'ların İmmünolojik Etkileri

İmmün sistemin düzenlenmesi otoimmün hastalıklar ve kanser gibi bir çok patojenik hastalığın önlenmesi açısından önem taşır. Günümüzde miRNA'ların immün yanıtın düzenlenmesinde ve immün hücrelerin gelişmesinde önemli rol oynadığı ortaya konmuştur. Bugüne kadar görece az sayıdaki spesifik miRNA, immün sistemin önemli regülatörleri olarak açıklanmıştır⁵⁶.

miRNA'ların, B hücrelerinin erken ve efektör farklılaşmasında anahtar rol oynadıkları ortaya konmuştur. T hücrelerinde ise proliferasyon ilişkili yollarda anahtar düzenleyiciler oldukları, T_{reg} hücre dizilerinin indüksiyonu, fonksiyonu ve sürdürülmesinde güçlü bir role sahip oldukları gösterilmiştir. miRNA'lar dendritik hücrelerin ve makrofajların Toll-like reseptörler aracılığıyla farklılaşmalarının düzenlenmesinde de görev alırlar⁸³.

Yukarıda anlatılanların yanı sıra miRNA'lar hücre içi immün mediyatörler olarak görev yapma becerisine de sahiptirler. Kısa dizili olmaları, ve uyumsuz eşleşmelere tolerans göstermeleri sayesinde miRNA'ların büyük bir kısmı viral RNA stabilitesini ve translasyonunu tanıyabilir ve baskılayabilir. Bu özellik miRNA'lara viral

RNA transkripsiyonunu baskılayarak virüsün proliferasyonunu durdurma ve sitoplazmik virüslerde doğrudan viral genoma saldırma gücünü sağlar⁸³.

RISC, çift iplikli viral RNA'nın ayrılması ile oluşan "small interfering RNA" (siRNA)'ları kullanarak çoğu ökaryotik hücre dizisinde saklanan virüsleri baskılama kapasitesine sahiptir. Endojen küçük RNA türlerinin (miRNA) de RISC'le birlikte viral proliferasyonu baskılama yeteneğine sahip olduğunu ortaya koyan kanıtlar mevcuttur. Memelilerde, DICER'in baskılanması, dolayısıyla miRNA üretimi, insan immün yetmezlik virüsü tip 1 (HIV-1)'e, veziküler stomatitis virüsü (VSV) ve influenza A virüsüne karşı aşırı hassasiyet yaratmaktadır. miRNA'nın doğrudan viral hedefler üzerine harekete geçmesi, hücrel miRNA seed-sekansının viral sekansla rastlantısal olarak uyumlu olmasına bağlıdır. Memelilerde belirlenmiş miRNA aracılı virüs baskılanması olgularının sayısı hala göreceli olarak azdır; ancak miRNA'ların hepatit C virüsü, HIV-1, insan sitomegalovirüsü ve VSV proliferasyonu üzerinde etkisi olduğu ortaya konmuştur^{83,84}.

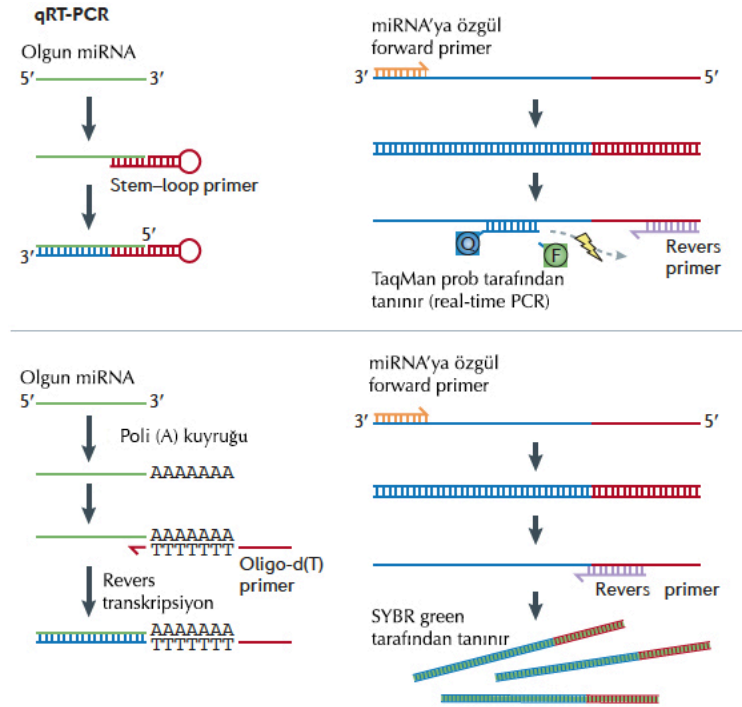
2.7.2. miRNA Profillendirme

miRNA'ların varlığının saptanmasını ve ekspresyonunun ölçülebilmesini zorlaştıran miRNA'lara özgü bir çok faktör vardır. Örneğin, ~22 nt uzunluğundaki bir miRNA, revers transkripsiyon ve PZR için tasarlanmış geleneksel primerlere bağlanmak için yetersizdir. Ayrıca, mRNA'lardan farklı olarak miRNA'lar poli(A) kuyruğu veya revers transkripsiyon için evrensel primer bağlanma bölgesi olarak kullanılacak poli(A) gibi ortak diziler taşımazlar. Bu durum önemlidir çünkü miRNA'lar tüm RNA'ların küçük bir bölümünü (~%0,01) oluştururlar ve pri- ve pre-miRNA öncülleri dahil olmak üzere tüm diğer farklı RNA türlerinin arasından seçilerek saptanabilmelidirler. Bunun yanı sıra bir aile içindeki miRNA'lar (ör; let-7 ailesi) tek bir nükleotid kadar küçük farklılıklarla birbirlerinden ayrılırlar, ve tek nükleotidlik bu farklılıklar önem taşır. Son olarak, biyolojik örnekler arasında tek bir miRNA için dahi dizi uzunluğu çeşitlilikleri olabilir. Bir çok olguda, bu durum "isomiR" olarak adlandırılan varyantlara bağlıdır. isomiR'ler, olgun miRNA'ların 3' ucuna post-transkripsiyonel nükleotid eklenmesi sonucu oluşurlar. 3' ucunda ekzonükleotik ayrılma gerçekleşerek standart miRNA'dan daha kısa diziler oluştuğu da varsayılır⁸⁵.

Yukarıda sayılan zorluklara karşın üç temel miRNA profillendirme yöntemi tanımlanmıştır. Bunlar; kantitatif revers transkripsiyon PZR, hibridizasyon temelli

metodlar (ör; DNA mikroarrayler) ve yüksek çıktılı dizilemedir (transkriptom dizileme)⁸⁵.

Kantitatif revers transkriptaz PZR temelli yöntemler, miRNA'nın cDNA'ya selektif revers transkripsiyonu ve bunu takiben kantitatif PZR ile oluşan reaksiyon ürününün gerçek zamanlı gözlenmesi işlemine dayanır⁸⁵ (Şekil 2-5).



Şekil 2-5: Kantitatif revers transkriptaz PZR

Hibridizasyon temelli yöntemlerden olan mikroarray, geniş sayıdaki miRNA'ların paralel analizleri için kullanılmış ilk yöntemdir. Bu yaklaşımın bir çok çeşidi geliştirilmiştir. DNA temelli probalar floresanla işaretlenmiş miRNA'ları yakalamak için kullanılır; bunu takiben slaytlar taranır ve floresansın kantifikasyonu yapılır⁸⁵.

Yeni nesil dizileme platformlarının gelişi üçüncü temel miRNA ekspresyon profillendirme yaklaşımı olan RNA dizilemeye olanak sağlamıştır. Genel yaklaşım, ilgili RNA'dan küçük RNA cDNA kütüphanesinin hazırlanmasıyla başlar. Kütüphanedeki milyonlarca tekil cDNA molekülünden "çok büyük ölçekte paralel" dizileme gerçekleşir. Dizileme okumalarının biyoenformatik analizleri veri setlerindeki

bilinen ve yeni tanımlanan miRNA'ları belirler. Dijital yaklaşımı kullanarak rölatif kantifikasyon sağlar⁸⁵.

2.7.2.1. Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR (GZ-PZR)

GZ-PZR nükleik asitlerin miktarlarının belirlenmesinde kullanılan güncel bir metottür. GZ-PZR'de oluşan ürün miktarı reaksiyon boyunca oluşan ürün miktarıyla orantılı olarak artan floresan boya ve propların verdiği sinyalin izlenmesiyle saptanır⁸⁶. Belirli miktardaki DNA moleküllerinin elde edilmesi için de belli miktarda devir sayısı gereklidir. Oluşan ürün miktarının saptanması için iki belirleme yöntemi mevcuttur⁸⁷.

Özgül olmayan çift zincirli DNA'nın çoğaltımında "SYBR Green I" yöntemi kullanılır. Bu yöntemde kullanılan floresan boya sadece çift zincirli DNA'ya bağlandığından çoğalan DNA miktarındaki artışa paralel olarak GZ-PZR cihazında okunan floresan miktarı da eş zamanlı olarak artar⁸⁷.

DNA parçasında özel bir bölge çoğaltılmak isteniyorsa, bu bölgenin saptanması için floresan işaretli proplar kullanılır. TaqMan prob, Molecular beacon", "Light-up" prob, hibridizasyon prob ve "Scorpion" primer gibi floresan işaretli propların kullanıldığı farklı teknikler mevcuttur⁸⁷.

Bir hidroliz prob olan UPL (Universal Probe Library) proplar Roche (Almanya, 2005) firması tarafından kullanıcı kolaylığı sağlamak amacıyla geliştirilmiştir. UPL propların 5' ucunda florofor (6-karboksifloresin, 6-FAM) ve 3' ucunda baskılayıcı (6-karboksitetrametil-rodamin, TAMRA) eklentiler bulunmaktadır. 3' uçtaki baskılayıcı TAMRA boyası, 5' uçtaki FAM boyasının sinyal oluşturmasını engeller. Bu sebeple UPL prob hedef DNA'ya bağlı iken düşük floresan sinyal ölçümü alınır. Çoğaltılma sürecinde hedef nükleik asit dizisini üzerine proplar bağlanır; primerlerin bağlanmasının ardından yeni zincir oluşmaya başlar. Probu bağlı olduğu bölgeye gelindiğinde Taq DNA polimeraz enzimi 5'→3' nükleaz aktivitesi ile FAM'ı probdan ayırır. Serbest hale geçen FAM floresan sinyal oluşturur. Her çoğaltım devrinde ürün miktarı arttıkça eş zamanlı olarak floresan sinyal düzeyi de artar.

2.8. Biyoformatik Araçlar

Karmaşık biyolojik verilerin derlenmesi ve analiz edilmesinde biyoformatik yöntemlerden faydalanılır. mirWalk, GeneDistiller, OMIM, HomoloGene, NCBI/Gene

gibi çevrimiçi veri tabanları genetik çalışmalarda kullanılan biyoenformatik araçlardandır.

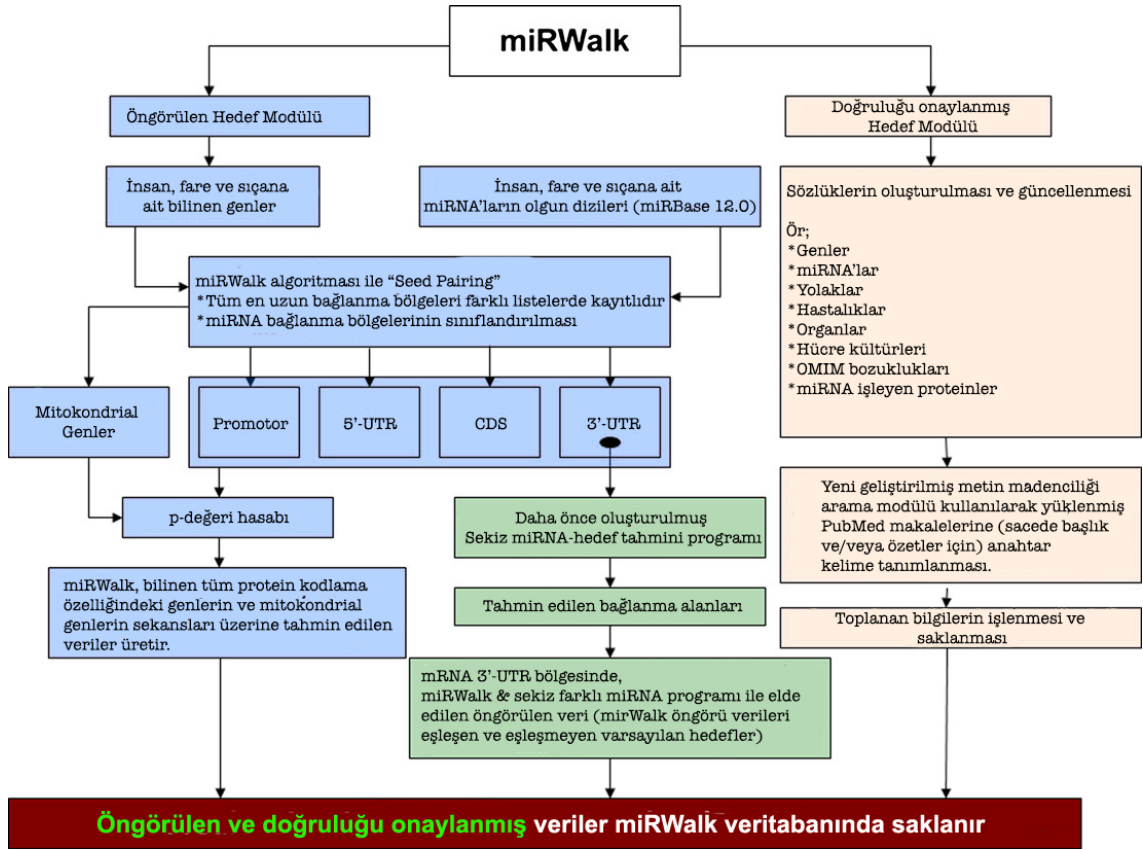
2.8.1. miRWalk

miRNA'ların, mRNA'ların 3'-UTR bölgesine komplementer olarak bağlanarak transkripsiyonu baskılama ya da mRNA degradasyonunu tetikleme yoluyla gen ekspresyonunu düzenledikleri bilinmektedir. Bununla birlikte artan kanıtlar miRNA'nın hedef gen ekspresyonunu promotor ve aminoasit kodlayan bölgelere bağlanarak düzenleyen bir mekanizmanın varlığını ortaya koymaktadır. Mevcut veri tabanlarının çoğu mRNA 3'UTR bölgesine bağlanan miRNA'larla sınırlıdır. Bu nedenle insan, fare ve sıçan için bilinen tüm genlere ait bilgilerin yanı sıra, öngörülen ve bilinen miRNA bağlanma bölgelerini, içerdiği hesapsal yöntemlerle bulma özelliği de olan bir veri tabanı olarak *miRWalk* kullanıma sunulmuştur⁸⁸.

miRWalk tüm mRNA'lar, mitokondrial genler, bilinen tüm insan genleri ve bu genlerin 5' ve 3' yönüne 10kb'lık mesafedeki komşu dizilerini içerdiği sekiz farklı algoritmayı kullanarak analiz etme özelliğinde olan bir çevrimiçi yazılımdır⁸⁸.

miRWalk miRNA-hedef etkileşimi hakkında öngörülen ve doğruluğu onaylanmış bilgileri kullanıma sunar⁸⁸.

miRWalk çalışma prensibi, Şekil 2-6'de açıklanmış olan, miRNA ve gen dizileri arasındaki çoklu- ardıl Watson-Crick komplementer alt dizilerini tanımlamak amacıyla Perl programlama diliyle yazılmış bir bilgisayar yaklaşımından temel alır⁸⁸.



Şekil 2-6: miRWalk algoritması ve otomatik metin madenciliği modülü akış şeması – Dweep'ten⁸⁸

miRBase, TarBase, miRecords ve miR2Disease, genler, hastalıklar, organlar ve yolaklarla ilişkili deneysel olarak valide edilmiş miRNA hedefleri için iyi bilinen veri tabanlarıdır. miRWalk'un "Bilinen Hedefler" modülü, miRNA etkileşimleri ile ilgili tüm dağılık bilgileri aynı formatta sunar. Bu modülün tüm bilgileri PubMed veri tabanından elde edilmiştir. Tüm bu girdiler PubMed tanımlayıcıları kullanılarak PubMed veri tabanına bağlanmış ve özetlere doğrudan erişim mümkün kılınmıştır⁸⁸.

2.8.2. GeneDistiller

Bağlantı çalışmaları sıklıkla yüzlerce pozisyonel aday gen içeren aralıklar ortaya koyar. GeneDistiller, bu genlerin arasında hastalık sebebi olma ihtimali en yüksek genin saptanmasında kullanılabilen, bir çok veri kaynağına bilgiye dayalı, interaktif ve sezgisel erişim sağlayan internet tabanlı bir uygulamadır. Gen-fenotip ilişkisi, gen ekspresyon paterni ve protein-protein etkileşimleri gibi bir çok veri kaynağından elde edilen bilgileri merkezi bir veri tabanında toplar. Yüksek düzeyde alakalı bilgiyi ortaya

koyarak araştırıcının veri yığınının içinde kaybolmamasını saęlar⁸⁹.
(<http://www.genedistiller.org/>)

2.8.3. OMIM[®]

Genetik varyasyon ve fenotipik ekspresyon arasındaki ilişki üzerine odaklanmış insan genlerinin, genetik bozuklukların ve kalıtsal özelliklerinin sürekli olarak güncellenen katalogudur. OMIM[®] yayınları ilgili literatür referanslarına, sekans kayıtlarına, haritalara ve ilişkili veri tabanlarına bağlantılar verir⁹⁰.
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>)

2.8.4. HomoloGene

Seçilmiş ökaryotik organizmalardan otomatik olarak oluşturulmuş homolog gen setleri ve onlara uygun mRNA, genomik ve protein dizi verilerini içerir⁹⁰.
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/homologene>)

2.8.5. NCBI/Gene

Tamamen dizilenmiş ve gene özgü veriye katkıda bulunan, aktif olarak araştırılan genomlar üzerine yoğunlaşmış bir gen veri tabanıdır. Gen kayıtları nomenklatür, kromozomal lokalizasyon, gen ürünleri ve özellikleri (ör: protein etkileşimleri), ilişkili belirteçler, fenotipler, etkileşimler gibi bilgileri ve atıflar, diziler, varyasyon ayrıntıları, haritalar, ekspresyon raporları, homologlar, protein *domain* içerikleri, harici veri tabanlarına linkleri içerir⁹⁰.
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>).

Yukarıda tarif edilen biyoformatik araç ve yöntemler kullanılarak tespit edilen *TNF α* , *TGF β* , *IL1- β* , *IL6-R*, *CD28* genleri *miR-27b*'nin hedef alabileceği genler olarak belirlenmiştir.

2.9. *miR-27b* ve Hedef Genler

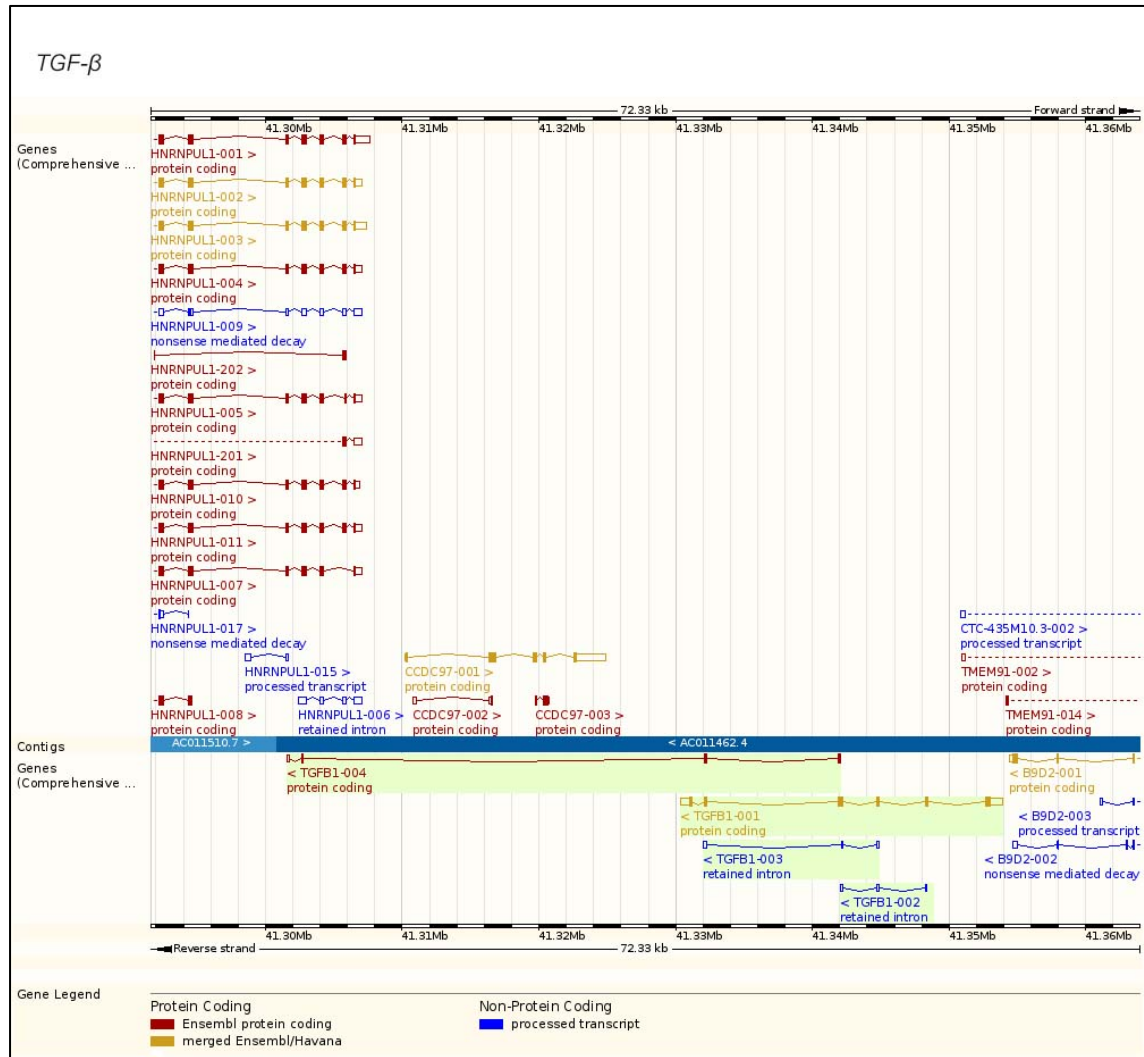
miR-27b'ye ait uygun sekans, ID numaraları, sitogenetik lokasyonu Tablo 2-1'de gösterilmiştir. *miR-27b*'nin otoimmün mekanizmada etkili olabilecek hedef genleri arasından seçilen *TNF α* , *TGF β* , *IL1- β* , *IL6-R* ve *CD28*'e ait GenBank erişim numaraları, sitogenetik lokasyonları, transkript varyantları ve *miR-27b*'nin bağlanma bölgeleri Tablo 2-2'de, transkript varyantları Tablo 2-3'te verilmiştir.

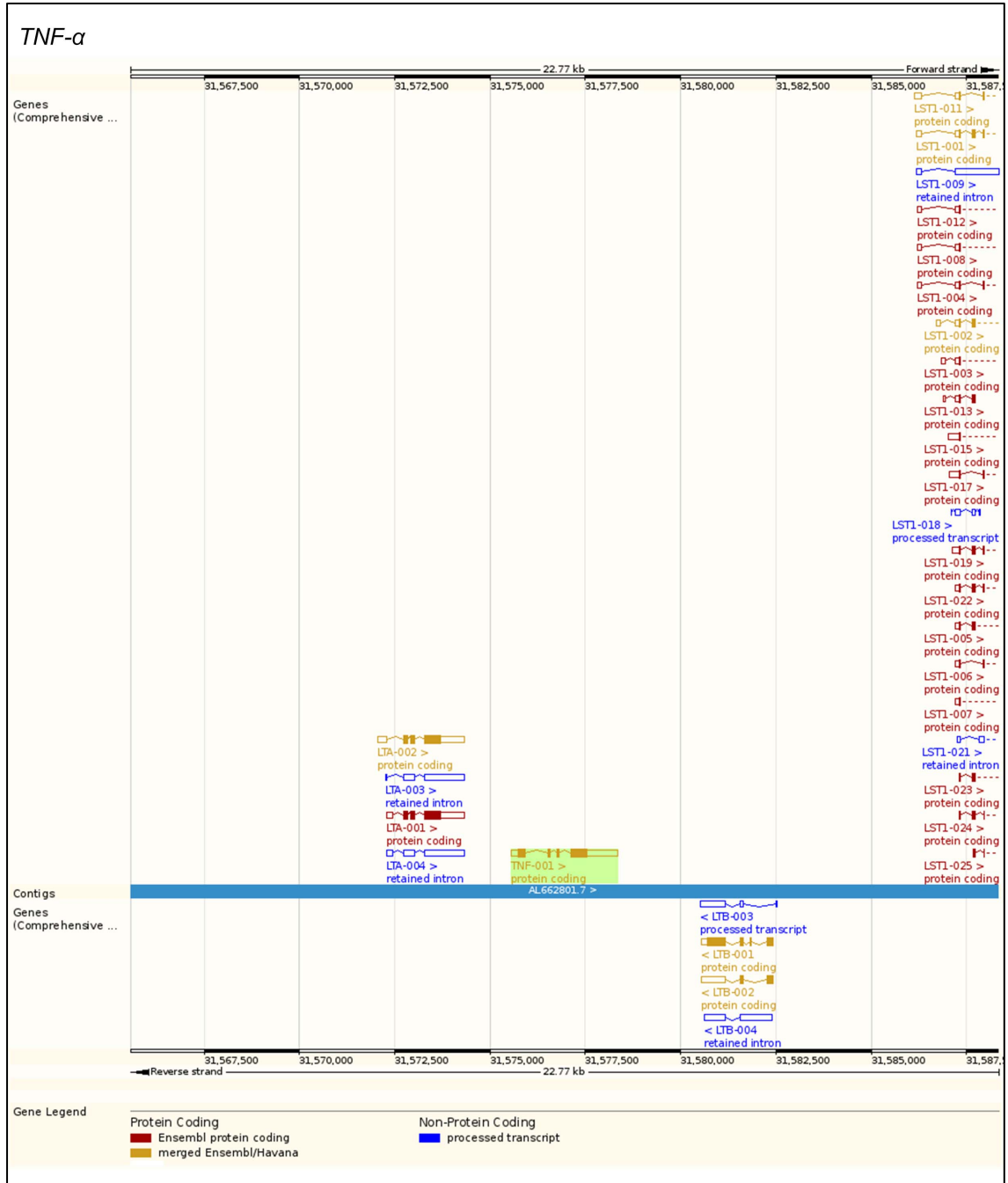
Tablo 2-1: miR-27b'nin özellikleri

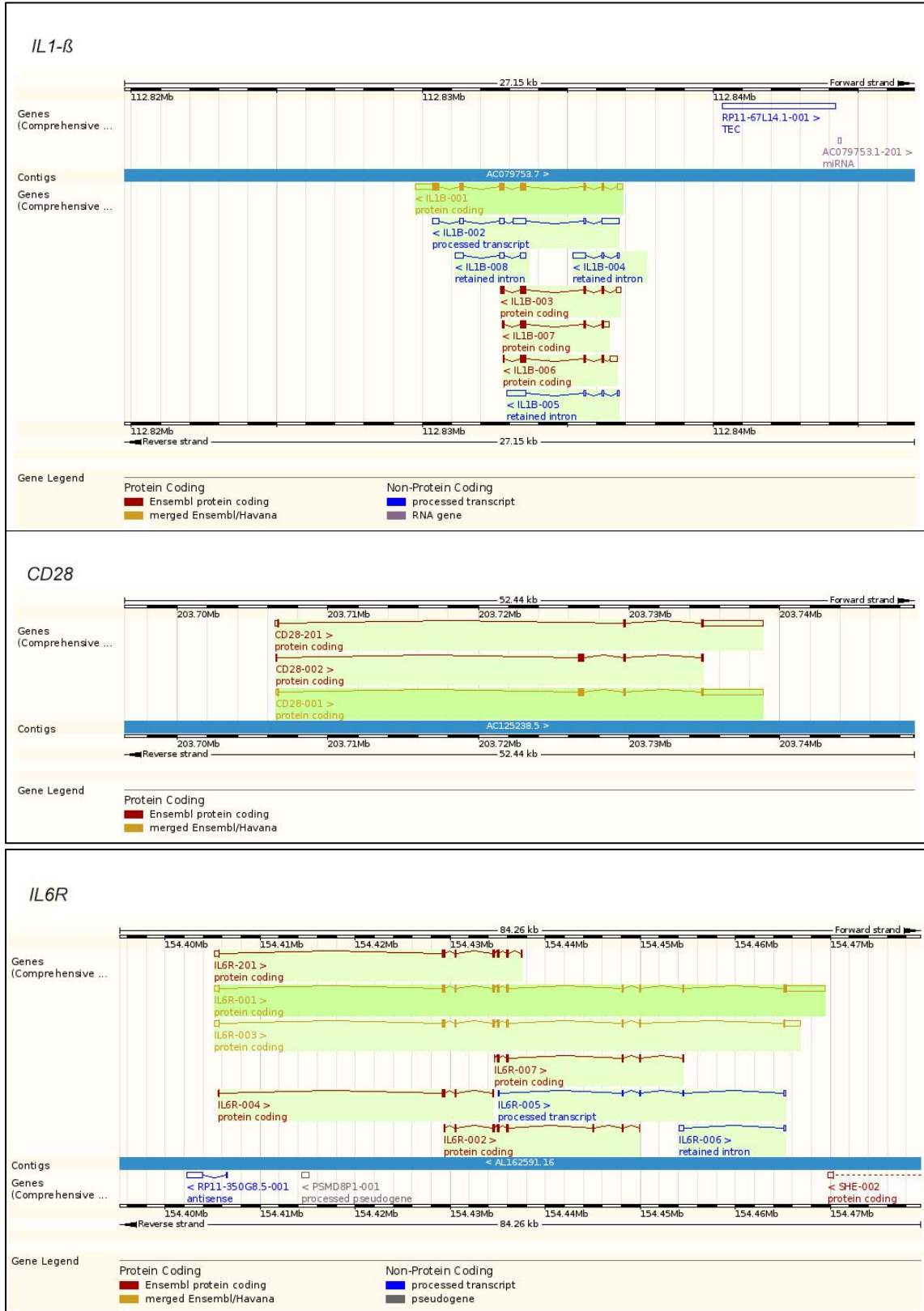
MikroRNA	MIID	Sanger MatureID	Olgun Sekans	Sitogenetik lokasyon
hsa-miR-27b	MI0000440	MIMAT0000419	uucacaguggcuaaguucug	9q22.32

Tablo 2-2: miR-27b'nin hedef aldığı genler ve özellikleri

Gen adı	GenBank erişim no	Sitogenetik lokasyon	Ekzon sayısı	Transkript varyantı	miRNA bağlanma bölgesi	Fonksiyonu
TNFα	NM_000594	6p21.33	4	1	-	Aktive mononükleer fagositler tarafından sentezlenir. Nötrofillerin ve monositlerin enfeksiyon bölgesine göçünün uyarılması ve bu hücrelerin stimülasyonu. Vasküler endotelial hücrelerinin adezyon molekülleri sergilemeleri, makrofaj ve endotelial hücrelerin kemokin sentezlemeleri, karaciğerde akut faz reaktanlarının üretimi ³² .
TGFβ	NM_000660	19q13.1	7	4	-	Aktive T hücreleri, mononükleer fagositler, ve diğer hücreler tarafından sentezlenir. T hücrelerinin çoğalma ve farklılaşmaları ile makrofaj aktivasyonunu inhibe ederek proenflamatuvar sitokinlere karşı etkide bulunur ³² .
IL6-R	NM_000565	1q21	12	8	3' UTR	Akut faz proteinlerinin sentezi, antikor yapan B hücrelerinin büyümelerinin uyarılması ³²
IL1-β	NM_000576	2q13	7	8	-	Bölgesel enflamatuvar olaylara aracılık eder. Endotel hücre adezyon moleküllerinin indüklenmesi, endotelial hücreler ve makrofajlar tarafından kemokin yapımının uyarılması, karaciğerde akut faz reaktanlarının uyarılması ve ateş ³²
CD28	NM_006139	2q33	4	3	Promotor	T hücre proliferasyonu ve devamlılığı, sitokin üretimi ve T _H 2 gelişimi ³²

Tablo 2-3: *miR-27b*'nin hedef aldığı genlere ait transkript varyantları

Tablo 2-3: *miR-27b*'nin hedef aldığı genlere ait transkript varyantları (Devam)

Tablo 2-3: *miR-27b*'nin hedef aldığı genlere ait transkript varyantları (Devam)Tablolar <http://www.ensembl.org/>'dan alınmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Materyal

3.1.1. Çalışma Grubu

Bu tez çalışması kapsamında İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi A.D. Ağız, Diş ve Çene Hastalıkları Kliniği'nde, DSÖ'nün modifiye edilmiş tanı kriterlerine⁹¹ göre klinik ve histopatolojik incelemeler sonucu OLP tanısı konulmuş, 24-73 yaş aralığındaki 52 bireyin, yazılı bilgilendirilmiş onamlarının alınmasını takiben, yanak içinde yerleşim gösteren OLP lezyonlarından cerrahi olarak elde edilmiş biyopsi örnekleri kullanılmıştır.

Çalışma grubunun ağız içi muayenesi tek diş hekimi tarafından, dental reflektör ışığı altında, ayna, sond, preselden oluşan muayene seti kullanılarak yapılmıştır. Yaş, cinsiyet, sistemik hastalık öyküleri, oral lezyonlarına bağlı öyküleri, lezyonların klinik görünümü, ağız içindeki yerleşimleri, kullanılan ilaçlar, dental restorasyonları, hematolojik bulguları, dental restorasyonlara karşı alerji testi sonuçları çalışma grubu takip formu ('Formlar' bölümünde verilmiştir) kullanılarak kayıt altına alınmıştır.

Çalışma grubuna dahil edilen bireylere, biyopsi alınmadan ve dolayısıyla çalışma dokuları elde edilmeden önce lezyonda *C. albicans* kültür testi yapılmıştır (üç kişi kültür testi yaptırmayı reddetmiştir). *C. albicans* enfeksiyonun histopatolojik sonuçları etkilememesi için lezyonda *C. albicans* üreyen bireyler biyopsi işlemi öncesinde 14 gün boyunca, günde dört defa, ikişer dakika *Mikostatin Oral Süspansiyon* (etken madde: nistatin) ile ağızları çalkalatılarak tedavi edilmiştir. Biyopsi işlemi bu tedaviyi takiben gerçekleştirilmiştir.

Sistemik kortikosteroid tedavisi altında olan, OLP dışında herhangi bir dermatolojik, oral mukozal veya enflamatuvar hastalığı bulunan, herhangi bir nedenle immünsüpresan ilaç kullanmakta olan ve 18 yaşın altındaki bireyler çalışma dışı bırakılmışlardır.

Çalışma İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 19.09.2012 tarih ve 1447 sayılı onayı ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma ile ilgili destek İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri Biriminden alınmıştır.

3.1.2. Konrol Grubu

OLP'li bireylerden elde edilen dokularda saptanan *miR-27b* ve hedef gen ekspresyonlarını karşılaştırmak amacıyla, herhangi bir oral mukozal hastalığı bulunmayan bireylerden elde edilen yanak içi mukoza dokusu kullanılmıştır. Bu materyaller, çalışma hakkında yazılı ve sözlü olarak bilgilendirilmiş ve yazılı bilgilendirilmiş onam formlarını imzalamış 34 gönüllü bireyin gömülü üçüncü büyük azı dişinin cerrahi olarak çekimi esnasında elde edilmiştir. Çalışma grubunun ağız içi muayenesi tek diş hekimi tarafından, dental reflektör ışığı altında, ayna, sond, preselden oluşan muayene seti kullanılarak yapılmıştır. Yaş, cinsiyet, sistemik hastalık öyküleri, sigara, alkol alışkanlıkları gibi bilgiler kontrol grubu takip formuna ('Formlar' bölümünde verilmiştir) kaydedilmiştir.

Materyal toplanma döneminde oral mukozal ve dermatolojik bulguya rastlanan bireyler çalışma dışı bırakılmışlardır.

3.2. Yöntem

3.2.1. *miR-27b*'nin Hedef Aldığı Genlerin Belirlenmesi

miR-27b'nin 3'UTR, 5'UTR, promotor ve protein kodlayan bölgelerine bağlandığı öngörülen genler ve *miR-27b*'nin hedef aldığı onaylanmış genler çalışma algoritması daha önce anlatılmış olan miRWalk platformunda listelenmiştir (Şekil 3-1). *miR-27b*'nin hedef aldığı öngörülen 2051 adet ve onaylanmış 92 adet gen saptanmıştır.

miRWalk The Database on Predicted and Validated microRNA Targets

Predicted Targets Validated Targets Documentation Disclaimer Contact

miRNA predicted target search

Species: Human

Identifiers: mir-27b

Upload a file: Dosya Seç Dosya seçilmedi

Gene Region:

Options:

Comparative analysis by 8 prediction programs:

SEARCH

MicroRNA	Gene	RefseqID	Seed Length	Start	Sequence	End	Region	Pvalue
hsa-miR-27b	CNGA3	NM_001298	12	3159	UUCACAGUGGCU	3148	3 UTR	0.0001
hsa-miR-27b	C10orf67	NM_153714	12	625	UUCACAGUGGCU	614	3 UTR	0.0001
hsa-miR-27b	ZNF329	NM_024620	12	3243	UUCACAGUGGCU	3232	3 UTR	0.0001
hsa-miR-27b	ZNF70	NM_021916	12	2897	UUCACAGUGGCU	2886	3 UTR	0.0001
hsa-miR-27b	RNF24	NM_007219	12	1547	UUCACAGUGGCU	1536	3 UTR	0.0002
hsa-miR-27b	NUP210	NM_024923	11	6411	UUCACAGUGGC	6401	3 UTR	0.0003
hsa-miR-27b	GBGT1	NM_021996	11	1469	UUCACAGUGGC	1459	3 UTR	0.0001
hsa-miR-27b	KCNJ10	NM_002241	11	1835	UUCACAGUGGC	1825	3 UTR	0.0008
hsa-miR-27b	ZNF385C	NM_001013624	11	1716	UUCACAGUGGC	1706	3 UTR	0.0003
hsa-miR-27b	IL6R	NM_000565	11	2097	UUCACAGUGGC	2087	3 UTR	0.0006

Şekil 3-1: Veri tabanlarından miR-27b'nin hedef genlerinin belirlenmesi

miRWalk platformunda saptanan tüm genler, genlerin rol aldıkları yollar, ilişkili buldukları hastalıklar, OMIM® verileri, genin fonksiyonu ile ilgili kısa açıklamalardan oluşan GeneRIF verileri gibi verileri bir arada ortaya koyan GeneDistiller platformunda analiz edilmiştir. OLP'nin etiyolojisinde etkili olduğu düşünülen otoimmün mekanizmalarla ilişkili olduğu bulunan *TNF α* , *TGF β* , *IL1- β* , *IL6-R*, *CD28* genleri çalışmada ekspresyon düzeyleri incelenmek üzere seçilmiştir.

3.2.2. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Yazılı bilgilendirilmiş onam formunun imzalanmasını takiben; OLP'li bireylerden teşhise yönelik rutin biyopsi uygulaması esnasında lezyondan; kontrol

grubundan gömülü üçüncü büyük azı dişi çekim operasyonu esnasında operasyon alanındaki sağlıklı dokudan 4 mm'lik punch biyopsi aleti ile mukoza örneği elde edilmiştir. Yara yeri 3,0 ipek dikiş ile primer olarak kapatılmış ve dikişler bir hafta sonra alınmıştır. Örneklerin her biri hemen önce sıvı azot tankı içinde konarak -196 °C'de dondurulmuş; takiben -80 °C sıcaklıktaki derin dondurucuya yerleştirilmiş ve deney aşamasına kadar burada saklanmıştır.

3.2.3. Dokuların Homojenizasyonu ve RNA İzolasyonu

Doku homojenizasyonu ve RNA izolasyonu için total RNA izolasyon kiti (miRNeasy Mini Kit, Qiagen Science, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Doku homojenizasyonu için total RNA izolasyon kiti protokolüne uygun olarak trizol (QIAzol Lysis Reagent, Qiagen Science, USA.) kullanılmıştır.

Derin dondurucuda -80°C'de saklanan doku örneklerinin buz üzerine alınmasını takiben, her doku örneği, 700µl trizol ile birlikte 2 ml'lik tüplere aktarılmış ve otomatik homojenizatör ile doku partikülleri çıplak gözle görünmez oluncaya kadar parçalanmıştır. Bu işlemden sonra, homojenat 5 dakika oda sıcaklığında (15-25°C) beklemeye bırakılmıştır. 5 dakika sonunda 140µl kloroform homojenata eklenmiş ve 15 saniye boyunca güçlü bir şekilde çalkalanarak iyice karışması sağlanmıştır. Karışım oda sıcaklığında 2-3 dakika inkübe edildikten sonra 12.000 xg ve +4 °C'da 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonunda oluşan üst faz yeni bir tüpe aktararak 525 µl %100'lük etanol eklenmiş ve vorteks cihazı ile etanolün iyice karışması sağlanmıştır. 700 µl karışım miRNeasy 2 ml filtreli tüplere aktarılmış ve 15 s, 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Bu işlemin ardından filtreden geçerek tüpte biriken sıvı atılmıştır. Aynı işlem 700 µl RWT ve ardından 500 µl RPE yıkama çözeltisi ile tekrarlanmıştır. Benzer şekilde 500 µl RPE yıkama çözeltisi filtreli tüpe eklenerek bu sefer 2 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edilmiş ve tüpün içinde biriken sıvı tekrar atılmıştır. Bu işlemin ardından 2 µl'lik miRNeasy tüpten filtre kısmı çıkarılarak yeni bir 1,5 ml'lik tüpe yerleştirilmiştir. İçerisine 30µl Rnase-free su konularak 1 dakika boyunca 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Bu işlemin sonunda RNA, filtreden tüpe Rnase-free su içinde çözülerek aktarılmıştır.

3.2.4. RNA Kalite ve Kantite Tayini

RNA konsantrasyonu ve kalitesinin tayini için spektrofotometre (nd-1000, NanoDrop Technologies Inc., Wilmington, USA) kullanılmıştır. Ölçüm için 1 µl RNA

kullanılmıştır. 260, 230 ve 280 nm dalga boylarında spektrofotometrik inceleme yapılmıştır. Sonuçlar 260 nm konsantrasyonu, 260 nm/ 280 nm ve 260 nm/ 230 nm ise saflığı verecek şekilde yorumlanmıştır. 260 nm/ 280 nm oranının kabul aralığı 1.9-2.0, 260 nm/ 230 nm oranının kabul aralığı ise 2.0-2.2 olarak değerlendirilmiştir. Bu aralıklar dahilinde kalan RNA'lar saflık açısından çalışmaya elverişli kabul edilmiştir.

Küçük RNA'ların değerlendirilmesinde biyoanalizör (Agilent 2100 Bioanalyzer Instrument, Agilent Technologies Inc. California, USA) ile birlikte 6-150 nt'lik küçük RNA'ların hızlı ve hassas şekilde değerlendirilmesini sağlayan "The Small RNA Kit" (Agilent Technologies Inc. California, USA) kullanılmıştır.

3.2.5. cDNA Sentezi

cDNA sentezinde genel olarak RT-PZR yöntemi kullanılmıştır. Stem-loop RT-PZR ve ardından yapılan kantitatif PZR, miRNA gen ekspresyon profilinin tespitinde hızlı ve hassas bir yöntemdir. Stem-loop RT-PZR yöntemi, DNA kontaminasyonundan etkilenmez, olgun miRNA'lara özgüdür ve ilgili miRNA'lar arasındaki bir nükleotidlik farkı bile ayırt eder. Bu çalışmada *miR-27b*'ye özgü stem-loop RT primerler kullanılarak total RNA'dan hedef bölgeye özgü cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir.

Bunun yanında *miR-27b*'nin hedef aldığı genler olarak tespit edilen genlerin oral mukozadaki ekspresyon durumlarının araştırılmasına yönelik olarak da, cDNA sentezinde 6mer olarak dizayn edilen ve cDNA sentezini spesifik bir bağlanma bölgesi olmaksızın gerçekleştiren oligonükleotidler kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm RT-PZR yöntemlerine ait protokol Tablo 3-1'de gösterilmiştir.

Tablo 3-1: RT-PZR yöntemlerine ait protokoller'

(a) Total RNA cDNA			(b) miRNA Spesifik cDNA		
5mM	Primer	1µl	5mM	Primer	1µl
10mM	dNTP	1µl	10mM	dNTP	1µl
100ng/ul	RNA	10µl	100ng/ul	RNA	10µl
65 °C 5'			65 °C 5'		
	5x tampon çözelti	4µl		5x tampon çözelti	4µl
	Rnase inhibitor	0,5µl	0.1M	DTT	2µl
0.1M	DTT	2µl	42°C 2'		
200U/ul	SuperScript® III Revers Transkriptaz (Invitrogen-Life Technologies)	1µl	200U/ul	SuperScript® III Revers Transkriptaz (Invitrogen-Life Technologies)	1µl
25°C 10'			42°C 50'		
42°C 60'			70°C 15'		
70°C 10'					

3.2.6. Primer ve Prob Dizaynı

miR-27b'nin hedef aldığı düşünülen ve referans olarak belirlenen gene özgü GZ-PZR primerlerinin ve UPL problemlerinin belirlenmesinde online primer dizayn yazılımı (Assay Design Center, ROCHE) kullanılmıştır. Hedef genlere ait primerler ve prob numaraları Tablo 3-2'de, referans gen *ABL*'e (NM_007313.2) ait primer ve prob numarası Tablo 3-3'te gösterilmiştir. *miR-27b*'ye ait GZ-PZR ve Stem-loop PZR'de kullanılan primerler ve UPL prob numarası ise Tablo 3-4'te; *miR-27b* için belirlenen referans gen *SNORD24*'e (NR_002447) ait GZ-PZR ve Stem-loop PZR'de kullanılan primer ve UPL prob numarası Tablo 3-5'te verilmiştir.

Tablo 3-2: Hedef genlere ait GZ-PZR primer dizileri ve UPL prob numaraları

TNF- α					
Primer	Uzunluk	Pozisyon	Tm	%GC	Sekans
Sol	21	274 - 294	59	52	cagcctcttctccttctctgat
Sağ	20	377 - 396	59	55	gccagagggtgattagaga
Amplikon (123 nt)					
cagcctcttctccttctctgatcgtggcaggcggcaccacgctcttctgcctgctgcactttggagtgatcgccccagagggaagat tccccaggacctctctctaatcagccctctggc					
UPL Prob No: 29					
TGF- β					
Primer	Uzunluk	Pozisyon	Tm	%GC	Sekans
Sol	22	1187 - 1208	59	55	actactacgccaaggaggtcac
Sağ	24	1236 - 1259	60	38	tgcttgaactgtcatagatttcg
Amplikon (73 nt)					
actactacgccaaggaggtcaccccgctgctaatgggtggaaccacacgaaatctatgacaagttcaagca					
UPL Prob No: 31					
IL6R					
Primer	Uzunluk	Pozisyon	Tm	%GC	Sekans
Sol	20	1521 - 1540	59	55	gtaccactgcccacattcct
Sağ	20	1600 - 1619	59	50	cagcttccacgtcttcttga
Amplikon (99 nt)					
gtaccactgcccacattcctcgttggctggaggagcctggccttcggaacgctcctctgcattgccattgttctgaggtcaagaagac gtggaagctg					
UPL Prob No: 67					
IL1- β					
Primer	Uzunluk	Pozisyon	Tm	%GC	Sekans
Sol	20	761 - 780	60	50	tacctgtcctgcgtgttgaa
Sağ	23	814 - 836	60	35	tctttggtaatttttgggatct
Amplikon (76 nt)					
tacctgtcctgcgtgttgaaagatgataagccactctacagctggagagtgtagatccccaaaattacccaaaga					
UPL Prob No: 78					
CD28					
Primer	Uzunluk	Pozisyon	Tm	%GC	Sekans
Sol	23	661 - 683	59	39	cagtggcctttattattttctgg
Sağ	24	710 - 733	59	46	gtcatgttcatgtagtcactgtgc
Amplikon (73 nt)					
cagtggcctttattattttctgggtgaggagtaagaggagcaggctcctgcacagtgactacatgaacatgac					
UPL Prob No: 68					

Tablo 3-3: ABL'ye ait GZ-PZR primer dizileri ve UPL prob numarası

ABL					
Primer	Uzunluk	Pozisyon	Tm	%GC	Sekans
Sol	19	490 - 508	60	53	gcctgcccctgcattttatc
Sağ	18	582 - 599	60	56	atgctactggccgctgaa
Amplikon (110 nt)					
cagcctcttctccttctgatcgtggcagggcggcaccacgctcttctgctgctgcactttggagtgatcgccccagaggaagagt tccccagggacctctctctaatcagccctctggc					
UPL Prob No: 68					

Tablo 3-4: miR-27b'ye ait GZ-PZR primerleri, UPL prob numarası ve Stem-loop PZR primer dizisi

miR-27b (GZ-PZR primer)					
Primer	Uzunluk	Tm	%GC	Sekans	
Sol	22	58.09	45.45	TGttcacagtggttaagtctg	
Sağ	19	59.94	57.89	GTGCAGGGTCCGAGGT	
UPL Prob No: 21					
miR-27b (Stem-loop primer)					
Sekans				Tm	%GC
GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACcagagccaACTtcacagt				79,90	57,69

Tablo 3-5: SNORD24'e ait GZ-PZR primerleri, UPL prob numarası ve Stem-loop PZR primer dizisi

SNORD24 (GZ-PZR primer)				
Primer	Uzunluk	Tm	%GC	Sekans
Sol	23	61,81	43,48	TGCGGTGCAGATGATGTAAGA
Sağ	20	61,64	60,00	GTGCAGGGTCCGAGGTATTC
UPL Prob No: 21				
SNORD24 (Stem-loop primer)				
Sekans				%GC
GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACcagagccaACTGCATCAG				60,78

3.2.7. Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR (GZ-PZR)

GZ-PZR daha önce bahsedildiği gibi, floresan işaretleyicilerin kullanıldığı amplifikasyon ürünü miktarı arttıkça floresan yoğunluğunun da doğru orantılı olarak arttığı ve amplifikasyonun eş zamanlı olarak bilgisayar ekranından gözlemlenebildiği bir yöntemdir.

Bu çalışmada hidroliz prob çalışma prensibine dayanan UPL problemleri kullanılmıştır.

Toplam hacmi 7,5 µl olan Tablo 3-6'da verilen karışım 96 kuyu içeren plakalara dağıtılmıştır. Hazırlanan plakalara daha önce sentezlenen cDNA'lar (100 ng/µl) her bir kuyuya 2,5 µl olacak şekilde dağıtılmış ve ekspresyon çalışması için GZ-PZR cihazına konulmuştur (LightCycler® 480 Real-Time PCR System, Roche Applied Science, İstanbul-Türkiye) ve Tablo 3-7'de verilen program çalıştırılmıştır.

Tablo 3-6: GZ-PZR'de kullanılan karışım

Reaksiyon Karışımı	Miktarı
Forward Primer (5 pmol)	1µl
Reverse Primer (5 pmol)	1µl
Hidroliz Prob (20 µmol)	0,5µl
LightCycler 480 prob reaksiyon karışımı (2X)	4
dH ₂ O	1

Tablo 3-7: GZ-PZR için kullanılan program.

Program adı	pre-inkübasyon		
Devir	1	Analiz Modu	Yok
	Hedef (°C)	Bekleme (hh:mm:ss)	
	95	00:10:00	
Program adı	amplifikasyon		
Devir	45	Analiz Modu	Kantifikasyon
	Hedef (°C)	Bekleme (hh:mm:ss)	
	95	00:00:10	
	60	00:00:30	
	72	00:00:01	
Program adı	soğutma		
Devir	1	Analiz Modu	Yok
	Hedef (°C)	Bekleme (hh:mm:ss)	
	40	00:00:30	

3.2.8. Verilerin Normalizasyonu ve Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Kantitatif GZ-PZR uygulamalarında verilerin kantitatif olarak birbiriyle karşılaştırılabilir olması için her dokuda eşit miktarda ekspresyonu olduğu düşünülen referans genlere olan farkının alınması ve bunun PZR uygulamasındaki logaritmik DNA kopya sayısı artışıyla ilişkilendirilmesi gerekir. Bu işleme normalizasyon denir. Çalışmada GZ-PZR normalizasyonu için ΔCT yöntemi kullanılmıştır. Buna göre ekspresyon değeri belirlenmek istenen hedef gene ait gerçek zamanlı PZR cihazından çıkan CT değeri, tüm hücrelerde eşit düzeyde ekspresyonu olduğu düşünülen referans gene (*ABL*) ait CT değerinden çıkarılır.

Çalışmada istatistiksel yöntem olarak bir non-parametrik T-test metodu olan *Mann-Whitney U (MWU)* testi kullanılmıştır. Bu testin kullanılma amacı standart sapma değerleri yüksek fakat “aykırı değer” kabul edilmeyen değerlere bağlı olarak yapılan karşılaştırmanın kırılganlığını azaltmaktır. *MWU* testi iki örneklem verisini ele alarak bu verilerin aynı ya da farklı gruptan gelme durumunu inceler. Bununla birlikte yapılan istatistiksel değerlendirmede, ekspresyon değerleri ile ilgili olarak standart sapma değerleri hesaplanmış ve gruplardan standart eğrisinden üç birim sapma gösteren değerler yanlış negatif/pozitif sonuçlara yol açmaması için çıkarılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

4.1.1. Çalışma Grubu

Çalışma grubu takip formuna kaydedilen bilgiler Tablo 4-1'de gösterilmiştir. Takip formunda yer alan, bireylere ait medeni durum, öğrenim durumu, doğum yeri gibi kişisel verilere bu çalışmada yer verilmemiştir.

%75'i kadın (n=39) ve %25'i erkek (n=13) olmak üzere 52 OLP tanısı koyulan birey çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma grubunun yaşları 24 ile 73 arasında (ortalama: 52,1) değişmektedir. Çalışma grubunun % 46,2'si (n= 24) hipertansiyon, diyabet, tiroid, kardiyolojik hastalık, astım tanılarında en az birini aldıklarını belirtirken, %53,8'i (n=28) tanısı koyulmuş herhangi bir sistemik hastalıkları olmadığını ifade etmiştir. Çalışma grubunun %65,4'ü (n=34) herhangi bir sistemik ilaç kullanmazken, %34,6'sı (n=18) sistemik ilaç tedavisi altında olduklarını belirtmişlerdir. Çalışma grubunda sigara kullanım oranı %11,5'dir (n=6). Alkol tüketen bireylerin oranı %11,5 (n=6) olarak tespit edilmiştir. Çalışma grubunun hemogram sonuçları, total demir bağlama kapasitesi, demir, ferritin, folat, B12 vitamini düzeyleri değerlendirilmiştir. Çalışma grubunun %65,9'unda (n=27) herhangi bir değerinde eksiklik saptanmazken, %34,1'inde (n=14) bir veya birkaç değerinde eksiklik olduğu görülmüştür. Hematolojik tetkik yaptırmayı reddeden 11 birey değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Çalışma grubunun ağız içi muayenesi tek diş hekimi tarafından, dental reflektör ışığı altında, ayna, sond, preselden oluşan muayene seti kullanılarak yapılmıştır, ağız içini ilgilendiren tüm veriler bu muayeneler sonucunda elde edilmiştir. OLP lezyonlarının %48,1'i (n=25) düşük düzeyli enflamasyona bağlı hiperkeratozla karakterize retiküler OLP görünümünde, %51,9'u (n=27) şiddetli enflamasyona bağlı epitelde atrofi ve erozyonla karakterize atrofik ve/veya ülseratif OLP görünümünde ortaya çıkmıştır. OLP lezyonlarının klinik görünümleri ile ilgili ayrıntılı dağılım Tablo 4-2'de verilmiştir. Çalışma grubunun %73,1'i (n=38) lezyonlara bağlı acı ve yanmadan şikayetçiysen, %26,9'u (n=14) herhangi bir şikayet bildiriminde bulunmamıştır. Hastaların %51,9'unda (n=27) lezyonlar tek anatomik bölgede lokalize iken %48,1'inde (n=25) iki ya da daha fazla anatomik bölgede yerleşim gösterdiği not edilmiştir. %92,3'lük (n=48) oranla lezyonların en sık yerleşim gösterdiği alan yanak mukozası

olarak belirlenmiştir. Ağzında restorasyon (amalgam, kompozit dolgu, inlay, onlay, vb...) ve/veya protez (hareketli, sabit protezler, vb...) bulunanların oranı %75 iken (n=39), herhangi bir restorasyon ya da protezi olmayanların oranı %25'tir (n=13).

Restorasyonlarla lezyonların temas ilişkisi şu şekildedir:

Restorasyon yok: %25 (n=13)

Lezyonlar sadece restorasyonla temasta %11,5 (n=6)

Lezyonlar restorasyonla temas eden ve etmeyen bölgelerde %42,3 (n=22)

Lezyonlar restorasyonla temasta değil %21,2 (n=11)

Dental materyallere karşı alerji durumları incelenen 47 hastanın %51'inde (n=24) herhangi bir dental materyale karşı alerji saptanmamıştır, %49'unda (n=23) ise en az bir dental materyale karşı alerjik reaksiyon geliştiği gözlemlenmiştir. Bununla birlikte dental materyallere karşı alerji testinde pozitif sonuç almış 5 olgunun ağız içinde herhangi bir dental materyal taşımadıkları bilinmektedir. 5 hasta dental materyallere karşı alerji testi yaptırmayı reddettiği için değerlendirme dışı bırakılmışlardır.

OLP'li bireylerin lezyonlarından, tanıya yönelik biyopsi alınmasından ve çalışma örneği elde edilmesinden önce *C. albicans* kültürü istenmiştir. OLP'li bireylerin % 51'inde (n=25) lezyonda *C. albicans* üremezken, %49'unda (n=24) üremiştir. Üç birey kültür testi yaptırmayı reddettikleri için değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Tablo 4-1: Çalışma grubu takip formundan elde edilen veriler

ID	Cinsiyet	Yaş	Sistemik Hastalıklar	Sistemik ilaçlar	Sigara (Kullanıyor: + Kullanmıyor: -)	Alkol (Kullanıyor: + Kullanmıyor: -)	Protez ve/veya Restorasyon (var: +, yok: -)	Lezyonlara bağlı şikayet (var: +, yok: -)	Lezyon Yerleşimi	Klinik Görünüm	Lezyonun restorasyonla ilişkisi (var: +, yok: -)	Dental materyallere karşı alerji (var: +, yok: -)	Hematolojik eksiklik (var: +, yok: -)	Lezyonda C.Albicans kültürü (üredi +, üremedi - veri yok: Ø)
OLP1	K	53	Hipertansiyon, hipertiroid	-	-	-	+	+	Yanak içi (unilateral)	Retiküler	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	+	Ø	-
OLP2	K	47	-	-	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral), sert damak, komissuralar	Retiküler	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	-	-	-
OLP3	E	65	-	-	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral), sert ve yumuşak damak	Retiküler, Atrofik	Restorasyonla temasta değil	-	+	Ø
OLP4	K	55	-	-	+	+	+	-	Yanak içi (bilateral), gingiva (arka), yumuşak damak	Retiküler	Restorasyonla temasta değil	-	+	-
OLP5	K	64	Tansiyon, diyabet	+	-	-	+	+	Yanak içi (unilateral)	Atrofik	Restorasyonla temasta değil	-	+	+
OLP6	K	66	Hipertansiyon, diyabet, guatr	+	-	+	+	+	Yanak içi (bilateral), gingiva (tüm)	Retiküler, Atrofik	Restorasyon yok	-	Ø	Ø
OLP7	K	44	-	-	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral), gingiva (üst çene)	Retiküler, Atrofik	Restorasyon yok	+	-	-
OLP8	E	49	-	-	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral)	Retiküler	Restorasyon yok	-	-	+
OLP9	K	24	Hipotiroid	+	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral), gingiva (tüm)	Retiküler, Atrofik	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	+	+	+
OLP10	E	58	-	+	-	-	-	-	Yanak içi (unilateral)	Retiküler	Restorasyon yok	-	-	-
OLP11	K	29	-	-	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral), sulkuslar (alt çene)	Retiküler	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	-	Ø	+
OLP12	K	70	Hipertansiyon, astım, vertigo	+	-	-	-	+	Yanak içi (bilateral)	Retiküler, Atrofik	Restorasyon yok	-	Ø	+
OLP13	K	27	Hashimoto tiroidi	+	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral), gingiva (tüm), dil altı	Retiküler	Restorasyon yok	+	+	-
OLP14	E	45	-	-	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral), gingiva (tüm), dil altı	Retiküler, Atrofik, Ülseratif	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	Ø	-	-
OLP15	K	32	-	-	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral)	Retiküler, Atrofik	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	+	-	+
OLP16	E	33	-	-	+	-	+	-	Yanak içi (unilateral)	Retiküler	Sadece restorasyonla temasta	Ø	-	-
OLP17	K	47	-	-	-	-	+	+	Yanak içi (unilateral)	Retiküler, Atrofik	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	-	+	+
OLP18	K	53	Hipertansiyon	-	-	-	+	-	Yanak içi (unilateral)	Retiküler	Restorasyonla temasta değil	-	+	-
OLP19	E	73	Hipertansiyon, diyabet	+	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral)	Retiküler	Sadece restorasyonla temasta	-	+	+
OLP20	K	64	-	-	-	-	-	-	Yanak içi (bilateral), dil laterali (bilateral)	Retiküler	Restorasyon yok	Ø	Ø	-

Tablo 4-1: Çalışma grubu takip formundan elde edilen veriler (Devam)

ID	Cinsiyet	Yaş	Sistemik Hastalıklar	Sistemik İlaçlar	Sigara (Kullanıyor: + Kullanmıyor: -)	Alkol (Kullanıyor: + Kullanmıyor: -)	Pratez ve/veya Restorasyon (var: +, yok: -)	Lezyonlara bağlı şikayet (var: +, yok: -)	Lezyon Yerleşimi	Klinik Görünüm	Lezyonun restorasyonla ilişkisi	Dental materyallere karşı alerji (var: +, yok: -; veri yok: Ø)	Hematolojik eşliklik (var: +, yok: -; veri yok: Ø)	Lezyonda C.Albicans kültürü (üredi: +, üremedi: -; veri yok: Ø)
OLP21	K	34	Tiroid	+	-	-	-	+	Yanak (ç) (bilateral)	Retiküler, Ülsereatif	Restorasyon yok	-	-	+
OLP22	K	43	-	-	+	+	-	-	Gingiva (bölgesel), vestibüli mukozza (tüm)	Retiküler	Restorasyonla temasta değil	-	Ø	-
OLP23	K	44	-	-	-	-	+	+	Yanak (ç) (bilateral), gingiva (üst çene ön bölge)	Retiküler, Ülsereatif	Restorasyonla temasta değil	+	+	+
OLP24	K	63	Hipertansiyon, Hashimoto tiroidi	+	-	-	+	+	Yanak (ç) (bilateral)	Retiküler	Restorasyonla temasta değil	+	-	+
OLP25	K	49	Hipertansiyon, migren	+	-	-	+	+	Yanak (ç) (bilateral), dil sırtı	Retiküler	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	+	-	+
OLP26	K	53	Hipertansiyon, kolesterol, böbrek hastalığı	+	-	-	+	-	Yanak (ç) (unilateral), gingiva (üst çene)	Retiküler, Ülsereatif	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	+	Ø	-
OLP27	E	56	Diyabet	-	-	-	+	+	Yanak (ç) (bilateral), gingiva (alt çene), yumuşak damak	Retiküler, Atrofik, Ülsereatif	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	-	-	+
OLP28	K	63	-	-	-	-	+	-	Yanak (ç) (unilateral)	Retiküler	Restorasyonla temasta değil	-	Ø	-
OLP29	K	33	-	-	+	+	+	+	Yanak (ç) (bilateral), gingiva (tüm), dilateral (unilateral)	Retiküler, Atrofik	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	-	-	+
OLP30	K	68	Hipertansiyon, guatr	+	-	-	+	+	Yanak (ç) (bilateral), gingiva (alt çene), dil lateral (unilateral)	Retiküler, Atrofik, Ülsereatif	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	+	-	+
OLP31	E	52	Heprattit B taşıyıcı	-	-	-	-	-	Yanak (ç) (bilateral), gingiva (tüm)	Retiküler, Atrofik, Ülsereatif	Restorasyon yok	-	Ø	+
OLP32	K	62	-	-	-	-	+	+	Yanak (ç) (bilateral)	Retiküler, Atrofik	Restorasyon yok	+	-	-
OLP33	K	67	Hipertansiyon, diyabet, guatr	+	-	-	+	+	Yanak (ç) (bilateral)	Atrofik	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	-	+	+
OLP34	K	48	-	-	-	-	+	-	Yanak (ç) (unilateral)	Retiküler	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	+	-	-
OLP35	K	45	Hipertansiyon, Hashimoto tiroidi, reflü	+	-	-	+	+	Yanak (ç) (unilateral), gingiva (tüm), vestibüli mukozza (alt çene)	Retiküler, Atrofik, Ülsereatif	Restorasyonla temasta değil	+	-	+
OLP36	K	60	Hipertansiyon, astım, hipertiroid, romatizma	+	-	-	+	+	Yanak (ç) (bilateral), gingiva (tüm), vestibüli mukozza (ön)	Retiküler	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	+	+	+
OLP37	K	68	Diyabet, eklem romatizması	+	-	-	+	+	Yanak (ç) (bilateral)	Retiküler, Ülsereatif	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	-	+	-
OLP38	E	48	-	-	+	+	+	+	Yanak (ç) (bilateral)	Retiküler, Ülsereatif	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	Ø	-	-
OLP39	E	60	Hipertansiyon, diyabet, kolesterol	-	-	-	-	+	Yanak (ç) (bilateral)	Ülsereatif	Restorasyon yok	+	+	+
OLP40	K	49	-	-	+	-	+	-	Yanak (ç) (bilateral)	Retiküler	Restorasyonla temasta değil	+	-	-

Tablo 4-1: Çalışma grubu takip formundan elde edilen veriler (Devam)

ID	Cinsiyet	Yaş	Sistemik Hastalıklar	Sistemik ilaçlar	Sigara (Kullanıyor: + Kullanmıyor: -)	Alkol (Kullanıyor: + Kullanmıyor: -)	Protez ve/veya Restorasyon (var: +, yok: -)	Lezyonlara bağlı şikayet (var: +, yok: -)	Lezyon Yerleşimi	Klinik Görünüm	Lezyonun restorasyonla ilişkisi	Dental materyallere karşı alerji (var: +, yok: -; veri yok: Ø)	Hamatojik eksiklik (var: +, yok: -; veri yok: Ø)	Lezyonda C.Albicans Kültürü (Üredi: +, Üremedi: veri yok: Ø)
OLP41	K	73	-	-	-	-	-	+	Yanak içi (bilateral)	Retiküler, Üseratif	Restorasyon yok	+	-	+
OLP42	K	50	-	-	-	-	+	+	Yanak içi (unilateral)	Retiküler	Sadece restorasyonla temasta	+	-	-
OLP43	E	41	-	-	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral), komissürler, vestibül (alt/üst)	Retiküler, Atrofik	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	Ø	-	-
OLP44	E	64	Hipertansiyon	+	-	+	+	+	Yanak içi (bilateral)	Retiküler	Sadece restorasyonla temasta	+	-	Ø
OLP45	K	36	-	-	-	-	-	-	Gingiva (üst çene bilateral)	Retiküler	Restorasyon yok	-	+	-
OLP46	E	33	-	-	+	-	+	+	Yanak içi (bilateral), dil sırtı	Retiküler, Atrofik	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	+	-	-
OLP47	K	48	-	-	+	-	+	+	Yanak içi (bilateral)	Retiküler, Atrofik	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	+	-	+
OLP48	K	60	Hipertansiyon	-	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral)	Retiküler	Sadece restorasyonla temasta	-	-	-
OLP49	K	58	-	-	+	-	+	-	Komissür (unilateral)	Retiküler	Sadece restorasyonla temasta	+	Ø	-
OLP50	K	57	Hipertansiyon	-	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral), dil sırtı	Retiküler	Restorasyonla temasta değil	-	-	+
OLP51	K	63	Hepatit B taşıyıcı	-	-	-	+	+	Yanak içi (bilateral), sert damak	Retiküler	Rest. kontakta ve kontakta olmayan alanda	+	-	-
OLP52	K	64	Hipertansiyon, Barrett Özofagus	+	-	-	+	+	Tüm oral mukoza	Atrofik, Üseratif	Sadece restorasyonla temasta	-	Ø	+

Tablo 4-2: OLP lezyonlarının klinik görünümü

	<i>Retiküler</i>	<i>Atrofik</i>	<i>Ülseratif</i>		<i>Retiküler</i>	<i>Atrofik</i>	<i>Ülseratif</i>
OLP 1	x			OLP 27	x	x	x
OLP 2	x			OLP 28	x		
OLP 3	x	x		OLP 29	x	x	
OLP 4	x			OLP 30	x	x	x
OLP 5		x		OLP 31	x	x	x
OLP 6	x	x		OLP 32	x	x	
OLP 7	x	x		OLP 33		x	
OLP 8	x			OLP 34	x		
OLP 9	x	x		OLP 35	x	x	x
OLP 10	x			OLP 36	x		
OLP 11	x			OLP 37	x		x
OLP 12	x	x		OLP 38	x		x
OLP 13	x	x	x	OLP 39			x
OLP 14	x	x	x	OLP 40	x		
OLP 15	x	x		OLP 41	x		x
OLP 16	x			OLP 42	x		
OLP 17	x	x		OLP 43	x	x	
OLP 18	x			OLP 44	x		
OLP 19	x			OLP 45	x		
OLP 20	x			OLP 46	x	x	
OLP 21	x		x	OLP 47	x	x	
OLP 22	x			OLP 48	x		
OLP 23	x		x	OLP 49	x		
OLP 24	x			OLP 50	x		
OLP 25	x			OLP 51	x		
OLP 26	x		x	OLP 52		x	x

4.1.2. Kontrol Grubu

Kontrol grubu takip formuna kaydedilen veriler değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda yer alan 34 bireyin %58,8'i kadın (n=20) ve %41,2'si erkektir (n=14). Bireylerin yaşları 19 ile 65 arasında (ortalama: 33,8) değişmektedir. Kontrol grubundaki bireylerin %8,8'i (n=3) tiroid, kalp ve hipertansiyon hastalıklarından birine sahip olduklarını ve hastalıklarına yönelik sistemik ilaç tedavisi aldıklarını belirtmişlerdir; %91,2'si (n=31) herhangi bir sistemik hastalığı olmadığını ve sistemik ilaç

kullanmadıklarını ifade etmişlerdir. Kontrol grubunda sigara kullanım oranı %23,8'dir (n=7). Alkol tüketen bireylerin oranı %11,7 (n=4) olarak tespit edilmiştir. %35,3'ü (n=12) daha önce ağızlarında aft çıktığını belirtmiştir. Kontrol grubunun tümü daha önce aft haricinde ağız dokularını ilgilendiren bir hastalık geçirmediğini bildirmişlerdir. Daha önce dermatolojik hastalık geçirdiğini ifade edenlerin oranı %5,9'dur (n=2).

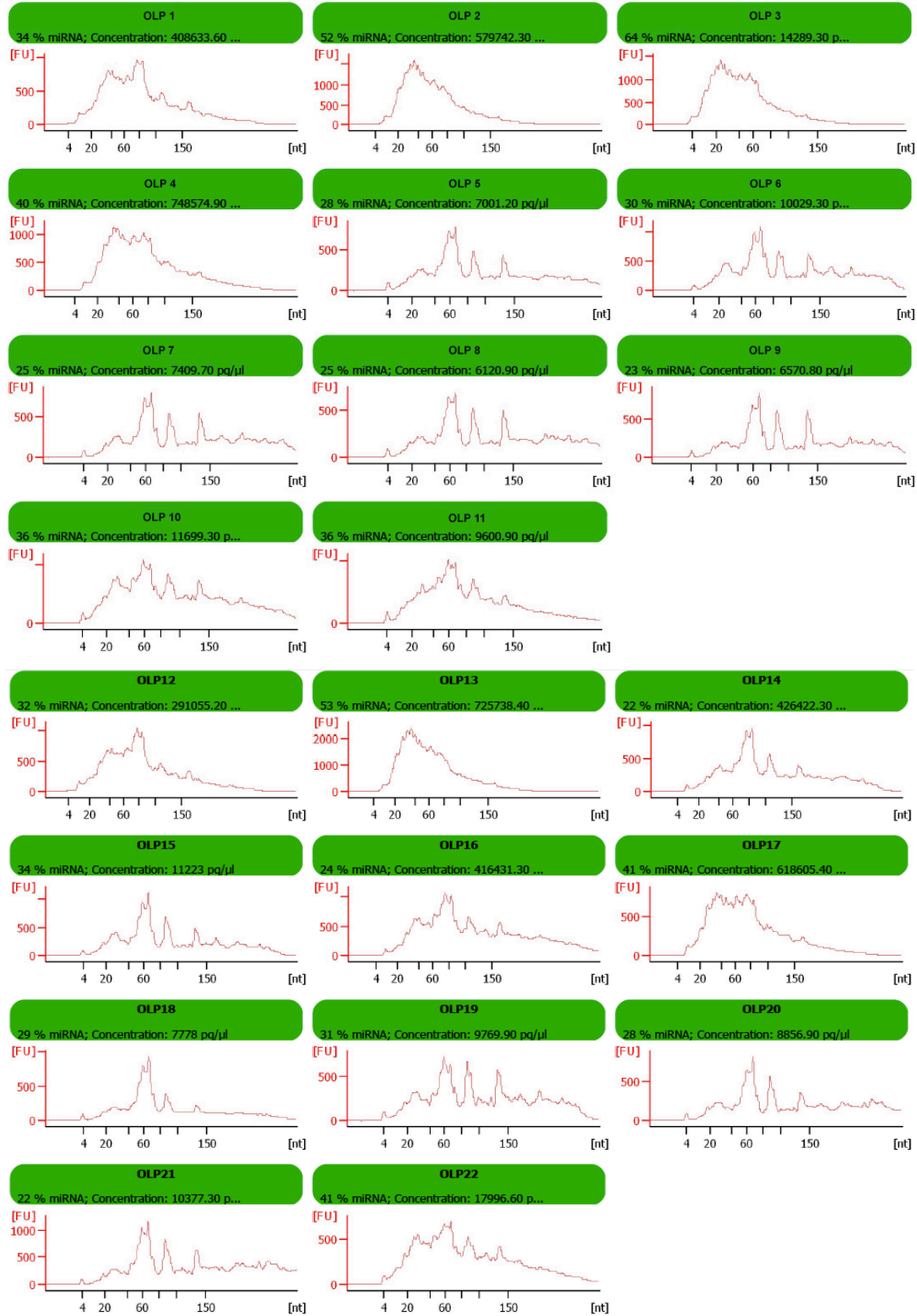
Kontrol grubunun ağız içi muayeneleri tek bir diş hekimi tarafından yapılmıştır, ağız içini ilgilendiren veriler bu muayeneler sonucunda elde edilmiştir. Grubun %38,2'sinin (n=13) herhangi bir türden dental protez ya da restorasyon taşımadığı not edilmiştir. Kontrol grubuna dahil edilen bireylerin hiç birinde materyal toplama dönemine ait oral mukozal ve dermatolojik bulguya rastlanmamıştır.

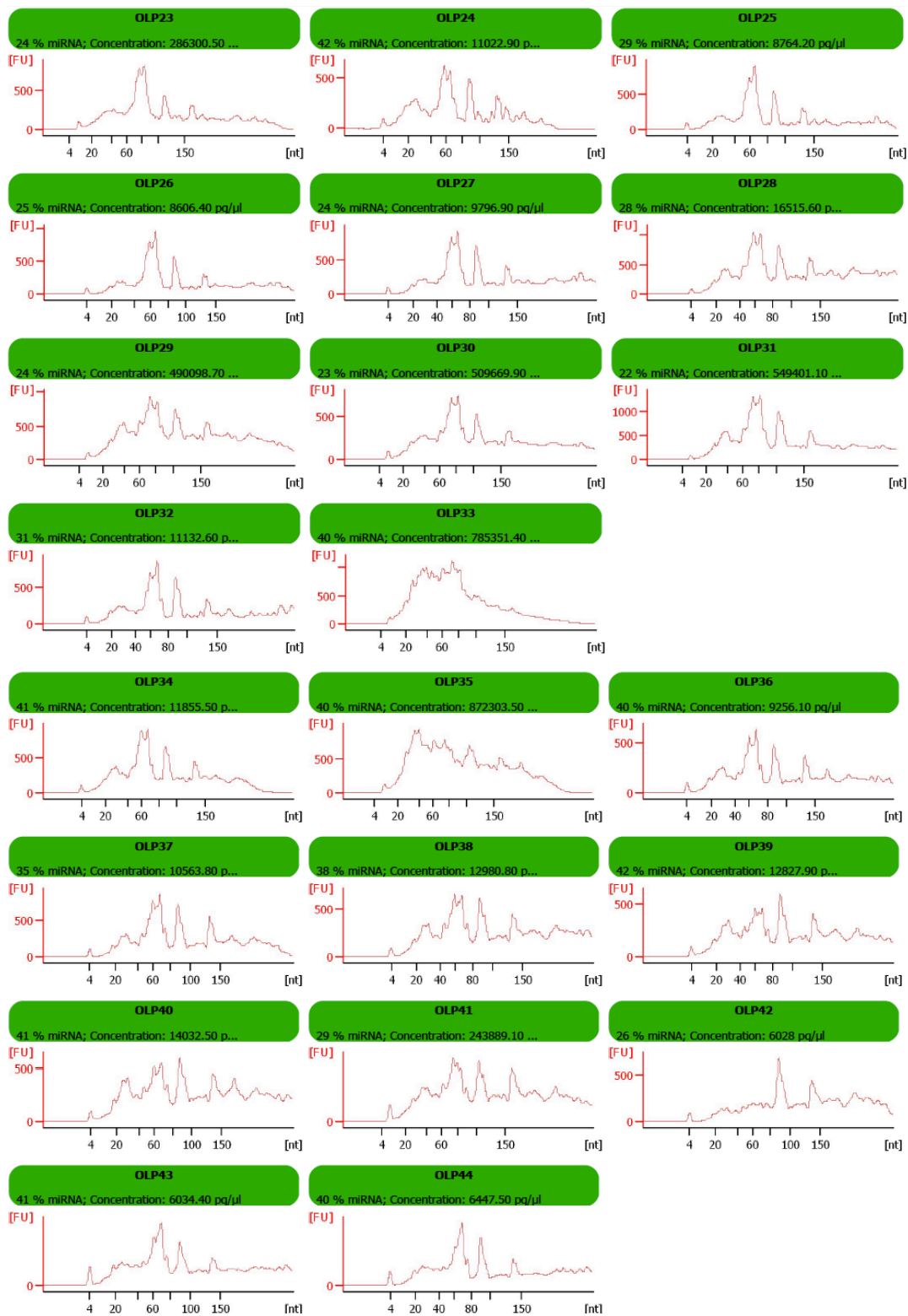
4.2. Moleküler Bulgular

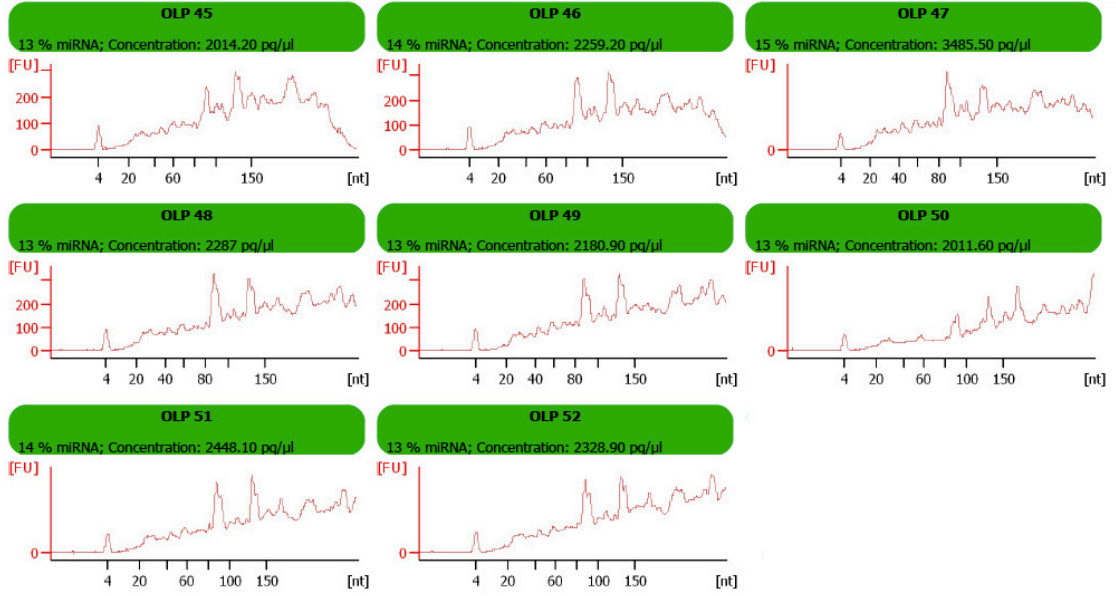
4.2.1. RNA Kalite Tayini

Biyoanalizör (Agilent 2100 Bioanalyzer Instrument, Agilent Technologies Inc. California, USA) ile elde edilen bulgular ve inceleme sonucunda örneklerin moleküler inceleme için kabul edilebilir değerler arasında olduğu gözlenmiştir. Ancak C31 numaralı bireye ait RNA materyalinin yüksek miktarda fragmente olduğu gözlenmiş ve yapılan istatistiksel işlemlerde bu durum göz önünde bulundurulmuştur. Çalışma ve kontrol grubu dokularına ait miRNA'ların biyoanalizörden elde edilen kalite ve kantite bilgileri Tablo 4-3 ve Tablo 4-4'te verilmiştir.

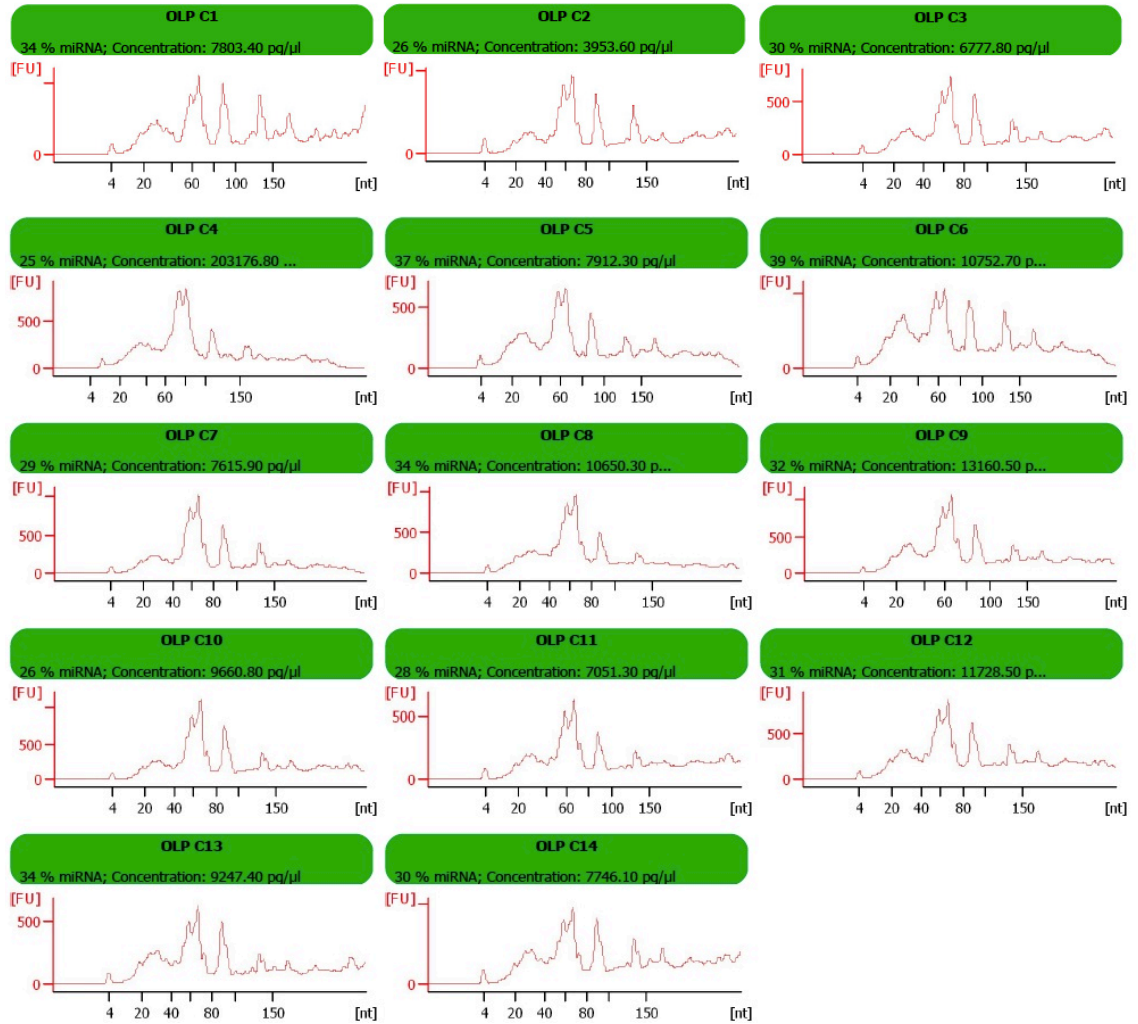
Tablo 4-3: Çalışma grubundan elde edilen miRNA kalite ve kantite bilgileri

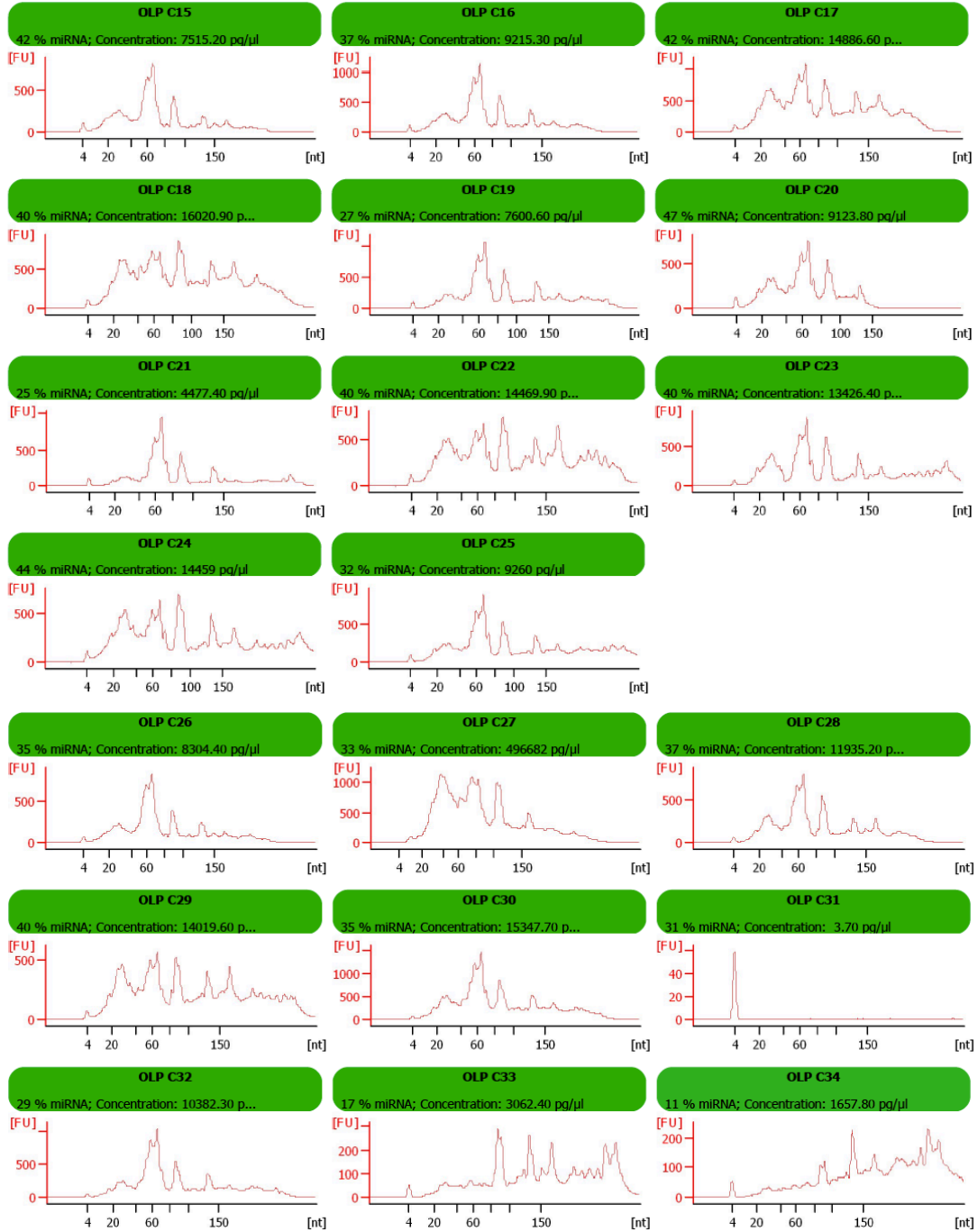






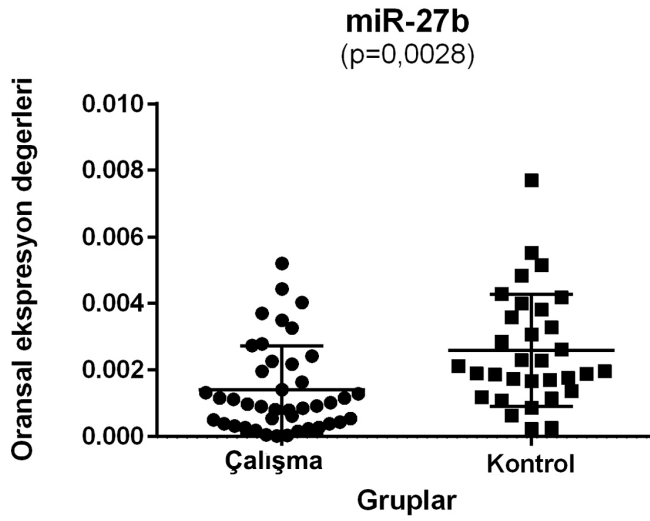
Tablo 4-4: Kontrol grubundan elde edilen miRNA kalite ve kantite bilgileri





4.2.2. Çalışma ve Kontrol Grubu Arasındaki *miR-27b* Sonuçlarının Karşılaştırılması

Bu çalışmada çalışma ve kontrol grubu örneklerinin *miR-27b* ekspresyon düzeyleri gereç ve yöntem bölümünde anlatılan tekniklerle belirlenmiş ve *MWU* testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. *miR-27b* ekspresyonunun çalışma grubu örneklerinde, kontrol grubu örneklerine göre anlamlı olarak düşük ekspresyon gösterdiği ($p=0,0028$) saptanmıştır. *miR-27b*'nin ekspresyon dağılımının gösterildiği grafik Şekil 4-1'de istatistiksel verileri Tablo 4-5'te verilmiştir.



Şekil 4-1: Çalışma ve kontrol grubunda *miR-27b*'nin dağılım grafiği

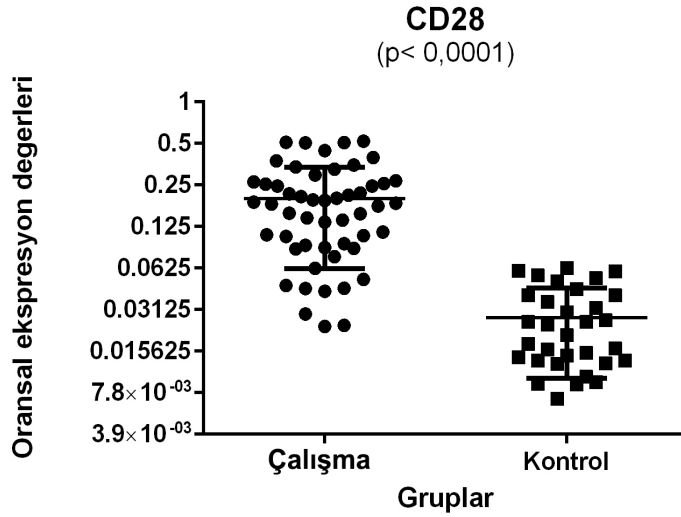
Tablo 4-5: *miR-27b* için çalışma ve kontrol gruplarının *MWU* testi sonuçları ve istatistikî değerleri

Analiz edilen tablo	: Bağımsız örneklem <i>MWU</i> T testi verisi	
P değeri	: 0,0028	
Anlamlı farklılık ($P < 0.05$)	: Var	
P değeri tek yönlü mü çift yönlü mü?	: Çift yönlü	
Mann-Whitney U:	: 450	
	Çalışma	Kontrol
Değerlerin sayısı	45	33
En küçük değer	0	0,000232
En büyük değer	0,0131	0,0143
Ortanca	0,001024	0,002121
Ortalama	0,00200	0,00295
Standart sapma	0,00273	0,00263
Ortalamanın standart hatası	0,000407	0,000458

4.2.3. *miR-27b*'nin Hedef Aldığı Öngörülen Genler Arasındaki Sonuçlar

miR-27b'nin hedef aldığı öngörülen genler olan *CD28* ve *IL6-R*'nin çalışma ve kontrol grubu dokularındaki ekspresyon düzeyleri *MWU* testi ile karşılaştırılmıştır. Her iki genin ekspresyon düzeyleri çalışma grubu örneklerinde, kontrol grubuna göre

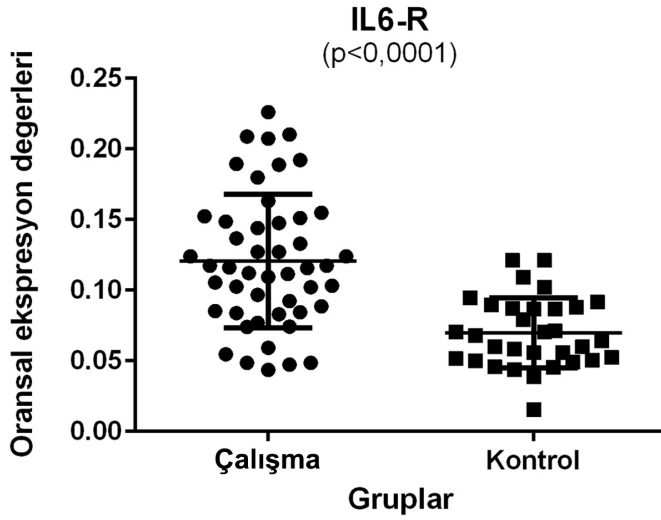
istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($CD28$: $p < 0,0001$; $IL6-R$: $p < 0,0001$) $CD28$ 'e ait dağılım grafiği ve istatistik verileri Şekil 4-2 ve Tablo 4-6'de, $IL6-R$ 'ye ait dağılım grafiği ve istatistik verileri Şekil 4-3 ve Tablo 4-7'de gösterilmiştir.



Şekil 4-2: Çalışma ve kontrol grubunda $CD28$ 'in dağılım grafiği

Tablo 4-6: $CD28$ için çalışma ve kontrol gruplarının MWU testi sonuçları ve istatistikî değerleri

Analiz edilen tablo	: Bağımsız örneklem MWU T testi verisi	
P değeri	: $< 0,0001$	
Anlamlı farklılık ($P < 0.05$)	: Var	
P değeri tek yönlü mü çift yönlü mü?	: Çift yönlü	
Mann-Whitney U:	: 75	
	Çalışma	Kontrol
Değerlerin sayısı	52	32
En küçük değer	0,0237	0,00707
En büyük değer	0,519	0,0625
Ortanca	0,1830	0, 02238
Ortalama	0,199	0,0273
Standart sapma	0,137	0,0174
Ortalamanın standart hatası	0,0190	0,00307



Şekil 4-3: Çalışma ve kontrol grubunda *IL6-R*'nin dağılım grafiği

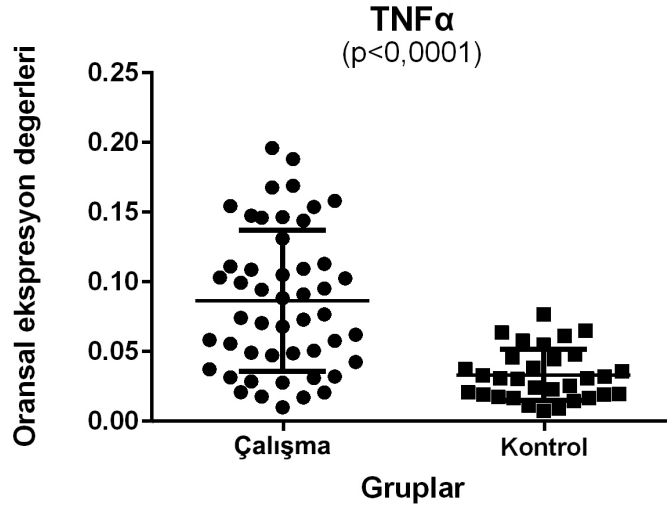
Tablo 4-7: *IL6-R* için çalışma ve kontrol gruplarının *MWU* testi sonuçları ve istatistiki değerleri

Analiz edilen tablo	: Bağımsız örneklem <i>MWU</i> T testi verisi	
P değeri	: < 0,0001	
Anlamlı farklılık ($P < 0.05$)	: Var	
P değeri tek yönlü mü çift yönlü mü?	: Çift yönlü	
Mann-Whitney U:	: 322,5	
	Çalışma	Kontrol
Değerlerin sayısı	51	33
En küçük değer	0,0436	0,0155
En büyük değer	0,334	0,228
Ortanca	0,1174	0,06792
Ortalama	0,132	0,0746
Standart sapma	0,0647	0,0367
Ortalamanın standart hatası	0,00907	0,00639

4.2.4. *miR-27b*'nin Hedef Aldığı Bilinen Genler Arasındaki Sonuçlar

miR-27b'nin hedef aldığı bilinen genler olan *TNF α* , *TGF β* ve *IL1- β* 'nin çalışma ve kontrol grubu dokularındaki ekspresyon düzeyleri *MWU* testi ile karşılaştırılmıştır. *TNF α* ve *TGF β* 'nin ekspresyon düzeyleri çalışma grubu örneklerinde kontrollere göre

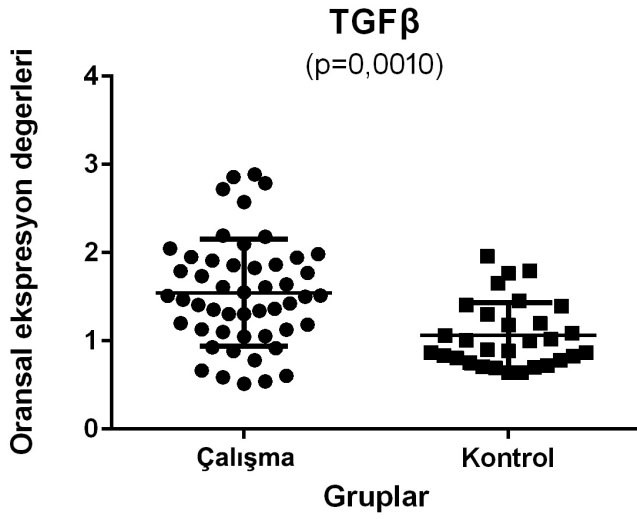
anlamli yüksek bulunurken ($TNF\alpha$: $p<0,0001$; $TGF\beta$: $p=0,0010$), her iki grubun $IL1-\beta$ ekspresyon seviyeleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,2622$). $TNF\alpha$ 'ya ait dağılım grafiği ve istatistik verileri Şekil 4-4 ve Tablo 4-8'de, $TGF\beta$ 'ya ait dağılım grafiği ve istatistik verileri Şekil 4-5 ve Tablo 4-9'da, $IL1-\beta$ 'ya ait dağılım grafiği ve istatistik verileri ise Şekil 4-6 ve Tablo 4-10'da gösterilmiştir.



Şekil 4-4: Çalışma ve kontrol grubunda $TNF\alpha$ 'nın dağılım grafiği

Tablo 4-8: $TNF\alpha$ için çalışma ve kontrol gruplarının MWU testi sonuçları ve istatistiki değerleri

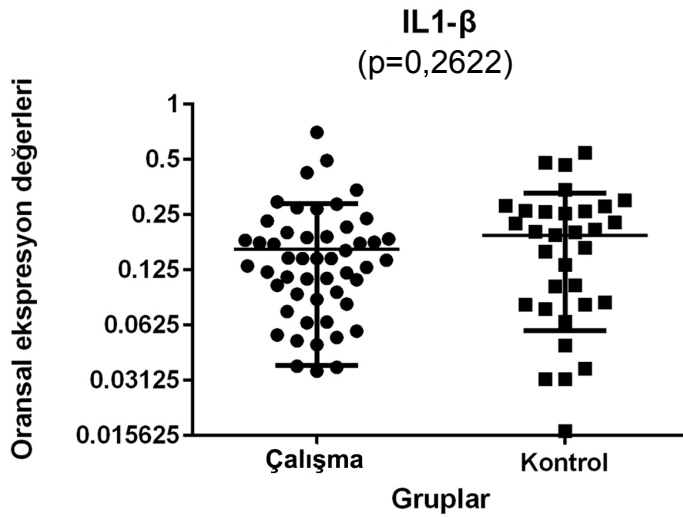
	Çalışma	Kontrol
Analiz edilen tablo	: Bağımsız örneklem MWU T testi verisi	
P değeri	: < 0,0001	
Anlamlı farklılık ($P < 0.05$)	: Var	
P değeri tek yönlü mü çift yönlü mü?	: Çift yönlü	
Mann-Whitney U:	:298	
Değerlerin sayısı	52	32
En küçük değer	0,0101	0,00763
En büyük değer	0,422	0,137
Ortanca	0,08979	0,03087
Ortalama	0,0985	0,0365
Standart sapma	0,0729	0,0258
Ortalamanın standart hatası	0,0101	0,00455



Şekil 4-5: Çalışma ve kontrol grubunda *TGF β* 'nin dağılım grafiği

Tablo 4-9: *TGF β* için çalışma ve kontrol gruplarının *MWU* testi sonuçları ve istatistikî değerleri

Analiz edilen tablo	: Bağımsız örneklem <i>MWU</i> T testi verisi	
P değeri	: 0,0010	
Anlamlı farklılık (P < 0.05)	: Var	
P değeri tek yönlü mü çift yönlü mü?	: Çift yönlü	
Mann-Whitney U:	:480	
	Çalışma	Kontrol
Değerlerin sayısı	52	32
En küçük değer	0,5141	0,6373
En büyük değer	4	4,64
Ortanca	1,513	1,002
Ortalama	1,63	1,24
Standart sapma	0,737	0,804
Ortalamanın standart hatası	0,102	0,142



Şekil 4-6: Çalışma ve kontrol grubunda *IL1- β* 'nin dağılım grafiği

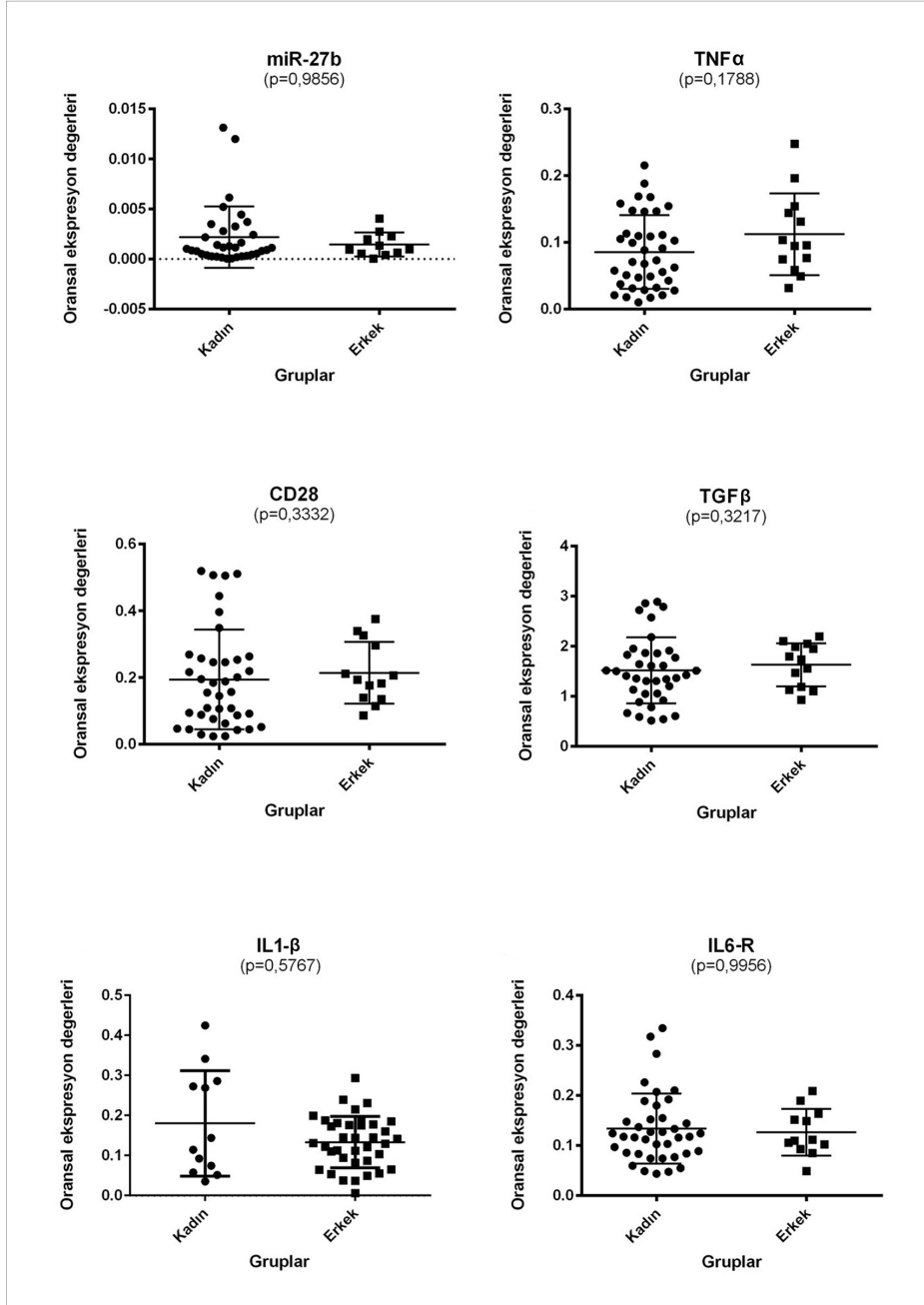
Tablo 4-10: *IL1- β* için çalışma ve kontrol gruplarının *MWU* testi sonuçları ve istatistikî değerleri

Analiz edilen tablo	: Bağımsız örneklem <i>MWU</i> T testi verisi	
P değeri	: 0,2622	
Anlamlı farklılık (P < 0.05)	: Yok	
P değeri tek yönlü mü çift yönlü mü?	: Çift yönlü	
Mann-Whitney U:	: 733	
	Çalışma	Kontrol
Değerlerin sayısı	52	33
En küçük değer	0,00613	0,0165
En büyük değer	0,89	1,04
Ortanca	0,1416	0,1968
Ortalama	0,196	0,219
Standart sapma	0,269	0,199
Ortalamanın standart hatası	0,0373	0,0346

4.2.5. Klinik Özellikere Göre İstatistiksel Karşılaştırma

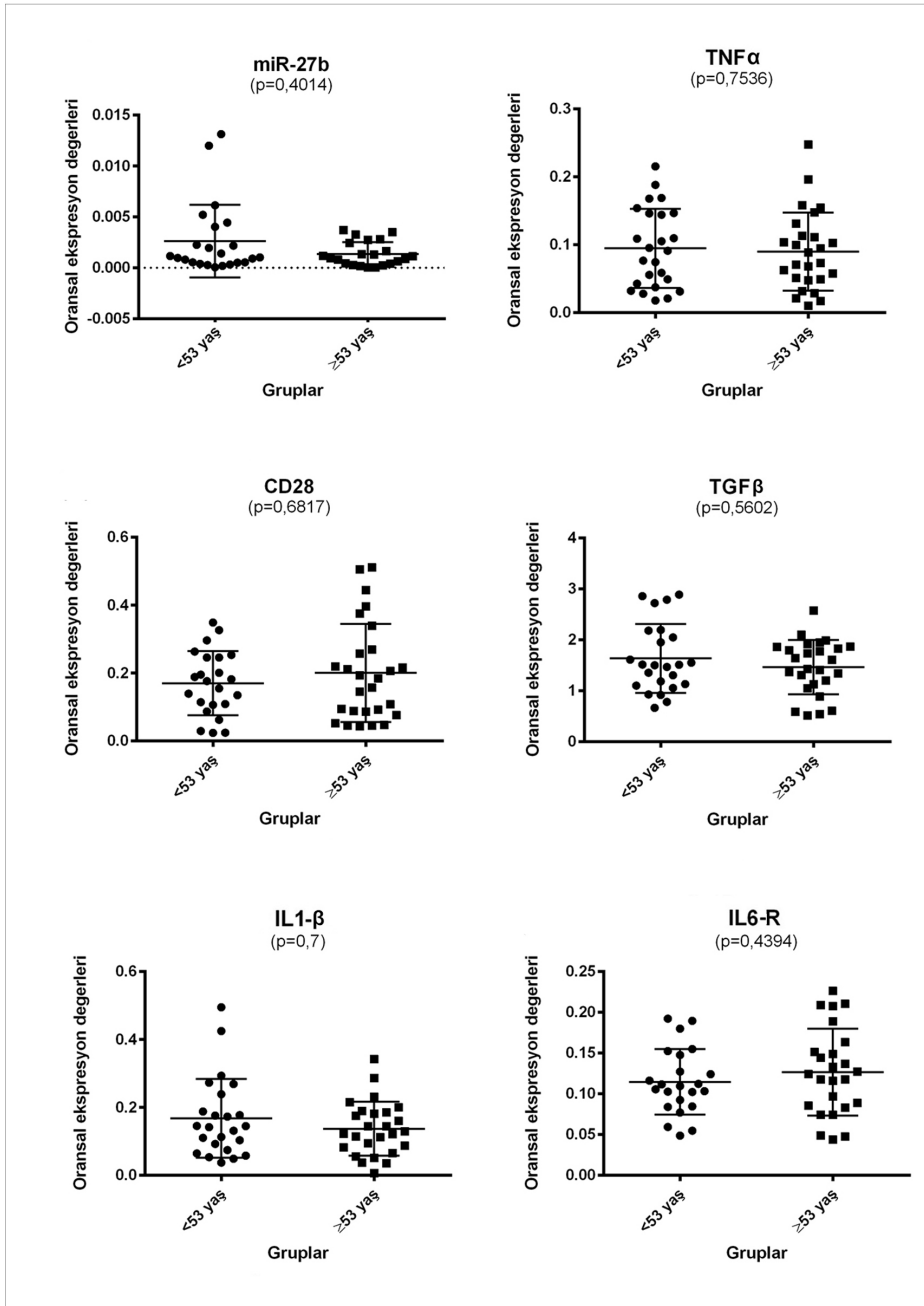
Çalışma grubu klinik özelliklerine göre sınıflandırılmış, bunun üzerinden *miR-27b*, *miR-27b*'nin hedef aldığı öngörülen genler (*CD28*, *IL6-R*) ve *miR-27b*'nin hedef aldığı bilinen genler (*TNF α* , *TGF β* ve *IL1- β*) için *MWU* testi yapılmıştır.

Çalışma grubu kadınlar ve erkekler olarak iki alt gruba ayrılmış ve *miR-27b*, *TNF α* , *TGF β* , *CD28*, *IL1- β* ve *IL6-R* düzeyleri karşılaştırılmıştır ancak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 4-7).



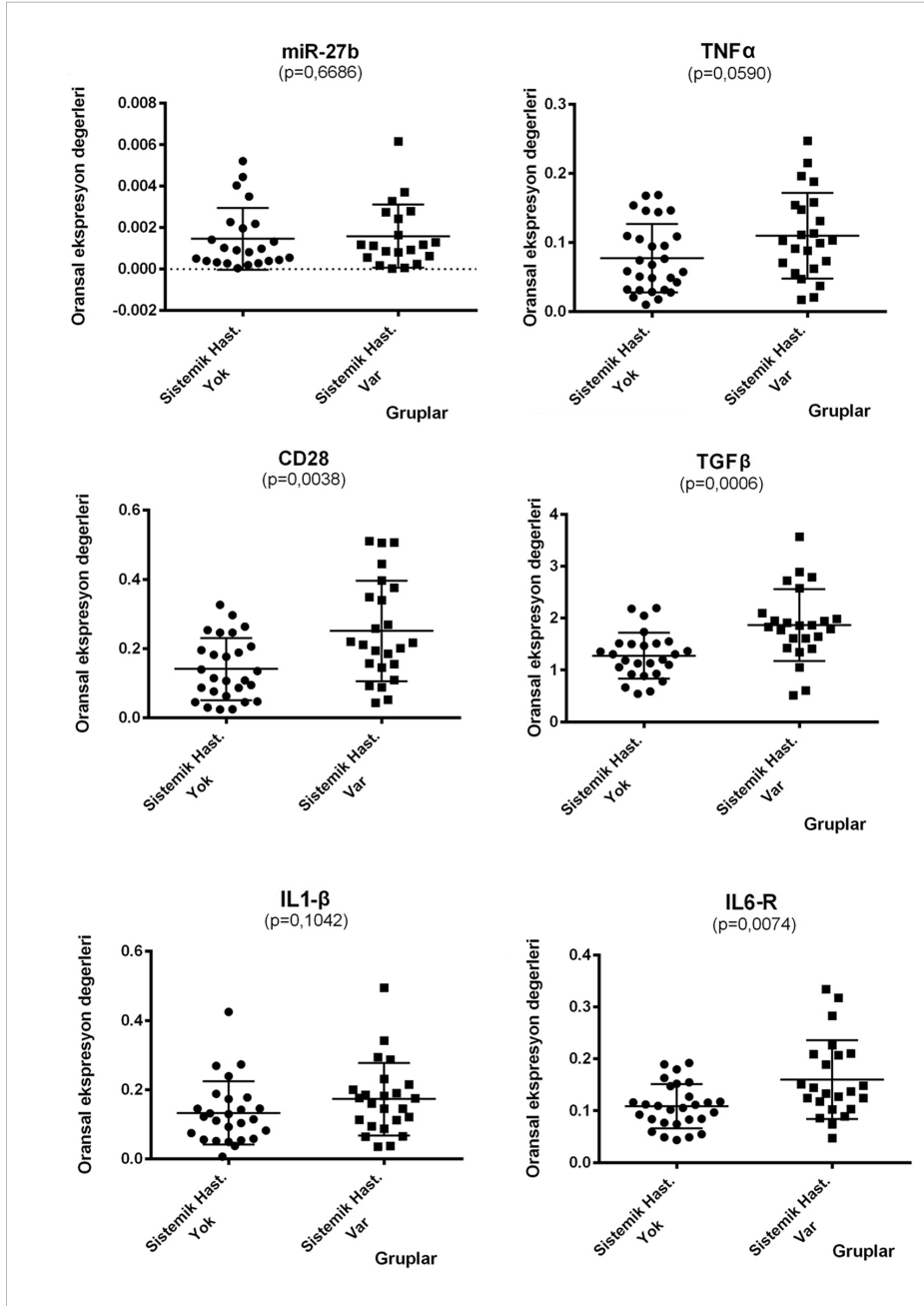
Şekil 4-7: Kadın ve erkekler arasında *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon dağılımları

Çalışma grubunun yaş ortancaları hesaplanmış (ortanca=53 yaş); 53 yaş ve üstü ile 53 yaş altı olarak iki alt gruba ayrılmışlardır. Her iki alt grubun *miR-27b* ve hedef genlerin ekspresyonları karşılaştırılmış ancak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 4-8).



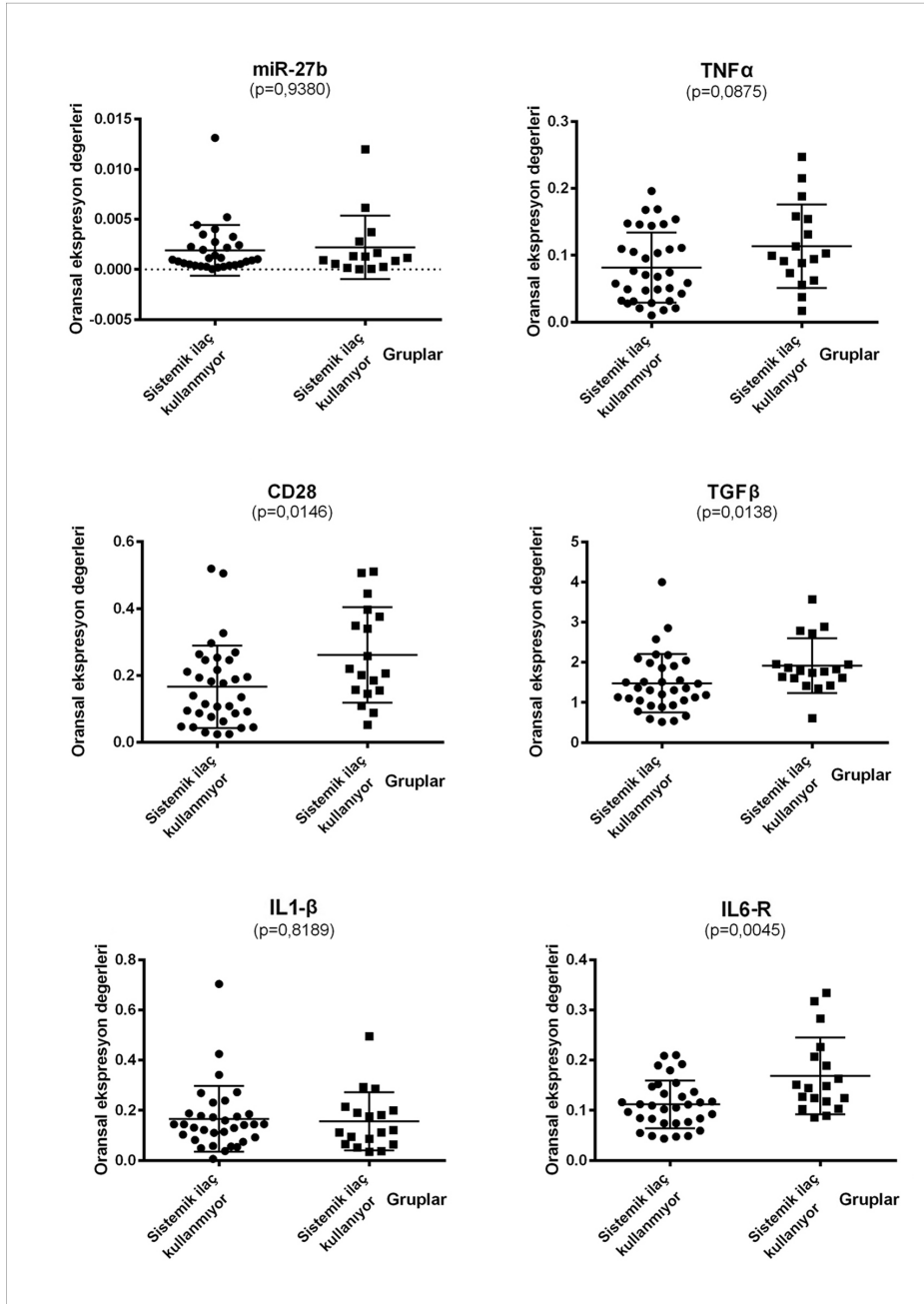
Şekil 4-8: 53 yaş ve üstü ile 53 yaş altındaki bireylerin oluşturdukları grupların *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon dağılımları

Anamnezinde hipertansiyon, tiroid hastalığı, diyabet, kardiyolojik ve romatizmal hastalığı bulunduğunu belirtmiş olan ve herhangi bir sistemik hastalığı olmayan çalışma grubunda yer alan bireylerin *miR-27b* ve hedef gen ekspresyonları karşılaştırılmıştır. *TGF β* , *CD28* ve *IL6-R* ekspresyonları sistemik hastalığı olanlarda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. *miR-27b*, *TNF α* , *IL1- β* ekspresyonları anlamlı farklılık göstermemiştir (Şekil 4-9).



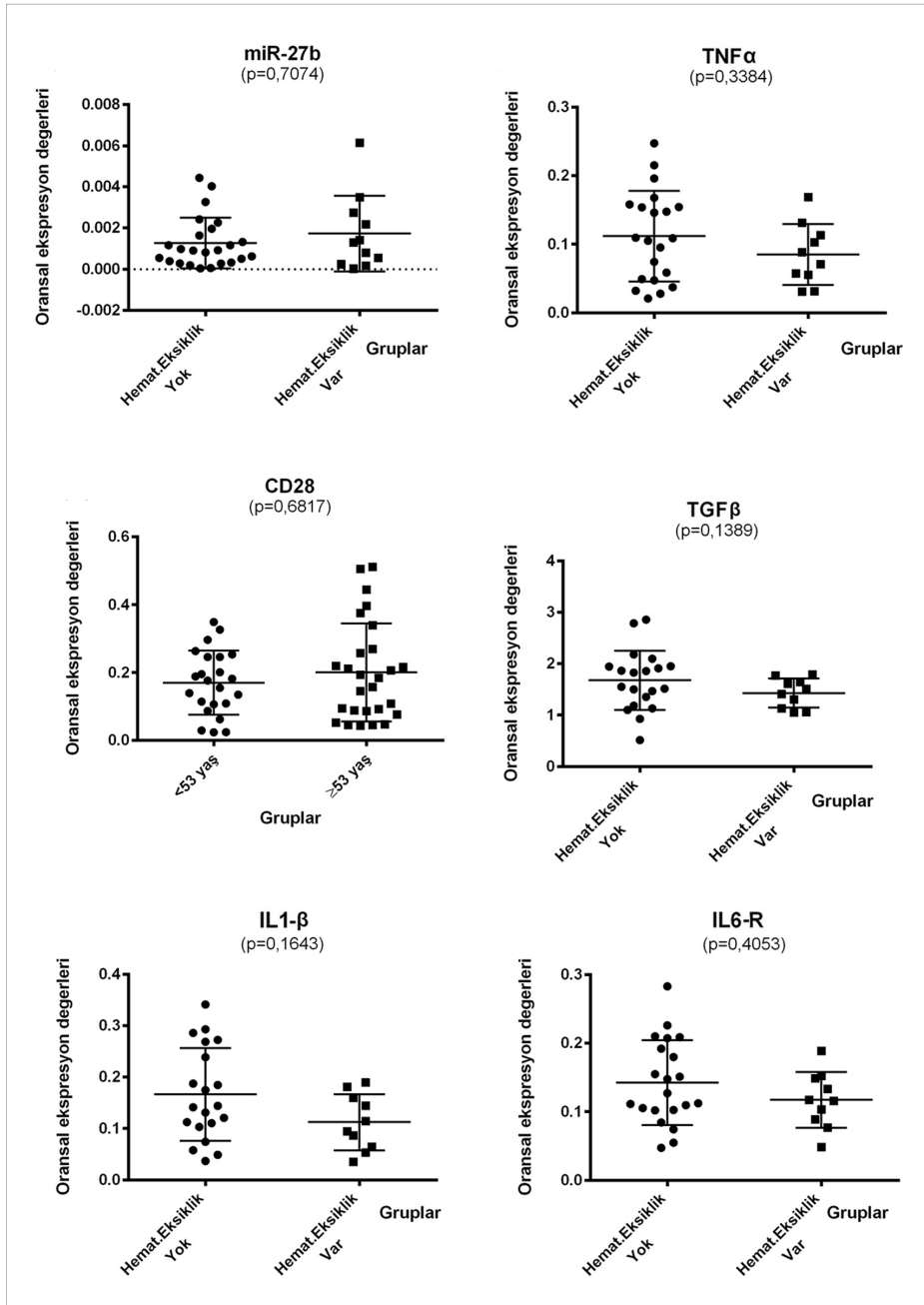
Şekil 4-9: Sistemik hastalığı olan ve olmayan grupların *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon dağılımları

Çalışma grubunda yer alan, herhangi bir sebeple düzenli sistemik ilaç kullandığını belirtmiş olan ve düzenli ilaç kullanmayan bireylerin oluşturduğu iki grup arasında *miR-27b* ve hedef gen ekspresyonları karşılaştırılmıştır. *TGF β* , *CD28* ve *IL6-R* ekspresyonları düzenli ilaç kullananlarda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Şekil 4-10).



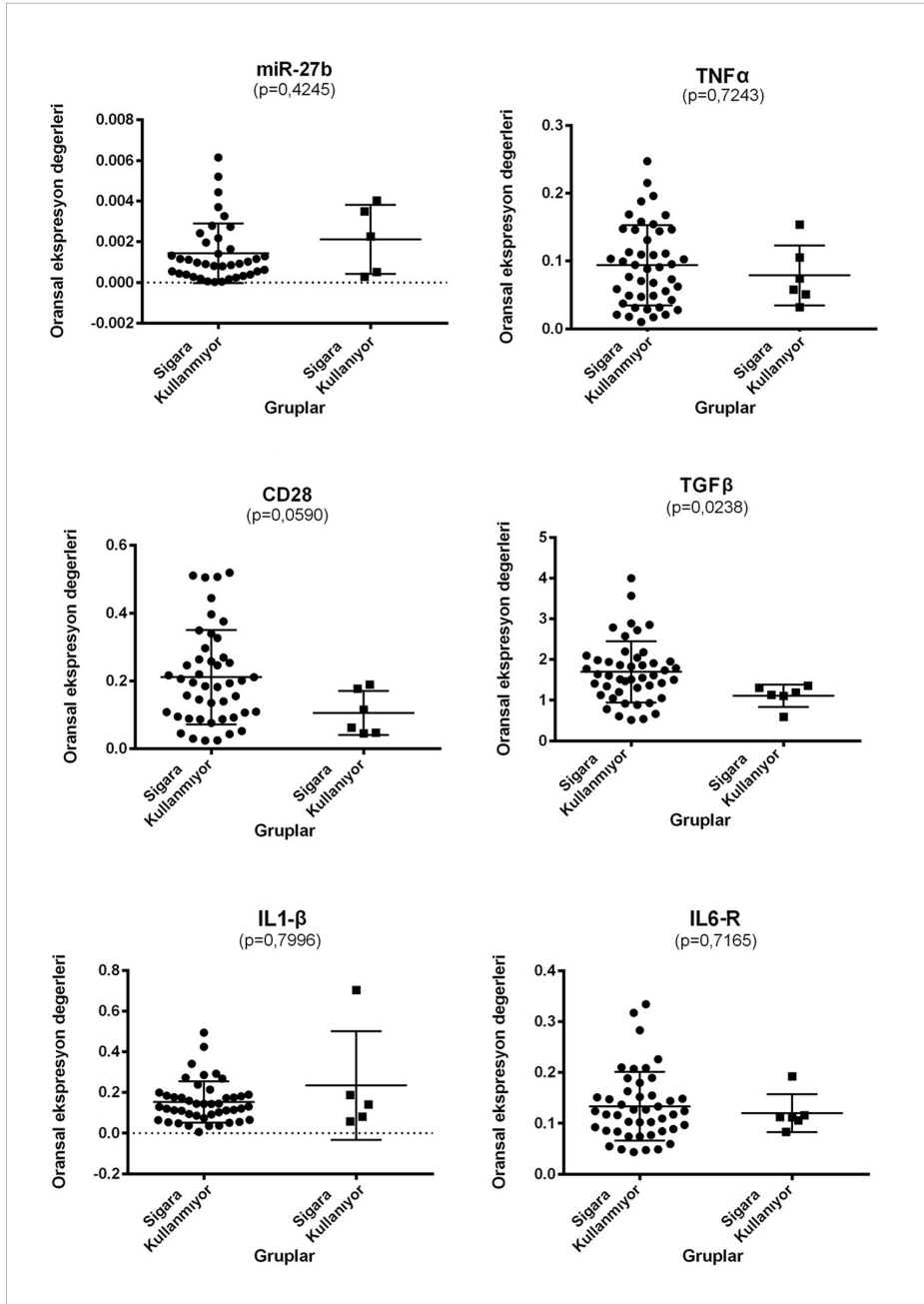
Şekil 4-10: Sistemik ilaç kullanan ve kullanmayan grupların *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon dağılımları

Çalışma grubunda yer alan, hemogram, total demir bağlama kapasitesi, demir, folat, B12 vitamini ve ferritin düzeylerinin değerlendirildiği hematolojik tahlilde herhangi bir değerde eksiklik saptanan bireyler ile hematolojik eksiklik saptanmamış bireylerin oluşturduğu iki grup arasında *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4 -11).



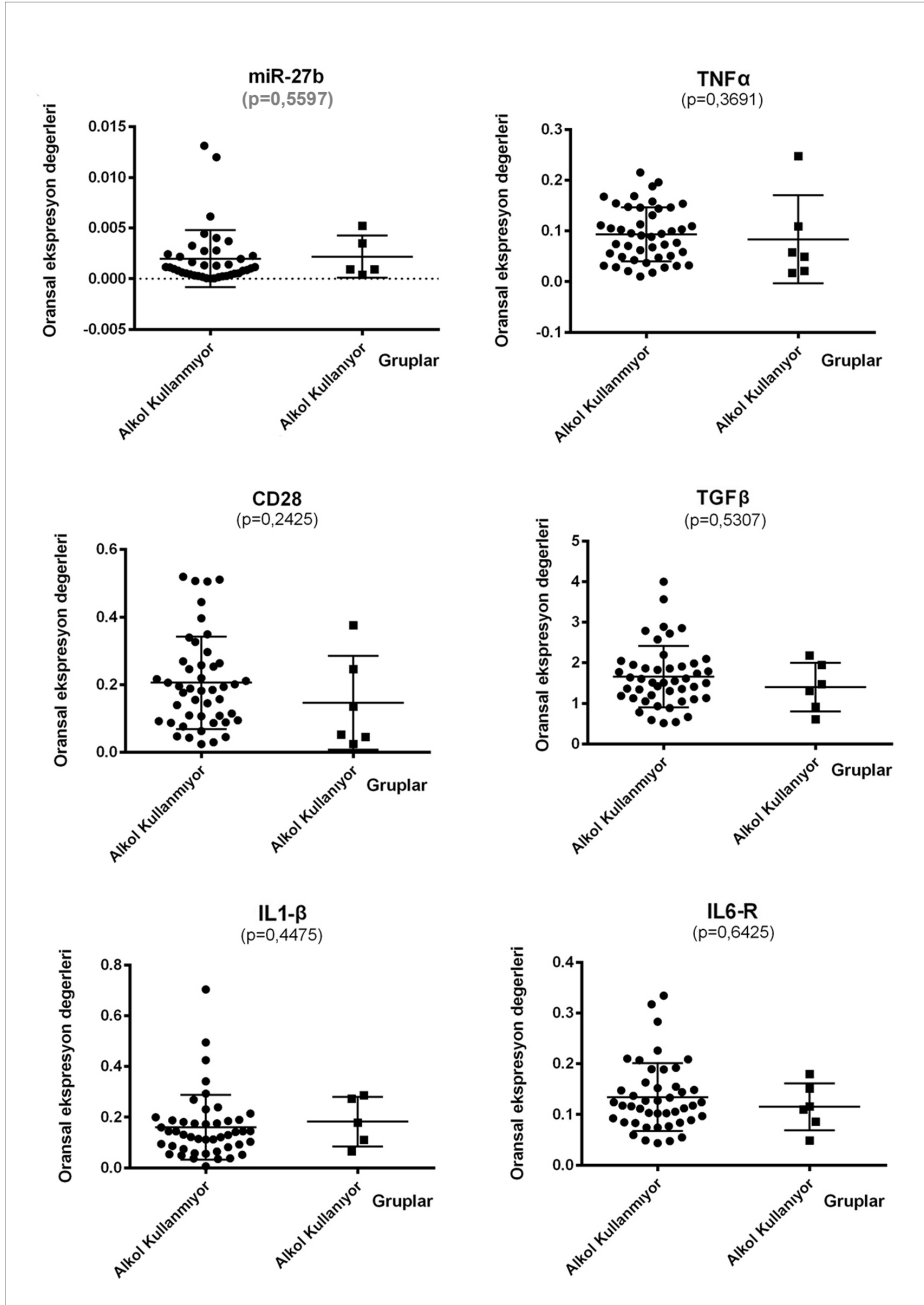
Şekil 4-11: Hematolojik eksikliği olan ve olmayan grupların *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon dağılımları

Çalışma grubunda yer alan, sigara kullanan ve kullanmayan bireylerin oluşturduğu iki grup arasında *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmıştır. *TGF β* ekspresyon düzeyinin sigara kullanmayanlarda anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır, *miR-27b* ve diğer hedef genlerin ekspresyonlarında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4-12).



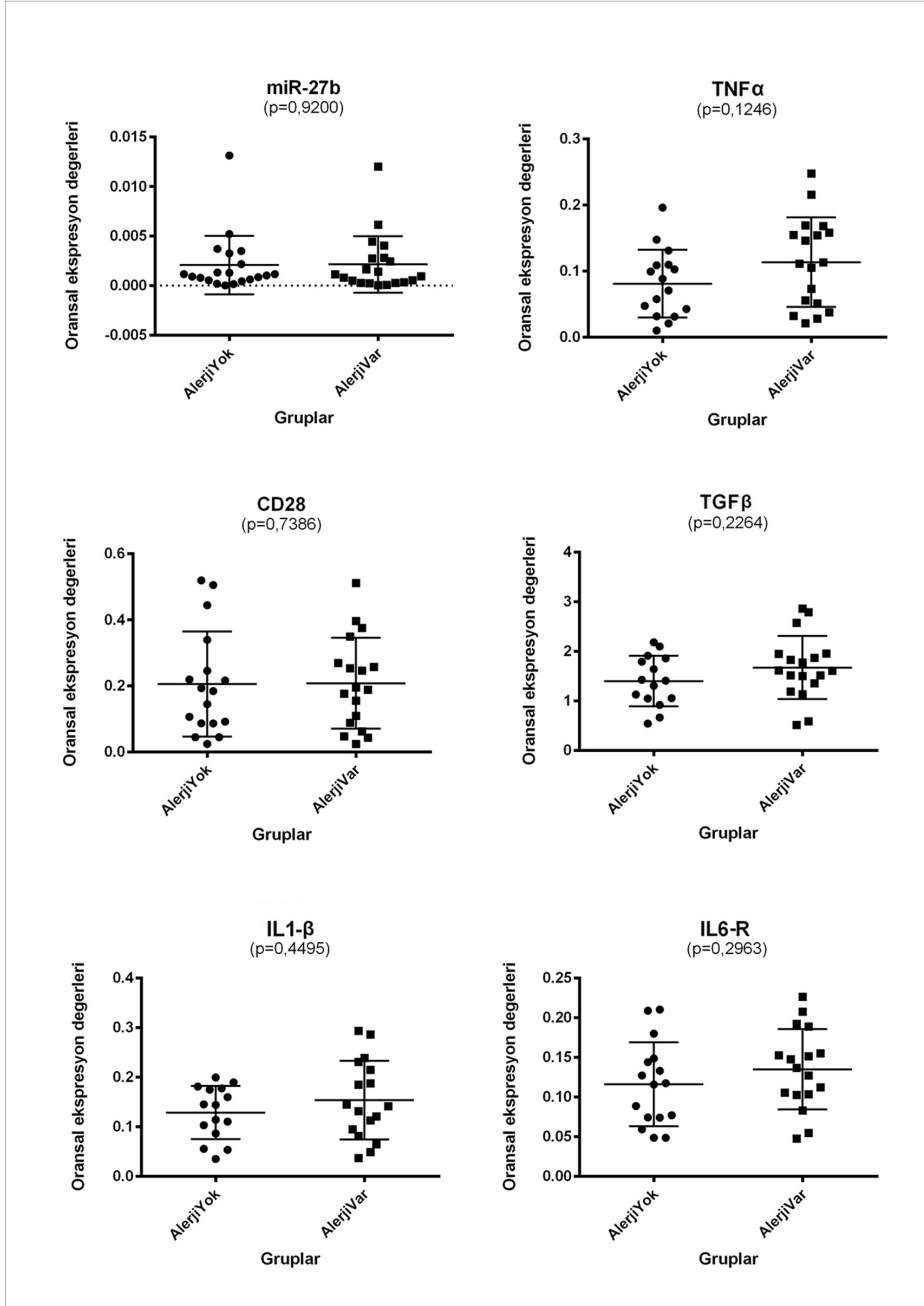
Şekil 4-12: Sigara kullanan ve kullanmayan grupların *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon dağılımları

Çalışma grubunda yer alan, alkol tüketen ve tüketmeyen bireylerin oluşturduğu iki grup arasında *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Şekil 4-13).



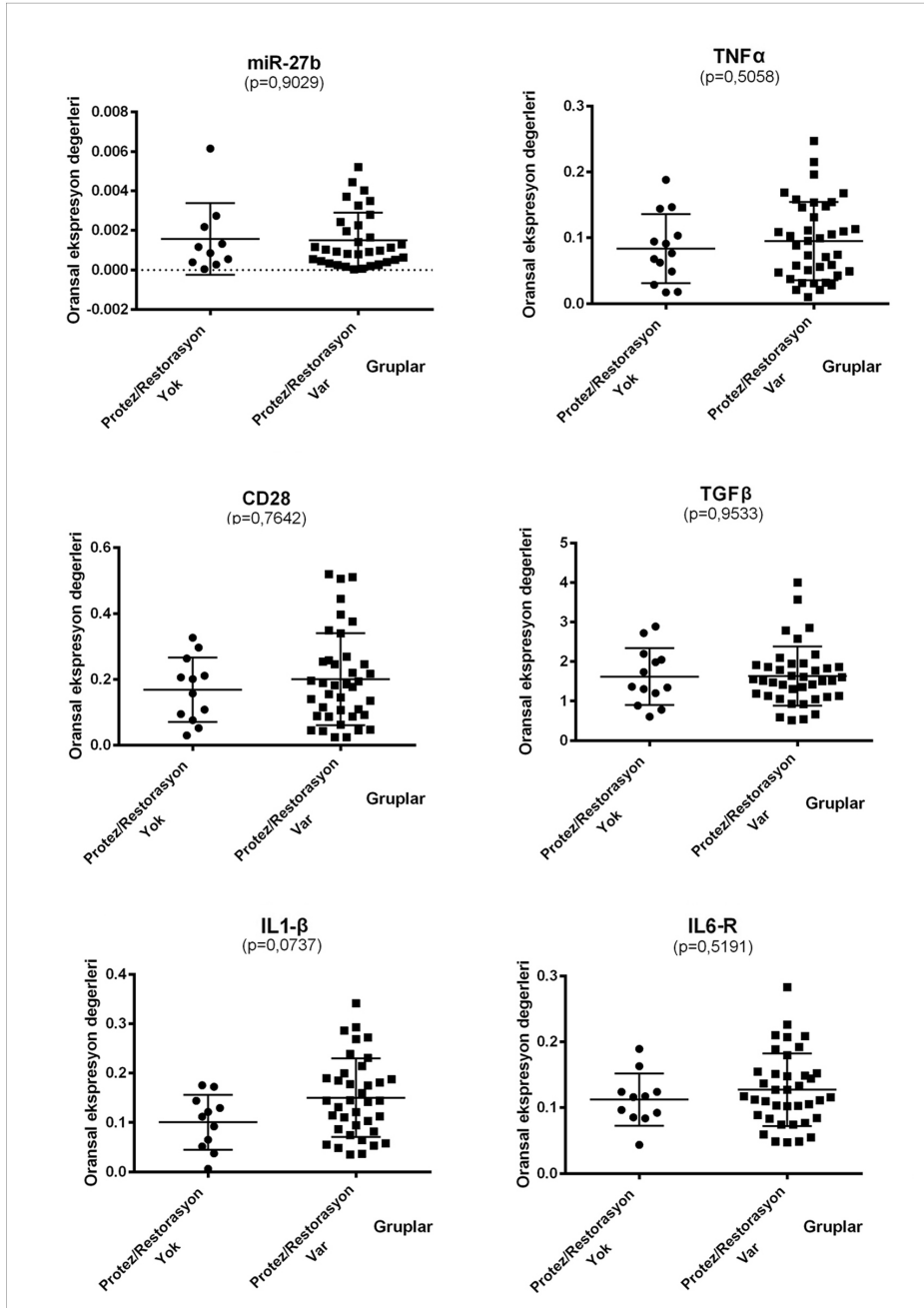
Şekil 4-13: Alkol tüketen ve tüketmeyen grupların *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon dağılımları

Dental materyallere karşı alerji durumlarına göre değerlendirilen çalışma grubunda, alerjik reaksiyon gösterenler ile göstermeyenler arasında *miR-27b* ve hedef genlerin ekspresyonları açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 4-14).



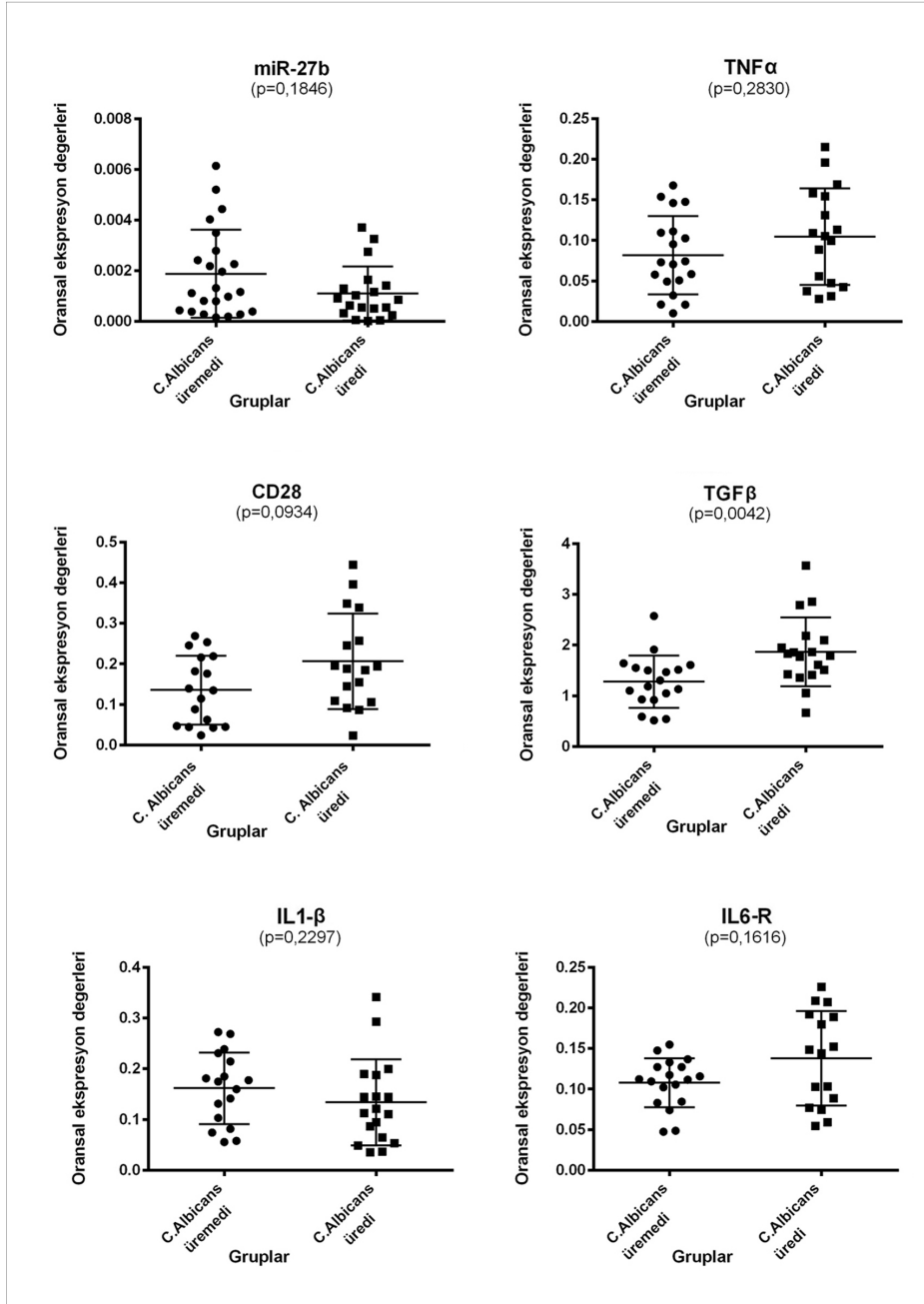
Şekil 4-14: Dental materyallere karşı alerjisi olan ve olmayan grupların *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon dağılımları

Çalışma grubunda, dental protezi (hareketli ve/veya sabit) veya diş restorasyonu (kompozit veya amalgam dolgu dahil) olan bireylerle herhangi bir dental protez veya restorasyon taşımayan bireylerin oluşturdukları gruplar arasında *miR-27b* ve hedef gen ekspresyonları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir (Şekil 4-15).



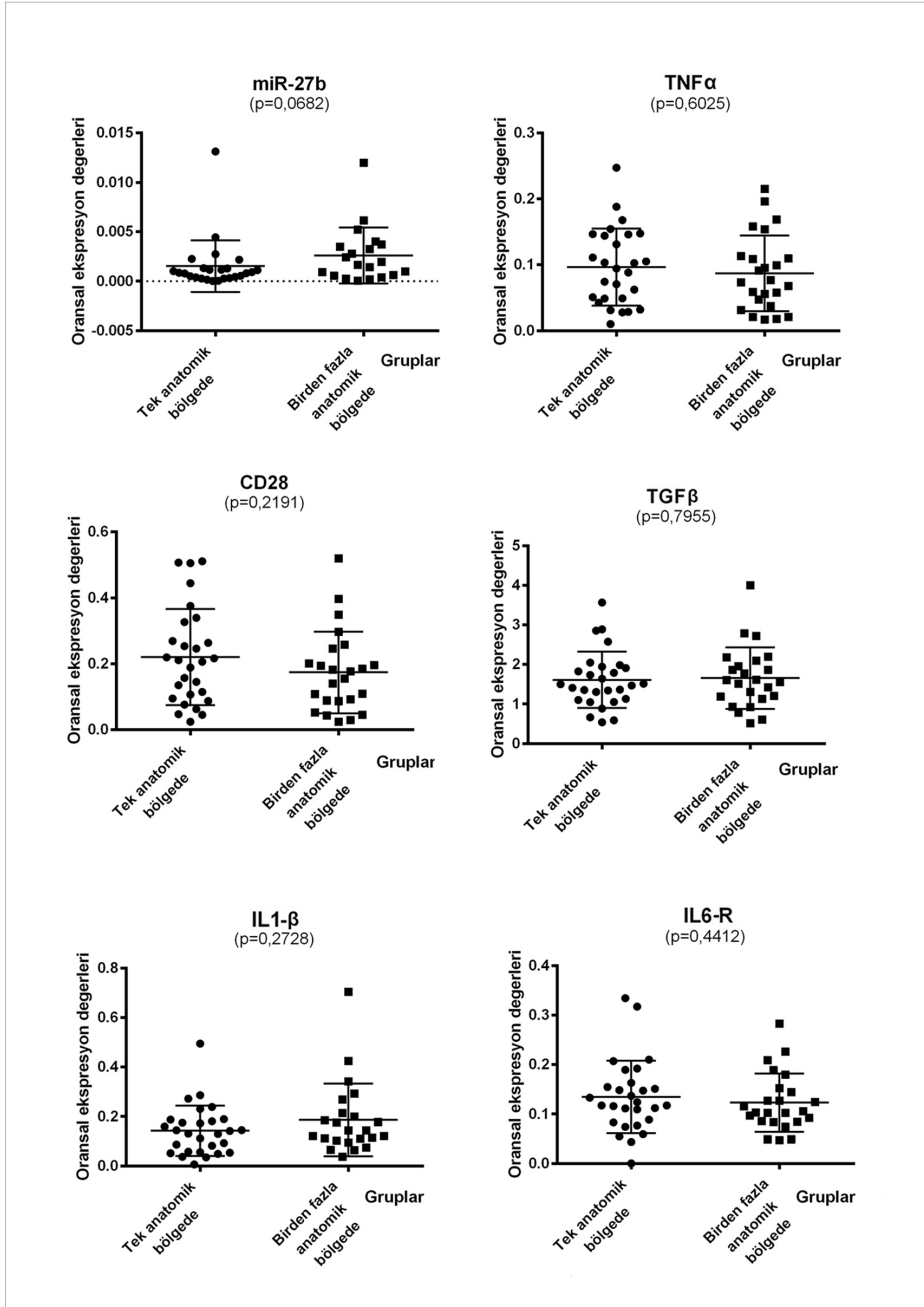
Şekil 4-15: Dental protez ve/veya restorasyonu olan ve olmayan grupların *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon dağılımları

Tanıya yönelik histopatolojik inceleme öncesinde, OLP lezyonundan yapılan kültürde *C. albicans* üreyen ve üremeyen olguların oluşturduğu grupların arasında *miR-27b* ve hedef gen ekspresyonları karşılaştırılmıştır. *TGFβ* ekspresyonu, lezyonda *C. albicans* üreyen olgularda üremeyen olgulara göre istatistiksel açıdan anlamlı olacak şekilde yüksek bulunmuştur (Şekil 4-16).



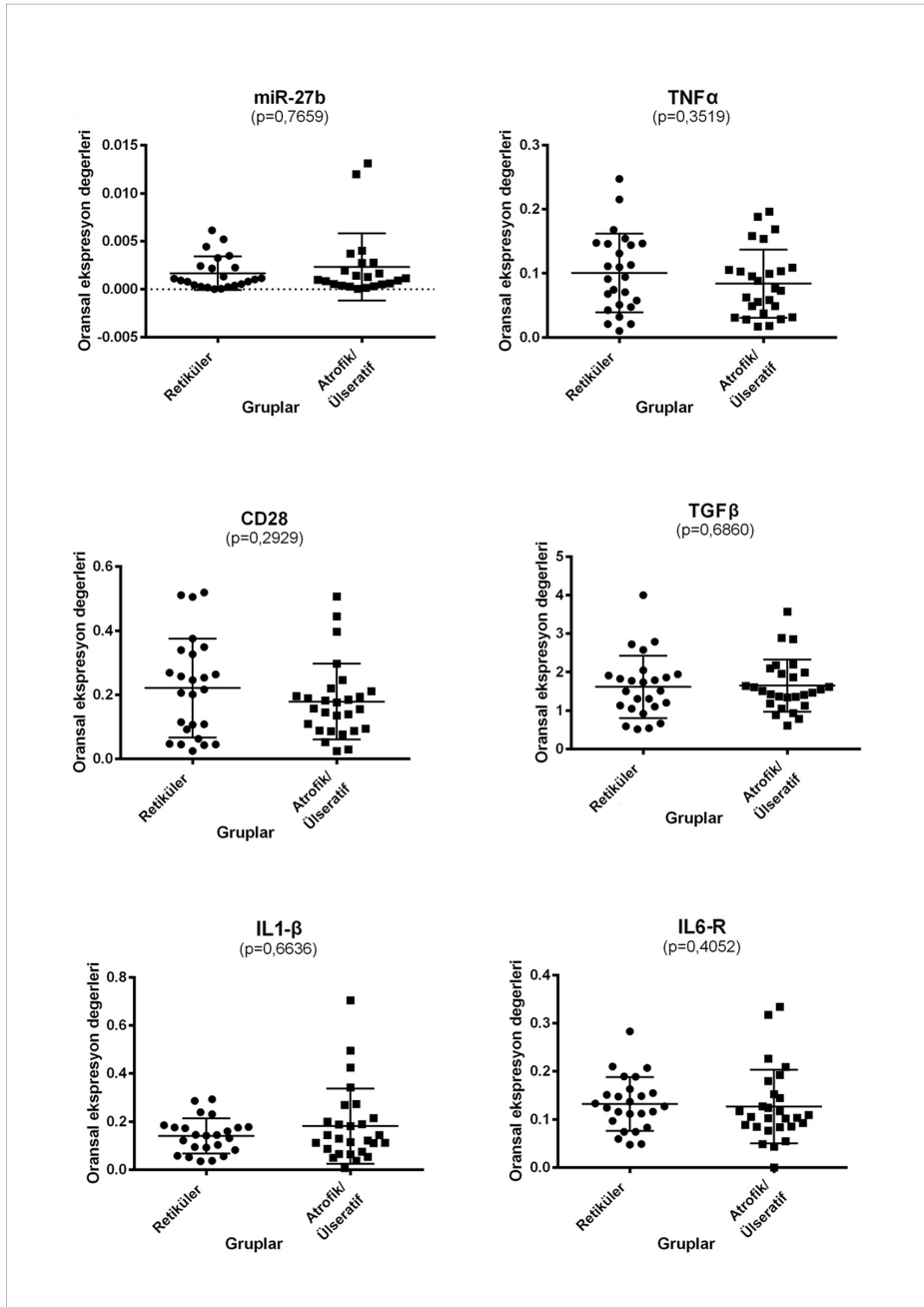
Şekil 4-16: Lezyonda *C. albicans* üreyen ve üremeyen grupların *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon dağılımları

OLP lezyonu bir anatomik bölgede yerleşim gösteren olgularla daha yaygın yerleşim gösteren olgular arasında, *miR-27b* ve hedef gen ekspresyonları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4-17).



Şekil 4-17: OLP lezyonu tek anatomik bölgede lokalize olan ve daha yaygın yerleşimli lezyonları olan bireylerin oluşturduğu grupların *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon dağılımları

OLP olguları, sadece hiperkeratoz görülen hafif şiddetli enflamasyon ve atrofi ve/veya ülserasyonun eşlik ettiği daha şiddetli enflamasyon gösterenler olarak ikiye ayrılmış ve *miR-27b* ve hedef gen ekspresyonları karşılaştırılmıştır. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir (Şekil 4-18).



Şekil 4-18: Retiküler ve atrofik/ülseratif OLP görülen grupların *miR-27b* ve hedef gen ekspresyon dağılımları

5. TARTIŞMA

OLP, mukokütanöz kronik enflamatuvar bir hastalıktır¹. Etiyolojisi henüz tam olarak açıklanamayan OLP'nin, epiteldeki bazal keratinositleri hedef alan bir otoimmün hastalık olduğu bilinmektedir³. Orta yaş üstü bireyleri ve kadınları daha sık etkileyen OLP, aynı zamanda DSÖ tarafından potansiyel malign bir bozukluk olarak tanımlanmıştır^{3,6}. Gen ekspresyonunu transkripsiyon aşamasında düzenleyen küçük RNA molekülleri olan miRNA'lar, bir çok hastalığın patogeneziyle ilişkili bulunmuştur. Bununla birlikte miRNA'ların OLP ile olan ilişkisi henüz tam olarak keşfedilmemiştir. miRNA ve OLP ilişkisi, son yıllarda OLP'nin etiopatogenezini ve potansiyel malign karakterini aydınlatmayı hedefleyen araştırmacıların ilgisini çekmeye başlamıştır, ancak bu konuyla ilgili henüz sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

McCartan ve Healy¹² (2008) dünya çapında yayınlanmış 45 makalenin prevalans verilerini değerlendirmişler ve OLP için global prevalans değerini %1,27 (erkek: %0,96; kadın: %1,57) olarak hesaplamışlardır. Türk popülasyonunda ise OLP prevalansı iki ayrı çalışmada %0,5 ve %0,8 olarak bildirilmiştir ve global prevalans değerinin altında bulunmuştur^{13,14}. Cinsiyete göre prevalans değerleri karşılaştırıldığında ise global prevalans değeri önceki literatür verileriyle uyumlu olarak kadınlarda daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte Mumcu ve ark.¹³ (2005) ve Cebeci ve ark. (2009) yaptıkları çalışmalarda OLP'nin Türkiye popülasyonunda her iki cinsiyette aynı sıklıkta görüldüğünü öne sürmüşlerdir. Çalışmamıza dahil edilmiş hastaların cinsiyetlere göre dağılımına bakıldığında ise OLP fenotipinin kadınlarda erkeklere oranla üç kat fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu dağılım, Türk popülasyonunda yapılmış çalışmalarla uyumlu değildir ancak global verileri destekler niteliktedir.

OLP'nin, orta yaş ve üstü bireylerde özellikle 5. ve 6. dekatlarda ortaya çıktığı bir çok literatürde gösterilmiştir^{15,24}. Bu çalışmada ise hastaların 52,1 olarak hesaplanan yaş ortalaması (en az: 24; en çok: 73), literatürde gösterilen yaş profiliyle uyumludur.

OLP lezyonları, ağız mukozasının herhangi bir bölgesinde yerleşim gösterebilmekle birlikte, daha önce yapılmış çalışmalar OLP'nin en sık görüldüğü bölgenin yanak mukozası olduğunu ortaya koymaktadır (%78,7-99)^{11,92-94}. Bu çalışmaya dahil edilen olguların %92,3'ünde yanak mukozasında yerleşim gösteren lezyonlar saptanmıştır ve bu oran literatürle uyum göstermektedir. Bununla birlikte OLP

lezyonlarının %48,1'i tek anatomik bölgede yerleşim gösterirken, %51,9'u iki ya da daha fazla anatomik bölgede tutulum göstermiştir. Seoane ve ark.⁹⁴ (2004) yaptıkları randomize çalışmada, çalışmaya dahil ettikleri 62 hastanın %62,9'sinde retiküler lezyonlar, %37,1'inde atrofik ve ülseratif lezyonlar görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise sadece retiküler OLP görülen bireyler tüm çalışma grubunun %48,1'ini oluştururken, %51,9'unu atrofik/ülseratif lezyonları olan bireyler oluşturmaktadır.

Gen ekspresyonunu transkripsiyon aşamasında baskılama yeteneğindeki miRNA'lar, hücre farklılaşması, büyümesi ve gelişmesi, immün reaksiyonlar, stres adaptasyonu gibi fizyolojik ve kanser, otoimmün hastalıklar, kalp hastalıklarının oluşumu gibi patofizyolojik süreçlerle ilgili bulunmuşlardır^{74,75,76}. Bununla birlikte literatürde miRNA'ların kanser ve otoimmün hastalıkların gelişimindeki rolünü aydınlatmayı amaçlayan bir çok çalışma yer almaktadır. OLP'nin otoimmün karakteri ve malign dönüşüm riski taşımasından yola çıkarak miRNA'larla olan ilişkisinin incelenmesi gereği ortaya çıkmıştır.

Danielsson ve ark.¹ 2012'de yayınladıkları çalışmada *miR-21*, *miR-125b* ve *miR-203*'ü ve onların potansiyel hedefleri olan *p53* ve *p63*'ü seçmişler ve bunların ekspresyon düzeylerini OLP'li bireyler ve kontrollerden elde edilen biyopsi örneklerinde GZ-PZR yöntemi ile analiz ederek karşılaştırmışlardır. miRNA'lardaki değişimlerin hedef proteinlerle korele olduğu sonucuna varmışlardır.

Arão ve ark.⁴ (2011), yaptıkları çalışmada daha önce immün yanıt düzenlenmesinde yer aldığı gösterilmiş olan *miR-146a* ve *miR-155*'in ekspresyon düzeylerini, OLP ve kontrol grubuna ait mukoza ve kan örneklerinde GZ-PZR ile incelemişlerdir. Her iki miRNA ekspresyonunu OLP grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Bu sonuçlar ışığında *miR-146a* ve *miR-155*'in yüksek ekspresyonun, OLP'de henüz tanımlanmamış bir antijene yanıt olarak gelişen T_H1 farklılaşmasına katkıda bulunabileceğini öne sürmüşlerdir.

Madkour ve ark.⁹⁵ (2012) 20 OLP'li ve 15 sağlıklı bireyin doku örneklerinde GZ-PZR yöntemiyle tespit ettikleri *miR-21* ve *miR-146a* ekspresyon seviyelerini karşılaştırmışlar ve Arão ve ark.'nin⁴ (2011) yaptıkları çalışmayla benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Her iki miRNA'nın ekspresyon düzeylerini OLP grubunda daha yüksek bulmuşlar ve bu durumu OLP'de artmış olan T_H1 yanıtıyla ilişkilendirmişlerdir. Bunun

yanı sıra, *miR-21* ekspresyonundaki artışın oral kanserlerle olan ilişkisine dikkat çekerek OLP'nin potansiyel malign karakterini destekleyen bir sonuç olabileceğini belirtmiştir.

Hildebrand ve ark.⁶⁵ (2011) primer insan keratinositlerinin kalsiyumla tetiklenmiş farklılaşma sürecinde 377 miRNA'nın ekspresyon paternini gözlemlemişler ve aralarında *miR-27b*'nin de bulunduğu 9 miRNA'yı insan keratinositlerinin farklılaşmasıyla (*in vitro* ve *in vivo*) ilişkili bulmuşlardır.

Zhang ve ark.² (2012) OLP hastalarında evrensel miRNA ekspresyon paterni ve keratinositlere özgü miRNA ekspresyonlarında düzensizlikler olabileceğini iddia etmişler ve bu hipotez doğrultusunda, OLP hastaları ile kontrol grubundan elde edilen oral biyopsilerde, 667 insan miRNA'sı içeren mikroarray ile miRNA ekspresyonunun evrensel paternlerini karşılaştırmışlardır. Ekspresyonlarında farklılık saptanan 46 miRNA arasından seçtikleri *miR-27b*'nin OLP'nin başlangıcı ve seyrinin şiddeti ile ilişkisini, in-situ hibridizasyon (ISH) ile değerlendirmişlerdir. Mikroarray analiziyle uyumlu olarak GZ-PZR ve ISH analizlerinde *miR-27b* ekspresyonunun OLP dokularında anlamlı olarak düşük olduğu saptamışlar ve buna bağlı olarak *miR-27b* ekspresyonu düşük olan bireylerin OLP'ye yatkınlık gösterebileceğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca ISH analizleri *miR-27b*'nin hem hasta hem de kontrol grubunda epitelyal keratinosit tabakasında eksprese olduğunu göstermiştir. Zhang ve ark. bu bulgular doğrultusunda *miR-27b*'nin epitelyal keratinositlerdeki düşük ekspresyonunun, aktif sitotoksik T hücrelerin epitelyal hücrelerin apoptozunu tetikleyen spesifik enflamatuvar yanıtında rol oynayabileceğini ifade etmişlerdir. Ayrıca *miR-27b*'nin OLP'nin tanısı ve prognozu için bir biyobelirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Çalışmamızın kapsamında yapılan biyoformatik analiz ile *miR-27b*'nin hedef aldığı öngörülen veya daha önce yapılmış çalışmalar sonucu *miR-27b*'nin hedef aldığı bilinen genler taranarak, bunların otoenflamasyon durumu ile ilişkili olanları tespit edilmiş ve *miR-27b* ile birlikte bu genlerin de ekspresyon değerleri incelenmiştir. miRNA'lar, hedef aldıkları genlerin ekspresyon değerlerini mRNA düzeyinde baskılayarak regüle etme yeteneğinde olan küçük RNA molekülleridir. Buna göre daha önce de bahsedildiği gibi literatürle uyumlu olarak, çalışma grubunda *miR-27b*'nin ekspresyon değerleri kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük

bulunmuştur. Buna bağlı olarak *miR-27b*'nin hedef aldığı, yaptığımız biyoenformatik inceleme sonucu tespit edilen *IL6-R*, *CD28*, *TGFβ* ve *TNFα* genlerinin ekspresyon düzeyleri miRNA'ların genel davranış şekilleriyle uyumlu olarak artış göstermektedir.

Otoimmün hastalıklar, bir otoantijene karşı vücudun geliştirdiği immün reaksiyonlar sonucu gelişir ve otoenflamasyon bu hastalık grubunda sıklıkla gözlenen bir durumdur. Daha önce OLP ile ilişkili olarak yapılan çalışmalarda, OLP grubunda otoenflamatuvar sitokinlerin kontrol grubuna göre daha yüksek düzeyde olduğu bilinmektedir^{56,96-100}. Bu çalışmada *miR-27b* ekspresyon değerinin, OLP (çalışma) grubunda kontrollere göre düşük miktarda seyrediyor olması ve yaptığımız biyoenformatik incelemeler sonucu *miR-27b* ile ilişkisi tespit edilen otoenflamasyon ilişkili genlerin yüksek miktarda tespit edilen ekspresyon değerleri, bu iki durumun birbiriyle yüksek miktarda korele olduğunu göstermektedir. Buna bağlı olarak *miR-27b* OLP grubunda bir ayırıcı faktör olarak düşünülebilir. Ancak bu yorumu gerçekçi kılmak için OLP benzeri fenotiplerin tümünde *miR-27b* ekspresyon değerlerinin incelenmesi gerekmektedir.

OLP fenotipinde apoptoz varlığı daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir⁴⁰. Bizim bulgularımızda *TNFα*'nın çalışma grubunda kontrol grubuna göre yüksek miktardaki ekspresyonu; bu durumun literatürle uyumlu olarak apoptozun ekstrinsik yolağı uyarınca gerçekleştiğini düşündürmektedir. Bununla birlikte *TGFβ*'nin kontrol grubuna göre saptanan yüksek ekspresyonu da OLP sürecinde meydana gelen otoenflamatuvar sürecin baskılanarak apoptoza yöneldiğini düşündürmektedir. Bu bulgular ışığında bir pro-enflamatuvar sitokin olan *IL1-β* ekspresyonunda çalışma ve kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmaması oldukça olası bir sonuçtur. Tüm bunlarla birlikte, *CD28* ekspresyon düzeyinin OLP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı şekilde yüksek bulunması, sürecin literatürle uyumlu olarak daha çok edinsel immün sistem ile yönetildiğini doğrulamaktadır^{38,41,99-101}.

Bu çalışmada OLP'li bireylerin klinik ve demografik özelliklerine bağlı olarak bir çok istatistiksel veri elde edilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, *miR-27b* ve hedef aldığı düşünülen/bilinen enflamasyonla ilişkili genlerin ekspresyonlarında bu klinik ve demografik özelliklere göre bir korelasyon saptanmamıştır. Bunun yanında sistemik hastalıkla ilgili olarak yapılan incelemede *TGFβ*, *CD28* ve *IL6-R*'nin anlamlı bir şekilde artmış olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular OLP fenotipi ile

ilişkilendirilebileceği gibi sistemik hastalıkların aktiflikleri ya da bunların dışında herhangi bir immünojen faktör ile de ilişkili olabilir. Bu incelemenin OLP ve *miR-27b* ile ilişkisini net bir şekilde ortaya koyabilmesi için, enflamatuvar sitokinleri artış göstermiş olan bu hasta grubunun tedavi gördüğü merkezlerdeki medikal kayıtların elde edilmesi ve sistemik hastalığın aktif veya kontrol altında olup olmadığının tespiti gerekmektedir. Bu çalışma kapsamında çalışmaya dahil edilen bireylerin medikal kayıtlarına ulaşmak mümkün olmamıştır. Gelecek dönemde çalışma planlarken çalışma grubuna ait medikal verilerin detaylı olarak incelenmesi ön görülmüştür.

Zhang ve ark.² (2012) *miR-27b* ekspresyon düzeyini retiküler OLP ve atrofik/ülseratif OLP grupları arasında karşılaştırmışlar ancak anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar Zhang ve ark.'nın² destekler niteliktedir; retiküler OLP ve atrofik/eroziv OLP grupları arasında *miR-27b* ve hedef aldığı öngörülen/bilinen genlerin (*IL6-R*, *CD28*, *TGFβ*, *TNFα* ve *IL1-β*) ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir fark saptanmamıştır. OLP'nin klinik görünümünün enflamasyon şiddetinin bir göstergesi olduğu bilinmektedir^{7, 21}. Retiküler ve atrofik/ülseratif OLP grupları arasında, literatürle uyumlu şekilde, ekspresyon farklılığı saptanmamış olan *miR-27b*, OLP'de enflamasyon şiddetinin belirlenmesinde ayırıcı bir faktör olarak değerlendirilmemiştir.

Noren-Hooten ve ark.¹⁰² (2010) farklı yaş gruplarının hastalıklara olan yatkınlık durumlarına, miRNA ekspresyon farklılıkları üzerinden açıklık getirebilmeyi hedefleyerek, miRNA ekspresyonlarının yaşla olan değişimini incelemiştir. Genç (30 yaş) ve yaşlı (64 yaş) bireylerde, periferik kan mononükleer hücrelerinden elde ettikleri 800 adet miRNA'yı, GZ-PZR yöntemiyle profillendirmişler ve yaşlılarda 9 adet miRNA ekspresyonunun anlamlı derecede azaldığını ortaya koymuşlardır. İnceledikleri 800 miRNA arasında yer alan *miR-27b*'nin ekspresyonunun yaşla azaldığı gösterilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda, OLP grubunun ortanca yaşı 53 olarak hesaplanmış ve grup 53 yaş ve üstü (en az: 53; en çok: 74) ve 53 yaş altı (en az: 24; en çok: 52) olarak ikiye ayrılarak *miR-27b* ekspresyonları karşılaştırılmıştır. 53 yaş ve üstü bireylerin oluşturduğu grupta *miR-27b* ekspresyonunda düşüş gözlemlenmiş olsa da bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Karşılaştırılan yaş grupları farklı olmakla birlikte, bu çalışmadan elde edilen sonuç Noren-Hooten ve ark.'nın¹⁰² çalışmasını

destekler niteliktedir. Bununla birlikte, incelenen *miR-27b* hedef gen ekspresyonları da yaşa bağlı anlamlı değişim göstermemiştir.

Çalışmamızda lezyonda *C. albicans* üreyen ve üremeyen OLP gruplarının *miR-27b* ve hedef genlerden TNF α , *IL6-R*, *CD28* ve *IL1- β* ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Hedef genlerden *TGF β* ekspresyonunun ise istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı görülmüştür. Bu çalışmada kullanılan çalışma grubu OLP doku örnekleri, etik kurallar çerçevesinde, bireylere ikinci bir cerrahi işlem yapılmaması amacıyla, tanı amaçlı biyopsi alınması esnasında elde edilmiştir. *C. albicans* enfeksiyonunun yanlış histopatolojik sonuçlara yol açmaması için, lezyonlarında *C. albicans* üreyen bireylerin bu enfeksiyona yönelik tedavileri zorunlu olarak biyopsi alınmadan önce yapılmıştır. Bu nedenle bu grupta yapılan incelemelerde aktif *C. albicans* enfeksiyonundaki ekspresyon düzeyleri gözlemlenememiştir. Bununla birlikte antifungal tedavide kullanılan nistatinin *TGF β* ekspresyonunu artırma özelliği bilinmektedir¹⁰³. Nistatin ile tedavi edilen grupta *TGF β* ekspresyonunun yüksek çıkması bu durumla ilişkili olabilir. İleride yapılacak devam niteliğindeki çalışmaları planlarken, etik kurallar gözetilerek, *C. albicans*'a yönelik tedavi uygulanmadan önce doku örneği elde edilebilmesi ön görülmüştür.

Mignogna ve ark.³⁰ 2004'te yayınladıkları makalede, kronik enflamatuvar sürecin kendiliğinden, hücre sağ kalımı, büyümesi, proliferasyonu, farklılaşması, ve hareketini etkileyen sitokin temelli bir mikro-çevre sağladığı ve bu durumun da kanser başlangıcı, progresyonu, invazyonu ve metastazına destek olduğuna dair yeterli kanıt olduğunu ifade etmişlerdir. Buradan yola çıkarak, kronik enflamatuvar otoimmün bir hastalık olan OLP'ye bağlı enflamatuvar mikro-çevrenin, normal epitelde tümör oluşumunu başlatmanın yanı sıra, tütün ve alkol gibi, konvansiyonel çevresel karsinojenlerin yol açtığı moleküler değişiklikler üzerinde predispozan ve şiddeti artırıcı olarak etki edebileceğini öne sürmüşlerdir.

Aynı ekibin 2001 yılında yayınladıkları, 502 OLP hastasının takip edildiği beş yıllık çalışmanın sonucunda 24 OLP hastasında oral skuamoz hücreli karsinom saptanmıştır. 24 karsinom olgusundan 22'sinin daha önce var olan hiperkeratotik (retiküler, plak) OLP lezyon alanlarında geliştiği; ikisinin ise OLP ile eş zamanlı olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir. Çalışma grubu içinde sigara kullanmış olduğu bilinen

hastalar hariç tutulduğunda, kanser dönüşüm oranının yaklaşık %3,7 olduğu açıklanmıştır²⁷.

Güncel bulgular OLP gibi malign dönüşüm potansiyeli olan lezyonların progresyonlarının miRNA'ların ekspresyonlarıyla ilişkili olduğunu öne sürmektedir^{31,58}. Gassling ve ark.³¹ 2013'te yayınladıkları çalışmada miRNA'ların OLP'deki patofizyolojik etkilerini ve hastalıkla ilişkili olabilecek hedef transkriplerle doğrudan bağlantılı, düzenleyici miRNA ağını saptamayı hedeflemişlerdir. Bu amaçla 7 adet OLP hastasından ve kontrollerden elde edilen dokulardan array yöntemi ile miRNA ve mRNA'ların profillendirmesini yapmışlar ve sonuçları GZ-PZR yöntemi ile valide etmişlerdir. Çalışmada bir çok miRNA'nın malign transformasyon ile ilişkisi değerlendirilmiş ve *miR-21*, *miR-181b* ve *miR-345'in* yüksek ekspresyonlarının malign transformasyon ile olan ilgisi vurgulanmıştır.

Dang ve ark.⁵⁸ 2013 yılında OLP prognozuna yönelik bir biyobelirteç bulmak amacıyla 20 OLP'li, 12 oral skuamöz hücreli karsinomlu ve 10 sağlıklı bireyin oral mukozal dokularında *miR-137* promotor metilasyonunu ve iyi bilinen bir tümör baskılayıcı olan *p16* metilasyonunu, metilasyon özgü PZR ile inceleyerek karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda *miR-137* metilasyonunun OLP hastalarının malign dönüşümü ile ilişkili olduğu sonucunu öne sürmüşlerdir.

Çalışmamızda ekspresyon düzeyi incelenen *miR-27b*'nin kanser oluşumu ve progresyonu üzerindeki etkileri daha önce yapılan çalışmalarda değerlendirilmiş; farklı kanser türlerinde değişik roller üstlendiği gösterilmiştir. Meme kanserinde ekspresyonun arttığı ve onkomiir olarak görev aldığı gösterilirken¹⁰⁴, kolorektal kanser dokusunda, nöroblastoma hücrelerinde, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri dokusunda ve oral kanser hücrelerinde *miR-27b* ekspresyonunun azaldığı ve bu kanser türleri için tümör baskılayıcı olarak rol oynadığı ortaya konulmuştur¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. Bununla birlikte Zhang ve ark.'nın² (2012) OLP'li bireyler ile yaptığı miRNA profillendirme çalışmasında *miR-27b*'nin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı ve buna bağlı olarak *miR-27b*'nin OLP için potansiyel bir biyobelirteç olabileceği iddia edilmiştir. *miR-27b*'nin oral kanserlerde üstlendiği rol ve ekspresyon düzeyi, OLP dokularındaki düşük *miR-27b* ekspresyonunun OLP'nin malign dönüşümünde bir risk faktörü olabileceği fikrini doğurmuştur. Ancak bu düşüncenin çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

İnsana ait doku, hücre veya sıvı gibi ortamlarda ölçülebilen, hücresel, biyokimyasal veya moleküler değişimler biyobelirteç olarak adlandırılır. Ölçülebilen bu değişimlerin ideal bir biyobelirteç olarak kabul edilebilmesi için ölçümlerinin güvenli, kolay, hassas ve hızlı olması; hastalığa özgü olması; farklı cinsiyet ve etnik gruplar arasında istikrarlı sonuçlar vermesi; ölçülen değerler üzerinde etkisi olan kanıtlanmış bir tedavinin var olması ve takip testlerinin düşük maliyetli olması gerekmektedir^{108,109}. Bu çalışmada *miR-27b*'nin OLP dokularında, kontrol dokularına göre istatistiksel olarak anlamlı düşük ekspresyon gösterdiği ortaya konulmuştur. Ancak kullanılan tekniğin hızlı sonuç vermemesi, rutin uygulamalar için yüksek maliyet gerektirmesi ve *miR-27b* değişimlerinin OLP'ye spesifik olmaması ve buna bağlı olarak *miR-27b* ekspresyon değerleri ile ilgili bir referans aralık üretilmesinin zorluğu gibi nedenlerle *miR-27b*, OLP tanısı için biyobelirteç olma kriterlerini sağlayamamaktadır.

Sonuç olarak; bu çalışmada *miR-27b* ekspresyon değeri, çalışma grubunda kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. *miR-27b*'nin hedef aldığı öngörülen/bilinen otoenflamasyon ilişkili genlerin (*IL6-R*, *CD28*, *TGFβ* ve *TNFα*) ekspresyonunun OLP'li bireylerden oluşan çalışma grubunda artmış olması iki durumun birbiriyle korele olduğunun bir göstergesi olarak düşünülebilir.

Sistemik hastalığı olan OLP'li bireylerde anlamlı şekilde artmış bulunan *TGFβ*, *CD28* ve *IL6-R* ekspresyonu OLP fenotipi ile ilişkilendirilebileceği gibi, sistemik hastalıkların aktiflikleri ile de ilişkilendirilebilir. Bunların dışında herhangi bir immünojen faktör de bu genlerin ekspresyonunda artışa yol açmış olabilir. Bu durumun değerlendirilebilmesi için ileride yapılacak ekspresyon çalışmalarında, çalışmaya dahil edilen bireylerin immünojen faktörler ve enflamasyon açısından ayrıntılı olarak incelenmesi de ön görülmüştür.

Enflamasyon şiddetinin bir göstergesi olan klinik görünümle *miR-27b* ve hedef gen ekspresyonları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

C. albicans üreyen grupta *TGFβ*'nin anlamlı yüksek ekspresyonunun, biyopsi öncesi verilen nistatin tedavisiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Literatürde yer alan çalışmalarda, oral kanserlerde OLP ile benzer şekilde ekspresyonu düşük olduğu gösterilen *miR-27b*'nin, OLP'nin malign dönüşümde

potansiyel rol taşıyabileceği ön görülmüştür. Bu durumun değerlendirilmesi için detaylı incelemelere gereksinim vardır.

OLP'de ekspresyonu düşük bulunan *miR-27b*'yi OLP için ayırıcı bir faktör olarak tanımlayabilmek için OLP ile ayırıcı tanısı yapılması gereken hastalıkların tümünde *miR-27b* düzeyleri incelenmelidir. Bununla birlikte daha önce belirtilen sebeplerden dolayı *miR-27b*'yi bir biyobelirteç olarak önermek mümkün görünmemektedir.

Bu çalışmada elde edilen bulgular genel olarak literatürle uyumluluk göstermektedir. Ancak OLP'nin moleküler etiyopatogenezinin tam olarak anlaşılabilmesi için bu fenotipte global ekspresyon durumunun ayrıntılı olarak zamana bağlı incelemesinin yapılması ve bunun da valide edilerek fonksiyonel çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Danielsson K, Wahlin YB, Gu X, Boldrup L, Nylander K. Altered expression of miR-21, miR-125b, and miR-203 indicates a role for these microRNAs in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2012; **41** (1): 90–95.
2. Zhang, WY, Liu W, Zhou YM, Shen XM, Wang YF, and Tang GY. Altered microRNA expression profile with miR-27b down-regulation correlated with disease activity of oral lichen planus. *Oral Dis* 2012; **18** (3): 265–270.
3. Ismail, SB, Kumar SKS, Zain RB. Oral lichen planus and lichenoid reactions: etiopathogenesis, diagnosis, management and malignant transformation. *J Oral Sci* 2007; **49** (2): 89–106.
4. Araújo, TC, Guimarães, ALS, de Paula, AMB, Gomes, CC, Gomez, RS. Increased miRNA-146a and miRNA-155 expressions in oral lichen planus. *Arch Dermatol Res* 2012; **304** (5): 371–375.
5. Warnakulasuriya S, Johnson NW, Van Der Waal, I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa: Potentially malignant disorders. *J Oral Pathol Med* 2007; **36** (10): 575–580.
6. WHO. World health organization collaborating centre for oral precancerous lesions, Definition of leukoplakia and related lesions; an aid to study precancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978 **46** (4): 518–539.
7. Greenberg, M, Glick, M, Ship, J. *Burket's Oral Medicine*. Hamilton: BC Decker Inc.; 2008.
8. Neville, BW. *Oral and Maxillofacial Pathology*. St. Louis, Mo.: Saunders/Elsevier; 2002.
9. Rad, M, Hashemipour MA, Mojtahedi A, Zarei MR, Chamani G, Kakoei S. et al. Correlation between clinical and histopathologic diagnoses of oral lichen planus based on modified WHO diagnostic criteria. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; **107** (6): 796–800.
10. Napier, SS, Speight, PM. Natural history of potentially malignant oral lesions and conditions: an overview of the literature. *J Oral Pathol Med* 2008; **37** (1): 1–10.
11. Axell T, Rundquist L. Oral lichen planus - a demographic study. *Community Dent Oral Epidemiol* 1987; **15** (1): 52–56.

12. McCartan BE, Healy CM. The reported prevalence of oral lichen planus: a review and critique. *J Oral Pathol Med* 2008; **37** (8): 447–453.
13. Mumcu G, Cimilli H, Sur H, Hayran O, Atalay T. Prevalence and distribution of oral lesions: a cross-sectional study in Turkey. *Oral Dis* 2005; **11** (2): 81–87.
14. Cebeci ARI, Gülşahi A, Kamburoglu K, Orhan BK, Oztaş B. Prevalence and distribution of oral mucosal lesions in an adult Turkish population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2009; **14** (6): 272–277.
15. Scully C, Beyli M, Ferreiro MC, Ficarra G, Gill Y, Griffiths M, et al. Update on oral lichen planus: etiopathogenesis and management. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; **9** (1): 86–122.
16. Eisen D, Carrozzo M, Bagan Sebastian J-V, Thongprasom K. Number V Oral lichen planus: clinical features and management. *Oral Dis* 2005; **11** (6): 338–349.
17. Munde AD, Karle RR, Wankhede PK, Shaikh SS, Kulkurni M. Demographic and clinical profile of oral lichen planus: A retrospective study. *Contemp Clin Dent* 2013; **4** (2): 181–185.
18. Padmini C, Bai KY, Chaitanya V, Reddy MS. Ulcerative lichen planus in childhood. *Case Rep Dent* 2013; **2013**: 874–895.
19. Laeijendecker R, Van Joost T, Tank B, Oranje AP, Neumann HAM. Oral lichen planus in childhood. *Pediatr Dermatol* 2005; **22** (4): 299–304.
20. Eisen D. The evaluation of cutaneous, genital, scalp, nail, esophageal, and ocular involvement in patients with oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; **88** (4): 431–436.
21. Saxena V, Bhai PP. Lichen planus in four clinical forms. *IJSS* 2014; **1** (4) :5.
22. Sugerman PB, Savage NW, Zhou X, Walsh LJ, Bigby M. Oral lichen planus. *Clin Dermatol* 2000; **18** (5): 533–539.
23. Edwards PC, Kelsch R. Oral lichen planus: clinical presentation and management. *J Can Dent Assoc* 2002; **68** (8): 494–499.
24. Marx RE, Stern D. *Oral and Maxillofacial Pathology: A Rationale for Diagnosis and Treatment*. Chicago: Quintessence Pub. Co.; 2003.
25. Eisen D. The clinical manifestations and treatment of oral lichen planus. *Dermatol Clin* 2003; **21** (1): 79–89.

26. Kazancıoğlu HO, Alpkılıç-Başkırt E, Ak G. Oral liken planusun topikal takrolimus uygulaması ile başarılı tedavisi. *J Dent Fac Atatürk Uni* 2012 **6**: 30-34.
27. Mignogna MD, Lo Muzio L, Lo Russo L, Fedele S, Ruoppo E, Bucci E. Clinical guidelines in early detection of oral squamous cell carcinoma arising in oral lichen planus: a 5-year experience. *Oral Oncol* 2001; **37** (3): 262–267.
28. Van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol* 2009; **45** (4-5): 317–323
29. Lo Muzio L, Mignogna MD, Favia G, Procaccini M, Testa NF, Bucci E. The possible association between oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma: a clinical evaluation on 14 cases and a review of the literature. *Oral Oncol* 1998; **34** (4): 239–246.
30. Mignogna MD, Fedele S, Lo Russo L, Lo Muzio L, Bucci E. Immune activation and chronic inflammation as the cause of malignancy in oral lichen planus: is there any evidence? *Oral Oncol* 2004; **40** (2): 120–130.
31. Gassling V, Hampe J, Açıl Y, Braesen JH, Wiltfang J, Häsler R. Disease-associated miRNA-mRNA networks in oral lichen planus. *PLoS ONE* 2013; **8** (5): e63015.
32. Abbas, AK, Lichtman AH. *Temel İmmünoloji İmmün Sistemin Fonksiyonları ve Bozuklukları*. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti.; 2007.
33. Medzhitov R, Janeway CA. Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Curr Opin Immunol* 1997; **9** (1): 4–9.
34. Luster AD. The role of chemokines in linking innate and adaptive immunity. *Curr Opin Immunol* 2002; **14** (1): 129–135.
35. Riha P, Rudd CE. CD28 co-signaling in the adaptive immune response. *Self/Nonself* 2010; **1** (3): 231–240.
36. Iwasaki A, Medzhitov R. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. *Science* 2010; **327** (5963): 291–295.
37. Atassi MZ, Casali P, Atassi MZ, Casali P. Molecular mechanisms of autoimmunity. *Autoimmunity* 2008; **41** (2): 123–132.
38. Jungell P, Konttinen YT, Malmström M. Basement membrane changes in oral lichen planus. *Proc Finn Dent Soc* 1989; **85** (2): 119–124.

39. Bloor BK, Malik FK, Odell EW, Morgan PR. Quantitative assessment of apoptosis in oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; **88** (2): 187–195.
40. Neppelberg E, Johannessen AC, Jonsson R. Apoptosis in oral lichen planus. *Eur J Oral Sci* 2001; **109** (5): 361–364.
41. Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ, Zhao ZZ, Zhou XJ, Khan A, et al. The Pathogenesis of Oral Lichen Planus. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; **13** (4): 350–365.
42. Lodi G, Scully C, Carrozzo M, Griffiths M, Sugerman PB, Thongprasom K. Current controversies in oral lichen planus: Report of an international consensus meeting. Part 1. Viral infections and etiopathogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; **100** (1): 40–51.
43. Thornhill MH. Immune mechanisms in oral lichen planus. *Acta Odontol Scand* 2001; **59** (3): 174–177.
44. Walsh LJ, Savage NW, Ishii T, Seymour GJ. Immunopathogenesis of oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1990; **19** (9): 389–396.
45. Zhao ZZ, Savage NW, Sugerman PB, Walsh LJ. Mast cell/T cell interactions in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2002; **31** (4): 189–195.
46. Jontell M, Ståhlblad PA, Rosdahl I, Lindblom B. HLA-DR3 antigens in erosive oral lichen planus, cutaneous lichen planus, and lichenoid reactions. *Acta Odontol Scand* 1987; **45** (5): 309–312.
47. Watanabe T, Ohishi M, Tanaka K, Sato H. Analysis of HLA antigens in Japanese with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1986; **15** (10): 529–533.
48. Lin SC, Sun A. HLA-DR and DQ antigens in Chinese patients with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1990; **19** (7): 298–300.
49. Porter K, Klouda P, Scully C, Bidwell J, Porter S. Class I and II HLA antigens in British patients with oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; **75** (2): 176–180.
50. Roitberg-Tambur A, Friedmann A, Korn S, Markitziu A, Pisanti S, Satirman C, et al. Serologic and molecular analysis of the HLA system in Israeli Jewish patients with oral erosive lichen planus. *Tissue Antigens* 1994; **43** (4): 219–223.

51. Yang LL, Liu XQ, Liu W, Cheng B, Li MT. Comparative analysis of whole saliva proteomes for the screening of biomarkers for oral lichen planus. *Inflamm Res* 2006; **55** (10): 405–407.
52. Srinivasan M, Kodumudi KN, Zunt SL. Soluble CD14 and toll-like receptor-2 are potential salivary biomarkers for oral lichen planus and burning mouth syndrome. *Clin Immunol* 2008; **126** (1): 31–37.
53. Zhou L, He H, Mi JX, Li C, Lee B, Mi QS. MicroRNA genes. *Ann N Y Acad Sci* 2008; **1150**: 72–75.
54. Pauley KM, Cha S, Chan EKL. MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases. *J Autoimmun* 2009; **32** (3-4): 189–194.
55. Furer V, Greenberg JD, Attur M, Abramson SB, Pillinger MH. The role of microRNA in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Clin Immunol* 2010; **136** (1): 1–15.
56. Dai R, Ahmed SA. MicroRNA, a new paradigm for understanding immunoregulation, inflammation, and autoimmune diseases. *Transl Res* 2011; **157** (4): 163–179.
57. Kapsogeorgou EK, Gourzi VC, Manoussakis MN, Moutsopoulos HM, Tzioufas AG. Cellular microRNAs (miRNAs) and Sjögren's syndrome: candidate regulators of autoimmune response and autoantigen expression. *J Autoimmun* 2011; **37** (2): 129–135.
58. Dang J, Bian Y-Q, Sun JY, Chen F, Dong G-Y, Liu Q, et al. MicroRNA-137 promoter methylation in oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2013; **42** (4): 315–321.
59. Weiler J, Hunziker J, Hall J. Anti-miRNA oligonucleotides (AMOs): ammunition to target miRNAs implicated in human disease? *Gene Ther* 2006; **13** (6): 496–502.
60. Xu N, Brodin P, Wei T, Meisgen F, Eidsmo L, Nagy N, et al. MiR-125b, a MicroRNA downregulated in psoriasis, modulates keratinocyte proliferation by targeting FGFR2. *J Invest Dermatol* 2011; **131** (7): 1521–1529.
61. Lu M, Zhang Q, Deng M, Miao J, Guo Y, Gao W, et al. An analysis of human microRNA and disease associations. *PLoS ONE* 2008; **3** (10): e3420.
62. Wienholds E, Plasterk RHA. MicroRNA function in animal development. *FEBS Lett* 2005; **579** (26): 5911–5922.

63. Nylander E, Ebrahimi M, Wahlin Y-B, Boldrup L, Nylander K. Changes in miRNA expression in sera and correlation to duration of disease in patients with multifocal mucosal lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2012; **41** (1): 86–89.
64. Akhtar N, Rasheed Z, Ramamurthy S, Anbazhagan AN, Voss FR, Haqqi TM. MicroRNA-27b Regulates the Expression of Matrix Metalloproteinase 13 in Human Osteoarthritis C hondrocytes. *Arthritis & Rheumatism* 2010; **62** (5): 1361–1371.
65. Hildebrand J, Rütze M, Walz N, Gallinat S, Wenck H, Deppert W, et al. A comprehensive analysis of microRNA expression during human keratinocyte differentiation in vitro and in vivo. *J Invest Dermatol* 2011; **131** (1): 20–29.
66. Voorhoeve PM, Agami R. Classifying microRNAs in cancer: the good, the bad and the ugly. *Biochim Biophys Acta* 2007; **1775** (2): 274–282.
67. Kusenda B, Mraz M, Mayer J, Pospisilova S. MicroRNA biogenesis, functionality and cancer relevance. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2006; **150** (2): 205–215.
68. Gomes CC, Gomez RS. MicroRNA and oral cancer: Future perspectives. *Oral Oncol* 2008; **44** (10): 910–914.
69. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; **75** (5): 843–854.
70. Hammond SM. MicroRNA therapeutics: a new niche for antisense nucleic acids. *Trends Mol Med* 2006; **12** (3): 99–101.
71. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* 2001; **294** (5543): 797–799.
72. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000; **408** (6808): 86–89.
73. Ketting RF, Fischer SE, Bernstein E, Sijen T, Hannon GJ, Plasterk RH. Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in *C. elegans*. *Genes Dev* 2001; **15** (20): 2654–2659.
74. Zhao Y, Ransom JF, Li A, Vedantham V, von Drehle M, Muth AN, et al. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2. *Cell* 2007; **129** (2): 303–317.

75. Xiao C, Calado DP, Galler G, Thai T-H, Patterson HC, Wang J, et al. MiR-150 Controls B Cell Differentiation by Targeting the Transcription Factor c-Myb. *Cell* 2007; **131** (1): 146–159.
76. Van Rooij E, Sutherland LB, Qi X, Richardson JA, Hill J, Olson EN. Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA. *Science* 2007; **316** (5824): 575–579.
77. Kwak PB, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci* 2010; **101** (11): 2309–2315.
78. Sontheimer EJ. Assembly and function of RNA silencing complexes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; **6** (2):127–138.
79. Hutvagner G. A cellular function for the RNA-interference enzyme dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA. *Science* 2001; **293** (5531): 834–838.
80. Khvorova A, Reynolds A, Jayasena SD. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. *Cell* 2003; **115** (2): 209–216.
81. Ouellet DL, Perron MP, Gobeil LA, Plante P, Provost P. MicroRNAs in gene regulation: when the smallest governs it all. *J Biomed Biotechnol* 2006; **2006**:1–20.
82. Wu L, Fan J, Belasco JG. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; **103** (11): 4034–4039.
83. Lu LF, Liston A. MicroRNA in the immune system, microRNA as an immune system. *Immunology* 2009; **127** (3): 291–298.
84. Otsuka M, Jing Q, Georgel P, New L, Chen J, Mols J, et al. Hypersusceptibility to vesicular stomatitis virus infection in dicer1-deficient mice is due to impaired miR24 and miR93 expression. *Immunity* 2007; **27** (1): 123–134.
85. Pritchard CC, Cheng HH, Tewari M. MicroRNA profiling: approaches and considerations. *Nat Rev Genet* 2012; **13** (5): 358–369.
86. de Quervain DJF, Henke K, Aerni A, Coluccia D, Wollmer MA, Hock C, et al. A functional genetic variation of the 5-HT2a receptor affects human memory. *Nature Neurosci* 2003; **6** (11): 1141–1142.
87. Gunel T. gen anlatımının kantitatif analizi “Real-Time PCR.” *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007; **27** (5): 763–767.

88. Dweep H, Sticht C, Pandey P, Gretz N. miRWalk – Database: Prediction of possible miRNA binding sites by “walking” the genes of three genomes. *J Biomed Inform* 2011; **44** (5): 839–847.
89. Seelow D, Schwarz JM, Schuelke M. GeneDistiller--distilling candidate genes from linkage intervals. *PLoS ONE* 2008; **3** (12): e3874.
90. Entrez Help [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2005-. Entrez Help. 2006 Jan 20 [Updated 2014 Apr 9]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK3837/>
91. Van der Meij EH, Schepman K-P, van der Waal I. The possible premalignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: a prospective study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; **96** (2):164–171.
92. Pindborg JJ, Mehta FS, Daftary DK, Gupta PC, Bhonsle RB. Prevalence of oral lichen planus among 7639 Indian villagers in Kerala, South India. *Acta Derm Venereol* 1972; **52** (3): 216–220.
93. Andreasen J. Oral lichen planus : I. A clinical evaluation of 115 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1968; **25** (1): 31–42.
94. Seoane J, Romero MA, Varela-Centelles P, Diz-Dios P, Garcia-Pola MJ. Oral lichen planus: a clinical and morphometric study of oral lesions in relation to clinical presentation. *Braz Dent J* 2004; **15** (1): 9–12.
95. Madkour GG, Nahass HE, Abd W, Mohamad EM. Expression levels of microRNA-21 and microRNA-146a in patients with Oral Lichen Planus. *Life Sci J* 2012; **9** (4): 4666–4670.
96. Khan A, Farah CS, Savage NW, Walsh LJ, Harbrow DJ, Sugerman PB. Th1 cytokines in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2003; **32** (2): 77–83.
97. Yamamoto T, Nakane T, Osaki T. The mechanism of mononuclear cell infiltration in oral lichen planus: the role of cytokines released from keratinocytes. *J Clin Immunol* 2000; **20** (4): 294–305.
98. Yamamoto T, Osaki T. Characteristic Cytokines Generated by Keratinocytes and Mononuclear Infiltrates in Oral Lichen Planus. *J Invest Dermatol* 1995; **104** (5): 784–788.
99. Rhodus NL, Cheng B, Ondrey F. Th1/Th2 cytokine ratio in tissue transudates from patients with oral lichen planus. *Mediat Inflamm* 2007; **2007**:1–5.

100. Chauhan I, Beena VT, Srinivas L, Sathyan S, Banerjee M. Association of Cytokine Gene Polymorphisms with Oral Lichen Planus in Malayalam-Speaking Ethnicity from South India (Kerala). *J Interf Cytok Res* 2013; **33** (8): 420–427.
101. Sugerman PB, Satterwhite K, Bigby M. Autocytotoxic T-cell clones in lichen planus. *Br J Dermatol* 2000; **142** (3): 449–456.
102. Noren Hooten N, Abdelmohsen K, Gorospe M, Ejiogu N, Zonderman AB, Evans MK. microRNA Expression Patterns Reveal Differential Expression of Target Genes with Age. *PLoS ONE* 2010; **5** (5): e10724.
103. Chen YG. Endocytic regulation of TGF- β signaling. *Cell Res* 2009; **19** (1) :58–70.
104. Jin L, Wessely O, Marcusson EG, Ivan C, Calin GA, Alahari SK. Prooncogenic factors miR-23b and miR-27b are regulated by Her2/Neu, EGF, and TNF- in breast cancer. *Cancer Res* 2013; **73** (9): 2884–2896.
105. Lo WY, Wang H-J, Chiu C-W, Chen S-F. miR-27b-regulated TCTP as a novel plasma biomarker for oral cancer: From quantitative proteomics to post-transcriptional study. *J Proteomics* 2012; **77**: 154–166.
106. Wan L, Zhang L, Fan K, Wang J. miR-27b targets LIMK1 to inhibit growth and invasion of NSCLC cells. *Mol Cell Biochem* 2014; **390** (1-2): 85–91.
107. Lee JJ, Drakaki A, Iliopoulos D, Struhl K. MiR-27b targets PPAR γ to inhibit growth, tumor progression and the inflammatory response in neuroblastoma cells. *Oncogene* 2012; **31**(33): 3818–3825.
108. Kumar M, Sarin S. Biomarkers of diseases in medicine. *Curr Trends Sci* 2009; **70**: 403–417.
109. Mayeux R. Biomarkers: Potential uses and limitations. *NeuroRx* 2004; **1** (2): 182–188.

FORMLAR

ÇALIŞMA GRUBU TAKİP FORMU

..../..../20..

Prot. no:

Adı Soyadı:

Doğum Yeri:

Tel:

Mesleği:

Adresi:

Cinsiyeti:

Doğum Tarihi:

Gsm:

Medeni Durumu: Evli () Bekar ()

ÖĞRENİM DURUMU:

İlkokul () Ortaokul () Lise () Üniversite () Yüksek Lisans () Diğer ()

SİSTEMİK HASTALIKLAR:

KULLANILAN İLAÇLAR:

SİGARA () Kullanıyor ise:pkt/gün

ALKOL ()

AĞIZ İÇİ MUAYENESİ:

PROTEZ KULLANIMI: Kuron-köprü Protezi () Parsiyel Protez () Total Protez ()

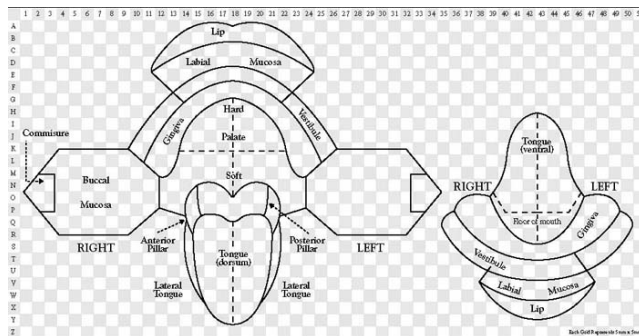
RESTORASYONLAR: Amalgam () Kompozit () Diğer (.....)

ORAL LEZONLARLA İLGİLİ ŞİKÂyetLERİ:

SÜRESİ:

ÖYKÜSÜ:

LEZYONUN YERLEŞİMİ:



LEZYONUN KLİNİK GÖRÜNÜMÜ:

- Retiküler
 Atrofik-Eroziv
 Ülseratif

LEZYONUN RESTORASYONLARLA İLİŞKİSİ:

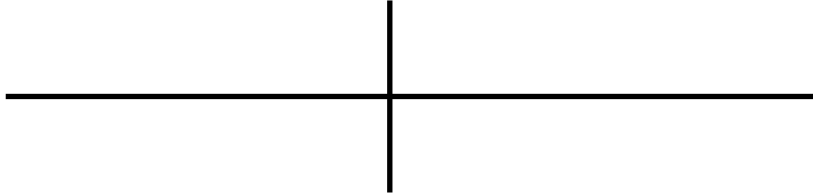
- Lezyonlar Sadece Restorasyonla Temasta
 Lezyonlar Restorasyonla Kontakta ve Kontakta Olmayan Alanda
 Lezyonlar Restorasyonlarla Temasta Değil

DAHA ÖNCE BİYOPSİ YAPILMIŞSA SONUCU:

...../...../.....

.....

DENTAL TABLO:

TETKİKLER

Lezyonda *C. Albicans* :

Alerji - Dental Patch Testi :

Kan Tahlili (Tam kan sayımı, FE, TDBK, folik asit, B12 vit. , ferritin) :

Biyopsi (Histopatolojik inceleme sonucu) :...../...../2012

.....

KONTROL GRUBU TAKİP FORMU

Örnek Tarihi:

PROTOKOL NO:

ADI, SOYADI:

CİNSİYETİ: E K

DOĞUM TARİHİ:

DOĞUM YERİ:

MESLEĞİ:

MEDENİ DURUMU: Evli Bekar

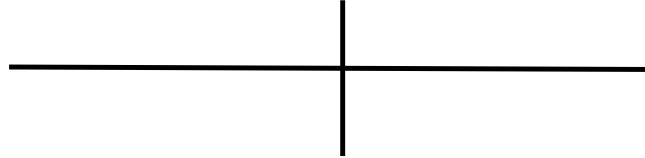
ADRESİ:

TEL.:

ÖĞRENİM DURUMU:

İlkokul Ortaokul Lise Üniversite Yüksek Lisans Diğer AĞIZ İÇİ MUAYENEPROTEZ KULLANIMI: Kuron-köprü protezi Parsiyel protez Total protez RESTORASYONLAR: Amalgam Kompozit Diğer (.....)

DENTAL TABLO:

LÜTFEN AŞAĞIDAKİ SORULARIN HEPSİNİ EKSİKSİZ OLARAK CEVAPLAYINIZ

Ağzınızda sık tekrarlayan ağız yarası (aft) çıkar mı? Evetse ne sıklıkla?

Ağız içi yumuşak dokularınızı (diş eti, yanak, damak, dil, dil altı) ilgilendiren (aft dışında)

bir hastalık geçirdiniz mi?

Herhangi bir cilt hastalığınız var mı?

Geçirdiğiniz hastalıklar varsa (kalp, şeker hastalığı, kanser, psikiyatrik hastalıklar, romatolojik

hastalıklar) kısaca belirtiniz.

Devamlı kullandığınız bir ilaç var mı?

Sigara alışkanlığı: Kullanıyor Kullanmıyor Alkol alışkanlığı : Kullanıyor Kullanmıyor

BİLGİLENDİRMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF) (ÇALIŞMA GRUBU)

Çalışmanın adı: Oral Liken Planus Hastalarında miRNA ekspresyonlarındaki değişimlerin incelenmesi

Çalışmaya 30 sağlıklı bireyin, 30 oral liken planus hastasının gönüllü olarak katılması planlanmıştır.

- Gönüllüden teşhis amaçlı biyopsi uygulaması esnasında ayrıca çalışmada incelenmek üzere lezyon bölgesinden 4mm punch biyopsi ile oral mukoza örneği alınacaktır.
- Çalışmada gönüllüye hem genel sağlık durumu hem de ağız sağlığı ile ilgili sorular içeren anket uygulanacaktır.
- Gönüllüden alınan doku örneklerinden RNA izolasyonu yapılarak mikro RNA ekspresyon değişimleri laboratuvar çalışmaları ile belirlenecektir.
- Gönüllünün uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlık ve riskle karşılaşması söz konusu değildir.
- Gönüllünün herhangi bir istenmeyen etki ile karşılaşması söz konusu değildir.
- Bu çalışma hastaya herhangi bir ilaç, kimyasal, yabancı madde vb. verilmesini içermemektedir.
- Gönüllüden alınacak doku örnekleri sadece bu çalışma için kullanılacaktır, gönüllünün bilgisi dışında bir işleme tabi tutulmayacaktır.
- Bu çalışmada gönüllünün hiçbir hukuki ve mali sorumluluğu bulunmayıp tüm sorumluluk araştırmacı ve destekleyiciye aittir.
- Gönüllü arzusu üzerine mali ve hukuki yükümlülük olmaksızın, araştırmacıya haber vererek çalışmadan ayrılabilir.
- Bu işlemler için gönüllüden hiçbir ücret talep edilmeyecektir.
- Bu çalışma için gönüllüye herhangi bir ücret ödenmeyecektir.
- Kişinin çalışmaya katılmayı reddetmesi, onun gelecekteki takip ve tedavisi üzerine olumsuz etkide bulunmayacaktır.
- Gönüllü, çalışma kabul kriterlerine ve özelliklerine uyum sağlamadığı takdirde çalışmadan araştırmacının isteği ile çıkarılabilir.
- Gönüllünün kimlik bilgileri, iletişim bilgileri, genel sağlık durumu ve ağız sağlığı ile ilgili bilgiler araştırmacı ile gönüllü arasında gizli tutulacaktır.
- Gönüllünün çalışmadan ayrılması durumunda kendisine ait doku örnekleri imha edilecektir.
- Çalışma sonunda elde edilecek verilerle, uluslararası çapta yayınlanabilecek, hastalığınıza açıklık getirebilecek bilgiler elde edilebilmesi mümkündür.
- Bu işlemlerle ilgili herhangi bir durumda arayabileceğiniz kişi ve telefon numarası aşağıda belirtilmiştir. Çalışmada şahsınıza ait her türlü kişisel ve tıbbi bilgi gizli tutulacaktır.

Sayın Dt. Ş.Merve (Öğüt) Erişen tarafından İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi ABD’de tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dt. Ş. Merve (Öğüt) Erişen'i 05335439003'ten arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

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

Açıklamaları yapan araştırmacının Adı-soyadı, İmzası

Dt. Ş. Merve (Öğüt) Erişen

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

**BİLGİLENDİRİMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)
(KONTROL GRUBU)**

Çalışmanın adı: Oral Liken Planus Hastalarında miRNA ekspresyonlarındaki değişimlerin incelenmesi

Çalışmaya 30 sağlıklı bireyin, 30 oral liken planus hastasının gönüllü olarak katılması planlanmıştır.

- Kontrol grubuna gömülü 20 yaş dışının cerrahi olarak çekilmesi planlanan sağlıklı bireyler dahil edilecektir.
- Sağlıklı gönüllüden 20 yaş dışının cerrahi olarak çekimi esnasında ayrıca çalışmada incelenmek üzere operasyon alanına giren sağlıklı mukozadan 4mm punch biyopsi ile oral mukoza örneği alınacaktır.
- Gönüllüden alınan doku örneklerinden RNA izolasyonu yapılarak mikro RNA ekspresyon değişimleri laboratuvar çalışmaları ile belirlenecektir.
- Gönüllünün uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlık ve riskle karşılaşması söz konusu değildir.
- Gönüllünün herhangi bir istenmeyen etki ile karşılaşması söz konusu değildir.
- Bu çalışma hastaya herhangi bir ilaç, kimyasal, yabancı madde vb. verilmesini içermemektedir.
- Gönüllüden alınacak doku örnekleri sadece bu çalışma için kullanılacaktır, gönüllünün bilgisi dışında bir işleme tabi tutulmayacaktır.
- Bu çalışmada gönüllünün hiçbir hukuki ve mali sorumluluğu bulunmayıp tüm sorumluluk araştırmacı ve destekleyiciye aittir.
- Gönüllü arzusu üzerine mali ve hukuki yükümlülük olmaksızın, araştırmacıya haber vererek çalışmadan ayrılabilir.
- Bu işlemler için gönüllüden hiçbir ücret talep edilmeyecektir.
- Bu çalışma için gönüllüye herhangi bir ücret ödenmeyecektir.
- Kişinin çalışmaya katılmayı reddetmesi, onun gelecekteki takip ve tedavisi üzerine olumsuz etkide bulunmayacaktır.
- Gönüllü, çalışma kabul kriterlerine ve özelliklerine uyum sağlamadığı takdirde çalışmadan araştırmacının isteği ile çıkarılabilir.
- Gönüllünün kimlik bilgileri, iletişim bilgileri, genel sağlık durumu ve ağız sağlığı ile ilgili bilgiler araştırmacı ile gönüllü arasında gizli tutulacaktır.
- Gönüllünün çalışmadan ayrılması durumunda kendisine ait doku örnekleri imha edilecektir.
- Çalışma sonunda elde edilecek verilerle, uluslararası çapta yayınlanabilecek, oral liken planus olarak adlandırılan hastalığa açıklık getirebilecek bilgiler elde edilebilmesi mümkündür.
- Bu işlemlerle ilgili herhangi bir durumda arayabileceğiniz kişi ve telefon numarası aşağıda belirtilmiştir. Çalışmada şahsınıza ait her türlü kişisel ve tıbbi bilgi gizli tutulacaktır.

Sayın Dt. Ş.Merve (Öğüt) Erişen tarafından İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi ABD’de tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu

araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dt. Ş. Merve (Öğüt) Erişen’i 05335439003’ten arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

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

Açıklamaları yapan araştırmacının Adı-soyadı, İmzası

Dt. Ş. Merve (Öğüt) Erişen

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

ETİK KURUL KARARI

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**



Sayı : 1447

Tarih : 19.09.2012


Konu : Prof.Dr. Gülsüm AK hk,

**Sayın Prof.Dr. Gülsüm AK
Diş Hekimliği Fakültesi**

İlgi :Diş Hekimliği Fakültesinin 27/08/2012 gün ve 1821-6606 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Doktora Öğrencisi Ş.Merve ÖĞÜT ERİŞEN'in yürüteceği 2012/1301-1173 protokol numaralı "Oral liken planus hastalarında miRNA ekspresyonlarındaki değişimlerin incelenmesi" başlıklı tez çalışması kurulumuzun 31.08.2012 tarihli 14 sayılı toplantısında onaylanmış olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Oral liken planus hastalarında miRNA ekspresyonlarındaki değişimlerin incelenmesi"			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr. Gülsüm AK			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Diş Hekimliği			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi			
	DESTEKLEYİCİ	---			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>			
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Diğer ise belirtiniz : Klinik Araştırma				
	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	27/08/2012		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	<input type="checkbox"/>		Açıklama		
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>				
	ŞİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>				
	İLAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>				
Diğer:	<input checked="" type="checkbox"/>		Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgu Rapor Formu, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD			
KARAR BELGELERİ	Karar No:14	Tarih: 31/08/2012				
	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde görevli Prof.Dr. Gılsüm AK 'ın sorumluluğunda ve Doktor Öğrencisi Ş.Merve ÖGÜT ERİŞEN'in yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul Üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir..					

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmî Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Rukiye EKER ÖMEROĞLU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Pınar SAİP	Onkoloji	İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzinli
Dr. Muhtar ÇOKAR	Deontolog	İstanbul İnsan Kaynağını Geliştirme Vakfı	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ayşen BULUT	Halk Sağlığı	Emekli	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzinli
Doç. Dr. Tufan TÜKEK	İç Hastalıkları	Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hast. İç Hast. 1. Dahiliye Kliniği	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ünal KUZGUN	Ortopedi	Emekli	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ahmet O. ARAMAN	Eczacılık	İ.Ü. Eczacılık Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzinli
Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK	Hukukçu	İstanbul Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzinli
Prof. Dr. Demir TIRYAKI	Biyofizik	Emekli	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
M. Kerim AKMAN	İİBF İktisat bölümü	Özel (Ekonomist)	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Sevdâ ÖZEL	Biyostatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyostatistik	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

* :Araştırma ile ilişki
** :Toplantıda Bulunma

Bu karar araştırma projesinin etik açıdan değerlendirme sonucunu bildirmektedir. Klinik ilaç araştırması projeleri için, etik kurulu onayı sonrasında, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmeliğin 5/a .maddesi gereğince, Sağlık Bakanlığına da başvurulması ve gerekli iznin alınması gerekmektedir.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Şadiye Merve	Soyadı	Erişen
Doğ.Yeri	Kadıköy	Doğ.Tar.	12.02.1984
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	17362779888
Email	merveogut@gmail.com	Tel	(533) 5439003

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2008
Lisans		
Lise	Hüseyin Avni Sözen Anadolu Lisesi	2002

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	iyi	96	
Almanca	Orta	Orta	Orta		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office Uygulamaları	İyi
MacOs X	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):