



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**OKUL ÇAĞINDAKİ ÇOCUKLARDA TASİR3
GENİ rs307355 POLİMORFİZMİNİN DİŞ
ÇÜRÜĞÜ VE ŞEKERLİ TAT HİSSİNİN
ALGILANMASI İLE İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

NUR BAKIR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Ana Bilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Belgin SÜSLEYİCİ DUMAN

İSTANBUL, 2013



MARMARA UNIVERSITY
INSTITUTE FOR GRADUATE STUDIES
IN PURE AND APPLIED SCIENCES



**INVESTIGESION OF ASSOCIATION WITH
TAS1R3 GENE rs307355 POLYMORPHISM
AND DENTAL CARIES, SWEET TASTE
PERCEPTION IN SCHOOL CHILDREN**

NUR BAKIR

MASTER THESIS
Department of Biology

ADVISOR

Prof. Dr. Belgin SÜSLEYİCİ DUMAN

ISTANBUL, 2013

TEŞEKKÜR

Yüksek öğrenime başladığım andan itibaren bilgi birikimini ve tecrübelerini benden esirgemeyen, her türlü maddi ve manevi sorunlarımda pozitif düşüncesi ve çözümücü yaklaşımı ile beni motive eden, sorumluluk, güven, sabır gibi erdemleri kazanmamda bana örnek olan ve beni akademik hayata hazırlayan kıymetli hocam Sn. Prof. Dr. Belgin SÜSLEYİCİ DUMAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimim süresinde yardımlarını esirgemeyen Fen Edebiyat Fakültesi Dekanı ve Biyoloji Bölüm başkanımız Sn. Prof. Dr. Meral ÜNAL'a, çalışmaya dahil edilmiş olan çocukların klinik bilgilerin temini ve tükürük örneklerinin toplanmasındaki yardımlarından dolayı Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sn. Prof. Dr. Ali Recai MENTEŞ, Yard. Doç. Eda HAZNEDAROĞLU' na ve pedodontist diş hekimlerine, çalışma verilerinin istatistiksel analizlerini ve değerlendirmelerini yapan Sn. Yard. Doç. Dr. Penbe ÇAĞATAY'a teşekkürleri bir borç bilirim.

Lisans eğitimi ve lisanüstü eğitimim boyunca benden hem dostluğunu hem de bilgilerini esirgemeyen, edindiği deneyimleri sabırla öğreten sevgili arkadaşım Meliha KOLDEMİR GÜNDÜZ'e ve birlikte çalıştığım ekip arkadaşım Hasan Mert BOZKUŞ'a teşekkür ederim.

En önemlisi benim tüm eğitim hayatımı özenle takip eden, bana olan güvenlerini hiç kaybetmeyen ve beni güçlü kılan aileme maddi ve manevi tüm çabaları için teşekkürü bir borç bilirim.

Temmuz 2013

Nur BAKIR

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
SEMBOLLER	ix
KISALTMALAR	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xiii
TABLO LİSTESİ	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	1
1.1.1. Diş çürüğü	2
1.1.2. Diş çürüğüne neden olan faktörler	2
1.1.2.1. Genetik faktörler	2
1.1.2.2. Çevresel faktörler	3
1.1.2.3. Beslenmenin etkisi	3
1.1.2.4. Fiziksel etmenler	3
1.1.2.5. Yaş	3
1.1.3. Şişmanlık	4
1.1.4. Tat algılanması	4
1.1.4.1. Farklı tatların algılanması	4
1.1.4.2. Diş çürüğü oluşumunun şekerli tat algısı ile ilişkisi	6
1.1.4.3. Hedonik	6
1.1.5. Tat reseptörleri	6
1.1.5.1 TAS1R2 ve TAS1R3 genlerinin etkileşimi	7
1.1.5.2. TAS1R3 geninin özellikleri ve ifadesi	9
1.1.5.4. TAS1R3 geninin şişmanlık üzerine etkisi	10
1.1.6. Beslenme tercihi ile tek nükleotid polimorfizm ilişkisi	10
1.1.7. Tek nükleotid polimorfizmi	10

1.1.7.1. Polimeraz zincir reaksiyonu	11
1.1.7.2. Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu	12
1.1.7.3. Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan boya ve prob sistemleri	14
2. MATERYAL VE YÖNTEM	21
2.1. Materyal	21
2.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler	21
2.1.2. Araç ve gereçler	22
2.1.3. Çalışma grupları	22
2.1.3.1. Çalışma gruplarının tanımlanması ve klinik verileri	22
2.1.3.2. Hedonik verilerinin elde edilmesi	23
2.1.3.3. Temel gıda alımı ve ilişkili parametreler	24
2.1.2.5. DMFT ve dft ölçeği	25
2.2 Kullanılan İnceleme Yöntemleri	25
2.2.1. Glisemik yük	25
2.2.2. Tükürük örneklerinin alınması ve saklanma koşulları	25
2.2.3. Tükürükten genomik dna izolasyonu	26
2.2.4. DNA miktarının ölçülmesi	27
2.2.5. TAS1R3 geninin çoğaltılması ve rs307355 tek nükleotid polimorfizminin tespiti ile ilgili yöntemler	28
2.2.6 Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu ile TAS1R3 geni rs30735 genotiplerinin belirlenmesi	29
2.2.6.1 TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin belirlenmesinde kullanılan Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyon Protokolü	31
2.2.7 İstatistiksel analizler	33
3. BULGULAR ve TARTIŞMA	33
3.1. Bulgular	33
3.1.1. Çalışma grubu 1; Süt dişi çürüğü olmayan ve 7' den fazla olan çocuklar	35
3.1.2. Çalışma grubu 2; Daimi diş çürüğü olmayan ve 3 ten fazla olan çocuklar	37

3.1.3. Çalışma grubu 3; %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli algılayan çocuklar	42
3.1.4. Çalışma grubu 4; %0-%1-%2-%2.8' lik sukroz solüsyonlarını tamamen hatasız ve en az birini hatalı algılayan çocuklar	46
3.1.5. Çalışma grubu 5; %2.8' lik sukrozun şekerli tadını seven ve sevmeyen çocuklar	47
3.1.6. Çalışma grubu 6; Hatasız şeker algısına sahip çocuklarda şekerli tadı seven ve sevmeyen çocuklar	48
3.1.7. Çalışma grubu 7; Hatalı şeker algısına sahip çocuklarda şekerli tadını seven ve sevmeyen çocuklar	49
3.2. Tartışma	51
3.2.2 TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin şekerli tadın algılanması üzerine etkileri	51
3.2.1 TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin diş çürüğü oluşumu üzerine etkileri	52
3.2.3. TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin hedonik üzerine etkisi	54
4. SONUÇ	55
KAYNAKLAR	58
EKLER	69
ÖZGEÇMİŞ	74

ÖZET

OKUL ÇAĞINDAKİ ÇOCUKLARDA TAS1R3 GENİ rs307355 POLİMORFİZMİNİN DİŞ ÇÜRÜĞÜ VE ŞEKERLİ TAT HİSSİNİN ALGILANMASI İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Çalışmamızda, 174 adet okul çağındaki çocuklara ait TAS1R3 rs307355 genotipleri qPZR yöntemi ile belirlenmiştir. Daimi diş çürüğü olmayan heterozigot+homozigot polimorfik genotipe sahip çocuklarda homozigot yabancı genotipe sahip olanlara kıyasla daha yüksek dft değerlerinin bulunması ($p=0.06$), TAS1R3 rs307355 polimorfizminin süt dişi çürüğü oluşumunda rolü olduğunu göstermektedir. Hatasız şeker algısı olan çocuklar içinde hem şeker seven hem de sevmeyenlerde homozigot yabancı genotip sıklığı heterozigot+homozigot polimorfik genotip sıklığına kıyasla sınırda anlamlı şekilde daha yüksek bulundu ($p=0.060$). %0'lık sukroz solüsyonunu şekerli olarak algılayan çocuklarda heterozigot+homozigot polimorfik genotipe sahip çocuklardaki glisemik yük değerinin homozigot yabancı tip genotipe sahip çocuklara kıyasla daha yüksek olarak ($p=0.065$) belirlenmesi, polimorfik alleli taşıyan çocukların glisemik yükü fazla türde beslenme alışkanlıklarını tercih etme eğiliminde olduklarını göstermektedir. %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli algılayan çocuklarda yağ kütlesi ($p=0.024$), DMFT ($p=0.015$), DMFS ($p=0.029$) değerlerinin algılamayanlara kıyasla daha yüksek olduğu belirlendi. Süt dişi çürüğü olmayan çocuklarda 7'den fazla süt dişi çürüğü olan çocuklara kıyasla bel ($p=0.011$), kilo ($p=0.0001$), boy ($p=0.002$), kalça ($p=0.002$), vücut kütle indeksi (VKİ) ($p=0.003$), yağsız vücut kütlesi (YVK) ($p=0.004$), yağ kütlesi (YK) ($p=0.002$) değerleri daha yüksek iken DMFT ($p=0.05$) ve DMFS ($p=0.026$) değerleri daha düşük bulundu. Daimi diş çürüğü olmayan çocukların boy ($p=0.001$) ve YVK ($p=0.045$) değerleri daimi dişlerinde 3'ten fazla çürüğü olan çocuklardan daha düşük idi. %0 lık sukroz solusyonunu hatalı algılayan çocukların %0'lık sukroz solüsyonunu sevmeme oranı sevmeme oranına göre daha yüksek bulundu ($p=0.033$).

Anahtar kelimeler: TAS1R3 geni, şekerli tat algısı, DMFT, hedonik

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ASSOCIATION WITH TAS1R3 GENE rs307355 POLYMORPHISM AND DENTAL CARIES, SWEET TASTE PERCEPTION IN SCHOOL CHILDREN

The study was performed in 174 school children and TAS1R3 rs307355 genotypes were determined with quantitative polymerase chain reaction (qPCR) method. Children without permanent tooth decay, TAS1R3 rs307355 heterozygous+homozygous polymorphic genotypes were found to have significantly higher ($p=0.06$), dft index levels in comparison to homozygous wild genotype carriers which demonstrate that TAS1R3 rs307355 polymorphism may be effective over primary dental caries. In children with accurate perception admiring and not-admiring sugar taste, homozygous wild genotype frequencies were found to be higher compared to heterozygous+homozygous polymorphic genotype frequencies ($p=0.060$). In study group perceiving %0 sucrose solution as sweet, heterozygous+homozygous polymorphic genotype carriers were found to have higher glycemic load levels in comparison to homozygous genotype carriers ($p=0.065$). Polymorphic allele carrying children may prefer high glycemic load diets compared to homozygous wild genotype carriers. In study group perceiving the %0 sucrose solution as sweet, fat mass ($p=0.024$), DMFT ($p=0.015$), DMFS ($p=0.029$) parameters were higher than perceiving %0 sucrose solution as non-sweet. Comparison of children without primary tooth decay and more than 7 primary tooth decay, waist circumference ($p=0.011$), weight ($p=0.0001$), height ($p=0.002$), hip ($p=0.002$), body mass index (BMI) ($p=0.003$), lean body mass (LBM) ($p=0.004$), fat mass (FM) ($p=0.002$) parameters were higher in children without primary tooth decay whereas DMFT ($p=0.05$) vs DMFS ($p=0.026$) parameters were higher in more than 7 primary tooth decay. Height ($p=0.001$) and lean body mass ($p=0.045$) measurements were found to be lower in children without permanent tooth decay. In children perceiving %0 sucrose solution as sweet, the sweet taste preference was higher to that of non-prefering children. ($p=0.033$).

Key word: TAS1R3 gene, sucrose sensitivity, DMFT, hedonic

July 2013

NUR BAKIR

SEMBOLLER

A	: Adenin
G	: Guanin
T	: Timin
C	: Sitozin
°C	: Santigrat derece
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
dl	: Desilitre
kb	: Kilo baz (1000 nükleotid)
KCl	: Potasyum klorür
kg	: Kilogram
KHCO₃	: Potasyum bi karbonat
M	: Molar
m²	: Metre kare
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
NaCl	: Sodyum klorür
NaOH	: Sodyum hidroksit
NH₄Cl	: Amonyum klorür
ng	: Nanogram (Gram'ın milyarda biri)
Nm	: Nanomol
MgCl₂	: Magnezyum klorür

rpm	: Dakikada dönme hızı
µl	: Mikrolitre
µg	: Mikrogram
µM	: Mikromolar
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
T_m	: Erime eğrisi
χ²	: Ki kare
%	: Yüzde

KISALTMALAR

DMFT	: Çürük, kayıp, dolgulu diş sayısı
DMFS	: Çürük, kayıp, dolgulu diş yüzeyi sayısı
dft	: Çürük ve dolgulu süt dişi sayısı
dfs	: Çürük ve dolgulu süt dişi yüzey sayısı
VKİ	: Vücut kütle indeksi
YK	: Yağ kütlesi
YVK	: Yağsız Vücut Kütlesi
DNA	:Deoksi Nükleik Asit
PZR	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Tm	:Erime Sıcaklığı
VKİ	:Vücut Kütle İndeksi
UV	:Ultraviyole
qPZR	:Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TAS1R	: Tat reseptör ailesi tip 1
TAS2R	: Tat reseptör ailesi tip 2
TAS1R1	: Tat reseptör ailesi tip 1 üye 1
TAS1R2	: Tat reseptör ailesi tip 1 üye 2
TAS1R3	: Tat reseptör ailesi tip 1 üye 3
TAS2R38	: Tat reseptör ailesi tip 2 üye 38
MSG	: Monosodyum glutamat
MNG	: Monopotasyum glutamat
NMDA	: N-metil-D-aspartam
SNP	: Tek (Single) Nükleotid Polimorfizmleri
mRNA	: Mesajcı Ribo Nükleik Asit

TAMRA	: 6-karboksitetrametil-rodamin
FRET	: Fluorescence Resonance Energy Tr
ddH₂O	: iyonize distile su
SH	: Standard hata
GY	: glisemik yük
GNAT3	: Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-3
SPSS	: <i>Statistical Package for Social Sciences</i>

ŞEKİL LİSTESİ

	SAYFA
Şekil 1.1. Dil üzerinde tat tomurcuklarının dağılımı	4
Şekil 1.2. Hedonik yüz skalası	6
Şekil 1.3. TAS1R2 ve TAS1R3 genlerinin etkileşimi	8
Şekil 1.4. TAS1R3 geni rs307355 tek nukleotit değişimi	9
Şekil 1.5. TAS1R3 geninin genomdaki yeri kırmızı çizgi ile gösterilmiştir.	10
Sekil 1.6. SYBR Green'in kimyasal yapısı	14
Şekil 1.7. SYBR Green yöntemi	15
Şekil 1.8. Sybr Green I yöntemi kullanılarak elde edilmiş çift iplikli hedef DNA'nın termal denatürasyon eğrisi	16
Şekil 1.9. <i>TaqMan</i> Prob yöntemi	18
Şekil 1.10. Moleküler Boncuk yöntemi	19
Şekil 1.11. Hibridizasyon prob yöntemi	20
Şekil 1.12. Scorpiyon Primerlerle qPZR	20
Şekil 2.1. DMFT/ dft verileri ve antropometrik verilerin alınması	23
Şekil 2.2. Sukroz solüsyonlarının tattırılması ve hedonik verilerinin alınması.	24
Şekil 2.3. DMFT ve dft ölçeği	25
Şekil 2.4. Tükürükten genomik DNA izolasyonu	26
Şekil 2.5. DNA'nın miktar ve saflığının spektrofotometrik olarak belirlenmesi	28
Şekil 2.6. TAS1R3 geni rs307355 polimorfizmine ait standart erime eğrileri grafiği	30
Şekil 2.7. TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin eğrileri	32

TABLO LİSTESİ

	SAYFA
Tablo 2.1. TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin belirlenmesinde kullanılan qPZR reaksiyon karışımı.	29
Tablo 2.2. <i>LightCycler®</i> Programı	31
Tablo 3.1. TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin demografik, klinik ve biyokimyasal parametrelere etkisi	34
Tablo 3.2. Süt dişi çürüğü olmayan ve süt dişi çürüğü 7 den fazla olan çalışma gruplarına ait demografik, klinik ve biyokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması	36
Tablo 3.3. Süt dişi çürüğü olmayan ve süt dişi çürüğü 7 den fazla olan çalışma gruplarının TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıkları ile karşılaştırılması	37
Tablo 3.4. Daimi diş çürüğü olmayan ve daimi diş çürüğü 3ten fazla olan çalışma gruplarının cinsiyet açısından karşılaştırılması	37
Tablo 3.5. Daimi diş çürüğü olmayan ve daimi diş çürüğü 3'ten fazla olan çalışma gruplarına ait demografik, klinik ve biyokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması	38
Tablo 3.6. Daimi diş çürüğü olmayan ve daimi diş çürüğü 3'ten fazla olan çalışma gruplarının TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıklarının karşılaştırılması	39

Tablo 3.7. Daimi diş çürüğü olmayan çocukların TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkisi	40
Tablo 3.8. Daimi diş çürüğü 3' ten fazla olan çocukların TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkisi	41
Tablo 3.9. %0 sukroz solüsyonuna şekerli ve şekersiz diyen gruplarda TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıklarının karşılaştırılması	42
Tablo 3.10. %0 sukroz solüsyonunu şekerli ve şekersiz algılayan çocukların demografik, klinik ve biyokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması	43
Tablo 3.11. %0 sukroz solüsyonunu şekerli algılayan çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkisi	44
Tablo 3.12. %0 lık sukroz solusyonunu şekersiz algılayan çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkisi	45
Tablo 3.13. Hatasız ve hatalı şeker algısına sahip çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıklarının karşılaştırılması	46
Tablo 3.14. %2.8 lik sukroz solusyonunun şeker tadını seven ve sevmeyen çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıklarının karşılaştırılması	47
Tablo 3.15. Hatasız şeker algısına sahip çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin hedonik üzerine etkisi	48

Tablo 3.16. Hatalı şeker algısına sahip çocuklarda olan bireylerde TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin hedonik üzerine etkisi	49
Tablo 3.17. Tüm şeker konsantrasyonları için sevmeye dereceleri ile hatalı ve hatasız şeker algılarının karşılaştırılması	50

1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Diş çürüğünün oluşması ve ilerlemesi çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi ile ortaya çıkmaktadır. Bu faktörlerden bazıları; bakteriyel flora, beslenme alışkanlıkları, tükürük akıntısı ile bileşimi, ağız temizliği ve diş yapısıdır [1]. Diş çürüğü oluşumuna etki eden faktörlerin en önemlisi ağız florası mikroorganizmalarının substrat olarak kullandığı fermente olabilen karbohidratların sık tüketimidir. Beslenmede enerji ihtiyacının %60-70'ini karşılayan karbohidratların tercih edilmesinin sebeplerinden biri de kişilerde hoş giden “şekerli tat algısının” hissedilmesidir. İnsanlar; şekerli, umami, acı, tuzlu ve ekşi olmak üzere beş ayrı tadı ayırt edip tepki gösterebilir [2]. Besinlerin sahip oldukları tatlar, insanların besin seçimini etkiler [2]. Şekerli tat algısında rol oynayan genetik faktörlerin diş çürüğü oluşumunda etkisi olduğu düşünülmektedir.

Tat algısının moleküler mekanizmasında tat reseptörlerini kodlayan TAS1R ve TAS2R gen aileleri rol alır [3]. TAS1R gen ailesi şekerli tadın algılanmasını sağlayan reseptörleri kodlayan genleri içermektedir [3]. TAS1R gen ailesi 1. kromozom üzerinde, TAS1R1, TAS1R2 ve TAS1R3 olmak üzere 3 adet tat reseptör genini taşır [3]. Şekerli tadın algısı, TAS1R2 ve TAS1R3 genleri tarafından kodlanan heterodimerik G proteinine bağlı reseptörler aracılığıyla gerçekleşir [4-10].

TAS1R3 genindeki iki adet tek nükleotid polimorfizminin (rs307355, rs35744813) şekerli tadın algılanmasında rol oynadığı gösterilmiştir [11]. TAS1R3 geni rs35744813 ve rs307355 polimorfizmleri sırasıyla 1. kromozomun -1266 ve -1572. pozisyonlarındaki promotör bölgesi içinde C → T tek nükleotid değişimi ile oluşmaktadır [11]. rs35744813 ve rs307355 polimorfizmlerinde T polimorfik allelinin şeker algısını azaltıcı yönde etkisinin varlığı bildirilmiştir [11]. Metabolizmanın uyarılmasını sağlayan leptin gibi bazı hormonların, besin alımını arttırıcı etkisinden dolayı tat reseptör hücrelerinin depolarizasyonunu modifiye edebileceği hipotezi halen araştırma konusudur [12]. Mevcut literatür bilgisi ışığında TAS1R2 ve TAS1R3 reseptörlerinin şekerli tat algısı üzerine etkileri araştırılmış ve kişilerde şekerli tadı sevmeye ile ilişkileri tespit edilmiştir [13]. Diş çürüğünün gelişiminde konak/diş faktörü

ile ağızdaki spesifik mikroorganizmalar ve beslenme arasındaki ilişkiyi belirlemeye yönelik çok sayıda çalışma, çocukların büyük bir çoğunluğunun şekerli ve atıştırma tarzı yiyecekleri sevdiğini ve böylece yüksek miktarda şeker içeren besinleri tükettiklerini göstermektedir. Bununla birlikte çocuğun bu davranışını etkileyen fizyolojik mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Son yıllarda artış gösteren araştırmalarda şeker alım miktarı ve sıklığı, tat duyularındaki algılama farklılıklarından etkilenmektedir [14, 15]. Literatürde yetişkinler ve çocuklar ile yapılmış olan ve TAS1R3 ile diş çürüğü arasındaki ilişkiyi araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mevcut çalışmada TAS1R3 geninin hedonik ile ilişkisinin araştırılması sayesinde rs307355 polimorfizminin diş çürüğü oluşumu üzerindeki etkileri incelenmiştir.

TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin diş çürüğü oluşumu, şekerli tat algısı, hedonik ölçek, beslenme alışkanlıkları ve şişmanlık parametreleri ile ilişkileri bu tezde araştırılan ana konu başlıklarıdır.

1.1.1. Diş çürüğü

Diş çürüğü, diş eti veya diş köklerinde enfeksiyon ya da bakterilerin fermentasyonu sonucu oluşan asidik ürünlerin oluşturduğu diş hasarı veya kaybı olarak tanımlanabilir. Diş çürüğü genellikle çocuklarda yaygın olarak görülen ve bakteriyal flora, yemek alışkanlıkları, florür eksikliği, ağız hijyeni, tükürük akışkanlığı ve yapısı, diş yapısı gibi çevresel ve genetik faktörlerce belirlenen bir hastalıktır [16]. Literatürde yer alan çalışmalar genetik faktörlerin diş çürüğü oluşumuna %40-60 oranında etki ettiğini saptamıştır [17-21].

1.1.2. Diş çürüğüne neden olan faktörler

1.1.2.1. Genetik faktörler

Tat algısında rol oynayan genlerin besin tercihini etkilemesi sebebiyle diş çürüğü oluşumunda rol oynadığı bilinmektedir. Tat algısında rol oynayan genlerin tek nukleotit polimorfizmlerini taşıyan bireylerde diş çürüğü sayısında artış olduğu gösterilmiştir [22]. Aynı zamanda anne ve babadan gelebilecek dar çene ve iri diş genleri ile de diş dizilimindeki bozukluklar ile diş çürüğü oluşabilmektedir. Literatür

çalışmalarında *tuftelin* geninin T allelinin ve *ameloblastin* geninin C allelinin çürük oluşumuna etki ettiği bulunmuştur [23,24].

1.1.2.2. Çevresel faktörler

Diabetes Mellitus, *Sjögren Sendromu* gibi bazı hastalıklar diş çürüğü oluşumunda veya kaybında rol oynamaktadır. Ayrıca belli hastalıklar sonucu kullanılan antihistaminikler ve antidepresanlar tükürük akışkanlığını azaltarak diş çürümesinde etkili olurlar [25]. Bireylerin sigara kullanımı hem diş yüzenin tahrip olmasına hem de bazı sigara türevlerinin içerdiği şeker diş çürümesine sebep olmaktadır [25].

1.1.2.3. Beslenmenin etkisi

Kişilerin günlük aldıkları şeker miktarı diş çürüğü oluşumu riskini arttırmaktadır. Diş çürüğü oluşumunu etkileyen bir diğer etken ise mineral eksikliğidir. Diş minesinin de ham maddesi olan hidroksilapatit mineralinin asidik yiyecek ve içecekler ile parçalanması sonucu diş çürüğü oluşmaktadır [25]. Vücudun ihtiyaç duyduğu besin miktarı dışında ekstra alınan şeker miktarı bir birey için günlük 60 gramı geçtiğinde yetişkin ve gençlerde diş çürüğü oluşum riskini arttırmakta ve bu doz miktarı çocuklarda 30 grama kadar düşebilmektedir [26].

1.1.2.4. Fiziksel etmenler

Florür diş sağlığında önemli rol oynamaktadır. Diş fırçalama sıklığının diş çürüğündeki etkisi kadar kullanılan diş macununun içeriğindeki florür de önemlidir. Mine tabakasındaki mineral kaybı ile oluşan diş çürüğü florür ile tedavi edilebilir. (26)

1.1.2.5. Yaş

Bir çok ülkede başta çocuklar olmak üzere bireylerin %90 ı diş çürüğü ile karşılaşmaktadır. Amerika Birleşik devletlerinde diş çürüğü olan çocukların sayısının astım hastası olan çocuklara kıyasla 5 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir [27]. Şekerli tat algısında bireysel farklılıkların yaş [28, 29], hormonal durum [30, 31], şekerli besin tercihi [32] ve anatomik faktörler [33] ile ilişkisi olduğu bir çok araştırma tarafından rapor edilmiştir.

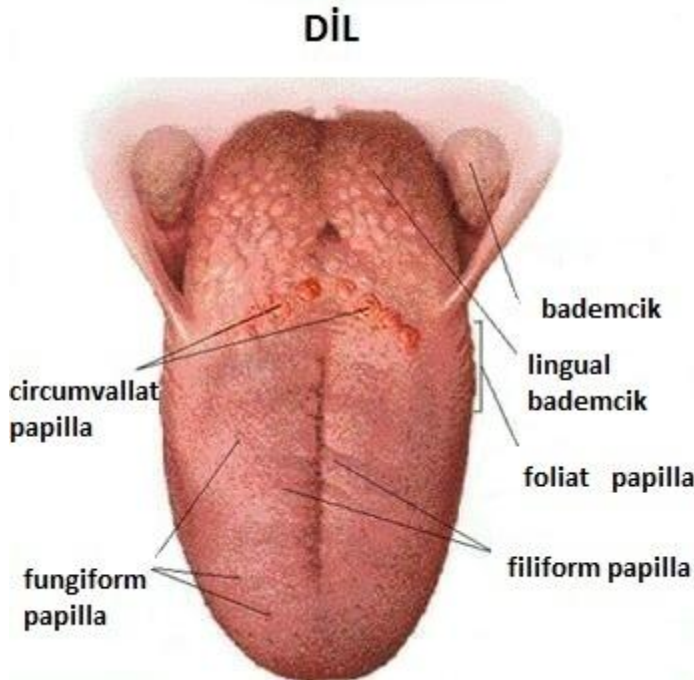
1.1.3. Şişmanlık

Şişmanlık, enerji alımının enerji harcanmasından fazla olması sonucu vücutta yağ doku artışına yol açan ve beraberinde getirdiği komplikasyonlar ile yüksek mortalite ve morbidite riski taşıyan, genetik ve çevresel faktörlerce oluşan kronik bir hastalıktır [34, 35].

1.1.4. Tat algılanması

1.1.4.1. Farklı tatların algılanması

Tat algısı, ağız içinde çeşitli bölümlerde ve dil üstünde bulunan tat duyuları tarafından algılanarak belirlenir (Şekil 1.1). Tat duyuları, maddeleri sıvı içerisinde çözünmüş halde algılamaktadır [38]. Tat reseptör hücreleri, herhangi bir tat maddesi ile uyarıldığında hücre içi ve dışı arasında elektriksel yük değişimi olur. Bu değişim dildeki sinir hücreleri tarafından beyine iletilir ve burada değerlendirilerek bireyde tat algısı oluşur [38]. Tat reseptör hücrelerinden tat reseptör genlerinin ifade edilmesi ile insanlar; şekerli, umami, acı, tuzlu ve ekşi olmak üzere 5 farklı tadı algılayabilir ve birbirinden ayırt edebilirler [2, 39].



Şekil 1.1. Dil üzerinde tat tomurcuklarının dağılımı

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, TAS2R38 reseptör geninin öncülük ettiği acı tadın algılanması, bireylerde glukozinolatların algılanmasında hassasiyet artışı olduğunu göstermektedir [40]. TAS2R38 geninde varyasyona sahip olan bireylerde glukozinolatlara karşı hassasiyetin arttığı rapor edilmiştir [41,42]. Acı tadın algı bileşenleri şekerli veya umami tadının algısı ile uyarılarak TAS2R reseptörünü aktive eder [43, 44]. Bireylerde acı tadın algılanmasında yirminin üstünde reseptör varken şekerli tadın algılanmasında TAS1R2-TAS1R3 genleri rol oynamaktadır. Ev kedileri üzerine yapılan bir çalışmada TAS1R3 geninin diğer karnivor canlılarda olduğu gibi aynı seviyede ifade edildiği tespit edilip, TAS1R2 reseptör geninin ifade edilmemesi ev kedilerinin şekerli tat algısının eksik olduğunu göstermektedir [45].

Umami terimi Kikunae Ikeda adındaki bir Japon tarafından, deniz yosunu ile tatlandırılmış balık suyu tadı, mantar ve kurutulmuş balık pulunun lezzetleri olarak ilk kez tanımlanmıştır [46, 47]. Umami tadı L-glutamat tuzu, monosodyum glutamat (MSG) ve monopotasyum glutamat (MPG), 5'-ribonukleotid-monofosfat ve guanozin 5'-monofosfat ve diğer belirli amino asitleri içerir (L-aspartat ve belirli peptidler gibi) [48-50]. Glutamat prototipik bir umami uyarandır ve daha çok proteince zengin besinlerde ve bazı meyve ve sebzelerde (yeşil fasulye, domates ve mantar gibi) bulunup yemeğin lezzetini doğrudan artırır [51]. Umami tadının algılanması ile ilgili bir çok araştırma yapılmış ve koşullu hoşlanmama testi, nörofizyolojik deneyler ile insanlarda umami tadının birbirinden farklı tat özelliklerine sahip olduğu [52-58], kemirgenlerde ise MSG ı sukroz veya sodyum klorüre genelleştirip koşullu hoşlanmama testi ile canlılar arasında farklılık olmadığı tespit edilmemiştir [59-62]. Literatürdeki bazı çalışmalar ile N-metil-D-aspartam (NMDA) veya NMDA benzeri iyonotropik glutamat reseptörü glutamat tadının algılanmasında rol oynayabildiği rapor edilmiştir [63-65]. G proteine bağlı reseptörler, hücreler arası yapıda N-terminal ucunu kaybetmiş tat-mGluR4 olarak adlandırılan yapı ile keşfedilmiştir [50, 66]. İkinci aday olan heterodimer TAS1R1-TAS1R3 genleri L-glutamat ile bağ yaparak ve belirli bir seviyede 5'-ribonukleotidlere cevap vererek umami tadının algılanmasında rol oynamaktadır [6, 67, 68].

Ekşi ve tuzlu tadın algılanması, tat reseptör hücrelerindeki iyon seviyelerine bağlı olarak gerçekleşmektedir [69]. Besinlere ekşi tadı veren içeriğinde asit olmasıdır ve ekşi tadın şiddeti hidrojen iyonu yoğunluğunun algoritması ile doğru orantılıdır.

Asidite ne kadar fazla ise algılanan ekşi tadda aynı derece de yoğun olur. Tuzlu besinler iyonize tuzlar tarafından meydana getirilir. Tuzlu tadın algısı ise temel olarak yapılarındaki katyonik ve az miktarda da olsa anyonik tuzların miktarı ile belirlenmektedir. Tuzların, tuzluluğa ek olarak başka tat duyularını da uyandırabilmelerinden dolayı tadın niteliği bir tuzludan diğerine değişiklik gösterir [69].

1.1.4.2. Diş çürüğü oluşumunun şekerli tat algısı ile ilişkisi

Tat algısı ile yapılan çalışmalarda beslenme ilişkisine bakılmış ve besinlerin içerdikleri şeker ile tercih edilmeleri arasında ilişki bulunmuştur. Bu sebeple hoş giden şekerli yiyeceklerin daha çok tercih edilmesi diş çürüğü oluşumunda artışına sebep olmaktadır (70).

1.1.4.3. Hedonik

Herhangi bir tadın algılandıktan sonra beğenilip beğenilmemesi durumuna hedonik denir. Tat algısından farkı; tat algısı bir uyarı sonucu alınan maddenin algılanmasıdır oysaki hedonik algılanan maddenin bu uyarıya tepkisidir [146, 147]. Hedonik ölçekleri test, sözel ya da grafiksel şekilde olabilir [71]. Çalışmamızda 3 skalalı yüz ölçekli hedonik skalası kullanılmıştır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Hedonik yüz skalası

1.1.5. Tat reseptörleri

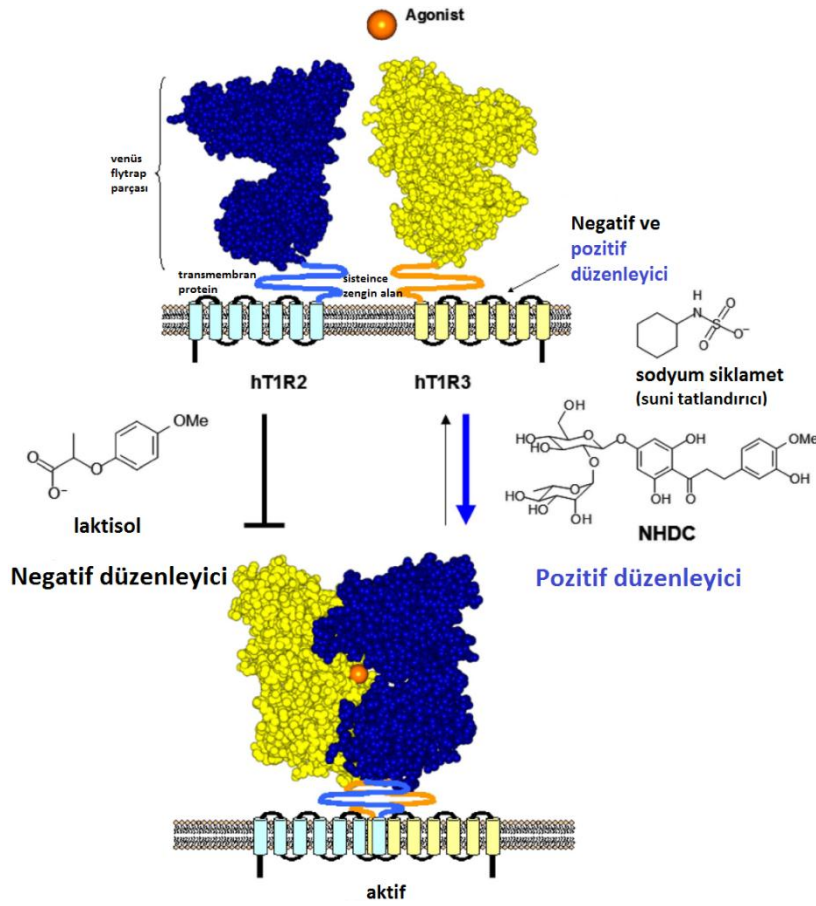
Yakın zamana kadar yapılan çalışmalarda, tat algısında tat hücrelerindeki getirici sinirlerin görevli olduğu düşünülmekteydi. Ancak insanlar ve özellikle kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalar sayesinde umami ve özellikle şekerli tadın algılanmasında tat reseptörlerinin sinyal oluşumundan sorumlu olduğu bulunmuştur. TAS1R ailesi G protein aracılı 3 sınıftan oluşmaktadır: TAS1R1, TAS1R2 ve TAS1R3

[7-10, 72, 73, 74]. Her biri kendi TAS1R1, TAS1R2 ve TAS1R3 proteinlerini kodlamaktadır. TAS1R3, TAS1R1 ile heterodimer yapısı oluşturarak L-aminoasit grubuna bağlanmayı, TAS1R2 ile heterodimer yapısı oluşturarak şekere bağlanmayı sağlar (Şekil 1.3) [4,72,75].

1.1.5.1. TAS1R2 ve TAS1R3 genlerinin etkileşimi

TAS1R2 ve TAS1R3 genleri G-proteinine bağlı heterodimerik yapıda olup memelilerde şekerli tadın algılanmasında görevlidir [7-10, 72, 76, 77]. Buna rağmen bağlanma profili canlıya göre değişiklik göstermektedir. Farelerde yapılan çalışmada TAS1R2-TAS1R3 yapısına yapay şeker olan aspartam bağlanamadığı için farelerde aspartama karşı hiç bir hassasiyet gözlenmemiştir [78, 79]. Evcil kedilerde ise TAS1R2 nin pseudogen olmasından dolayı ifade edilememesi evcil kedilerde şekere karşı hassasiyetin bulunmayış sebebini açıklamaktadır [45].

Monosakkarit, disakkarit ve tatlandırıcıların D-aminoasidin alt üyelerine karşı hassasiyet uygulaması insanda şeker testi olarak nitelendirilir [80], kemirgenlerde ise D aminoasidin alt üyelerine karşı hücre içi kalsiyum uyarımı sonuçları değerlendirilmektedir [4, 68, 72]. İnsanda TAS1R2 ve TAS1R3 genlerinin şeker algısında görevli proteinleri (monellin ve thaumatin) ve bazı tatlandırıcılar hariç farelerin TAS1R2 ve TAS1R3 genleri çıkarılmış hücrelerine kıyasla bu geni bulunduran farelerde TAS1R2 ve TAS1R3 genlerinin eş zamanlı ifade edildiği tespit edilmiştir [4]. Ne insanlarda ne de farelerde TAS1R2 ve TAS1R3 genleri acı tadın bileşeni olan L-aminoasitlerle karşı ifade edilmezken şekerli tat algısında görevli olan akiral amino aside (glisin) karşı ifade edilmişlerdir [4].



Şekil 1.3. TAS1R2 ve TAS1R3 genlerinin etkileşimi

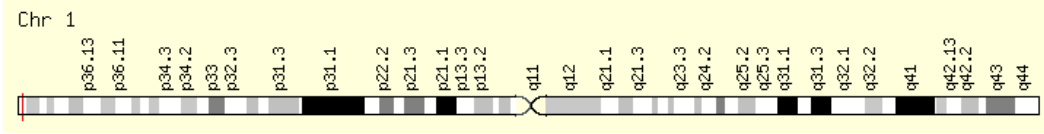
İnsanlarda ve farelerde TAS1R1, TAS1R2 ve TAS1R3 genlerinin ifade ettiği proteinlere kalın bağırsak hücrelerinde rastlanmıştır [81, 82]. TAS1R3 proteini insanların karaciğer ve pankreas dokularında [83], fare ve domuzların testislerinde bulunmuştur [8, 10, 81]. Tek bir kemosensör hücresinden [tat reseptörü hücresinden] TAS1R3 geninin ifadesi TAS2R5 ve TAS2R8 genleri ile eş zamanlı ifade edilmekte ve bu reseptörler sırasıyla acı tat ligandları olan propiltiourasil ve sikloheksimit ile bağlanmaktadır [84]. Dilin ön tarafındaki sinirler ile bağlanan korda timpani sinirleri, dilin arka tarafındaki sinirler ile bağlanan kranial 9.sinirlerin elektropsikolojik kayıtları göstermiştir ki TAS1R2 ve TAS1R3 reseptör genini taşımayan farelerde yapay şekerlere karşı cevap oluşmamıştır [76, 85]. TAS1R3 geni olmayan farelerde şekerli tada olan hassasiyet yabancı genotipe sahip farelere kıyasla daha az olduğu rapor edilmiştir [86].

1.1.5.2. TAS1R3 geninin özellikleri ve ifadesi

TAS1R2 geninin çeşitlerinin doğal genetik sürüklenmedeki kat sayısının TAS1R3 geninden daha fazla olduğu saptanmıştır [3]. Bu tarafsız sapmalar şekerli tat bileşenlerine olan hassasiyette fonksiyonel çeşitliliğin olduğunu ortaya çıkarmıştır. TAS1R3 geni 8135 baz çiftinden oluşmaktadır. TAS1R3 geni rs307355 polimorfizmi genomda -1572 promotör bölgesinde C allelinin T ye dönüşümü sonucunda oluşmaktadır (Şekil 1.4) [11]. TAS1R3 geninin kromozom üzerindeki yerleşimi Şekil 1.5’ de gösterilmiştir [87].

TATGCTGTGCGCATGTGCGTGCCATG C GCTTTGCGTGTACCATGTGTGTGCT
↓
ATACGACACGCGTACACGCACGGTAC TCGAAACGCACATGGTACACACAC

Şekil 1.4. TAS1R3 geni rs307355 tek nukleotit değişimi



Şekil 1.5. TAS1R3 geninin genomdaki yeri kırmızı çizgi ile gösterilmiştir [87].

1.1.5.3. TAS1R3 geninin şekerli tat algısı ve dış çürüğü oluşumuna etkisi

Bretz WA. ve ark. ikizlerle yaptıkları çalışmada bireyler arası genetik farklılıkların tat algısı ve beslenme alışkanlıkları üzerine katkı sağladığını göstermiştir [17]. TAS1R3 geni rs307355 ve rs35744813 polimorfizmleri ile yapılan çalışmada her iki polimorfizmde T polimorfik allelinin şekerli tat algılama hassasiyetini düşürücü etkisi bulunmuştur [11]. Leptin gibi bazı hormonların metabolizmayı uyararak besin alımını arttırıcı etki yaratmasının tat reseptör hücrelerinde gerçekleşen depolarizasyonu değişime uğratabileceği düşünülmektedir [12].

1.1.5.4. TAS1R3 geninin şişmanlık üzerine etkisi

Bireylerinin tat algılama hassasiyetleri ve besinlerin sahip oldukları tatlara karşı göstermiş oldukları eğilimler beslenme alışkanlıklarını etkilemektedir. [2, 22]. Bu faktörlerle birlikte tat algısının oluşmasında rol alan mekanizmaların fonksiyonlarında meydana gelen gen nükleotidlerindeki değişimler de beslenme alışkanlıklarını etkilemektedir [2]. Diş çürüklerinin gelişiminde konak/diş faktörü ile ağızdaki spesifik mikroorganizmalar ve beslenme arasındaki ilişkiyi belirlemeye yönelik çok sayıda çalışma, çocukların büyük bir çoğunluğunun şekerli ve atıştırma tarzı yiyecekleri sevdiğini ve böylece yüksek miktarda şeker içeren besinleri tükettiklerini göstermektedir. Bununla birlikte çocuğun bu davranışını etkileyen fizyolojik mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Son yıllarda yoğunluk kazanan araştırmaların sonuçlarına göre şeker alım miktarı ve sıklığı, tat duyularındaki algılama farklılıklarından etkilenmektedir [14, 15].

1.1.6. Beslenme tercihi ile tek nükleotid polimorfizm ilişkisi

Epidemiyolojik çalışmalar ile diyet ve kronik hastalıklar arasında önemli bir ilişki olduğunu açıklamaya yönelik çalışmalar devam etmektedir. Besin metabolizmasını düzenleyen genlerde meydana gelen mutasyonların varlığı günlük besin alımına bağlı olarak beslenme ve genetiğin birbirleriyle ilişkili olarak çalıştığını göstermektedir [88, 89]. Beslenme alışkanlığı ile ilgili çalışmalar sayesinde kişilerde genotiple ilişkili kronik hastalıkları önlemek için sağlık durumunu iyi yönde düzenleyecek diyetler tercih edilecektir. Kişinin genetik yapısına uygun olmayan diyetler kronik hastalıkları aktive edebilmektedir. Bazı besin maddeleri, bireyin metabolizması için gerekli enerji düzeyini karşılarken bu besin maddeleri başka bir birey için yetersiz olabilmektedir [88]. Bu nedenle bireyler genetik yapılarına uygun besinleri günlük diyetlerinde tercih etmelidir [90].

1.1.7. Tek nükleotid polimorfizmi

Aynı tür organizmaların birbirinden farklı fenotip göstermeleri genetik olarak belirlenmiş ve polimorfizm olarak adlandırılmıştır. Bir popülasyonda farklı allellere bağlı olarak iki ya da daha çok alternatif yapının görülmesi polimorfizm olarak adlandırılmaktadır. Bireyler arasında DNA'daki tek nükleotid farklılıkları tek nükleotid

polimorfizmleri (SNP) olarak adlandırılmaktadır. Genetik polimorfizm, bir popülasyonda farklı allelelere bağlı genetik olarak belirlenmiş iki ya da daha çok alternatif fenotipin görülmesidir. Çoklu allellerin varlığı ile polimorfizler fenotipte farklı yansımalar göstermektedir. Bazı SNP alelleri, hastalıkla doğrudan ilişkili olan genin fonksiyonunda veya düzenlenmesinde farklılığa yol açan dizi varyantlarıdır. SNP'lerin farklı tipleri protein fonksiyonunu veya gen anlatımını değiştirebilmektedir. Çok sayıda SNP direkt olarak fenotipi etkileyebilse de hastalık ile ilişkili olmayabilir [91].

1.1.7.1. Polimeraz zincir reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), primerler tarafından yönlendirilerek özgül hedef DNA parçasının kopyalarının enzimatik olarak sentezlenmesiyle tanımlanan bir yöntemdir. PZR ile normal replikasyon süreci çoklu tekrarı ile taklit edilerek, hızlı bir şekilde istenilen gen ya da DNA dizilerinin çok sayıda çoğaltılması sağlanır [92].

PZR reaksiyonu üç temel basamaktan oluşmaktadır ve çoğaltılan ürün miktarı bu basamakların tekrarlanma sayısına bağlıdır.

1. Denatürasyon: Çoğaltılacak DNA, tek zincirli hale getirilmek üzere yüksek sıcaklıkta denatüre edilir.

2. Primerlerin bağlanması: Primerler tek zincirli hale getirilmiş DNA üzerindeki hedef bölgelerle özgül hibridizasyonu sağlanacak şekilde birleşir. Bu primerler 15-30 nükleotit uzunluğunda olup, çoğaltılacak DNA kısımlarındaki tamamlayıcı dizilere özgül olarak bağlanabilen yapay oligonükleotidlerdir.

3. Zincirin uzaması: Isıya dayanıklı olan Taq Polimeraz enzimi reaksiyon karışımına ilave edilir ve DNA sentezi gerçekleşir. Enzim, nükleotidleri 5' uçtan 3' ucuna doğru ekler ve primerlerin uzamasını sağlar. Böylelikle hedef DNA'nın çift zincirli kopyası oluşur.

İşlem önceden döngü sayısı ve sıcaklıkları belirlenen programlar ile termal döngü cihazlarında otomatik olarak gerçekleştirilir.

1.1.7.2. Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu

Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPZR, kinetik PZR, homojen PZR, gerçek zamanlı PZR), gelişmiş sıcaklık döngü cihazı kullanarak DNA ve RNA örneklerinin kalitatif ve kantitatif olarak miktarlarının ölçülebildiği bir yöntemdir. qPZR yöntemi sayesinde çok sayıda örnek geleneksel PZR'a göre kısa sürede ve daha düşük kontaminasyon riski ile çalışılmaktadır [93]. qPZR'da ürün analizi reaksiyon sırasında monitörize edilerek yapılmaktadır. Böylece geleneksel PZR tekniğinde kullanılan agaroz jel elektroforezi, PAGE (poliakrilamid jel elektroforezi), UV (ultraviyole) görüntüleme gibi uzun zaman alan işlemler uygulanmamaktadır. qPZR ürünlerinin kalitatif ve kantitatif analizleri diziye özgü olmayan floresan boyalar veya diziye özgü probler ile yapılmaktadır. Bu sayede sonuçlar kısa sürede düşük kontaminasyon riski ile elde edilmektedir [93, 94]. qPZR da oluşan ürün miktarı, reaksiyon sırasında oluşan ürün miktarı ile orantılı olarak artan floresan boyanın verdiği ışığa ile belirlenir [95]. qPZR reaksiyonu sırasında her çoğaltım döngüsü ile elde edilen DNA miktarına bağlı olarak artış gösteren floresan ışımalar bilgisayar programı ile sayısal değerlere çevirilmektedir [93, 95, 96].

Erime eğrisi analizi

Polimeraz Zincir Reaksiyonunda primerlerin bağlanma aşamasında primerler ile birlikte probler da tek iplikli DNA'ya bağlanır. Problar yan yana gelir ve enerji transferi gerçekleştiğinden floresans ışığı artar. PZR bittikten sonra erime eğrisi analizi yapılarak sonuçlar belirlenir. Simple probler erime sıcaklıklarına (T_m) geldiklerinde bağlı oldukları DNA dizisinden ayrılırlar. Birbirleri üzerindeki enerji transferi ortadan kalktığı için daha az ışık yaparlar.

Probların tasarlandığı genotipe göre erime sıcaklığı değişmektedir. Probların tasarımı yabancı genotipe göre yapılmış ise tek iplikli DNA dizisi ile prob birer bir eşleşerek sağlam bağlanma gerçekleşeceğinden probların erimesi ve DNA dizisinden ayrılması zor olacak ve erime sıcaklığı buna bağlı olarak yüksek olacaktır. DNA dizisinde mutasyon varsa prob DNA ile tam bir eşleşme gerçekleştiremediğinden bağlanma zayıf olacak ve erime sıcaklığı daha düşük olacaktır. Eğer probların tasarımı polimorfik tipe göre ise polimorfik genotipin erime sıcaklığı daha yüksek, yabancı tipin erime sıcaklığı daha düşük olacaktır.

Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonun kullanım alanları

1. Biyolojik örneklerden elde edilen DNA'nın kopya sayısını sayısal değerlere dönüştürme ve mRNA düzeyinin sayısal olarak belirlenmesi (Gen anlatım kantitasyonu),
2. Viral kantitasyon,
3. Patojenlerin tespiti,
4. DNA hasarı (mikrosatellit instabilitesi) tespiti,
5. Metilasyon tespiti,
6. Erime eğrisi analizi ile genotip belirlenmesi,
7. Amniyotik sıvıdan elde edilen çocuğa ait tek hücrede prenatal tanı,
8. Hemoglobinopatilerin prenatal tanısında kullanılmaktadır [94, 95].

Kantitatif polimeraz zincir reaksiyon sisteminin avantajları

1. Reaksiyon sırasında floresans ışımaya ile eş zamanlı olarak veri toplanarak aynı anda analiz yapılabilir.
2. Diziyi tanıyan ya da diziyeye özgü mutasyonu tanıyan prob kullanıldığından spesifik olmayan çoğaltımlardan etkilenmez.
3. Sonuç almak için ikinci bir tekniğe gerek yoktur. Bu sayede yüksek verimlilik sağlamaktadır.
4. Kapalı bir sistem olduğu için kontaminasyon riski çok azdır.
5. Reaksiyon bittikten sonra başka işlemlere ihtiyaç duyulmadığından qPCR işlemi yaklaşık 45 dakika sürmektedir.
6. Özel eğri analizleri ile spesifik çoğaltımlar tanımlanmaktadır.
7. Reaksiyonun duyarlılığı, özgüllüğü ve tekrarlanabilirliği yüksektir [95, 97].

Kantitatif polimeraz zincir reaksiyon sisteminin dezavantajları

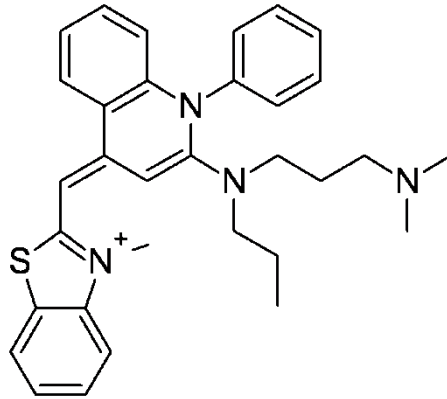
1. Reaksiyon sırasında kullanılan malzemelerin çok pahalı olması,
2. Teknik donanım, alt yapı, beceri, tecrübe ve yüksek ekipmana ihtiyaç olması,
3. Sadece bilinen mutasyonların taranabilmesi,
4. Laboratuvarlar arasında sonuçların farklı çıkması ve standardizasyon problemlerinin varlığı bilinen dezavantajlardandır [95, 97].

1.1.7.3. Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan boya ve prob sistemleri

Kantitatif PZR tekniği, DNA çoğaltımının eş zamanlı olarak özel boyalarla gözlenmesidir. Sıklıkla kullanılan kimyasallar özel floresan prob ve boyalardan oluşmaktadır [95, 98].

SYBR Green I boyası ve yöntemi

SYBR Green I boyası özgün olmayan çift iplikli DNA'nın çoğaltımında kullanılmaktadır. Bu yöntemde kullanılan floresan boya çift zincirli DNA'ya bağlanmakta ve çoğalan DNA miktarı arttıkça qPCR cihazında okunan floresansın miktarı da eş zamanlı olarak artmaktadır. Diziye özgün olmayan DNA'ya bağlanan boyalar arasında en fazla kullanılan boya çeşidi SYBR Green I'dir (Şekil 1.5). SYBR Green I 497 nm dalga boyunda yükseltgenir ve 520 nm dalga boyunda indirgenir [94].

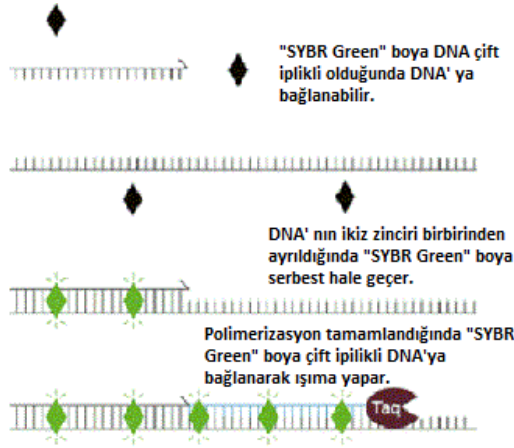


Sekil 1.6. SYBR Green'in kimyasal yapısı

Sybr Green I çift iplikli DNA'nın küçük oluşuna bağlandığında serbest halinden 1000 kat daha kuvvetli floresans ışıma yapar [99] ve 30 çoğaltım döngüsünden sonra aktivitesinin yalnızca % 6'sını kaybeder [94].

Çoğaltım başlangıcında reaksiyon tüpü içersinde çift iplikli DNA molekülü, primerler ve "SYBR Green I" boyası bulunmaktadır. Serbest DNA moleküllerinin floresans ışıma miktarı çok azdır. Bu yüzden reaksiyon başında floresans yok denecek kadar azdır. Primerlerin bağlanmasıyla uzama başlar ve boya molekülü çift iplikli

DNA'nın arasına girerek ışımayı başlatır (Şekil 1.7). Başlangıç döngülerinde sinyal zayıftır. Ürün miktarının artışına bağlı olarak floresans miktarı artmakta ve bu artış cihaz monitöründen izlenebilmektedir [94, 100].

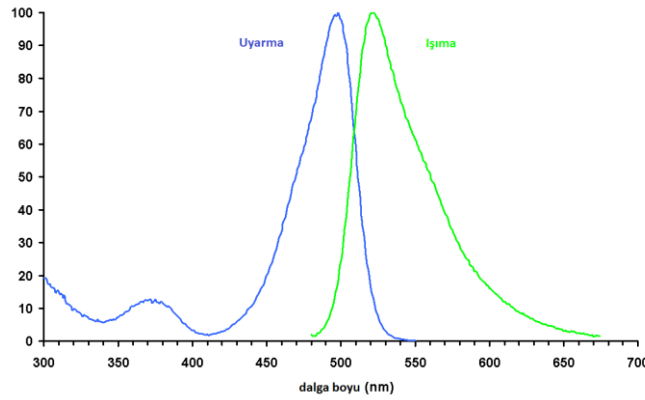


Şekil 1.7. SYBR Green yöntemi [102]

Sybr Green tüm çift iplikli DNA moleküllerine bağlandığı için DNA problemleri kadar özgül değildir. Ancak PZR'dan sonra ürünün uzunluğu ve baz dizisine özgül erime sıcaklığı değerlerinin hesaplanması ile DNA erime eğrilerinin çizilmesine olanak sağlayan avantajlı bir yöntemdir. SYBR Green I yöntemi, optimize edilmiş PZR koşullarında ve iyi dizayn edilmiş primerler ile çok fazla sayıda hedef genin çoğaltımını sağlamaktadır. SYBR Green I yönteminde floresans işaretli problemlere ihtiyaç duyulmadığından maliyeti düşük ve pratiktir.

SYBR Green I yönteminde, istenmeyen PZR ürünlerinin çoğaltılmasıyla meydana gelen floresan ışımlar oluşacağından, elde edilen sinyaller her zaman hedef DNA'nın çoğaltıldığını göstermeyebileceğinden hatalı sonuçlar alınabilir. Reaksiyon karışımında hedef DNA dizisi olmadığı zaman primerlerin birbirine bağlanması ile primer dimerleri olarak adlandırılan çift iplikli DNA bölgeleri ve özgül olmayan PZR ürünleri floresans ışıma oluşturmaktadır [100, 101]. Çoğaltılan DNA'nın istenilen hedef bölge olup olmadığının belirlenmesi amacıyla DNA'ların erime eğrisi analizleri yapılmalıdır. qPZR cihazı, DNA'ların erime eğri analizlerini yapmak için PZR

ürünlerini yavaşça ısıtmaya başlar. Isıtma işlemi ile çift iplikli DNA birbirinden ayrılmaya başladığında (erime sıcaklığı=*melting temperature*= T_m), floresans boya serbest kalmakta ve okunan floresan ışına miktarı düşmektedir. Her DNA'nın kendine özgü bir erime sıcaklığı (T_m) derecesi vardır ve bu erime sıcaklığı çoğalan DNA parçalarının uzunluğuna ve içerdiği GC/AT oranına bağlı olarak değişmektedir. Spesifik olmayan PZR ürünleri ve hedef DNA parçalarının erime sıcaklıkları farklıdır. Bu farklılık her ürünün uzunluk ve gen dizisi içeriğinin özgülüğünden kaynaklanmaktadır. Bilinmeyen iki DNA dizisi karşılaştırılmak istendiği zaman erime eğrisi yöntemi güvenle kullanılmaktadır. (Şekil 1.8) [95, 98, 102, 103].



Şekil 8. Sybr Green I yöntemi kullanılarak elde edilmiş çift iplikli hedef DNA'nın dalga boyuna göre ışınım eğrisi [144]

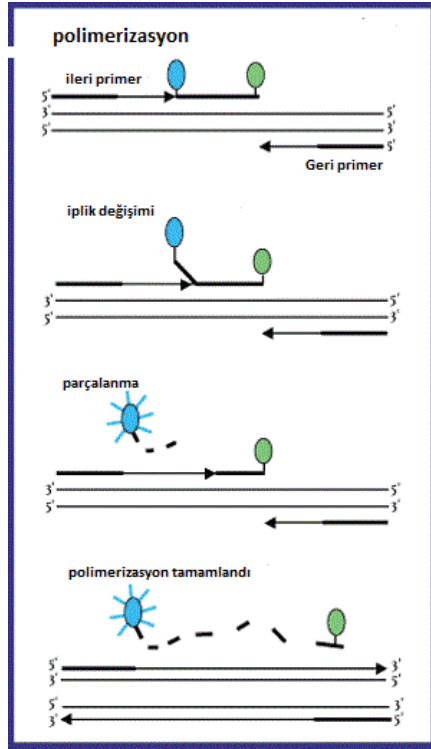
Diziye özel floresans işaretli problemler

DNA parçasına ait özel bir bölge çoğaltılmak istenildiğinde hedefe özgü floresan işaretli problemler kullanılmaktadır [94]. İyi dizayn edilmiş bir prob serbest halde zayıf floresan verirken istenilen hedefe bağlandığında kuvvetli floresan ışınım yapar ve özgülüğü yüksektir. qPZR yönteminde kullanılan en yaygın floresan işaretli problemler: “*TaqMan*” prob, “Molecular boncuk”, “*FRET* -Hibridizasyon Problemleri” ve “*Scorpion*” ‘dur [93, 95, 98].

TaqMan® Probu

TaqMan® prob yöntemi çift-boyalı oligonükleotid (*Double-Dye Oligonucleotide*), çift işaretli prob (*dual labeled probe*) veya 5' nükleaz probu (*5' nuclease probe*) olarak adlandırılmaktadır. *TaqMan®* prob yönteminde çoğaltılmak istenilen DNA'ya tamamlayıcı olan ve floresans işaretlenmiş tek zincirli bir prob bulunmaktadır.

Floresan işaretli probun 5' ucunda yüksek enerjili florofofor (6-karboksifloresin= 6-FAM) ve 3' ucunda düşük enerjili baskılayıcı (*quencher*) (6-karboksitetrametil-rodamin= TAMRA) boya yer almaktadır [104]. Probun 3' ucundaki baskılayıcı TAMRA boyası probun 5' ucundaki FAM boyasının sinyal oluşturmalarını engellemektedir. Prob hedef DNA'ya bağlandığında ölçülen floresans sinyali düşüktür. PZR da çoğaltılma sırasında hedef nükleik asit dizisi üzerinde primerlerin bağlanma bölgeleri arasında *TaqMan* problemler bağlanarak primer bağlanmasının ardından yeni zincir oluşturmaya başlarlar. Taq DNA polimeraz enzimi probun bağlandığı bölgeye gelindiği zaman 5'→3' nükleaz aktivitesi ile 5' ucundan florofofor FAM'ı probdan ayrılmakta ve serbest hale geçen FAM sinyali oluşturmaktadır. Her döngüde ürün miktarı arttıkça floresans ona bağlı olarak artmaya devam eder (Şekil 1.9) [105]. Bu yöntem ile mutasyon tespiti sayısal verilere ulaşabilmektedir. *TaqMan* prob yöntemi standart protokolü ve kolay dizaynı ile çok az bir optimizasyonla gerçekleştiği için hem allellerin belirlenmesi hem de gen anlatım profilinin çıkartılmasında sıklıkla kullanılmaktadır [104, 106].

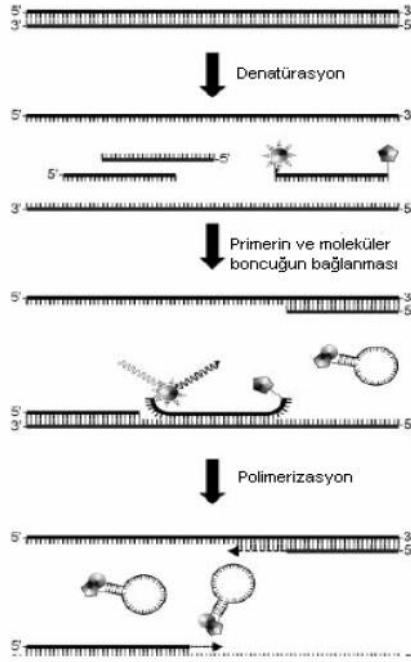


Şekil 1.9. *TaqMan* Prob yöntemi [145]

Moleküler boncuk yöntemi

Moleküler Boncuk yöntemi çalışma prensibi ile *TaqMan* Prob ve SYBR Green yöntemlerinden farklılık göstermektedir [93, 102, 107, 108]. Moleküler boncuk yönteminde, saç tokası (*hairpin*) şeklindeki yapının yuvarlak uç kısmı çoğaltılacak olan hedef DNA ile komplementer tek iplikli DNA dizisi içermektedir. Saç tokası şeklindeki yapının düz olan uç kısımları 2 adet florofor boya içermektedir. Baskılayıcı florofor boya diğer boyanın ışımamasını engellediği için moleküler boncuk probu solüsyon içinde serbest haldeyken ışımaya yapamaz. Çoğaltılmak istenen hedef DNA bölgesi PZR ile çoğaltılmaya başladığı zaman prob hedef DNA dizisine göre dizayn edildiğinden birbirleri ile karşılaştıklarında konformasyonu değişmekte, düz ve çift iplikli hale geçmektedir. Bu yapı termodinamik olarak saç tokası şeklinden daha karardır. Moleküler boncuk yapısı hedef nükleik asit dizisi ile hibridize olur olmaz molekülün yapısı değişmekte ve boyalar birbirlerinden uzaklaştığı için floresans miktarı artmaktadır (Şekil 1.10) [108]. Moleküler boncuk yönteminde prob dizaynı ve optimal şartlar çok önemlidir. Uygun sıcaklığın elde edilemediği şartlarda ortamda hedef DNA dizisi bulunsa bile probun saç tokası şeklindeki yapısı değişmeyeceğinden ışımaya elde

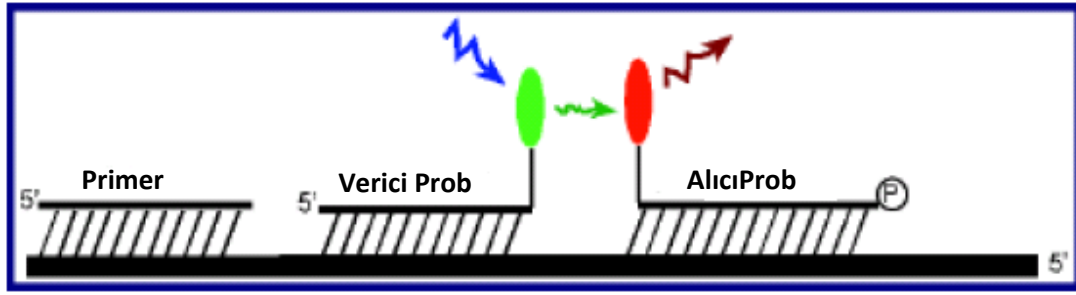
edilemeyebilir [107, 108]. Moleküler boncuk yöntemi genetik tarama, tek nükleotid polimorfizm çalışmaları ve farmakogenetik çalışmalarda kullanılmaktadır [102, 109].



Şekil 1.10. Moleküler Boncuk yöntemi [108]

Hibridizasyon prob yöntemi

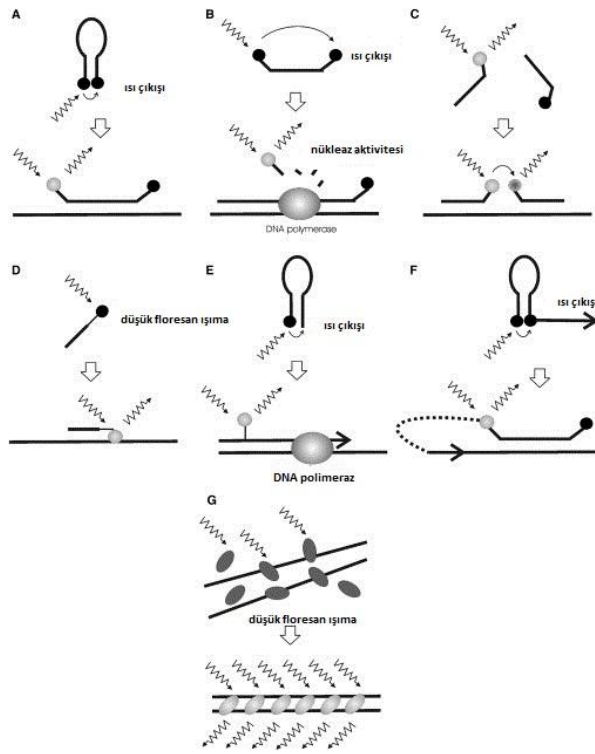
Hibridizasyon prob yöntemi (*FRET: Fluorescence Resonance Energy Transfer*) Roche firması tarafından *LightCycler®* PZR cihazında kullanılması amacıyla geliştirilmiştir [110, 111]. Bu teknik amplifikasyon primerlerinin iç tarafına göre tasarlanan iki farklı probdan oluşmaktadır. Problardan birinin 3' ucunda floresans işaretli verici boya (*donor*), diğerinin 5' ucunda ise alıcı boya (*acceptor*) bulunmaktadır. PZR reaksiyonu sırasında iki prob hedef nükleik asit dizisine bağlanıp birbirlerine yaklaşır ve enerji yayılımı oluşur. Enerji “verici” boyadan “alıcı” boyaya transfer olmaktadır (Şekil 1.11). Enerji transferiyle oluşan floresans miktarı PZR süresince oluşan ürün miktarına bağlı olarak artmaktadır [95, 98, 100, 103, 110].



Şekil 1.11. Hibridizasyon prob yöntemi

Scorpiyon primerler

Scorpiyon prob tekniği, saç tokası şeklinde uçları birbirine yapışık olarak işaretlenmiş prob-primerler ile birleştirilmektedir. PZR sürecinde primerler replikasyonu gerçekleştirirken, problemler açılarak yeni sentezlenen PZR ürünlerine hibridize olur ve floresans baskılayıcı boyadan ayrılarak sinyal üretirler (Şekil 12) [93].



Şekil 1.12. Scorpiyon Primerlerle qPZR [94]

Simple Prob

Simple Prob testlerde, mutasyonu bilinen gen içindeki çoğaltılmak istenen bölge primerler tarafından çoğaltılır. *Simple* problemlerin tasarımları yabancı tip ya da mutant tip dizisinin tamamlayıcısı olarak yapılmaktadır. Yabancı tip ve mutant tip genotip arasındaki farklılık erime sıcaklığı ile belirlenmektedir [112].

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

1. LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe, 96 rxn (Roche, 3003248001)
2. High Pure PCR Template Preparation Kit2 (Roche, 11796828002)
3. Rs307355 için Primer-probe set; 1Nm (TıbbiMolBiol)
4. Tris baz, (Roche, 10708976001)
5. Magnezyum klorür (MgCl), (Merck)
6. Potasyum klorür (KCl), (Merck)
7. Borik asit, (MBG, A-2940)
8. Proteinaz K (Roche, 03 115 879)
9. Sodyum klorür (NaCl), (MBG, A-2942)
10. Sodyum hidroksit (NaOH), (MBG, A-6829)
11. Sodyum dodesil sülfat (SDS), (Roche, 11 667 289)
12. Amonyum klorür (NH ₄ Cl), (MBG, A-3260)
13. Potasyum bi karbonat (KHCO ₃), (BDH)
14. Etanol, (MBG, A-3678)
15. Absolü etanol, (Merck, 100986)
16. EDTA, (MBG, A-5097)
17. Fenol/Kloroform/İzoamil alkol (SİGMA, 25:24:1)

2.1.2. Araç ve gereçler



Otoklav,



Etüv,



Mikrosantrifüj,



UV Kabin,



Lightcycler nano qPCR sistemi,



-20°C Derin Dondurucu,



Elektronik Pipet Seti (10µl, 100µl, 1000µl)



Spektrofotometre

2.1.3. Çalışma grupları

2.1.3.1. Çalışma gruplarının tanımlanması ve klinik verileri

Yaş ortalaması 6 ile 12 arasında olan 174 çocuk hastadan süt dişi çürüğü olmayan (26 kişi) ve süt dişi çürüğü sayısı 7'den fazla olan (26 kişi) bir çalışma grubu (1. Çalışma grubu), daimi dişi çürüğü olmayan (66 kişi) ve daimi dişi çürüğü 3 ten fazla olan (41 kişi) bir diğer çalışma grubu (2. Çalışma grubu), %0 sukroz solusyonunu şekerli (39 kişi) ve şekersiz algılayan (135 kişi) çalışma grubu (3. çalışma grubu), %0-%1-%2-%2.8 sukroz solüsyonlarını tamamen hatasız algılayan (86 kişi) ve en az birini hatalı algılayan (60 kişi) çalışma grubu (4. Çalışma grubu), %2.8 lik sukrozun şekerli tadını seven (94 kişi) ve sevmeyen (70 kişi) çalışma grubu (5. Çalışma grubu, hedonik

grup), hatasız şeker algısına sahip çocuklarda şekerli tadı seven (70 kişi) ve sevmeyen (23 kişi) çalışma grubu (6. Çalışma grubu, hedonik grup), hatalı şeker algısına sahip çocuklarda şekerli tadı seven (51 kişi) ve sevmeyen (11 kişi) çalışma grubu (7. Çalışma grubu, hedonik grup) oluşturuldu.

Çalışma gruplarımıza ait hastalar Ağustos 2012 ve Aralık 2012 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'na tedavi için başvuran çocuklar ve Gazi Mustafa Kemal Paşa İlköğretim Okulu'nda öğrenim görmekte olan öğrenciler arasından seçildi. Uzman pedodontistler tarafından muayene edilerek süt ve daimi diş sayıları ve süt ve daimi dişlerindeki Decay-filled teeth (dft)/Decay-Filled-Missed Teeth (DMFT) olarak ifade edilen diş çürüğü ölçek [112] kriterlerine göre hastaların dft ve DMFT sayıları tespit edildi (Şekil 2.1). Oluşturulan 7 adet çalışma grubuna dahil edilen çocukların velilerine çalışmanın amacı açıklanarak imzalı izinleri alındı. Çocukların yaş, boy, kilo, kalça ölçümü, bel çevresi ölçümü, diş fırçalama sıklıkları soru cevap yöntemi ile temin edildi. Ayrıca yemek hazırlama metodları, yemek yeme sıklığı ve günlük gıda tüketim miktarları temel besin gruplarına göre kaydedildi. Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubundaki çocukların glisemik yükleri hesaplandı.



Şekil 2.1. DMFT/ dft verileri ve antropometrik verilerin alınması.

2.1.3.2. Hedonik verilerinin elde edilmesi [71].

%0-%1-%2 ve %2.8 lik sukroz solüsyonları her çocuğa sırayla farklı solüsyonlara geçiş yapılırken aralarda ağzı su ile çalkalamak suretiyle tattırıldı. Her solüsyonun tattırılmasından sonra çocuğun bu tadı sevip sevmediği ve doğru algılayıp algılamadığı kaydedildi (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Sukroz solüsyonlarının tattırılması ve hedonik verilerinin alınması.

2.1.3.3. Temel gıda alımı ve ilişkili parametreler

Çalışmaya dahil edilen kişilerin, günlük gıda tüketim miktarları temel besin tablosunda (Ek 2.1) [114] yer alan besin gruplarına (karbohidrat, protein, yağ) göre kaydedildi. Çalışmaya dahil edilen kişilerin vücut yağı miktarları aşağıdaki formüllere göre hesaplandı.

Vücut kütle indeksi

Günümüzde pratik ve objektif bir ölçüm olan, şişmanlığın tayini boy ve vücut ağırlığının kullanılmasıyla yapılmaktadır. Kilogram cinsinden ağırlığın, metre cinsinden boyun karesine bölünmesiyle elde edilen vücut kütle indeksi (VKİ) en sık kullanılan şişmanlık tanı yöntemidir [36].

Yağsız vücut kütlesi ve vücut yağı ölçümü

İnsanlardaki yağsız vücut kütlesi (YVK) ölçüm formülü [37], erkekler için; $YBK (kg) = 0.32810 \times \text{ağırlık (kg)} + 0.33929 \times \text{boy (cm)} - 29.5336$, bayanlar için; $YBK (kg) = 0.29569 \times \text{ağırlık (kg)} + 0.41893 \times \text{boy (cm)} - 3.2933$. Vücut yağı ölçümü, mevcut vücut ağırlığından (MVA) yağsız vücut kütlesinin çıkarılmasıyla hesaplandı.

2.1.2.5. DMFT ve dft ölçeği

Çalışmaya dahil edilen çocukların, çürük, dolgulu ve kayıp dişleri belirlendikten sonra, hazırlanan DMFT/DMFS (DT: çürük dişler, MT: kayıp dişler, FT: dolgulu dişler, DS: çürük diş yüzeyi, MS: kayıp diş yüzey sayısı, FS: dolgulu diş yüzey sayısı) ve dft/dfs (dt: süt dişi çürük diş, ft: süt dişi dolgulu diş, ds: süt dişi çürük yüzey sayısı, fs: süt dişi dolgulu diş yüzey sayısı) ölçeğine göre (Şekil 2.3) bilgiler kaydedildi.

Ad Soyadı:..... Tarih:..... Doğum Tarihi:.....
Doğum Yeri:..... Anne Memleketi:..... Baba Memleketi:.....
Muayene Saati:..... Fırçalama Sıklığı:.....

8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

Ağızdaki Diş sayısı: Süt:..... Daimi:.....
dft..... dfs.....
1 2 3 4

--	--	--	--

şekerli (+) şekerli (-)

Şekil 2.3. DMFT/DMFS ve dft/dfs ölçeği

2.2 Kullanılan İnceleme Yöntemleri

2.2.1. Glisemik yük

Belirli miktardaki özgül bir besinin oluşturduğu insülin ihtiyacı ve glisemik yanıt seviyesinin belirlenmesi glisemik yük olarak tanımlanmaktadır.

Çalışma grubumuzdaki kişilere ait beslenme alışkanlıklarına göre *International table of glycemic index and glycemic load* kriterlerine göre [116] glisemik yükler hesaplandı.

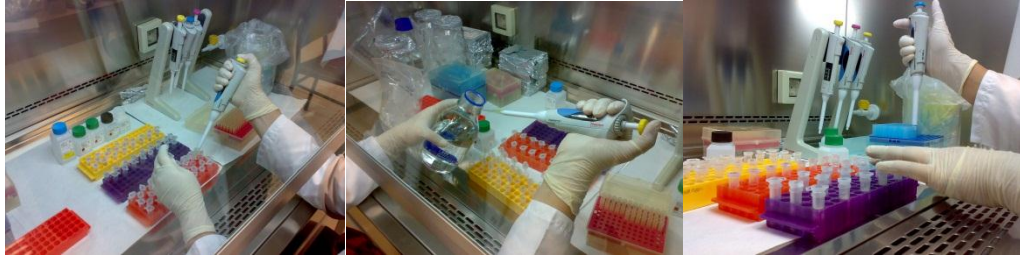
2.2.2. Tükürük örneklerinin alınması ve saklanma koşulları

Çalışma grubundaki çocuklara ait tükürük örnekleri 1,5 ml'lik steril tüplere alındı. 1 gün içerisinde genomik DNA'ları izole edilene dek +4°C'de saklandı.

Çalışmada gen polimorfizmi ile ilişkilendirmede kullanılacak olan klinik veriler (DMFT, DMFS, dft, dfs) Marmara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı diş hekimleri tarafından hesaplandı.

2.2.3. Tükürükten genomik dna izolasyonu

Çalışma gruplarına ait kişilerin steril eppendorlara alınan tükürük örneklerinden “High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche” protokolü [117] yöntemi kullanılarak genomik DNA’lar izole edildi (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Tükürükten genomik DNA izolasyonu

High Pure PCR Template Preparation kit protokolü ile genomik dna izolasyonu

1. Steril bir eppendorf tüpteki 200 µl tükürük örneği üzerine, 200 µl PBS, 200 µl bağlama tamponu ve 40 µl proteinaz K eklenerek karıştırılır ve 70°C de 10 dk inkübe edilir.
2. Tüpe 100 µl izopropanol eklenerek iyice karıştırılır.
3. Kit içinde bulunan filtreli tüp, toplayıcı tüpe geçirilip, eppendorf tüpteki karışım filtreli tüpe aktarılır.
4. 8000xg de 1 dk santrifüj edilir.
5. Filtreli tüp yeni bir toplayıcı tüp ile birleştirilip üzerine 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklenir.
6. 8000xg de 1 dk santrifüj edilir.
7. Filtreli tüp yeni bir toplayıcı tüp ile birleştirilip üzerine 500 µl yıkama tamponu eklenir.
8. 8000 g’de 1 dk santrifüj edilir.
9. 7. ve 8. basamaklar bir kez daha tekrar edilir.
10. Filtreli tüp steril bir eppendorf tüp üzerine alınarak üzerine 200 µl 70°C’ye

ısıtılmış toplayıcı tampon ilave edilir.

11. 8000g'de 1 dk. santrifüj edilir.

12. Ependorf tüpe süzölmüş olan DNA saflık ve miktar tayinleri yapıldıktan sonra - 20 °C'de muhafaza edilir.

Çalışmada genotipleri belirlenecek olan tüm örneklerin genomik DNA'ları elde edildi.

2.2.4. DNA miktarının ölçölmesi

Nökleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyundaki ışığı maksimum düzeyde absorbe etmektedir. Bu dalga boyundaki absorpsiyon derecesi nökleik asitlerin miktarını göstermektedir. DNA'nın miktar ve saflığını belirlemek amacıyla tüm örnekler sırasıyla spektrofotometrede 260 nm (DNA için) ve 280 nm (protein için) dalga boylarında ölçölerek belirlendi [104]. 1 optik dansite (OD) çift iplikli DNA için 50 µg/ml'ye karşılık gelmektedir. İzole edilen DNA çift iplikli oldukları için, miktarının belirlenmesinde 260 nm'deki absorpsiyon değeri 50 ile çarpıldı [118, 119].

$$\text{DNA}(\mu\text{g/ml}) = 260 \text{ nm'deki OD} \times \text{seyreltme oranı} \times \text{katsayı} [120]$$

260 nm OD ölçölümünün 280 nm OD ölçölümüne oranı DNA'da protein ya da RNA kontaminasyonu olup olmadığı hakkında bilgi vermektedir. Sağlıklı bir PCR analizi için $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$ oranı 1.8 ile 2.0 arasında olmalıdır. OD'nin 2.0'nin üzerinde olması protein kontaminasyonuna, 1.8'in altında olması da RNA kontaminasyonunu göstermektedir.

İzole edilen DNA'ların spektrofotometrede (Shimadzu/ UV-1800) konsantrasyonlarını ölçmek üzere 2 µl DNA solüsyonu 1698 µl suya ilave edilerek 1/850 oranında seyreltildive DNA'ların absorbands değeri 260 ve 280 nm dalga boylarında okundu (Şekil 2.5). Elde edilen değeri OD $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$ oranlarının 1.8 ile 2.0 arasında olmasına dikkat edildi.

DNA'ların optik dansitesi Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Enstrümental Analiz Araştırma Laboratuvarındaki Shimadzu/ UV-1800 model spektrofotometre ile ölçüldü.

Genomik DNA'lara ait OD₂₆₀ / OD₂₈₀ nm oranları 1.8-2.0 arasında olan DNA örnekleri direkt olarak qPZR reaksiyonuna alındı.



Şekil 2.5. DNA'nın miktar ve saflığının spektrofotometrik olarak belirlenmesi

2.2.5. TAS1R3 geninin çoğaltılması ve rs307355 tek nükleotid polimorfizminin tespiti ile ilgili yöntemler

LightCycler® FastStart DNA Master hibridizasyon probu; kolay kullanımlı, yüksek performanslı, tekrarlanabilirliği olan ve kontaminasyon riski çok az olan bir kittir.

LightCycler® FastStartDNA Master hibridizasyon prob kiti, hibridizasyon probu belirleme formatı için özel olarak oluşturulmuş kullanıma hazır bir reaksiyon karışımı olup, LightCycler sisteminde kullanılmaktadır. Reaksiyonlar 20µl' lik ependorf tüplerde sıcak başlangıçlı (*Hot-start*) PZR ile gerçekleştirilmektedir. Sıcak başlangıçlı PZR, polimeraz zincir reaksiyonunun başlangıcında spesifik olmayan çoğaltım ürünlerinin oluşumunu en aza indirerek reaksiyonun hassasiyet ve özgüllüğünü artırır [121-124].

FastStart Taq DNA polimeraz, 75⁰C'ye kadar aktivite göstermeyen termostabil rekombinant *Taq* DNA polimerazın modifiye formudur. Enzim sadece yüksek sıcaklıklarda aktive olduğundan, primerler spesifik olmayan bağlanma yapamazlar. PZR öncesinde uygulanan 95⁰ C'de, 10 dk'lık bir ön muamele ile, enzim tamamen aktive edilir.

2.2.6 Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu ile TAS1R3 geni rs30735 genotiplerinin belirlenmesi

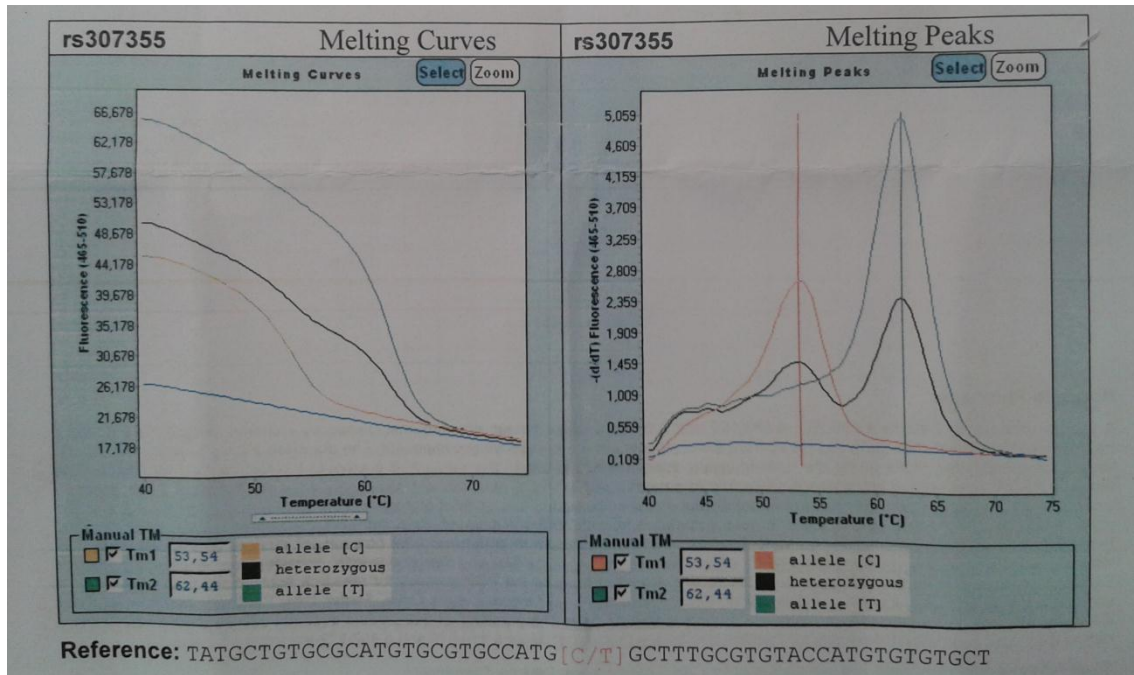
- Çalışmada *LightCycler nano* (Roche, Almanya) qPZR cihazına uygun *LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe* kiti ve *Simple prob* (*TibMolBiol LightSNIp* Kiti) kullanılarak TAS1R3 geni rs307355 genotipleri belirlendi.
- Erime eğrisi (*Melting curve*) analizi kullanılarak, uygun erime sıcaklıklarının incelenmesiyle genotipler belirlendi.
- Genotipleri belirlemek için hazırlanan karışımda ddH₂O, primer-prob karışımı (*LightSNIp*), *FastStart DNA Master* (*LightCycler FastStart* enzim, *FastStart Taq* DNA polimeraz, reaksiyon tamponu, dNTP karışımı, 10mM MgCl₂), MgCl₂ ve DNA örnekleri kullanıldı (Tablo 2.1).
- Bir primer-prob karışım tüpü 96 reaksiyonluk PZR için kullanılmaktadır. Liyofilize halde temin edilen primer-prob karışım tüpüne ilk olarak kısa süreli santrifüj uygulandı. Tüpün dibinde sarı renkli gözlemlenen pellet (primer-prob karışımı) üzerine 100µl ddH₂O eklendi, pipetaj yapılarak karıştırıldı ve kısa süreli santrifüj uygulandı. 1µl primer-prob karışımı 20µl'lik PZR reaksiyonu için kullanıldı.

Tablo 2.1. TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin belirlenmesinde kullanılan qPZR reaksiyon karışımı.

Kullanılan Malzemeler	Final Konsantrasyon
Çift distile su	10.4 µl
Primer-prob karışımı	1.0 µl (0.4 µM)
<i>Fast-Start DNA master karışımı</i>	2.0 µl (1X)
MgCl ₂ (25mM)	1.6 µl (3mM)
Kalıp DNA	5 µl (~50ng)

TAS1R3 geni rs307355 genotipleri belirlenecek olan DNA örneklerine ait reaksiyon karışımlarının toplam hacmi 20 µl olacak şekilde hazırlandı.

Kantitatif PZR’nu takiben erime eğrisi analizi yapılarak, standart erime eğrisi analiz grafiğine göre genotipler belirlendi. TAS1R3 geni rs307355 polimorfizmi C/T nükleotid değişimi sonucunda oluşmaktadır. Kullandığımız *Simple* prob, polimorfik (T) tipteki allele göre tasarlandığından, yabani tip allelin Tm sıcaklığı polimorfik tip allelin sıcaklığından daha düşüktür. Standart eğri grafiğinde (Şekil 2.6) 53.54°C sıcaklık derecesindeki eğri yabani tip “C” allelini, 62.44°C sıcaklık derecesindeki eğri polimorfik tip olan “T” allelini ve her iki sıcaklık derecesinde eğri bulunması heterozigot genotipi göstermektedir. Sıcaklık derecelerinde gözlemlenen 2 °C’lık farklar dikkate alınmamaktadır. TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin belirlenmesindeki tüm uygulamalarda *LightCycler®nano1.0* yazılımı kullanıldı.



Şekil 2.6. TAS1R3 geni rs307355 polimorfizmine ait standart erime eğrileri grafiği

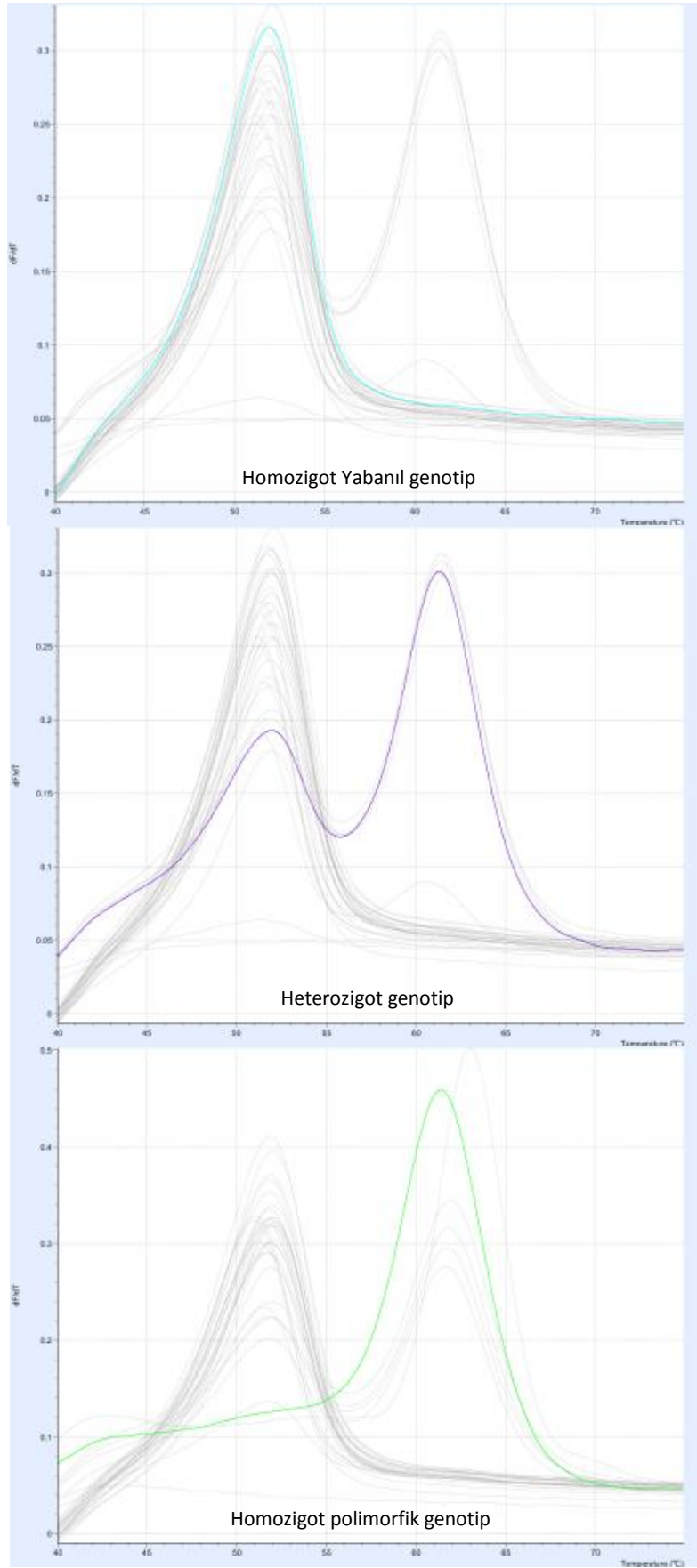
Kantitatif PZR *LightCycler®nano 1.0*, (Roche Applied Science, Almanya) sistemine sırasıyla SNP çalışma protokolü ve örnekler kaydedildi (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. *LightCycler*® Programı

Program	Denatürasyon	Döngü			Erime			Soğutma
Parametre		Ölçme			Erime Eğrisi			
Analiz Modu	Hiçbiri							Hiçbiri
Döngüler	1	45			1			1
Bölüm	1	1	2	3	1	2	3	1
Sıcaklık [°C]	95	95	60	72	95	40	75	40
Süre [ss:dd:ss]	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:30	00:02:00	00:00:00	00:00:30
Cihaz işlem hızı [°C/s]	4.4	4.4	2.2	4.4	4.4	1.5	-	1.5
Elde Etme Modu	Hiçbiri	Hiçbiri	Tek	Hiçbiri	Hiçbiri	Hiçbiri	Devamlı	Hiçbiri

2.2.6.1 TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin belirlenmesinde kullanılan Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyon Protokolü

- PZR reaksiyon karışımının tüm basamakları steril UV kabin içinde buzda gerçekleştirildi. Bütün reaktifler çözündürülerek pipetaj ile iyice karıştırıldı. Tüp içeriklerinin dibe toplanması için kısa süreli santrifüj edildi. Reaksiyon karışımı Tablo 2.1’de belirtilen miktarlarda karanlıkta hazırlandı.
- Ependorf tüpler (20µl) soğuk bloğa yerleştirildi ve her bir ependorfa reaksiyon karışımından 15µl dağıtıldı. Karışıma DNA örneklerinden 5µl ilave edildi ve ependorfların kapakları kapatıldı. Reaksiyon karışımının ependorf tüplerin dibinde toplanması için kısa süreli *spin down* santrifüj uygulandı.
- Ependorflar dikkatlice *LightCycler*® karuseline yerleştirildikten sonra, “*LightCycler nano 1.0* (Roche Applied Science, Almanya)” cihazında konumlandırılarak sistem çalıştırıldı.
- PZR işlemi bittikten sonra TAS1R3 geni rs307355 genotiplerini belirlemek amacıyla, PZR ürünlerine erime eğrisi analizi yapılarak sonuçlar aşağıda belirtildiği gibi değerlendirildi (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin eğrileri

2.2.7 İstatistiksel analizler

İstatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 17.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli ölçümlü değişkenler için ortalama±standart hata (SH) ve medyan (minimum-maksimum) olarak verildi. Kategorik değişkenler gözlem sayısı ve (%) değer olarak gösterildi. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren değişkenler için Student's t testi, normal dağılım göstermeyen değişkenler için Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılması Ki-kare testi ve Fisher kesin olasılık testi ile yapıldı. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Bulgular

Bu çalışmaya Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim dalına tedavi için gelen hastalardan ve Gazi Mustafa Kemal İlköğretim Okulu' daki öğrencilerden alınan 174 birey dahil edilmiştir. Bireylere ait klinik diş analizleri Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim dalı pedodontistleri tarafından yapılmıştır. Çocuklardan toplanan tükürük örneklerinden genomik DNA izole edilerek, TAS1R3 geni promotör bölgesinde bulunan rs307355 polimorfizmleri qPCR yöntemi belirlenmiştir. Genotip dağılımları sırasıyla homozigot yabanıl (n=143), heterozigot (n=29) ve homozigot polimorfik (n=2) genotip şeklinde belirlenmiştir. Ki-kare testi ile belirlenmiş olan polimorfizm sıklıkları farklı belirlenen çalışma gruplarında karşılaştırılmıştır. Bu gruplar, süt dişi çürüğü olmayan ve 7' den fazla olan (1. çalışma grubu), daimi diş çürüğü olmayan ve 3' ten fazla olan (2. çalışma grubu), %0 sukroz solüsyonunu şekerli algılayan çalışma grubu (3. çalışma grubu), %0-%1-%2-%2.8' lik sukroz solüsyonlarını tamamen hatasız ve en az birini hatalı algılayan çalışma grubu (4. çalışma grubu), %2.8' lik sukrozun şekerli tadını seven ve sevmeyen çalışma grubu (5. çalışma grubu), hatasız şeker algısına sahip çocuklarda şekerli tadı seven ve sevmeyen çalışma grubu (6. çalışma grubu), hatalı şeker algısına sahip çocuklarda şekerli tadı seven ve sevmeyen çalışma grubu (7. çalışma grubu) olarak belirlenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen tüm çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin klinik ve biyokimyasal parametrelere (bel çevresi, kilo, boy, kalça, vücut kitle indeksi (VKİ), yağsız vücut kütlesi (YVK), yağ kütlesi (YK), dft, dfs, DMFT, DMFS, glisemik yük (GY)) olan etkileri Tablo 3.1 de verilmiştir. Homozigot polimorfik genotipe sahip çocukların sayısı farklı bir genotip grubu olarak diğer genotiplerle karşılaştırma yapmak için yeterli sayıda olmadığından, homozigot polimorfik genotipteki ve heterozigot genotipteki çocuklar birleştirilerek ayrı bir grup olarak ele alınmıştır. Çalışmaya dahil olan çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal parametreler üzerine istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin demografik, klinik ve biyokimyasal parametrelere etkisi.

TAS1R3 geni rs307355 genotipleri			
	Homozigot yabanıl genotip C/C (n:143)	Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip C/T+T/T (n:31)	P
	Ort±SE; medyan (min-maks)	Ort±SE; medyan (min-maks)	
Bel çevresi(cm)	62.33±0.59; 62.00 (49.00-93.00)	62.10±1.68; 59.00 (51.00-88.00)	0.408
Kilo (kg)	32.09±0.67; 32 (18.00-56.00)	32.04±1.73; 28.50 (18.00-53.00)	0.746
Boy (m)	1.34±0.01; 1.34 (1.08-1.63)	1.34±0.02; 1.33 (1.13-1.52)	0.929
Kalça (cm)	74.71±0.66; 74.00 (53.00-100.00)	74.97±1.73; 73.00 (57.00-96.00)	0.871
VKİ (kg/ m²)	17.66±0.24; 17.11 (12.23-25.57)	17.60±0.67; 15.97 (13.51-27.46)	0.341
YVK (kg)	24.14±0.56; 24.10 (8.91-38.76)	23.85±1.05; 23.68 (9.36-35.17)	0.822
YK (kg)	8.21±0.33; 7.58 (1.87-19.71)	9.26±0.97; 8.63 (1.64-20.29)	0.337
Dft indeksi	3.88±0.28; 3.00 (0.00-14.00)	4.26±0.49; 5.00 (0.00-9.00)	0.381
Dfs indeksi	7.74±0.69; 5.00 (0.00-35.00)	7.84±1.10; 8.00 (0.00-19.00)	0.419
DMFT indeksi	1.91±0.17; 2.00 (0.00-10.00)	1.68±0.29; 1.00 (0.00-5.00)	0.765
DMFS indeksi	2.56±0.32; 20.00 (0.00-32.00)	2.55±0.61; 1.00 (0.00-14.00)	0.951
GY	2486.46±87.16; 2505.00 (532.00-5158.00)	2696.81±172.44; 2453.50 (1495.00-4802.00)	0.361

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi. n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kitle indeksi, YVK: Yağsız vücut kütlesi, YK: Yağ kütlesi, dft indeksi; dt: çürük süt dişi sayısı, ft: dolgulu süt dişi sayısı, dfs indeksi; ds: çürük süt dişi yüzey sayısı, fs: dolgulu süt dişi yüzey sayısı, DMFT indeksi ; DT:Çürük diş sayısı, MT:Kayıp diş sayısı, FT: Dolgulu diş sayısı , DMFS indeksi: DS: Çürük yüzey sayısı, MS: kayıp diş yüzeyi sayısı, FS: dolgulu diş yüzeyi sayısı, GY: Glisemik yük.

3.1.1. Çalışma grubu 1; Süt dişi çürüğü olmayan ve 7' den fazla olan çocuklar

Süt dişi çürüğü olmayan ve süt dişi çürüğü 7' den fazla olan çalışma gruplarının demografik, klinik ve biyokimyasal özellikleri tablo 3.2 de karşılaştırılmıştır. Süt dişi çürüğü olmayan çocuklarda bel ($p=0.011$), kilo ($p=0.0001$), boy ($p=0.002$), kalça ($p=0.002$), VKİ ($p=0.003$), YVK ($p=0.004$), YK ($p=0.002$) değerleri süt dişi çürüğü 7'den fazla olan çocuklardan istatistiksel anlamlı daha yüksek saptandı. Fakat süt dişi çürüğü olmayan çocukların DMFT ($p=0.05$) ve DMFS ($p=0.026$) değerleri süt dişi çürüğü 7'den fazla olan çocuklara kıyasla istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur (Tablo 3.2). Çalışma gruplarında TAS1R3 geni rs307355 heterozigot ve homozigot polimorfik genotip sayıları istatistiksel olarak diğer genotip ile karşılaştırılmaya yetersiz olduğundan heterozigot genotip ile homozigot polimorfik genotip bileştirilmiştir. Ancak TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin ve cinsiyetin çalışma grupları üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi saptanmamıştır (Tablo 3.3).

Tablo 3.2. Süt dişi çürüğü olmayan ve süt dişi çürüğü 7 den fazla olan çalışma gruplarına ait demografik, klinik ve biyokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması

	Süt dişi çürüğü olmayan (n:26)	Süt dişi çürüğü 7 den fazla olanlar (n:26)	P
	Ort±SE; medyan (min-maks)	Ort±SE; medyan (min-maks)	
Bel çevresi (cm)	65.69±1.37; 65.00 (56.00-81.00)	60.27±1.61; 58.50 (49.00-88.00)	0.011*
Kilo (kg)	37.51±1.58; 36.85 (24.00-56.00)	29.23±1.48; 27.10 (22.00-52.00)	0.0001***
Boy (m)	1.39±0.02; 1.39 (1.18-1.62)	1.31±0.01; 1.31 (1.19-1.46)	0.002**
Kalça (cm)	79.50±1.53; 79.00 (68.00-100.00)	72.20±1.58; 69.00 (61.00-91.00)	0.002**
VKİ (kg/ m²)	19.32±0.64; 18.84 (13.72-25.57)	16.85±0.59; 15.79 (12.82-27.46)	0.003**
YVK (kg)	27.52±1.27; 28.32 (13.29-38.62)	22.51±1.08; 21.88 (13.48-34.44)	0.004**
YK (kg)	10.73±0.88; 10.36 (3.03-19.70)	6.99±0.75; 6.71 (1.87-17.85)	0.002**
DMFT indeksi	1.15±0.37; 0.50 (0.00-8.00)	2.04±0.34; 2.00 (0.00-4.00)	0.050*
DMFS indeksi	2.08±1.23; 0.001 (0.00-32.00)	2.54±0.44; 2.50 (0.00-6.00)	0.026*
GY	2066.67±256.27; 2335.00 (911.00-3208.00)	2550.36±210.91; 2303.50 (1310.00-5158.00)	0.313

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi.
n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YK: Yağ kütlesi, YVK: Yağsız vücut kütlesi,
DMFT indeksi ; DT:Çürük diş sayısı, MT:Kayıp diş sayısı, FT: Dolgulu diş sayısı ,
DMFS indeksi: DS: Çürük yüzey sayısı, MS: kayıp diş yüzeyi sayısı, FS: dolgulu diş
yüzeyi sayısı, GY:Glisemik yük. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

Tablo 3.3. Süt dişi çürüğü olmayan ve süt dişi çürüğü 7 den fazla olan çalışma gruplarının TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıkları ile karşılaştırılması

	TAS1R3 geni rs307355 genotipleri		p
	Homozigot yabanıl	Heterozigot ve homozigot	
	genotip C/C n(%)	polimorfik genotip C/T+T/T n(%)	
Süt dişi çürüğü olmayanlar	23 (88.5)	3 (11.5)	1
Süt dişi çürüğü 7 den fazla olanlar	23 (88.5)	3 (11.5)	

Sonuçlar sayı (%) olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. Çalışma gruplarında gözlemlenen genotip sıklıkları ki-kare (χ^2) testi ile karşılaştırıldı. χ^2 :0,0001.

3.1.2. Çalışma grubu 2; Daimi diş çürüğü olmayan ve 3 ten fazla olan çocuklar

Daimi diş çürüğü olmayan ve 3 ten fazla olan çocukların cinsiyet dağılımları karşılaştırıldığında daimi diş çürüğü 3 ten fazla olan çocuklarda erkek sayısının kız sayısından fazla olduğu saptanmıştır (p=0.05) (tablo 3.4).

Tablo 3.4. Daimi diş çürüğü olmayan ve daimi diş çürüğü 3ten fazla olan çalışma gruplarının cinsiyet açısından karşılaştırılması

	Erkek	Kız	p
	n (%)	n (%)	
Daimi diş çürüğü olmayanlar	34 (51.5)	32 (48.5)	0.05*
Daimi diş çürüğü 3 ten fazla olanlar	29 (70.7)	12 (29.3)	

Sonuçlar sayı (%) olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. Çalışma gruplarında gözlemlenen cinsiyet sıklıkları ki-kare (χ^2) testi ile karşılaştırıldı. χ^2 : 3,857.

Daimi diş çürüğü olmayan ve daimi diş çürüğü 3' ten fazla olan çalışma gruplarının demografik, klinik ve biyokimyasal özellikleri Tablo 3.5 de karşılaştırılmıştır. Daimi diş çürüğü olmayan çocuklarda boy ve YVK ölçüleri daimi diş çürüğü 3'ten fazla olan çocuklardan daha düşük bulunmuştur (Tablo 3.5).

Tablo 3.5. Daimi diş çürüğü olmayan ve daimi diş çürüğü 3'ten fazla olan çalışma gruplarına ait demografik, klinik ve biyokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması

	Daimi diş çürüğü olmayan (n:66)	Daimi diş çürüğü 3 ten fazla olanlar (n:41)	P
	Ort±SE; medyan (min-maks)	Ort±SE; medyan (min-maks)	
Bel (cm)	62.36±0.90; 62.00 (51.00-83.00)	63.32±1.29; 62.00 (51.00-88.00)	0.608
Kilo (kg)	31.29±1.07; 30.95 (18.00-53.00)	33.97±1.53; 34.00 (22.00-56.00)	0.160
Boy (m)	1.30±0.01; 1.31 (1.08-1.54)	1.37±0.02; 1.37 (1.20-1.63)	0.001**
Kalça (cm)	74.26±1.05; 73.50 (56.00-96.00)	76.10±1.48; 75.50 (53.00-100.00)	0.241
VKİ (kg/ m²)	18.10±0.39; 17.29 (12.24-25.57)	17.69±0.55; 16.49 (12.82-27.46)	0.285
YVK (kg)	22.71±0.79; 23.43 (8.91-36.15)	25.46±1.17; 25.47 (13.48-38.76)	0.045*
YK (kg)	8.81±0.58; 8.03 (1.64-20.29)	9.35±0.65; 7.96 (3.55-17.85)	0.414
Dft indeksi	3.83±0.42; 3.00 (0.00-14.00)	3.98±0.55; 3.00 (0.00-12.00)	0.828
Dfs indeksi	6.61±0.94; 5.50(0.00-35.00)	8.39±1.38; 4.00 (0.00-28.00)	0.473
GY	2282.58±154.75; 2242.00 (532.00-4592.00)	2455.67±123.02; 2444.00 (747.00-4802.00)	0.327

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi. n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YK: Yağ kütlesi, YVK: Yağsız vücut kütlesi, dft indeksi; dt: çürük süt dişi sayısı, ft: dolgulu süt dişi sayısı, dfs indeksi; ds: çürük süt dişi yüzey sayısı, fs: dolgulu süt dişi yüzey sayısı, GY: Glisemik yük. *p<0.05, **p<0.01

Daimi diş çürüğü olmayan ve daimi diş çürüğü 3 ten fazla olan çalışma gruplarında TAS1R3 geni rs307355 polimorfiziminin etkisi Tablo 3.6 da gösterilmiştir. TAS1R3 geni rs307355 homozigot yabancı genotip sıklığı ile heterozigot+homozigot polimorfik genotip sıklığı arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 3.6). Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip sayıları istatistiksel olarak diğer genotip ile karşılaştırmada yeterli sayıda olmadığından heterozigot+homozigot polimorfik genotip olarak birleştirilmiştir.

Tablo 3.6. Daimi diş çürüğü olmayan ve daimi diş çürüğü 3'ten fazla olan çalışma gruplarının TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıklarının karşılaştırılması

	TAS1R3 geni rs307355 genotipleri		p
	Homozigot yabancı genotip C/C n(%)	Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip C/T+T/T n(%)	
Daimi diş çürüğü olmayanlar	54 (81.8)	12 (18.2)	0.633
Daimi diş çürüğü 3 ten fazla olanlar	35 (85.4)	6 (14.6)	

Sonuçlar sayı (%) olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. Çalışma gruplarında gözlemlenen genotip sıklıkları ki-kare (χ^2) testi ile karşılaştırıldı. χ^2 : 0,227.

Daimi diş çürüğü olmayan çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal özelliklere etkisi Tablo 3.7 de gösterilmiştir. Daimi diş çürüğü olmayan homozigot yabancı genotipe sahip çocukların dft (süt dişi çürüğü) sayısı heterozigot+homozigot polimorfik genotipteki çocuklara göre daha düşük bulunmuş ve istatistiksel olarak sınırda anlamlılık saptanmıştır (p=0.060) (Tablo 3.7). Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip sayıları istatistiksel olarak diğer genotip ile karşılaştırmada yeterli sayıda olmadığından heterozigot+homozigot polimorfik genotip olarak birleştirilmiştir.

Tablo 3.7. Daimi diş çürüğü olmayan çocukların TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkisi

	TAS1R3 geni rs307355 genotipleri		
	Homozigot yabancı genotip	Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip	p
	C/C	C/T+T/T	
	Ort±SE; medyan (min-maks)	Ort±SE; medyan (min-maks)	
VKİ (kg/ m²)	18.15±0.41; 17.54 (12.23-25.57)	17.84±1.16; 15.97 (13.61-25.55)	0.327
YK (kg)	8.80±0.60; 8.15 (2.58-19.71)	8.86±1.82; 7.84 (1.64-20.29)	0.769
Dft indeksi	3.56±0.49; 2.00 (0.00-14.00)	5.08±0.68; 6.00 (0.00-8.00)	0.060*
Dfs indeksi	6.33±1.09; 4.00 (0.00-35.00)	7.83±1.55; 9.50 (0.00-17.00)	0.129
GY	2223.09±190.58; 2201.00 (532.00-4592.00)	2469.57±236.16; 2381.00 (1495.00-3271.00)	0.415

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi.

n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YK: Yağ kütlesi, dft indeksi; dt: çürük süt dişi sayısı, ft: dolgulu süt dişi sayısı, dfs indeksi; ds: çürük süt dişi yüzey sayısı, fs: dolgulu süt dişi yüzey sayısı, GY: Glisemik yük. *p<0.05.

Daimi diş çürüğü 3' ten fazla olan çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıklarının demografik, klinik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkisi Tablo 3.8 de gösterilmiştir. TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin daimi diş 3 ten fazla olan çocuklarda istatistiksel anlamlı bir etkisi saptanmamıştır (Tablo 3.8).

Tablo 3.8. Daimi diş çürüğü 3' ten fazla olan çocukların TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkisi

TAS1R3 geni rs307355 genotipleri			
	Homozigot yabanıl genotip C/C	Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip C/T+T/T n(%)	p
	Ort±SE; medyan (min-maks)	Ort±SE; medyan (min-maks)	
VKİ (kg/ m²)	17.65±0.55; 16.89 (12.81-25.55)	17.90±2.09; 15.87 (14.01-27.46)	0.754
YK (kg)	9.22±0.69; 8.24 (3.55-17.38)	10.16±2.16; 7.32 (6.35-17.83)	0.609
Dft indeksi	3.94±0.61; 3.00 (0.00-12.00)	4.17±1.35; 4.50 (0.00-8.00)	0.808
Dfs indeksi	8.60±1.59; 4.00 (0.00-28.00)	7.17±2.14; 6.50 (0.00-14.00)	0.823
DMFT indeksi	4.77±0.23; 4.00 (4.00-10.00)	4.17±0.17; 4.00 (4.00-5.00)	0.335
DMFS indeksi	6.77±0.92; 5.00 (0.00-32.00)	6.17±1.60; 4.50 (4.00-14.00)	0.716
GY	2424.79±123.69; 2576.00 (747.00-4220.00)	2625.50±449.66; 2332.50 (1704.00-4802.00)	0.669

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi.
n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YK: Yağ kütlesi, dft indeksi; dt: çürük süt dişi sayısı, ft: dolgulu süt dişi sayısı, dfs indeksi; ds: çürük süt dişi yüzey sayısı, fs: dolgulu süt dişi yüzey sayısı, DMFT indeksi ; DT:Çürük diş sayısı, MT:Kayıp diş sayısı, FT: Dolgulu diş sayısı , DMFS indeksi: DS: Çürük yüzey sayısı, MS: kayıp diş yüzeyi sayısı, FS: dolgulu diş yüzeyi sayısı, GY: Glisemik yük.

3.1.3. Çalışma grubu 3; %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli ve şekerli algılayan çocuklar

%0 lık sukroz solüsyonunu şekerli ve şekerli algılayan çalışma gruplarına ait TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıkları Tablo 3.9 da gösterilmiştir. Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip sayıları istatistiksel olarak diğer genotip ile karşılaştırmada yeterli sayıda olmadığından heterozigot+homozigot polimorfik genotip olarak birleştirilmiştir.

%0 lık sukroz solüsyonunu şekerli algılayan ve şekerli algılayan her iki grupta da TAS1R3 geni rs307355 homozigot yabanıl genotip C/C sıklığı heterozigot (C/T)+homozigot mutant (T/T) genotip sıklığından fazladır (Tablo 3.9). Fakat genotip sıklıklarının gruplar üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi saptanmamıştır (Tablo 3.9).

Tablo 3.9. %0 sukroz solüsyonuna şekerli ve şekerli diyen gruplarda TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıklarının karşılaştırılması

	TAS1R3 geni rs307355 genotipleri		
	Homozigot yabanıl genotip C/C n(%)	Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip C/T+T/T n(%)	p
%0 sukroz solüsyonunu şekerli algılayanlar	31 (79.5)	8 (20.5)	0.617
%0 sukroz solüsyonunu şekerli algılayanlar	112 (83)	23 (17)	

Sonuçlar sayı (%) olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. Çalışma gruplarında gözlemlenen genotip sıklıkları ki-kare (χ^2) testi ile karşılaştırıldı. χ^2 :0.25.

%0 lık sukroz solüsyonunu şekerli ve şekerli algılayan çocukların demografik, klinik ve biyokimyasal özellikleri Tablo 3.10 da karşılaştırılmıştır. %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli algılayan çocukların YK (p=0.024), DMFT (p=0.015) ve DMFS (p=0.029) değerleri istatistiksel olarak % lık sukroz solüsyonunu şekerli algılayan çocuklardan yüksek bulunmuştur (Tablo 3.10). %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli ve şekerli algılayan gruplar cinsiyet açısından değerlendirildiğinde istatistiksel anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Tablo 3.10. %0 sukroz solüsyonunu şekerli ve şekerli algılayan çocukların demografik, klinik ve biyokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması

	%0 konsantrasyonu şekerli algılayanlar (n:39)	%0 konsantrasyonu şekerli algılayanlar (n:135)	p
	Ort±SE; medyan (min-maks)	Ort±SE; medyan (min-maks)	
Bel (cm)	62.62±1.44; 61.00 (49.00-88.00)	62.19±0.61; 61.00 (51.00-93.00)	0.914
Kilo (kg)	32.95±1.54; 29.50 (22.00-52.00)	31.83±0.68; 32.00 (18.00-56.00)	0.776
Boy (m)	1.34±0.02; 1.34 (1.14-1.54)	1.34±0.01; 1.34 (1.08-1.63)	0.746
Kalça (cm)	75.51±1.31; 74.00 (64.00-92.00)	74.53±0.71; 74.00 (53.00-100.00)	0.680
VKİ (kg/ m²)	18.16±0.55; 16.84 (14.31-27.46)	17.51±0.25; 16.86 (12.24-25.58)	0.474
YVK (kg)	23.89±1.19; 23.69 (10.82-38.76)	24.16±0.55; 24.25 (8.92-38.62)	0.821
YK (kg)	9.5±0.61; 9.08 (2.23-17.85)	8.06±0.37; 7.27 (1.64-20.29)	0.024*
Dft indeksi	4.31±0.49; 5.00 (0.00-11.00)	3.84±0.28; 3.50 (0.00-14.00)	0.366
Dfs indeksi	8.82±1.28; 8.00 (0.00-28.00)	7.45±0.69; 5.00 (0.00-35.00)	0.273
DMFT indeksi	2.41±0.29; 3.00 (0.00-5.00)	1.71±0.18; 1.00 (0.00-10.00)	0.015*
DMFS indeksi	3.38±0.56; 3.00 (0.00-14.00)	2.32±0.33; 1.00 (0.00-32.00)	0.029*
GY	2494.03±131.71; 2444.00 (911.00-4802.00)	2536.56±94.42; 2508.00 (532.00-5158.00)	0.922

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minimum-maksimum) olarak ifade edildi.

n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YK: Yağ kütlesi, YVK: Yağsız vücut kütlesi
dft indeksi; dt: çürük süt dişi sayısı, ft: dolgulu süt dişi sayısı, dfs indeksi; ds: çürük süt
dişi yüzey sayısı, fs: dolgulu süt dişi yüzey sayısı, DMFT indeksi ; DT:Çürük diş sayısı,
MT:Kayıp diş sayısı, FT: Dolgulu diş sayısı , DMFS indeksi: DS: Çürük yüzey sayısı,
MS: kayıp diş yüzeyi sayısı, FS: dolgulu diş yüzeyi sayısı, GY: Glisemik yük. *p<0.05.

%0 lık sukroz solusyonunu şekerli algılayan çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi Tablo 3.11 de gösterilmiştir. Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip sayıları istatistiksel analize dahil edilemeyecek kadar az olduğundan heterozigot genotipteki çocuklar ile homozigot polimorfik çocuklar bir grup olarak birleştirilmiştir. Buna göre homozigot yabancıların heterozigot+homozigot polimorfik genotipe sahip çocuklara göre glisemik yüklerinin daha düşük değerlere sahip olduğu tespit edildi (Tablo 3.11).

Tablo 3.11. %0 sukroz solüsyonunu şekerli algılayan çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkisi

TAS1R3 geni rs307355 genotipleri			
	Homozigot yabancı genotip	Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip	
	C/C (n:31)	C/T+T/T (n:8)	p
	Ort±SE; medyan (min-maks)	Ort±SE; medyan (min-maks)	
VKİ (kg/ m²)	17.73±0.53; 16.54 (14.30-25.55)	19.78±1.72; 20.89 (14.31-27.46)	0.348
YK (kg)	9.03±0.55; 8.33 (3.55-15.82)	11.49±2.12; 12.03 (2.22-17.85)	0.163
Dft indeksi	4.39±0.56; 5.00 (0.00-11.00)	4.00±1.07; 4.00 (0.00-8.00)	0.847
Dfs indeksi	9.45±1.49; 8.00 (0.00-28.00)	6.38±2.32; 5.50 (0.00-17.00)	0.345
DMFT indeksi	2.45±0.31; 3.00 (0.00-5.00)	2.25±0.73; 2.50 (0.00-5.00)	0.815
DMFS indeksi	3.32±0.58; 3.00 (0.00-12.00)	3.63±1.67; 2.50 (0.00-14.00)	0.831
GY	2360.45±119.23; 2306.50 (911.00-3272.00)	3135.20±433.27; 2964.00 (2444.00-4802.00)	0.065*

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi. n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YK: Yağ kütlesi, dft indeksi; dt: çürük süt dişi sayısı, ft: dolgulu süt dişi sayısı, dfs indeksi; ds: çürük süt dişi yüzey sayısı, fs: dolgulu süt dişi yüzey sayısı, DMFT indeksi ; DT:Çürük diş sayısı, MT:Kayıp diş sayısı, FT: Dolgulu diş sayısı , DMFS indeksi: DS: Çürük yüzey sayısı, MS: kayıp diş yüzeyi sayısı, FS: dolgulu diş yüzeyi sayısı, GY: Glisemik yük. *p<0.05.

%0 lık sukroz solusyonunu şekeriz algılayan çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkisi Tablo 3.12 de incelenmiş fakat istatistiksel anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 3.12).

Tablo 3.12. %0 lık sukroz solusyonunu şekeriz algılayan çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkisi

TAS1R3 geni rs307355 genotipleri			
	Homozigot yabanıl genotip C/C (n:112)	Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip C/T+T/T (n:23)	p
	Ort±SE; medyan (min-maks)	Ort±SE; medyan (min-maks)	
VKİ (kg/ m²)	17.65±0.27; 17.18 (12.23-25.57)	16.83±0.64; 15.97 (13.51-25.55)	0.118
YK (kg)	7.97±0.39; 7.13(1.87-19.71)	8.48±1.05; 7.86 (1.64-20.29)	0.651
Dft indeksi	3.74±0.32; 3.00 (0.00-14.00)	4.35±0.56; 5.00 (0.00-9.00)	0.255
Dfs indeksi	7.26±0.79; 5.00 (0.00-35.00)	8.35±1.26; 9.00 (0.00-19.00)	0.144
DMFT indeksi	1.76±0.19; 1.00 (0.00-10.00)	1.48±0.31; 1.00 (0.00-4.00)	0.878
DMFS indeksi	2.35±0.38; 1.00 (0.00-32.00)	2.17±0.59;1.00 (0.00-12.00)	0.858
GY	2529.06±109.41; 2512.00 (532.00-5158.00)	2567.88±179.25; 2325.08 (1495.00-3802.00)	0.912

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi.
n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YK: Yağ kütlesi, dft indeksi; dt: çürük süt dişi sayısı, ft: dolgulu süt dişi sayısı, dfs indeksi; ds: çürük süt dişi yüzey sayısı, fs: dolgulu süt dişi yüzey sayısı, DMFT indeksi ; DT:Çürük diş sayısı, MT:Kayıp diş sayısı, FT: Dolgulu diş sayısı , DMFS indeksi: DS: Çürük yüzey sayısı, MS: kayıp diş yüzeyi sayısı, FS: dolgulu diş yüzeyi sayısı, GY: Glisemik yük.

3.1.4. Çalışma grubu 4; %0-%1-%2-%2.8' lik sukroz solüsyonlarını tamamen hatasız ve en az birini hatalı algılayan çocuklar

Hatasız ve hatalı şeker algısına sahip çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıkları Tablo 3.13 de karşılaştırılmış fakat istatistiksel anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip sayıları istatistiksel analize dahil edilemeyecek kadar az olduğundan heterozigot genotipteki çocuklar ile homozigot polimorfik çocuklar bir grup olarak birleştirilmiştir. Hatasız ve hatalı şeker algısına sahip çocuklarda cinsiyetin şeker algısına etkisi saptanmamıştır.

Tablo 3.13. Hatasız ve hatalı şeker algısına sahip çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıklarının karşılaştırılması

	TAS1R3 geni rs307355 genotipleri		p
	Homozigot yabanıl genotip C/C n(%)	Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip C/T+T/T n(%)	
Hatasız şeker algısı	78 (83)	16 (17)	0.766
Hatalı şeker algısı	65 (81.3)	15 (18.8)	

Sonuçlar sayı (%) olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. Çalışma gruplarında gözlemlenen genotip sıklıkları ki-kare (χ^2) testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0.088$.

3.1.5. Çalışma grubu 5; %2.8' lik sukrozun şekerli tadını seven ve sevmeyen çocuklar

Bireylerde şeker tadının sevilmesi ya da sevilmemesi yüksek konsantrasyondaki şeker solüsyonlarında net bir şekilde anlaşılmıştır [125]. Hedonik verilerin belirlenmesinde yoğun şeker tadına sahip olması sebebiyle %2.8 lik sukroz solüsyonu tercih edildi. %2.8 lik sukroz solüsyonunun şekerli tadını seven ve sevmeyen çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin etkisi Tablo 3.14 te verildi. TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin çocuklarda şeker sevmeye ve sevmeme üzerine istatistiksel anlamlı bir etkisi görülmemiştir (Tablo 3.14).

Tablo 3.14. %2.8 lik sukroz solusyonunun şeker tadını seven ve sevmeyen çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 genotip sıklıklarının karşılaştırılması

	TAS1R3 geni rs307355 genotipleri		
	Homozigot yabanıl	Heterozigot ve homozigot	p
	genotip	polimorfik genotip	
	C/C n(%)	C/T+T/T n(%)	
Şeker sevmeye	102 (84.3)	19 (15.7)	0.592
Şeker sevmeme	26 (76.4)	8 (23.6)	

Sonuçlar sayı (%) olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. Çalışma gruplarında gözlemlenen genotip sıklıkları ki-kare (χ^2) testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0.287$

3.1.6. Çalışma grubu 6; Hatasız şeker algısına sahip çocuklarda şekerli tadı seven ve sevmeyen çocuklar

Hatasız şeker algısına sahip çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin hedonik üzerine etkisi Tablo 3.15 te verilmiştir. Hatasız şeker algısına sahip çocuklarda şekerli sevme algısına sahip olanların homozigot yabanıl genotip C/C sıklığı şekerli sevmeme algısına sahip olanlara kıyasla sınırda anlamlı olacak şekilde daha yüksek saptanmıştır (Tablo 3.15).

Tablo 3.15. Hatasız şeker algısına sahip çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin hedonik üzerine etkisi

	TAS1R3 geni rs307355 genotipleri		
	Homozigot yabanıl	Heterozigot ve homozigot	p
	genotip C/C n(%)	polimorfik genotip C/T+T/T n(%)	
Şekerli sevme	61 (87.1)	9 (12.9)	0.064*
Şekerli sevmeme	16 (69.6)	7 (30.4)	

Sonuçlar sayı (%) olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. Çalışma gruplarında gözlemlenen genotip sıklıkları ki-kare (χ^2) testi ile karşılaştırıldı.

3.1.7. Çalışma grubu 7; Hatalı şeker algısına sahip çocuklarda şekerli tadını seven ve sevmeyen çocuklar

Hatalı şeker algısına sahip çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin hedonik üzerine etkisi Tablo 3.16 da gösterilmiştir. Hatalı şeker algısına sahip çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin hedonik üzerine istatistiksel anlamlı bir etkisi görülmemiştir (Tablo 3.16).

Tablo 3.16. Hatalı şeker algısına sahip çocuklarda olan bireylerde TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin hedonik üzerine etkisi

	TAS1R3 geni rs307355 genotipleri		p
	Homozigot yabanıl genotip C/C n(%)	Heterozigot ve homozigot polimorfik genotip C/T+T/T n(%)	
Şekeri sevme	41 (80.4)	10 (19.6)	0.671
Şekeri sevmeme	10 (90.6)	1 (9.1)	

Sonuçlar sayı (%) olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. Çalışma gruplarında belirlenen genotip sıklıkları ki-kare (χ^2) testi ile karşılaştırıldı.

Çalışmaya dahil edilen çocukların tüm konsantrasyonlardaki (%0, %1, %2, %2.8 lik sukroz solüsyonları) hedonik verileri ile şeker algıları Tablo 3.17 te karşılaştırılmıştır. %0 lık sukroz solüsyonu için hatasız ve hatalı algılayan çocukların vermiş olduğu hedonik cevapta hatalı şeker algısına sahip çocukların şekerini seve sıklıkları şekerini sevmeme sıklıklarından istatistiksel anlamlı olacak şekilde yüksek bulunmuştur (Tablo 3.17).

Tablo 3.17. Tüm şeker konsantrasyonları için sevmeme dereceleri ile hatalı ve hatasız şeker algılarının karşılaştırılması

		Sevmedi n(%)	Sevdi n(%)	P
%0 konsantrasyon	Hatasız şeker algısı	43 (50)	43 (50)	0.033*
	Hatalı şeker algısı	19 (31.7)	41 (68.3)	
%1 konsantrasyon	Hatasız şeker algısı	17 (19.3)	71 (80.7)	0.320
	Hatalı şeker algısı	17 (28.3)	43 (71.7)	
%2 konsantrasyon	Hatasız şeker algısı	17 (18.9)	73 (82.3)	0.490
	Hatalı şeker algısı	15 (23.8)	48 (76.2)	
%2.8 konsantrasyon	Hatasız şeker algısı	23 (24.7)	70 (75.3)	0.237
	Hatalı şeker algısı	11 (17.7)	51 (82.3)	

Sonuçlar sayı (%) olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. Farklı konsantrasyonlarda hatasız ve hatalı şeker algıları ile hedonik verileri ki-kare (χ^2) testi karşılaştırıldı.

3.2. Tartışma

Doğal ve yapay bileşenli tatların algısında kişiler arası önemli farklılıklar vardır [42, 126-128]. Tuzlu tadın algı eşiğinde çevresel faktörler, acı tadın yoğunluğunun algılanması [129] ile acı ve ekşi tat algı eşiğinde ise genetik faktörler önemli rol oynamaktadır [130]. TAS1R ve TAS2R gen aileleri tat algılanmasında rol oynayan tat reseptör genlerini taşırlar [3, 131]. TAS1R1, TAS1R2 ve TAS1R3 genleri ise TAS1R ailesinin alt üyelerindendir [7, 8, 10]. TAS1R1-TAS1R2 genleri acı tadın algılanmasında [131], TAS1R-TAS1R3 genleri umamı tadın algılanmasında ve TAS1R2-TAS1R3 genleri ise şekerli tadın algılanmasında rol oynar [6, 67]. Popülasyon içi ve bireyler arası şekerli tadın algılanmasındaki farklılıkların büyük bir oranda genetik faktörlerce belirlendiği bilinmektedir [11, 126, 132, 133]. Popülasyon temelli psikofiziksel metodla yapılan çalışmada şekerli tat algısında TAS1R3 bölgesindeki genetik varyantlarının güçlü etkisinin olduğu ortaya konulmuştur [11]. TAS1R gen ailesinin kodladığı TAS1R2 ve TAS1R3 genleri, transmembran yapıda heterodimerik G protein aracılı reseptör proteinini kodlayarak şekerli tadın algılanmasını sağlamaktadır [67, 143].

Karbonhidrat içeren besinlerin, diş plağında bakteri oluşumunu uyarmasından yola çıkarak şeker kullanımının diş çürüğüne etkilerini araştırılmışlardır [134]. Bu sebeple şeker algısının şeker kullanımını etkileyeceği düşüncesi ortaya çıkmış ve şeker algısında etkili olan genlerin belirlenmesi amacıyla araştırmalar başlamıştır. Özellikle şekerli tat algısında rol oynayan TAS1R2 ve TAS2R genlerinin diş çürüğü oluşumundaki etkilerinin araştırıldığı çalışmalar farklı popülasyonlarda devam etmektedir [16].

3.2.1 TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin diş çürüğü oluşumu üzerine etkileri

Hong L. ve ark. 2-6 yaş aralığındaki 1507 çocuk ile yaptıkları çalışmada diş çürüğü ile obezite arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır [135]. Hong L. ve ark. yaptıkları araştırmada yalnızca 60-72 aylık çocuklarda VKİ' nin diş çürüğünü etkilediğini bildirmekte, ancak yaş, genetik ve beslenme kriterleri de dâhil bırakıldığında mevcut etkinin kaybolduğunu bildirmişlerdir [135]. Çalışmamızda 2 ayrı grup altında değerlendirdiğimiz (süt dişi çürüğü (çalışma grubu 1) ve daimi diş çürüğü (çalışma grubu 2)) diş çürüğü sonuçlarında çocukların demografik özellikleri incelenmiştir. Çalışmamızda süt dişi çürüğü olmayan çocuklarda bel, boy, kilo, kalça, VKİ, YVK, YK

ölçümlerinin Hong L. ve ark.[135] sonuçlarına benzer şekilde süt dişi çürüğü olan bireylere göre daha yüksek bulunması okul çağındaki çocuklarda süt diş çürüğü ile obezite arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca 1.çalışma grubumuzda gruplar arasında süt dişi çürüğü 7' den fazla olan çocukların DMFT ve DMFS değerleri süt dişi çürüğü olmayan çocuklara göre daha fazla bulunmuştur.Elde ettiğimiz bu sonucu, literatürde benzer veri olmaması nedeni ile diğer çalışmalarla karşılaştıramadık.

Eslamipour F. ve ark. 748 örnek ve 3 farklı yaş grubunda (11-14, 14-17 ve17-20) diş çürüğü sıklığını karşılaştırdıklarında yaş ve cinsiyetin DMFT üzerine istatistiksel anlamlı bir etkisi olmadığını görmüşlerdir[136]. Çalışmamızda cinsiyetin daimi diş çürüğü ile ilişkisini incelediğimizde, Eslamipour F. ve ark.ını [136] bulgularının aksine erkeklerde daimi diş çürüğünün kızlara göre daha yüksek olduğu belirlendi ($p=0.05$). Ayrıca yapmış olduğumuz çalışmada daimi diş çürüğü olmayan çocuklarda boy ve YVK ölçümleri daimi diş çürüğü 3 den büyük olan çocuklara kıyasla daha düşük bulunmuştur. Bu da daimi diş çürüğü oluşumuna neden olan etkenlerin çocuk gelişiminde olumsuz yönde etkisi olabileceğini göstermektedir. Yapılan bu çalışma daimi diş çürüğü oluşumuna demografik ve biyokimyasal özelliklerin dışında genetik faktörlerin de rol oynadığını göstermiştir. Daimi diş çürüğü olmayan çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi incelendiğinde, dft değerinin heterozigot+homozigot polimorfik genotipteki çocuklarla homozigot yabancı genotiptekilere kıyasla daha yüksek olması (sınırdan anlamlı, $p=0.060$) TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin süt dişi çürüğünü arttırıcı etkisi olduğunu göstermektedir.

3.2.2 TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin şekerli tadın algılanması üzerine etkileri

Wendell ve ark. [16] bireyler arasında tat tercihini sağlayan genler gibi tat algısında rol alan genlerin diş çürüğünü etkileyebileceği hipotezini öne sürerek tat algısında önemli olan TAS2R38, TAS1R2 ve GNAT3 genleri ile diş çürüğü arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Wendell ve ark. belirli yaş gruplarına ayırdıkları toplam 2449 örnek üzerinde yaptıkları araştırmada; TAS2R38 GGC, GGX ve XGC (X herhangi bir nükleotidi temsil etmektedir) haplotipleri birincil grupta diş çürüğüne karşı koruma

etkili bulunurken CAT ve CAX haplotiplerini ise diş çürüğü için risk faktörü olarak saptamışlardır [81]. TAS1R2-SNP2 C alleli ise aynı araştırmacılar tarafından diş çürüğüne karşı hem koruma hem de risk etkisine sahip olarak belirlenmiştir [16].

TAS1R2 geninin şeker algısı ve diş çürüğü oluşumu üzerine etkilerini araştıran çalışmalar bulunmasına rağmen TAS1R3 geninin diş çürüğü oluşumu üzerine etkilerini saptayan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin okul çağındaki çocuklarda şeker algıları üzerine etkileri araştırılmıştır. Mevcut çalışmada şeker algıları ile çocukların demografik, klinik ve biyokimyasal özellikleri karşılaştırılmış olup aynı zamanda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin şeker algısı üzerindeki etkileri incelenmiştir. %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli algılayan çocukların YK, DMFT ve DMFS değerleri istatistiksel anlamlı olarak şekersiz algılayan çocuklara kıyasla yüksek bulunmuştur. %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli (yanlış) algılayan çocukların daimi diş çürüğünün fazla olması şeker algısının diş çürüğü üzerine önemli etkisi olduğunu göstermektedir.

Fushan A. ve ark. TAS1R3 promotör bölgesindeki cis-act elementlerinin promotör aktivitesinde güçlü susturucu etkisi olduğunu rapor etmiştir [11]. Dünya çapında 1062 birey 52 farklı popülasyonda yapmış oldukları çalışmada Afrika dışında TAS1R3 geni rs307355 yabanıl (C) allelin diğer popülasyonlarda daha yaygın olduğunu göstermiştir [11]. Afrikalılar da ise polimorfik (T) allelinin daha sık olduğu gözlemlenmiştir [11]. Bizim çalışmamızda ise TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin genotip sıklıkları Avrupa toplumuna benzer şekilde dağılım göstermektedir. Fushan A. ve ark. yapmış oldukları çalışmada farklı popülasyonlardaki bireylere farklı konsantrasyonlardaki sukroz solüsyonları tattırarak bireylerin şekerli tadı algılama seviyelerini ölçmüşler ve elde ettikleri sonuçları genotip dağılımları ile karşılaştırdıklarında T allelinin şekerli tadı algılamaya karşı hassasiyeti azalttığını tespit etmişlerdir [11]. Çalışmamızda %0 lık sukroz solüsyonuna şekerli diyen çocukların homozigot yabanıl (C/C) genotip sıklıkları (%79.5) heterozigot+homozigot polimorfik (C/T+T/T) genotip sıklıklarından (%20.5) fazla tespit edilmiştir ($p>0.05$). %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli algılayan bireylerde homozigot yabanıl genotip (C/C) sıklığının fazla olması sonucu C allelinin şeker algısını azaltıcı yönde etkisi olduğu söylenebilir. %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli algılayan çocuklarda TAS1R3 geni rs307355

polimorfizminin demografik, klinik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkisi araştırılmış ve homozigot yabancı genotipe sahip çocukların glisemik yük değeri heterozigot+homozigot polimorfik genotipe sahip çocukların glisemik yüklerine kıyasla daha düşük saptanmıştır. Glisemik yük değerinin, %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli (yanlış) algılayan çocuklarda polimorfik allele (T) sıklığının fazla olması TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin beslenme alışkanlıkları üzerine etkisinin varlığını göstermektedir. Literatürde yer alan çalışmalarda TAS1R3 geninin beslenme alışkanlıkları üzerine etkisi araştırılmamıştır.

3.2.3. TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin hedonik üzerine etkisi

Treesukosol Y. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada TAS1R2 ve TAS1R3 proteinlerinin oluşturduğu heterodimerik yapının şeker hissinin algılanması üzerine ilişkisi incelenmiş ve bireye özgü şeker sevmeye algısının (hedonik) TAS1R2-R3 proteinleri ile belirlendiğini bulunmuştur [13]. Populasyonlarda hatta bireylerde şeker sevmeye göre besin seçimini ya çok şekerli bir gıda ya da şekersiz bir gıda tercihi olmaktadır. Örneğin; Afro-Amerikalılar daha yoğun konsantrasyonda şeker içeren gıdaları tercih ederken Pima Hintleri daha düşük konsantrasyondaki şekerli gıdaları tercih etmektedir [137-142].

Manella JA. ve ark. çocuklar ve anneleri ile yaptıkları çalışmada bireylere şekerli puding, yağlı puding ve şekerli su tattırılmış ve çocukların annelerine göre az yağlı fakat daha şekerli puding tercih ettiğini saptamıştır [125]. Manella JA. ve ark. çalışmalarında çocuklardaki bu tercihin VKİ, yaş ve TAS1R3 geni rs35744813 polimorfizmi ile ilişkisinin olmadığını tespit etmişlerdir [125]. Bununla birlikte annelerde şekerli suyun daha fazla tercih edildiği görülmüş ve genotip dağılımının şeker sevmeye üzerine etkisine bakıldığında, annelerde polimorfik allele sıklığının fazla olduğu ve T allelinin şeker terciğini arttırıcı etkisinden dolayı annelerde VKİ ile TAS1R3 geni rs35744813 polimorfizminin ilişkili olduğu bulunmuştur [103]. Fushan A. ve ark. TAS1R3 gen lokusu içerisinde yer alan rs307355 (-1572 C/T) ve rs35744813 (-1266 C/T) polimorfizmlerinin azalmış sukroz algısı ile kuvvetli korelasyon gösterdiği belirlemişlerdir [11]. Çalışmamızda hatasız şeker algısına sahip çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin C/C yabancı genotip sıklığı C/T+T/T polimorfik allele içeren genotip sıklığına kıyasla daha yüksek bulunması (sınırdan anlamlılık, p=0.06)

hatasız şeker algısına sahip çocukların şekeri sevme hislerinin daha fazla olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda tüm şeker konsantrasyonları (%0-%1-%2-%2.8) için hedonik verileri hatasız ve hatalı şeker algısına sahip çocuklarda karşılaştırılmıştır. %0 lık sukroz solüsyonunu hatalı ve hatasız algılayan çocukların hedonik verileri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.03$). %0 lık sukroz solüsyonunu hatalı algılayan bireylerde şekeri seven çocukların sayısının şekeri sevmeyenlerden yüksek olması, şeker algısındaki hatanın şeker tadını sevmeyi arttırıcı yönde etkilediğini belirtmektedir. Elde ettiğimiz bu sonuç hatalı şeker algısının çocuklarda obezite verilerini (VKİ, YK, YVK, bel çevresi, kilo) ve diş çürüğünü arttırıcı yönde etkileyebileceğini göstermiştir.

4. SONUÇ

Bu tez çalışmasında TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin okul çağındaki çocuklarda diş çürüğü, şekerli tat algısı, şekerli tadı sevme, demografik özellikler üzerine etkileri araştırılmıştır. Literatür taramalarında TAS1R3 geninin diş çürüğü üzerine etkilerini inceleyen başka bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda süt dişi çürüğü olmayan çocuklarda bel, boy, kilo, kalça, VKİ, YVK, YK ölçümlerinin süt dişi çürüğü 7 den fazla olanlara kıyasla daha yüksek bulunması, okul çağındaki çocuklarda süt dişi çürüğü ile obezite arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Literatürde cinsiyet ile daimi diş çürüğü arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken [136] bizim çalışmamızda erkeklerde daimi diş çürüğünün kızlara kıyasla daha fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca bu tez çalışmasında daimi diş çürüğü olmayan çocukların boy ve YVK ölçümlerinin daimi diş çürüğü 3 ten fazla olanlara kıyasla daha az bulunması, daimi diş çürüğünün çocuk gelişimini olumsuz yönde etkileyebileceği düşüncesini doğurmaktadır. TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin daimi diş çürüğü olmayan çocuklarda polimorfik allel (T) taşıyanların homozigot yabanılara kıyasla daha yüksek dft değerlerine sahip olması, TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin süt dişi çürüğünü arttırıcı etkisi olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda şeker algısının tespiti için çocuklara 4 farklı konsantrasyonda (%0-%1-%2-%2.8) solüsyon tattırılmıştır. %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli algılayan çocukların YK, DMFT ve DMFS değerlerinin şekersiz algılayan çocuklara kıyasla daha yüksek bulunması şeker algısı yanlış olan çocuklarda daimi diş çürüğü sıklığının fazla

olabileceğini göstermektedir. Fushan A. ve ark. nın yaptıkları çalışma ile TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinde polimorfik (T) allelin şeker algısını düşürdüğü tespit edilmiştir [11]. Bizim çalışmamızda ise %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli (yanlış) algılayan çocukların homozigot yabanıl (C/C) genotipinin heterozigot+homozigot polimorfik (C/T+T/T) genotiplere kıyasla fazla olması C allelinin şeker algısını azaltıcı etkisi olduğunu düşündürmektedir. %0 lık sukroz solüsyonunu şekerli algılayan çocukların glisemik yüklerinin heterozigot+homozigot polimorfik genotiplerde homozigot yabanıl genotipe göre daha yüksek bulunması TAS1R3 geni rs307355 genotiplerinin okul çağındaki çocukların beslenme alışkanlıkları üzerine etkisinin varlığını göstermektedir. Literatürde TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin beslenme alışkanlıkları üzerine etkisi araştırılmamıştır.

Çalışmamızda şeker algısının şeker sevmeye üzerine (hedonik) etkisi araştırıldığında, hatalı şeker algısına sahip çocuklarda %0 lık sukroz solüsyonunun şekerli tadını sevenlerin sevmeyenlere kıyasla daha fazla bulunması hatalı şeker algısının şeker tadını sevmeyi arttırıcı yönde etkilediğini göstermektedir. Elde edilen bu sonuç ile hatalı şeker algısının okul çağındaki çocuklarda obezite verilerini (VKİ, YK, YVK, bel çevresi, kilo) ve diş çürüğünü arttırıcı yönde etkileyebileceğini gösterilmiştir.

Bilgilendirme:

FEN-C-YLP-141112-0338 proje numaralı “Okul çağındaki çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin diş çürüğü ve şekerli tat hissinin algılanması ile ilişkisinin araştırılması” başlıklı tez Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırmaları Projeleri Destekleme Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

09.2012.0064 protokol nolu “Okul çağındaki çocuklarda TAS1R3 geni rs307355 polimorfizminin diş çürüğü ve şekerli tat hissinin algılanması ile ilişkisinin araştırılması” isimli projemiz “Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma Etik Kurulu” tarafından incelenerek B.30.2.MAR.0.01.02/AEK/120138818 sayıyla 06.07.2012 tarihinde etik kurul onayı almıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Bae, J.W., Lee, H.J., Oh, S.K., Kim, S.Y., Kim, U.K.. (2010) Genetic Variation of Umami Taste Genes in Koreans. *Genes and Genomics*, 32, 111-113.
- [2] Dotson, C.D., Shaw, H.L., Mitchell, B.D., Munger, S.D., Steinle, N.I. (2009) Variation in the gene TAS2R38 is associated with the eating behavior disinhibition in Old Order Amish women. *Elsevier*, 54, 93-99.
- [3] Kim, U.K., Wooding, S., Riaz, N., Jorde, L.B., Drayna, D. (2006) Variation in the human TAS1R taste receptor genes. *Advance Access publications*, 31, 599-611.
- [4] Li, X., Staszewski, L., Xu, H., Durick, K., Zoller, M., Adler, E. (2002) Human receptors for sweet and umami taste. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 4692–4696.
- [5] Sainz, E., Cavenagh, M.M., LopezJimenez, N.D., Gutierrez, J.C., Battey, J.F., Northup, J.K., Sullivan, S.L.(2007). The G-protein coupling properties of the human sweet and amino acid taste receptors. *Developmental Neurobiology*, 67, 948–959.
- [6] Zhao, G.Q., Zhang, Y., Hoon, M.A., Chandrashekar, J., Erlenbach, I., Ryba, N.J., and Zuker, C.S. (2003) The receptors for mammalian sweet and umami taste. *Cell*, 115, 255–266.
- [7] Bachmanov, A.A., Li, X., Reed, D.R., Ohmen, J.D., Li, S., Chen, Z., Tordoff, M.G., de Jong, P.J., Wu, C., West, D.B., Chatterjee A, Ross DA, Beauchamp GK. (2001) Positional cloning of the mouse saccharin preference (Sac) locus. *Chemical Senses*, 26, 925–933.
- [8] Max, M., Shanker, Y.G., Huang, L., Rong, M., Liu, Z., Campagne, F., Weinstein, H., Damak, S., and Margolskee, R.F. (2001) Tas1r3, encoding a new candidate taste receptor, is allelic to the sweet responsiveness locus Sac. *Nature Genetics*, 28, 58–63.
- [9] Montmayeur, J.P., Liberles, S.D., Matsunami, H., and Buck, L.B. (2001) A candidate taste receptor gene near a sweet taste locus. *Nature Neuroscience*, 4: 492–498.
- [10] Kitagawa, M., Kusakabe, Y., Miura, H., Ninomiya, Y., Hino, A. (2001). Molecular genetic identification of a candidate receptor gene for sweet taste. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 283, 236–242.
- [11] Fushan, A.A., Simons, C.T., Slack, J.P., Manichaikul, A., Drayna, D. (2009) Allelic Polymorphism within the TAS1R3 Promoter Is Associated with Human Taste Sensitivity to Sucrose. *Current Biology*, 19, 1288–1293.
- [12] Reed, D. R., Tanaka, T., McDaniel, A.H. (2006) Diverse tastes: Genetics of sweet and bitter perception. *Physiology & Behavior*, 88, 215–226

- [13] Treesukosol, Y., Smith, K.R., Spector, A.C. (2011) Behavioral evidence for a glucose polymer taste receptor that is independent of the T1R2+3 heterodimer in a mouse model. *The Journal of Neuroscience*, 21, 31 (38), 13527-34
- [14] Anderson, M. (2002) Risk assessment and epidemiology of dental caries: review of the literature. *Pediatric Dentistry*, 24, 377-385.
- [15] Thai, P.K., Tan, E.C., Tan, W.L., Tey, T.H., Kaur, H., Say, Y.H. (2011) Sweetness intensity perception and pleasantness ratings of sucrose, aspartame solutions and cola among multi-ethnic Malaysian subjects. *Food Quality and Preference*, 22, 281–289.
- [16] Wendell, S., Wang, X., Brown, M., Cooper, M.E., DeSensi, R.S., Weyant, R.J., Crout, R., McNeil, D.W., Marazita, M.L. (2010 Nov) Taste genes associated with dental caries. *Journal of Dental Research*. 89 (11), 1198-202. Epub 2010 Sep 21.
- [17] Bretz, W.A., Corby, P.M., Melo, M.R., Coelho, M.Q., Costa, S.M., Robinson, M., Schork, N.J., Drewnowski, A., Hart, T.C. (2006). Heritability estimates for dental caries and sucrose sweetness preference. *Archives of Oral Biology*, 51, 1156-1160.
- [18] Boraas, J.C., Messer, L.B., Till, M.J. (1988 Sep.) A genetic contribution to dental caries, occlusion, and morphology as demonstrated by twins reared apart. *Journal of Dental Research*, 67 (9), 1150-5.
- [19] Bretz, W.A., Corby, P.M., Schork, N.J., Robinson, M.T., Coelho, M., Costa, S., Melo Filho, M.R., Weyant R.J., Hart T.C. (2005 Nov) Longitudinal analysis of heritability for dental caries traits. *Journal of Dental Research*, 84 (11), 1047-51.
- [20] Conry, J.P., Messer, L.B., Boraas, J.C., Aepli, D.P., Bouchard, T.J. Jr. (1993). Dental caries and treatment characteristics in human twins reared apart. *Archives of Oral Biology*, 38, 937-943.
- [21] Nariyama, M., Shimizu, K., Uematsu, T., Maeda, T. (2004). Identification of chromosomes associated with dental caries susceptibility using quantitative trait locus analysis in mice. *Caries Research*, 38, 79-84.
- [22] Pasquet, P., Oberti, B., El-Ali, J. ve Hladik, C.M. (2002) Relationships between threshold-based prop sensitivity and food preferences of Tunisians. *Appetite*, 39, 167-173.
- [23] Deeley, K., Letra, A., Rose, E.K., Brandon, C.A., Resick J.M., Marazita M.L, Vieira AR. (2008) Possible association of amelogenin to high caries experience in a Guatemalan-Mayan population. *Caries Research*, 42, 8-13.
- [24] Slayton, R.L., Cooper, M.E., Marazita, M.L. (2005) Tuftelin, mutans streptococci, and dental caries susceptibility. *Journal of Dental Research*, 84, 711-714.

- [25] Moore, W.J. (1983 Sep) The role of sugar in the aetiology of dental caries. 1. Sugar and the antiquity of dental caries. *Journal of Dentistry*, 11 (3), 189-90.
- [26] Sheiham, A. (2001 Apr) Dietary effects on dental diseases. *Public Health Nutrition*, 4(2B), 569-91.
- [27] Bratthall, D., Petersen, P.E., Stjernswärd J.R., Brown, L. J.. *Disease Control Priorities in Developing Countries*. 2nd edition. Jamison DT, Breman JG, Measham AR, et al., editors. Washington (DC): World Bank; 2006. Oral and Craniofacial Diseases and Disorders Chapter 38 Bookshelf ID: NBK11725
- [28] Fukunaga, A., Uematsu, H., and Sugimoto, K. (2005). Influences of aging on taste perception and oral somatic sensation. *The Journals of Gerontology*. 60, 109– 113.
- [29] Stevens, J.C., and Cain, W.S. (1993). Changes in taste and flavor in aging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33, 27–37.
- [30] Nakamura, Y., Sanematsu, K., Ohta, R., Shirosaki, S., Koyano, K., Nonaka, K., Shigemura, N., and Ninomiya, Y. (2008). Diurnal variation of human sweet taste recognition thresholds is correlated with plasma leptin levels. *Diabetes*, 57, 2661–2665.
- [31] Rodin, J. (1985). Insulin levels, hunger, and food intake: an example of feedback loops in body weight regulation. *Health Psychology*, 4, 1–24.
- [32] Keskitalo, K., Silventoinen, K., Tuorila, H., Perola, M., Pietilainen, K.H., Rissanen, A., and Kaprio, J. (2008) Genetic and environmental contributions to food use patterns of young adult twins. *Physiology & Behavior*, 93, 235–242.
- [33] Miller, I.J., Jr., Reedy, F.E. ,Jr. (1990) Variations in human taste bud density and taste intensity perception. *Physiology & Behavior*, 47, 1213–1219.
- [34] Kramer, H., Wu, X., Kan, D., Luke, A., Zhu, X., Adeyemo, A., McKenzie C, Cooper R. (2005) Angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms and obesity: an examination of three black populations. *Obesity Research*, 13, 823–828.
- [35] Hamada, T., Kotani, K., Nagai, N., Tsuzaki, K., Sano, Y., Matsuoka, Y., Fujibayashi M, Kiyohara, N, Tanaka, S, Yoshimura, M, Egawa, K, Kitagawa Y, Kiso, Y, Moritani, T, Sakane, N. (2011) Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and obesity-related metabolic changes in response to low- energy diets in women. *Nutrition*, 27(1), 34-9.
- [36] Seidell, J.C.; Deurenberg, P.; Hatvast, J.G.A.J. (1987) Obesity and fat distribution, in relation to health. Current insights and recommendations. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 50, 57-91.

- [37] Hume, R. (1966) Prediction of lean body mass from height and weight. *Journal of Clinical Pathology*, 19, 389-395
- [38] MİİŞOĞLU, D., HAYOĞLU, İ. (2005) *HR.Ü.Z.F.Dergisi*, 9 (2), 29-35 1995.
- [39] Mainland, J.D., Matsunami, H. (2009) Taste perception: how sweet it is (to be transcribed by you). *Current Biology*, 11, 19 (15): R655-6. doi: 10.1016/j.cub.2009.06.050.
- [40] Bufe, B., Breslin, P.A., Kuhn, C., Reed, D.R., Tharp, C.D., Slack, J.P., Kim, U.K., Drayna, D., Meyerhof, W. (2005) The molecular basis of individual differences in phenylthiocarbamide and propylthiouracil bitterness perception. *Current Biology*, 15:322–327.
- [41] Sandell, M.A., Breslin, P.A. (2006) Variability in a taste-receptor gene determines whether we taste toxins in food. *Current Biology*; 16: R792–794.
- [42] Kim, U.K., Jorgenson, E., Coon, H., Leppert, M., Risch, N., Drayna, D. (2003) Positional cloning of the human quantitative trait locus underlying taste sensitivity to phenylthiocarbamide. *Science*; 299:1221– 1225.
- [43] Chandrashekar, J., Hoon, M.A., Ryba, N.J., Zuker, C.S. (2006) The receptors and cells for mammalian taste. *Nature*, 444: 288–294.
- [44] Bachmanov, A.A., Beauchamp, G.K. (2007) Taste receptor genes. *Annual Review of Nutrition*, 27, 389–414.
- [45] Li, X., Li, W., Wang, H., Cao, J., Maehashi, K., Huang, L., Bachmanov, A.A., Reed, D.R., Legrand-Defretin, V., Beauchamp, G.K., Brand, JG. (2005) Pseudogenization of a sweet-receptor gene accounts for cats' indifference toward sugar. *PLOS Genetics*, 1:27–35.
- [46] Ikeda K. (1908) Japanese patent, 4805..
- [47] Ikeda K. (1909) On a new seasoning. *J Tokyo Chem Soc*, 30, 820–36.
- [48] Yamaguchi, S. (1991) Basic properties of umami and effects on humans. *Physiology & Behavior*, 49, 833–41.
- [49] Halpern, BP. (2000) Glutamate and the flavor of foods. *Journal of Nutrition*, 130, 910S–4S.
- [50] Chaudhari, N., Landin, A.M., Roper, S.D. (2000) A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor. *Nature Neuroscience*, 3, 113–9.
- [51] Kuninaka, A. (1981) Taste and flavor enhancers. New York, NY: Marcel Dekker,.
- [52] Ohara, I., Tanaka, Y., Otsuka, S.I. (1979) Discrimination of monosodium glutamate and sodium chloride solutions by rats. *Physiology & Behavior*, 22, 877–82.

- [53] Kawamura, Y., Kare, M.R., eds. (1987) Umami: a basic taste. New York, NY: Marcel Dekker.
- [54] Ninomiya, Y., Funakoshi, M. (1989) Behavioral discrimination between glutamate and the four basic taste substances in mice. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 92, 365–70.
- [55] Baylis, L.L., Rolls, E.T. (1991) Responses of neurons in the primate taste cortex to glutamate. *Physiology & Behavior*, 49, 973–9.
- [56] Kawamura, Y., Kurihara, K., Nicolaidis, S., Oomura, Y., Wayner, M.J. (1991) Umami: proceedings of the Second International Symposium on Umami. *Physiology & Behavior*, 49, 833–1030.
- [57] Rolls, E.T., Critchley, H.D., Wakeman, E.A., Mason, R. (1996) Responses of neurons in the primate taste cortex to the glutamate ion and to inosine 5'-monophosphate. *Physiology & Behavior*, 59, 991–1000.
- [58] Yamaguchi, S. (1998) Umami: a special issue. *Food Reviews International*, 14, 123–337.
- [59] Yamamoto, T., Yuyama, N., Kato, T., Kawamura, Y. (1985) Gustatory responses of cortical neurons in rats. III. Neural and behavioral measures compared. *Journal of Neurophysiology*, 53, 1370–86.
- [60] Yamamoto, T., Matsuo, R., Fujimoto, Y., Fukunaga, I., Miyasaka, A., Imoto, T. (1991) Electrophysiological and behavioral studies on the taste of umami substances in the rat. *Physiology & Behavior*, 49, 919–25.
- [61] Stapleton, J.R., Roper, S.D., Delay, E.R. (1999) The taste of monosodium glutamate (MSG), L-aspartic acid, and N-methyl-D-aspartate (NMDA) in rats: are NMDA receptors involved in MSG taste? *Chemical Senses*, 24, 449–57.
- [62] Heyer, B.R., Taylor-Burds, C.C., Tran, L.H., Delay, E.R. (2003) Monosodium glutamate and sweet taste: generalization of conditioned taste aversion between glutamate and sweet stimuli in rats. *Chemical Senses*, 28, 631–41.
- [63] Faurion, A. (1991) Are umami taste receptor sites structurally related to glutamate CNS receptor sites? *Physiology & Behavior*, 49, 905–12.
- [64] Brand, J.G., Teeter, J.H., Kumazawa, T., Huque, T., Bayley, D.L. (1991) Transduction mechanisms for the taste of amino acids. *Physiology & Behavior*, 49, 899–904.
- [65] Lin, W., Kinnamon, S.C. (1999) Physiological evidence for ionotropic and metabotropic glutamate receptors in rat taste cells. *Journal of Neurophysiology*, 82, 2061–9.

- [66] Chaudhari, N., Yang, H., Lamp, C., Delay, E., Cartford, C., Than, T., Roper, S. (1996) The taste of monosodium glutamate: membrane receptors in taste buds. *The Journal of Neuroscience*, 16, 3817–26.
- [67] Li, X., Staszewski, L., Xu, H., Durick, K., Zoller, M., Adler, E. (2002) Human receptors for sweet and umami taste. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 99: 4692–6.
- [68] Nelson, G., Chandrashekar, J., Hoon, M.A., Feng, L., Zhao, G., Ryba, N.J., Zuker, C.S. (2002) An amino acid taste receptor. *Nature*, 416, 199–202.
- [69] Dulac, C. (2000) The physiology of taste, vintage 2000. *Cell*, Mar 17, 100(6), 607–10.
- [70] Keskitalo, K., Tuorila, H., Spector, T.D., Cherkas, L.F., Knaapila, A., Silventoinen, K., Perola, M. (2007) Same genetic components underlie different measures of sweet taste preference. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Dec, 86(6), 1663–9.
- [71] Guinard J.X. (2001). Sensory and consumer testing with children. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 273–283
- [72] Nelson, G., Hoon, M.A., Chandrashekar, J., Zhang, Y., Ryba, N.J., Zuker, C.S. (2001) Mammalian sweet taste receptors. *Cell*, 106, 381–390.
- [73] Hoon, M.A., Adler, E., Lindemeier, J., Battey, J.F., Ryba, N.J.P, Zuker C.S. (1999) Putative mammalian taste receptors: a class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. *Cell*, 96, 541–51.
- [74] Sainz, E., Korley, J.N., Battey, J.F., Sullivan, S.L. (2001) Identification of a novel member of the T1R family of putative taste receptors. *Journal of Neurochemistry*, 77, 896–903.
- [75] Xu, H., Staszewski, L., Tang, H., Adler, E., Zoller, M., Li, X. (2004) Different functional roles of T1R subunits in the heteromeric taste receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 101, 14258–63.
- [76] Damak, S., Rong, M., Yasumatsu, K., Kokrashvili, Z., Varadarajan, V., Zou, S., Jiang, P., Ninomiya, Y., Margolskee, R.F. (2003) Detection of sweet and umami taste in the absence of taste receptor T1r3. *Science*, 301, 850–853.
- [77] Zhao, G.Q., Zhang, Y., Hoon, M.A., Chandrashekar, J., Erlenbach, I., Ryba, N.J., Zuker, C.S. (2003) The receptors for mammalian sweet and umami taste. *Cell*, 115, 255–266.
- [78] Nowlis, G.H., Frank, M.E., Pfaffman, C. (1980) Specificity of acquired aversions to taste qualities in hamsters and rats. *Journal of Comparative Physiology*, 94, 932–42.
- [79] Sclafani, A., Bahrani, M., Zukerman, S., Ackroff, K. (2010) Stevia and saccharin preferences in rats and mice. *Chemical Senses*, 35, 433–43.

- [80]** Schiffman, SS. (2000) Taste quality and neural coding: implications from psychophysics and neurophysiology. *Physiology & Behavior*, 69.
- [81]** Kiuchi, S., Yamada, T., Kiyokawa, N., Saito, T., Fujimoto, J., Yasue, H. (2006) Genomic structure of swine taste receptor family 1 member 3, TAS1R3, and its expression in tissues. *Cytogenetic and Genome Research*, 115, 51–61.
- [82]** Moran, A.W., Al-Rammahi, A., Arora, D.K., Batchelor, D.J., Coulter, E.A., Daly, K., Ionescu, C., Bravo, D., Shirazi-Beechey, SP. (2010) Expression of Na⁺/glucose co-transporter 1 (SGLT1) is enhanced by supplementation of the diet of weaning piglets with artificial sweeteners. *British Journal of Nutrition*, 104, 637–46.
- [83]** Taniguchi, K. (2004) Expression of the sweet receptor protein, T1R3, in the human liver and pancreas. *Journal of Veterinary Medical Science*, 66, 1311–4.
- [84]** Ohmoto, M., Matsumoto, I., Yasuoka, A., Yoshihara, Y., Abe, K. (2008) Genetic tracing of the gustatory and trigeminal neural pathways originating from T1R3-expressing taste receptor cells and solitary chemoreceptor cells. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 38, 505–17.
- [85]** Zhao, G.Q., Zhang, Y., Hoon, M.A., Chandrashekar, J., Erlenbach, I., Ryba, N.J., Zuker, C.S. (2003) The receptors for mammalian sweet and umami taste. *Cell*, 115:255–66.
- [86]** Treesukosol, Y., Smith, K.R., Spector, A.C. (2011) The functional role of the T1R family of receptors in sweet taste and feeding. *Physiology & Behavior*, Nov 30;105 (1) : 14-26. Epub 2011 Mar 2.
- [87]** <http://genecards.qfab.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TAS1R3&search=TAS1R3&suff=txt>
- [88]** Burton H.; Stewart A. (2005). “Nutrigenomics”, Report of a workshop hosted by The Nuffield Trust and organized by the Public Health Genetics Unit on 5 February 2004, London, The Nuffield Trust, 1-26
- [89]** Cosgrave, C.S. (2005) *Survival of the Fattest: The Key to Human Brain Evolution*. RiverEdge, NJ, USA. World Publishing Company 281-284.
- [90]** Chavez, A., de Chavez, MM. (2003) Nutrigenomics in public health nutrition: short-term Perspectives. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57 97-100.
- [91]** Alberts, B., Bray, D., Lewis, J. (1994). *Molecular Biology of the Cell*. 3. Ed,
- [92]** William, S.K., Michael, R.C. , (2003). *Genetik*. Palme Yayıncılık, Ankara
- [93]** Ma, H., Shieh, K.J., Chen, G., Qiao, XT., Chuang M.Y. (2006). Application of Real-time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), *The Journal of American Science*, 2

- [94] Kubista, M., Andrade, J.M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., Sindelka R, Sjöback R, Sjögreen B, Strömbom L, Ståhlberg A, Zoric N. (2006) The real-time polymerase chain reaction. *Molecular Aspects of Medicine*, 27 95-125.
- [95] [Günel, T. (2007) “Gen Anlatımının Kantitatif Analizi 'Real-Time PCR’”, *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 27 763-767.
- [96] Dorak, M.T. (2006) Real-time PCR, School of Clinical Medical Sciences (Child Health) Newcastle University, Newcastle-upon-Tyne, UK. ISBN 0-203-96731-3 Master e-book ISBN, 39-62.
- [97] Kellin, D. (2002) “Quantification using real-time PCR technology: applications and limitations”, *Trends in Molecular Medicine*, 8 257-260.
- [98] Wong, M.L., Mediano, J.F. (2005) Real-Time PCR for mRNA Quantitation. *Biotechniques*, 39 75-85.
- [99] Valasek, M. A., and Repa1, Joyce J. (2005) The power of real-time PCR, *Advances in Physiology Education*, 29 151-159.
- [100] Levin, R.E. (2004) The Application of Real-Time PCR to Food and Agricultural Systems. *Food Biotechnology*, 18 97-133.
- [101] Hofmann, K. (1987) Fundamental problems in identifying the animal species of muscle meat using electrophoretic methods. *Fleishwirts*, 67 820-826.
- [102] Van der Velden, V.H., Hochhaus, A., Cazzaniga, G., Szczepanski, T., Gabert, J., van Dongen, J.J. (2003) Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: Principles, approaches, and laboratory aspects”, *Leukemia*, 17 1013-1034.
- [103] Kubista, M. (2008) Emerging Real-Time PCR Applications. *Molecular Biology*, 57-66.
- [104] Wolf, C.; Lüthy, J. (2001) Quantitative competitive (QC) PCR for quantification of porcine DNA, *Meat Science*, 57, 161-168.
- [105] Cacherill, FR.; Uhl, J.R. (2001) Applications and challenges of Real-Time PCR for the Clinical Microbiology Laboratory”, *Rapid Cycle Real-Time PCR. Methods and Applications*, 1st Edition.; Reischl, U.; Wittwer, C.; Cockerill, FR.; eds., Heidelberg, Germany, 11.
- [106] Gut, M., Leutenegger, C.M., Huder, J.B., Pedersen, N.C., Lutz, H. (1999) One-tube fluorogenic reverse transcription-polymerase chain reaction for the quantitation of feline coronaviruses, *Journal of Virol Methods.*, 77 37-46.

- [107] Bustin, S.A. (2000) Absolute quantification of mRNA using realtime reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of Molecular Endocrinology*, 25 69-193.
- [108] Tyagi, S., Kramer, FR. (1996) Molecular beacons: Probes that fluoresce upon hybridization. *Nature Biotechnology*, 14 303-308.
- [109] Kubista, M.; Stalberg, A.; Bar, T. (2001) Light-up probe based real-time Q-PCR, *Genomics and Proteomics Technologies*, In: Raghavachari, R.; Tan, W.; eds.. 1st ed. Proceedings of SPIE; 53-58.
- [110] Chaplin, B.E., Rasmussen, R.P., Bernard, P.S., Wittwer, C.T. (1999) LightCyclerTM hybridization probes the most direct way to monitor PCR amplification and mutation detection. *Biochemica*, 1 5-8.
- [111] Wittwer, C.T., Herrmann, M.G., Moss, A.A., Rasmussen, R.P. (1997) Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification, *Biotechniques*, 22, 130-131, 134-138.
- [112] Loveless B.M., Yermakova A., Christensen D.R., Kondig J.P., Heine III H.S., Wasieloski L.P., Kulesh D.A. (2010) Identification of ciprofloxacin resistance by SimpleProbeTM, High Resolution Melt and PyrosequencingTM nucleic acid analysis in biothreat agents: *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis* and *Francisella tularensis*, *Molecular and Cellular Probes*, 24 154-160.
- [113] Drury TF, Horowitz AM, Ismail AI, Maertens MP, Rozier RG, Selwitz RH. (1999) Diagnosing and reporting early childhood caries for research purposes.report of workshop sponsored by theNational Institute of Dental and Craniofacial Research, the Health Resources and Services Administration, and the Health Care Financing Administration. *Journal of Theory and Practice of Dental Public Health Summer*, 59(3):192-7.
- [114] <http://www.soystache.com/foodtable.htm>
<http://www.nutrinote.com/nutritionaltable.html>
<http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/label-etiquet/nutrition/index-eng.php>
- [115] Hume, R. (1966) Prediction of lean body mass from height and weight. *Journal of Clinical Pathology*, 19, 389-395
- [116] Foster-Powell, K., Holt, S.H.A., Brand-Miller, J.C. International table of glycemic index and glycemic load. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76, (2002) 5-56.
- [117] www.roche-applied-science.com

- [118] Heptinstall, J. Rapley, R. (2002) Spectrophotometric analysis of nucleic acids. The Nucleic Acid Protocols Handbook, 57–60.
- [119] Koban, E. (2007). Tübitak Türkhaygen-1 Projesi Tür ve Irkların DNA işaretleri ile Moleküler Tanımlanması Çalışma Paketi.
- [120] Ayaz, Y. (2004) Isı İşlem Görmüş Et ve Et Ürünlerinde Tür Ayırımı. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 9, 183-185.
- [121] Chou, Q., Russell, M.; Birch, D.E., Raymond, J., Bloch, W. (1992) Prevention of pre-PCR mi-priming and primer dimeriztion improves low-copy-number amplifications, Nukleic Acids Research, 20 1717-1723.
- [122] Kellong D.E., Rybalkin, I., Chen, S., Mukhamedova, N., Vlasik, T., Siebert, P.D., Chenchik, A., (1994) TaqStart Anibody: “hot start” PCR facilitated by a neutralizing monoclonal antibody directed against Taq DNA polymerase, Biotechniques, 16, 1134-1137.
- [123] Birch, D.E. (1996) Simplified hot start PCR, Nature, 381 445-446.
- [124] PCR Manual, Roche Diagnostics, 2nd edition, 2 (1999) 52-58.
- [125] Mennella, J.A., Finkbeiner, S., Reed, D.R. (2012) The proof is in the pudding: children prefer lower fat but higher sugar than do mothers. International Journal of Obesity (Lond). October, 36(10): 1285–1291
- [126] Blakeslee, A., Salmon, T. (1935). Genetics of sensory thresholds: Individual taste reactions for different substances. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 21:84–90.
- [127] Breslin, P.A. (2000). Human gustation. In: Finger TE, Silver WL, Restrepo D, editors. The neurobiology of taste and smell. New York: Wiley-Liss. p. 423–461.
- [128] Chen, Q.Y., Alarcon, S., Tharp, A., Ahmed, O.M., Estrella, N.L., Greene, T.A., Rucker J, Breslin PA. (2009). Perceptual variation in umami taste and polymorphisms in TAS1R taste receptor genes. The American Journal of Clinical Nutrition, 90,770S–779S.
- [129] Hansen, J.L., Reed, D.R., Wright, M.J., Martin, N.G., Breslin, P.A. (2006) Heritability and genetic covariation of sensitivity to PROP, SOA, quinine HCL, and caffeine. Chemical Senses, 31,403–413.
- [130] Wise, P.M., Hansen, J.L., Reed, D.R., Breslin, P.A. (2007) Twin study of the heritability of recognition thresholds for sour and salty taste. Chemical Senses, 32, 749–754.
- [131] Bachmanov AA, Beauchamp GK (2007) Taste receptor genes. Annual Review of Nutrition, 27, 389–414.
- [132] Kahn, S.G. (1951) Taste perception-individual reactions to different substances. Transactions of the Illinois State Academy of Science, 44, 263–269.

- [133] Okoro, E.O, Brisibe, F., Jolayemi, E.T., Hadizath, T.G. (2000) Taste sensitivity to sodium chloride and sucrose in a group of adolescent children in Northern Nigeria. *Ethnicity & Disease*, 10, 53–59.
- [134] Sheiham, A. (1984) Changing trends in dental caries. *International Journal of Epidemiology*, 13, 142-7.
- [135] Hong, L., Ahmed, A., McCunniff, M., Overman, P., Mathew, M. (2008) Obesity and dental caries in children aged 2-6 years in the United States: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Journal of Public Health Dentistry*, Fall;68(4):227-33.
- [136] Eslamipour, F., Borzabadi-Farahani, A., Asgari, I. (2010) The relationship between aging and oral health inequalities assessed by DMFT index. *European Journal of Paediatric Dentistry*, Dec, 11(4), 193-9.
- [137] Beauchamp, G.K., Moran, M. (1982) Dietary experience and sweet taste preference in human infants. *Appetite*, 3 (2), 139-152.
- [138] Desor, J.A., Greene, L.S., Maller, O. (1975) Preferences for sweet and salty in 9- to 15-year-old and adult humans. *Science*, 190(4215):686-687.
- [139] Greene, L.S., Desor, J.A., Maller, O. (1975) Heredity and experience: their relative importance in the development of taste preference in man. *Journal of Comparative & Physiological Psychology*, 89(3), 279-284.
- [140] Liem, D.G., Mennella, (J.A. 2002) Sweet and sour preferences during childhood: role of early experiences. *Developmental Psychobiology*, 41(4), 388-395.
- [141] Salbe, A.D., DelParigi, A., Pratley, R.E., Drewnowski, A., Tataranni, P.A. (2004) Taste preferences and body weight changes in an obesity prone population. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(3), 372-378.
- [142] Schiffman, S.S., Graham, B.G., Sattely-Miller, E.A., Peterson-Dancy, M. (2000) Elevated and sustained desire for sweet taste in African-Americans: a potential factor in the development of obesity. *Nutrition*, 16(10), 886-893.
- [143] Foster, S.R., Porrello, E.R., Purdue, B., Chan, H.W., Voigt, A., Frenzel, S., Hannan, R.D., Moritz, K.M., Simmons, D.G., Molenaar, P., Roura, E., Boehm, U., Meyerhof, W., Thomas, W.G. (2013) Expression, Regulation and Putative Nutrient-Sensing Function of Taste GPCRs in the Heart. *PLoS One*, May 15, 8(5):e64579.
- [144] http://commons.wikimedia.org/wiki/File:SYBR_Green_I_spectra.png
- [145] <http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/14697/title/Quantitative-PCR-Update/>

- [146] Altuğ, T. 1993. *Duyusal Test Teknikleri*. E. Ü. Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayın No:28, I. Baskı, İzmir, 56 sayfa.
- [147] Altuğ, T., Ova, G., Demirağ, K. ve Kurtcan Ü. 1995. *Gıda Kalite Kontrolü*. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, 156 sayfa.

EK 2.1 BESİN TABLOSU
(AYLIK BESİN KULLANIMI)

Hamsi	
Midye	
Lüfer	
Sazan	
Uskumru	
Kefal	
Tekir Balığı	
Karides	
Palamut	
Sardalya	
Levrek	
Alabalık	
Tonbalığı	
Mezgit	
Koyun eti	
Dana kıyma	
Dana büfte	
Tavuk, derisiz	
Hindi, pişmiş	
Karaciğer,koyun	
Sakatat	

Sosis	
Salam	
Jambon	
Pastırma	
Sucuk	
Enginar	
Patlıcan	
Fasulye, <i>yeşil</i>	
Brokoli	
Brüksel lahanası	
Lahana	
Sukabağı	
Havuç	
Karnıbahar	
Kırmızıbiber	
Mısır	
Salatalık	
Sarımsak	
Yeşil Lahana	
Mercimek	
Bezelye	
Bakla	
Nohut	
Fasulye	
Makarna	
Pirinç	
Ekmek, beyaz buğday	
Ekmek, kepek buğday	

Zeytin, <i>siyah</i>	
Zeytin, <i>yeşil</i>	
Bezelye, <i>yeşil</i>	
Biber	
Soğan	
Patates	
Ispanak	
Domates	
Mantar	
Elma	
Kayısı	
Muz	
Yaban Mersini	
Kiraz	
Hurma	
İncir	
Greyfurt	
Tatlı Kavun	
Kivi	
Limon	
Ayva	
Mandalina	
Portakal	
Şeftali	
Armut	
Ananas	
Erik	
Nar	
Çilek	

Karpuz	
Tereyağı, <i>tuzsuz</i>	
Lor Peyniri	
Krema	
Krem Peynir	
Beyaz Peynir	
Tuzsuz Beyaz Peynir	
Yumurta, <i>pişmiş</i>	
Dondurma, <i>Çikolatalı</i>	
Dondurma, <i>Vanilyalı</i>	
İnek Sütü	
Yoğurt	
Mısır Yağı	
Zeytin Yağı	
Ayçiçek Yağı	
Fındık yağı	
İç Yağı	
Margarin	
Tereyağı, <i>tuzsuz</i>	
Tavuk Yağı	
Hindistancevizi Yağı	
Yerfıstığı Yağı	
Hurma Yağı	
Susam Yağı	
Ceviz yağı	
Pamuk yağı	
Keten Tohumu	

Badem	
Ceviz	
Kasu Cevizi (Kaju Fıstığı)	
Kestane	
Hindistancevizi	
Fındık	
Susam Çekirdeği	
Yerfıstığı	
Ayçekirdeği	
Kabak Çekirdeği	
Çamfıstığı	
Fıstık	
Patlamış Mısır	
Patates Cipsi	
Ketçap	
Mayonez	
Turşu	
Salata sosu	

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nur BAKIR

Doğum Yeri ve Tarihi : İskenderun/ 20.01.1989

Yabancı Dili :İngilizce

E-Posta :bakirnur@gmail.com

Öğrenim Durumu

Derece	Bölüm/Program	Üniversite/Lise	Mezuniyet Yılı
Lise	Fen Alanı	İskenderun İstiklal Makzume Anadolu Lisesi	2006
Üniversite	Biyoloji Öğretmenliği	Marmara Üniversitesi	2011

İş Deneyimi

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2008-2010	Marmara Üniversitesi Araştırma Hastanesi	Kısmi zamanlı Laborant
2010	Eğitim Bilimleri Dershanesi	Biyoloji ve Fen Bilgisi öğretmenliği
2012	Defne Eğitim Kurumları	Biyoloji öğretmenliği

Bilimsel Eserler:

1.“Evaluation of bradykinin B2 receptor gene C-58T polymorphism on obesity and related measures,” **Bakır, N.**, Koldemir, M., Bozkuş, H.M., Çağatay, P., Bayer, H., Yıldız, S., Bağrıaçık, N., Süsleyici-Duman, B., Abstract Book, Abstract no 10, 2012. 1st International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey 2012, 23-24.11, Istanbul, Turkey, 2012. (Poster Bildiri)

2. “Relationship of bradykinin B₂ reseptor gene C-58T variation with total-cholesterol and glucose in essential hypertension,” Bozkuş, H.M., Koldemir, M., **Bakır, N.**, Çağatay, P., Bayer, H., Yıldız, S., Bağrıaçık, N., Süsleyici-Duman, B., Abstract Book, Abstract no 16, 2012. 1st International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey 2012, 23-24.11, Istanbul, Turkey, 2012. (Poster Bildiri)
3. “İznik Gölü (Bursa) Tatlı Su Istakozu (*Astacus Leptadactylus* Eschscholtz, 1823) ‘Nun Büyüme Ve Morfometrik Özelliklerinin İncelenmesi” 16. Ulusal biyoloji öğrenci kongresi (tatlı su istakozu morfoloji-poster sunumu) **Bakır, N.**, İğdelioğlu, S., Akkan, E.E. 16.Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi Niğde 2009. (Sözlü Bildiri)
4. “Bradikinin B₂ reseptör geni -58T/C polimorfizminin şişmanlık ile ilişkisi,” **Bakır, N.**, İğdelioğlu, S., Bozkuş, H.M., Peközcan, M., Tüfekçi, G., Savaş, M., Koldemir, M., Çağatay, P., Süsleyici Duman, B., 18. *Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi*, Bildiri Kitabı, s.51, 4-9 Temmuz, İstanbul 2011. (Sözlü bildiri)
5. “Esansiyel hipertansiyonda Bradikinin B₂ reseptör geni -58T/C varyasyonunun önemi,” Bozkuş, H.M., Koldemir, M., İğdelioğlu, S., Tüfekçi, G., Peközcan, M., Savaş, M., **Bakır, N.**, Çağatay, P., Süsleyici Duman, B., 18. *Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi*, Bildiri Kitabı, s.63, 4-9 Temmuz, İstanbul 2011. (Sözlü bildiri)

Projelerde Yaptığı Görevler:

Q-PCR, Multiplex-simplex PCR, Agaroz jel elektroforezi, SDS-PAGE, DNA izolasyon yöntemleri, DNA saflığı ve miktarının ölçülmesi, Laboratuvar malzemelerinin sterilizasyonu gibi laboratuvar çalışmalarında aktif görev almaktayım..

Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler:

1. Moleküler Biyoloji Derneği
2. Biyologlar Derneği