

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI**

**MİNE MATRİKS PROTEİN SENTEZİNDEN SORUMLU GENLERDEKİ
POLİMORFİZMLER İLE SÜT VE DAİMİ DİŞ ÇÜRÜĞÜ ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

SERAP BAHADIR

ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ UZMANLIK TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Aylin AKBAY OBA**

2020 – KIRIKKALE

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI**

**MİNE MATRİKS PROTEİN SENTEZİNDEN SORUMLU GENLERDEKİ
POLİMORFİZMLER İLE SÜT VE DAİMİ DİŞ ÇÜRÜĞÜ ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

SERAP BAHADIR

ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ UZMANLIK TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Aylin AKBAY OBA**

**Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından desteklenmiştir.**

Proje No : 2019/028

2020 – KIRIKKALE

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Pedodonti Anabilim Dalında Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 04/11 /2020

Doç. Dr. Derya Beyza SAYIN KOCAKAP

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Faköltesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Aylin AKBAY OBA

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği
Faköltesi

Üye

Doç. Dr. Volkan ARIKAN

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği
Faköltesi

Üye

Doç. Dr. Merve ERKMEN ALMAZ

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği
Faköltesi

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Fatih TULUMBACI

Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi
Diş Hekimliği Faköltesi

Üye

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	
İçindekiler	I
Önsöz	IV
Simgeler ve Kısaltmalar	VI
Şekiller	IX
Çizelgeler	X
ÖZET	XI
SUMMARY	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Mine Dokusu	2
2.1.1. Amelogenez (Mine Formasyonu)	2
2.1.1.1. Presekresyon Safhası.....	3
2.1.1.2. Sekresyon Safhası.....	4
2.1.1.3. Maturasyon Safhası.....	5
2.1.2. Mine Organik Matriksi	6
2.1.2.1 Mine Matriks Proteinleri.....	7
2.1.2.1.1 Amelogenin.....	7
2.1.2.1.2 Ameloblastin.....	8
2.1.2.1.3 Enamelin.....	9
2.1.2.1.4 Tuftelin.....	10
2.1.3. Minenin Fiziksel yapısı.....	11

2.1.4. Minenin Kimyasal yapısı.....	12
2.1.5. Minenin Histolojik Yapısı.....	13
2.1.6. Süt Dişı Minesinin Fiziksel, Kimyasal ve Histolojik Özellikleri.....	16
2.2. Diş çürüğü.....	18
2.3. Genetik.....	20
2.3.1. Genetik Terminoloji.....	20
2.3.2. Genetik Polimorfizmler.....	22
2.3.2.1. Tek Nükleotid Polimorfizmleri (<i>Single Nucleotide Polymorphisms-SNP</i>) ...	23
2.3.2.2. Kısa DNA Dizilerinin Tekrar Sayısındaki Değişiklik (<i>Variable Number Tandem Repeats-VNTR</i>)	23
2.3.3. Genetik Polimorfizmlerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler.....	25
2.3.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (<i>Polymerase Chain Reaction-PCR</i>)	25
2.3.3.2. Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (<i>Real Time-PCR</i>)	27
2.4. Diş Çürüğü ve Genetik İlişkisi.....	28
2.5. Diş Çürüğü Oluşumunda Genetik Yatkınlık Üzerine Yapılan Çalışmalar.....	30
2.5.1. Ailesel Yığılım.....	30
2.5.2. İkiz Çalışmaları.....	30
2.5.3. Bağlantı ve İlişki Çalışmaları.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Etik Kurul Onayı ve Gerekli Resmi İzinler.....	34
3.2. Hastaların Seçilmesi ve Çalışma Grupları.....	34
3.3. Ağız İçi Muayenelerin Yapılması ve Bukkal Sürüntü Örneklerinin Alınması....	36
3.4. Örneklerden DNA İzolasyonu.....	37
3.5. Real-Time PCR Test Prosedürü ve Programı.....	39

3.6. İstatistiksel Analiz.....	43
4. BULGULAR	44
4.1. Gen Polimorfizmine Ait Bulgular	45
4.1.1. <i>AMBN</i> Genotip ve Alel Dağılımı.....	45
4.1.2. <i>AMELX</i> Genotip ve Alel Dağılımı.....	46
4.1.3. <i>ENAM</i> Genotip ve Alel Dağılımı.....	48
4.1.4. <i>TUFT1</i> Genotip ve Alel Dağılımı.....	49
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇLAR.....	64
7. KAYNAKLAR	65
8. EKLER	85
8.1. EK-1 Etik Kurul Onayı	85
8.2. EK-2 Kırıkkale Valiliği Milli Eğitim Müdürlüğü'nden alınan resmi izin.....	88
8.3. EK-3 Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu.....	91
8.4. EK-4 Anket Formu	93
8.5. EK-5 Olgü Rapor Formu.....	97
9. ÖZGEÇMİŞ	98

ÖNSÖZ

Tez çalışmamda ve uzmanlık eğitimim süresince büyük bir sabır ve anlayış ile bana her zaman yol gösteren, benden zamanını ve tecrübelerini esirgemeyen, mesleki gelişimimde büyük emeğe sahip değerli danışman hocam Prof. Dr. Aylin AKBAY OBA'ya,

Tez çalışmamın planlanması ve genetik kısmının yürütülmesi sürecinde değerli katkıları ve emekleriyle büyük yardımı olan, önerileri ile yol gösteren tez izleme komitesindeki değerli hocam, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Derya Beyza SAYIN KOCAKAP'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilimsel ve mesleki tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım Doç.Dr. Volkan ARIKAN ve Doç.Dr. Merve ERKMEN ALMAZ'a,

Uzmanlık eğitimimin ilk beş ayını geçirdiğim, her zaman saygı ve sevgiyle hatırlayacağım, bilimsel ve mesleki gelişimimde büyük katkıları olan Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerine, asistan arkadaşlarıma ve klinik personeline,

Tez çalışmamın planlanmasında büyük emeği olan, fikir ve desteğini esirgemeyen Dr. Dt. Hatice KARACA'ya,

Tezimin laboratuvar işlemlerini ve genetik analizlerini hassasiyetle gerçekleştiren Sibel ALYILMAZ BEKMEZ'e,

Tezimin istatistiksel değerlendirmelerini yapan Sayın Dr.Öğr.Üyesi Naci MURAT'a,

Uzmanlık eğitimimiz boyunca ve özel hayatımızda, iyi ve kötü günlerimizi paylaştığımız, her zaman yanımda olan dostlarım Dt. Hatice POLAT, Dt. Kübra Buket BUDAK, Dr.Öğr.Üyesi Kamile Nur TOZAR ve Dt. Nazende Betül DEMİR AKÇA'ya,

Beraber çalışmaktan keyif aldığım Kırıkkale Üniversitesi Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki tüm asistan arkadaşlarım ve klinik personelimize,

Her türlü maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan ve bugünlere gelmemde hiçbir fedakrlıktan kaçınmayan canım anne ve babama, her zaman arkamda olduklarını bildiğim, destekleriyle g veren canım ablalarım,

Hayatıma girdiği günden beri manevi desteğiyle yanımda olan, bu zorlu sürecin her anını birlikte geçirdiğim, sevgisi, fedakrlığı ve sabrıyla bu süreci kolay kılan, hayattaki en büyük şansım, canım eşim Yaşar Ahmet BAHADIR'a ve onu yetiştiren değerli ailesine teşekkür ederim.



SİMGELER VE KISALTMALAR

$\geq$	: Büyük eşittir
=	: Eşittir
°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde
A	: Adenin
AAPD	: American Academy of Pediatric Dentistry
Aİ	: Amelogenesis İmperfekta
Al	: Alüminyum
AMBN	: Ameloblastin
AMELX	: Amelogenin
B	: Bor
Ba	: Baryum
C	: Sitozin
Cl	: Klor
CO ₃	: Karbonat
DEJ	: Mine Dentin Birleşimi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksiribonükleotridtrifosfat
DMFT	: Çürük, kayıp ve dolgulu diş sayısı
dk	: Dakika
DZ	: Dizigotik
EÇÇ	: Erken Çocukluk Çağı Çürüğü

EDS	: Enerji Dağılım Spektrometresi
<i>ENAM</i>	: Enamelin
FESEM	: Çift Işınlı Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu
FIB	: Odaklı İyon Demeti
F	: Flor
G	: Guanin
G6PD	: Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
K	: Potasyum
kDA	: Kilodalton
<i>KLK4</i>	: Kallikrein-4
Li	: Lityum
Mg	: Magnezyum
MMP20	: Matriks Metalloproteinaz 20
MMP	: Mine Matriks Proteinleri
mm	: Milimetre
μm	: Mikrometre
μl	: mikrolitre
Mo	: Molibden
mRNA	: mesajcı RNA
MZ	: Monozigotik
nm	: Nanometre
Na	: Sodyum
OH^-	: Hidroksil iyonu
Ort	: Ortalama

Pb	: Kurşun
pH	: “Power of hydrogen”
PO ₄ ⁻³	: Fosfat iyonu
ppm	: “Parts Per Million”
PCR	: “Polymerase Chain Reaction”
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik asit
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
RT-PCR	: “Real Time-Polymerase Chain Reaction”
SCPP	: Salgılayıcı Kalsiyum Bağlayıcı Fosfoprotein
SEM	: “Scanning Electron Microscopy”
SNP	: “Single Nucleotid Polymorphism”
ss	: Standart sapma
S. Mutans	: Streptococcus mutans
Sr	: Stronsiyum
T	: Timin
TFIP11	: “Tuftelin-Interacting Protein 11”
TNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
TUFT1	: Tuftelin 1
V	: Vanadyum
VNTR	: “Variable Number Tandem Repeats”
WHO	: “World Health Organisation”
XRD	: X-Işını Difraktometresi (<i>X-Ray Diffractometer</i>)
Zn	: Çinko

ŞEKİLLER

Şekil 1.1 Venn diyagramı

Şekil 2.1 Çalışmaya dahil edilen çocukların gruplara göre dağılımı

Şekil 2.2 Steril eküvyonlu kültür tüpleri

Şekil 2.3 Vorteks cihazı

Şekil 2.4 Mikro 22R santrifüj cihazı

Şekil 2.5 Hazırlanan örneklerin reaksiyon plağına aktarılması

Şekil 2.6 Real Time PCR Cihazı (Applied Biosystem 7500)

Şekil 2.7 Melting Curve programı

Şekil 2.8 *AMBN* geni rs4694075 genotiplerinin eğrileri

Şekil 2.9 *AMELX* geni rs5933871 genotiplerinin eğrileri

Şekil 2.10 *ENAM* geni rs7671281 genotiplerinin eğrileri

Şekil 2.11 *TUFT1* geni rs2337360 genotiplerinin eğrileri

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1 Kullanılan SNP Belirteçleri

Çizelge 2.2 Melting programı uygun erime sıcaklıkları

Çizelge 2.3 SNP'lere özgü erime sıcaklıkları

Çizelge 3.1 Hastaların gruplara göre cinsiyet dağılımı

Çizelge 3.2 Yaş grupları ve çalışma gruplarına göre yaşların karşılaştırılması

Çizelge 3.3 Yaş grupları ve çalışma gruplarına göre *AMBN* geni genotip ve alel dağılımı

Çizelge 3.4 Yaş grupları ve çalışma gruplarına göre *AMELX* geni genotip ve alel dağılımı

Çizelge 3.5 Yaş grupları ve çalışma gruplarına göre *ENAM* geni genotip ve alel dağılımı

Çizelge 3.6 Yaş grupları ve çalışma gruplarına göre *TUFT1* geni genotip ve alel dağılımı

Çizelge 3.7 Grup içi çürüğe etki eden genotiplerin lojistik regresyon analizi ile incelenmesi

Çizelge 3.8 Grup içi çürüğe etki eden alellerin lojistik regresyon analizi ile incelenmesi

ÖZET

Mine Matriks Protein Sentezinden Sorumlu Genlerdeki Polimorfizmler ile Süt ve Daimi Diş Çürüğü Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

Bu çalışmanın amacı mine matriks protein sentezinden sorumlu genlerdeki polimorfizmler ile süt ve daimi diş çürüğü arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir.

Çalışmamızda, 3-5 yaş arasındaki 50 çürüklü ($dmft \geq 1$) ve 50 çürüksüz çocuk ile 13-15 yaş arasındaki 50 çürüklü ($DMFT \geq 1$) ve 50 çürüksüz çocuk olmak üzere toplam 200 bireyden yanak içi sürüntü örneği alınmış ve örneklerle genomik DNA izolasyon işlemi uygulanmıştır. *AMELX* (rs5933871), *AMBN* (rs4694075), *ENAM* (rs7671281) ve *TUFT1* (rs2337360) genlerindeki dört SNP incelenmiş, seçilen polimorfizmlerin genotiplendirilmesi erime eğrisi analizi ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler, istatistiksel olarak, kıkare testi ve ünivariat lojistik regresyon analizi ile incelenmiştir. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

Yapılan analizlere göre, 3-5 yaş grubunda dört SNP'den *AMBN* geni rs4694075 polimorfizmi ile süt dişi çürüğü arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, CT genotipinin, bireylerin diş çürüğüne yatkınlığını azalttığı belirlenmiştir ($p=0.021$). 13-15 yaş grubunda ise *AMBN* geni rs4694075 polimorfizmi ile daimi diş çürüğü arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, CT genotipinin, bireylerin diş çürüğüne yatkınlığını artırdığı, ancak bulunan değer anlamlılık sınırına yakın olduğu tespit edilmiştir ($p=0.047$). Diğer üç gendeki SNP'lerle süt ve daimi diş çürüğü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı gözlenmiştir ($p > 0.05$).

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında *AMBN* geni rs4694075 polimorfizminin süt ve daimi dişlerde çürüğe yatkınlıkla ilişkili olduğu; süt dişlerinde çürüğe yatkınlığı azaltırken, daimi dişlerde çürüğe yatkınlığı artırdığı tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Diş çürüğü, polimorfizm, mine matriks proteinleri, süt dentisyon, daimi dentisyon.

SUMMARY

Investigation of the Relationship between Polymorphisms in Genes Responsible for Enamel Matrix Protein Synthesis and Primary and Permanent Tooth Decay

The aim of this study was to evaluate the relationship between polymorphisms in genes responsible for enamel matrix protein synthesis and primary and permanent dental caries.

In our study, genomic DNA isolation was performed from buccal swab samples from a total of 200 children; 50 with, 50 without dental caries aged between 3-5 years and 50 with, 50 without dental caries aged between 13-15 years children. Four SNPs in four genes, *AMELX* (rs5933871), *AMBN* (rs4694075), *ENAM* (rs7671281) and *TUFT1* (rs2337360), were examined. Genotyping of selected polymorphisms was performed by Melting curve analysis. The data obtained were statistically analyzed by chi-square test and univariate logistic regression analysis. In the statistical analysis of the data, the significance level was accepted as $p < 0.05$.

AMBN gene rs4694075 polymorphism is associated with caries in primary teeth, the genotype CT has been determined that it decreases the susceptibility to decay in primary teeth ($p=0.021$). In the 13-15 age group, the value found was found to be statistically significant, but at the limit of significance. The genotype CT has been found to increase susceptibility of individuals to tooth decay ($p=0.047$). SNPs in *AMELX*, *ENAM* and *TUFT1* gene were not associated with primary and permanent teeth decay ($p > 0.05$).

In conclusion, in our study, the *AMBN* gene rs4694075 polymorphism was found to be associated with susceptibility to primary and permanent teeth decay. It has been determined that it decreases the susceptibility to decay in primary teeth and increases the susceptibility to decay in permanent teeth.

Keywords: Dental caries, enamel matrix proteins, permanent dentition, polymorphism, primary dentition.

1. GİRİŞ

Diş çürüğü çocukluk çağının en sık görülen hastalıklarından biridir. Mültifaktöriyel bir hastalık olan diş çürüğünün etiyolojisinde; diyet, karyojenik bakteriler, florid yararlanımı, oral hijyen, tükürük akışı, dişlerin morfolojik ve histolojik özellikleri, konakçı bağışıklık yanıtı gibi çevresel ve genetik faktörler etkilidir (Shaffer ve ark. 2012).

Son zamanlarda diş çürüğü üzerine yapılan genetik çalışmalar, mine formasyonunu etkileyen genlerin diş çürüğüne etkisi üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalarda, mine formasyon genlerinin bazılarının çürük duyarlılığı ile ilişkili olduğu bildirilmiş ve mine matriks genleri kapsamlı olarak incelenmiş, bu genlerdeki genetik varyasyonların, minede yapısal değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir (Patır ve ark. 2008, Ayala ve ark. 1994). Bireylerin diş çürüğüne yatkınlığında etkili bir faktör olan Tek Nükleotid Polimorfizmleri (*SNP-Single Nucleotide Polymorphisms*)'nin, süt ve daimi dentisyon üzerindeki etkisinin farklılık gösterip göstermediği tartışmalı bir konudur. Bu konuda yapılan bazı çalışmalarda, süt dişlerinde çürüğe duyarlılığı etkileyen genlerin, daimi dişleri etkileyen genlerden farklı olabileceği gösterilmiştir.

Genetik bilimi her geçen gün ilerlemekte, yeni geliştirilen teknolojik imkânlar kullanılarak hastalıkların etiyolojisi daha detaylı olarak incelenebilmektedir. Çürük duyarlılığı ile ilişkili olan genlerin yapısının anlaşılması ile diş çürüğü oluşumu ve prognozu hakkında daha detaylı bilgilere ulaşılabacaktır.

Bu çalışmanın amacı mine matriks protein sentezinden sorumlu genlerdeki polimorfizmler ile süt ve daimi diş çürüğü arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mine Dokusu

Ektoderm kökenli olan ve ameloblastlar tarafından salgılanan mine, tamamen aselülerdir ve ameloblastların salgılayıcı ve rezorptif aktivitesinin sonucu olarak üretilir (Theodore ve ark. 2010). Mine içeriğinde ağırlık olarak %96 oranında mineral bulunmakta olup, diğer mineralize dokulara kıyasla güçlü bir kristal yapıya sahiptir, bu sebeple çiğneme kuvvetlerine ve aşınmaya karşı koyacak fiziksel özelliktedir (Piesco 2002). Diş, ağız boşluğuna sürdükten sonra, mine oluşumundan sorumlu hücreler olan ameloblastların fonksiyonunun sona ermesinden dolayı mine kendini yenileyemez (Nanci 2007). Bu doğal limitasyonu kompanse edebilmek için, maturasyon sürecinde organik matriksin uzaklaştırılmasıyla kompleks bir yapısal organizasyon ve yüksek derecede mineralizasyon kazanır. Bu karakteristik özellikler, ameloblastların yaşam döngüsünü ve mine kristallerinin formasyonunu düzenleyen matriks proteinlerinin özgün fizikokimyasal özelliklerini yansıtır (Nanci 2007). Formasyon sonrası mine dokusunda, sadece mineral kaybı ya da kazanımı gerçekleşmektedir (Hu ve ark. 2007).

2.1.1. Amelogenez (Mine Formasyonu)

Diş sert dokularının formasyonundan önceki histodiferansiyasyon aşamasında mine organı 4 farklı tabakadan oluşur; dış mine epiteli, stratum retikulum, stratum intermedium ve iç mine epiteli (Kwon ve Jiang 2018). İç mine epitel hücreleri oral epitelin bazal hücre tabakasından kaynaklanır (Kumar 2011). İç mine epiteli hücreleri, morfolojik ve sitolojik değişikliklere uğrayarak genetik olarak programlanmış *ameloblast* adı verilen hücrelere diferansiye olur (Nanci 2007). Ameloblastlar, mine organik matriksini salgılar ve daha sonra bu yapı kalsiyum fosfatlarla mineralize olur (Wang ve ark. 2009). Ameloblastların, mine formasyonunun belirli dönemlerinde temel aktivitelerini yansıtan kademeli fenotipik değişiklikler ile karakterize, özgün bir yaşam döngüsü vardır. Amelogenez; presekresyon, sekresyon ve maturasyon olarak

tanımlanan 3 temel işlevsel safhaya ayrılmıştır. Her safhanın kendine özgü bir işlevi bulunur (Barron ve ark. 2008).

2.1.1.1. Presekresyon Safhası: Mine formasyonunun başlamasından önce iç mine epitelini oluşturan hücrelerin boyu uzamakta, çekirdekleri hücrenin karşı tarafına doğru göç ederek preameloblast olarak şekillenmektedir (Kirzioglu 2012). Bu süreç esnasında dental papilla hücreleri, önce iç mine epiteli hücrelerini indüklemekte ve indüklenmiş iç mine epiteli hücreleri, dental papillanın mezenşim hücrelerinin, preodontoblastlara farklılaşmasını sağlamaktadır (Theselff ve Juuri 2012). Çekirdekleri iç mine epitelinden uzaklaşarak kutuplaşan preodontoblastlar, ameloblastların mineyi salgılamaya başlamalarından daha önce, dentini şekillendirecek odontoblastlara dönüşmekte ve predentin matriksini üretmektedir (Salmela 2011). Predentinin ilk salgılanması, preameloblastların salgılayıcı ameloblastlar haline dönüşmesi için gereklidir (He ve ark. 2010, Tompkins, 2006). Ayrıca Chen ve ark. (2009) bazal membranın, ameloblastların fonksiyonunda önemli bir işleve sahip olabileceğini bildirmişlerdir (Kirzioglu 2012). Ameloblastlar tarafından mine formasyonu, predentin salgılandıktan sonra başlamaktadır (Tompkins 2006).

Presekresyon safhası boyunca ameloblast hücreleri; kübik veya az kolumnar şekilde, çekirdeği merkezde ve proksimal kısmında bir bağlantı kompleksi ve golgi cisimciği olan hücrelerdir (Liwei ve ark. 2016). Mitokondri ve diğer sitoplazmik komponentler hücre içerisine dağılmıştır (Nanci 2007). Histodiferansiyasyon fazında iç mine epitel hücreleri, ameloblastlara farklılaştıkça boyları uzar ve çekirdekleri stratum intermediuma doğru hücrenin proksimaline kayar (Liwei ve ark. 2016). Endoplazmik retikulumun miktarı anlamlı derecede artarken, mitokondriler proksimal bölgede kümelenir. Bu sırada hücrenin distal uzantısında ikinci bağlantı kompleksi gelişir. Bu bağlantı kompleksi ameloblast hücrelerini gövde ve distal uzantı olarak iki bölüme ayırır (Nanci 2008). Ameloblastların mine organik matriksi içerisindeki distal uzantıları ‘Tomes uzantısı’ olarak adlandırılır (Kumar 2011). Ameloblastlar polarize hücrelerdir ve hücre organellerinin çoğu çekirdeğin distal kısmında kalır (Porto ve ark. 2009).

Son yıllarda yapılan çalışmalar bazı mine proteinlerinin üretiminin preameloblast ve preodontoblastları ayıran bazal lamina kaybolmadan önce başladığını göstermiştir (Nanci 2007). Yan yana birbirlerine yakın şekilde dizilen ameloblastlar ve aralarında bulunan bağlantı kompleksi, mine formasyonu sırasında ameloblastları bir arada tutarak, hücreler arasından mine içerisine geçişin kontrolünü sağlamada önemli rol oynar (Simmer ve Fincham 1995, Porto ve ark. 2009).

2.1.1.2. Sekresyon safhası: Sekresyon dönemi ameloblastları, ince ve polarize yapıdadır. Golgi kompleksi, endoplazmik retikulumun çok sayıda sıvı kaplı kesesi ile çevrelenmiştir ve çekirdeğin üst kısmında geniş bir yer kaplar (Nanci 2007). Mine proteinlerinin oluşumu için mRNA, granüler endoplazmik retikulumun membranında yer alan ribozomlar tarafından kodlanır ve sentezlenen proteinler endoplazmik retikulumun içi sıvı dolu keseleri içerisine taşınır. Sentezlenen proteinlerin sentez sonrası modifikasyonu golgi kompleksinde devam eder ve membrana bağlı salgı granüllerinin içine paketlenir. Bu granüller hücrenin distal uzantısı olan Tomes uzantılarına doğru göç eder (Bartlett ve ark. 2006).

Mine formasyonu başladığında Tomes uzantısı sadece proksimal parçayı kapsar. Salgı granülleri, yeni yapılmış dentinin karşısında uzantı yüzeyi boyunca salınır ve mine rodları içermeyen başlangıç mine tabakasını oluşturur. İlk mine proteininin salgılanması ile birlikte matriks mineralize olmaktadır (Avery ve Chiego 2006). İlk oluşan hidroksiapatit kristalleri dentin kristalleriyle birbirine kenetlenir (Bartlett ve ark. 2006).

Başlangıç mine tabakası oluştuğunda ameloblastlar dentin yüzeyinden uzaklaşır ve proksimal bölümün fazla büyümesiyle Tomes uzantısının distal parçasını oluşturur (Liwei ve ark. 2016). Her bir Tomes uzantısının sitoplazması ameloblastın gövdesiyle devam eder (Bartlett ve ark. 2006). Tomes uzantısının distal çıkıntısı oluşuktan sonra mine proteinlerinin sekresyonu yavaşlar ve iki alanda sınırlı kalır. İlk alandan sekresyon, bitişik ameloblastlar ile beraber Tomes uzantısının distal kısmının içinde yer aldığı mine bölmesini oluşturur. Bu bölmeler farklı birimler değildir interprizmatik mine adı verilen mine katmanının içerisinde devamlılığı sağlar. Tomes uzantısının distal kısmının bir yüzü boyunca gerçekleşen, matriks içeren ikinci sekresyon alanı

daha sonra pitin içerisinde dolduracak olan prizmatik mineyi salgılar. Prizmatik minenin oluşacağı kavitenin sınırlarını belirlemesi gerektiği için öncelikle prizmatik mine oluşur. Her iki kısımdan salgılanan mine benzer kompozisyona sahiptir. Prizmatik ve interprizmatik mine sadece kristallerin oryantasyonları ile birbirlerinden farklılık gösterir. Minenin kalınlaşması ile Tomes uzantısının distal kısmının, mine prizmalarının çapının artması sonucu interprizmatik kavite duvarına doğru itilmesi ile incelenerek uzadığı düşünülmektedir. Distal Tomes uzantısının yok olana kadar sıkıştırılması sonucu prizmatik ve interprizmatik mine arasında organik madde ile dolacak dar bir alan yaratılır ve burada prizma kını oluşur. Ameloblastların boyu kısalır ve Tomes uzantısının distal kısmı yok olur. Ameloblastlar, bu sırada başlangıç mine tabakasını oluşturdukları zamanki görünümüne sahiptirler (Nanci 2007). Mine prizmaları, Tomes uzantılarının distal kısmına bağlı olarak geliştiği için son depolanan dış mine tabakası prizma içermez (Goldberg ve ark. 1995).

2.1.1.3. Maturasyon Safhası: İmmatür mine tamamen oluşturulduktan sonra, mine maturasyonu sırasında ameloblast hücreleri bazı morfolojik değişikliklere uğrar. Ameloblastların kısaldığı, hacimlerinin ve organel içeriğinin azaldığı kısa bir geçiş aşaması ortaya çıkar. Maturasyon aşamasında, bazı ameloblast hücreleri programlanmış apoptoza uğrar; amelogenez sırasında ameloblastların sayısı yaklaşık yarısı kadar azalır. Kalan ameloblastlarda, protein sentezi ile ilişkili organeller azaltılır (Liwei ve ark.2016). Maturasyon sırasında ameloblastlar düşük seviyelerde mine matriks proteinleri (MMP) üretmeye devam eder (Avery ve Chiego 2006). Ameloblastlar, büyüyen mine kristalleri için yeterli alan sağlamak amacıyla, mineden su ve organik matriksin çoğunu uzaklaştırmayı amaçlar (Nanci 2007). Bu değişiklik, ilave kristal birikimi nedeniyle değil, amelogenez formatif aşamasında oluşan kristallerin kalınlık ve genişliklerinin artmasından kaynaklanır (Liwei ve ark. 2016). Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonları, ameloblastlardan geçerek olgunlaşan mineye doğru hareket ederken, su ve bozulmuş mine proteinleri ters yönde geçer. Bu işlem sırasında, kristallerin ortalama kalınlığı, yaklaşık 1.5 μm 'den 25 μm 'ye kadar çıkar. Maturasyon, mine formasyonunda olduğu gibi, tüberkül tepelerinden servikal marjine ve fissür tabanına doğru ilerler (Berkovitz ve ark. 2002).

Mine oluşumu miktarı 4 µm/gün'dür, bu nedenle 1 mm kalınlığında bir mine tabakası oluşturmak yaklaşık 240 gün sürer. Tükürük ile iyon değişimine bağlı olarak diş sürmesinden sonra kristal boyutları daha da artar (Kumar 2011). Maturasyon sürecinde, organik matriks ve suyun büyük kısmı mine dokusunda ayrılırken mineralizasyon artar ve kristal yapı genişler (Porto ve ark. 2009).

2.1.2. Mine Organik Matriksi

Mine organik matriksi, çeşitli genler ve sinyal yollarıyla ekspresyon ve sekresyonu kontrol edilen proteinler ve proteazlar içerir. Ameloblastlar tarafından salgılanan ana yapısal proteinler; Amelogenin, Enamelin, Ameloblastin, Tuftelin ve Amelotin; proteinazlar ise; Matriks Metalloproteinaz-20 (MMP-20) ve Kallikrein-4 (KLK-4)'tür.

Amelogenin, Enamelin ve Ameloblastin'i kodlayan genler (*AMEL*, *ENAM* ve *AMBN*) Salgılayıcı Kalsiyum Bağlayıcı Fosfoprotein (*SCPP*) gen ailesine aittir ve hepsi tek bir ata geninden (*SPARCL1*) ortaya çıkmıştır (Moradian-Oldak 2013).

Belirli geni inaktif hale getirilmiş (*knock out*) transgenik hayvanlar kullanılarak yapılan deneylerde, bu MMP'lerin her birinin mine formasyonundaki fonksiyonları gösterilmiştir (Moradian-Oldak 2013). MMP'ler birbirleriyle ve hidroksiapatit kristalleriyle etkileşim içindedir, bu biyokimyasal etkileşim, hidroksiapatit kristallerinin morfolojisi ve büyümesinde etkilidir (Alexandre ve ark 2005). MMP maturasyon aşamasında Ca^{+2} ve PO_4^{-3} ile yer değiştirir. Bu aşamada, ameloblastlar esas olarak MMP'lerinin parçalanmasından ve reabsorbsiyonundan sorumludur. Bu tür olaylar, mine kristallerinin kalınlık ve genişliğinin artması için alan yaratarak diş minesinin mineralizasyonunu artırır. Bu nedenle, amelogenezis sırasında ameloblastları olumsuz yönde etkileyen faktörler kristal uzamasını kısıtlayabilir ve kristal yapının bozulmasıyla hipoplazik mine gelişimine yol açabilir (Gerreth ve ark. 2018).

2.1.2.1. Mine Matriks Proteinleri

2.1.2.1.1. Amelogenin

Mine matriksinin ana yapısal proteini olan Amelogenin, MMP'nin %90'ından fazlasını oluşturur (Moradian-Oldak 2013). Mine formasyonunda görev alan Amelogenin proteinleri; lösin, histidin, prolin ve glutamil bakımından zengin olan, dokuya özgü bileşenlerdir (Liwei ve ark 2016). İnsanda, Amelogenin proteinini kodlayan *AMEL* geninin hem X kromozomu Xp22.2 lokusunda (*AMELX*) hem de Y kromozomu Yp11.2 lokusunda (*AMELY*) bulunduğu gösterilmiştir (Lau ve ark. 1989).

İnsan genetik analizlerinin yanı sıra, *Amel* geni çıkarılmış “*Amel-null*” farelerde yapılan çalışmalarda, Amelogeninin normal mine formasyonu için önemli olduğu gösterilmiştir (Gibson ve ark. 2001, Moradian-Oldak 2013).

Amelogeninin, mine gelişiminin salgı aşamasında kristallerin oluşumunu düzenlediği ve gelişen minenin mineralizasyonunda ve yapısal organizasyonunda rol aldığı bildirilmiştir (Deutsch ve ark. 2006, Margolis ve ark. 2006).

AMELX genindeki mutasyonlar/delesyonlar, X'e bağlı Amelogenezis İmperfekta (Aİ) oluşmasına neden olmaktadır (Deeley ve ark. 2008). Bazı mutasyonlar, anormal Amelogenin proteininin sentezlenmesine neden olarak mine kristallerinin oluşumunu ve organizasyonunu engellemektedir (Hart ve ark. 2002). Gibson ve ark. (2001) *Amel* geni çıkarılan fareler üzerinde yaptıkları çalışmada; hipoplazik, opak ve kırılğan mineye sahip dişler geliştiğini gözlemlemiş ve Amelogenin proteininin minenin kalınlığı ve kristal yapısının düzenlenmesinde önemli rol oynadığını bildirmişlerdir (Gibson ve ark. 2001).

Bütün bu çalışmalar; Amelogeninin, mine kristal büyümesini ve organizasyonunu kontrol ettiği ve varlığının normal mine formasyonu için gerekli olduğu hipotezini desteklemektedir.

2.1.2.1.2. Ameloblastin

Kromozom 4q13.3'de lokalize olan *AMBN* geni tarafından kodlanan Ameloblastin, mine formasyonu sırasında salgılanan organik matriksteki toplam proteinin yaklaşık %5'ini oluşturur ve mine dokusunda en çok bulunan ikinci proteindir (Hu ve ark. 2007, Giacaman ve ark. 2016). Hücre adezyon molekülü olan Ameloblastin, ameloblastlar tarafından eksprese edilen dişe özgü proteinlerden biridir, ancak mine maturasyonu sırasında ekspresyonu azalır (Cerny ve ark.1996). Ameloblastin, mine içinde mineralizasyon başlatma bölgelerinde eksprese edildiği için kristalleşmede çekirdek oluşturucu olarak kabul edilmektedir (Liwei ve ark. 2016).

Amelogeninin aksine, Ameloblastin'in yapısını araştıran çalışmalar ve Ameloblastin hakkındaki veriler, bu proteinin sınırlı ekspresyon ve hızlı proteoliz özelliği nedeniyle sınırlı sayıdadır (Ravindranath ve ark. 2004). Salgı granüllerinden Ameloblastin ve Amelogenin birlikte salgılanır ve bu proteinler arasındaki fonksiyonel etkileşim in vitro olarak gösterilmiştir (Giacaman ve ark. 2016).

Ameloblastinin fonksiyonu tamamen anlaşılamasa da diş gelişimi sırasında mine kristallerinin büyümesinin kontrolünü sağlayıp mine mineralizasyonunu yönettiği ileri sürülmektedir (Fukumoto ve ark. 2004). Ameloblastin, mine içinde mineralizasyon başlatma bölgelerinde eksprese edildiği için kristalleşmede çekirdek oluşturucu olarak kabul edilmektedir (Liwei ve ark. 2016).

Ambn geni çıkarılan fareler ile yapılan çalışmalarda, bu hayvanlarda patolojik olarak etkilenmiş olan ameloblast tabakası ve birleşik mine epiteli gözlemlenmiştir. Bu da Ameloblastin'in mine formasyonunda etkili olduğunu göstermektedir (Fukumoto ve ark. 2004).

Fukumoto ve ark. (2005) Ameloblastin'in amelogenezdeki rolünü araştırmak amacıyla, Ameloblastin lokusunda mutasyona sahip fareler üretmişler ve bu mutant farelerin, mine formasyonunun gerçekleşmemesi de dahil olmak üzere diş gelişiminde birkaç spesifik anomali gösterdiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar mutant farelerde, dental epitelin mine salgılayan ameloblastlara farklılaştığını ancak hücrelerin, salgılama aşamasında matriks yüzeyinden ayrıldığını ve hücrenin polaritesini

kaybettiğini gözlemlemişlerdir. Mutant ameloblastlar çoğalmaya devam etmiş ve çoklu hücre tabakası oluşturmak için birikerek anormal, yapılandırılmamış matriks üretmiştir. Mutant farelerde ameloblastlar farklılaşmamış, dental epitel hücrelerinin bazı erken fenotipleri geri kazanılmıştır. Çalışmanın sonucunda, Ameloblastin'in salgılayıcı ameloblastlara bağlanıp, farklılaşmış fenotipi koruyarak hücre diferansiyasyonunu kontrol ettiği ve mine oluşumu için önemli bir rol oynadığı sonucuna ulaşıldığı bildirilmiştir.

Ambn geni çıkarılan farelerde şiddetli mine hipoplazisi ortaya çıkar. Ameloblastinin aşırı ekspresyonu ise, minenin kristal yapısını ve mine prizmalarının morfolojisini etkiler. Bu verilerin tümü Ameloblastin'in, mine matriksinde aşırı fonksiyon göstermesinin veya fonksiyon kaybının mine sentezinde değişikliklere neden olabileceğini göstermektedir (Liwei ve ark. 2016).

2.1.2.1.3. Enamelin

Kromozom 4q13.3'de lokalize olan *ENAM* geni tarafından salgılanan Enamelin proteini, MMP'nin yaklaşık %5'ini oluşturur (Hu ve ark 2007). Enamelin bilinen en büyük mine glikoproteinidir (Moradian-Oldak 2013). Deutsch (1989) ve Huang ve ark. (2009) yaptıkları çalışmalarda, mine-dentin birleşim (DEJ) bölgesinde ameloblastlar tarafından salgılanan ilk proteinin Enamelin olduğunu ileri sürmüşlerdir. Mine formasyonu sırasında *ENAM* geninin ekspresyonu, *AMEL* geninin ekspresyonundan önce sona ermektedir (Hu ve ark. 2001).

Enam geni çıkarılmış farelerde, minenin dış tabakalarının oluşmadığı, ameloblastların düzensizliği ve apoptozunun gerçekleştiği bildirilmiştir. Ayrıca, azalmış *Enam* ekspresyonu, mineralizasyonda azalma ile ilişkilidir (Hu ve ark. 2008). İn vitro çalışmalar, Enamelin'in kristal çekirdeklenmesini veya büyümesini kontrol ettiğini göstermiştir. Enamelin proteininin bölünme ürünlerinden olan 32-kDa molekül ağırlığındaki Enamelin'in apatit kristallerine yüksek bir afinitesi olduğu gösterilmiştir (Yamakoshi ve ark. 2001). Kalsiyumca zengin bir ortamda gelişen domuz minesinden izole edilen 32-kDa Enamelin'in, mine mineralizasyonu sırasında apatit kristalleri ile

etkileşimini kolaylaştırabilecek boyutsal yapı değişikliklerine uğradığı bildirilmiştir (Moradian-Oldak 2012). Bouropoulos ve Moradian-Oldak (2004), Amelogenin ve 32-kDa Enamelin proteinlerinin apatit çekirdeklenmesi üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada, domuz minesı örneklerinden MMP izole ederek protein jelleri hazırlamışlar ve çökelen sentetik apatit kristallerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda Amelogenin içeren jelatin jeline eklenen 32-kDa Enamelinin, hidroksiapatit kristallerinin çekirdeklenmesini artırdığı gösterilmiştir. Bu da kristal morfolojisinin kontrolünde Amelogenin ve Enamelin iş birliğini ortaya koymaktadır (Bouropoulos ve Moradian-Oldak 2004).

Birçok çalışmada, *ENAM* gen mutasyonlarının AI'nin otozomal dominant formuna neden olduğu gösterilmiştir (Yamamoto 2004). *ENAM* genindeki mutasyonların mine formasyonuna etkileri çeşitlidir. Bazı mutasyonlar Enamelinin miktarını azaltırken, bazı mutasyonlar ise bu proteininin anormal yapımına sebep olmakta bu da kritik bölgelerde proteinin bulunmaması ile sonuçlanmaktadır. Enamelin proteinindeki yapısal değişiklikler, gelişmekte olan minede yüzeysel pitlere veya horizontal oluklar gibi orta dereceli defektlere neden olabilmektedir (Pavlic ve ark. 2007). AI'nin otozomal resesif formunda da *ENAM* geni mutasyonları belirlenmiştir. Bu mutasyonlar; minede anomalilere, şiddetli defektlere, mine tabakasının normalden daha ince bir yapıda gelişmesine veya hiç gelişmemesine neden olabilmektedir (Stephanopoulos ve ark. 2005).

2.1.2.1.4. Tuftelin

Tuftelin proteinini kodlayan *TUFT1* geni insanda kromozom 1q211'de lokalize olur. Tuftelinin, ameloblastlar tarafından mine matriksine salgılandığı ve mine mineralizasyonunun başladığı DEJ bölgesinde yoğunlaştığı bildirilmiştir. Tuftelin proteini matür minede, tuft yapısının bir parçası olarak görülür. Odontogenezin çok erken aşamalarında, dentini oluşturan preodontoblastların da geçici olarak tuftelin sentezlediğine dair kanıtlar vardır (Piesco ve Simmelink 2001).

Tuftelin proteininin mine mineralizasyonu başlamadan hemen önce gerçekleşen ekspresyonu, DEJ bölgesinde lokalize olması ve asidik yapısı; Tuftelinin mine mineralizasyonunun ilk aşamalarında yer alabileceğini ve hidroksiapatit kristal oluşumu için çekirdek oluşturucu olarak işlev görebileceğini düşündürmüştür (Maoa ve ark. 2001).

Mine matriksinde Tuftelin'in aşırı ekspresyonu, hem mine prizmaları hem de kristal yapısında kusurlara yol açmaktadır (Renuka ve ark. 2013).

TUFT1 genindeki sekans değişikliklerinin, diğer gen veya protein etkileşimlerine müdahale ederek minenin yapısını, dolayısıyla çürük duyarlılığını etkileyebileceği bildirilmiştir (Slayton ve ark. 2005). *TUFT1* gen polimorfizmi olan ve yüksek S.mutans seviyesine sahip bireylerde diş çürüklerine karşı duyarlılığın arttığı bildirilmiştir (Renuka ve ark. 2013).

Ayrıca Tuftelin'in, amelogenezin çok erken aşamalarında eksprese edildiği gösterildiğinden, mine ve dentin formasyonunda başka fonksiyonları olabileceği rapor edilmiştir (Maoa ve ark. 2001).

2.1.3. Minenin Fiziksel Yapısı

Mine, diş kuronunun tüm yüzeyini kaplayan, yaklaşık 4-6 µm boyutlarında mine prizmalarından ve saf minerallerden oluşan koruyucu bir tabakadır (Berkovitz ve ark. 2002, Yin ve ark. 2009).

Servikal marjinde keskin bir sınırla sonlanan minenin kalınlığı; tüberkül tepesi ve kesici kenarda daha fazla iken, (daimi dişlerde yaklaşık 2.5 mm, süt dişi tüberküllerinde 1.3 mm) dişin lateral yüzeylerinde daha incedir (yaklaşık 1.3 mm) (Anderson 2002).

Mine dokusu yaklaşık %96 oranında mineral ve %4 oranında organik yapı içermektedir (Li ve ark. 2014). Minenin inorganik içeriğinde; kemikte, kıkırdakta, dentin ve sementte de bulunan bir kalsiyum fosfat kristali olan hidroksiapatit yer almaktadır (West ve ark. 2014). Hidroksiapatit kristalleri, gruplar halindedir ve

organik matriks bu kristalleri birbirine bağlamaktadır (Sa ve ark. 2014). Na, Al, Sr, Mg, Pb, F, Cl ve Zn gibi çeşitli iyonlar mine oluşumu sırasında mevcut olan kristaller içine eser miktarda dâhil olabilir (James 2001).

Yüksek mineral içeriğinin mineye verdiği sertlik özelliği, kompleks yapısal organizasyonu ile birlikte çiğneme fonksiyonu esnasında minenin mekanik kuvvetlere karşı dayanıklı olmasını sağlar (Li ve ark. 2014). Bu sertlik ayrıca mineye kırılgenlik özelliği verir, bu yüzden minenin altında bulunan ve daha elastik olan dentin tabakası destek olarak minenin bütünlüğünü korumasını sağlar. Eğer destekleyici dentin tabakası çürük nedeniyle ya da kavite preperasyonu sırasında uzaklaşırsa, desteksiz mine kolayca kırılır (Nanci 2007). Mine prizmaları ile prizmalar arası mine içindeki kristallerin oryantasyonu, minenin kırılgenliğini azaltır ve makaslama kuvvetlerine dayanımını sağlayan belli bir esneklik derecesi sağlar (Xie ve ark. 2009).

2.1.4. Minenin Kimyasal Yapısı

Minenin yapısını oluşturan hidroksiapatit kristalleri, hekzagonal konfigürasyonda yerleşmiş Ca^{+2} , PO_3^{-4} ve OH^- gruplarından oluşan moleküllerden meydana gelmekte ve $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{HO})_2]$ şeklinde formüle edilmektedir (West ve Joiner 2014). Kristalin her birim hücresi, üç Ca^{+2} iyonu ile çevrelenmiş bir OH^- grubundan oluşur. Bu iyonlar üç PO_3^{-4} iyonu ile çevrilidir. Bir altıgen içinde altı Ca^{+2} iyonu, PO_3^{-4} iyonlarını içine alır. Minede çok çeşitli kalsiyum fosfat mineral formları bulunabilir. Oktakalsiyum fosfat kristallerinin, son oluşan hidroksiapatitin öncüleri olduğu düşünülmektedir (Berkovitz 2011).

Minenin hidroksiapatit kristalleri vücuttaki en büyük hidroksiapatitlerdir ve elektron mikroskopunda kolayca izlenebilir. Boyutları yaklaşık 30 nm genişliğinde ve 90 nm kalınlığındadır ve elektron mikroskobu ile yapılan ölçümler, kristallerin en az 100 μm uzunluğa ulaştığını göstermiştir. Buna karşılık, dentin ve kemik kristalleri sadece 3-6 nm kalınlığında ve 60 nm uzunluğundadır. Bu, mine hidroksiapatit kristallerinin, kemik, dentin ve sementte bulunan kristallerden yaklaşık 10 kat daha geniş, kalın ve 1000 kat daha uzun olduğunu gösterir (Piesco ve Simmelink 2001).

Hidroksiapatit kristalleri mine dokusunun hacim olarak %88-90'ını ve ağırlık olarak %95-96'sını oluşturur (Berkovitz 2002). Geriye kalan kısmında ise; %2-3 su, %2 karbonat, %1 eser elementler (Na, Mg, K, Cl, Zn), %0.01-0.05 F ve %1'den az protein ve lipitler bulunur. Kısaca, minenin yapısını hacimsel olarak %87.1 inorganik yapı, %11.5 su, %1.4 organik maddelerin oluşturur (Garcia-Godoy ve ark. 2008).

Bazı eser elementler çürük önleyici özelliklere sahip olup, bunlardan en önemlisi floridlerdir. Çürük önleyici etkileri bilinen diğer eser elementler ise; B, Ba, Li, Mg, Mo, Sr ve V olarak sıralanabilir. Diş yapısına katılan karbonat, kadmiyum klorür, Fe, Pb, Mn, Sn ve Zn gibi bazı eser elementlerin ise dişlerin çürüğe karşı yatkinlığını artırıcı özelliği olduğu kanıtlanmıştır (Piesco ve Simmelink 2001). Mine dokusunda bulunan eser elementler; dişin çözünürlüğünü, apatit kristallerinin yapısını, dolayısıyla minenin özelliklerini değiştirerek, çürüğe karşı duyarlılığını etkiler (Shashikiran ve ark. 2007).

Minenin organik yapısı, minenin hem kırılmaya karşı direncini artırmakta hem de kristallerin birbiriyle bağlanmasına yardımcı olmaktadır (Nanci 2007). Olgunluğunu tamamlamış bir minenin %1'den daha azını oluşturan organik yapı; büyük protein kompleksleri, siatelin, serbest amino asitler ve lipitten oluşmaktadır (Piesco ve Simmelink 2001).

2.1.5. Minenin Histolojik Yapısı:

Mine Prizmaları (Rodları): Mine yapısı; mine prizmaları, prizma kını ve interprizmatik matriksten meydana gelir. Mineyi oluşturan mine prizmaları; 5-6 µm çapında, 2,5 µm uzunluğunda ve birbirleri ile sıkı bir şekilde kenetlenmiş milyonlarca hidroksiapatit kristalinden oluşur (Berkovitz ve ark. 2002). Mine prizmaları normalde şeffaf bir kristal görünümüne sahiptir ve ışığın içerisinden geçişine izin verir. Işık mikroskobu altında incelendiği zaman, mine prizmalarından alınan kesitler, altıgen şekilde gözlenmekte, bazen de yuvarlak veya oval şekilde olduğu görülmektedir. İnsan minesinde her üç tipe de rastlanabilmektedir; ancak daha sıklıkla anahtar deliği görünümü izlenir (Hicks 2004). Boyuna alınan kesitlerde, aynı kesitin bir sıra rodun “başları” veya “gövdelerinden” ve bitişik bir sıranın “kuyruklarından” geçtiği izlenir.

Bu görüntüde rodlar birbirlerinden yine interrod substant ile ayrılmış haldedir (Kumar 2011).

Elektron mikroskobunun kullanıldığı ilk çalışmalarda rod ve interrod substans boyunca bir organik lif ağı gösterilmiştir. Çalışma metotlarındaki gelişmelerle, her bir apatitin etrafını saran organik matriksten oluşmuş ince bir kılıf fark edilmiştir. Apatit kristallerinin etrafındaki organik kılıflar, prizma gövdelerinde uzun eksenlere paralel, kuyruklarında ise uzun eksenlere neredeyse dik olarak yönlendirilmiştir. Elde edilen görüntülerde, rodların yüzeylerinde bir roddan diğerine kristal oryantasyonundaki ani değişiklikler olduğu görülmüştür. Bu nedenle kristaller çok sıkı bir şekilde bir arada değildir ve bu kısımda organik matriks için daha fazla alan bulunur. Bu, ışık mikroskobunda görülebilen rod kılıfını açıklar (Kumar 2011).

Xie ve ark. (2008) Çift Işınlı Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu (FESEM)/Odaklı İyon Demeti (FIB) cihazı kullanarak hipomineralize mine ve sağlıklı mineyi karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak hipomineralize minede mikroyapıda iki önemli değişiklik bulunmuştur: Daha az yoğun bir prizma yapısı, yani düşük yoğunluklu maddeyle doldurulmuş gevşekçe paketlenmiş apatit kristalleri; çoğunlukla düşük yoğunluklu bir maddeyle doldurulmuş daha geniş bir kılıf bölgesi. Kılıf sınırlarında ise kısmen mineralize kristaller tanımlanmıştır.

Minenin tüm kalınlığı boyunca mine prizmaları dalgalı ve spiral bir şekilde uzanır. Özellikle tüberkül bölgelerinde daha eğimli iken, dişin servikal bölgelerinde hemen hemen dik konumlanmıştır (Piesco ve Simmelink 2001). Mine-dentin sınırından başlayarak yüzeye doğru uzanan prizmalar, dişin en dış yüzeyinde aprizmatik tabakada sonlanır. Prizmasız tabaka yaklaşık 20-40 µm kalınlığındadır ve süt dişlerinde daimi dişlere göre daha kalındır (Piesco ve Simmelink 2001).

Retzius Çizgileri: Ameloblastların 5-10 gün gibi uzun süreli salgılama aktivitesinin sonucunda, mine kesitlerinde ağaçlardaki büyüme halkalarına benzer şekilde iç içe geçmiş halkalar şeklinde görülen Retzius Çizgileri oluşur. Enine kesitlerde birbirine paralel olarak görülen bu çizgilerin dikey kesitlerde aslında birbirine paralel olmadığı ve bir kısmının mine yüzeyinde sonlandığı izlenir (Berkovitz ve ark. 2002). Bu çizgilerin genellikle haftalık mine yapımı sırasındaki

yapısal değişiklikler sonucunda ortaya çıktığı düşünülmesine rağmen, temel oluşma şekli hâlâ net değildir. Başka bir görüş ise mine tabakasının apozisyonel veya inkremental büyüme şeklini yansıttığını ileri sürmektedir. Kuron daha büyük hale geldikçe, yeni hücre toplulukları boyut artışını telafi etmek için dişin servikale eklenmektedir (Nanci 2007).

Enine Çizgiler: Mine prizmalarının yapısındaki enine çizgiler ameloblastların 24 saatlik aktivitesi sonucunda ortaya çıkmaktadır. İnsan dişlerinde 2,5-6 µm aralıklarla tekrarlayan enine çizgiler minedeki depolanma hızını ifade etmektedir. Bu yapılardaki düzenlilik mine prizmalarında merdiven görüntüsü oluşturur (James 2001). Enine çizgiler, aynı zamanda mine prizmalarında organik madde ve mineral birikimindeki döngüleri de yansıtmaktadır (Berkovitz ve ark. 2002).

Hunter-Schreger Bantları: Mine prizmalarının birçoğu mine-dentin sınırından diş yüzeyine doğru uzanırken dalgalı bir yol izler. Mine prizmalarının mine-dentin sınırından mine yüzeyine doğru uzanması esnasında oluşan bu oryantasyon değişiklikleri Hunter-Schreger bantlarının oluşumuna neden olur. Hunter-Schreger bantları, komşu prizma grupları arasındaki yön değişiklikleri tarafından üretilen optik bir olgudur. Bantlar, en açık şekilde uzunlamasına alınan kesitlerde yansıyan ışık altında bakıldığında bir seri koyu ve açık bant şeklinde izlenmektedir ve minenin üçte ikisinde bulunmaktadır (Piesco ve Simmelink 2001).

Mine Boğumları (Gnarled Mine): Azı dişlerinin kasp tepelerinde, mine prizmaları gruplar halinde birbirleri ile karmaşık bir sarmal yapı oluşturur. Bu oluşum 'Mine Boğumları' olarak isimlendirilir ve çiğneme basıncına karşı minenin direncini artırır (Nanci 2007).

Mine Tuftları (Demetleri) ve Mine Lamelleri: Mine tuftları ve lamelleri jeolojik faylara benzetilebilir ve bilinen hiçbir klinik öneme sahip değildir. Bu yapılar en iyi şekilde mineden alınan yatay kesitlerde görülmektedir (Piesco ve Simmelink 2001). Mine tuftları mine-dentin birleşiminden mine içerisine doğru minenin 1/3 kalınlığına kadar uzanan demet veya çimen şeklindeki oluşumlardır (Kumar 2011). Mine-dentin sınırı boyunca yaklaşık 100 µm aralıklarla görülür ve daha az mineralize yapıdadır. Bu yapılar mine içerisinde dallanmış şekilde bulunur ve minenin geri kalan kısmına

göre daha fazla konsantrasyonda protein içeriğine sahiptir (Piesco ve Simmelink 2001). Mine lamelleri ise, olgunlaşmasını tamamlamamış bir grup mine prizması olarak tanımlanır. Bu bölgelerde organik yapı daha fazla olup mine-dentin sınırından kesici kenarlar ve tüberkül tepelerine kadar, minenin tüm kalınlığı boyunca uzanır (Piesco ve Simmelink 2001). Lameller minenin olgunlaşması esnasındaki bir bozukluktan kaynaklandığından bu bölgelerde su ve organik matriks artıkları bulunur. Bu nedenle de bu bölgeler hipomineralizedir (Angmar ve ark. 1963).

Mine Yüzeyi: Mine yüzeyi farklı yapısal özellikler içermektedir. Retzius çizgileri sıklıkla mine-dentin sınırından başlayarak mine yüzeyinde sonlanan ve perikimata çizgileri olarak bahsedilen yapıyı meydana getirmektedir. Mine dış yüzeyine ulaşan bu çizgiler kuron dış yüzeyinde horizontal çizgiler şeklinde görülmektedir. Ek olarak lameller ve çatlaklar da dış yüzeyinin çeşitli bölgelerinde pürüzlü yüzeyler meydana getirmektedir. Ayrıca elektron mikroskopunda, zaman içerisinde mine yüzey özelliklerinin değiştiği gösterilmiştir (Berkovitz ve ark. 2002).

2.1.6. Süt Dişi Minesinin Fiziksel, Kimyasal ve Histolojik Özellikleri

Mikroskobik incelemeler, süt ve daimi diş minesi arasında bazı farklar olduğunu ortaya koymuştur. Daimi diş minesinde %98 oranında bulunan inorganik yapı elemanları, süt dişi minesinin yaklaşık olarak %92-93'unu oluşturur (White ve ark. 2001). Süt dişi minesinin kalınlığı, daimi diş minesinin yaklaşık yarısı kadardır (Johnsen 2001). Daimi dişler ve süt dişleri arasındaki kimyasal, morfolojik ve histolojik farklılıklardan dolayı çürük, aşınma ve bağlanma kuvveti gibi özellikler süt dişlerinde daimi dişlerden farklıdır. (Sonju-Clasen ve Ruyter 1997, Hunter ve ark. 2000). Mortimer (1970), süt ve daimi diş minesi arasındaki temel farkların süt dişi minesinin inceliği ve düşük mineralizasyon seviyesi olduğunu bildirmiştir. Bu fark süt dişlerinin daimi dişlere göre daha beyaz görünmesini sağlar (Wang ve ark. 2006). Mine prizmaları süt dişlerinde okluzale doğru konumlanırken, daimi dişlerde yatay veya apikal yöne doğru uzanır (Gülhan 1994). SEM analizinde süt dişlerinde mine rodlarının sayısal yoğunluğu, özellikle mine dentin kavşağına yakın bölgede, daimi dişlere göre daha yüksektir. (Fosse 1964). Yapılan çalışmalarda prizmatik mine

tabakasının süt dişlerinde, daimi dişlere kıyasla daha kalın ve tek tip yapıda olduğu belirtilmiştir. EDS ile yapılan incelemelerde Ca ve P yüzdeleri, daimi diş minesinde süt dişi minesine göre daha yüksek bulunmuştur (Fava ve ark. 1997).

Oliveira ve ark. (2010)'nın XRD kullanarak yaptıkları çalışmada, süt dişlerinde minede bulunan fazların hidroksiapatit, kalsiyum silikat, hidratlı kalsiyum fosfat, kalsiyum fosfat silikat ve potasyum kalsiyum fosfat olduğunu rapor edilmiştir.

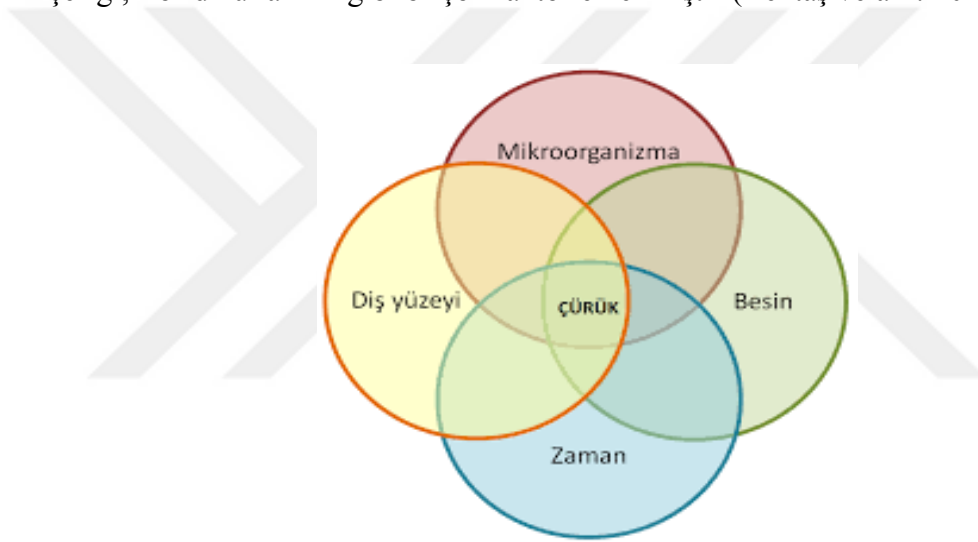
Aprizmatik mine tabakası, süt dişlerinde daimi dişlere oranla daha geniş bir alan kaplar ve özellikle servikal bölgelerde lokalize olur (Hosoya 1994). Daimi dişlerde de fonksiyonel aşınmanın az olduğu, servikal ve proksimal bölgelerde bulunabildiği bildirilmiştir (Pashley ve Tay 2001). Aprizmatik mine tabakası, genellikle 15 µm kalınlığında olup bu tabakada hidroksiapatit kristalleri mine yüzeyine dik konumlanmıştır. Prizmatik minede olduğu gibi üç boyutlu bir dağılım göstermez (Kodoka ve ark. 1989). Asit uygulamaları esnasında hidroksiapatit kristallerinin dekalsifikasyonu kristal yapının oryantasyonu ile ilgili olarak şekillenir (Sharpe 1967). Aprizmatik tabakada kristallerin tek yönlü dizilimi ve daha yoğun bir yapı oluşturmaları nedeniyle asit uygulaması sonrasında daha sınırlı bir pörözite oluşur. Bu sebeple, aprizmatik tabakaya rezinlerin penetrasyonu daha sınırlıdır (Gwinnett 1973).

Özellikle süt dişlerinde mine yüzeyinde herhangi bir preparasyonun yapılmadan uygulanan klasik pit ve fissür örtücü tedavilerinde aprizmatik mine tabakasına bağlanma kuvvetinin daimi dişlere göre daha zayıf olduğu bildirilmiştir (Pashley ve Tay 2001). Süt dişlerinde mineye bağlanma kuvvetinin daha az olmasının tek nedeni aprizmatik tabakanın kalınlığı değildir. Bunun yanısıra, süt dişlerinde inorganik yapının daha az ve interprizmatik aralıkların daha fazla olması nedeniyle, organik materyalin daha fazla bulunması, tutuculuğu olumsuz yönde etkileyen diğer unsurlardır (Handelman ve ark. 1996).

2.2. Diş Çürüğü

Diş çürüğü, asidojenik bakteriler ve bu bakterilerin fermente olabilen karbonhidratlar ile etkileşimi sonucu açığa çıkan organik asitlerin diş sert dokularını lokalize yıkımıyla karakterize, multifaktöriyel ve kronik bir hastalıktır (Selwitz ve ark. 2007).

Diş çürüğü etiyolojisinde 4 ana faktör rol oynamaktadır; *konak* (diş yüzeyi), *mikroorganizmalar*, *besin* (karbonhidrat) ve *zaman*'dır. Bu faktörler Paul Keyes tarafından Venn diyagramı ile gösterilmiştir (Pinkham ve ark. 2009) (Şekil 1.1). Daha sonra bu diagrama davranışsal, sosyo-kültürel ve genetik faktörlerin yanında tükürük içeriği, florid kullanımı gibi birçok faktör eklenmiştir (Bektaş ve ark. 2010).



Şekil 1.1: Venn diyagramı

Normal koşullarda, gün boyunca mine yüzeyi ile tükürük ve plak arasında dinamik bir denge içerisinde devam eden sürekli bir iyon alışverişi söz konusudur. Mine yüzeyi ile lokal çevre arasındaki bu denge demineralizasyon ve remineralizasyon mekanizmaları ile sürekli devam etmektedir. Diş yüzeyi ve plak sıvısı arasındaki demineralizasyon-remineralizasyon döngüsünün demineralizasyon lehine bozulması sonucunda, diş yüzeyinden mineral kaybı olmaktadır (Axelsson 2000).

Çürük; diş ve plak arasındaki fizyolojik dengenin bozulmasıyla, organik asit üretebilme yeteneği olan çok sayıda bakterinin diş yapısını demineralize etmesiyle

oluşur. Diş yüzeyine yapışan diş plağının yapısında çok sayıda bakteri bulunmaktadır. Bu plak bakterileri, enerji sağlamak için karbohidratları metabolize eder ve yan ürün olarak organik asit üretilir. Bu asitler, diş yapısındaki hidroksiapatit kristallerinden Ca ve P iyonlarının ayrılmasına ve kristal yapısının çözünmesiyle çürük lezyonu oluşmasına sebep olur. Çürük aktivitesindeki artış, plak pH'sının düşük ve bakteri aktivitesinin yüksek olduğunu gösterir. Kritik pH değeri 5.5'dir ve bu değer yükseldikçe demineralize olan diş yüzeyi remineralize olmaya başlar. Tükürükte yüksek konsantrasyonda bulunan Ca ve P iyonları, remineralizasyon sürecinde önemli rol oynar (Yalçın Çakır ve ark. 2010).

Uzun süreli asidik ortamın oluşumundaki önemli sebepler; karyojenik bakteri sayısının artması, tamponlama kapasitesinde veya tükürük akış hızında azalma, sık şeker tüketimi, oral hijyen yetersizliği ve ortodontik tedavi gibi retansiyon bölgelerinin artışına bağlı oluşan plak birikimidir (Bektaş ve ark. 2010).

Ağız içerisinde farklı ekolojik şartlarda çok sayıda mikroorganizma bulunmaktadır (Kidd ve Fejerskov 2004). Ağız mikrobiyotasında çürükle ilgili başlıca mikroorganizmaların oral streptokoklar, laktobasiller ve aktinomiçesler olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Bayırlı ve Şirin 1982). Mutans streptokokları diş çürüğüne neden olan başlıca mikroorganizma olarak kabul edilmektedir (Spatafora ve ark. 1995). Mine yüzeyine ve diş plağına yapışma özelliği ve asit oluşturma kapasitesinin yüksek olması iki önemli virülans faktörüdür. Suda çözünmeyen ekstraselüler polisakkaritler üreterek, diş yüzeyine güçlü adezyon sağlar. *S. mutans* diyet ile alınan sakkarozu laktik asite fermente ederek mine matriksinin çözünmesine yol açar (Mattos-Graner ve ark. 2000).

Ağız mikrobiyotasının %1'ini oluşturan laktobasiller, çürük başlangıcından çok, dentin dokusunun yıkımında yani çürüğün ilerlemesinde etkilidir. Laktobasillerin asidojenik ve asidürik özellikleri plak pH'sının düşük olduğu yerlerde ve aktif çürük lezyonu içinde çoğalmalarını sağlar (Brambilla ve ark 2000). Tükürükteki laktobasil düzeyi ile diş çürüğü sıklığı arasındaki ilişki, birçok araştırmayla kanıtlanmıştır (Llena-Puy ve ark 2000). Çürükle ilişkili bir diğer bakteri gruplarından Aktinomiçesler pek çok karbonhidrat türünü fermente ederek laktik asit, asetik asit, suksinik asit ve

formik asit üretir. Daha çok subgingival mikrobiyota ve kök yüzeyindeki çürük lezyonlarından izole edilir (Bayırlı ve Şirin 1982).

Tükürük, içeriğindeki Ca ve P'nin etkisiyle dişlerin dış yüzeyindeki demineralizasyonu tamponlayarak remineralizasyonu sağlamaktadır. Enzimatik özelliği ve tamponlama kapasitesi sayesinde plak asidinin nötralizasyonu sağlanmakta ve remineralizasyon artmaktadır (Kandelman 1997).

Günde ortalama 1000-1500 ml tükürük salgılanmaktadır. Tükürüğün asiditesinin gün içerisinde değişiklik gösterebileceği ve 6,1-7,7 pH arasında olabileceği belirtilmiştir (Koray 1981). Diş çürüğünün oluşabilmesi için gerekli tüm faktörlerin belli bir süre içerisinde bir arada bulunması gereklidir. Bu da diş çürüğünün oluşumunda etkili olan diğer bir faktörün zaman olduğunu ortaya koymaktadır (Zero 1995).

2.3. Genetik

2.3.1. Genetik Terminoloji

Bir organizmanın sahip olduğu genetik materyalin tümüne “*genom*” denir. Yapılan son araştırmalara göre insan gen veri tabanı, yaklaşık 21.000 protein kodlayan ve 22.000 protein kodlamayan olmak üzere toplam 43.000 gen içerir (Willyard 2018). Genom; Adenin (A), Sitozin (C), Guanin (G) ve Timin (T) olmak üzere dört tip nükleotit baz dizisinden oluşan uzun DNA parçalarından oluşur. Bir hücre çekirdeğinde DNA çift sarmallıdır. Güçlü kovalent bağlar olan fosfodiester bağları, bazıları tek bir zincir boyunca birbirine bağlarken; iki zincir arasındaki zayıf hidrojen bağları ise, A ile T ve C ile G baz çiftlerini birbirine bağlar. Haploid genom yaklaşık 3,3 milyar nükleotitten oluşur fakat protein kodlayan diziler genomun yaklaşık %3'üne karşılık gelmektedir (Burton ve ark. 2005).

Genomun içinde tüm organizmaların yaşamı için gereken proteinlerin sentezi hakkında bilgi taşıyan genler bulunmaktadır (Özata ve Kaya 2001, Öztürk 2009). Yaşayan organizmalar çoğunlukla proteinden yapılmıştır. Proteinler, hücre ve

dokulardaki kimyasal reaksiyonlar için de özel enzimler oluşturmaktadır. Bu proteinler organizmanın karakteristik özelliklerini, fonksiyonunu ve hatta bazen davranışını belirlemektedir. Proteinler 20 farklı amino asidin değişik kombinasyonlarından oluşur ve her proteinde birkaç yüz amino asit bulunmaktadır (Kinane and Hart 2003). Genlerin asıl görevi bu amino asitlerin sekanslarını belirleyip, proteinleri oluşturmaktır (Neumaier, Braun and Wagener 1998).

DNA, hücre içinde interfaz aşamasında kromatin halinde paketlenmiştir. Kromatin yapının yoğunluğunun düzenlenmesi gen ekspresyon kontrolünde önemlidir. Hücre bölünmesi öncesinde kromatin yapı kromozom şeklinde yoğunlaşır, kromozom paketlenmesi hücre bölünmesi sırasında genlerin düzenli bir şekilde dağıtılmasına yardımcı olur. Genler kromozomlar üzerinde belli bir bölgede bulunur. Bir genin veya DNA dizisinin kromozom üzerinde bulunduğu yer ‘*lokus*’ olarak adlandırılır (Nussbaum ve ark. 2001).

Nükleotitlerin sıralanışı, RNA ya da proteinin yapısı ve işleyişi üzerinde etki göstererek genin ekspresyonunu belirler. Bir genin farklı varyasyonları ‘*alelik varyant*’ veya ‘*alel*’ olarak ifade edilmektedirler (Kinane ve Hart 2003).

Genotip, bir bireyin sahip olduğu genetik yapıyı ifade etmektedir. Herhangi bir lokustaki genler, birbiriyle tamamen aynı ise bu alel için bireyin ‘*homozigot*’ olduğu; eğer lokustaki aleller farklı ise bu bireyin o gen için genotipinin ‘*heterozigot*’ olduğu söylenebilir (Lewin 2000).

Bir bireyin alelleri onun genotipini belirlerken genotipin fiziksel veya biyokimyasal ekspresyonu onun fenotipini belirlemektedir. Fenotip, genotipin çevre ile etkileşimi sonucu belirlenir. Buna göre genotip alellerin içinde ne olduğunu; fenotip ise dışarıdan gözlenenin ne olduğunu tanımlamaktadır. Çünkü belli genler ile bu genlerle ilgili bazı özellikler her zaman birebir uyuşmayabilir. Saç rengi, ten rengi, boy, ağırlık gibi pek çok özellik, birden fazla gen tarafından belirlenmektedir ve çevresel faktörler fenotipe etki etmektedir. Bu aynı genotipin farklı çevresel koşullara bağlı olarak farklı fenotipler oluşturabileceğini göstermektedir (Lewin 2000).

2.3.2. Genetik Polimorfizmler

Tüm insanların DNA'sı yaklaşık olarak %99,9 aynıdır ve insanlar arasındaki farklılıklar DNA zincirindeki küçük değişikliklerden kaynaklanmaktadır (Klug ve ark. 2018).

Bir popülasyonda bir lokusta birden fazla alelin birlikte bulunmasına “*genetik polimorfizm*” denir. Araştırmacılar, haploid genomda kabaca üç milyar nükleotid olduğunu ve bunun % 0.1'inin polimorfik olduğunu tahmin etmektedirler (Krebs ve ark. 2012). Aminoasit dizisinde fenotipik açıdan önemli değişikliklere neden olan genetik varyasyonlar “*fenotipik polimorfizm*” olarak adlandırılır. Bunlara; farklı yüz görünümü, deri rengi, göz rengi, boy uzunluğu gibi farklı fiziksel özellikler örnek verilebilir (Vijayalakshmi ve ark. 2010).

Birçok genetik farklılık fenotipik olarak gözlenmez, ancak laboratuvar yöntemleri ile saptanabilir. Değişikliğe uğramış proteinler, enzimler veya antijenler “*biyokimyasal polimorfizm*” olarak adlandırılır (Jabs ve ark 1989). ABO, Rh kan grubu ve insan lökosit antijen sistemi (HLA), G6PD enziminin elektroforetik ve aktivite değişiklikleri bu genetik farklılıklara örnek olarak verilebilir (Seymour ve ark. 2004).

Genlerdeki polimorfizmleri mutasyonlardan ayıran özellik görülme sıklığıdır. Mutasyonlar, polimorfizmlere göre çok daha nadir görülmektedir. Normal bir popülasyonda, bir karakter için iki veya daha fazla genotip bulunuyorsa ve genotiplerden her biri popülasyonda %1'den daha büyük sıklıkla görülüyorsa bu durum genetik polimorfizmdir. Bulunma sıklığı %1'den daha az ise “*genetik mutasyon*” adı verilir (Emir ve Özden 2006).

Polimorfizmler, herhangi bir hastalık ya da bozuklukla doğrudan ilişkili değildir ve sıklıkla protein kodlamayan DNA dizilerinde yer alır. Mutasyonlardan farklı olarak polimorfizmlerin varlığında hastalık ortaya çıkmaz; ancak hastalıkla ilişkili alellerin hastalarda sağlıklı bireylere nazaran daha sık görüldüğü bilinmektedir. Farklı popülasyonlarda polimorfizm sıklığı değişken olabilmektedir (Kornman and Newman 2000).

Hastalıkların etiyolojisinde çevresel faktörler de etkilidir. Multifaktöriyel hastalıklarda özel bir etkenin hastalığı ne kadar etkilediğini belirlemek zordur. Kronik hastalıklar ilerleyen yaşlarda başlamakta ve gelişmeleri yıllar almaktadır. İmmün cevabı ve enflamasyonu etkileyen genetik faktörler de olaya katılmaktadır. Bu fizyolojik ve biyolojik olguların pek çok dengeleyici mekanizması bulunmaktadır ve buna bağlı olarak tek bir genetik varyasyonun hastalık üzerinde ne derece etkili olduğunu saptamak çok güçtür. Eğer bir bireyde bir hastalıkla ilişkili polimorfizm gözleniyorsa, bunun klinik sonuçlarını sadece polimorfizme bakarak tahmin etmek mümkün değildir (Kornman and Newman 2000).

Proteinlerin fizyolojik işleyişindeki farklılıklar, belirli çevresel maruziyetlerle (örneğin diyet, sigara, mikrobiyal faktörler) artabilir. Etkilenen protein, örneğin belirli bir mikrobiyal maddeye enflamatuvar yanıtta işlev görüyorsa, kişinin hastalık fenotipi riski, taşıdığı polimorfizme göre artabilir veya azalabilir. Belirli bir gen varyantının bir hastalık fenotipine katkıda bulunup bulunmayacağı, hastalığın gelişimine katkıda bulunan etkinin büyüklüğüne bağlıdır. Böylece, genetik varyans bireyler arasındaki alelik farklılıklarla belirlenir (Lander ve ark. 2001).

İki tip polimorfizm bulunmaktadır:

1. Yaklaşık her 1000 bazda bir görülen Tek Nükleotid Polimorfizmi: *Single Nucleotid Polymorphisms - SNP*

2. Kısa DNA dizilerinin tekrar sayısındaki değişiklik: *Variable Number Tandem Repeats -VNTR* (Nussbaum ve ark. 2001, Bozkaya 2009).

2.3.2.1.Tek Nükleotid Polimorfizmleri (*Single Nucleotide Polymorphisms - SNP*)

Tüm polimorfizmlerin en basit ve en yaygın olanı, SNP'lerdir (Nussbaum ve ark. 2001). Popülasyonda varyasyon gösteren ve toplumda %1'den daha fazla sıklıkta gözlenen tek baz çifti değişimleri SNP olarak adlandırılmıştır (Fletcher ve Hickey 2015). Son çalışmalar, SNP'lerin genomda yaklaşık 15 milyon civarında olduğunu ve her 100-300 baz çiftinde bir kez meydana geldiğini göstermiştir. Diğer genetik

polimorfizm türleri ekleme (*insertion*) veya silmelerden (*deletion*) kaynaklanır (Vijayalakshmi ve ark. 2010).

Genom boyunca SNP'lerin gerçek frekansı ne olursa olsun, diğer herhangi bir polimorfizm türünden daha yüksek olduğu bilinmektedir (Schork ve ark. 2000). SNP'lerin çoğunun biyolojik bir sonucu olmamakla birlikte, bir kısmı işlevsel öneme sahiptir ve insanlar arasında bulunan çeşitliliğin temelini oluşturur (Collins ve ark. 1997). Genetik belirteçler olarak SNP'ler, kuşaktan kuşağa kromozomal bölgelerin kalıtım modellerini izlemek için kullanılabilir ve insan hastalıkları ile ilişkili genetik faktörlerin incelenmesinde güçlü araçlardır (Johnson ve Todd 2000, Risch 2000). Bir çok durumda, hücre metabolizması için önemli olan mekanizmalarda (DNA tamiri, hücre döngüsü kontrolü, sinyal iletimi vb.) rol alan genlerin kritik pozisyonlarında yer alır. Bazı durumlarda genin kodladığı proteinin işlev ya da enzim aktivitesi bu değişikliklerden önemli ölçüde etkilenebilir. Hücre metabolizması için kritik önem taşıyan proteinlerin fonksiyonun bozulması bazı hastalıklar için riski artırmaktadır (Deligezer ve ark. 2004).

Protein kodlayan bölgelerdeki SNP'ler, gen ürünündeki amino asit dizisini değiştirip değiştirmemelerine göre eş anlamlı (*synonymous*) veya eş anlamlı olmayan (*non-synonymous*) olarak ikiye ayrılır. Eş anlamlı olmayan SNP'ler amino asit dizisini değiştirir ve kodlayıcı SNP olarak da bilinirler. Genellikle bir kodlama dizisindeki eş anlamlı olmayan bir SNP'nin bir proteinin işlevini veya kullanılabilirliğini etkilemesi diğer SNP sınıflarından daha olasıdır. Bununla birlikte, bir SNP, kritik bir proteinin transkripsiyonunun düzenlenmesini değiştirerek hastalığa neden olabilir. Kodlayıcı olmayan ve kodlayıcı diziler arasında hastalıkla ilişkili varyantların gerçek dağılımı bilinmemektedir (Burton ve ark. 2005).

2.3.2.2. Kısa DNA Dizilerinin Tekrar Sayısındaki Değişiklik (*Variable Number Tandem Repeats - VNTR*)

DNA polimorfizmi, bazı durumlarda bir kromozom üzerinde belli bir bölgede ardı sıra tekrarlayan kısa DNA parçalarının sayılarının değişmesi ile ortaya çıkabilir. Yani

tekrar bölgelerindeki DNA parçalarından oluşan kopyaların sayısı değişkenlik gösterebilir. Bu şekilde kopya sayısına bağlı genetik polimorfizm “VNTR” olarak adlandırılır (Bozkaya 2009).

2.3.3. Genetik Polimorfizmlerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler

2.3.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction-PCR)

PCR, basit bir enzimatik reaksiyonla genomdan spesifik DNA dizilerinin çoğaltılmasını sağlar. Kopyalanacak bölgenin her iki ucundaki DNA dizilerinin bilinmesi gerekmektedir. İlgili diziye karşılık gelen DNA, PCR ile 1.000.000’den daha fazla sayıda kopyalanır. Detaylı analiz için ya da çoğaltılmış genin manipülasyonları için yeterli DNA elde edilir (Fletcher ve Hickey 2015).

Her PCR dört temel bileşenden oluşur:

1. Kalıp DNA: Bu çoğaltılacak DNA dizisidir. Kalıp DNA, genomik DNA’da olduğu gibi, genellikle birçok farklı dizinin kompleks bir karışımıdır. Fakat hedef diziye içeren herhangi bir DNA molekülü de kullanılabilir. Aynı zamanda RNA’dan ters transkriptaz enzimi kullanılarak oluşturulan ilk DNA kopyası PCR için kullanılabilir (Fletcher ve Hickey 2015).

2. Oligonükleotid primerler: Her PCR’da genelde bir çift oligonükleotid primere gerek duyulur. Bunlar, kimyasal yöntemlerle sentez edilen kısa, tek zincirli DNA molekülleridir. Primer diziler, çoğaltılacak dizinin her iki ucundaki DNA ipliğine karşılık gelen tamamlayıcı baz çiftleri olarak düzenlenir (Fletcher ve Hickey 2015).

3. DNA polimeraz enzimi: PCR’da çok sayıda farklı DNA polimeraz enzimi kullanılabilir. Bunların tümü termostabildir ve gerektiğinde yüksek sıcaklıklara (yaklaşık 100°C’ye kadar) dayanabilir. En yaygın kullanılan enzim, *Taq DNA polimeraz*’dır. DNA polimerazın PCR’daki rolü DNA moleküllerinin kopyalanmasıdır. Enzim, tek zincir DNA’ya bağlanır ve orijinal ipliğe tamamlayıcı yeni ipliği sentezler. DNA polimeraz, yeni dizinin sentezini başlatmak için DNA’nın kısa bir bölgesinin çift

zincirli olmasına ihtiyaç duyar. PCR’da bu, çoğaltılacak dizinin her iki ucuna bağlanarak kısa çift zincir bölgeler oluşturan oligonükleotid primerlerle sağlanır. Böylece primerler, DNA polimerazı sadece hedef DNA dizisini kopyalaması için yönlendirir (Fletcher ve Hickey 2015).

4. Deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP’ler): Her reaksiyon, yeni sentezlenecek DNA sentezinde DNA polimeraz tarafından kullanılacak olan dört dNTP’ye (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) gereksinim duyar.

PCR, belli siklusun seri haldeki işlemleridir. Her döngü, farklı sıcaklıklarda gerçekleşecek üç basamağı (denatürasyon, primerlerin bağlanması, uzama) içerir.

Denatürasyon: Çoğaltılması istenen çift zincirli kalıp DNA 90°C’den daha yüksek sıcaklıklara kadar ısıtılır. Bu sıcaklıkta, çift sarmallı yapı kararsızdır ve DNA molekülleri, DNA polimeraz tarafından kopyalanabilecek olan tek zincirlere ayrılır.

Primerlerin bağlanması: Sıcaklığın düşürülmesiyle, çoğaltılması düşünülen DNA için spesifik primerler kendilerine özgü dizileri tanıyıp bağlanmaktadır. Her primer, örnekteki orijinal DNA sarmalının 3’ veya 5’ sarmalından birinin tamamlayıcısıdır. Ortam sıcaklığının, primerlerin optimum koşullarda bağlanabildiği sıcaklığa kadar soğutulması ile primerler kendileri için özgül dizileri tanıyarak 5’→3’ yönünde bağlanmaktadır. Primerlerin özgül olarak bağlanması için kullanılan sıcaklık genellikle 55-65°C arasında değişmektedir (Mackay 2004).

Uzama: Bu aşama, DNA polimerazın en aktif olduğu sıcaklıkta gerçekleştirilir. Bu sıcaklık Taq polimeraz için 72°C’dir. DNA polimeraz, primerlerin pozisyonuna göre pozisyon alır, kalıp olarak tek zincir DNA’yı kullanarak aradan hedef diziyi kopyalar, kalıp DNA’daki hedef dizinin miktarına bağlı olarak 25-35 döngü uygulanır. Çok sayıda ayrı inkübasyon ihtiyacıyla baş edebilmek için PCR, kontrollü ısıtma bloğu olan mikroişlemci (*thermal cycler*) kullanılarak gerçekleştirilir. İlk döngüde, DNA molekülleri hedef diziyi aşan bir şekilde sentezlenir. Bunun nedeni, DNA polimerazın hedef dizinin sonundaki kalıbı kopyalamaya devam etmesini engelleyen hiçbir engelin olmamasıdır. Bununla birlikte, sonraki döngülerde, yeni sentezlenen, primer dizisiyle

biten DNA molekülleri kalıp olarak aktivite gösterir ve hedef dizi sentezini sınırlar. Böylece çoğaltılmış DNA sadece hedef diziyi içerir (Fletcher ve Hickey 2015).

PCR tekniği, hem gen analizlerinde hem de Real Time-PCR (RT-PCR) sonrası RNA moleküllerinin analizinde kullanılır. Aynı zamanda klonlanacak ya da dizilenecek DNA dizisi oluşturmada kullanılır (Fletcher ve Hickey 2015).

2.3.3.2. Gerçek Zamanlı - Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time-PCR)

RT-PCR DNA'nın çoğaltılarak, ürünlerini tek bir tüpte belirlemeyi sağlayan bir yöntemdir (Gibson ve ark. 1996). RT-PCR, PCR reaksiyonunun her döngüsünde DNA ürününün miktarını görüntülemeyi sağlar. Bu, tüm prosedürün çok hızlı ve birkaç saat içinde tamamlandığı anlamına gelir (Fletcher ve Hickey 2015).

RT-PCR'in en yaygın kullanım alanları; biyolojik örneklerden elde edilen DNA'nın kopya sayısını sayısal değerlere dönüştürme ve mRNA'nın düzeyini sayısal olarak belirlemedir. Bu amaçlarla kullanımının yanı sıra tek nokta mutasyonlarını belirleme, patojen belirleme, DNA hasarı belirleme, metilasyon tespiti, SNP analizi, kromozom bozukluklarının tespiti gibi çalışmalarda da kullanım alanları mevcuttur (Kubista ve ark. 2006, Günel 2007).

PCR reaksiyonu sırasında hedef DNA molekülünün elde edilen yeni kopya sayısını doğru bir şekilde izlemek için birçok yöntem kullanılabilir. Bu yöntemlerin hepsinde PCR sırasında oluşan floresansın ölçümüne dayanan bir spektrofotometre ile modifiye edilmiş “*thermal cycler*”a ihtiyaç vardır. PCR reaksiyonundaki DNA sentezinin miktarı her döngüde, hedef diziyeye bağlandığı zaman floresan ışığı yayma yeteneğine sahip olan, floresan etiket ile etiketlenmiş prob kullanılarak ölçülür. Özelleşmiş kimyasal işlemler, bu problemlerin tasarlanması için de gereklidir (Fletcher ve Hickey 2015). RT-PCR, kapalı bir sistem içinde gerçekleştiğinden, bu yöntemde çok sayıdaki örnek ile son derece az kontaminasyon riskiyle güvenle çalışılabilmektedir (Temizkan ve Arda 2005).

2.4. Diş Çürüğü ve Genetik İlişkisi

Diş çürüğüne yatkınlık ile ilgili çeşitli risk faktörleri hakkındaki mevcut bilgilere rağmen, aynı düzeyde çevresel risk faktörlerine maruz kalan bireyler DMFT indeksinde farklılıklar gösterirler (Pine 2005). Bu farklılıklar, çevresel faktörlerin bazı bireyler için diğerlerinden daha fazla karyojenik olmasından kaynaklanabilir, bu da diş çürüğünün etiyopatogenezinde genetik faktörlerin etkisini gösterir (Werneck ve ark. 2010). Diş çürüğü üzerindeki genetik etkiyi daha iyi anlamak için yapılan çalışmalarda, diş çürüğü oluşumunda bireylerin genetik özelliklerinin de etkili olduğu rapor edilmiştir (Ulucan ve ark. 2010, Werneck ve ark. 2010, Vieira 2012 , Cavallari ve ark. 2019).

Diş çürüğü deneyimi için kalıtsallık tahminleri % 30-70 arasında değişmekte olup (Boraas ve ark. 1988, Conry ve ark. 1993, Bretz ve ark. 2005, Wang ve ark. 2010), genetiğin; diş sert dokularının gelişimini, karyojenik bakterilere karşı savunmayı, diyet tercihlerini, tükürük bileşimi ve akış hızı da dahil olmak üzere oral ortamın koruyucu özelliklerini etkileyerek diş çürüğü riskini etkilediği bildirilmiştir (Shaffer ve ark. 2015).

Diş çürüğü ile ilgili bugüne kadarki genetik çalışmaların çoğu, çürük ile ilişkili olduğu düşünülen gen lokuslarındaki spesifik varyantlar veya aleller ile diş çürüğü arasındaki ilişkiyi standart istatistiksel yaklaşımla inceleyerek, genetik faktörlerin diş çürüğüne katkısını belirlemeyi hedeflemiştir. Bu genler, diş çürüğünü etkileyen faktörlere bağlı olarak belirli kategorilerde gruplandırılabilir. Bugüne kadar incelenen başlıca aday gen kategorileri arasında mine formasyon genleri, bağışıklık sistemi, tükürük proteinleri ve tat alma ile ilgili gen polimorfizmleri bulunmaktadır. En çok çalışılan aday gen grubu ise, mine formasyon genleridir (Vieira ve ark. 2014).

Diş minesinin gelişimi sırasında biyomineralizasyona katılan Amelogenin'i kodlayan *AMELX* genindeki varyasyonlar mineralizasyon kusurlarına ve Aİ'ye neden olur (Greene ve ark. 2002, Paine ve ark. 2002).

Non-amelogenin MMP (Enamelin, Ameloblastin ve Tuftelin) geliştirmekte olan minenin protein bileşeninin sadece bir kısmını oluşturmakla birlikte, bu proteinleri

kodlayan genlerdeki mutasyonlar, özellikle *ENAM*'daki mutasyonlar, Aİ'nin en yaygın nedenidir. Bu da bu proteinlerin mine gelişiminde önemli bir rolünün olduğunu gösterir (Renuka ve ark. 2013).

Hastalık fenotipinin oluşmasına katkı sağlayan proteinleri sentezleyen genlerden her biri “*aday gen*” olarak adlandırılır (Fletcher ve Hickey 2015). Önceki aday gen çalışmaları, bu MMP'nin ve ilgili genlerin diş çürüğü ile ilişkili olup olmadığını araştırmıştır. Bu çalışmalarda; diş çürüğü deneyimi ile en bağlantılı genin, *TUFT1* olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, diğer non-amelogenin mine matriks genleri için sonuçlar tutarsızdır. Bu gen çalışmalarında *AMBN*, *ENAM* ve *TFIP11*'deki varyantların diş çürüklerini etkilediği ve etkilemediği şeklinde farklı sonuçlar rapor edilmiştir (Shaffer ve ark. 2015). Çalışmalarda gözlemlenen tutarsızlıklar için olası birçok açıklama arasında, diş çürüğü riskini etkileyen farklı çevresel faktörler yer almaktadır (Shaffer ve ark. 2015). Çalışma tasarımı ile ilgili farklılıklar (DMFT skorları, S.mutans seviyesi, katılımcı sayısı, incelenen genetik polimorfizmler, coğrafi köken, yaş, eşlik eden sistemik durumlar ve incelenen popülasyonun dentisyonu gibi değişkenlerin dahil edilmesi) bildirilen bulgularda görülen tutarsızlıklara katkıda bulunur (Bayram ve ark. 2015).

Patır ve ark. (2008) mine formasyon genlerindeki varyasyonun, asidik koşullar altında minede daha yüksek mineral kayıplarına neden olabilecek yapısal değişikliklere katkıda bulunduğunu ve/veya bakteriyel bağlanma veya biyofilm birikimini kolaylaştırdığını öne sürmüşlerdir.

Çürük oluşumuna yatkınlık oluşturan alellerin belirlenmesi ve bu alellere sahip kişilerde, çürüğe etki eden çevresel faktörlerin sınırlandırılması ve oral hijyenin artırılması önemlidir (Ulucan ve ark. 2010).

Diş çürüğü; oral hijyen alışkanlıkları, beslenme alışkanlıkları, florid kullanımı gibi birçok çevresel faktörden etkilenmekte ve bu nedenle genetik çalışmalarda heterojenitenin azaltılması amaçlanmaktadır. Genetik yatkınlık ile diş çürüğü arasındaki ilişki önem kazanmasına karşılık, bu konu ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır (Vieira 2012).

2.5. Diş Çürüğü Oluşumunda Genetik Yatkınlık Üzerine Yapılan Çalışmalar

2.5.1. Ailesel Yığılım

Ailesel yığılım analizi; ortak genlerin ve aynı çevrenin paylaşımından kaynaklanan, ailelerde hastalık vakalarının kümelenmesini araştırmaktadır (Burton ve ark. 2005, Hopper ve ark. 2005). Bu tip bir genetik analiz yapılırken, kümelenmenin nedenini belirlemek için herhangi bir girişimde bulunulmaz. Amaç yalnızca kümelenmeyi gözlemlemektir (Townsend ve ark. 2008).

Bir özelliğin veya hastalığın bir ailede toplanması genetik etiyolojiyi düşündürür. Bununla birlikte, aileler; diyet ve beslenme, çevre kirliliğine maruz kalma ve sigara kullanımı (aktif ve pasif) da dahil olmak üzere ortak çevrenin birçok yönünü paylaşırlar. Dolayısıyla, ailesel kümelenme; paylaşılan genlerden, çevresel maruziyetlerden ve benzer sosyo-ekonomik etkilerden kaynaklanabilir (Werneck ve ark. 2010).

Bu alandaki ilk çalışmalar, 1930'ların sonunda Amerika'da yapılmıştır. Bu çalışmalarda yaklaşık 4500 çocuk çürük varlığına göre iki gruba ayrılmış ve diş çürüğü bulunan çocukların kardeşlerindeki çürük prevalansının, diş çürüğü bulunmayan çocukların kardeşlerinkinden iki kat fazla olduğu bulunmuştur (Klein ve Palmer 1940).

Klein (1946)'ın Amerika'da, 1.150 Japon aileden 5.400 katılımcıyla yürüttüğü bir çalışmada, ebeveynler ve çocuklar DMFT oranlarına göre düşük, orta ve yüksek olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Çocukların çürük oranı ile ebeveynlerinin DMFT seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

2.5.2. İkiz Çalışmaları

Hastalık üzerindeki genetik etkiyi çevresel etkilerden ayırmada sık kullanılan yöntemlerden birisi de, hem monozigotik (MZ) hem de dizigotik (DZ) ikizleri incelemektir.

MZ ikizler her lokusta aynı genotiplere sahiptir ve her zaman aynı cinsiyettedirler. DZ ikizler ise bütün kardeşler gibi tüm lokuslarda, alellerin ortalama %50'sini paylaşırlar (Nussbaum ve ark. 2001).

Birlikte yetiştirilen DZ ikizler, benzer ortamlarda yetişen ancak tüm genleri ortak olmayan akrabalarda hastalık konkordansını karşılaştırmayı sağlarken, MZ ikizler aynı ortamda birlikte yetiştirilen veya yetiştirilmeyen aynı genotiplere sahip akrabaları karşılaştırmayı sağlar. MZ ikizleri arasındaki hastalık deneyimindeki farklılıklar çevresel faktörlerden ve DZ ikizleri arasındaki farklılıklar hem çevresel hem de genetik farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Kinane ve Hart 2003). İkiz çalışmalarından elde edilen sonuçlar, bir fenotipe genotipin ne oranda etki ettiğini hesaplamakta kullanılabilmektedir. “Konkordans oranları”nın tespiti ikiz çalışmalarının temel ögesidir. Bir çiftteki her iki ikiz de hastalıktan aynı şekilde etkilenmişse konkordans %100'dür (Kornman and Newman 2000).

Diş çürüğün oluşumunda genetiğin etkisinin en önemli kanıtı, farklı yerlerde büyüyen ikizlerin çalışmalarıdır. Yapılan iki çalışmada, araştırmacılar, farklı yerlerde yaşayan MZ ikiz çiftleri arasında dolgulu veya çürük olan dişlerin ve yüzeylerin yüzdesinde önemli benzerlik bulmuş ve diş çürüğü oluşumunda genetiğin katkısının % 40 olduğunu bildirmişlerdir (Boraas ve ark.1988, Conry ve ark. 1993).

Birlikte yaşayan ikizler (Bretz ve ark 2005) ve ailelerle (Wang ve ark 2010) yapılan çalışmalarda, DMFT/dmft ile belirlenen çürüklerin kalıtım derecesi %45-64 olarak tahmin edilmiş, genel olarak süt dişi çürükleri daimi diş çürüklerinden daha yüksek kalıtım derecesi göstermiştir (Wang ve ark.2010).

Tek başına kalıtsallık çalışmaları, çürüklerde genetik bir bileşen göstermek için yeterli değildir, çünkü davranışsal ve çevresel faktörler, akrabalar arasındaki kovaryansa ve genetik korelasyona katkıda bulunabilir (Vieira ve ark. 2014)

Mansbridge (1959), 224 ikiz çiftinde (96 MZ ikiz, 128 DZ ikiz) çürük insidansını incelemiş ve genetik faktörlerin diş çürüğü gelişiminde etkisi olsa da, çevresel faktörlerin daha büyük bir etkiye sahip olduğunu bildirmiştir.

Lovelina ve ark. (2012) 30 ikiz çiftinin (9 MZ ikiz, 21 DZ ikiz) ağız sağlığını incelemişler, MZ ikiz çiftlerinin; diş çürüğü, periodontal hastalık ve maloklüzyon için DZ ikiz çiftlerinden daha yüksek korelasyon oranlarına sahip olduğunu bildirmişlerdir.

2.5.3. Bağlantı ve İlişki Çalışmaları

Genetik epidemiyoloji çalışmaları genellikle bağlantı ve/veya ilişkilendirme analizlerini içerir. Bağlantı analizleri, hastalıkla ilişkili genleri içeren kromozom bölgelerini bulmak için tasarlanmış aile temelli çalışmalardır (Dawn Teare ve Barrett 2005). Amaç, kromozomal lokus ve haritalanan hastalığın fenotiplerinin rastgele olmayan dağılımını bulmaktır (Burton ve ark. 2005).

Bağlantı analizi, fenotip üzerinde güçlü etkisi olan genomik bölgeleri bulmak için etkili bir yöntemdir. Bu analizin avantajı, nispeten az sayıda işaretleyiciyle (yaklaşık 400) genom çapında bir araştırmaya izin vermesidir. Bağlantı analizinin temel sınırlaması, normalde birkaç megabaz ve bir dizi gen boyunca uzanan bir kromozomal bölge bulmasıdır (Risch 2000).

Diş çürüğüne genetiğin katkısını belirlemeye yönelik genom çapında yapılan ilk çalışmalarda bağlantı analizi kullanılmıştır (Opal 2015).

Çürüğü etkileyen birkaç önemli çevresel faktör için genom çapında bağlantı taraması yapılmıştır. Vieira ve ark. (2008), 46 Filipinli ailede düşük çürük deneyimi ile 5q13.3, 14q11.2 ve Xq27.1 lokusları arasında bir bağlantı saptamışlardır. Araştırmacılar X kromozomunda (Xq27.1) cinsiyet farklılıkları üzerinde etkileri olabilecek çürük için koruyucu bir lokus tespit etmişlerdir. Yüksek çürük deneyimi ile 13q31.1 ve 14q24.3 lokusları bağlantılı bulunmuştur ve bu bölgelerde tükürük akış kontrolü ve diyet tercihleriyle ilgili genlerin varlığı da vurgulanmıştır. Araştırmacılar 14q24.3 bölgesinde östrojen reseptörüne benzer bir protein kodlayan bir gen olduğunu bildirmişlerdir (Vieira ve ark. 2008, Opal ve ark. 2015). Östrojenin, ön hipofizden salgılanan büyüme hormonuna etkisi olduğu bilinmekte olup büyüme hormonunun, çürük oluşumunu etkileyebilen tükürük bezlerinin normal histolojik yapısının gelişimi ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (Zhou ve ark. 2006).

Shimizu ve ark. (2013) 471 Filipinli aile üzerinde yaptıkları bir çalışmada benzer bulgular ortaya koymuşlardır. *BTF3* geni rs6862039 belirtecinin T alelinin, 5. kromozomda q12.1-q13.3 bölgesi üzerinde yüksek çürük deneyimi ile ilişkili olduğunu; *PART1* geninin intron 3'ünde yer alan rs27565 belirtecinin T aleli, *ZSWIM6* genindeki rs4700418 belirtecinin G aleli ve *CCNBI* genindeki rs875459 belirtecinin G alelinin düşük çürük deneyimi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Belirli geni ve genetik etkiye neden olan varyantları saptamak için, ilişkilendirme analizi gibi daha fazla duyarlılığa sahip yöntemler gereklidir. Hastalık gelişimi ile ilgili genetik varyantları tanımlamak için ilişkilendirme analizi (aile veya popülasyon temelli) uygulanır. Genetik ilişkilendirme analizinin amacı, etkilenen ve etkilenmeyen popülasyon örneklerindeki alel frekanslarının farklılıklarını tanımlamaktır. İlişkilendirme analizi, hem küçük ölçekli bir aday gen çalışmasında, hem de büyük ölçekli, genom çapında bir ilişkilendirme çalışmasında kullanılabilir (Cordell ve Clayton 2005, Werneck ve ark. 2010).

Biri süt dentisyonda (Shaffer ve ark. 2012) birisi de daimi dentisyonda (Wang ve ark. 2012) yapılan çürükle ilgili genom çapında ilişki çalışmalarında araştırmacılar, daha önceki genom çapında bağlantı çalışmasında bildirilenden farklı lokuslar bildirmişlerdir (Vieira ve ark. 2014). Shaffer ve ark. (2012), süt dentisyon üzerinde yaptıkları çalışmada, genom çapında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ortaya koyamamaları da çürük duyarlılığında olası biyolojik rolü olan üç lokus bildirmişlerdir: 1q42 – q43, 11p13 ve 17q23. Wang ve ark. (2012) ise, 7.443 kişi üzerinde daimi dentisyonda yaptıkları genom taramasının sonucunda, süt dentisyonda yapılan çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde çürük duyarlılığında rolü olan birkaç lokus bildirmişlerdir (Wang ve ark. 2012).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı ve Gerekli Resmi İzinler

Araştırmamız için Kırıkkale Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı (Karar No: 16/01, Tarih: 16.10.2018) (Ek-1), Kırıkkale Valiliği Milli Eğitim Müdürlüğü'nden resmi izin (79140815-605.01-E.9790831 ve 79140815-605.01-E.1237273 sayılı) (Ek-2) alınmıştır.

3.2. Hastaların Seçilmesi ve Çalışma Grupları

Çalışmamız için tarama yapılacak okullar Kırıkkale ilinde bulunan anaokulları, ortaokullar ve liseler olarak belirlenmiş, tarama yapıldıktan sonra çalışmaya dahil edilme kriterlerine uygun olan çocukların ebeveynlerine, uygulama hakkında bilgilerin yer aldığı Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu (Ek-3) ve oral hijyen alışkanlıkları, rutin beslenme düzeni ve flor yararlanımı düzeyi gibi çevresel faktörlerin değerlendirilmesi amacıyla uygulanan Anket Formu (Ek-4) gönderilmiştir. Ayrıca Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Kliniği'ne başvuran hastalar arasından dahil edilme kriterlerine uygun hastalara çalışma hakkında bilgi verilmiş, çalışmaya katılmayı kabul eden ebeveynlerden bilgilendirilmiş gönüllü onam formu ve anket formu doldurmaları istenmiştir. Her grup için, dahil edilme kriterlerine uyan ve çalışmaya katılmayı kabul eden birey sayısı yeterli sayıya ulaştığında, çalışmaya birey alımı sonlandırılmıştır.

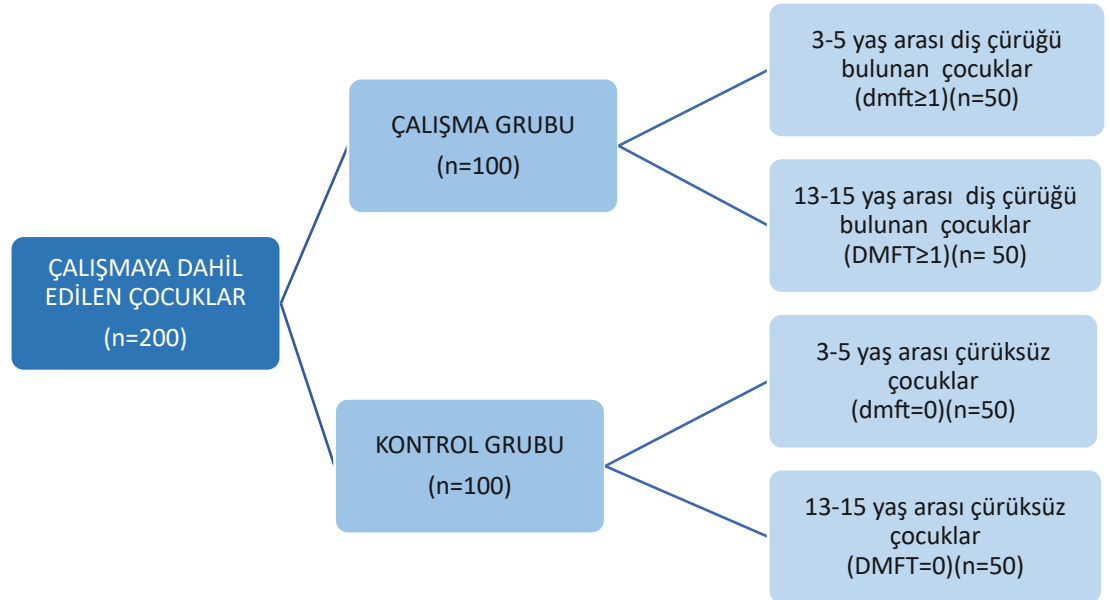
Hastaların araştırmaya dahil edilme kriterleri:

- 3-5 yaş (süt dentisyonu tamamlanmış, karışık dentisyona geçmemiş çocuklar) ve 13-15 yaş aralığında olan (daimi dentisyonu tamamlanmış) çocuklar,
- Araştırmaya katılmayı kabul eden bireyler araştırmaya dahil edilmiştir.

Hastaların araştırmaya dahil edilmeme kriterleri:

- Sistemik ve kalıtsal bir hastalığı bulunan,
- Karışık dentisyon döneminde olan,
- Araştırmaya kardeşlerinden biri dahil edilmiş olan,
- Diş çürüğü haricinde mine hipoplazisi, dental florozis vb. diş doku bozukluğu bulunan,
- Flor oranı optimum değerin (0,7 ppm) üstünde içme suyu kullanan,
- Ortodontik braket kullanmış veya kullanmakta olan,
- Hayatının bir döneminde sistemik flor preparatı kullanmış olan çocuklar araştırma dışı bırakılmıştır.

Araştırma, Eylül 2019 tarihi ile Mart 2020 tarihleri arasında gerçekleştirilmiş, araştırma kriterlerine uygun olan çürüklü ve çürüksüz toplam 200 çocuk çalışmaya dahil edilmiştir. Bireylerin gruplara göre dağılımı Şekil 2.1'deki gibidir.



Şekil 2.1 : Çalışmaya dahil edilen çocukların gruplara göre dağılımı

3.3. Ağız İçi Muayenelerin Yapılması ve Bukkal Sürüntü Örneklerinin Alınması

Çalışmaya dahil edilen çocukların ağız içi muayeneleri yapılmış, WHO kriterleri kullanılarak çürük, dolgulu ve çekilmiş diş sayısı (DMFT, dmft indeksi) belirlenmiş ve sonuçlar olgu rapor formuna kaydedilmiştir (Ek-5).

Her çocuktan, DNA analizi için bukkal sürüntü örnekleri alınmıştır. Sürüntü örneklerini almak için içerisinde pamuklu çubuk bulunan steril kültür tüpleri kullanılmıştır (Şekil 2.2). DNA izolasyonu yapılırken DNA kalitesinin etkilenmemesi için hastalardan işlemde önceki bir saat yemek yememesi istenmiştir. Tüp içerisinden çıkartılan pamuklu çubuk ile hastanın önce sağ yanak içi, 30 s boyunca hafifçe ovulmuş, aynı işlem 30 s boyunca sol yanak için de tekrarlanmıştır. Her iki yanak içinden sürüntü alındıktan sonra pamuklu çubuk tüpün içerisine yerleştirilmiştir. Sürüntü örnekleri DNA izolasyonu yapılana kadar -20°C derin dondurucuda saklanmıştır.



Şekil 2.2: Steril eküvyonlu kültür tüpleri

Araştırmada diş çürüğü ile ilişkisini incelemek amacıyla; *AMBN* geninde rs4694075, *AMELX* geninde rs5933871, *ENAM* geninde rs7671281 ve *TUFT1* geninde rs2337360 polimorfizmi olmak üzere dört SNP seçilmiştir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1: Kullanılan SNP Belirteçleri

ID gen	rs numarası	Alelleri	Lokus	Minör Alel Frekansı
<i>AMBN</i>	rs4694075	CT	4q21 (intronik)	0.521
<i>AMELX</i>	rs5933871	TC	Xp22.31-p22.1 (intronik)	0.344
<i>ENAM</i>	rs7671281	TC	4q13.3 (kodlayan)	0.0799
<i>TUFT1</i>	rs2337360	GA	1q21 (intronik)	0.343

3.4. Örneklerden DNA İzolasyonu

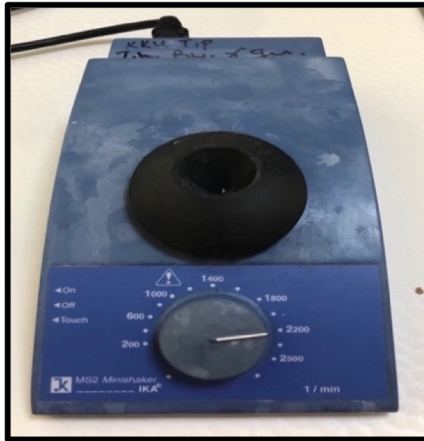
Örneklerin analizleri Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Bukkal sürüntü örneklerinden DNA izolasyonu, SNP genomik DNA İzolasyon Kiti (SNP Biyoteknoloji Araştırma ve Üretim Sanayi-Türkiye) kullanılarak üretici firmanın protokolü doğrultusunda yapılmıştır.

İzolasyon protokolü:

1. 200 µl bukkal sürüntü örneği 1.5 ml steril bir ependorf tüpüne alınır.
2. Üzerine 200 µl solüsyon B3 ve 25 µl Proteinaz K eklenir. Vortekslenir (Şekil 2.3) ve 70 °C de 20 dk inkübe edilir. İnkübasyon esnasında beşer dakikalık aralarla hafifçe vortekslenir.
3. İnkübasyondan sonra tüplerin üzerine 210 µl %99,5'lik etil alkol eklenir. Vorteks yapılır, hafifçe karıştırılır ve kolona aktarılır.

4. 11.000 rpm’de 1 dk santrifüj edilir (Şekil 2.4).
5. Toplama tüpü temizi ile değiştirilir ve kolona 500 µl Solüsyon WB eklenir.
6. 11.000 rpm’de 1 dk santrifüj edilir.
7. Toplama tüpü temizi ile değiştirilir ve kolona 600 µl Solüsyon B5 eklenir.
8. 11.000 rpm’de 1 dk santrifüj edilir.
9. Toplama tüpü boşaltılır ve kolon tekrar yerleştirilir, 11.000 rpm’de 1 dk boş santrifüj edilir.
10. Daha sonra kolon temiz bir 1.5 ml tüpe yerleştirilir. Üzerine daha önceden ısıtılmış Elüsyon solüsyonundan 150 µl eklenir. Oda sıcaklığında 1-2 dk bekletilir.
11. 11.000 rpm’de 1 dk santrifüj edilir. DNA, Elüsyon solüsyonu ile birlikte tüpe aktarılır ve kullanıma hazır hale gelir.



Şekil 2.3: Vorteks cihazı



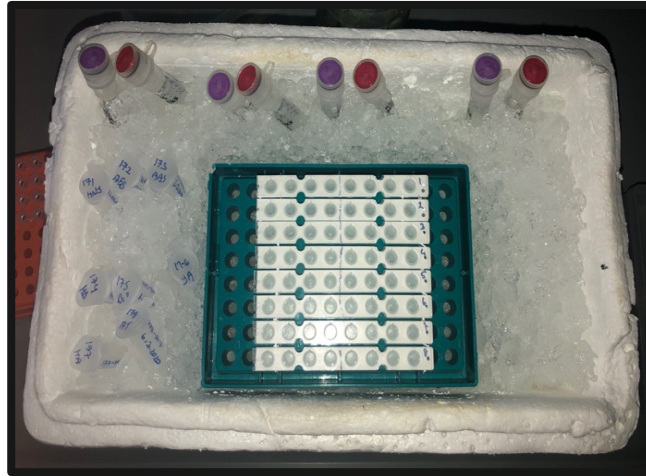
Şekil 2.4: Mikro 22R santrifüj cihazı

3.5. Real-Time PCR Test Prosedürü ve Programı

Real time PCR için EvaGreen boyası içeren Real Time PCR Master Miks Kiti (SNP Biyoteknoloji Araştırma ve Üretim Sanayi-Türkiye) kullanılmıştır. Çalışılacak SNP'lerin her biri için ayrı ayrı miksler bulunmaktadır.

Üretici firmanın test prosedürü doğrultusunda;

1. Miks çözöldükten sonra hafif pipetaj yaparak bir örnek için, her optik kapaklı tüp veya stripe, 20 µl master miks koyulduktan sonra 5 µl örnek DNA eklenir.
2. Hazırlanan örnekler 96 bölümlü PCR plakalarına yerleştirilmiştir (Şekil 2.5).
3. 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystem) cihazı (Şekil 2.6), örnekler reaksiyona girmeden önce yarım saat ısıtılır. PCR döngü programı 95 °C'de 5 dakika (denatürasyon), 95 °C'de 15 saniye (eşleşme) ve son 60 °C'de 1 dakika (sentez) olacak şekilde 32 döngü olarak uygulanır.

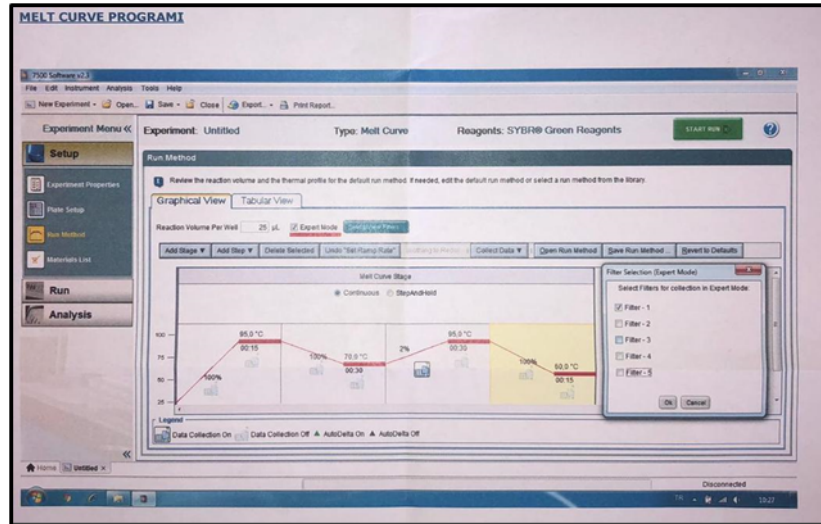


Şekil 2.5: Hazırlanan örneklerin reaksiyon plağına aktarılması



Şekil 2.6: Real Time PCR Cihazı (Applied Biosystem 7500)

70 dk süren amplifikasyon işlemini takiben Erime Eğrisi (Melting Curve) analizi kullanılarak (Şekil 2.7), uygun erime sıcaklıklarının incelenmesiyle genotipler belirlenir (Çizelge 2.2).



Şekil 2.7: Melting Curve programı

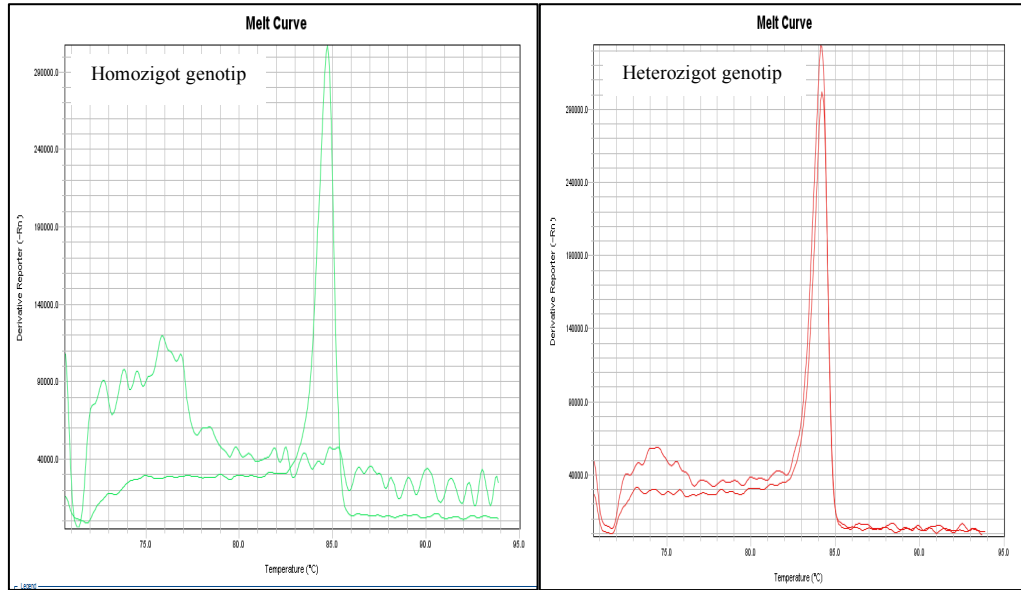
Çizelge 2.2: Melting programı uygun erime sıcaklıkları

MELTING PROGRAM		
95 °C	15 sn	-
70 °C	30 sn	%100
95 °C	30 sn	%2
60 °C	15 sn	%100

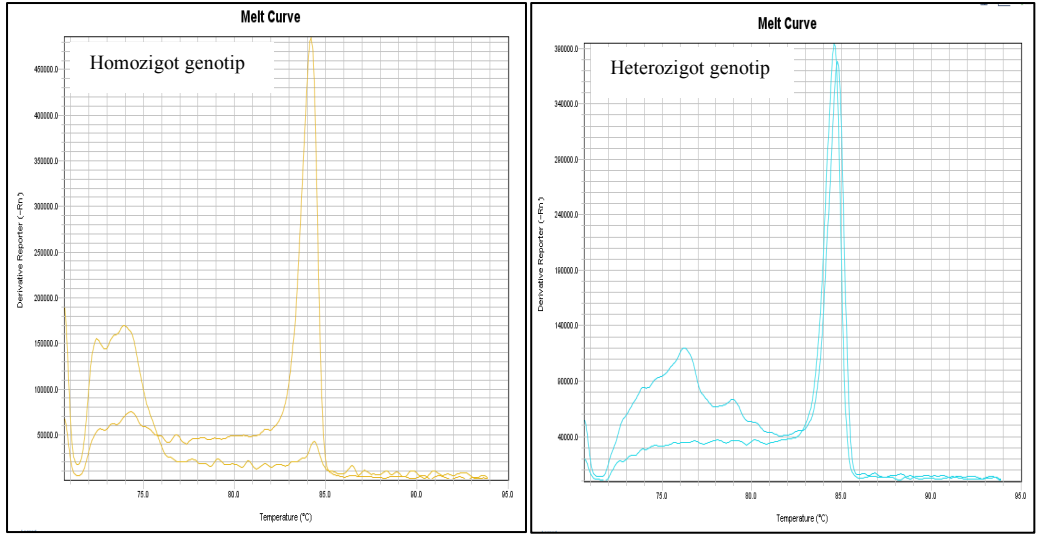
Erime Eğrisi Analizi protokolünde yaklaşık 80-85°C’de erime eğrisi piki oluşturmaktadır. Bu araştırmada çalışılan SNP’lere özgü erime sıcaklıkları Çizelge 2.3’te, SNP’lerin genotip eğrileri Şekil 2.8, 2.9, 2.10 ve 2.11’da gösterilmiştir.

Çizelge 2.3: SNP’lere özgü erime sıcaklıkları

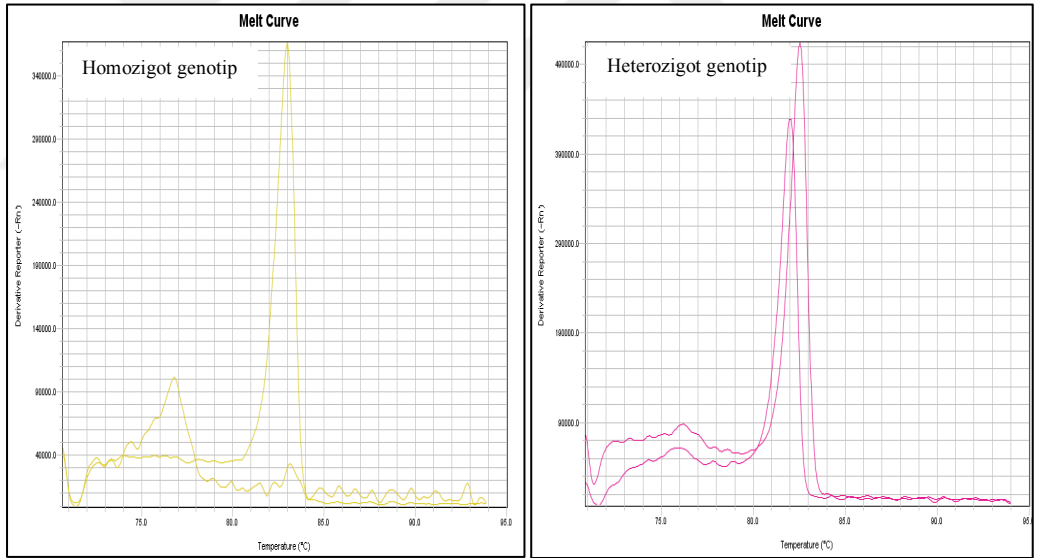
rs	4694075	5933871	7671281	2337360
°C	~84 °C	~85 °C	~82 °C	~80 °C



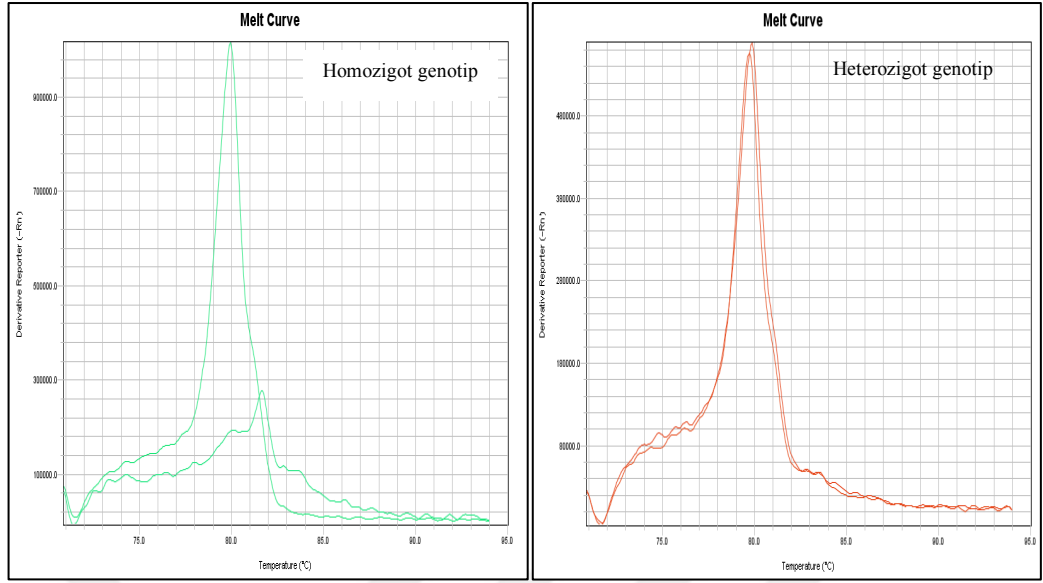
Şekil 2.8: *AMBN* geni rs4694075 genotiplerinin eğrileri



Şekil 2.9: *AMELX* geni rs5933871 genotiplerinin eğrileri



Şekil 2.10: *ENAM* geni rs7671281 genotiplerinin eğrileri



Şekil 2.11: *TUFT1* geni rs2337360 genotiplerinin eğrileri

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmadaki seçilen bireylerin incelenen genlere özgü kararlı bir popülasyonu yansıtır yansıtmadığı Hardy-Weinberg dengesi ile incelenmiştir. Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma, ortanca (en küçük-en büyük), frekans, yüzde olarak verilmiştir. Yaş grupları içerisinde çürük varlığının genotip ve alellere bağlı olup olmadığı kıkare testi ile değerlendirilmiştir. 3-5 yaş ve 13-15 yaş grupları içinde her bir genotipe göre çürüğe etki eden risk faktörü ünivariat lojistik regresyon analizi ile incelenmiştir. Önem düzeyi $p < 0.05$ olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 200 çocuğun 9'undan alınan bukkal sürüntü örneklerinden DNA izolasyonu yapılamadığı için bu bireyler çalışma dışı bırakılmıştır. Bu sebeple çalışmaya, 3-5 yaş grubu süt dentisyon döneminde olan ve diş çürüğü bulunan 47, diş çürüğü bulunmayan 49 çocuk; 13-15 yaş grubu daimi dentisyon döneminde olan ve diş çürüğü bulunan 47, diş çürüğü bulunmayan 48 çocuk olmak üzere toplam 191 çocuk dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen bireylerin çalışma gruplarına göre cinsiyet dağılımı Çizelge 3.1'de, her bir yaş grubu içerisinde çalışma gruplarına göre yaşların; ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerleri Çizelge 3.2'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1 Hastaların gruplara göre cinsiyet dağılımı

		Erkek		Kız		Toplam	
		Kontrol Grubu (%)	Çalışma Grubu (%)	Kontrol Grubu (%)	Çalışma Grubu (%)	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu
Yaş Grupları	3-5 yaş	29 (50.9)	28 (49.1)	20 (51.3)	19 (48.7)	49	47
	13-15 yaş	24 (54.5)	20 (45.5)	24 (47.1)	27 (52.9)	48	47

Çizelge 3.2 Yaş grupları ve çalışma gruplarına göre yaşların karşılaştırılması

Kontrol Grubu (n=97)			Çalışma Grubu (n=94)	
	Ortalama Standart sapma $\bar{x} \pm \sigma$	Ortanca (min-mak)	Ortalama Standart sapma $\bar{x} \pm \sigma$	Ortanca (min-mak)
3-5 yaş (n=96)	4.47±0.77	5 (3-5)	4.68±0.59	5 (3-5)
13-15 yaş (n=95)	14±0.92	14 (13-15)	13.85±0.91	14 (13-15)

4.1. Gen Polimorfizmine Ait Bulgular

4.1.1. *AMBN* Genotip ve Alel Dağılımı

AMBN gen popülasyonunun Hardy-Weinberg uyumu gösterdiği saptanmıştır. Yapılan Erime Eğrisi analizi sonucunda 3-5 yaş grubunda *AMBN* geninin rs4694075 polimorfik bölgesinde; CC, CT ve TT genotip frekansları çalışma grubunda sırasıyla %42.6, %38.3, %19.1; kontrol grubunda ise sırayla %22.4, %61.2, %16.3 olarak elde edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.060$).

Benzer şekilde 3-5 yaş grubunda C alelinin çalışma grubunda görülme oranı %61.7 ve kontrol grubunda %53.1 iken, T alelinin çalışma grubunda görülme oranı %38.3 ve kontrol grubunda %46.9 olarak tespit edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.226$).

13-15 yaş grubunda *AMBN* geninin rs4694075 polimorfik bölgesinde; CC, CT ve TT genotip frekansları çalışma grubunda sırasıyla %19.2, %55.3, %25.5; kontrol grubunda ise sırayla %37.5, %39.6, %22.9 olarak elde edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.127$).

Benzer şekilde 13-15 yaş grubunda C alelinin çalışma grubunda görülme oranı %46,8 ve kontrol grubunda %57,3 iken, T alelinin çalışma grubunda görülme oranı %53,2 ve kontrol grubunda %42,7 olarak tespit edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.148$).

Her iki yaş grubunda çalışma ve kontrol grupları arasında *AMBN* geni genotip ve alel dağılımları açısından istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3 Yaş grupları ve çalışma gruplarına göre *AMBN* geni genotip ve alel dağılımı

Gen		SNP	3-5 Yaş			13-15 Yaş		
			Kontrol Grubu (%)	Çalışma Grubu (%)	p	Kontrol Grubu (%)	Çalışma Grubu (%)	p
AMBN	rs4694075							
	Genotip	CC	11(22.4)	20(42.6)	0.060	18(37.5)	9(19.2)	0.127
		CT	30(61.2)	18(38.3)		19(39.6)	26(55.3)	
		TT	8(16.3)	9(19.1)		11(22.9)	12(25.5)	
	Alel	C	52(53.1)	58(61.7)	0.226	55(57.3)	44(46.8)	0.148
		T	46(46.9)	36(38.3)		41(42.7)	50(53.2)	

$p < 0.05$

4.1.2. *AMELX* Genotip ve Alel Dağılımı

AMELX gen popülasyonunun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı, heterozigot genotipe sahip bireylerin sayısının beklenenden az olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan Erime Eğrisi analizi sonucunda 3-5 yaş grubunda *AMELX* geninin rs5933871 polimorfik bölgesinde; TT, CT ve CC genotip frekansları çalışma grubunda sırasıyla %53.2, %12.8, %34; kontrol grubunda ise sırayla %51, %22.4, %26.5 olarak elde edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.419$).

Benzer şekilde 3-5 yaş grubunda T alelinin çalışma grubunda görülme oranı %59.6 ve kontrol grubunda %62.2 iken, C alelinin çalışma grubunda görülme oranı %40.4 ve kontrol grubunda %37.8 olarak tespit edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.705$).

13-15 yaş grubunda *AMELX* geninin rs5933871 polimorfik bölgesinde; TT, CT ve CC genotip frekansları çalışma grubunda sırasıyla %55.3, %25.5, %19.1 kontrol grubunda ise sırayla %56.3, %14.6, %29.2 olarak elde edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.299).

Benzer şekilde 13-15 yaş grubunda T alelinin çalışma grubunda görülme oranı %68.1 ve kontrol grubunda %63.5 iken, C alelinin çalışma grubunda görülme oranı %31.9 ve kontrol grubunda %36.5 olarak tespit edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.509).

Her iki yaş grubunda çalışma ve kontrol grupları arasında *AMELX* geni genotip ve alel dağılımları açısından istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir (p>0.05) (Çizelge 3.4.).

Çizelge 3.4. Yaş grupları ve çalışma gruplarına göre *AMELX* geni genotip ve alel dağılımı

Gen		SNP	3-5 Yaş			13-15 Yaş		
			Kontrol Grubu (%)	Çalışma Grubu (%)	p	Kontrol Grubu (%)	Çalışma Grubu (%)	p
AMELX	rs5933871							
	Genotip	TT	25(51)	25(53.2)	0.419	27(56.3)	26(55.3)	0.299
		CT	11(22.4)	6(12.8)		7(14.6)	12(25.5)	
		CC	13(26.5)	16(34)		14(29.2)	9(19.1)	
	Alel	T	61(62.2)	56(59.6)	0.705	61(63.5)	64(68.1)	0.509
		C	37(37.8)	38(40.4)		35(36.5)	30(31.9)	

p<0.05

4.1.3. *ENAM* Genotip ve Alel Dağılımı

ENAM gen popülasyonunun Hardy-Weinberg uyumu gösterdiği saptanmıştır. Yapılan Erime Eğrisi analizi sonucunda 3-5 yaş grubunda *ENAM* geninin rs7671281 polimorfik bölgesinde; TT, CT ve CC genotip frekansları çalışma grubunda sırasıyla %89.4, %10.6, %0; kontrol grubunda ise sırayla %79.6, %16.3, %4.1 olarak elde edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.251$).

Benzer şekilde 3-5 yaş grubunda T alelinin çalışma grubunda görülme oranı %94.7 ve kontrol grubunda %87.8 iken, C alelinin çalışma grubunda görülme oranı %5.3 ve kontrol grubunda %12.2 olarak tespit edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.151$).

13-15 yaş grubunda *ENAM* geninin rs7671281 polimorfik bölgesinde; TT, CT ve CC genotip frekansları çalışma grubunda sırasıyla %91.5, %8.5, %0; kontrol grubunda ise sırayla %89.6, %10.4, %0 olarak elde edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=1$).

Benzer şekilde 13-15 yaş grubunda T alelinin çalışma grubunda görülme oranı %95.7 ve kontrol grubunda %63.5 iken, C alelinin çalışma grubunda görülme oranı %4.3 ve kontrol grubunda %36.5 olarak tespit edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=1$).

Her iki yaş grubunda çalışma ve kontrol grupları arasında *ENAM* geni genotip ve alel dağılımları açısından istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. Yaş grupları ve çalışma gruplarına göre *ENAM* geni genotip ve alel dağılımı

Gen		SNP		3-5 Yaş			13-15 Yaş		
				Kontrol Grubu (%)	Çalışma Grubu (%)	p	Kontrol Grubu (%)	Çalışma Grubu (%)	p
ENAM	rs7671281								
	Genotip	TT	39(79.6)	42(89.4)	0.251	43(89.6)	43(91.5)	1.000	
		CT	8 (16.3)	5(10.6)		5(10.4)	4(8.5)		
		CC	2(4.1)	0(0)		0(0)	0(0)		
	Alel	T	86(87.8)	89(94.7)	0.151	61(63.5)	90(95.7)	1.000	
		C	12(12.2)	5(5.3)		35(36.5)	4(4.3)		

$p < 0.05$

4.1.4. *TUFT1* Genotip ve Alel Dağılımı

TUFT1 gen popülasyonunun Hardy-Weinberg uyumu gösterdiği saptanmıştır. Yapılan Erime Eğrisi analizi sonucunda 3-5 yaş grubunda *TUFT1* geninin rs233760 polimorfik bölgesinde; GG, GA ve AA genotip frekansları çalışma grubunda sırasıyla %31.9, %25.5, %42.6; kontrol grubunda ise sırayla %28.6, %22.4, %49 olarak elde edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.819$).

Benzer şekilde 3-5 yaş grubunda G alelinin çalışma grubunda görülme oranı %53.2 ve kontrol grubunda %53.1 iken, A alelinin çalışma grubunda görülme oranı %46.8 ve kontrol grubunda %46.9 olarak tespit edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.986$).

13-15 yaş grubunda *TUFT1* geninin rs233760 polimorfik bölgesinde; GG, GA ve AA genotip frekansları çalışma grubunda sırasıyla %38.3, %14.9, %46.8 kontrol grubunda ise sırayla %43.8, %12.4, %43.8 olarak elde edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.852$).

Benzer şekilde 13-15 yaş grubunda G alelinin çalışma grubunda görülme oranı %38.3 ve kontrol grubunda %34.4 iken, A alelinin çalışma grubunda görülme oranı %61.7 ve kontrol grubunda %65.6 olarak tespit edilmiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.574$).

Her iki yaş grubunda çalışma ve kontrol grupları arasında *TUFT1* geni genotip ve alel dağılımları açısından istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6. Yaş grupları ve çalışma gruplarına göre *TUFT1* geni genotip ve alel dağılımı

Gen		SNP	3-5 Yaş			13-15 Yaş		
			Kontrol Grubu (%)	Çalışma Grubu (%)	p	Kontrol Grubu (%)	Çalışma Grubu (%)	p
TUFT1	rs233760							
	Genotip	GG	14(28.6)	15(31.9)	0.819	21(43.8)	18(38.3)	0.852
		GA	11(22.4)	12(25.5)		6(12.4)	7(14.9)	
		AA	24(49)	20(42.6)		21(43.8)	22(46.8)	
	Alel	G	52(53.1)	50(53.2)	0.986	33(34.4)	36(38.3)	0.574
		A	46(46.9)	44(46.8)		63(65.6)	58(61.7)	

$p < 0.05$

3-5 yaş ve 13-15 yaş grupları içinde, her bir genetik polimorfizmin diş çürüğüne etkisini incelemek için yapılan ünivariat lojistik regresyon analizi sonuçlarına göre; 3-5 yaş grubunda *AMBN* geni rs4694075 belirtecinde bireylerin CT genotipi taşımasının CC genotipi taşımasına göre diş çürüğüne yatkınlığı azalttığı tespit edilmiştir ($p=0.021$). 13-15 yaş grubunda ise *AMBN* geni rs4694075 belirtecinde bireylerin CT genotipi taşımasının CC genotipi taşımasına göre diş çürüğüne yatkınlığı artırdığı tespit edilmiş ve çürük oluşturma riski 2.737 kat fazla bulunmuştur ($p=0.047$). Diğer genotipler ise referans kategorilere göre çürük üzerinde anlamlı bir risk faktörü oluşturmamıştır (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7 Grup içi çürüğe etki eden genotiplerin lojistik regresyon analizi ile incelenmesi

3-5 yaş grubu			13-15 yaş grubu	
	OR (%95 CI)	p	OR (%95 CI)	p
AMBN rs4694075*				
TT	0.619 (0.186-2.061)	0.434	2.182 (0.695-6.852)	0.181
CT	0.330 (0.129-0.844)	0.021	2.737 (1.012-7.403)	0.047
AMELX rs5933871**				
CC	1.231 (0.491-3.082)	0.658	0.668 (0.247-1.807)	0.668
TC	0.545 (0.175-1.703)	0.297	1.780 (0.607-5.224)	0.294
ENAM rs7671281**				
CT	0.580 (0.175-1.926)	0.374	0.800 (0.201-3.183)	0.751
TUFT1 rs2337360***				
AA	1.018 (0.340-3.045)	0.974	1.361 (0.386-4.794)	0.631
GA	0.778 (0.304-1.990)	0.600	1.222 (0.513-2.912)	0.651

$p < 0.05$

* CC referans kategori, **TT referans kategori, *** GG referans kategori

Aleller açısından incelendiğinde ise gruplar arasında alel görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı, yani çürük üzerinde bir risk faktörü olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8 Grup içi çürüğe etki eden alellerin lojistik regresyon analizi ile incelenmesi

	3-5 yaş grubu		13-15 yaş grubu	
	OR (%95 CI)	p	OR (%95 CI)	p
AMBN rs4694075*	1.214 (0.425-3.467)	0.717	1.153 (0.451-2.951)	0.766
AMELX rs5933871**	0.917 (0.411-2.043)	0.831	1.038 (0.462-2.334)	0.927
ENAM rs7671281**	0.464 (0.146-1.479)	0.194	0.800 (0.201-3.183)	0.751
TUFT1 rs2337360***	0.844 (0.330-2.157)	0.724	0.816 (0.253-2.639)	0.735

$p < 0.05$

* C referans kategori, **T referans kategori, *** G referans kategori

5. TARTIŞMA

Mültifaktöriyel bir hastalık olan diş çürüğünün etiyolojisi, çevresel risk faktörleri ve genetik yatkınlık ile ilişkilendirilmiş olup (Shuler 2001, Wang ve ark. 2012, Vieira ve ark. 2014, Opal ve ark. 2015), çok sayıda çalışmada çürük, diyet ve oral hijyen arasındaki ilişki kanıtlanmış olmasına rağmen (Tinano ve Palmer 2000, Arora ve ark. 2011), günümüzde genetiğin rolü hakkında az sayıda çalışma vardır (Olszowski ve ark. 2012).

Çürük etiyolojisinde genetiğin rolü, 1900'lerin başından beri çeşitli yaklaşımlarla araştırılmış ve ikiz çalışmalarıyla kanıtlanmıştır (Bachrach ve Young 1927, Goldberg 1930, Conry ve ark. 1993, Bretz ve ark. 2005, Wright 2010). Son yıllarda yapılan genetik çalışmalarda yüksek çürük duyarlılığı ile ilişkilendirilen birkaç gen tanımlanmış, mine oluşumunda yer alan proteinleri kodlayan genlerin diş çürüğü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Slayton ve ark. 2005, Deeley ve ark. 2008, Patır ve ark. 2008, Vieira ve ark. 2008, Wright 2010, Gasse ve ark. 2013).

Bu konuda daha önce yapılan çalışmaların çoğunlukla sadece süt dentisyonda veya sadece daimi dentisyonda yapılmış olması nedeniyle, süt ve daimi dişlerde diş çürüğü üzerindeki genetik faktörlerin etkisinin kapsamlı bir karşılaştırması yapılamamıştır. Diş çürüğü ile kalıtım ilişkisinin süt ve daimi dentisyon için benzer olup olmadığı ve aynı veya farklı genleri içerip içermediği hâlâ tam olarak aydınlatılamamıştır (Renuka ve ark. 2013).

Süt ve daimi dişler arasındaki morfolojik ve histolojik farklılıklar nedeniyle, klinik olarak, çürük lezyonlarının ilerlemesi farklı özellikler gösterir. Wang ve ark. (2006) süt dişi minesinin daimi diş minesinden çok daha hızlı demineralize olduğunu, bunun da çürük gelişiminde kritik bir faktör olduğunu bildirmişlerdir (Vieira ve ark. 2015).

Süt dentisyon döneminde görülen çürüklerin genom çapında ilişki analizleri (Shaffer ve ark. 2011) daimi dentisyon döneminde görülen çürüklerin benzer

analizlerine kıyasla farklı sonuçlar göstermiştir (Wang ve ark. 2012, Bayram ve ark. 2015).

Süt ve daimi dişlerde diş çürüğü etyolojisindeki genetik faktörlerin etkisinin karşılaştırıldığı az sayıda araştırma bulunduğu için, bu tez çalışmasında mine matriks protein sentezinden sorumlu genlerdeki polimorfizmler ile süt ve daimi diş çürüğü arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle çalışmamıza 3-5 yaş (süt dentisyonu tamamlanmış, karışık dentisyona geçmemiş çocuklar) ve 13-15 yaş aralığında olan (daimi dentisyonu tamamlanmış) çocuklar dahil edilmiştir.

Bazı sistemik hastalıklar, yaygın olarak kullanılan bazı ilaçlar ile baş ve boyun radyoterapisi gibi tedaviler salgılanan tükürük miktarında azalmaya neden olarak, çürük gelişimi üzerinde etkili olabilmektedir (Fontana ve Zero 2006). Bu nedenle çalışmaya sistemik hastalığı olan, radyoterapi tedavisi görmüş ve düzenli ilaç kullanan hastalar dahil edilmemiştir. Ayrıca ortodontik tedavi gören hastalarda ağızdaki karyojenik mikroorganizma seviyesinde görülebilen artışlar nedeniyle bu hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Mine hipoplazisi, mine hipomineralizasyonu ve dental florozis gibi dişlerde doku bozukluğu bulunan bireyler de çalışmaya dahil edilmemiştir.

Belirli bir geni diş çürüğüyle ilişkilendiren çalışmalarda, genetik faktörlerle birlikte, diş çürüğü gelişiminde rol alan çevresel faktörlerin rolü genellikle ihmal edilmektedir (Piekoszewska-Zietek ve ark. 2017). Genetik ve çevresel faktörler çürük etyolojisinde bir arada etkili olmalarına rağmen, araştırmalar genellikle bu bileşenlerden birine odaklanmaktadır ve bu faktörlerin etkileşimlerini analiz etmeye yönelik az sayıda çalışma yapılmıştır (Wang ve ark. 2012, Chaussain ve ark. 2014, Abbasoğlu ve ark. 2015, Shaffer ve ark. 2015, Yıldız ve ark. 2016, Piekoszewska-Zietek ve ark. 2017).

Çalışmamızda çürük etyolojisinde rol oynayan çevresel faktörleri elimine etmek amacıyla; çocukların oral hijyen alışkanlıkları, rutin beslenme düzenleri ve flor yararlanım düzeyleri gibi faktörlerin belirlenmesine yönelik anketler uygulanmıştır. Ancak anketlerin değerlendirilmesi sonucunda, çalışmaya dahil edilen bireyler

arasında benzer beslenme ve oral hijyen alışkanlıkları ile flor yararlanımı sonuçlarına ulaşılmış ve çalışmaya dahil edilen bireyler farklı gruplarda değerlendirilememiştir.

Diş çürüğünün kontrol ve önlenmesinde içme sularında bulunan florun etkisi yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Harding ve O'Mullane 2013, ADA 2016). Ayrıca araştırmacılar içme suyu flor konsantrasyonunun optimum değerin üstüne çıktığında dental florozis görülme sıklığının arttığını bildirmiştir. Yüksek flor konsantrasyonlarında dental florozis şiddetinin artmasıyla birlikte dişte görülen hipomineralizasyon ve hipoplaziler nedeniyle dişin yapısal bütünlüğünün bozulduğu bildirilmiştir (Narbutaite ve ark. 2016). Bu sebeple içme suyunda bulunması gereken optimum flor dozu büyük önem taşımaktadır. 2011 yılında “Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA)” ile “Sağlık ve İnsan Hizmetleri Departmanı (HHS)” optimum flor değerini 0,7 ppm olarak belirlemiş ve 0,7 ppm flor içeren içme sularının düzenli ağız bakımı ile birlikte diş çürüğünü önlemek için en uygun değer olduğunu bildirmiştir (EPA 2011). Ayrıca AAPD flor kullanımı ile ilgili yayınladığı son kılavuzunda optimum flor dozunu 0,7 ppm olarak önermiştir (AAPD 2014). Bu nedenle çürük riskini etkilememesi için bu çalışmaya; flor oranı optimum değerin (0,7ppm) üstünde içme suyu kullanan ve sistemik flor preparatı kullanmış olan bireyler dahil edilmemiştir.

Olszowski ve ark. (2012), Patır ve ark. (2008) ve Kang ve ark. (2011) çalışmalarında, çürük teşhisinde radyografilerin tanı değerlerine rağmen, küçük çocukların radyasyona maruz kalmasını önlemek amacıyla radyografi almadıklarını bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında da radyografik muayene yapılmamış, ayna ve sond kullanılarak gözle muayene yapılmıştır.

Moleküler tanı yöntemlerinin uygulanmasında DNA izolasyonu için; doku, kan, idrar, tükürük gibi biyolojik numunelerin kullanılabileceği ifade edilmektedir (Açıkgöz ve ark. 2002). Bukkal sürüntüden DNA izolasyonu; daha uygun maliyetli, daha az zaman alan, non-invaziv ve laboratuvar şartlarında en az risk taşıyan yöntemdir (Gustaaf ve ark. 2009). Çalışmamızda, Slayton ve ark. (2005), Olszowski ve ark. (2012), Yıldız ve ark. (2015) ve Gerreth ve ark. (2017) ile benzer şekilde bukkal sürüntü örneklerine ait epitel dokusu kullanılmıştır.

DNA genotiplemesi yapılırken kullanılan analizlerde, floresan ışıma tekniklerinin kullanıldığı hassas ölçüm sistemlerinin PCR sistemine entegre edilmesi ile birlikte, reaksiyonun gerçek zamanlı olarak izlenmesi ve müdahale edilmesi (örn. PCR döngülerinin sayısının vb. değiştirilmesi) mümkün hale gelmiştir. DNA analizinin gerçek zamanlı yapılabildiği bu sistemlerde, PCR sonrası ikincil analiz (jel elektroforez, vb.) işlemlerinin uygulanmasına gerek kalmamaktadır. Böylece verimlilik artmakta, kontaminasyon riski azalmaktadır (Temizkan ve Arda 2005). RT-PCR sistemlerinin başlıca avantajları şunlardır; spesifik olmayan amplifikasyonlar analiz sonuçlarını etkilememekte ve gerçek zamanlı analiz yapılabilmektedir, yaklaşık 30 dk ile 2 saat arasında değişen hızlı döngü süreleri işlem süresini kısaltmaktadır, spesifik erime eğrisi analizleri ve spesifik amplifikasyonlar kolayca tanımlanabilir, yüksek duyarlılık, özgüllük ve tekrarlanabilirliğe sahiptir. Sonuç olarak RT-PCR, fonksiyon-fiyat oranı açısından konvansiyonel PCR'dan daha ekonomiktir (Abbasoğlu 2013). Bu nedenlerden dolayı bu çalışmada, RT-PCR cihazı tercih edilmiştir. Benzer şekilde Deeley ve ark. (2008), Wendell ve ark. (2010), Tannure ve ark. (2012), Wang ve ark. (2012) ve Abbasoğlu (2013) da çalışmalarında RT-PCR cihazını kullanmışlardır. RT-PCR cihazı kullanılan bu çalışmalarda genotipleme için Taqman prob yöntemi kullanılmıştır. Bakır (2013)'ın, 6-12 yaş arası 174 çocuğun dahil edildiği, *TAS1R3* geni rs307355 polimorfizminin diş çürüğü ve şekerli tat hissinin algılanması ile ilişkisini araştırdığı çalışmada ise; tükürük örneklerinden DNA izolasyonu yapılmış, genotipleme ise 'Melting Curve' analiziyle gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada da DNA izolasyonu ve RT-PCR ardından 'melting' reaksiyonu gerçekleştirilmiş ve her alel için erime eğrileri değerlendirilerek genotipleme yapılmıştır.

İnsanlarda diş çürüğü üzerine yapılan ilk moleküler genetik çalışmalar, tükürükteki prolin bakımından zengin peptidlere (Yu ve ark.1986, Ayad ve ark. 2000, Young ve ark. 2002, Zakhary ve ark. 2007) ve mine formasyon genlerine (Slayton ve ark. 2005, Deeley ve ark. 2008) odaklanmıştır. Amelogenez genetik kontrol altındadır ve dişin boyutu, biçimi ve çürük duyarlılığı gibi özellikler genetik varyasyonlardan etkilenebilir (Simmer ve Hu 2001, Patır ve ark. 2008). Çürük ile ilgili birkaç spesifik gen tanımlanmıştır ve en kapsamlı şekilde incelenenler mine matriks genleri ailesidir (Shaffer ve ark. 2015).

Patır ve ark. (2008) mine formasyon genlerindeki genetik varyasyonun, minenin yapısını değiştirerek asidik ortamda daha fazla mineral kaybına neden olduğunu, bakterilerin tutunmasını ve biyofilm birikimini kolaylaştırdığını bildirmiş ve bu varyasyonların çürüğe yatkınlığı artırabileceği bildirmişlerdir.

MMP'lerden biri olan Ameloblastin, hücre adezyon proteini olarak işlev görür ve prizmaların bütünlüğünü korumak ve hücre farklılaşmasını kontrol etmekten sorumlu olduğu bilinmektedir. Amelogeninler diş minesi formasyonu için gerekli olan hücre dışı matriks proteinleridir (Olszowski ve ark. 2012). *AMELX* geninin bilinen mutasyonlarının, mine kalınlığı ve mineralizasyon bozukluklarında kritik öneme sahip olduğu rapor edilmiştir (Ouryouji ve ark. 2008). Enamelinin, Amelogenin ile birlikte, kristal uzamasını ve çekirdeklenmesini kontrol ettiği bildirilmiştir (Yamakoshi ve ark. 2001). Yine mine proteinlerinden biri olan Tuftelinin ise mine kristal gelişiminde görev aldığı ileri sürülmektedir (Maoa ve ark. 2001). Çalışmamızda mine sentezi ve gelişiminde önemli rol oynayan Ameloblastin, Amelogenin, Enamelin ve Tuftelin MMP'nin sentezinden sorumlu genlerdeki polimorfizmler incelenmiştir.

Araştırmamızda 3-5 yaş arasındaki 47 çürüklü ($dmft \geq 1$) ve 49 çürüksüz çocuk ile; 13-15 yaş arasındaki 47 çürüklü ($DMFT \geq 1$) ve 48 çürüksüz çocuktan alınan DNA örneklerinden *AMELX* (rs5933871), *AMBN* (rs4694075), *ENAM* (rs7671281) ve *TUFT1* (rs2337360) olmak üzere dört gende dört SNP incelenmiştir. Bu SNP'lerin daha önce yapılan çalışmalarda farklı popülasyon gruplarında çürük duyarlılığı ile ilişkili olduğu bildirilmiş (Deeley ve ark. 2008, Patır ve ark. 2008, Kang ve ark. 2011) dört mine formasyon genindeki (*AMBN*, *AMELX*, *ENAM*, *TUFT1*) minör alel sıklığı yüksek olan yani toplumda rastlanma olasılığının fazla olduğu SNP'lerden seçilmiştir.

Süt ve daimi dişlerde bulunan çürük ile gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi karşılaştıran az sayıdaki araştırmadan biri olan Wang ve ark. (2010)'nın yaptıkları çalışmada; diş çürüklerinin gelişiminde etkili bir faktör olan gen polimorfizminin, süt dişlenme ve daimi dişlenme üzerindeki etkisinin farklılık gösterip göstermediği araştırılmıştır. Araştırmacılar aile temelli olasılık yöntemlerini kullanarak, 740 aileden gelen çürüklü ve çürüksüz 2600 katılımcıyla yaptıkları çalışmada, hem çocuklar hem de yetişkinlerde çürüğe bağlı fenotiplerin kalıtım derecesini değerlendirmişlerdir.

Çalışma sonucunda süt dişlenmedeki çürük fenotiplerinin yüksek kalıtım gösterdiği ve genlerin, çürük skorlarındaki değişimin %54-70'ini oluşturduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca daimi dişlenmedeki çürük skorlarının kalıtım ilişkisi oranının, süt dişlenmedeki benzer fenotiplerden daha düşük (%35-55) olduğunu rapor etmişlerdir ve bu nedenle araştırmacılar, süt ve daimi dişlerdeki diş çürüğü gelişiminden sorumlu genlerin farklı olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Bayram ve ark. (2015) gen polimorfizmlerinin, süt ve daimi diş çürüklerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, genetik varyasyonların mine gelişimini etkilediğini ve bu etkilerin süt ve daimi dişlerde farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bununla birlikte Olszowski ve ark. (2012) 5 ve 13 yaş grubu 179 Polonyalı çocuk üzerinde yaptıkları çalışmada, *MBL2* geni rs7096206 ve rs1800450 polimorfizmlerinin Polonyalı çocuklarda çürük deneyimi ile ilişkili olduğunu, ancak bu ilişkinin süt ve daimi dentisyonda birbirine zıt olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada, *MBL2* geni rs7096206 ve rs1800450 polimorfizmleri süt dentisyonda düşük çürük risk grubuyla ilişkiliyken, daimi dentisyonda yüksek çürük risk grubuyla ilişkili olduğu rapor edilmiştir.

Linhartova ve ark. (2017) 2-6 yaş arası 187 çocuk ve 13-15 yaş arası 718 çocuk olmak üzere toplam 905 bireyden aldıkları DNA örnekleriyle yaptıkları çalışmada, *ENAM* geninin rs12640848 belirtecinin diş çürüğü ile ilişkisini hem süt dişlerinde hem de daimi dişlerde incelemişlerdir ve *ENAM* gen polimorfizmi ile çürük varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca ulaşamamışlardır. Araştırmacılar *ENAM*'ın, diş çürükleri için bir aday gen olarak kabul edilse de, genlerdeki bireysel varyasyonların çok az etkiye sahip olduğunu ve çok faktörlü hastalıkların araştırılmasında kompleks bir yaklaşımın gerekli olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda yapılan analizler sonucunda, 3-5 yaş grubu çocuklarda *AMBN* genindeki rs4694075 belirtecinin CT genotipinin diş çürüğüne yatkınlığı azalttığı tespit edilmiştir ($p=0.021$). 13-15 yaş grubu çocuklarda ise bu genotipin diş çürüğüne yatkınlığı artırdığı, bulunan değerler istatistiksel olarak anlamlı ancak anlamlılık sınırında olduğu ($p=0.047$) tespit edilmiştir. Çalışmamızda *AMBN* gen polimorfizminin çocuklarda çürük deneyimi ile ilişkili olduğu, ancak bu ilişkinin süt

ve daimi dentisyonda birbirine zıt olduğu gözlemlenmiştir. *AMBN* gen polimorfizminin süt dentisyonda çürüğe yatkınlığı azaltırken, daimi dentisyonda çürüğe yatkınlığı artırdığı söylenebilir. Bu bulgu Olszowski ve ark. (2012)'nın *MBL2* geni ile bulguladıkları sonuçla benzerlik göstermektedir. Gen polimorfizmleri proteinlerin normal fonksiyonunu değiştirerek etki gösterir. *AMBN* geninin ameloblastların farklılaşması üzerinde etkili olduğu düşünülürse, bu gendeki polimorfizmin ameloblast fonksiyonlarını etkilediği ve süt dişi minesinin gelişim aşamasında dokunun çürüğe duyarlılığını azaltacak histolojik değişikliklere sebep olmuş olabileceği akla gelmektedir. Bu polimorfizmin süt dişlerinde çürük duyarlılığını azaltması ile ilgili mekanizmanın ancak detaylı histolojik hayvan deneyleri ile açıklanabileceği düşüncesindeyiz.

Abbasoğlu ve ark. (2015), 2-5 yaş arası 123 diş çürüğü bulunmayan ($dmft = 0$) ve 136 diş çürüğü bulunan ($dmft \geq 1$) 259 çocukla yaptıkları çalışmada genetik varyantlar ile Erken Çocukluk Çağı Çürüğü (EÇÇ)'ndeki çevresel faktörler arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve *AMBN* geninin rs4694075 belirteci ile diş çürüğü arasında bir ilişki tespit etmemişlerdir. Gerreth ve ark. (2017) da 48 diş çürüğü bulunan ve 48 diş çürüğü bulunmayan 20-42 aylık 96 Polonyalı çocuktan aldıkları örneklerle yaptıkları çalışmada, aynı şekilde *AMBN* geninin rs4694075 belirteci ile diş çürüğü arasında bir ilişki bulamamışlardır. Çalışmamızda *AMBN* geni rs4694075 belirteci ile ilgili bulgumuz, Abbasoglu ve ark. (2015) ve Gerreth ve ark. (2017)'nin yaptıkları çalışmalar ile benzerlik göstermemektedir. Bunun sebebinin çalışılan popülasyonların farklılığı ve araştırmamızın örneklem büyüklüğünün sınırlılığından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Bayram ve ark. (2015) *AMBN* geninin rs4694075 belirtecinde, daimi dentisyonda TT genotipi ile düşük çürük risk grubu arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir ilişki olduğunu, ancak süt dentisyonda genetik varyasyonların çürük deneyimi ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. Shimizu ve ark. (2012)'nin Filipinli 72 aileden yaşları 1 ile 82 arasında değişen 477 kişi ile yaptıkları çalışmada, *AMBN* geninin rs4694075 belirtecinde herhangi bir genotip ile diş çürüğü arasında ilişki bulunamamış ancak C aleli ile yüksek çürük risk grubu arasında anlamlı ilişki

saptanmıştır. Araştırmacılar süt ve daimi diş gruplarını ayırt etmedikleri için çalışma sonuçlarımız bu çalışma ile karşılaştırılamamıştır.

Çalışmamızda *AMELX* geni rs5933871 belirteci ile süt ve daimi diş çürüğüne yatkınlık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Kang ve ark. (2011) Japonya’da 12 yaşından büyük çocuklarla yaptıkları çalışmada bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu şekilde *AMELX* geni rs5933871 belirteci ile çürük duyarlılığı arasında ilişki olmadığını bildirmişlerdir.

Patır ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada, Türk çocuklarında mine formasyonunda rol alan genlerle yüksek çürük riski arasındaki ilişki araştırılmıştır. 3-6 yaşlarındaki, dmfs ≥ 4 olan 91 çocuk ve 82 çürüksüz çocuk çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma ve kontrol grubundaki bireylerden DNA örnekleri alınmış ve bu çalışmayla ortak 4 gen olmak üzere 5 gende (*AMBN*, *AMELX*, *ENAM*, *TUFT1*, *TFIP11*) 6 adet SNP’yi incelemişlerdir. Çalışmalarında bu çalışmadan farklı olarak *AMELX* genindeki rs17878486 polimorfizminin diş çürüğüyle ilişkisini araştırmışlar ve C alelinin varyasyonunun Türk çocuklarında çürük duyarlılığına katkıda bulunabileceğini bulmuşlardır. Bayram ve ark.’nın (2015) yaptıkları çalışmada ise bunun aksine *AMELX* geninin rs17878486 belirteci, C alelinin düşük çürük risk grubu ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Öte yandan Abbasoğlu ve ark.’nın (2015) yaptıkları çalışmada Türk çocuklarında aynı *AMELX* polimorfizmi ile çürük duyarlılığı arasında bir ilişki bulunmamıştır. Gerreth ve ark. (2017) *AMELX* geni rs17878486 belirtecinde T aleli ve TT homozigot genotip frekansı ile çürük duyarlılığı arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır.

Deeley ve ark. (2008) 12 yaşından büyük 110 kişiden topladıkları DNA örnekleriyle yaptıkları çalışmada *AMELX*, *AMBN*, *TUFT1*, *ENAM* ve *TFIP11* genleri ile Guatemala toplumundaki çürük ilişkisini araştırmışlar ve *AMELX* geni hCV2190967 polimorfizmi ile yüksek DMFT (DMFT>20) arasında ilişki olduğunu tespit etmişlerdir. Diğer gen polimorfizmleriyle diş çürüğü arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır.

Bayram ve ark.’nın (2015) yaptıkları çalışmada *AMELX* geninin rs946252 belirtecinin T aleli yüksek çürük risk grubunda, düşük çürük risk grubundan

istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Shimizu ve ark. (2012) da çalışmalarında benzer şekilde *AMELX* geninin rs946252 belirtecinde, Filipinli ailelerde T alelinin yüksek çürük risk grubunda daha sık görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu bulgulara göre Filipinli aileler ve Türk çocuklarıyla yapılan çalışmanın sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Polonya, Fransız, Kafkas popülasyonları üzerinde yapılan diğer çalışmalarda da *AMELX* genetik varyantları ve diş çürüğü deneyimi arasında bir ilişki olmadığı bildirilmiştir (Slayton ve ark. 2005, Olszowski ve ark. 2012, Gasse ve ark. 2013).

Çalışmamızda *ENAM* geni rs7671281 belirteci ile süt ve daimi diş çürüğüne yatkınlık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Çalışmamızla benzer şekilde Wang ve ark. (2012) ve Gerreth ve ark. (2015) da süt dişi çürüğü ve *ENAM* geni rs7671281 polimorfizmi arasında herhangi bir ilişki olmadığını rapor etmişlerdir. Öte yandan Divakar ve ark. (2019) Güney Hindistan'daki 2-15 yaş arası çocuklardan alınan DNA örnekleriyle yaptıkları çalışmada *ENAM* geni rs7671281 polimorfizmi ile diş çürüğü duyarlılığı arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlar, benzer şekilde Chaussain ve ark. (2014) Fransız çocuklarla yaptıkları çalışmada rs7671281'in çürük duyarlılığı ile ilişkili olduğunu ve mine mikroyapısında değişikliklere neden olan *ENAM* varyantlarının, minenin sürme sonrası maturasyonu sırasında çürük duyarlılığını artırabileceğini bildirmişlerdir.

Gerreth ve ark. (2015) *ENAM* genindeki farklı bir SNP (rs12640848) belirtecini de araştırmışlar ve G aleli ile GG genotipinin, süt dentisyon dönemindeki Polonyalı çocuklarda çürük oluşumuna karşı koruyucu olduğunu bulmuşlardır.

Patır ve ark. (2008) ile Abbasoğlu ve ark. (2015), bizim çalışmamız ile aynı şekilde *TUFT1* geni rs2337360 belirteci ile süt dişi çürüğü arasında anlamlı bir ilişki olmadığını rapor etmişlerdir. Gerreth ve ark. (2017), bu çalışmadan farklı olarak süt dişlerinde *TUFT1* geni rs2337360 polimorfizmi AA genotipi ve A alelinin diş çürüğüne yatkınlığı artırdığını bildirmişlerdir.

Bayram ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada *TUFT1* geni rs2337360 polimorfizmi ile daimi diş çürüğü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını tespit etmişlerdir. Bu bulgu çalışmamızla uyumludur. Deeley ve ark. (2008) ise Bayram ve

ark. (2015) sonuçlarının aksine *TUFT1* geni rs2337360 polimorfizmi ile daimi diş çürüğü arasında anlamlı ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Abbasoğlu ve ark. (2015) *TUFT1* geninde rs3790506 belirtecini incelemişler ve çürük duyarlılığında azalma ile ilişkisini rapor etmişler, incelenen DNA örneklerinde GG genotipinin EÇÇ'ye karşı koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Diğer bazı çalışmalarda da bu gen ile çocuklarda (Slayton ve ark. 2005, Patır ve ark. 2008, Shimizu ve ark. 2012) ve yetişkinlerde (Deeley ve ark. 2008, Shimizu ve ark. 2012) çürük deneyimi arasında bir ilişki bulunmuştur. Patır ve ark. (2008) artan çürük duyarlılığının *TUFT* geni rs3790506 belirtecinin T aleli ile bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir. Fakat Jeremias ve ark. (2013) ve Gerreth ve ark. (2017)'nin çalışmalarında rs3790506 polimorfizmi ile diş çürüğü arasında önemli bir ilişki bulunamamıştır.

Bu alanda mevcut olan az sayıdaki literatür bilgisi göz önüne alındığında; çalışma sonuçlarımızla uyumlu olmayan bazı araştırmalar bulunmakla birlikte, araştırma sonuçlarımızı destekleyen birçok çalışma olduğu görülmektedir. Toplumlar arasında, polimorfizmlerin farklı kombinasyonlarından dolayı ırklar arasında bir polimorfizmin etkisi farklı sonuçlara neden olabilmekte ve popülasyonlar arasında değişkenlik gösterebilmektedir (Bayram 2014). Çalışmalarda incelenen gruplar, çalışmaya dahil edilme kriterleri, grupları oluşturan birey sayıları, DMFT/dmft skorları, S.mutans düzeylerinin yanında DNA analizi ve genotiplendirme metodları gibi yöntemsel farklılıkların da bu uyumsuzlukları ortaya koymuş olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Son yıllarda genetik polimorfizmlerin diş çürüğüne etkisini inceleyen çalışmaların sayısı göreceli olarak artmakla birlikte, diş çürüğü ile ilişkili olabilecek çok fazla sayıda gen ve her bir genle ilişkili toplumda sıkça görülen birçok polimorfizm bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda araştırmacılar, çalışmaların kabul edilebilirliğini ve özgünlüğünü artırmak için yeni polimorfizmler üzerinde araştırma yapmayı tercih etmektedirler. Ancak aynı polimorfizmlerle yapılan çalışma sayılarının azlığı, bu çalışmaların meta-analizin yapılmasına imkan vermemekle birlikte, meta-analizler yapılabilse de güçsüz kalmaktadır. Ayrıca her popülasyonda görülen polimorfizm

sıklığının farklı olması ve çevresel faktörlerdeki değişkenler de heterojeniteyi artırabilmektedir (Hatipoğlu 2019).

Genetik polimorfizmlerin diş çürüğü üzerine etkili olduğu konusunda bilim insanlarında ortak bir kanaat olsa da güvenilir ve kesin sonuçların elde edilebilmesi için çok daha kapsamlı ve fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır (Hatipoğlu 2019).

Bireyin çürük duyarlılığını belirleyen genleri tanımlamak; çürük patogenezinin moleküler temelini tam olarak anlamak için gereklidir. Ayrıca bu genlerin belirlenmesi moleküler aşılar ve hatta gen terapisi gibi yeni koruyucu ve tedavi edici stratejilerin geliştirilmesi üzerinde potansiyel bir etkiye sahip olacaktır. Gelecekte, genetik olarak ağız hastalıklarına duyarlı hastaların taranması ve tanımlanabilmesi; bireysel koruyucu önlemlerin etkili bir şekilde kullanımı ve kişiye özel tedavi planlamasının yapılmasına olanak sağlayacaktır. Çürükler için genetik risk faktörlerinin belirlenmesi, en sık görülen ağız hastalığı olan diş çürüğünün önlenmesi ve tedavisi ile toplumların ağız diş sağlığı düzeylerinin iyileştirilmesi ve tedavi maliyetlerinin azaltılmasına yardımcı olacaktır (Antunes ve ark. 2016).

6. SONUÇLAR

1. 3-5 yaş grubunda *AMBN* geni rs4694075 belirtecinde bireylerin CT genotipi taşımasının CC genotipi taşımasına göre diş çürüğüne yatkınlığı azalttığı tespit edilmiştir ($p=0.021$).

13-15 yaş grubunda ise *AMBN* geni rs4694075 belirtecinde bireylerin CT genotipi taşımasının CC genotipi taşımasına göre diş çürüğüne yatkınlığı artırdığı tespit edilmiş ve çürük oluşturma riski 2.737 kat fazla bulunmuştur ($p=0.047$).

Her iki yaş grubunda alel dağılımları açısından çalışma ve kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

2. Her iki yaş grubunda, *AMELX* geni rs5933871 belirteci genotip ve alel dağılımları açısından çalışma ve kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

3. Her iki yaş grubunda, *ENAM* geni rs7671281 belirteci genotip ve alel dağılımları açısından çalışma ve kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

4. Her iki yaş grubunda, *TUFT1* geni rs2337360 belirteci genotip ve alel dağılımları açısından çalışma ve kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

5. *AMBN* geni rs4694075 polimorfizminin çocuklarda çürük deneyimi ile ilişkili olduğu, ancak bu ilişkinin süt ve daimi dentisyonda birbirine zıt olduğu gözlemlenmiştir. *AMBN* geni rs4694075 polimorfizminin süt dişlerinde çürüğe yatkınlığı azaltırken, ($p=0.021$), daimi dişlerde çürüğe yatkınlığı artırdığı sonucuna ulaşılmıştır ($p=0.047$).

Sonuçlarımız *AMBN* genindeki varyasyonun çürük duyarlılığında göz önüne alınması gereken bir faktör olabileceğini düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

- AAPD (2014) Guideline on Fluoride Therapy. *Clinical Practice Guidelines*, 37, 15-16, American Academy of Pediatric Dentistry.
- ABBASOĞLU Z (2013) Diş Minesinin Oluşumunda Görev Alan MMP20 (Matriks Metalloproteinaz-20) ve KLK4 (Kallikrein-4) Gen Polimorfizmleri İle Diş Çürükleri Arasındaki İlişkinin 3-5 Yaş Grubu Çocuklarda Değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- ABBASOĞLU Z, TANBOĞA İ, KUCHLER CE, DEELEY K, WEBERD M, KASPAR Ç, KORACHI M, VIEIRA AR (2015) Early childhood caries is associated with genetic variants in enamel formation and immune response genes. *Caries Res*, 49, 70–77.
- ADA (2016) Fluoridation Policy 'Fluoridation of Water Supplies', American Dental Association, Erişim Tarihi: 22.03.2016
- AÇIKGÖZ N, HANCI İH, ÇAKIR H (2002) Olay yerinden DNA analizi için biyolojik örnek toplama ve örneklerin laboratuara gönderilme usulleri. acikarsiv.ankara.edu.tr/browse/1119/1701.pdf.
- ALCAIS A, ALTER A, ANTONI G (2007) Stepwise replication identifies a low-producing lymphotoxin-[alpha] allele as a major risk factor for early-onset leprosy. *Nat Genet*, 39, 517– 522.
- ALEXANDRE RES, SÉRGIO RPL (2005) The enamel organic matrix: structure and function. *J Oral Sci*, 4, 13.
- AMERONGEN AV, VEERMAN EC (2002) Saliva--the defender of the oral cavity. *Oral diseases*, 8(1), 12-22.
- ANDERSON L, LAMBERTS B, BRUTON W (1982) Salivary protein polymorphisms in caries-free and caries-active adults. *J Dent Res*, 61, 393-396.
- ANDERSON M (2002) Risk assessment and epidemiology of dental caries: Review of the literature. *Pediatr Dent*, 24(5), 377-385.
- ANGMAR B, CARLSTROM D, GLAS JE (1963) Studies on the ultrastructure of dental enamel: IV. The mineralization of normal human enamel. *Journal Of Ultrastructure Research*, 8, 12-23.

- ANTUNES LA, ANTUNES LS, KUCHLER EC, LOPES LB, MOURA A, BIGONHA RS, ABREU FV, GRANJEIRO JM, AMORIM LM, PAIXÃO IC (2016) Analysis of the association between polymorphisms in MMP2, MMP3, MMP9, MMP20, TIMP1, and TIMP2 genes with white spot lesions and early childhood caries. *Int J Paediatr Dent*, 26(4):310-319.
- ANUSAVICE KJ (1998) Management of dental caries as a chronic infectious disease. *J Dent Educ*, 62, 791-802.
- ARORA A, SCOTT JA, Bhole S, DO L, SCHWARZ E, BLINKHORN AS (2011) Early childhood feeding practices and dental caries in preschool children: a multi-centre birth cohort study. *BMC Public Health*, 11, 28.
- ATAOĞLU T, GÜRSEL M (1997) Periodontoloji, Damla Ofset, Konya, s: 25-30,
- AVERY JK, CHIEGO DJ (2006) Essentials of Oral Histology and Embryology: A Clinical Approach ,6th ed, St. Louis Mosby: Elsevier.
- AYAD M, VAN WUYCKHUYSE BC, MINAGUCHI K, RAUBERTAS RF, BEDI GF, BILLINGS RJ, BOWEN WH, TABAK LA (2000) The association of basic proline-rich peptides from human parotid gland secretions with caries experience. *J Dent Res*, 79, 976–982.
- AXELSSON P. (2000) Diagnosis and risk prediction of dental caries, Vol. 2. Chicago: Quintessence,225.
- BACHRACH F, YOUNG M (1927) A comparison of the degree of resemblance in dental characters shown in pairs of twins of identical and fraternal types. *Br Dent J*, 48, 1293-1304.
- BAGHDADI JE, ORLOVA M, ALTER A (2006) An autosomal dominant major gene confers predisposition to pulmonary tuberculosis in adults. *J Exp Med*, 203, 1679–1684.
- BARRON MJ, BROOKES SJ, DRAPER CE, GARROD D, KIRKHAM J, SHORE R, DIXON MJ (2008) The cell adhesion molecule nectin-1 is critical for normal enamel formation in mice. *Hum Mol Genet*, 17(22), 3509-3520.
- BARTLETT J, GANSS B, GOLDBERG M, MORADIAN-OLDAK J, PAINE M, SNEAD M, WEN X, WHITE S, ZHOU Y (2006) Protein-protein interactions of the developing enamel matrix. *Curr Top Dev Biol*, 74, 57–115.

- BARTLETT JD (2013) Dental enamel development: Proteinases and their enamel matrix substrates. *ISRN Dentistry*.
- BAYIRLI G, ŞİRİN Ş (1982) Konservatif Diş Tedavisi, Dünya Tıp Kitabevi, İstanbul, s: 269-337.
- BAYRAM M (2014) Diş Minesinin Fiziksel Özellikleri ile Diş Çürüğünün Genetik Yatkınlığı Arasındaki İlişkinin İncelenmesi. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- BAYRAM M, DEELEY K, REİS MF, TROMBETTA VM, RUFF TD, SENCAK RC, HUMMEL M, DIZAK PM, WASHAM K, ROMANOS HF, LIPS A, ALVES G, COSTA MC, GRANJEIRO JM, ANTUNES LS, KUCHLER EC, SEYMEN F, VIEIRA AR (2015) Genetic influences on dental enamel that impact caries differ between the primary and permanent dentitions. *Eur J Oral Sci*, 123(5), 327-334.
- BAYRAM M, SEYMEN F (2014) Diş çürüğüne genetik yaklaşım. *Türkiye Klinikleri J Dental Sci*, 20(2), 129-136.
- BAYSAN A, YALÇIN ÇAKIR F, GURGAN S, WHILEY RA (2009) Reduction in bacteria in infected dentin by antimicrobial bonding agent. *J Dent Res*, 88 (Spec Iss A), 91.
- BECK J, DRAKE C (1975) Some epidemiologic evidence on the etiology of caries. *Community Dent Oral Epidemiol*, 3, 223– 227.
- BEKTAŞ S, TURGUT M (2010) Çocuk diş hekimliğinde çürük risk tayini. Bölüm 1. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 11 (3) :109-118
- BERKOVITZ BKB, HOLLAND GR, MOXHAM BJ (2002) Oral Anatomy, Embryology and Histology, 3rd ed, Mosby Edinburgh, London, p: 101-118
- BEYAR İ (2003) Anneden bebeğe aktarılan çürük oluşturuca bakterilerin bebeğin ağız sağlığına etkileri. *GÜ Dişhek Fak Derg*, 20, 57-63.
- BODMER W, BONILLA C (2008) Common and rare variants in multifactorial susceptibility to common diseases. *Nat Genet*, 40(6), 695-701.
- BONECKER M, CLEATON-JONES P (2003) Trends in dental caries in Latin American and Caribbean 5-6- and 11–13- year-old children: a systematic review. *Community Dent Oral Epidemiol*, 31, 152–157.

- BORAAS J, MESSER L, TILL M (1988) A genetic contribution to dental caries, occlusion, and morphology as demonstrated by twins reared apart. *J Dent Res*, 67, 1150–1155.
- BOTSTEIN D, WHITE RL, SKOLNICK M (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 32(3), 314 – 331.
- BOUROPOULOS N, MORADIAN-OLDAK J (2004) Induction of apatite by the cooperative effect of amelogenin and the 32-kDa enamelin. *J Dent Res*, 83 (4), 278–282.
- BOWDEN GH (1997) Does assessment of microbial composition of plaque/saliva allow for diagnosis of disease activity of individuals? *Community dentistry and oral epidemiology*, 25(1), 76-81.
- BOWDEN GHW (2000) The microbial ecology of dental caries. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 12 (3), 138-148.
- BOZKAYA Ö (2009) Klinisyenler için mutasyon ve polimorfizm. *Türkiye Klin Pediatr Derg*, 18(2), 47-53.
- BRAMBILLA E, GARCIA-GODOY F, STROHMENGER L (2000) Principles of diagnosis and treatment of high-caries-risk subjects. *Dent Clin North Am*, 44, 507-540.
- BRETZ WA, CORBY PM, SCHORK NJ, ROBINSON MT, COELHO M, COSTA S, MELO FILHO MR, WEYANT RJ, HART TC (2005) Longitudinal analysis of heritability for dental caries traits. *J Dent Res*, 84, 1047–1051.
- BROOKES AJ (1999) The essence of SNPs. *Gene*, 8, 177– 186.
- BURNE RA (1998) Oral streptococci products of their environment. *J Dent Res*, 77, 445-452.
- BURTON PR, TOBIN MD, HOPPER JL (2005) Genetic epidemiology 1. *Lancet*, 366, 941–951.
- BURTON PR, TOBIN MD, HOPPER JL (2005) Key concepts in genetic epidemiology. *Lancet*, 366, 941–951.

- CAVALLARI T, ARIMA LY, FERRASA A, MOYSÉS SJ, MOYSÉS ST, HERAI RH, WERNECK RI (2019) Dental caries: genetic and protein interactions. *Archives of Oral Biology*, 108.
- CERNY R, SLABY I, HAMMARSTROM L, WURTZ T (1996) A novel gene expressed in rat ameloblasts codes for proteins with cell binding domains. *J Bone Miner Res*, 11, 883–891.
- CHAUSSAIN C, BOUAZZA N, GASSE B, LAFFONT AG, OPSAHL VITAL S, DAVIT-BÉAL T, MOULIS E, CHABADEL O, HENNEQUIN M, COURSON F, DROZ D, VAYSSE F, LABOUX O, TASSERY H, CAREL JC, ALCAIS A, TRELUYER JM, BELDJORD C, SIRE JY (2014) Dental caries and enamel haplotypes. *J Dent Res*, 93, 360–365.
- CHEN B, GOODMAN E, LU Z, BANDYOPADHYAY A, MAGRAW C, HE T, RAGHAVAN S (2009) Function of beta1 integrin in oral epithelia and tooth bud morphogenesis. *J Dent Res*, 539-544, 88.
- COLLINS FS, GUYER MS, CHAKRAVARTI A (1997) Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation. *Science*, 278, 1580-1581.
- CONRY JP, MESSER LB, BORAAS JC, AEPPLI DP, BOUCHARD TJJ (1993) Dental caries and treatment characteristics in human twins reared apart. *Arch Oral Biol*, 38, 937–943.
- CORDELL H, CLAYTON D (2005) Genetic association studies. *Lancet*, 366, 1121–1131.
- COSTERTON JW, STEWART PS, GREENBERG EP (1999) Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*, 284, 1318-1322.
- CURY JA, MARQUES AS, TABCHOURY CP, DEL BEL CURY AA (2003) Composition of dental plaque formed in the presence of sucrose and after its interruption. *Braz Dent J*, 14, 147-152.
- CURY JA, REBELLO MA, DEL BEL CURY AA. (1997). In situ relationship between sucrose exposure and composition of dental plaque. *Caries Res*, 31, 356-360.
- DAWN TEARE M, BARRETT J (2005) Genetic linkage studies. *Lancet*, 366, 1036–1044.
- DE JONG MH, VAN DER HOEVEN JS, VAN OJ, OLIJVE JH (1984) Growth of oral streptococcus species and actinomyces viscosus in human saliva. *Applied and environmental microbiology*, 47(5), 901-904.

DEELEY K, LETRA A, ROSE EK, BRANDON CA, RESICK JM, MARAZITA ML, VIEIRA AR (2008) Possible association of amelogenin to high caries experience in a Guatemalan-Mayan population. *Caries Res*, 42, 8–13.

DELİGEZER U, AKIŞIK EE, DALAY N (2004) Gen polimorfizm analizinde lightcycler floresan PCR tekniğinin kullanılması: myeloid lösemili çocuk ve yetişkin hastalarda MTHFR C677T gen polimorfizm dağılımının belirlenmesi. *Türk Onkoloji Dergisi*, 19, 134-139.

DEUTSCH D (1989) Structure and function of enamel gene products. *Anat Rec*, 224,189-210.

DEUTSCH D, PALMON A, DAFNI L, MAO Z, LEYTIN V, YOUNG M, FISHER LW (1998) Tuftelin – aspects of protein and gene structure. *Eur J Oral Sci*, 106 (Suppl. 1), 315–323.

DRIESENS FC, HEIJLIGERS HJ, BORGGREVEN JM, WOLTGENS JH (1985) Post eruptive maturation of tooth enamel studied with the electron microprobe. *Caries Res*, 19, 390-395.

EDGAR WM (1998) Sugar substitutes, chewing gum and dental caries--a review. *Br Dent J*, 184, 29-32.

EDGAR WM, HIGHAM SM, MANNING RH (1994) Saliva stimulation and caries prevention. *Adv Dent Res*, 8, 239-245.

ELLIOT JC (1997) Structure, crystal chemistry and density of enamel apatites. *Dental Enamel*, 54-72.

EMİR F, ÖZDEN A. (2006) Genetik polimorfizm ve polimorfizm çalışmaları. *Güncel Gastroenteroloji*, 24-28.

EPA (2011) Enviromental Protection Agency. EPA and HHS Announce New Scientific Assessments and Actions on Fluoride/Agencies working together to maintain benefits of preventing tooth decay while preventing excessive exposure.

FEATHERSTONE JD (2000) The science and practice of caries prevention. *The Journal of the American Dental Association*, 131, 887-899.

FEJERSKOV O (2004) Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res*, 38, 182-191.

FEJERSKOV O, KIDD E (2003) Dental Caries: The Disease And Its Clinical Management. Blackwell, Oxford.

FILOCHE S, WONG L, SISSONS CH (2010) Oral biofilms: emerging concepts in microbial ecology. *Journal of dental research*, 89(1), 8-18.

FINN S, CALDWELL R (1963) Dental caries in twins – I. A comparison of the caries experience of monoygotic twins, dizigotic twins and unrelated children. *Archiv Oral Biol*, 8, 571–585.

FLETCHER H, HICKEY I (2015) Genetics, 4th ed, Nobel Kitabevi, p: 266-271.

FONTANA M, GONZALEZ-CABEZAS C (2012) Minimal intervention dentistry: part 2. Caries risk assessment in adults. *Br Dent J*, 213(9), 447-451.

FONTANA M, ZERO DT (2006) Assessing patients caries risk. *J Am Dent Assoc*, 137(9), 1231-1239.

FORNER L, LARSEN T, KILIAN M, HOLMSTRUP P (2006) Incidence of bacteremia after chewing, tooth brushing and scaling in individuals with periodontal inflammation. *J Clin Periodontol*, 33, 401–407.

FUKUMOTO S, KIBA T, HALL B, IEHARA N, NAKAMURA T, LONGENECKER G (2004) Ameloblastin is a cell adhesion molecule required for maintaining the differentiation state of ameloblasts. *J Cell Biol*, 167 (5), 973–983.

FUKUMOTO S, YAMADA A, NONAKA K, YAMADA Y (2005) Essential roles of ameloblastin in maintaining ameloblast differentiation and enamel formation. *Cells Tissues Organs*, 181, 89–95.

GALES MA, NGUYEN TM (2000) Sorbitol compared with xylitol in prevention of dental caries. *Ann Pharmacother*, 34, 98-100.

GASSE B, GRABAR S, LAFONT AG, QUINQUIS L, OPSAHL VITAL S, DAVIT-BÉAL T, MOULIS E, CHABADEL O, HENNEQUIN M, COURSON F, DROZ D, VAYSSE F, LABOUX O, TASSERY H, AL-HASHIMI N, BOILLOT A, CAREL JC, TRELUYER JM, JEANPIERRE M, BELDJORD C, SIRE JY, CHAUSSAIN C (2013) Common SNPs of Amelogenin (*AMELX*) and dental caries susceptibility. *J Dent Res*, 92(5), 418-424.

- GERRETH K, ZAORSKA K, ZABEL M, BORYSEWICZ-LEWICKA M, NOWICKI M (2016) Association of ENAM gene single nucleotide polymorphisms with dental caries in Polish children. *Clin Oral Invest*, 20, 631–636.
- GERRETH K, ZAORSKA K, ZABEL M, NOWICKI M, BORYSEWICZ-LEWICKA M (2018) Significance of genetic variations in developmental enamel defects of primary dentition in Polish children. *Clin Oral Invest*, 22, 321–329.
- GIACAMAN RA, PEREZ VA, CARRERA CA (2016) Mineralization processes in hard. *Biomaterialization and Biomaterials*, 147-185.
- GIBSON CW, YUAN ZA, HALL B, LONGENECKER G, CHEN E, THYAGARAJAN T, SREENATH T, WRIGHT JT, DECKER S, PIDDINGTON R, HARRISON G, KULKARNI AB (2001) Amelogenin-deficient mice display an amelogenesis imperfecta phenotype. *J Biol Chem*, 276(34), 31871–31875.
- GÜNEL T (2007) Gen anlatımının kantitatif analizi “Real-Time PCR”. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 27, 763-767.
- GİRAY Ö, ÖZKINAY C (2005) The importance of genetics in pediatric health. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci*, 1(2), 1-10.
- GİRAY BOZKAYA Ö (2009) Klinisyenler İçin Mutasyon ve Polimorfizm. *Türkiye Klinikleri J Pediatr*, 18(2), 147-153.
- GOLDBERG S (1930) The dental arches of identical twins. *Dent Cosmos*, 72, 869-881.
- GREENE SR, YUAN ZA, WRIGHT JT, AMJAD H, ABRAMS WR, BUCHANAN JA, TRACHTENBERG DI, GIBSON CW (2002) A new frameshift mutation encoding a truncated amelogenin leads to X-linked amelogenesis imperfecta. *Arch Oral Biol*, 47, 211–217.
- GREENSTEIN G, LAMSTER I (1997) Bacterial transmission in periodontal diseases: a critical review. *Journal of Periodontology*, 68(5), 421-431.
- GUSTAAF AD, ERIC AH, ALASTAIR HM, THE SOUTH AUSTRALIAN CEREBRAL PALSY RESEARCH GROUP, GAI LM, CATHERINE SG, MICHAEL EO, PAUL NG (2009) DNA from buccal swabs suitable for high-throughput SNP multiplex analysis. *J Biomol Tech*, 20(5), 232-235.
- GUTTMACHER AE, COLLINS FS (2002) Genomic medicine-a primer. *N Engl J Med*, 347, 1512-1520.

HART PS, ALDRED MJ, CRAWFORD PJ, WRIGHT NJ, HART TC, WRIGHT JT (2002) Amelogenesis imperfecta phenotype-genotype correlations with two amelogenin gene mutations. *Arch Oral Biol*; 47(4): 261-265.

HARTL DL, JONES EW (2002) Essential Genetics A Genomics Perspective, 3rd ed, Jones and Bartlett Publishers, London, p: 249-285

HATİPOĞLU Ö (2019) Genlerdeki polimorfizmlerin diş çürüğü üzerindeki etkilerinin incelenmesi. içinde Güncel Restoratif Çalışmaları. Ed. O Yoldaş, Akademisyen Yayınevi, Ankara, s: 27-39.

HAYASHI T (1990) Recombinant study of mouse enamel organ and dental papilla by renal transplantation: effects of discrepancy in number of these two components. *Kokubyo Gakkai Zasshi*, 57, 652–666.

HEIMDAHL A, HALL G, HEDBERG M (1990) Detection and quantitation by lysis-filtration of bacteremia after different oral surgical procedures. *J Clin Microbiol*, 28, 2205–2209.

HICKS J, GARCIA-GODOY F, FALITZ C (2003) Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization. *J. Clin. Ped. Dent*, 28, 47-52.

HICKS J, GARCIA-GODOY F, FLAITZ C (2004) Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization(part 2). *J Clin Pediatr Dent*, 28(2), 119-124.

HOLBROOK WP (1993) Dental caries and cariogenic factors in pre-school urban Icelandic children. *Caries Res*, 27, 431-437.

HOPPER JL, BISHOP DT, EASTON DF (2005). Population-based family studies in genetic epidemiology (Genetic Epidemiology 6). *Lancet*, 336, 1397–1406.

HU JC, CHUN YH, AL HAZZAZZI T, SIMMER JP (2007) Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs*, 186, 78-85.

HU JCC, HU Y, LU Y, SMITH CE, LERTLAM R, WRIGHT JT, SUGGS C, MCKEE MD, BENIASH E, KABIR ME, SIMMER JP (2014) Enamelin is critical for ameloblast integrity and enamel ultrastructure formation. *P Lo S One*, 9(3).

- HU JCC, HU Y, SMITH CE, MCKEE MD, WRIGHT JT, YAMAKOSHI Y (2008) Enamel defects and ameloblast-specific expression in enam knock-out/lacZ knock-in mice. *J Biol Chem*, 283(16), 10858–10871.
- HU JCC, SU XL, ZHANG CH, SIMMER JP (2001) A comparison of enamelin and amelogenin expression in developing mouse molar. *Eur J Oral Sci*, 109(2), 125–132.
- HUANG X, BRINGAS JR P, SLAVKIN HC, CHAI Y (2009) Fate of HERS during tooth root development. *Dev Biol*, 334, 22–30.
- HUNTER PB (1988) Risk factors in dental caries. *International Dental Journal*, 38, 211-217.
- INGRAM CJ, ELAMIN MF, MULCARE CA, WEALE ME, TAREKEGN A, RAGA TO (2007) A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: Multiple causes for lactase persistence? *Hum Genet*, 120(6), 779-788.
- JABS EW, GOBLE CA, CUTTING GR (1989) Macromolecular organization of human centromeric regions reveals high-frequency, polymorphic macro DNA repeats. *Proc Natl Acad Sci*, 86(1), 202-206.
- JAMES P (2001) Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *Journal of Dental Education*, 65, 896-905.
- JOHNSON GC, TODD JA (2000) Strategies in complex disease mapping. *Curr Opin Genet Dev*, 10, 330-334.
- KANDELMAN D (1997) Sugar, alternative sweeteners and meal frequency in relation to caries prevention: New perspectives. *British Journal Of Nutrition*, 77, 121-128.
- KANG SW, YOON I, LEE HW, CHO J (2011) Association between AMELX polymorphisms and dental caries in Koreans. *Oral Diseases*, 17, 399–406.
- KAYSER M, KITTLER R, ERLER A, HEDMAN M, LEE AC, MOHYUDDIN A (2004) A comprehensive survey of human Y-chromosomal microsatellites. *Am J Hum Genet*, 74(6), 1183-1197.
- KIDD E (2005) Essentials of Dental Caries. 3th ed, Oxford University Press Inc, London.
- KIDD EA, FEJERSKOV O (2004) What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*, 83, 35-38.

- KINANE DF, HART TC (2003) Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 14(6), 430-449.
- KLEIN H (1946) Family and dental disease; dental disease (DMF) experience in parents and offspring. *JADA*, 33, 735-743.
- KLEIN H, PALMER CE (1938) Studies on dental caries; familial resemblance in the caries experience of siblings. *Public Health Rep*, 53, 1353-1364.
- KLEIN H, PALMER CE (1940) Dental caries in brothers and sisters of immune and susceptible children. *Milbank Mem FD Quart*, 18, 67-82.
- KLOCK KS, HAUGEJORDEN O (1991) Primary reasons for extraction of permanent teeth in Norway: Changes from 1968 to 1988. *Community Dent Oral Epidemiol*, 19, 336-341.
- KLUG WS, CUMMINGS MR, PALLADINO MA, SPENCER CA (2018) Concepts of Genetics. Genetik Kavramlar. 11th ed. Çeviren: SÜMER S, AÇIK L, TUNCER M, Palme Yayınevi, Ankara, s: 522-568.
- KORAY F (1981) Diş Çürükleri, Altın Matbaacılık, İstanbul, s: 7-34.
- KORNMAN KS, NEWMAN MG (2000) Role of genetics in assessment, risk and management of adult periodontitis. *Periodontal Medicine*, 45-62.
- KREBS JE, GOLDSTEIN ES, KILPATRICK ST (2012) Lewin's Genes XI, 11th ed, Jones & Bartlett Learning, chapter 5, s: 100 -118.
- KUMAR GS (2011) Orban's Oral Histology & Embryology, 13th ed, Elsevier Health Sciences, p:50-93.
- KWON HE, JIANG R (2018) Development of the teeth. *Am J Dent Sci*, 4(2), 291-294.
- LAGERLOF F, OLIVEBY A (1994) Caries-protective factors in saliva. *Adv Dent Res*, 8, 229-238.
- LANDER ES, LINTON LM, BIRREN B, NUSBAUM C, ZODY MC, BALDWIN J (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409, 860-921.
- LAU EC, MOHANDAS T, SHAPIRO LJ, SLAVKIN HC, SNEAD ML (1989) Human and mouse amelogenin gene loci are on the sex chromosome. *Genomics*, 4, 162-168.

LEWIN B (2000) *Genes*, 7th ed, Oxford, UK

LINDHE J, KARRING T, ARAUJO M (2003) *Clin Periodontol Implant Dent*, 4th ed, Blackell Munksgard, Copenhagen, s: 387-397.

LINHARTOVA BORILOVA P, DEISSOVA T, MUSILOVA K, ZACKOVA L, KUKLETOVA M, KUKLA L, HOLLA LI (2018) Lack of association between ENAM gene polymorphism and dental caries in primary and permanent teeth in Czech children. *Clinical Oral Investigations*, 22, 1873–1877.

LIWEI Z, CHENGLIN W, LING Y (2016) *Dental Caries Principles and Management*, China, s: 1-27.

LLENA-PUY MC, MONTANANA-LLORENS C, FORNER-NAVARRO L (2000) Cariogenic oral flora and its relation to dental caries. *J Dent Child*, 67, 42-46.

LOVELINA D, SHASTRIB SM, MADAN KUMAR PD (2012) Assessment of the oral health status of monozygotic and dizygotic twins – a comparative study. *Oral Health Prev Dent*, 10, 135–139.

MACKAY IM (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect*, 10(3), 190-212.

MANDEL ID (1994) Nature vs. nurture in dental caries. *JADA*, 125(10):1345-1351.

MANİSALI Y, KORAY F (1982) *Ağız-Diş Embriyolojisi ve Histolojisi*. Yenilik Basımevi, İstanbul.

MANSBRIDGE JN (1959) Heredity and dental caries. *J Dent Res*, 38, 337–347.

MAOA Z, SHAYA B, HEKMATIA M, FERMON E (2001) The human tuftelin gene: cloning and characterization. *Gene*, 279, 181-196.

MARSH PD (2012) Contemporary perspective on plaque control. *Br Dent J*, 212, 601-606.

MATTOS-GRANER RO, SMITH DJ, KING WF, MAYER MP (2000) Water insoluble glucan synthesis by mutans streptococcal strains correlates with caries incidence in 12- to 30-month-old children. *J Dent Res*, 79, 1371-1377.

- McDONALD RE, AVERY DR, STOOKEY GK (2000) Dentistry for the Child and Adolescent, 7th ed, Mosby, s: 209-246
- MCMICHAEL GL, GIBSON CS, O'CALLAGHAN ME, GOLDWATER PN, DEKKER GA, HAAN EA, MACLENNAN AH (2009) DNA from buccal swabs suitable for high-throughput SNP multiplex analysis. *J Biomol Tech*, 20(5), 232–235.
- MORADIAN-OLDAK J (2013) Protein-mediated enamel mineralization. *Front Biosc*, 17, 1996–2023.
- MUHAMAD AH, WATTED N (2019) Genetics in pediatric dentistry: A review. *International Journal of Applied Dental Sciences*, 5(3), 401-408.
- NANCI A (2007) Ten Cate's Oral Histology : Development, Structure and Function, 7th ed, Mosby Elsevier Health Sciences, s: 141-190.
- NEUMAIER M, BRAUN A, WAGENER C (1998) Fundamentals of quality assessment of molecular amplification methods in clinical diagnostics. International Federation of Clinical Chemistry Scientific Division Committee on Molecular Biology Techniques. *Clin Chem*, 44(1), 12-26
- NUSSBAUM RL, MCINNES RR, WILLARD HF (2001) Thompson and Thompson Genetics in Medicine, 6th ed, W.B.Saunders Company, s: 175-205.
- OLSZOWSKI T, ADLER G, JANISZEWSKA-OLSZOWSKA J, SAFRANOW K, KACZMARCZYK M (2012) MBL2, MASP2, AMELX, and ENAM gene polymorphisms and dental caries in Polish children. *Oral Diseases*, 18, 389–395.
- OPAL J, GARG J, JAIN J, WALIA I (2015) Genetic factors affecting dental caries risk. *Australian Dental Journal*, 60, 2–11.
- OURYOUJI K, IMAMURA Y, FUJIGAKI Y, OOMORI Y, YANAGISAWA S, MIYAZAWA H, WANG PL (2008) Analysis of mutations in the amelogenin and the enamelin genes in severe caries in Japanese pediatric patients. *Pediatric Dent J*, 18, 79-85.
- ÖZATA F, KAYA AD (2001) Diş çürüğü ve genetik. *EU Dişhek Fak Derg*, 22, 13-21.
- ÖZTÜRK L, YARAT A, ULUCAN K, AKYUZ S, FURUNCUOGLU H (2009) Investigation of salivary MUC7 gene alterations in dental students with and without caries. *IUBMB Life*, 61(3).

- PAES LEME AF, KOO H, BELLATO CM, BEDI G, CURY JA (2006) The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation--new insight. *J Dent Res*, 85, 878-887.
- PAINE ML, LEI YP, DICKERSON K (2002) Altered amelogenin self-assembly based on mutations observed in human X-linked amelogenesis imperfecta. *J Biol Chem*, 277, 17112-17116.
- PARAHITIYAWA NB, JIN LJ, LEUNG WK, YAM WC, SAMARANAYAKE LP (2009) Microbiology of odontogenic bacteremia: beyond endocarditis. *Clin Microbiol Rev*, 22, 386.
- PATIR A, SEYMEN F, YILDIRIM M, DEELEY K, COOPER ME, MARAZITA ML, VIEIRA AR (2008) Enamel formation genes are associated with high caries experience in Turkish children. *Caries Res*, 42, 394-400.
- PAVLIC A, PETELIN M, BATTELINO T (2007) Phenotype and enamel ultrastructure characteristics in patients with ENAM gene mutations g.13185-13186insAG and 8344delG. *Arch Oral Biol*, 52(3), 209-217.
- PIEKOSZEWSKA-ZIETEK P, TURSKA-SZYBK A, OLCZAK-KOWALCZYK D (2017) Single nucleotide polymorphism in the aetiology of caries: Systematic literature review. *Caries Res*, 51(4), 425-435.
- PIESCO NP, SIMMELINK J (2001) Oral Development and Histology, 3th ed, New York, chapter 9.
- PINE C (2005) Caries risk: individual and population perspective. *Community Dent Oral Epidemiol*, 33, 239.
- PINKHAM JR, CASAMASSIMO PS, MC TIGUE DJ, FIELDS HW, NOWAK J (2009) Pediatric Dentistry Infancy Through Adolescence. Çocuk Diş Hekimliği Bebeklikten Ergenliğe. 4th ed, Çeviren: Tortop T, Tulunoğlu Ö, Atlas Kitapçılık, Ankara, s: 199-205.
- PORTO MI, DESOUSA FB, BACHMANN L, CURY JA, LİNE SRP, GERLACH RF (2009) Enamel mineralization in the absence of maturation stages. *Archives of Oral Biology*, 54(4), 313-321.
- RAIVISTO T, HEIKKINEN A, KOVANEN L, RUOKONEN H, KETTUNEN K, TERVAHARTIALA T, HAUKKA J, SORSA T (2018) SNP analysis of caries and initial caries in finnish adolescents. *Int J Dent*, 1, 1-5.

- RAVINDRANATH HH, CHEN LS, ZEICHNER-DAVID M, ISHIMA R, RAVINDRANATH RMH (2004) Interaction between the enamel matrix proteins amelogenin and ameloblastin. *Biochem Biophys Res Commun*, 323, 1075–1083.
- REICH E, LUSSI A, NEWBRUN E (1999) Caries-risk assessment. *Int Dent J*, 49(1), 15-26.
- RENUKA P, PUSHPANJALI K, SANGEETHA R (2013) Review on “influence of host genes on dental caries”. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 4, 86-92.
- RIMOIN DL, CONNOR JM, PYERITZ RE (1997) Principles and practice of medical genetics, 3rd ed, Churchill Livingstone Inc, New York.
- RISCH N (2000) Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature*, 405, 847–856.
- SCHORK NJ, FALLIN D, LANCHBURY JS (2000) Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clin Genet*, 58, 250-264.
- SELWITZ RH, ISMAIL AI, PITTS NB (2007) Dental caries. *Lancet*, 369, 51-59.
- SEYMOUR RM, ALLAN MJ, POMIANKOWSKI A, GUSTAFSSON K (2004) Evolution of the human ABO polymorphism by two complementary selective pressures. *Proc Biol Sci*, 271(1543), 1065-1072.
- SHAFFER JR, CARLSON JC, STANLEY BOC, FEINGOLD E, COOPER M, VANYUKOV MM, MAHER BS, SLAYTON RL, WILLING MC, REIS SE, MCNEIL DW, CROUT RJ, WEYANT RJ, LEVY SM, VIEIRA AR, MARAZITA ML (2015) Effects of enamel matrix genes on dental caries are moderated by fluoride exposures. *Hum Genet*, 134(2), 159-167.
- SHAFFER JR, FEINGOLD E, WANG X, TCUENCO K, WEEKS DE, DESENSI RS, POLK DE, WENDELL S, WEYANT RJ, CROUT R, MCNEIL DW, MARAZITA ML (2012) Heritable patterns of tooth decay in the permanent dentition: principal components and factor analyses. *BMC Oral Health*, 12, 259–267.
- SHAFFER JR, FEINGOLD E, WANG X, LEE M, CUENCO KT, WEEKS DE, WEYANT RJ, CROUT R, MCNEIL DW, MARAZITA ML (2012) GWAS of Dental Caries Patterns in the Permanent Dentition, *J Dent Res*, 92(1), 38–44.
- SHASHIKIRAN ND, SUBBA REDDY VV, HIREMATH MC (2007) Estimation of trace elements in sound and carious enamel of primary and permanent teeth by atomic

- absorption spectrophotometry: an in vitro study. *Indian Journal of Dental Research*, 18(4), 157-162.
- SHIMIZU T, DEELEY K, BRISENO-RUIZ J (2013) Fine-mapping of 5q12.1–13.3 unveils new genetic contributors to caries. *Caries Res*, 47, 273–283.
- SHIMIZU T, HO B, DEELEY K, BRISENO-RUIZ J, FARACO IM, SCHUPACK BI, BRANCHER JA, PECHARKI GD, KUCHLER EC, TANNURE PN, LIPS A, VIEIRA CS, PATIR A, YILDIRIM M, POLETTA FA, MEREB JC, RESICK JM, BRANDON CA, ORIOLI IM, CASTILLA EE, MARAZITA ML, SEYMEN F (2012) Enamel formation genes influence enamel microhardness before and after cariogenic challenge. *Plos One*, 7(9), e45022.
- SHULER C (2001) Inherited risks for susceptibility to dental caries. *J Dent Educ*, 65, 1038–1045.
- SILIUZAS V, UTKUS A, KUCINSKAS V (2008) Recombinant chromosome 14 due to maternal pericentric inversion. *J Appl Genet*, 49(2), 205-207.
- SIMMER JP, FINCHAM AG (1995) Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Crit Rev Oral Biol Med*, 6, 84–108.
- SIMMER JP, HU JCC (2001) Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *J Dent Educ*, 65, 896–905.
- SLAYTON RL, COOPER ME, MARAZITA ML (2005) Tuftelin, mutans streptococci and dental caries susceptibility. *J Dent Res*, 84, 711–714.
- SOUZA AT, TREVILATTO PC, SCAREL-CAMINAGA RM, DE BRITO RB JR, BARROS SP, LIN SR (2005) Analysis of the MMP-9 (C-1562 T) and TIMP-2 (G-418C) gene promoter polymorphisms in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 32, 207–211.
- SPATAFORA G, ROHRER K, BARNARD D, MIVHALEK S (1995) A streptococcus mutans mutant that synthesizes elevated levels of intracellular polysaccharide is hypercariogenic in vivo. *Infect Immun*, 63, 2556-2563.
- STRACHAN T, READ AP (1999) Human Molecular Genetics. 2nd ed, John Wiley & Sons, USA.

- SØRENSEN T, NIELSEN G, ANDERSEN P, TEASDALE T (1988) Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med*, 318, 727-732.
- ŞEN YAVUZ B, KARGÜL B (2019) Erken çürük lezyonlarının görüntülenmesinde ve değerlendirilmesinde optik koherens tomografi(OCT)'nin kullanımı. *Türkiye Klinikleri*, s:38-44.
- TANNURE PN, COSTA MDE C, KUCHLER EC, ROMANOS HF, GRANJEIRO JM, VIEIRA AR (2012) Caries experience in individuals with cleft lip and palate. *Pediatr Dent*, 34, e127-e131.
- TEMİZKAN G, ARDA N (2005) Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- TEN CATE JM (2009) The need for antibacterial approaches to improve caries control. *Adv Dent Res*, 21, 8-12.
- THEODORE MR, HARALD OH, EDWARD JS (2010) *Art And Science of Operative Dentistry*, 5th ed, chapter 2, p: 17-63.
- THESELFF I, JUURI E (2012) Mineralized Tissues in Oral and Craniofacial Science: Biological Principles and Clinical Correlates. John Wiley and Sons, Inc, NewYork, p: 118-119.
- THYLSTRUP A, FEJERSKOV O (1994) Textbook of Clinical Cariology. 3th ed, Munksgaard, Copenhagen, chapter 3, p:51-69.
- TINANOFF N, PALMER CA (2000) Dietary determinants of dental caries and dietary recommendations for preschool children. *J Public Health Dent*, 60, 197-206.
- TOMPKINS K (2006) Molecular mechanisms of cytodifferentiation in mammalian tooth development. *Connect Tissue Res*, 47, 111-118.
- TOWNSEND G, HUGHES T, LUCIANO M, BOCKMANN M, BROOK A (2008) Genetic and environmental influences on human dental variation: a critical evaluation of studies involving twins. *Archiv Oral Biol* 54, p: 45-51.
- UYSAL S, TULGA ÖZ F (2018) Derleme: Başlangıç mine lezyonlarının remineralizasyonunda kullanılan ajanlar. *AÜ Diş Hek Fak Derg*, 45(3), 201-210.

- VAN HOUTE J (1994) Role of microorganisms in caries etiology. *J Dent Res*, 73, 672-681.
- VENTER JC, ADAMS MD, MYERS EW (2001) The sequence of the human genome. *Science*, 291, 1304-1351.
- VIEIRA AR (2012). Genetics and caries. *Brazilian Oral Research*, 26, 7–9.
- VIEIRA AR, MARAZITA ML, GOLDSTEIN-MCHENRY T (2008) Genome-wide scan finds suggestive caries loci. *J Dent Res*, 87, 435–439.
- VIEIRA AR, MODESTO A, MARAZITA ML (2014) Caries: Review of human genetics research. *Caries Res*, 48(5), 491–506.
- VIJAYALAKSHMI R, GEETHA A, RAMAKRISHNAN T, EMMADI P (2010) Genetic polymorphisms in periodontal diseases: An overview. *Indian J Dent Res*, 21(4), 568-574.
- WALSH LJ (2000) Preventive dentistry for general dental practitioner. *Australian Dental Journal*, 45, 76-82.
- WANG X, SHAFFER JR, ZENG Z, BEGUM F, VIEIRA AR, NOEL J, ANJOMSHOAA I, CUENCO KT, LEE MK, BECK J, BOERWINKLE E, CORNELIS MC, HU FB, CROSSLIN DR, LAURIE CC, NELSON SC, DOHENY KF, PUGH EW, POLK DE, WEYANT RJ, CROUT R, MCNEIL DW, WEEKS DE, FEINGOLD E, MARAZITA ML (2012) Genome-wide association scan of dental caries in the permanent dentition. *BMC Oral Health*, 12: 57–67.
- WANG X, SHAFFERD JR, WEYANTC RJ, CUENCOA KT, DESENSIA RS, CROUTF R, MCNEILG DW, MARAZITA ML (2010) Genes and their effects on dental caries may differ between primary and permanent dentitions. *Caries Res*, 44, 277–284.
- WANG X, WILLINGC MC, MARAZITA ML, WENDELL S, WARREN JJ, BROFFITT B, SMITH B, BUSCH T, LIDRAL AC, LEVY SM (2012) Genetic and environmental factors associated with dental caries in children: The Iowa fluoride study. *Caries Res*, 46, 177–184.
- WANG X, XIA C, ZHANG Z, DENG X, WEI S, ZHENG G (2009) Direct growth of human enamel- like calcium phosphate microstructures on human tooth. *J Nanosci Nanotechnol*, 9, 1361–1364.

- WENDELL S, WANG X, BROWN M, COOPER ME, DESENSI RS, WEYANT RJ, CROUT R, MCNEIL DW, MARAZITA ML (2010) Taste genes associated with dental caries. *J Dent Res*, 89(11), 1198-1202.
- WERNECK RI, MIRA MT, TREVILATTO PC (2010) A critical review: an overview of genetic influence on dental caries. *Oral Diseases*, 16, 613–623.
- WEST NX, JOINER A (2014) Enamel mineral loss. *Journal of Dentistry*, 42, 2-11.
- WHO (2004) Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health. Geneva, World Health Organization
- WILLYARD C (2018) New human gene tally reignites debate. *Nature*, 558(7710), 354-355.
- WRIGHT JT (2010) Defining the Contribution of Genetics in the Etiology of Dental Caries. *J Dent Res*, 89(11), 1173-1174.
- XIE Z, KILPATRICK NM (2008) Transmission electron microscope characterisation of molar-incisor-hypomineralisation. *J Mater Sci: Mater Med*, 19, 3187–3192.
- XIE Z, SWAIN MV, HOFFMAN MJ (2009) Structural integrity of enamel: experimental and modeling. *J Dent Res*, 88 (6), 529–533.
- YALÇIN ÇAKIR F, GÜRGAN S, ATTAR N (2010) Çürük Mikrobiyolojisi. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 34, 78-91.
- YAMAKOSHI Y, TANABE T, OIDA S, HU CC, SIMMER JP, FUKAE M (2001) Calcium binding of enamel proteins and their derivatives with emphasis on the calcium-binding domain of porcine sheathlin. *Arch. Oral Biol*, 46 (11), 1005–1014.
- YAMAMOTO H (2004) Developmental properties of the Hertwig's epithelial root sheath in mice. *J Dent Res*, 83, 688–692.
- YILDIRIM S (2012) Dental Pulp Stem Cells. Springer, New York, p: 5-16.
- YILDIZ G, ERMİŞ RB, CALAPOĞLU NS, ÇELİK EU, TÜREL GY (2016) Gene-environment interactions in the etiology of dental caries. *J Dent Res*, 95, 74–79.

- YOUNG DC, SANTIAGO SA, AMENT DK, STARK DF, SLAYTON RL (2002) Association studies of acidic proline-rich salivary protein genes in caries susceptibility. *J Dent Res*, 81, A-350.
- YU PL, BIXLER D, GOODMAN PA, AZEN EA, KARN RC, RAO DC (1986) Human parotid praline-rich proteins: correlation of genetic polymorphisms to dental caries. *Genet Epidemiol*, 3, 147–152.
- ZAKHARY GM, CLARK RM, BIDICHANDANI SI, OWEN WL, SLAYTON RL, LEVINE M (2007) Acidic proline-rich protein Db and caries in young children. *J Dent Res*, 86, 1176–1180.
- ZEICHNER-DAVID M, VO H, TAN H, DIEKWISCH T, BERMAN B, THIEMANN F, ALCOCER MD, HSU P, WANG T, EYNA J, CATON J, SLAVKIN HC, MACDOUGALL M (1997) Timing of the expression of enamel gene products during mouse tooth development. *Int J Dev Biol*, 41, 27–38.
- ZERO DT (1995) In situ caries models. *Advances in Dental Research*, 9, 241- 230.
- ZERO DT (1999) Dental caries process. *Dent. Clin North Am*, 43, 635-664.
- ZHOU W, LIU Z, WU J, LIU JH, HYDER SM, ANTONIOU E (2006) Identification and characterization of two novel splicing isoforms of human-estrogen related 100 receptor beta. *J Clin Endocrinol Metab*, 91, 569- 579.

8. EKLER

8.1. EK-1 Etik Kurul Onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Mine Matriks Protein Sentezinden Sorumlu Genlerdeki Polimorfizmler İle Süt ve Daimi Diş Çürüğü Arasındaki İlişkinin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	Yenişehir Mahallesi Tahsin Duru Caddesi No:14 YAŞIHAN/KIRIKKALE
	TELEFON	0 318 333 50 10/5733
	FAKS	0 318 224 07 86
	E-POSTA	ketik@kku.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ

KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Aylin AKBAY OBA			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Çocuk Diş Hekimliği			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi			
VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
DESTEKLEYİCİ	Kırıkkale Üniversitesi	Bilimsel	Araştırma	Projeleri
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	-			
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	Kırıkkale Üniversitesi	Bilimsel	Araştırma	Projeleri
ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
	FAZ 2	☐		
	FAZ 3	☐		
	FAZ 4	☐		
	Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
	Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
	İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
	İlaç dışı klinik araştırma	☒		
Diğer ise belirtiniz				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının vermediği her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Mine Matriks Protein Sentezinden Sorumlu Genlerdeki Polimorfizmler İle Süt ve Daimi Diş Çürüğü Arasındaki İlişkinin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Ekim 2018	01	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Ekim 2018	01	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Ekim 2018	01	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama		
	SIGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	ILAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
	DİĞER	☐				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:16/01	Tarih: 16.10.2018				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ	Göğüs Hastalıkları	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Figen ÇOŞKUN	Acil Tıp	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof.Dr. Hakan BOYUNAĞA	Tıbbi Biyokimya	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof.Dr. H. Ebru OLGUN	Periodontoloji	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof.Dr. M. Faik ÖZVEREN	Beyin ve Sinir Cerrahisi	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof.Dr. Meral SAYGUN	Halk Sağlığı	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof.Dr.Gülten KARACA	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof.Dr. Aslı Fahriye CEYLAN IŞIK	Tıbbi Farmakoloji	Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Mine Matriks Protein Sentezinden Sorumlu Genlerdeki Polimorfizmler İle Süt ve Daimi Diş Çürüğü Arasındaki İlişkinin İncelenmesi							
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU									
Prof. Dr. Meryem ALBAYRAK	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Doç. Dr. Gökçe ŞİMŞEK	KBB	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Doktor Öğretim Üyesi Faruk Metin ÇOMU	Fizyoloji	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Doktor Öğretim Üyesi Faruk PEHLİVANLI	Genel Cerrahi	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Ecz. Burhan BİRİCİ	Serbest Eczacı	Kırıkkale- Merkez	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Av. Halil MUTLU	Hukuk	Kırıkkale-Merkez	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Yakup DOĞAN	Fakülte Sekreteri	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ
İmza:



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

8.2. EK-2 Kırıkkale Valiliği Milli Eğitim Müdürlüğü'nden alınan resmi izin

Kırıkkale Üniv. Evrak Tarih ve Sayısı: 24/01/2020-E.2086



T.C.
KIRIKKALE VALİLİĞİ
İl Millî Eğitim Müdürlüğü

Sayı : 79140815-605.01-E.1237273
Konu : Araştırma Çalışması İzin Talebi
(Prof. Dr. Aylin AKBAY OBA)

17/01/2020

VALİLİK MAKAMINA

İlgi: a) Milli Eğitim Bakanlığı Yenilik ve Eğitim Teknolojileri Genel Müdürlüğü'nün 22.08.2017 tarihli ve 12607291 sayılı yazısı, 2017/25 Sayılı Genelgesi.
b) Kırıkkale Üniversitesi Rektörlüğü Dış Hekimliği Fakültesi Dekanlığı'nın 09/01/2020 tarih ve 1142 sayılı yazısı.
Yapılacak olan araştırma yarışma anket ve sosyal etkinliklerle ilgili izin işlemleri bir ili kapsıyorsa izin işlemlerinin ilgili İl Millî Eğitim Müdürlüğünce sonuçlandırılması ilgi (a) Genelge ile hükme bağlanmıştır.

Kırıkkale Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Klinik Bilimler Bölümü Pedodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Aylin AKBAY OBA tarafından yürütülmekte olan " Mine Matriks Protein Sentezinden Sorumlu Genlerdeki Polimorfizmler İle Süt ve Daimi Diş Çürüğü Arasındaki İlişkinin İncelenmesi " konulu proje kapsamında Müdürlüğümüze bağlı Anaokulları, Ortaokul ve Liselerde ağız içi diş muayenelerin yapılması için ilgi (b) yazı ile izin talep edilmektedir.

Kırıkkale Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Klinik Bilimler Bölümü Pedodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Aylin AKBAY OBA, tarafından yürütülmekte olan " Mine Matriks Protein Sentezinden Sorumlu Genlerdeki Polimorfizmler İle Süt ve Daimi Diş Çürüklüğü Arasındaki İlişkinin İncelenmesi " konulu proje kapsamında Müdürlüğümüze bağlı Anaokulları, Ortaokul ve Liselerde ağız içi diş muayenelerin 2019-2020 Eğitim-Öğretim yılı sonuna kadar yapılması tüm sorumluluğun Okul/ Kurum Müdürlüklerine ait olması kaydıyla yapılan ağız içi diş muayenelerin bitiminden sonra hazırlanan raporların birer suretini Müdürlüğümüze elden teslim edilmesi Müdürlüğümüzce uygun görülmektedir.

Makamlarınızca da uygun görülmesi halinde olurlarınıza arz ederim.

Yusuf TÜFEKÇİ
Millî Eğitim Müdürü

OLUR
17/01/2020
Sait ÖZKILINÇ
Vali a.
Vali Yardımcısı

Adres: Fabrikalar Mah. Ulubatlı Hasan Cad. No:39 B.Blok Kat:2 Oda
No: 214
Elektronik Ağ: kirikkale.meb.gov.tr
e-posta: kirikkalemem@meb.gov.tr

Bilgi için: Ahmet TAŞTEKİN VHKİ

Tel: 0 (318) 222 01 33
Faks: 0 (318) 224 24 59

Bu evrak güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır. <https://evraksorgu.meb.gov.tr> adresinden 050d-55b0-38df-9f80-19b5 kodu ile teyit edilebilir.

Kırıkkale nv. Evrak Tarih ve Sayısı: 24/01/2020-E.2086



T.C.
KIRIKKALE VALİLİĞİ
İl Millî Eğitim Müdürlüğü

Sayı : 79140815-605.01-E.1463778
Konu : Araştırma alışması İzin Onayı
(Prof. Dr. Aylin AKBAY OBA)

21/01/2020

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜNE
(Diş Hekimliği Fakltesi Dekanlığı ve Pedodonti Anabilim Dalı Başkanlığı)

İlgi : 09/01/2020 tarih ve 1142 sayılı yazınız.

Üniversitenizin Diş Hekimliği Fakltesi Klinik Bölümler Bölümü Pedodonti Anabilim Dalı Ğretim yesi Prof. Dr. Aylin AKBAY OBA tarafından yürütülecek olan "Mine Matriks Protein Sentezinden Sorumlu Genlerdeki Polimorfizmler İle Süt ve Daimi Diş rĞ Arasındaki İlişkinin İncelenmesi" konulu proje kapsamında Müdürlüğümüze bağlı bulunan Anaokulları, Ortaokul ve Liselerde ağız diş içi muayenesinin yapılabilmesi ile ilgili olarak Valilik Makamından alınan 17/01/2020 tarih ve 1237273 sayılı Valilik Oluru ekte gönderilmiştir.

Valilik Oluru gereği, yapılacak olan uygulama çalışmanın bitiminden sonra hazırlanan raporların birer suretini Müdürlüğümüz Yüksek Ğretim ve Yurt Diş Eğitim Şubesine gönderilmesi hususunda;

Gereğini rica ederim.

Emin ALICI
Vali a.
Vali Yardımcısı

EK: Valilik Oluru (1 Adet)

Güvenli Elektronik İmza
Aslı ile Aynıdır
21-01-2020

Adres: Fabrikalar Mah. Ulubatlı Hasan Cad. No:39 B.Blok Kat:2 Oda
No: 214
Elektronik AĞ: kirikkale.meb.gov.tr
e-posta: kirikkalemem@meb.gov.tr

Bilgi için: Ahmet TAşTEKİN VHK1

Tel: 0 (318) 222 01 33
Faks: 0 (318) 224 24 59

Bu evrak güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır. <https://evraksorgu.meb.gov.tr> adresinden 13b0-c797-3465-8212-97a1 kodu ile teyit edilebilir.



T.C.
KIRIKKALE VALİLİĞİ
İl Millî Eğitim Müdürlüğü

Sayı : 79140815-605.01-E.9790831
Konu : Araştırma İzin Talebi
(Aylin AKBAY OBA)

17/05/2019

VALİLİK MAKAMINA

- İlgi: a) Milli Eğitim Bakanlığı Yenilik ve Eğitim Teknolojileri Genel Müdürlüğü'nün 22.08.2017 tarihli ve 12607291 sayılı yazısı, 2017/25 Sayılı Genelgesi.
b) Kırıkkale Üniversitesi Öğrenci İşleri Dairesi Başkanlığının 30/04/2019 tarih ve 3200 sayılı yazısı.

Yapılacak olan araştırma yarışma anket ve sosyal etkinliklerle ilgili izin işlemleri bir ili kapsıyorsa izin işlemlerinin ilgili İl Millî Eğitim Müdürlüğünce sonuçlandırılması ilgi (a) Genelge ile hükme bağlanmıştır.

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Bilimler Bölümü Pedodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Aylin AKBAY OBA tarafından yürütülecek olan "Mine Matriks Protein Sentezinden Sorumlu Genlerdeki Polimorfizmler İle Süt ve Daimi Diş Çürüğü Arasındaki İlişkinin İncelenmesi" konulu proje kapsamında Müdürlüğümüze bağlı Anaokulları, Ortaokul ve Liselerde ağız içi muayenenin yapılması için ilgi (b) yazı ile izin talep edilmektedir.

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Bilimler Bölümü Pedodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Aylin AKBAY OBA tarafından yürütülmekte olan "Mine Matriks Protein Sentezinden Sorumlu Genlerdeki Polimorfizmler İle Süt ve Daimi Diş Çürüğü Arasındaki İlişkinin İncelenmesi" konulu proje kapsamında Müdürlüğümüze bağlı Anaokulları, Ortaokul ve Liselerde ağız içi muayenelerin yapılmasıyla ilgili olarak, Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dt. Serap BAHADIR'ın sorumluluğunda 2018-2019 Eğitim- Öğretim yılı sonuna kadar tüm sorumluluğun Kurum Müdürlüklerine ait olması kaydıyla hazırlanan proje kapsamında yapılan ağız içi muayene ve araştırmanın bitiminden sonra çalışmanın birer suretinin rapor halinde Müdürlüğümüze elden teslim edilmesi Müdürlüğümüzce uygun görülmektedir.

Makamlarınızca da uygun görülmesi halinde olurlarınıza arz ederim.

Hüdaverdi DEMİR
Millî Eğitim Müdür V.

OLUR
17/05/2019
Sait ÖZKILINÇ
Vali a.
Vali Yardımcısı

Adres: Fabrikalar Mah. Ulubatlı Hasan Cad. No:39 B.Blok Kat 2 Oda
No: 214
Elektronik Ağ: kırkkale.meb.gov.tr
e-posta: kırkkalemem@meb.gov.tr

Bilgi için: Ahmet TAŞTEKİN VHKİ

Tel: 0 (318) 222 01 33
Faks: 0 (318) 224 24 59

Bu evrak güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır. <https://evraksorgu.meb.gov.tr> adresinden cde6-dc86-3c0e-96ab-7384 kodu ile teyit edilebilir.

8.3. EK-3 Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Çocuğunuzun Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı tarafından yürütülen “Mine Matriks Protein Sentezinden Sorumlu Genlerdeki Polimorfizmler İle Süt ve Daimi Diş Çürüğü Arasındaki İlişkinin İncelenmesi” isimli çalışmaya katılması istenmektedir. Bu çalışma bir araştırma niteliğinde olup çalışmanın amacı; çocuğunuzdaki çürük gelişimi ile gen mutasyonu arasındaki ilişkiyi incelemektir. Bu araştırma sonucunda diş çürüğü oluşumunun erken tanısı sağlanarak uygun tedavi yöntemleri ve koruyucu uygulamaların yapılabilmesi için bilimsel veri elde edilecektir. Bu çalışmada çocuğunuza herhangi bir müdahalede bulunulmayacaktır. Sadece ağız içerisinden pamuklu çubuk aracılığıyla yanak bölgesinden örnek alınacaktır.

Bu çalışmada çocukların ağız içinden pamuklu çubuklar ile alınmış olan örneklerden genetik inceleme yapılacaktır. Çalışmaya çocuğunuzun katılımını kabul etmediğiniz takdirde; kliniğimizde çocuğunuzun rutin tedavisi devam edecektir. Bu araştırmada gönüllünün maruz kalacağı öngörülen bir risk bulunmamaktadır. Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı 200’dir.

Bu çalışmaya çocuğunuzun katılıp katılmaması tamamen sizin kendi irade ve isteğiniz ile vereceğiniz karara bağlıdır ve istediğiniz zaman, herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkınızı kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilirsiniz.

İlgili sağlık otoritelerinin, gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan erişimleri bulunabilmektedir, ancak bu bilgiler gizli tutulmaktadır. Bu formun imzalanmasıyla gönüllü veya yasal temsilcisinin söz konusu erişime izin vermiş olduğu kabul edilmektedir. İlgili mevzuat gereğince gönüllünün kimliğini ortaya çıkaracak kayıtlar kesinlikle gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanmayacak; araştırma sonuçlarının yayınlanması halinde dahi gönüllünün kimliği gizli kalacaktır.

Araştırma konusuyla ilgili ve araştırmaya katılmaya devam etme isteğinizi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde, zamanında bilgilendirileceksiniz.

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

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla çocuğumun katılmasını kabul ediyorum. Çalışmanın amacı ve sonuçları; karşılaşılabileceğim olumlu ve olumsuz yönleri Dt. Serap BAHADIR tarafından bana açıklanmıştır.

Gönüllünün Yasal Temsilcisi

Adı Soyadı

İmzası

Tarih

Araştırma Ekibinde Yer Alan ve Yetkin Bir Araştırmacı

Adı Soyadı

İmzası

Tarih

Gerekliyse Olur İşlemine Tanık Olan Kişi

Adı Soyadı

İmzası

Tarih

Katılımcı ile Görüşen Hekim,

Dt. Serap BAHADIR

KKÜ Diş Hekimliği Fakültesi

Pedodonti Anabilim Dalı

Tel: 0 545 275 83 08

8.4. EK-4 Anket Formu

ANKET FORMU

Adı Soyadı :

Yaş:

Cinsiyet:

Anne ya da Babanın İsmi ve Telefonu :

Tel 1:

Tel 2:

Ev Adresi :

Annenin eğitim durumu:

☐Okula gitmedim ☐İlkokul ☐Ortaokul ☐Lise ☐Üniversite

Babanın eğitim durumu:

☐Okula gitmedim ☐İlkokul ☐Ortaokul ☐Lise ☐Üniversite

Çocuğunuzun;

1. Herhangi bir kronik/sistemik hastalığı var mı?

.....

2. Genetik bir hastalığı var mı?

.....

3. Düzenli kullandığı ilaç var mı?

.....

4. Herhangi bir nedenle radyoterapi ya da kemoterapi gördü mü?

.....

5. Teşhis edilmiş ağız kuruluğu şikayeti var mı?

.....

6. Son 1 yıl içerisinde diş hekimine ne sıklıkla gitti?

☐ Bir kez

☐ İki- Üç kez

☐ Dört kez ve daha fazla

- ☐ Son 1 yıl içerisinde diş hekimine gitmedi
- ☐ Hayatında hiç diş hekimine gitmedi
- ☐ Hatırlamıyorum

7. Dişlerini ne sıklıkla fırçalıyor?

- ☐ Hiç fırçalamıyor
- ☐ Ayda 2-3 kez
- ☐ Haftada 1 kez
- ☐ Haftada 2-3 kez
- ☐ Günde 1 kez
- ☐ Günde 2 kez veya daha fazla

8. Çocuğunuz için diş macunu kullanmaya kaç yaşınızda başladınız?

- ☐ 2 yaşından önce
- ☐ 2-4 yaş arası
- ☐ 4 yaşından sonra
- ☐ Diş macunu kullanmıyor

9. Çocuğunuzun diş macunu florür içeriyor mu?

Evet ☐ Hayır ☐ Bilmiyorum ☐

10. Diş ipi veya arayüz fırçası kullanıyor mu?

Hayır ☐

Evet ☐ Gün aşırı ☐ Günde 1 kez ☐ Günde 1 kezden fazla

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

Hayır ☐

Evet ;

- ☐ Florürlü tablet
- ☐ Florürlü gargara
- ☐ Florürlü diş macunu
- ☐ Florürlü jel

☐ Florürlü vernik

☐ Muayenehanede hekim tarafından florür uygulaması

12. Çocuğunuz doğduğundan beri Kırıkkale ilinde mi yaşıyorsunuz?

Evet ☐

Hayır ☐

13. İçme suyunuzu nasıl temin ediyorsunuz? (Birden fazla şık işaretleyebilirsiniz)

☐Kaynak suyu kullanıyorum Kaynağı yazınız

Hangi yıllar arasında kullandınız?.....

☐Evimdeki musluk suyunu kullanıyorum

Hangi yıllar arasında kullandınız?.....

☐Hazır su kullanıyorum Markasını yazınız.....

Hangi yıllar arasında kullandınız?

14. Çocuğunuza bebek maması verdiniz mi?

☐ Evet ☐ Hayır

Kaç yaşına kadar bebek maması verdiniz?

Markasını yazınız?

15. Çocuğunuz üç yaşından önce flor tablet kullandı mı?

☐ Flor tablet aldı Kaç yaşında ne kadar süre kullandı?

☐ Hayır almadı

16. Gebeliğiniz süresince flor tablet aldınız mı?

☐Flor tableti aldım ☐Hayır almadım

17. Gebeliğiniz sırasında Kırıkkale ilinde mi yaşıyordunuz?

☐Evet ☐Hayır

18. Gebeliğinizde hangi içme suyunu kullandınız?

☐Kaynak suyu kullandım Kaynağı yazınız

☐Evimdeki musluk suyunu kullandım

☐Hazır su kullandım Markasını yazınız.....

19. Çocuğunuz aşağıdaki gıdalardan herhangi birini ne sıklıkla yiyip içti?

	Günde birkaç kez	Her gün	Haftada birkaç kez	Haftada bir	Ayda birkaç kez	Asla
Taze meyve						
Bisküvi, kek, kremalı kek, tatlı turta, çörekler vb.						
Limonata, kola veya diğer alkolsüz içecekler						
Reçel / Bal						
Şekerli sakız						
Tatlı / şeker						
Şekerli süt						
Şekerli çay						
Şekerli kahve						

9. ÖZGEÇMİŞ

BİREYSEL BİLGİLER

Adı : Serap

Soyadı : BAHADIR

Doğum yeri ve tarihi : Polatlı / 29.07.1992

Uyruğu : TC

Medeni durumu : Evli

İletişim adresi : Yenişehir Mah. Hürriyet Cad. No: 7/14 Yahşihan/KIRIKKALE

Telefon : 0545 275 83 08

E-mail : dtserapyldz @gmail.com

II. EĞİTİM

Eylül 2017-	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Uzmanlık Eğitimi (devam ediyor)
2017 Nisan -2017 Eylül	Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Uzmanlık Eğitimi
2011 Eylül -2016 Temmuz	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Samsun
2006-2010	Kırıkkale Fen Lisesi, Kırıkkale
2004-2006	Sevim Aras İlköğretim Okulu, Polatlı
1999-2004	İnönü İlköğretim Okulu, Polatlı

III. MESLEKİ DENEYİMİ

Eylül 2017-

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Pedodonti Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

2017 Nisan -2017 Eylül

Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Pedodonti Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi

IV. ÜYE OLDUĞU BİLİMSEL KURULUŞLAR

Türk Pedodonti Derneği

V. BİLİMSEL İLGİ ALANLARI

Bilimsel Toplantılarda Takdim Edilen ve Bildiri Kitabında Basılan Poster ve Sunumlar:

Poster Bildirileri

1. Serap Yıldız, Merve Erkmen Almaz (2018) Palatinal Mukoza Retansiyonlu Avülse Dişin Tedavisi: Olgu Sunumu: 24. Türk Diş Hekimleri Birliği Uluslararası Kongresi ve Expodental, 27-30 Eylül 2018, Ankara

Sözlü Bildiriler

1. Serap Bahadır, Merve Erkmen Almaz. Pedodonti Kliniğine Ağrıyla Başvuran Hastalarda Ağrı Kesici Kullanımının Değerlendirilmesi. 26. Uluslararası Türk Pedodonti Derneği Kongresi, 2019. Antalya

VI. BİLİMSEL ETKİNLİKLERİ

Katıldığı Bilimsel Sempozyum, Kongre ve Kurslar

- 24. Türk Diş Hekimleri Birliği Uluslararası Kongresi ve Expodental, 27-30 Eylül 2018, Ankara
- 26. Uluslararası Türk Pedodonti Derneği Kongresi, Concorde De Luxe Resort Lara, Antalya 10-13 Ekim 2019