T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

MİNE OLUŞUMUNDA GÖREV ALAN AMELX, ENAM VE AMBN GEN POLİMORFİZMLERİNİN VE ÇEVRESEL RİSK FAKTÖRLERİNİN ÇÜRÜK ETYOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Büşra ÖZDEMİR

Restoratif Diş Tedavisi
Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Nurcan ÖZAKAR İLDAY

ERZURUM
2020

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANA BİLİM DALI

MİNE OLUŞUMUNDA GÖREV ALAN AMELX, ENAM VE AMBN GEN POLİMORFİZMLERİNİN VE ÇEVRESEL RİSK FAKTÖRLERİNİN ÇÜRÜK ETYOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Arş. Gör. Dt. Büşra ÖZDEMİR

Tez Savunma Tarihi	: 21.10.2020
Tez Danışmanı	: Doç. Dr. Nurcan ÖZAKAR İLDAY (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi	: Prof. Dr. Yusuf Ziya BAYINDIR (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi	: Prof. Dr. Nilgün SEVEN (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi	: Prof. Dr. Çağatay BARUTÇUGİL (Akdeniz Üniversitesi)
Jüri Üyesi	: Doç. Dr. Hasan DOĞAN (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi	: Doç. Dr. Nurcan ÖZAKAR İLDAY (Atatürk Üniversitesi)

Onay
Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı
Prof. Dr. Abdulvahit ERDEM

Uzmanlık Tezi
ERZURUM - 2020

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER ..... **I**

TEŞEKKÜR ..... **V**

ÖZET ..... **VII**

ABSTRACT ..... **VIII**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **IX**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **X**

1. GİRİŞ **12**

2. GENEL BİLGİLER **15**

2.1. Diş Çürüğü 15

2.1.1. Diş Çürüğü Tanımı 15

2.1.2. Diş Çürüğü Etiyolojisi 16

2.1.3. Diş Çürüğü Risk Faktörleri 16

2.1.3.1. Çevresel Risk Faktörleri 18

2.1.3.1.1. Geçmiş Çürük Deneyimi 18

2.1.3.1.2. Dental Plak ve Ağız Hijyeni 20

2.1.3.1.3. Karyojenik bakteriler 20

2.1.3.1.3.1. S. Mutans ve Laktobasil Tespit Yöntemleri 21

2.1.3.1.3.1.1. Kültür Bazlı Metotlar 22

2.1.3.1.3.1.2. Dip Slide Metodu 22

2.1.3.1.3.1.3. Moleküler Metotlar 23

2.1.3.1.4. Florür Kullanımı 23

2.1.3.1.5. Beslenme Alışkanlıkları ve Şeker Kullanımı 25

2.1.3.1.6. Yaş 26

2.1.3.1.7. Cinsiyet 27

2.1.3.1.8. Sosyoekonomik Durum 27

2.1.3.1.9. Diş Hekimi Ziyareti 28

2.1.3.1.10. Diğer Faktörler 28

2.1.3.2. Konağa Ait Risk Faktörleri 29

2.1.3.2.1. Tükürük 30

2.1.3.2.1.1. Tükürük Analiz Yöntemleri 32

2.1.3.2.1.1.1. Tükürük Akış Hızı 32

2.1.3.2.1.1.2. Tükürük Tamponlama Kapasitesi 33

2.1.4. Genetik Terminoloji 35

2.1.5. Genetik Çalışmalar 35

2.1.5.1. Bakteri Genetiğinin Araştırılması 36

2.1.5.2. Konak Genetiğinin Araştırılması 36

2.1.5.2.1. Deneysel Hayvan Çalışmaları 36

2.1.5.2.2. Gözlemsel Araştırmalar 36

2.1.5.2.2.1. Ailesel Yığılım Araştırmaları 36

2.1.5.2.2.2. İkiz Çalışmaları 37

2.1.5.2.3. Bağlantı ve İlişki Analizleri 37

2.1.5.2.3.1. Hayvan Çalışmaları 38

2.1.5.2.3.2. İnsan çalışmaları (Gen Polimorfizmi Çalışmaları) 38

2.1.6. Çürük Risk Değerlendirmesinde Gen-Çevre Etkileşimi 43

2.1.7. DNA İzolasyonu 44

2.1.8. RealTime (RT) PZR—(Gerçek Zamanlı PZR) 45

3. GEREÇ VE YÖNTEM 47

3.1. Klinik Uygulama 47

3.1.1. Çalışmaya Katılacak Bireylerin Seçimi ve Toplanması 47

3 1.2. Anket Uygulanması 47

3.1.3. Geçmiş Çürük Deneyiminin Hesaplanması 48

3.1.4. Plak İndeksinin Hesaplanması 48

3.1.5. Tükürük Örneklerinin Toplanması ve Saklanması 49

3.1.6. Uyarılmış Tükürük Akış Hızının Ölçülmesi 50

3.1.7. Tükürük Tamponlama Kapasitesinin Ölçümü ve Ph' nın Belirlenmesi 51

3.1.8. Tükürükte Mutans Streptokok ve Laktobasil Sayımı Testinin Uygulanması 52

3.2. Laboratuvar Uygulamaları 55

3.2.1. SNP (Single Nükleotide Polymorphism) Seçimi 55

3.2.2. DNA İzolasyonu 56

3.2.3. Real-Time PCR 57

3.2.4. Allelic Discrimation Analizi 58

3.3. İstatistiksel Değerlendirme 58

4. BULGULAR 60

4.1. Çevresel Risk Faktörlerine Ait Bulgular 60

4.1.1. Cinsiyet 60

4.1.2. Yaş 60

4.1.3. DMFT İndeksi 61

4.1.4. Plak Miktarı 62

4.1.5. S.mutans ve Laktobasil Sayısı 63

4.1.6. Diş Hekimi Ziyareti 65

4.1.7. Diş Fırçalama Sıklığı 65

4.1.8. Diş Fırçalama Süresi 65

4.1.9. Florürlü Macun ve Gargara Kullanımı 65

4.1.10. Diş İpi Kullanımı 66

4.1.11. Ara Öğün Sayısı 66

4.1.12. Günlük Tüketilen Şekerli Yiyecek-İçecek Sayısı 66

4.1.13. Sigara Kullanımı 66

4.2. Konağa Bağlı Risk Faktörlerine Ait Bulgular 67

4.2.1. Tükürük Akış Hızı 67

4.2.2. Tükürük Ph 67

4.2.3. Tükürük Tamponlama Kapasitesi 68

4.2.4. AMELX Genotip ve Alel Dağılımı 69

4.2.5. ENAM Genotip ve Alel Dağılımı 69

4.2.6. AMBN Genotip ve Alel Dağılımı 70

4.3. Gen -Çevre Etkileşimine Ait Bulgular 71

5. TARTIŞMA 75

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 90

KAYNAKLAR 92

EKLER 108

EK-1. ÖZGEÇMİŞ 108

EK-2. BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU 109

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU 111

EK-4. PROJE ÖZET RAPORU 113

EK-5. ANKET 115

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince yardımlarını ve ilgisini benden esirgemeyen, her zaman yanımda olup değerli tecrübe ve önerileri ile bana yol gösteren, desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Nurcan ÖZAKAR İLDAY'a

Çalışmamın genetik açıdan gerçekleşmesinde değerli katkıları, emekleri ve sabrıyla büyük yardımı olan Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Hasan DOĞAN'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yusuf Ziya BAYINDIR'a bölümümüzün değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Nilgün SEVEN, Prof. Dr. Mehmet YILDIZ, Doç. Dr. Pınar GÜL, Doç.Dr. Ömer SAĞSÖZ, Dr. Öğr. Üyesi Neslihan ÇELİK, Dr. Öğr. Üyesi Merve İŞCAN YAPAR'a,

Tez jüri komitemde yer alan Pof. Dr. Çağatay BARUTÇUGİL'e, tezimin istatistik çalışmalarında yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi. Aycan Mutlu YAĞANOĞLU'na,

Uzmanlık süresince kısa sürede çok güzel anılar biriktirdiğimiz ,her anlamda birbirimize destek olduğumuz, Erzurum'un bana kazandırdığı çok kıymetli dostlarım ve kıdemdaşlarım Dt. Merve Pelin DUR ve Dt. Merve Nur YILMAZ'a,

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan keyif aldığım ve benim için Erzurum'u anlamlı kılan, güzel günler geçirdiğimiz arkadaşlarım Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Araştırma Görevlisi Dt. Buket KARALAR, Dt. Kübra CANTÜRK, Dt. Zeynep Sümeyye ŞİMŞEK olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma ve bölüm çalışanlarımıza,

Hayatı boyunca bana öğrettiklerini asla unutmayacağım, evladı olmaktan gurur duyduğum, beni bir yerlerde izlediğini düşündüğüm canım anneme ve varlığına şükrettiğim biricik kardeşime

Hayat arkadaşım, en büyük destekçim, anlayışıyla sabrıyla her zaman yanımda olan, bilgisine ve fikirlerine güvendiğim, kıdemdaş olmaktan büyük keyif aldığım, çok kıymetli eşim Seyit Bilal ÖZDEMİR'e

Sevgiyle heyecanla gelmesini beklediğimiz canım oğlum Yağız Ali'ye,

Sonsuz teşekkür ederim…

Dt. Büşra ÖZDEMİR

ÖZET

Mine Oluşumunda Görev Alan AMELX, ENAM VE AMBN Gen Polimorfizmlerinin ve Çevresel Risk Faktörlerinin Çürük Etyolojisi Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

Amaç: Diş çürüğü çevresel ve genetik risk faktörlerinin etkileşimi sonucu oluşan multifaktoriyel bir hastalıktır. Genetik faktörlerin çürük oluşumu üzerine etkisine dair güçlü kanıtlar olmasına rağmen gen polimorfizmleri ve çevresel risk faktörlerinin etkisi ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmanın amacı; AMELX, ENAM VE AMBN gen polimorfizmlerinin, çevresel risk faktörlerinin ve bunların etkileşiminin erişkinlerdeki çürük etiyolojisi üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot: Yaş aralığı 20-60 olan 'düşük çürük risk' grubundaki (DMFT≤5) 59 birey ile 'yüksek çürük risk' grubundaki (DMFT≥14) 55 bireyin tükürük örneklerinden genomik DNA izolasyonu yapıldı. AMELX rs17878486, ENAM rs12640848, AMBN rs17733915 tek nükleotid polimorfizmlerinin dağıtımları Real-Time PCR yöntemi ile değerlendirildi. Çevresel risk faktörlerinden yaş, plak miktarı, diş hekimi ziyareti, diş fırçalama sıklığı ve süresi, florürülü macun, gargara ve diş ipi kullanımı, S.mutans ve laktobasil sayısı, ara öğün sayısı, günlük tüketilen şekerli içecek öğün sayısı ve sigara kullanımı incelendi. Konağa bağlı risk faktörlerinden ise tükürük akış hızı, tükürük pH, tükürük tamponlama kapasitesi, AMELX, ENAM ve AMBN genlerinin genotip ve alel dağılımı incelendi. Verilere Ki kare, bağımsız gruplara ait t testi ve lojistik regresyon testi uygulandı. İstatistiksel anlamlılık değeri $p<0.05$ olarak belirlendi.

Bulgular: Çürük risk grupları arasında AMELX rs17878486, ENAM rs17733915, AMBN s12640848 gen polimorfizmleri açısından anlamlı farklılık bulunmadı. (χ^2 test, $p>0.05$) Çevresel risk faktörü olarak değerlendirilen plak miktarı, tükürük mutans streptokokları sayısı, tükürük laktobasil sayısı, diş hekimi ziyareti, diş fırçalama süresi, florürlü macun ve garagara kullanımı, diş ipi kullanımı ile konağa ait risk faktörlerinden tükürük tamponlama kapasitesi ve tükürük ph'sı çalışılan bu hasta populasyonunda yüksek çürük riskli grup ile ilişkili bulundu. (χ^2 test, $p<0.05$)

Sonuç: Genotip ile çevresel risk faktörlerine göre ayarlanmış lojistik regresyon analizi sonucuna göre; DMFT artışına, yaş ve plak indeksi pozitif etkili iken gargara kullanımı negatif etkili olarak tespit edildi.($p<0.05$)

Anahtar Kelimeler: Diş çürüğü, AMELX, ENAM, AMBN, tek nükleotid polimorfizmi

ABSTRACT

Evaluation of the Effects of AMELX, ENAM and AMBN Gene Polymorphisms and Environmental Risk Factors on Caries Etiology

Aim: Tooth decay is a disease in which environmental and genetic risk factors occur. Factors related to the effects of milk risks, gene polymorphisms and various factors on the effect of genetics on the effect were revealed. This construction purpose; AMELX, ENAM and AMBN gene polymorphisms, their risks and their effects on caries etiology in adults.

Materials and Methods Genomic DNA isolation was performed from saliva samples of 59 individuals in the "low caries risk" group (DMFT≤5) and 55 individuals in the "high caries risk" group (DMFT≥14), whose age range was 20-60. Distributions of single nucleotide polymorphisms AMELX rs17878486, ENAM rs12640848, AMBN rs17733915 were evaluated by Real-Time PCR method. Among environmental risk factors, age, amount of plaque, dentist visits, frequency and duration of tooth brushing, use of fluoride paste, mouthwash and floss, number of S.mutans and lactobacilli, number of snacks, the number of sugary beverage meals consumed per day and cigarette use were analyzed. Among the host-related risk factors, saliva flow rate, saliva pH, saliva buffering capacity, genotype and allele distribution of AMELX, ENAM and AMBN genes were examined. Chi square, t test of independent groups and logistic regression test were applied to the data. Statistical significance was determined as $p < 0.05$.

Results: No significant difference was found among caries risk groups in terms of AMELX rs17878486, ENAM rs17733915, AMBN s12640848 gene polymorphisms. (χ^2 test, $p<0.05$) Plaque amount considered as environmental risk factor, saliva mutans streptococci number, saliva lactobacilli count, dentist visit, tooth brushing time, use of fluoride paste and garage, use of dental floss and saliva tamponade from host risk factors In this patient population whose capacity and saliva ph were studied, it was found to be associated with the high caries risk group. (χ^2 test, $p<0.05$)

Conclusion: According to the results of logistic regression analysis adjusted according to genotype and environmental risk factors; While age and plaque index were positive for DMFT increase, use of mouthwash was found to be negative ($p < 0.05$).

Keywords: Tooth decay, AMELX, ENAM, AMBN, single nucleotide polymorphism

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Venn Diagramı 15
Şekil 2.2. Nonspesifik hastalık modeli 17
Şekil 2.3. Genetik faktörlerin etkileşimini gösteren Venn diyagramı 30
Şekil 3.1. Tükürük örneği almak için kullanılan plastik tüp 50
Şekil 3.2. Uyarılmış tükürük akış hızının hesaplanmasında kullanılan malzemeler (parafin, derecelendirilmiş steril kap) 51
Şekil 3.3. Tükürük tamponlama kapasitesi ölçümü için kullanılan malzemeler (Derecelendirilmiş kap, tamponlama solisyonu, steril pipet ve skala) 52
Şekil 3.4. Tükürük S.mutans ve Laktobasil sayısını ölçmek için kullanılan besiyeri içeren tüp ve $NaHCO_3$ tablet (besiyeri içeren tüpün açık renkli yüzü S.mutans,koyu renkli yüzü Laktobasil sayımı yapar) 53
Şekil 3.5. Tükürük S.mutans miktarı (çok yüksekten, çok düşüğe) 54
Şekil 3.6. Tükürük Laktobasil miktarı (çok yüksekten, çok düşüğe) 54
Şekil 3.7. Tükürük testlerini içeren Karies Screen Test +P isimli kit 54
Şekil 3.8. Genti marka magnetik izolasyon robotu 56
Şekil 3.9. Real-Time PCR cihazı 58
Şekil 4.1. Gruplar arası tükürük akış hızı dağılımı grafiği 67
Şekil 4.2. Gruplar arası tükürük ph dağılımı grafiği 68
Şekil 4.3. Gruplar arası tükürük tamponlama miktarı dağılımı ve grafiği 68

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Uyarılmiş tükürük akış hızı değerlendirilmesi 50
Tablo 3.2. Tükürük tamponlama kapasitesi değerlendirilmesi 52
Tablo 3.3. Tükürük mutans streptekok sayısının değerlendirilmesi 53
Tablo 3.4. Tükürük laktobasil sayısının değerlendirilmesi 54
Tablo 3.5. Tükürük testleri ve tükürük örneği için kullanılan kitler 55
Tablo 3.6. Çalışmada incelenen genler ve polimorfizmleri 56
Tablo 3.7. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Materyal Bilgileri 56
Tablo 3.8. PCR Reaksiyonu İçin Kullanılan MasterMix Bilgileri 58
Tablo 3.9. PCR için kullanılan reaksiyon koşulları 58
Tablo 4.1. Gruplara ait cinsiyet dağılımı 60
Tablo 4.2. Gruplar arası ortalama yaş dağılımı ve istatistiği 61
Tablo 4.3. Gruplara ait yaş aralığı dağılımı ve istatistiği 61
Tablo 4.4. Gruplar arası ortalama DMFT indeksi, DMFT dağılımı ve istatistiği 62
Tablo 4.5. Gruplar arası çevresel risk faktörlerinin dağılımı, skorlanması ve yüzdeleri 63
Tablo 4.6. Gruplar arası genotip ve alel dağılımı ve yüzdeleri 71
Tablo 4.7. DMFT artışında etkili olan risk faktörlerinin belirlenmesinde uygulanan tek değişkenli ve çok değişkenli lojistik regresyon analizi 73

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMBN : Ameloblastin proteinini kodlayan gen

AMELX : Amelogenin proteinini kodlayan gen

CO2 : Karbondioksit

ºC : Santigrad derece

D : Çürük diş sayısı

DMFS : Çürük, kayıp ve dolgulu diş yüzeyi

DMFT : Çürük, kayıp ve dolgulu diş sayısı

DSPP : Dentin sialofosfoproteini kodlayan gen

ENAM : Enamelin proteinini kodlayan gen

F : Dolgulu dişlerin sayısı

H^+ : Hidrojen İyonu

HCl : Hidroklorik Asit

HCl : Hidroklorik asit

KLK4 : Kallikrein proteinini kodlayan gen

M : Çürük nedeniyle çekilmiş diş sayısı

NaHCO3 : Sodyum bikarbonat

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

pH : Bir çözeltinin asitlik veya alkalinlik derecesi

S. mutans : Streptoccocus mutans

TNP : Tek nükleotid polimorfizmleri

TUFT1 : Tuftelin proteinini kodlayan gen

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

% : Yüzde

µl : mikrolitre

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun büyük bir bölümünü etkileyen karmaşık, çok faktörlü bir hastalık olan diş çürüğü pek çok sağlık problemine ve diş kaybına neden olan ciddi bir sorundur. Çürüğün etyolojisinde mikroorganizma, zaman, substratlar ve konakçı dışında birçok neden mevcuttur. [1]Diş çürüğünün etiyolojisi uzun yıllardır araştırılmaktadır. Bir kişinin çürük riskine; diyet, ağız hijyeni, florür maruziyeti ve karyojenik bakterilerin kolonizasyon seviyesi gibi çevresel faktörler; tükürük akış hızı, tükürük tamponlama kapasitesi, dişlerin birbirine göre konumu, diş minesinin yüzey özellikleri ve arka dişlerdeki oklüzal çatlakların derinliği gibi konakçı faktörler etkili olmaktadır. [2]

Günümüze kadar araştırmacılar birçok çevresel faktörü tek başına veya birlikte ele alarak çürük riskini değerlendirmişlerdir.[3-5] Bunun yanında sadece çevresel faktörlerin değerlendirilmesinin diş çürüğü oluşumunu açıklamadığının altı çizilmiştir. Çünkü aynı çevresel risk faktörlerine maruz kalan bireylerin çürük riskinin aynı olmadığı belirlenmiş, bu sonuç çürüğün etiyolojisinde genetik faktörlerin de rol oynadığını akla getirmiştir.[6]

Diş çürüğü ve genetik arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi ise yakın zamanda gerçekleşen gelişmelerle başlamaktadır. Hastalıkların etiyolojisinde rol oynayan ve risk oluşturabilen genler hakkında yararlı bilgiler, insan DNA'sındaki üç milyar baz çiftinin dizilimini ortaya çıkaran 'İnsan Genom Projesi'nin 2003 yılında tamamlanmasının ardından elde edilmiştir.[7]

Günümüze kadar yapılan bazı çalışmalarda genlerin mine yapısı ve rolü üzerine etkisine odaklanılmıştır. Bazı çalışmalar, mine oluşumunda rol oynayan genlerin çürük risk artışı üzerine etkili olduğunu göstermektedir. Bu genlerdeki genetik varyasyon, daha yüksek mineral kayıplarına neden olabilen diş minesinin yapısal değişikliklerine neden olurlar.[8-10] Mine ve dentin mineralizasyonu ile beraber tükürük proteinleri, ağız içi savunma elemanları, tat alma ve beslenme tercihleri ile ilgili gen polimorfizmleri ve

çürük arasındaki ilişki incelenerek genetik faktörlerin çürük riski üzerindeki rolü araştırılmıştır.[6]

Çürük oluşumunda etkili olan genetik ve çevresel faktörler hastalığa yatkınlık ve dirençte önemli rol oynar ve bu nedenle her ikisi de diş çürüğü ile ilgili herhangi bir çalışmada dikkate alınmalıdır.[11]

Buna göre bu tez çalışmasının amaçları aşağıdaki gibi sıralanabilir:

-Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında çevresel risk faktörlerinden olan; yaş, plak miktarı, diş hekimi ziyareti, diş fırçalama sıklığı ve süresi, florürlü macun, gargara ve diş ipi kullanımı, S.mutans ve laktobasil sayısı, ara öğün sayısı ve günlük tüketilen şekerli yiyecek-içecek öğün sayısı ve sigara kullanımının etkisini değerlendirmek,

-Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında konağa ait risk faktörlerinden olan tükürük akış hızı, tükürük pH ve tamponlama kapasitesinin etkisini değerlendirmek

-Çürük etiyolojisinde rol oynadığı düşünülen gen polimorfizmleri arasından seçilen; mineralizasyonla ilişkili amelogenin proteinini kodlayan AMELX genine ait rs17878486 polimorfizminin, ameloblastin proteinini kodlayan AMBN genine ait rs17733915 polimorfizminin, enamelin proteinini kodlayan ENAM genine ait rs12640848 polimorfizminin çalışılan populasyonda çürüğe yatkınlığının veya çürüğe karşı koruyucu etkisinin olup olmadığını değerlendirmek,

-Çalışmada inceleyeceğimiz gen polimorfizmleri ile beraber çevresel ve konağa ait risk faktörlerinin beraber değerlendirilmesi ile erişkin bireylerde DMFT artışını gen-çevre etkileşimi açısından açıklayabilen bir 'çürük risk modeli' geliştirmektir.

Bu çalışmanın hipotezleri şu şekildedir:

1) Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında; çevresel risk faktörlerinin (yaş, plak miktarı, diş hekimi ziyareti, diş fırçalama sıklığı ve süresi, florürülü

macun, gargara ve diş ipi kullanımı, S.mutans ve laktobasil sayısı, ara öğün sayısı ve günlük tüketilen şekerli yiyecek-içecek öğün sayısı ve sigara kullanımı) çürük riski ile ilişkisi yoktur.

2) Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında; konağa ait risk faktörlerinin (tükürük akış hızı, tükürük pH ve tamponlama kapasitesi) çürük riski ile ilişkisi yoktur.

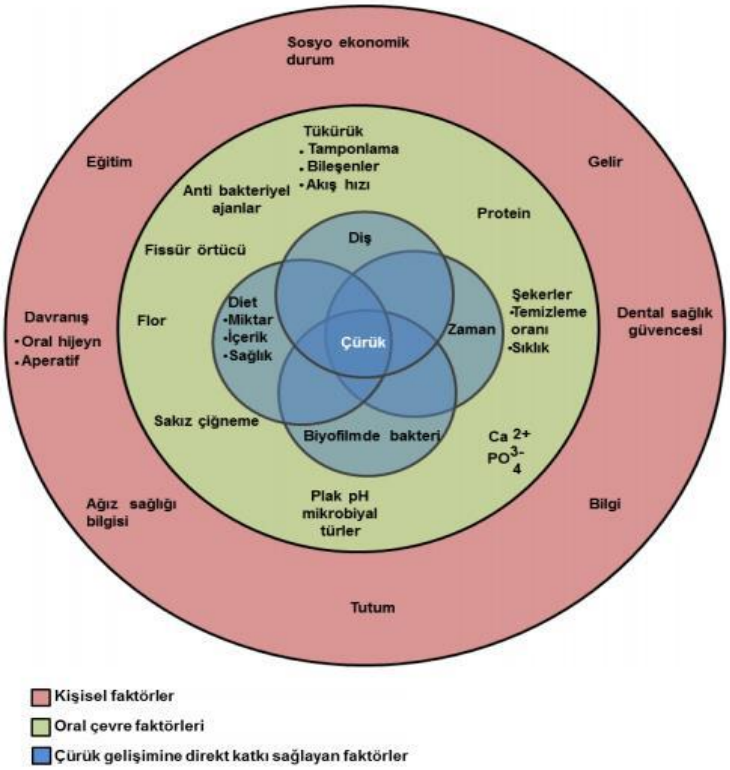
3) Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında AMELX genine ait rs17878486 polimorfizminin, AMBN genine ait rs17733915 polimorfizminin, ENAM genine ait rs12640848 polimorfizminin çürük riski ile ilişkisi yoktur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diş Çürüğü

2.1.1. Diş Çürüğü Tanımı

Çürük, bakteri ve bakteri enzimlerince oluşturulan diş sert dokularının demineralizasyonu ve bunu takiben kalsifiye dokuların çözünmesiyle karakterize enfeksiyöz bir hastalık olarak tanımlanmaktadır.[12, 13] Diş çürüğü, dünya çapında insanların en yaygın kronik hastalıklarından biridir; bireyler yaşamları boyunca bu hastalığa duyarlıdır. Diş çürüğü, asit üreten bakteriler ve fermente edilebilir karbonhidrat ile dişler ve tükürük gibi birçok konakçı faktör arasında zamanla karmaşık bir etkileşim yoluyla oluşur. [14] Diş çürüğü oluşumu mikroorganizmaların karbonhidratları fermente ederek plak içerisinde asit oluşturması ile başlamaktadır. Diş mineralinde, diş dokusu ve plak sıvısı arasındaki dengenin bozulması sonucu çözünme meydana gelmektedir.[15, 16]



Şekil 2.1. Venn Diagramı

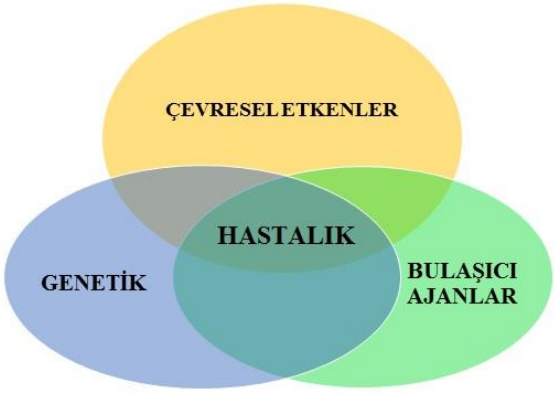
2.1.2. Diş Çürüğü Etiyolojisi

Diş çürüğü, multifaktoriyel ve kompleks etiyolojiye sahiptir. [17] Birbiriyle etkilesim içinde olarak diş çürüğüne direkt katkı sağlayan ve ilk olarak Paul Keyes tarafından gösterililen bu faktörler: konak, biyofilmdeki bakteri, diyettir. Bir enfeksiyonun etki göstermesi için zaman içinde aktif olması gerektiğinden doğal olarak zaman boyutunu da içermektedir.[18] Bu faktörlerin her birini değerlendirmeye alan ve çürüğe yatkınlığı tam olarak tespit etmeye yardımcı olan tek bir test bulunmamaktadır. Diş çürüğü riskine neden olan çeşitli faktörlerin analizi ile değerlendirilebilmektedir. Bu durum; diş çürüğü deneyimi ,flor kullanımı, plağın miktarı, beslenme alışkanlıkları, tükürüğün biyokimyasal ve mikrobiyolojik olarak incelenmesi ile sosyal ve davranışsal faktörleri içermektedir.[17]

2.1.3. Diş Çürüğü Risk Faktörleri

Çürük riski tanımı; bireyde belirli bir süre içinde çürük lezyonu oluşma olasılığıdır. Çürük oluşumuna sebep olan birçok faktörlerin bir araya gelmesi veya savunma mekanizmasının yetersizliğinin bir sonucu olarak çürük riskinin yükseldiği bilinmektedir. [19, 20] Çürük riski tüm etyolojik faktörler aynı kaldığında bireyde yeni çürük oluşumunun veya var olan çürüğün ilerlemesinin riski olarak tanımlanmaktadır. [21]

Risk faktörleri nedensel zincirin bir parçasıdır. Hastalık meydana geldiğinde, risk faktörünün giderilmesi iyileşmeye yol açmayabilir.[22] Keyes diyagramı ”nonspesifik hastalık modeli” olarak adlandırılan genel bir hastalık modelinin spesifik bir uygulamasıdır. Bu hastalık modelinin “çevre”, “genetik” ve “bulaşıcı ajan”olmak üzere 3 unsuru vardır.[23]



Şekil 2.2. Nonspesifik hastalık modeli

Streptoccocus mutans (s. mutans), Streptoccocus Sobrinus (s. sobrinus) ve Laktobasillerin bazı türleri bildirilen temel karyojenik bakterilerdir.[24, 25] Bu bakterilerin sürekli olarak açığa çıkardıkları asitler dişte mineral kayıplarına neden olmaktadır [24]. Ayrıca tükürük akışı ve tükürük kompozisyonunun biyofilm oluşumunda önemli olduğu bildirilmiştir.[26] Son yıllarda bazı araştırmacılar, hastalığın gelişiminde cinsiyet, etnik köken ve yaşı da risk faktörlerine ek olarak tanımlamışlardır . Düşük sosyoekonomik statü biyolojik olmayan bir risk faktörü olup eğitim seviyesi, bireyin yaşam tarzı, beslenme içeriği ve sağlık hizmetine ulaşım sıklıkla diş çürüğü ile ilişkilendirilmektedir.[27-29]

Ancak hastalığın oluşmasına neden olabilen tüm bu risk faktörlerinin bilinmesine rağmen aynı çevresel risk faktörlerine maruz kalan bireylerin farklı DMFT değerleri gösterdiği bildirilmiştir.[30] Çürüğe daha hassas ve dirençli bireylerin varlığı, araştırmacıları diş çürüğünün genetik yapısı üzerine çalışmalara yöneltmiştir.[31] Diş çürüğü oluşumuna genetik özelliklerin %40-60 oranında etkilediği günümüze kadar yapılan çalışmalarla bildirilmiştir.[32] Diş çürüğü, bireyin doğuştan sahip olduğu genetik özelliği ve beslenme alışkanlığı gibi sonradan kazandığı epigenetik faktörlerden etkilenmektedir.[33]

Diş çürüğünün etiyolojisi konusunda uzun yıllardır çalışılmaktadır. Diş çürüğü, birbiriyle etkileşimli pek çok faktör ile ilişkilidir. Bir kişinin çürük risk profiline, aşağıdakileri içeren çeşitli faktörler etki eder:[2]

1. Konak Faktörleri: Tükürük akışı, tükürük tamponlama kapasitesi, dişlerin pozisyonları, diş minesinin yüzey karakterleri, arka dişlerin oklüzal fissür derinlikleri.
2. Çevresel Faktörler: Beslenme, ağız hijyeni, fluorid alımı, karyojenik bakterilerin kolonizasyon seviyesi.[2]

2.1.3.1. Çevresel Risk Faktörleri

Ağız ve diş sağlığının iyileştirilmesi ve korunması için riske dayalı yaklaşımda çevresel risk faktörleri başlığı altında; geçmiş çürük deneyimi, karyojenik bakteriler, dental plak, ağız hijyen alışkanlıkları, florür kullanımı, beslenme alışkanlıkları ve şeker kullanımı, sağlık sistemi, eğitim, meslek, cinsiyet, yaş, sosyoekonomik durum, diş hekimine gitme sıklığı, yaşam kalitesi ve genel sağlık durumu incelenmektedir. [23]

2.1.3.1.1. Geçmiş Çürük Deneyimi

Ağız ve diş sağlığı problemlerine yönelik hizmetlerin doğru planlanabilmesi için istatistiksel bilgilere gereksinim duyulmaktadır.[34, 35] Dünya Sağlık Örgütü (WHO), ağız ve diş sağlığı araştırmalarında standardizasyonu sağlamak için temel ölçüt ve yöntemler geliştirmektedir. Diş çürükleri için çürük, kayıp ve dolgulu dişler [decayed, missing, filled, teeth (DMFT)], DMF-S ve Significant Caries Index ölçütlerden bazılarıdır.[36, 37]

DMFT indeksi, ilk defa 1937 yılında Klein ve Palmer tarafından daimi dişlerde görülen çürük, çürük nedeniyle çekilmiş veya dolgu yapılmış diş (DMFT) ya da yüzeyi (DMFS) gösteren bir indeks olarak açıklanmış ve 1939'da Hagerstown tarafından ilk olarak bilimsel bir çalışmada kullanılmıştır.[38]

Geçmiş çürük deneyiminin DMFT ve DMFS değerleri kullanılarak kaydedilmesi hızlı, basit ve ucuz olması dolayısıyla çoğunlukla çürük tahmin modellerinde kullanılmaktadır.[39] DMFT ve DMFS, dişlerdeki çürük prevalansını tanımlar.[40] Dişin herhangi bir bölgesinde çürük lezyonu bulunan dişler; çürük (D), çürük nedeniyle çekilen dişler; çekilmiş (M), sekonder çürük bulunmayan dolgu ile restore edilmiş dişler ve çürük nedeniyle kron ya da köprü ayağı şeklinde restore edilen dişler ise dolgulu (F) skorunu alır. Eğer çürük dışında estetik, travma ya da köprü ayağı olması için kaplanmış diş varsa hesaplamaya alınmamalıdır. Yirmi yaş dişleri genellikle hesaplamaya dahil edilmez. Sonuç olarak, çürük dişlerin (D), çürük nedeniyle çekilmiş dişlerin (M) ve dolgulu dişlerin (F) sayısı toplanarak her bireye özgü DMFT değerleri elde edilir.[41]

Daha detaylı olan bir indeks de DMF'nin her dişin yüzeyine uygulandığı DMFS indeksidir. Her yüzeye uygulandığı için DMFS, DMFT' den daha ayrıntılı bir indekstir ve S bileşeni dişin yüzeyini ifade eder. Molar ve premolar dişlerin 5 yüzeyi, anterior dişlerin 4 yüzeyi olduğu göz önünde bulundurulur. [42, 43]

Çalışmamızda da kullandığımız DMFT indeksi toplumun çürük ve sonuçlarından ne sıklıkla etkilendiğini göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü, erişkinler için DMFT oranının risk durumunu aşağıdaki şekilde sınıflandırmıştır. [44]

DMF-T <5,0.....çok düşük

DMF-T 5,0-8,9.....düşük

DMF-T 9,0-13,9.....orta

DMF-T>13,9.....yüksek

Yapılan birçok epidemiyolojik çalışmada geçmiş çürük deneyiminin gelecekte oluşacak yeni çürükler için önemli risk göstergesi olduğu bildirilmiştir [19, 45-47]. Ayrıca çürük riskinin doğru tahmin edilebilmesinde sadece bu faktörü kullanmanın yeterli olabileceği ifade edilmektedir.[46]

2.1.3.1.2. Dental Plak ve Ağız Hijyeni

Dişler ve ağız içindeki tüm katı yüzeyler üzerine biriken bakteri topluluğu dental plak (bakteri plağı) olarak adlandırılmaktadır. Diş plağı, diş eti kenarında ve diş eti altında biriken bakterilerin amorf ve yapışkan bir kitlesidir. Plak oluşumu doğal bir olaydır ve plağı oluşturan bakterilerin büyük bir kısmı birbiriyle ilişki halindedir. Diş plağı, hava-su spreyi ile diş üzerinden kaldırılamayan yapışkan bir yapıdır [48] Bakteri plağının ortadan kaldırılması çürük profilaksisi ve diş tedavisinin temel yaklaşımını oluşturmaktadır [49]

Dental plağın çürük riskiyle ilişkili olup olmadığını erişkinler üzerinde değerlendiren epidemiyolojik çalışmalarda, plak miktarı arttıkça çürük riskinin de arttığı belirtilmiştir.[3, 5, 19, 46] Buna rağmen literatürde bakteri plağı ile çürük riski arasında ilişki olmadığını savunan bazı çalışmalar da vardır.[50, 51]

Ağız hijyeni, diş yüzeyinde oluşan plağın, ağız ortamındaki yiyecek artıklarının ve bakterilerin uzaklaştırılmasını kapsayan bir prosedürdür. Yetersiz ağız bakım alışkanlıkları diş çürüğü, kanal tedavisi ihtiyacı veya diş çekimi gibi sonuçları beraberinde getirmektedir. [52] Ağız hijyeninin sağlanmasında, diş fırçası, arayüz fırçası, diş ipi, diş macunu ve ağız gargarası kullanılmaktadır [53] Yeterli ağız bakımını gerçekleştiremeyen bireylerde karyojenik riskin yükseldiği ve yeni çürük oluşumu için uygun ortamın sağlandığı bildirilmiştir.[19] Diş fırçalama sıklığının da diş çürüğü miktarını etkilediği gösterilmiştir.[54] Yapılan çalışmalarda, dişlerini günde iki kez düzenli fırçalayanların ve fırçalama alışkanlığını erken yaşlarda edinenlerin daha az çürüğü olduğu belirtilmiştir.[55]

2.1.3.1.3. Karyojenik Bakteriler

Bakterilerin çürük yapabilmesi için sahip olması gereken özellikler arasında diş yüzeyine tutunabilme, laktik asit üretebilme, pH' ın düşük olduğu ağız içi ortamında canlılığını koruyabilme ve üreyebilme, sakkaroz konsantrasyonlarının arttığı durumlara

dayanıklı olabilme gibi özellikler olmalıdır. Çürük yapıcı bakteri türleri; Streptekoklar, Laktobasiller, aktinomiçesler ve mayalardır.[56] Diş yüzeyine ilk yapışan mikroorganizmalar genellikle Streptekok oralis, Streptekok mitis, Streptekok sanguis ve Streptekok mutans olarak belirlenmiştir.[57]

Yapılan klinik çalışmalara göre S. mutans ve Laktobasiller çürük oluşumunda en etkili bakteriler olarak tespit edilmiştir. Çürük oluşumunun başlangıcında S.mutanslar daha çok görev alırken, Laktobasiller ise çürüğün ilerlediği dönemlerde görülmekte ve çürüğün en derin kısımlarına yerleşerek çürüğün ilerlemesini sağlamaktadırlar.[58]

Hem çocuk hem yetişkinler üzerinde yapılan çalışmalarda tükürükteki mutans streptokok sayısı ile çürük lezyonu arasında pozitif ilişki tespit edilmiştir[19, 41] Ayrıca erişkinlerde tükürükteki yüksek laktobasil sayısı ile yeni kök çürüğü gelişimi arasındaki ilişkinin anlamlı olduğu belirtilmiştir.[41] Diş çürüğü etiyolojisinde rol oynamalarına rağmen, çürük riskinin değerlendirilmesinde mutans streptokok sayımının yüksek ve düşük çürük riskli bireyler için etkin, orta çürük risk grubunda yer alan bireyler için etkin bir yöntem olmadığı ifade edilmektedir.[19] Dolayısıyla gelecekte oluşabilecek çürüklerin tahmininde sadece tükürükteki bakterileri saptayan testlerin kullanımı tavsiye edilmemektedir. Bununla beraber mevcut tükürük testlerinin hastaları motive etmek ve antimikrobiyal tedavilerin etkilerini gözlemlemeye yardımcı olmak için kullanılabileceği ifade edilmektedir.[46]

2.1.3.1.3.1. S. Mutans ve Laktobasil Tespit Yöntemleri

S. Mutans'lar ağız içinde ve özellikle dişler üzerinde yerleşirler. Diş üzerinde çoğalmaları belirli bölgelerde gerçekleşir. Ara yüzeylerde ve arka bölgelerde, ön bölgelerden daha fazla sayıda S. mutans kolonizasyonu gözlenmiştir. Streptokok'lar tükürük pH'yı düşürmede yüksek potansiyele sahiptir.[59] Mutans streptokokların sayısını belirleyen testlerin antibakteriyel ağız gargaralarının kullanımından en az 12 sa, florürlü

jel uygulamasından en az 2 hafta, antibiyotik tedavisinden ise en az 4 hafta sonra yapılması önerilmektedir. Geçmiş yıllarda tükürükten Laktobasil tayini için uygulanacak pratik yöntemler mevcut değildi. Larmas 1975 yılında eskiye nazaran daha pratik bir yöntem olan dip-slide tekniğini geliştirerek normal mikrobiyolojik laboratuar çalışmalarını kolaylaştırmıştır. Bu teknik bir yüzeyin tükürük ile kaplanması esasına dayanır. Yüzeyin üzerine yayılan tükürük miktarı sabittir ve mikroorganizmalar yüzeyin üzerinde üreyerek koloni oluşturmaktadır. Bu koloniler çıplak gözle görülebilmektedir. Bu yöntem kullanılarak ölçülen Laktobasil seviyesi 10^5 cfu/ml'den yüksek ise bu kişiler aktif çürüklü olarak kabul edilmektedir.[60]

2.1.3.1.3.1.1. Kültür Bazlı Metotlar

Tükürükte bulunan bakteriler ile alakalı tespit edicileri esas alan tükürük mikrobiyal testlerinin çoğu uzun zamandan beri mutans streptokoklar ve laktobasiller üzerine odaklanmıştır. Tükürüğe dayalı metodlar seçilen bir ortamda bulunan tükürük mutans ve laktobasillerin miktarını belirlemek için kullanılan yaygın yöntemlerdendir.[61] MSB (mitis salivaris bacitracin agar) üçe ayrılır. 10^{-1}, 10^{-2}'lik sulandırmadan 50 µl damlatarak yüzeye yayılır. 37°C de 48 saat mum söndürme kavanozunda bekletilir. Laktobasil için ise Rogosa SL agar üçe ayrılır. 10^{-1},10^{-2}lik sulandırmadan 50 µl damlatılarak yüzeye yayılır. 37°C de 48 saat mum söndürme kavanozunda bekletilir.[62, 63]

2.1.3.1.3.1.2. Dip Slide Metodu

Strip mutans Dentocult testi olarak da isimlendirilmektedir. Seçici bir bariyer olan yüksek sakkaroz konsantrasyonu ile basitrasin kombinasyonunu içeren besiyer tercih edilir. Toplanan tükürük strip üzerine yayılır. Strip 37 °C'de 48 saat inkübe edilir. Üreme miktarı üretici firmanın verdiği skalaya göre belirlenir.[64]

❖ **KariesScreenTest Bacteria Yöntemi:** KariesScreenTest Bacteria (Aurosan GmbH, Essen, Almanya) çürük risk testi, uyarılmış tükürükte bulunan S. mutans ve

Laktobasillerin sayısını tespit etmek için kullanılan bir Dip Slide metodudur. Kitin bir tarafı S. mutans bir tarafı Laktobasil ekimi için agar içermektedir. Kit tüpten çıkarılarak üzerindeki koruyucu folyolar sökülür. Özel steril bir pipet aracılığı ile kit üzerinde bulunan besiyerindeki tüm alanlar ıslanacak şekilde tükürük ile yıkanır. Fazla tükürük akıtılır. Kit içerisinden bulunan $NaHCO_3$ tableti tüp içerisine atılır. Ardından agar taşıyıcı tüp içerisine yerleştirilir ve kitler 37 °C'de 48 saat inkübe edilir. Uygun ışık koşulları altında ürün kutusu içerisinden çıkan skalaya göre S.mutans ve Laktobasillerin agar yüzeylerinde meydana getirdiği koloni oluşumu değerlendirip, üretici firma tarafından verilen skalaya göre sayımı yapılır.

2.1.3.1.3.1.3. Moleküler Metotlar

Günümüzde çürük riskinin değerlendirilmesi şüphesiz yeni teknolojilerden faydalanacaktır. Daha hassas olan checker board DNA-DNA hibridizasyonu, genomik parmak izi 16S rRNA klonlaması ve dizilemesi ya da T-RLFP DNA bazlı metodları diş çürüğü mikrobiotasının tanımlanması ve sınıflandırılmasında kullanılabildiği bildirilmiştir.[65]

2.1.3.1.4. Florür Kullanımı

İnsan metabolizması için gerekli eser elementlerden biri olan florun, çocuk ve erişkinlerdeki çürük önleyici etkinliği kanıtlanmıştır.[66]

Flor' un dişler üzerindeki etkisi;

1. Mine tabakasının oluşumu sırasında minenin sağlıklı gelişmesini, iyi mineralize olmasını sağlayarak, çürükten korunma açısından kaliteli bir mine oluşumuna katkıda bulunur.
2. Diş yüzeyinde biriken ve gıda artıkları ile bakterilerden oluşan mikrobiyal dental plak üzerinde zararlı asit oluşumunu engelleyici etki gösterir.

3. Tükürük içerisinde mikroorganizmaların gelişim ve metabolizmalarının inhibisyonunu gerçekleştirir.
4. Dişin yapısındaki hidroksiapatitleri florapatite dönüştürerek dişin en üst ve en ince tabakası olan minenin asitte çözünürlüğünü azaltır.
5. Asidik şartlar altında diş yüzeyine kalsiyum, fosfor ve flor gibi mineral iyonların çökelmesi sayesinde remineralizasyona öncülük eder.
6. Dişler sürdükten sonra florür topikal yolla etki eder. Bu etki, florürlü diş macunları, florlu gargaralar, flor jelleri ve vernikleri ile elde edilebilir.[67]

Çocuk veya yetişkinler için florür kullanımının yeterliliği belirlenirken içme suyu, yiyecek ve içecekler, florürlü diş macunu, gargara, tablet gibi preperatların kullanımı ve periyodik olarak gerçekleştirilen profesyonel florür uygulamaları göz önünde bulundurulmaktadır.[46]

Sistemik olarak verilen florür diş oluşumu sırasındaki etkisi dişin sağlıklı gelişmesini, iyi mineralize olmasını sağlaması şeklindedir. Bu şekilde diş dokusu çürüklere daha dayanıklı hale gelmektedir[68]. Bu etkiyi, günümüzde sistemik uygulamalara karşı olan bazı araştırmacılar tartışmalı bulmaktadır.[69] Topikal flor uygulaması, çürükten korunmak ve çürüğü kontrol altına almak amacıyla diş hekimleri tarafından kullanılan etkili ve güvenli bir yöntemdir.[70, 71]

Klinik çalışmalar florürlü verniklerin kullanılmasıyla çürük oranında azalmanın %25 ile %75 arasında olduğunu göstermiştir.[72] Uzman diş hekimleri tarafından yapılan topikal flor uygulamaları orta ve yüksek derecede çürük riski ile karşı karşıya olan hastaların çürük miktarını azaltmakta oldukça etkili olmaktadır.[73] Yüksek çürük riski olan hastalarda 3-6 aylık aralıklarla kullanımı, orta dereceli risk gruplarında ise, yıllık kullanımı önerilmektedir.[74] Yılda dört uygulamayı tavsiye eden klinik deneyler geniş bir çürük önleyici etkinlik elde etmişlerdir.[75]

Yapılan çalışmalarda diş sert dokularında biriken florürden ziyade ağız sıvıları içerisinde aktif halde bulunan florür dolaşımının diş yapısındaki remineralizasyon sürecini daha iyi desteklediği bildirilmiştir.[66] Bu nedenle çürük risk değerlendirmesi yapılırken bireylerin florürlü ürünleri ne derece etkin kullandığının tespit edilmesinin oldukça önemli olduğu belirtilmiştir.[76] Florür kullanımı çürük riskinin değerlendirilmesinde koruyucu faktör olarak kabul edilmektedir [46]

Günlük kullanımda, bireyin kendi kendine uyguladığı topikal ajanlar arasında flor içeren ağız gargaraları ve diş macunları en yaygın kullanılanlar arasındadır.[77] Topikal florürün çürükten koruyucu etkisi, minede remineralizasyon gerçekleştirmesi ve bakteri metabolizmasını değiştirmesi sonucu meydana gelmektedir.[78] Dişlerin hergün florürlü bir diş macunu ile fırçalanması ile etkili bir korunma sağlanabilmektedir.[71] Plak tamamen kaldırılmamış olsa bile, fırçalama ile sağlanan bu fayda, suların florlanmasıyla ya da topikal jeller ile elde edilemeyecek bir avantajdır.[79] Clarkson ve McLoughlin'e göre, florürlü diş macunları kullanımı ile yapılan klinik deneyler sonunda % 30 civarında çürükte azalma sergilendiğini göstermişlerdir.[80]

2.1.3.1.5. Beslenme Alışkanlıkları ve Şeker Kullanımı

Beslenme, organizmayı oluşturan hücrelerin düzenli ve dengeli çalışması için gerekli olan yağlar, karbonhidratlar, proteinler, vitaminler ve mineraller gibi besin maddelerinin vücuda yeteri kadar alınması olarak tanımlanabilmektedir. Doğru beslenme alışkanlıkları, organizmanın genel sağlığını etkilediği gibi ağız ve diş sağlığı için de oldukça önemlidir.

Karyojenik gıdaların yüksek miktarda alımı ve alım sıklığının fazla olmasının çürük riski açısından önemli bir risk faktörü olduğu, diğer yandan nişastadan, süt ürünlerinden, meyve ve sebzeden zengin bir beslenme düzeninin ise çürük riski açısından koruyucu bir etki sağlayabileceği belirtilmektedir.[81]

Şeker tüketiminin çürük aktivitesi üzerinde oldukça önemli bir rolü olduğu fakat flor uygulamaları ve ağız bakım alışkanlıklarının geliştirilmesi ile şeker tüketiminin zararlı etkisinin kısmen azaltılabileceği bildirilmiştir.[20] Karbonhidratların tüketim miktarının tek başına etkili bir faktör olmadığı tüketim sıklığının önemli olduğu bilinmektedir.[41] Karbonhidrat ağırlıklı beslenme alışkanlığına sahip bireylerin oral hijyeninin de düşük olmasıyla beraber diş çürüğü oluşumu kaçınılmazdır.[82]

Ağız bakımı iyi olan bireylerde beslenme alışkanlıklarına bakılmaksızın çürük artışının çok az olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında ağız bakımı yetersiz olan ve ağzında plak olan bireylerde fazla şeker tüketiminin çürük görülme sıklığında artışa sebep olduğu ifade edilmektedir. Çürük risk değerlendirilmesi yapılırken beslenme sıklığının ve içeriğinin göz önünde bulundurulmasının da önemli olduğu bildirilmiştir.[41]

Sonuçta hastaların beslenme alışkanlıklarının kritik olarak değerlendirilmesi gerektiği fakat değerlendirmenin sadece hastanın beyanı doğrultusunda gerçekleşmesi nedeniyle beslenmenin çürük riskinde düşük öngörüye sahip olduğunun unutulmaması gerekmektedir.[19]

2.1.3.1.6. Yaş

Yapılan çalışmalarda yaşın ilerlemesiyle birlikte dişlerdeki çürük görülme sıklığının ve restorasyon sayısının arttığı gösterilmiştir.[19] Mine olgunlaşmasını tamamlamamış yeni sürmekte olan dişlerin okluzal düzleme ulaşıp mine olgunlaşmalarını tamamlayana kadar özelikle pit ve fissür yüzeylerinin çürüğe yatkın olduğu bildirilmiştir.[41, 83]

Çürük riskinin belirlenmesinde hedef alınan yaş grubunun önemli olduğu ifade edilmektedir.[51] Farklı yaş gruplarında farklı risk etkenleri ortaya çıkmaktadır. Çürük riski açısından riskli gruplar; özellikle birinci molar dişlerin sürdüğü 5-8 yaşları arası, ikinci

molar dişlerin sürdüğü 11-15 yaşları arası ve üçüncü molar dişlerin sürdüğü 19-22 yaşları arasındaki bireylerdir..[39]

Yetişkinlerde görülen çürük, dolgu ve çekilmiş diş sayısının oldukça fazla olmasının sebebinin, özellikle ergenlik dönemi ve yetişkinliğin erken dönemlerindeki artmış risk faktörlerinin elimine edilememesi olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir.[51]

2.1.3.1.7. Cinsiyet

Kalıcı dişlerin kızlarda erkeklere göre 6 ile 12 ay önce sürdüğü bildirilmiştir. [84] Yetişkinlik döneminde bayanlar erkeklere göre daha yüksek DMFT değerleri göstermesine rağmen genel olarak ağız hijyeni daha iyidir ve daha az eksik dişleri vardır.[39]

Yapılan çalışmalarda bayanların erkeklere göre daha yüksek çürük ve dolgulu diş sayısına sahip oldukları bildirilmektedir.[85] Ayrıca bayanların yeme sıklığının ve süresinin daha uzun olmasının çürük riskini arttırmaya yardımcı olduğu düşünülmektedir.[86] Diğer yandan yakın zamanda yapılan çalışmalar da bayanların hormonal değişiklikler sebebiyle tükürük akış hızı ve içeriğindeki değişimlerin (özellikle hamilelik döneminde) çürük riskini arttırabileceği bildirilmektedir.[87]

2.1.3.1.8. Sosyoekonomik Durum

Sosyoekonomik durum çürük prevalansı ile son derece ilgilidir. Çürük, sosyoekonomik düzeyi düşük bireylerde daha yaygındır. Bu durum tedavilerin daha pahalı olmasından değil sosyoekonomik düzeyi daha yüksek olan bireylerin ağız ve diş sağlığına verdikleri önemden kaynaklanıyor olabilir.[39] Sosyoekonomik durumun çürük görülme sıklığı üzerinde oldukça etkili olabileceği bildirilmektedir.[19] Düşük sosyoekonomik düzeyin daha yüksek çürük, dolgulu ve çekilmiş sayısının bulunmasına sebep olduğu bildirilmektedir.[67] Ayrıca çalışmalarda sosyoekonomik düzeyin saptanmasında kesin kriterlerin bulunmadığı ve genel olarak; anne eğitim düzeyi, baba

eğitim düzeyi, gelir düzeyi, ailedeki birey sayısı, konut tipi ve beslenme yöntemi gibi faktörlerin üzerinde durulduğu bildirilmiştir.[88]

2.1.3.1.9. Diş Hekimi Ziyareti

Diş hekimi ziyaretleri düzenli olan bireylerin, olmayan bireylere kıyasla gelecek çürük riski açısından düşük seviyede bulunduğu düşünülmektedir. Diş hekiminin becerisinin, koruyucu uygulamaları hastaya göstermesinin, modern teknikleri uygulamasının ve hastanın düzenli diş hekimi kontrollerine gitmesinin çürük prevelansını etkilediği ifade edilmektedir.[89, 90]

Düzenli olarak diş hekimine giden bireylerin, gitmeyen bireylere göre genel tedavi skorları (DMFT veya DMFS) yüksek olsa da, düşük çürük aktivite skorlarına sahip oldukları düşünülmektedir. Aynı DMFT skoruna sahip hastalar arasında, diş hekimi ziyaretleri fazla olanlar, tedavileri yapılmış olacağından daha yüksek dolgulu diş sayısına sahiptir. Bu skorların sonuçları ve etkileyen diğer faktörlerde ilave edilerek hastanın risk seviyesinin tespiti ve kontrol aralıklarının belirlenmesinin etkili olacağı tespit edilmiştir.[41]

2.1.3.1.10. Diğer Faktörler

Sosyal faktörler arasında eğitim durumu ve mesleğin önemli olduğu bildirilmiştir.[39] Eğitimin özellikle yüksek çürük prevelansı ile ilişkili olduğu bildirilmektedir.[91] Ailenin ağız ve diş sağlığı hakkında bilgili olmasıyla birlikte kendi ağız bakımlarına önem vermeleri çocuklarını da bu konuda etkilemektedir.[39] Göçmen ailelerde, yer ve alışkanlıkların sürekli değişiyor olması dolayısıyla şekerli gıdalarla atıştırmanın artması sonucu çürük riski artmaktadır. Meslek olarak ekmek, şeker ve çikolata fabrikalarında çalışan işçilerin diğer endüstrilerde çalışanlara göre daha fazla çürük prevelansına sahip olduğu bildirilmektedir.[19]

Toplumun sağlık sistemi diş hekimi tarafından yapılacak olan tedaviyi etkilemektedir. Bireylerin ağız ve diş sağlığı sigortası toplumun sağlık sistemine göre şekillenir. Diş çürüğü tedavisinin içinde yalnızca restoratif tedavi uygulamalarının değil bunlarla birlikte koruyucu uygulamaların da bulunması önerilmektedir.[39]

Yaşam kalitesi çürük riskinin değerlendirilmesinde göz önünde bulundurulan diğer bir sosyodavranışsal faktördür. Erişkinlerde yaşam kalitesinin düşük olduğu belirtilen kişilerin; şehirli, kadın, maddi geliri az, eğitim seviyesi düşük, diş hekimi kontrolüne düzensiz giden, ağız hijyeni zayıf olan bireyler olduğu gösterilmiştir.[91]

Çocuklar tarafından şekerli sıvı ilaçların uzun süreli kullanımı gibi genel tıbbi faktörler, çürük prevalansını arttırır.[19] Sjögren sendromu, kontrolsüz diyabet gibi hastalıklar ve diğer birçok ilaç (özellikle psiko-farmasötik ürünler vb) tükürük akışını azaltarak çürük riskini artırır. Stotoksik kemoterapi gibi tedavilerde dişlerin mineralizasyonunu etkileyerek çürük riskini artırabilir.[39] Düzenli yapılması gereken ağız hijyenini etkileyen zihinsel ya da fiziksel olarak engelli popülasyonlarda çürük prevalansı ile ilgili veriler, retarde olmayan grup ile karşılaştırıldığında karbonhidrattan zengin beslenme nedeni ile daha yüksek çürük riskine sahiptir.[47]

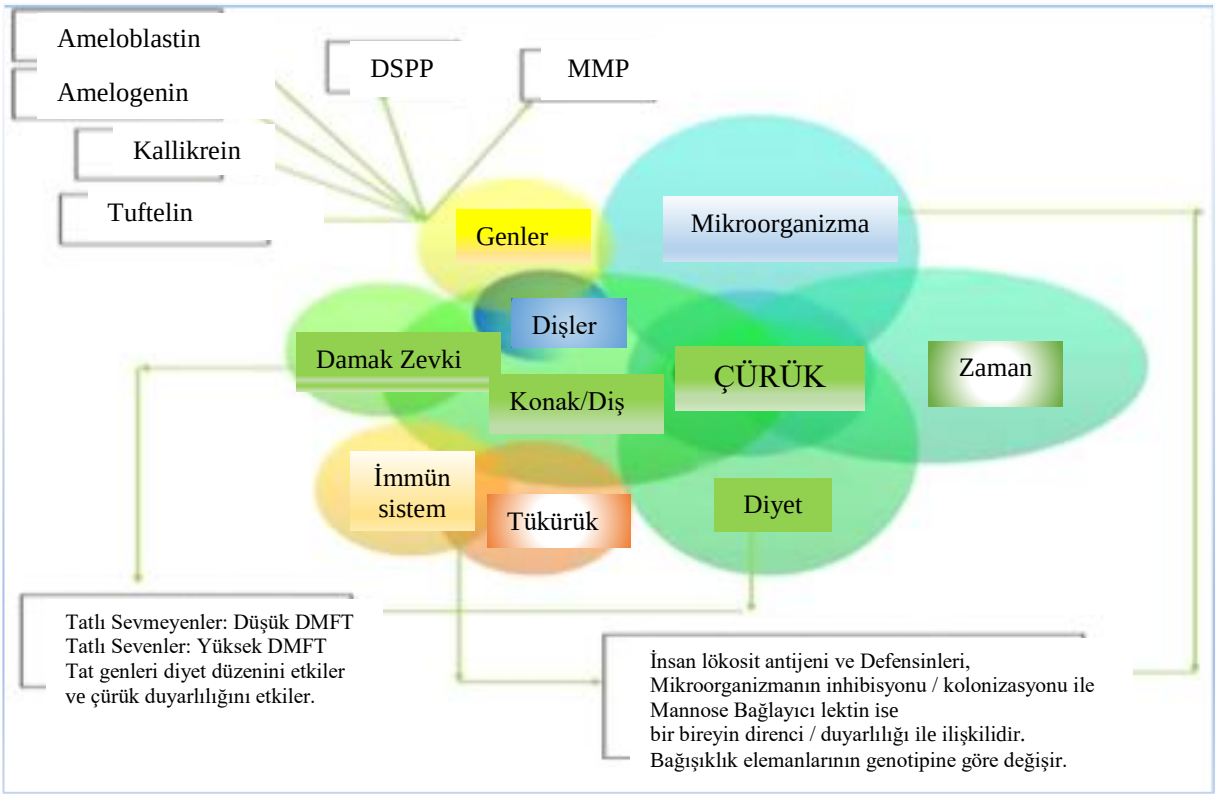
2.1.3.2. Konağa Ait Risk Faktörleri

Hastalık hakkında tüm bilinenlere karşın, maruz kaldıkları çevresel risk faktörlerinden bağımsız olarak çürüğe karşı daha hassas ve dirençli bireyler bulunmaktadır. Çürüğe daha hassas ve dirençli bireylerin varlığı, araştırmacıları diş çürüğünün genetik sebepleri üzerine çalışmaya yöneltmiştir.[2]

Konak ile ilgili faktörler, daha çok genetik kontrolün etkisi altında olmasına rağmen diğer faktörlerden de kolayca etkilenmektedir. Bu yüzden diş çürüğünün genetik yönü çalışılan bir konudur. [92] Son on yılda bireylerin çürük riskine etki eden genetik faktörler ile ilişkili çalışmalarda artış gözlenmiştir. Diş çürüğü üzerine yapılan genetik

araştırmalar 1930'lu yıllarda deneysel hayvan çalışmaları ve gözlemsel araştırmalar olarak başlamıştır. İnsanlar üzerindeki gen polimorfizmini inceleyen çalışmalar son yıllarda karşımıza çıkmaktadır. [93]

Shireen ve ark.'nın[94] yaptığı bir çalışma; diş çürüğünün genetik yönleri hakkındaki literatürü gözden geçirmekte ve hızla değişen çürük hastalık modeli için yeni bir çerçeve sunmaktadır. Bu ven diyagramı, diş çürüğünü etkileyen konağa (dişe) ait faktörlerin genetik yönleridir.



Şekil 2.3. Genetik faktörlerin etkileşimini gösteren Venn diyagramı[94]

2.1.3.2.1. Tükürük

Tükürüğün ağız ve diş sağlığı üzerine önemli etkileri vardır. Bu etkiyi tamponlama kapasitesi ve antibakteriyel etkisi ile sağlar. Tükürük; tat alma, koruma, kayganlaştırma ve temizleme gibi fonksiyonlara da sahiptir.[95] Tükürük akış hızı ve kalitesi hem çürük oluşmasında hem de remineralizasyon da önemli rol oynamaktadır.[41] Birçok çalışmada tükürük akış hızının çürük prevalansını etkilediği belirtilmektedir.[39] Ayrıca yaşa veya

kullanılan ilaçlara bağlı olarak gözlenen tükürük akış hızının düşük olmasının, çürük riskini ve aktivitesini artırdığı ifade edilmektedir.[19, 41]

Tükürük, diş çürüklerini ağız içinde ve dental plakta ortamın pH'ını nötral hâle getirerek önler. İstirahat hâlinde en önemli tamponlayıcı elemanlar inorganik fosfatlarken, uyarılmış tükürükte karbonik asit-bikarbonat sistemi devreye girer. Tamponlama kapasitesinin azalması ile diş çürüklerinde artış saptanmış olmasına rağmen tek teşhis yöntemi olarak kullanılamazlar.[96] Tükürük; bakteriyel yapışmayı, büyümeyi ve streptokok asit üretimini farklı mekanizmalarla inhibe edebilen doğuştan veya edinilmiş savunma faktörleri içerir.[97]

Tükürük esas olarak (%99,5) sudan oluşmaktadır. Ayrıca tükürükte proteinler, immünoglobulinler, enzimler, müsinler ve potasyum, kalsiyum, sodyum, magnezyum, bikarbonat, fosfat gibi elektrolitler de bulunmaktadır.[95]

Beslenme tükürük kompozisyonunu etkilemekte ancak farklı diyet uygulamalarından sonra tükürüğün tamponlama kapasitesi ve elektrolit konsantrasyonunda gözlenen değişikliklerin diş çürüğü açısından çok önemli olmadığı gözlenmiştir.[98]

Çürük riskinde tükürüğü değerlendirilebilmek için hastanın öznel şikayetleri (ağzının sık kuruması, yiyecekleri çiğnerken zorlanıp bu esnada sıvı alma ihtiyacı hissetmesi vs.) göz önünde bulundurulmaktadır. Buna ek olarak, diş hekimi tarafından tükürük salgılanma oranının azlığı sonucu ortaya çıkabilecek hastaya ait ağız içi semptomlar (dudak kuruluğu, aynanın muayane ederken ağız mukozasına yapışması, alt anterior bölgede çürük varlığı vs) değerlendirilmektedir.[99] Kronik olarak tükürüğün az salgılanmasının çürük oluşumu riskini artırması dolayısıyla söz konusu duruma neden olabilecek yaş, genel sağlık durumu, kullanılan ilaçlar, baş ve boyun radyoterapisi gibi etkenlerin dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır. Ayrıca şekersiz sakız çiğneme

önerisi veya pilokarpin önerisi gibi koruyucu tedavilerin etkinliğini belirleyebilmek için parafin kullanılarak uyarılmış tükürük akış hızının ölçülmesi de önerilmektedir.[46]

2.1.3.2.1.1. Tükürük Analiz Yöntemleri

Güncel diş hekimliğinde, çürüğün tedavi edilmesindense koruyucu diş tedavilerinin uygulanmasının öncelikli hale geldiği bilinmektedir. Birçok hastalıkta olduğu gibi, diş çürüğünde de erken teşhis uygulanacak koruyucu yöntemlerin etkisini artırmaktadır. [100]

Çürük aktivitesinin artmasında pH değişikliği önemli bir etkendir. pH değişikliğinde ise en önemli faktörlerden biri diyettir. Çoğu gıda kariyojenik özelliğe sahip olsa da, antikariyonojenik özelliklere sahip gıdalar da bulunmaktadır. Antikariyojenik gıdalarla beslenen insanlarda çürük aktivitesi azaltılabilir. Literatürde tükürük pH'sı ve diş çürümesi üzerine diyet içeriğinin etkisine yönelik çalışmalar bulunmaktadır.[101, 102]

Diş çürüğü klinik muayenede el aletleri kullanılarak ve çeşitli radyografilerle basit bir şekilde tespit edilebilir. Fakat klinik muayene ile bireyin çürüğe karşı olan duyarlılığı bilinemez. Koruyucu uygulamaların ihtiyacının belirlenmesi, koruyucu işlemlerin başarı indeksinin görülmesi, ağız hijyeni ve gıda alımının düzenlenmesi, hasta motivasyonu sağlanması, yüksek risk taşıyan kişi ve/veya grupların tanımlanması, restoratif tedavilerin başarısının takibi gibi birçok konuda laboratuvar testlerine ihtiyaç duyulmuştur.[103]

Çürük risk incelemesi, diş çürüğünün kontrol altına alınabilmesi için çok önemli olduğu düşünüldüğünden standart muayene olarak görülmelidir. Hekime diagnoz, prognoz ve tedavi önerilerinde karar verirken yol göstermektedir.[104]

2.1.3.2.1.1.1. Tükürük Akış Hızı

Tükürük akış hızı tükürüğün içeriğini etkileyen en önemli faktörlerden biridir.[49] Akış hızının artmasıyla protein, sodyum, bikarbonat ve klorit düzeyi artarken,

magnezyum ve fosfat seviyesi azalmaktadır. Hastaların tükürük akış hızının rutin olarak tespiti, hastanın normal akış hızının ve ilerde oluşabilecek değişikliklerin belirlenmesine olanak sağlar. [105]

Tükürük akış hızını etkileyen çevresel ve kişisel bir çok etken bulunmaktadır. Mevsim değişiklikleri, ışık, sigara kullanımı, cinsiyet, ilaç, yaş vb sebeplerle tükürük akış hızı değişebilir.[106]

Uyarılmamış Tükürük Akış Hızının Ölçülmesi

Uyarılmamış tükürük akış hızının ölçümü için birey dik olarak oturtulur ve başı öne doğru eğdirilerek ağız tabanında tükürüğün toplanması sağlanır. Bireyin steril tükürük kabına 5-10 dk boyunca tükürmesi sonrası toplanan tükürük miktarı ölçülerek sonuç dakikada ml olarak hesaplanır. Tükürme sırasında oluşan köpükler ölçüme dahil edilmez.[107]

Uyarılmış Tükürük Akış Hızının Ölçülmesi

Uyarılmış tükürük bireye 5 dk boyunca parafin veya şekersiz sakız çiğnetilerek toplanır. Birey öncelikle sakız veya parafin yumuşayana kadar oluşan tükürüğü yuttuktan sonra çenesinin her iki yanını kullanarak çiğnemeye devam eder ve oluşan tükürüğü sık aralıklarla steril kap içine tükürür. Beş dakikada toplanan tükürük miktarı ölçülür ve sonuç dakikada ml olarak hesaplanır. Toplanan tükürük üzerinde oluşan köpükler ölçüme dahil edilmez.[107]

2.1.3.2.1.1.2. Tükürük Tamponlama Kapasitesi

Tamponlama; asitlerin nötralize edilerek pH'nın sabit tutulması anlamına gelmektedir. Tükürük pH'sı 6.0-7.5 arasında ölçülmektedir. Tükürük pH'sını etkileyen iyonlar ise; bikarbonatlar, karbonik asitler, fosfatlar ve tükürük proteinleri olarak bilinmektedir. Tükürük pH'sını etkileyen bu iyonların azalması durumunda hidroksiapatit yapısı bozulmaya ve çözünmeye başlamaktadır. Çözünmenin başladığı bu

pH kritik pH olarak nitelendirililerek çürük başlangıcı için sınır kabul edilmektedir. Mine için kritik pH ise 5.5 olarak belirtilmiştir. İçerdiği bikarbonat, fosfat, üre ve bazı proteinler ile plaktan salgılanan asidi tamponlamak tükürüğün en önemli görevlerinden birisi olarak bilinmektedir.[108]

Tükürük tamponlama kapasitesinin ölçülmesinde iki yöntem kullanılmaktadır:

Ericsson Yöntemi

Toplanan tükürük zaman geçmeden, 1 ml çekilerek başka bir kaba aktarılır. Kabın üzerine 3 ml 0.005 Molar HCl eklenir. Kaba hafifçe titreşim yaptırılarak, kabın içerisindeki karbondioksitin çıkarılması sağlanır. Ardından 10-20 dk beklendikten sonra pH ölçümü pH metre veya indikatör kağıdı kullanılarak yapılır.[109] Ericsson yöntemi ile tükürük tamponlama testi uygulayabilen KariesScreenTest Buffer (Aurosan GmbH, Essen, Germany) isimli test kiti 2020 yılında piyasa sürülmüştür

Dentobuff Strip Yöntemi

Bu yöntemde pH indikatör kağıtları yada kolorimetrik kitler kullanılmaktadır. İndikatör kağıtları indikatör çözeltileri ile doyurulmuş ve kurutulmuş yüksek kalitede filtre kağıtlarıdır. Bu kağıtların pH tayinindeki kullanımı, tükürüğün H^+ iyonu konsantrasyonuna göre renk değiştirmesi esasına dayanır.[109]

Tamponlama kapasitesi ölçümünde Dentobuff Strip yönteminin uygulanabileceği birçok farklı tükürük tamponlama testleri mevcuttur. Bunlardan bazıları ise; Cariostat Tükürük Tamponlama Testi (CAT Buff Test, Dentsply-Sankin, Tokyo), Saliva-Check Buffer Kiti (GC, America), CRT Buffer Testi (Ivoclar Vivadent AG, FL-9494 Schaan/Liechtenstein) dir.[110] Merck şirketinin test şeridinin üretimini durdurması nedeni ile bu firmalar artık buffer test kiti üretememektedir.

Elektrometrik Yöntem

Bu yöntemde pH metre olarak adlandırılan dijital cihazla tükürük tamponlama kapasitesi ölçümü kantitatif olarak yapılır. Uygulamaya başlamadan önce pH metre 4.0-7.0 arasına kalibre edilir. Hastadan alınan tükürük örneği pH metrenin elektrotuna damlatılır. Tükürük örneğinin üzerine HCl eklenerek elektrotun üzerinde bulunan plastik kapak CO_2 çıkışını önlemek için kapatılır. Tükürük örneği ve asidin karışması için pH metre birkaç kez hareket ettirilerek pH sabitlenir.[111]

2.1.4. Genetik Terminoloji

Her gen, biri anneden diğeri babadan gelen ve alel olarak ifade edilen 2 alternatif kopyadan oluşmaktadır. Herhangi bir genin, bir kromozom üzerinde yerleştiği bölge ise lokus olarak adlandırılmaktadır. Kromozomlar üzerinde birbirleriyle ilişkili lokuslardaki DNA dizisine Haplotip ismi verilir. Popülasyonda %1 veya daha fazla sıklıkta görülen DNA dizi değişiklikleri polimorfizm, %1'den daha az sıklıkta görülenler ise mutasyon olarak adlandırılmaktadır. Polimorfik dizi varyantlarının, genelde gen dizilerinin dışında kalan DNA bölgelerinde bulunduğu için herhangi bir hastalığa neden olmadıkları ancak bazı hastalıklar ile paralellik gösterdikleri durumlarda genetik marker olarak kullanıldıkları belirtilmektedir. Polimorfizme örnek olarak popülasyondaki A, B, 0 kan grupları ve *Rh* faktörü gösterilmektedir. Single Nukleotid Polimorfizmleri/Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP/TNP), bireyler arasında DNA dizilerindeki tek nükleotid değişiklikleridir. Tek nükleotid değişikliği sonucu sentezlenen proteindeki aminoasit farklılığı veya sentezlenen protein miktarında değişikliğe neden olabilir.[112]

2.1.5. Genetik Çalışmalar

Diş çürüklerinin genetik temelinin anlaşılması için günümüze kadar yapılan çalışmalar aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir[6]:

1- Bakteri genetiğinin araştırılması

2- Konak genetiğinin araştırılması

a) Deneysel hayvan çalışmaları

b) Gözlemsel araştırmalar

-Ailesel yığılım araştırmaları

- İkiz çalışmaları

c) Bağlantı ve ilişki analizleri

- Hayvan çalışmaları

- İnsan çalışmaları (Gen polimorfizmi çalışmaları)

2.1.5.1. Bakteri Genetiğinin Araştırılması

Çürüğün genetik ile ilişkisini araştıran 1970 ile 1990 yılları arasındaki çalışmaların büyük çoğunluğu karyojenik bakterilerin gen varyantları üzerinde durmaktadır. Bu çalışmalarla, karyojenik bakterilerin genetik yapılarının açığa çıkarılarak bakterilerin diş çürüklerine neden olan metabolizmalarının aydınlatılması, yeni ve etkin tedavilerin uygulanması amaçlanmaktadır.[33]

2.1.5.2. Konak Genetiğinin Araştırılması

2.1.5.2.1. Deneysel Hayvan Çalışmaları

Farklı fare suşları ile yapılan çalışmalar çürüğe yatkınlıktaki farklılığın genetik faktörler nedeniyle olabileceği hipotezini desteklemektedir. Genetik olarak heterojen yapıdaki farelerin aynı çevresel faktörlerde çürüğe farklı yatkınlık ve direnç gösterdiği belirtilmektedir. Fareler üzerinde yapılmış araştırmalarda farelerdeki 2, 8 ve 17. kromozomun diş çürüğü ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir.[6]

2.1.5.2.2. Gözlemsel Araştırmalar

2.1.5.2.2.1. Ailesel Yığılım Araştırmaları

Diş çürüğünde ailesel yığılımının etkisini inceleyen çalışmalar ilk olarak 1938 yılında başlamıştır.[113] Bu çalışmada geçmiş çürük deneyimine göre hiç çürüğü

bulunmayan ve geçmiş çürük deneyimi yüksek olan çocukların kardeşleri karşılaştırılmıştır. Buna göre çürüksüz çocukların kardeşlerinde, yüksek çürüklü çocukların kardeşlerine göre daha düşük oranda çürük gözlendiği ifade edilmiştir. Bu yönde yapılan diğer bir çalışmada[6], dişleri bulunan ve hiç dişi bulunmayan annelerin çocukları incelenmiş ve sonuçta hiç dişi bulunmayan annelerin çocuklarının süt ve kalıcı dişlerinde daha fazla çürük saptandığı belirtilmiştir.

2.1.5.2.2.2. İkiz Çalışmaları

Tek yumurta ikizleri birbirleriyle aynı genetik özellikleri göstermekte iken çift yumurta ikizleri ise genetik olarak birbirlerine %50 oranında benzerlik göstermektedir. Bu nedenle ikizler bir genetik hastalığın çevresel faktörlerden ne kadar etkilendiğini araştırmak için mükemmel bir olanak sunmaktadır. Tek yumurta ikizlerinde görülen hastalıklardaki farklılıklar tamamen çevresel faktörlerden kaynaklanmasına rağmen çift yumurta ikizleri arasındaki hastalık farklılıkları çevresel ve genetik farklılıkların birleşiminden kaynaklanmaktadır. İkiz çalışmalarından elde edilen sonuçlar bir fenotipe genotipin ne oranda etki ettiğini hesaplamakta kullanılabilmektedir.[114] İkiz çalışmaları diş çürüğü riskinin genetik temelli olduğunu gösterse de, bu araştırmalar, çürüğün etiyolojik faktörlerinden olan beslenme, tükürük, diş morfolojisi veya mikrobiyal floradan hangisinin daha önemli olduğunu henüz tespit edememişlerdir.İkiz çalışmaları her ne kadar diş çürüğü riskine genetik katkı konusunda güçlü kanıtlar sunsa da, henüz belirgin genler ile bağlantıya yönelik kanıt gösterememiştir.[115]

2.1.5.2.3. Bağlantı ve İlişki Analizleri

Bağlantı ve ilişki analizlerinin amacı bir hastalıktan sorumlu olduğu bilinen bir genin kromozom üzerindeki yerini tespit etmektir.[114] Bağlantı analizi ile aynı kromozom üzerinde birbirine yakın yerleşmiş iki bölgenin anne ve babadan çocuğa aktarılırken bir arada geçiş olasılığı hesaplanmaktadır [116] Analiz genellikle mutant gen adı verilen

hastalığın oluşumuna sebep olan gen ve polimorfizm ile tespit edilen genetik marker arasında ilişki kurmaktadır.[114] Slayton ve ark.yaptığı genetik faktörlerin diş çürüğüne yatkınlıktaki ilişkisini araştırdıkları çalışmasında, S.mutans seviyeleri ile Tuftelin genotipi arasında bir etkileşim olduğunu belirtmişlerdir. [2]

2.1.5.2.3.1. Hayvan Çalışmaları

Hayvan modelleri kullanılarak gerçekleştirilen genetik araştırmaların amacı çürüğe yatkınlık veya çürüğe karşı direnç ile ilişkili polimorfizmlerin araştırılması, aynı zamanda çürükle ilişkili genlerin ve genomik bölgelerin tespit edilmesidir.[6]

2.1.5.2.3.2. İnsan çalışmaları (Gen Polimorfizmi Çalışmaları)

Gen polimorfizmleri (tek nükleotid polimorfizmler), genomik DNA'nın bir popülasyonun normal bireyleri arasında farklılık gösterdiği tek baz değişiklikleridir. Gen polimorfizmleri popülasyonda yaygın görülür, etnik ve coğrafi farklılıklar gösterirler. Bazı durumda genin kodladığı proteinin fonksiyonu ya da enzim aktivitesi bu değişikliklerden önemli ölçüde etkilenebilir. Hücre metabolizması için önem taşıyan proteinlerin fonksiyonlarının bozulması çeşitli hastalıklara (diş çürüğü) yol açmakta veya bazı hastalıklar için riski artırmaktadır. [117]

Çürükteki multifaktöriyel kalıtımın rolü 1970'lerden günümüze kadar tartışılmaktadır.[6] Muhleman'nın[118] 1972 yılında bazı genlerin mine yüzeyini etkilediğini diğer bir grup genin tükürük kompozisyonu ile ilişkili olduğunu ve bazı genlerin ise enfeksiyona karşı bağışık yanıtın oluşmasında görev aldığını ileri sürmüştür. Buna rağmen insanlarda çürükle ilişkili genomik bölgelerin tespiti ve gen polimorfizmleri ile ilgili çalışmalar yakın geçmişte başlayabilmiştir.[119] [120, 121]

Diş çürükleri ile ilgili ilk bağlantı analiz çalışması 2008 yılında gerçekleştirilmiştir. Çürükle ilişkili genomik bölgelerin tespiti için yapılan genom taraması sonucu düşük çürük yatkınlığıyla ilgili üç adet (5q13.3, 14q11.2, ve Xq27.1),

yüksek çürük yatkınlığıyla ilgili iki adet (13q31.1 ve 14q24.3) lokus tespit edilmiştir. Söz konusu genlerin tükürük akış hızı, beslenme tercihi ve bağışıklık sistemi ile ilgili olabileceğinin altı çizilmiştir.[120] Bu çalışmanın devamı niteliğinde son yıllara ait bir araştırmada 14q11.2 lokusuna ait bağışık yanıtın oluşmasında görev alan *TRAV4* geni incelenmiştir. Sonuçta *TRAV4* geninin çürükten korunmada rol oynayabileceği bildirilmektedir. [122]

Mineralizasyon ile İlişkili Genler

Günümüze kadar çürükle ilişkisi araştırılan genler Amelogenin (AMELX), Enamelin (ENAM), Tuftelin (TUFT1), Ameloblastin (AMBN) ve Kallikrein (KLK4) genleri proteinleri minenin mineralizasyonunda, sialofosfoprotein(DSPP) ise dentinin mineralizasyonunda rol oynamaktadır.[2, 8, 119] Minenin organik matriksinin %90'ını prolinden zengin protein olan amelogenin oluşturmaktadır.[123] Minenin gelişimi sırasındaki mineralizasyona katılan amelogenin proteini AMELX geni tarafından kodlanmaktadır.[8, 124] Bu nedenle amelogenin proteininin mine dokusunun oluşumu için önemli olduğu ifade edilmektedir. Eksik bir amelogenin geninin veya azalmış miktarda amelogenin proteininin mine matrisinin oluşumunun bozulmasına ve dolayısıyla çürük duyarlılığının artmasına yol açma olasılığı vardır.[8]

Mineralizasyonda etkili diğer bir protein olan enamelin olgunlaşmış organik matriksinde bulunmakta ve mine formasyonunda görev almaktadır.[125] Enamelin proteini ENAM geni tarafından kodlanmaktadır.[2, 119]

Mineralizasyonunun başlamasında rol oynayan tuftelin proteinini ise TUFT1 geni tarafından kodlanmaktadır. Tuftelin(TUFT1), mineralizasyonun ilk aşamalarında rol oynar ve aşırı ekspresyonu, hem mine prizmalarında hem de kristalit yapısında kusurlara yol açabilir.[126] Diğer bir protein olan ameloblastin diş gelişimi sırasında mine kristallerinin uzamasını kontrol etmektedir. Ameloblastin proteini AMBN geni tarafından

kodlanmaktadır. Minenin maturasyonundan sonraki mine tabakasının oluşmasında matriks minerallerinin düzenli yerleşimini kolaylaştıran protein kallikreindir. Bu protein KLK4 geni tarafından kodlanmaktadır.[2, 125] Diş çürüğü ve AMELX, AMBN, TUFT1, TFIP11 ve KLK4 gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı 3-5 yaşlarındaki çocuklarda çürük ve incelenen genler arasında ilişkinin bulunmadığı ifade edilmektedir.[2]

Matriks metalloproteinaz minenin oluşumu esnasında hücre matriks etkileşiminin düzenlenmesi ve dokuların yeniden şekillenmesi işleminde rol almaktadır. Matriks metalloproteinazlar MMP geni tarafından kodlanmaktadır.[2, 8, 119]. Kötü ağız hijyenine sahip çocuklarda MMP20 genindeki varyasyonlar, geçmiş çürük deneyimi ile ilişkili olabilmektedir.[127]

Çürüğe karşı duyarlılıkta AMELX alelinin erkeklerde AMELY tarafından kompanse edilmesi erkeklerin kadınlara göre daha az çürük hassasiyeti göstermesini açıklamaktadır.[122, 123] Ayrıca ENAM genindeki polimorfizm mutans streptokok varlığında çürükle ilişkili olabilmektedir.[119, 123]

Tükürük Proteinleri ile İlişkili Genler

Tükürük proteinlerini kodlayan genler ile çürüğe yatkınlık arasında ilişki olabileceği bildirilmektedir. Günümüze kadar tükürük proteinlerinden karbonik anhidraz 6, prolinden zengin protein, müsin ve aquaporini kodlayan genlerin çürükle ilişkisi araştırılmıştır. [121, 128] Karbonik anhidraz 6, tükürük ve diğer vücut sıvılarında bulunan karbonik anhidraz enziminin salgı formudur. Tükürükteki karbonik anhidraz 6'nın dental plağa penetre olarak tükürük bikarbonatı ile asit nötralizasyonunu kolaylaştırdığı ifade edilmektedir. Bikarbonat sistemi tükürüğün tamponlama kapasitesine katkıda bulunan ana tampondur. Bikarbonat iyonlarının plak bakterileri tarafından üretilen laktik ve asetik asiti nötr hale getirerek bu şekilde demineralizasyonu azalttığı bildirilmektedir. Karbonik anhidraz 6, CA6 geni tarafından kodlanmaktadır.[121]

Tükürük protein kompleksi adı verilen genler tarafından kodlanan prolinden zengin proteinler tükürük proteinlerinin %37'sini oluşturmaktadır. Bireylerlerin farklı geçmiş çürük deneyimine sahip olmasına sebep olan tükürükteki polimorfik, asidik prolinden zengin proteinler PRH1 ve PRH2 genleri tarafından kodlanmaktadır.[123] Tükürük bileşenleri ile çürük oluşumunun ilişkisine yönelik incelenen başka bir tükürük proteini ise müsindir. Müsin proteininin en önemli görevi diş yüzeyine bakterilerin kolonizasyonunu engellemesidir. Yapılan bir çalışmada çürük oluşumu ile müsin proteinini kodlayan MUC7 geni arasında bir ilişki bulunamamıştır.[128] Tükürükte bulunan aquaporin proteinleri diş gelişiminde ekstrasellüler matriksin su alımı sırasında rol oynamaktadır. Aquaporin 5 proteini AQP5 geni tarafından kodlanmakta ve tükürük salgısında görev almaktadır. [11]

Bağışıklık ile İlişkili Genler

Diş çürüğünün enfeksiyöz bir hastalık olması sebebiyle insanların bağışıklık sistemlerini kontrol eden genler ve çürük arasındaki ilişkinin araştırılması önemlidir. Ağız içi dokularında ve diğer organlarda bağışık sisteminin temel unsurları olarak bulunan beta defensinler konağın enfeksiyöz patojenlere karşı ilk savunmasında rol alan antimikrobiyal etkili peptidlerdir. Dişeti oluğu sıvısı ve tükürükten salgılanan beta defensin 1 (DEFB1) proteinine ait gen aktarımındaki değişiklikler periodontal hastalığa ve diş çürüğüne neden olabilmektedir. Diş çürüğü ve DEFB1 gen polimorfizmi arasında anlamlı ilişki tespit edilmesi dolayısıyla araştırmacılar, söz konusu polimorfizmin çürük riskinin klinik göstergesi olarak sayılabileceğini ifade etmektedir.[129]

Bağışık yanıtın oluşmasında önemli rol oynayan büyük doku uygunluk kompleksi (MHC*)* insan lökosit antijeni (HLA) olarak da adlandırılmaktadır.[123] Bu moleküllerdeki değişikliklerin mikroorganizmalara karşı farklı bağışık yanıta sebep olarak çürüğe

yatkınlığı artırabildiği bildirilmektedir. Ayrıca mutans streptokok seviyesinin *MHC* molekül geni tarafından kontrol edildiğine dair çalışmalar mevcuttur.[123, 130]

Bağışıklık ile ilişkili genler ile çürük oluşumunun ilişkisine yönelik incelenen diğer savunma elemanları, erken çocukluk döneminde önemli rol oynayan mannoz-bağlayıcı lektin (MBL) ve bakteri ligandı (CD14) gen polimorfizmleridir. Diş çürüğü ve *MBL* gen polimorfizmi arasında ilişki gözlenmezken, bakteri ligandı CD14 genindeki CD14-260:TT genotipi, çürüğün neden olduğu abse veya fistül oluşumunda koruyucu rol oynamaktadır. [131, 132]

Tat Alma ile İlişkili Genler

Beslenmenin diş çürüğü patojenitesinde rol oynadığı ve şeker tüketiminin bireylerin önemli ölçüde genetik olarak kontrol edilen tat tercihlerinden etkilendiği bildirilmektedir.[32] Günümüze kadar çürük ve tat alma ilişkisine yönelik incelenen gen polimorfizmleri, guanin nükleotid bağlayıcı protein (G proteini) ve tat reseptör genlerine aittir.[133, 134] Guanin nükleotid bağlayıcı protein *GNAT3* geni tarafından kodlanarak tat reseptörlerinden gelen sinyali tat tomurcuklarına iletmektedir. Tat reseptörlerinden olan ‘tip 1, 2. üyesi’ *TAS1R2* geni tarafından kontrol edilmektedir. Bu reseptör tatlı tadını algılamaktadır.[134] Tat reseptörlerinden ‘tip 2, 38. üyesi’ ise *TAS2R38* geni tarafından kodlanmakta ve acı tadını algılamaktadır.[133]

Buna ek olarak *TAS2R38* genindeki değişiklikler bireyleri fenotipik üç gruba ayırmaktadır. Bu gruplar; süper tadıcılar, orta seviyedeki tadıcılar ve tat almayanlar olarak sıralanmaktadır. Bireyler arası acı tadının algılanmasındaki fenotipik farklılıkların *TAS2R38* geni tarafından kontrol edilen acı duyusunun propiltiurasil (PROP) ve feniltiokabamid (PTC) gibi acı tadıyla kimyasal olarak ilişkili bileşiklerin farklı algılanması sonucunda meydana geldiği bildirilmektedir.[133] Süper tadıcı bir bireyin, tat almayan bireye göre dilin ön bölgesinde daha çok tat tomurcuğuna sahip olduğu, acı ve

şeker gibi tatları daha fazla algıladığı bildirilmektedir.[133, 135] Bu yönde yapılan bir çalışmada süper tadıcı bireylerin daha az şekerli yiyecek sevdiği ve geçmiş çürük deneyiminin tat almayan bireylere göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır.[135]

2.1.6. Çürük Risk Değerlendirmesinde Gen-Çevre Etkileşimi

Günlük yaşamımızda hastalıkların nedeni veya nedenleri konusunda karşılaşılan en sık sorulardan birisi; hastalıklara genlerimizin mi yoksa çevremizin mi neden olduğu sorusudur. Toplumlarda yaygın olarak görülen hastalıklara karşı duyarlılığın temelinde yatan birincil etken, genetik farklılıklar ve bu farklılıkların çevreyle olan etkileşimidir.[112, 136] Geçmişte yapılan çürük risk modellerinde çürükle ilişkili tek bir değişken incelenirken, günümüzde ise modellere çoklu değişkenler eklenmiş ve özellikle gen-çevre etkileşimi konusu popüler hale gelmiştir. Günümüzde çürük risk modellerinde en çok kullanılan istatistiksel yöntem çoklu regresyon analizleridir.[39, 45, 51] Literatürde çürük riskinin genetik ve çevresel faktörlerle birlikte değerlendirildiği çalışmalarda gen-çevre etkileşimi regresyon analizleri kullanılarak incelenmektedir. Böylece genetik ve çevresel risk faktörleri arasındaki korelasyon değerlendirilerek çürük risk modelleri oluşturulmaktadır.[2, 127] Diş çürüğü multifaktöriyel bir hastalıktır. Aynı çevresel faktörlere maruz kalan bireylerde çürük oluşma oranlarındaki farklılıklar bireylerin genetik özelliklerinden kaynaklanmaktadır.[6] Bu konuda günümüze kadar yapılmış olan çalışmalarda mutans streptokok kolonizasyonu ile birlikte mineralizasyonda rol alan bazı genlerin çürük oluşumunu artırdığı belirtilmektedir.[2, 119] Ayrıca çevresel faktörlerden ırk ve cinsiyetin de genetik faktörlerle birlikte diş çürüğü üzerinde rol oynadığı düşünülmektedir.[120, 123] Günümüzde çürük fenotipinin aydınlatılmasına yönelik özellikle genetik temelli çalışmaların yetersizliğinden dolayı bu konuda daha çok araştırma yapılması tavsiye edilmektedir.[6]

2.1.7. DNA İzolasyonu

Doğadaki canlıların tümüne yakın kısmında genetik materyalin DNA olması nedeniyle biyolojik örneklerden genomik DNA izolasyonunun moleküler tanı yöntemlerinin uygulamasında gerekli ilk adım olduğu ifade edilmektedir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR, "polymerase chain reaction, PCR") tabanlı moleküler tekniklerin kullanılmaya başlamasından günümüze kadar pek çok farklı DNA izolasyon yöntemi gösterilmiştir.[137] Geleneksel izolasyon metotlarından fenol- kloroform ayırma yöntemi ve etanol presipitasyonu ile DNA'nın yoğunlaştırılmasına dayanan yöntemler en çok bilinenleridir. Bununla birlikte, sağlık açısından son derece zararlı olan fenol gibi toksik maddelerin kullanılmasının yanı sıra uzun inkübasyon basamaklarının olması bu metotların dezavantajlarından bazılarıdır. Verimliliği yüksek bir DNA izolasyon metodunun basit ve hızlı olması, yüksek kalitede DNA eldesi sunması ve multipleks polimeraz zincir reaksiyonu, gerçek zamanlı PZR, DNA dizi analizi gibi gelişmiş moleküler tekniklerin uygulamalarına imkan verecek özellikte olması gerektiği vurgulanmaktadır. Bu amaçla standart DNA izolasyon metotlarının çeşitli modifikasyonları ve yeni hızlı izolasyon protokollerinin yanında reaktif hazırlamayı gerektirmeyen kullanıma hazır ve izolasyon işlemini oldukça kolaylaştıran ticari manuel ve otomatik DNA izolasyon kitleri geliştirilmiştir.[138] Moleküler tanı yöntemlerinin uygulamasında gerekli ilk adım olan DNA izolasyonu için; doku, kan, idrar, tükürük gibi biyolojik numunelerin kullanılabileceği ifade edilmektedir.[139] Moleküler genetik ve epidemiyolojik çalışmalarda, tükürükten DNA izolasyon işlemi için tükürüğün toplama kaplarında (kitler) toplanması; uygulanmasının kolay olması, az zaman alması, çocuklar ve yetişkinlerde rahatlıkla kullanılabilmesi açısından sıklıkla tercih edilmektedirler.[140]

2.1.8. RealTime (RT) PZR—(Gerçek Zamanlı PZR)

Reaksiyon sırasında oluşan ürünlerin devamlı ölçülmesi ile karakterize olduğu bildirilmektedir. Gerçek zamanlı PZR'de DNA, işaretli bir probun yardımıyla çoğaltılmaktadır. Bu yöntemde; her bir PZR döngüsünde oluşan floresans ısınımı aracılığı ile son ürün miktarı gerçek zamanlı olarak saptanabilmektedir. Cihaz boyayı ışık ile yaymakta ve optik sistem ile oluşan floresan miktarını okumaktadır. Gerçek zamanlı-PZR kapalı bir sistem içinde gerçekleştiğinden, bu yöntemde çok sayıdaki örnekle son derece az kontaminasyon riski ile güvenle çalışılabilmektedir.[137, 141] PZR teknolojisinde yakın zamanda yaşanan belki de en önemli gelişme, tek bir kapalı sistemde floresan amplikon tespiti ile eş zamanlı yapılan hızlı döngülü nükleik asit amplifikasyonunun kullanılmasıdır. Saatler ve günler süren geleneksel PZR'a göre bu PZR 30 dakikada yapılır.[142, 143] Gerçek zamanlı-PZR protokolleri, daha özgül hibridizasyon ve ürün sağlamak için spesifik internal floresan problar ile eriyen kıvrım belirleyicilerini (solüsyonda dizilerin yarısının ayrıldığı sekans bağımlı sıcaklık) eşleştirmektedir.[142]

Gerçek zamanlı PZR çok duyarlı nicel bir tespit ölçümü olarak uygulanabilir veya bir numunede patojene özgü nükleik asit miktarının tayininde kullanılabilmektedir. Özellikle gerçek zamanlı nicel PZR ölçümleri, sıklıkla geleneksel PZR ölçümlerinden daha geniş lineer sınırlar sağlamaktadır.[142] Nükleik asit çoğalmasıyla gerçek zamanlı olarak artış gösteren floresans sinyalinin ölçülmesiyle, kısa sürede kantitatif sonuç verebilen bir PZR yöntemidir. Ticari olarak geliştirilmiş üç tipi bulunmaktadır. Bunlar; LightCyler (Roche), TaqMan (PE Biosystem) ve iCycler (BIO-RAD)'dır.[144, 145]

Gerçek zamanlı-PZR, kısa sürede kantitatif sonuç verebilmektedir. Tüpler açılmadan tanıya gidildiği için kontaminasyon riski düşüktür. Elektroforeze gerek kalmadan çoğalma esnasında sonuç alınabilmektedir. Ayrıca floresan veren problar

kullanılarak hedef nükleik asitteki mutasyonlar saptanabilmektedir.[146] Bu nedenlerden ötürü bu çalışmada, gerçek zamanlı-PZR cihazı tercih edildi.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışması Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından desteklendi.(TDH-2019-7313) Çalışma protokolü Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik kurulu 13.03.2019 tarihli B.30.2.ATA.0.01.00/38 nolu kararı ile onaylandı Buna göre hazırlanan bilgilendirilmiş gönüllü olur formları çalışmaya dahil edilen her katılımcıya imzalatıldı. Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı Kliniği ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1. Klinik Uygulama

3.1.1. Çalışmaya Katılacak Bireylerin Seçimi ve Toplanması

Araştırma grubuna, Mart 2020 tarihi ile Ağustos 2020 tarihi arasında Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi kliniğine diş tedavileri için başvuran, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) kriterlerine göre erişkin olarak kabul edilen 20-65 yaş aralığındaki nörolojik, mental, sistemik, genetik hastalığı olmayan, şiddetli fiziksel sakatlığı ve akut veya kronik üst solunum yolu hastalığı bulunmayan, üç ay içerisinde klorheksidin içerikli preparat kullanmamış, ortodontik tedavi görmemiş ve dental florozisi olmayan hastalar dahil edilmiştir.

DMFT≥14 olan yüksek çürük riskli grupta 55 birey ve DMFT≤5 olan düşük çürük riskli grupta 59 birey olmak üzere toplam 114 hasta ile çalışılmasına karar verildi.

3 1.2. Anket Uygulanması

Katılımcılara klinik muayene öncesinde verilen anket formları araştırmacının gözetimi altında dolduruldu. Anket formlarında sistemik, kronik hastalıklar, düzenli kullanılan ilaçlar, radyoterapi veya kemoterapi tedavisi görmüş olup olmaması gibi anamnez sorularının yanısıra, diş hekimine gitme sıklığı, ağız hijyen alışkanlıkları,

koruyucu diş tedavisine yönelik uygulamalar ve beslenme alışkanlıkları ile ilgili sorulara yer verildi.

3.1.3. Geçmiş Çürük Deneyiminin Hesaplanması

Geçmiş çürük deneyimi; klinik ve radyolojik değerlendirmenin sonucuna göre hesaplandı. Klinik muayenede reflektör ışığı altında steril ayna ve sond kullanılarak dişlerin tüm yüzeyleri çürük ve plak varlığı açısından değerlendirildi. WHO'nun kriterlerine göre; klinik olarak gözle görülen kavitasyon oluşmuş lezyonlar, sondun takıldığı yumuşamış mine yüzeyleri, radyografilerde mine-dentin sınırından dentine ilerlediği gözlenen radyolüsent alanlar 'çürük lezyonu' olarak kaydedildi. Klinik ve radyolojik değerlendirmenin sonunda WHO kriterlerine göre; dişin herhangi bir bölgesinde çürük lezyonu bulunan dişler; çürük (D), çürük nedeniyle çekilen dişler; çekilmiş (M), sekonder çürük bulunmayan dolgu ile restore edilmiş dişler ve çürük nedeniyle kron ya da köprü ayağı şeklinde restore edilen dişler dolgulu (F) skorunu aldı. Eğer çürük dışında estetik, travma ya da köprü ayağı olması için kaplanmış diş varsa hesaplamaya alınmadı. Yirmi yaş dişleri hesaplamaya dahil edilmedi. Sonuç olarak, çürük dişlerin (D), çürük nedeniyle çekilmiş dişlerin (M) ve dolgulu dişlerin (F) sayısı toplanarak her bireye özgü WHO'nun kriterlerine göre DMFT değerleri elde edildi DMFT değerleri hazırlanan hasta kayıt formlarına kaydedildi.

3.1.4. Plak İndeksinin Hesaplanması

Oral hijyeni belirlemek amacıyla dünyaca kabul görmüş Silness-Löe plak indeksine göre; ağız içerisindeki 12, 24, 16, 32, 44 ve 36 mesial, bukkal, distal ve lingual yüzleri olmak üzere dört yüzeyi değerlendirilmektedir. İndeks hesaplanırken klinik muayene esnasında; dişler hava-su spreyi ile kurutulmakta ve ardından pamuk tamponlarla izole edilmektedir. Periodontal sond yardımı ile plak varlığı

değerlendirilmektedir. Elde edilen toplam değerler değerlendirilen yüzey sayısına bölünerek indeks hesaplanmaktadır.

Plak indeks skorları (Silness and Löe, 1964);

0: Plak yok

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

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

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

3.1.5. Tükürük Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Çalışmaya dahil edilen bireylerin tükürüklerinden elde edilecek DNA örnekleri için pamuklu çubuk bulunan (Transport Swab, Biologix Group Limited, Shandong, China) steril ve tek kullanımlık plastik tüplere tükürmeleri sağlanmıştır. (Şekil 3.1) DNA izolasyonu yapılırken DNA kalitesinin etkilenmemesi için hastalardan bir saat öncesine kadar yemek yememesi ve sigara içmemesi tükürük alma işleminden önce, fırçalama ve ağız çalkalama gibi aktivitelerin üzerinden en az 10 dk geçmiş olması istendi. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda kaplar üzerinde belirtilen miktarda uyarılmamış tükürük örneği elde edildiğinde toplama işlemi sonlandırılmış ve alınan örnekler DNA koruma özelliğine sahip bu kaplarda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilene kadar +4°C saklanmıştır.

Şekil 3.1. Tükürük örneği almak için kullanılan plastik tüp

3.1.6. Uyarılmış Tükürük Akış Hızının Ölçülmesi

Tükürük örnekleri sabah saat 09:00-12:00 arasında alındı. Tükürük örneği alınacak bireylerden en az bir saat öncesine kadar yemek yememesi ve sigara içmemesi istendi. Hastaların koltukta rahat bir şekilde oturması söylenerek bir adet parafin hastaya 1 dk süreyle çiğnetildi ve oluşan tükürüğün yutulması hastaya söylendi. Daha sonra hastadan yumuşamış parafini 5 dk süreyle her iki yarım çeneyi kullanarak çiğnemesi ve bu sırada oluşan tükürüğü yutmayarak verilen milimetrik derecelendirilmiş bir kaba (Karies Screen Test +P, Aurosan GmbH, Essen, Germany) tükürerek biriktirmesi sağlandı.(Şekil 3.2.) Toplanan tükürük miktarı ölçüldü ve elde edilen tükürük miktarı toplama süresi olan 5 dk'ya bölünüp tükürük akış hızı dakikada ml olarak hesaplandı ve kaydedildi. Uyarılmış tükürük akış hızının değerlendirilmesi üretici firma talimatlarına göre aşağıdaki şekilde yapıldı ve hasta kayıt formlarına kaydedildi.

Tablo 3.1. Uyarılmiş tükürük akış hızı değerlendirilmesi

›1ml/dk	Çok iyi sekresyon oranı
= 1ml/dk	Yeterli sekresyon oranı
‹0,5 ml/dk	Kötü sekresyon oranı, yetersiz klerens

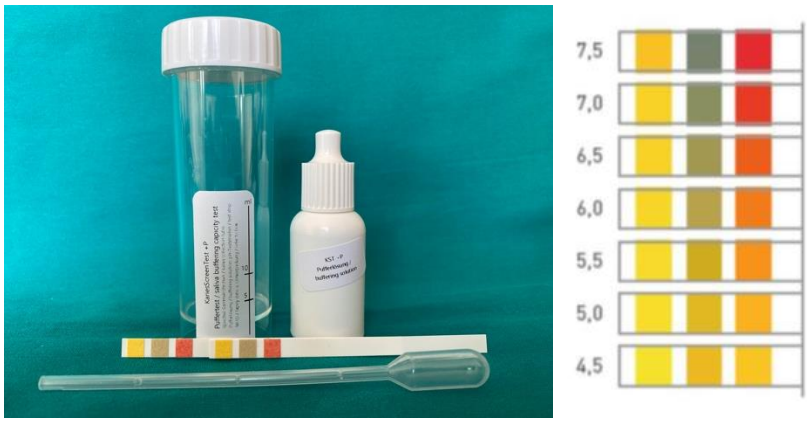
Şekil 3.2. Uyarılmış tükürük akış hızının hesaplanmasında kullanılan malzemeler (parafin, derecelendirilmiş steril kap)

3.1.7. Tükürük Tamponlama Kapasitesinin Ölçümü ve Ph' nın Belirlenmesi

Tükürük tamponlama kapasitesi içerisinde parafin, steril pipet, iki test şeridi, tamponlama solisyonu ve skala bulunan bir kit (Karies Screen Test +P, Aurosan GmbH, Essen, Almanya) kullanılarak belirlendi. (Şekil 3.3) Bir adet parafin hastaya 1 dk süreyle çiğnetildi ve oluşan tükürüğün yutulması hastaya söylendi. Daha sonra hastadan yumuşamış parafini 5 dk süreyle her iki yarım çeneyi kullanarak çiğnemesi ve bu sırada oluşan tükürüğü yutmayarak verilen steril bir kaba tükürerek biriktirmesi sağlandı. İlk test şeridi üzerine tükürükten alınan bir miktar damlatıldı. Renk değişimi üretici firma tarafından verilen skalayla karşılaştırılarak tükürük pH'sı belirlendi. Tükürükten 1ml steril pipetler aracılığıyla alınarak tamponlama solüsyonuna damlatıldı ve çalkalanarak 5 dk bekletildi. Daha sonra ikinci test şeridi solisyonun içine daldırılarak sonunda oluşan renk değişimine göre tamponlama kapasitesini ifade eden değer üretici firma tarafından verilen skaladan belirlendi. Tükürük tamponlama kapasitesinin değerlendirilmesi Tablo 3.2.'ye göre yapıldı.

Tablo 3.2. Tükürük tamponlama kapasitesi değerlendirilmesi

ph ›6.0	çok iyi tampon kapasitesi
ph ›5.0	iyi tampon kapasitesi
ph ‹5.0	kötü tampon kapasitesi
ph ‹4.0	aşırı kötü tampon kapasitesi



Şekil 3.3. Tükürük tamponlama kapasitesi ölçümü için kullanılan malzemeler (Derecelendirilmiş kap, tamponlama solisyonu, steril pipet ve skala)

3.1.8. Tükürükte Mutans Streptokok ve Laktobasil Sayımı Testinin Uygulanması

Tükrükte mutans streptokok sayımı, içerisinde besiyerini içeren tüp, tükürük örneğinin alındığı steril pipet, sodyum bikarbonat tablet ($NaHCO_3$), parafin ve sonuçları değerlendiren skala bulunan bir dental kit (Karies Screen Test +P, Aurosan GmbH, Essen, Almanya) kullanılarak yapıldı.(Şekil 3.4.) Bir adet parafin hastaya 1 dk süreyle çiğnetildi ve oluşan tükürüğün yutulması hastaya söylendi. Daha sonra hastadan yumuşamış parafini 5 dk süreyle her iki yarım çeneyi kullanarak çiğnemesi ve bu sırada oluşan tükürüğü yutmayarak verilen steril bir kaba tükürerek biriktirmesi sağlandı. Besiyerini içeren cam tüpün altına bir $NaHCO_3$ tableti yerleştirildi. Agar yüzeylerine dokunmadan veya zarar vermeden her iki agar yüzeyinden koruyucu filmleri çıkarıldı. Bir taraftaki koyu renkli agar yüzeyi mutans streptokok sayımı yaparken diğer taraftaki açık renkli

olan agar yüzeyi ise laktobasil sayımı yapmaktadır. Tükürük biriktirildiği steril kaptan steril pipet yardımı ile alındı ve agar yüzeyler tükürük ile yıkandı. Taşan tükürüğü akıtıldıktan sonra agar tutucu test tüpüne geri konuldu ve sıkıca kapatıldı. Etüvde 37°C derecede 48 saat inkübe edildi. Test tüpleri 48 saat sonra etüvden alınarak Mutans Streptokok Laktobasil sayıları koloni yoğunluğuna göre skala ile karşılaştırılarak kaydedildi. Üretici firma tarafından verilen değerlendirme kriterleri tablo 3.3. ve tablo 3.4'de verilmiştir.

Şekil 3.4. Tükürük S.mutans ve Laktobasil sayısını ölçmek için kullanılan besiyeri içeren tüp ve $NaHCO_3$ tablet (besiyeri içeren tüpün koyu renkli yüzü S.mutans, açık renkli yüzü Laktobasil sayımı yapar)

Tablo 3.3. Tükürük mutans streptekok sayısının değerlendirilmesi

$<10^3$ cfu/ml	Tükürükte S.mutans miktarı çok az veya hiç yok
$<10^5$ cfu/ml	Tükürükte S.mutans miktarı düşük
10^5-10^6 cfu/ml	Tükürükte S.mutans miktarı yüksek
$>10^6$ cfu/ml	Tükürükte S.mutans miktarı çok yüksek

Şekil 3.5. Tükürük S.mutans miktarı (çok yüksekten, çok düşüğe)

Tablo 3.4. Tükürük laktobasil sayısının değerlendirilmesi

<10^3 cfu/ml	Tükürükte laktobasil miktarı düşük
<10^5 cfu/ml	Tükürükte laktobasil miktarı orta
10^5-10^6 cfu/ml:	Tükürükte laktobasil miktarı yüksek
>10^6 cfu/ml	Tükürükte laktobasil miktarı çok yüksek

Şekil 3.6. Tükürük Laktobasil miktarı (çok yüksekten, çok düşüğe)

Şekil 3.7. Tükürük testlerini içeren Karies Screen Test +P isimli kit

Tablo 3.5. Tükürük testleri ve tükürük örneği için kullanılan kitler

TEST	TİCARİ İSİM	ÜRETİCİ FİRMA
Tükürük akış hızı ölçümü	Karies Screen Test +P	Aurosan GmbH, Essen, Germany
Tükürük tamponlama kapasitesinin ve ph ölçümü	Karies Screen Test +P	Aurosan GmbH, Essen, Germany
Tükürükte mutans streptokok sayımı	Karies Screen Test +P	Aurosan GmbH, Essen, Germany
Tükürükte laktobasil sayımı	Karies Screen Test +P	Aurosan GmbH, Essen, Germany
Tükürük örneklerinin toplanması	Transport Swab	Biologix Group Limited, Shandong, China

3.2. Laboratuvar Uygulamaları

3.2.1. SNP (Single Nükleotide Polymorphism) Seçimi

AMELX geni, X kromozomunun kısa kolu üzerinde yer almakta ve amelogenin ailesinin üyesi olan ekstraselüler matriks proteinlerini kodlamaktadır. Çalışmamızda incelenmek üzere çürük riski ile ilişkilendirilmiş olan AMELX rs17878486 polimorfizmi seçildi.

AMBN geni, nonamelogenin mine matris proteini ameloblastini kodlar. Bu gen, kromozom 4 üzerindeki kalsiyum bağlayıcı fosfoprotein gen kümesinde bulunur. Çalışmamızda incelenmek üzere çürük riski ile ilişkilendirilmiş olan AMBN rs17733915 polimorfizmi seçildi.

ENAM geni 4. kromozomun uzun kolunda 13.3 pozisyonunda yer almaktadır. Diş gelişiminde yer alan mine matriksi içinde en büyük protein olan enamelini kodlamaktadır. Çalışmamızda incelenmek üzere çürük riski ile ilişkilendirilmiş olan ENAM rs12640848 polimorfizmi seçilmiştir.

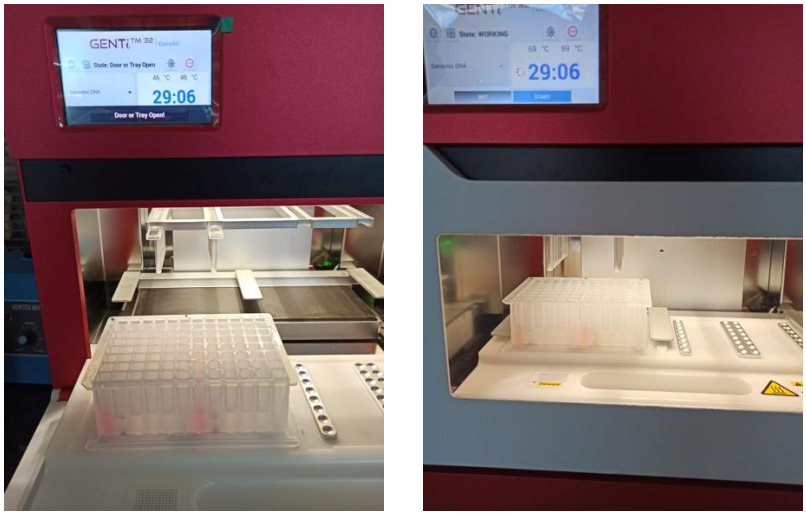
Tablo 3.6. Çalışmada incelenen genler ve polimorfizmleri

Gen	Kodladığı Protein	Referans sekans no
AMELX	Amelogenin	rs17878486
ENAM	Enamelin	rs12640848
AMBN	Ameloblastin	rs17733915

Referans Sekans No; Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi tarafından verilen tek nükleotid polimorfizmi referans numarası.

3.2.2. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonun aşamaları; hücrenin parçalanıp yüksek molekül ağırlıklı DNA nın ortaya çıkarılması ile başlar ve DNA nın çözünür duruma getirilmesi için DNA-Protein kompleksinin, RNA ve diğer makromoleküllerden ayrılması sağlanır. DNA izolasyonu için aşağıda markası, adı ve katalog numarası verilen materyaller kullanılmıştır.



Şekil 3.8. Genti marka magnetik izolasyon robotu

Tablo 3.7. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Materyal Bilgileri

Kullanılan Kitin Markası	Kitin Adı	Katalog No
GeneAll	Clinic SV Mini	108-101

Tükürük örneklerinden DNA izolasyon protokolü aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. Tükürük kabı her örnek için yaklaşık 10 (5) ml dolduruldu.
2. Satrifüj edilerek dibe çöktürülen hücre pelleti 200 ml izotonik ile sulandırılarak DNA izolasyonuna alındı.
3. DNA izolasyonu Magnetik boncuk sistemiyle çalışan Otomatik DNA izolayonu cihazında (GENTİ) GeneAll Exgene Cell SV Mini Kit (GeneAll, Kore) kullanılarak üretici firma önerisine göre yapıldı .
4. İzole edilen DNA örnekleri -20 °C sıcaklıkta saklandı.

3.2.3. Real-Time PCR

DNA izolasyonu sonrasında Real-Time PCR aşamasına geçildi. Gerçek zamanlı PZR yöntemi ısı döngü cihazı, floresans uyarımı, yayılımı toplayan optik gözler ve verilerin toplanması ve analizini sağlayan yazılımdan ibarettir.

TaqMan™ SNP Genotyping Assay SNP (ThermoFisher Scientific) kitleriyle, 2X qPCR Probe MasterMix (ABT™) eklenerek Real-Time PCR cihazında çalışmaya alınmıştır. Real-Time PCR analizi için ABI 7500 Fast Real-Time PCR cihazı kullanılmıştır.

Şekil 3.9. Real-Time PCR cihazı

Tablo 3.8. PCR Reaksiyonu İçin Kullanılan MasterMix Bilgileri

MasterMix Bileşenleri	Hacim
2 2X qPCR Probe MasterMix	10 µl
TaqMan™ SNP Genotyping Assay (40X	0.5 µl
Template DNA	2.5 µl
Su	7 µl
Toplam	20 µl

Tablo 3.9. PCR için kullanılan reaksiyon koşulları

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
Initial Denaturation	95	10 dk	1
Denature	95	10 sn	40
Anneal	60	60 sn	

3.2.4. Allelic Discrimation Analizi

Real-Time PCR sonucuna göre cihaz üzerinden "Allelic Discrimination" analizi seçeneği seçildi. Buna göre her bir SNP probundan FAM ve VIC dalga boylarında amplifikasyon eğrileri elde edildi. Sadece FAM dalga boyunda amplifikasyon veren örnekler "wild type", sadece VIC dalga boyunda amplifikasyon veren örnekler "mutant type", her iki dalga boyunda amplifikasyon veren örnekler "heterozigot type" olarak sınıflandırıldı.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizi SPSS 20 (IBM, Chicago, IL, ABD) paket programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar $p<0.05$ anlamlılık düzeyinde değerlendiridi.

Verilerin normal dağılıma uygunluğu kişi sayısı göz önünde bulundurularak Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Düşük ve yüksek çürük risk grupları cinsiyet ve yaş açısından fark olup olmadığı Ki kare (χ^2) bağımsızlık testi ile incelendi.

Bağımsız grup verilerinin karşılaştırmaları yapılırken normal dağılım gösteren veriler bağımsız gruplara ait t testi kullanıldı.

Plak miktarı, diş hekimi kontrolü, diş fırçalama sıklığı,diş fırçalama sayısı, öğün dışı diyet sıklığı, tükürük akış hızı, tükürük tamponlama kapasitesi, tükürük ph'sı, tükürükte mutans streptokok sayısı ve tükürükte laktobasil sayısı gibi değişkenlerin düşük ve yüksek çürük risk gruplarında farklılığını değerlendirmek amacıyla Ki kare (χ^2) bağımsızlık testi kullanıldı.

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında AMELX, ENAM ve AMBN genlerinin genotip ve allel frekans dağılımı açısından farklılık gösterip göstermediği Ki kare (χ^2) bağımsızlık testi ile değerlendirildi.

DMFT skoruna etki eden genlerle birlikte çevresel faktörleri belirleyebilmek için lojistik regresyon modeli kullanıldı. Modele giriş için olasılık değeri 0.05 olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya katılan bireylerde sistemik ve kronik hastalıkların bulunmadığı gözlendi. Bireylerin hiçbirinin radyoterapi veya kemoterapi tedavisi görmediği belirlendi. Çalışmada yer alan hastaların ek florür preperatı kullanmadığı tespit edildi.

4.1. Çevresel Risk Faktörlerine Ait Bulgular

4.1.1. Cinsiyet

Çalışmaya yüksek çürük riskli grupta 55 kişi, düşük çürük riskli grupta 59 kişi olmak üzere toplam 114 birey katıldı. Düşük çürük riskli grupta 28 (%47,5) erkek, 31 (%52,5) kadın bulunurken; yüksek çürük riskli grupta 33 (%60) erkek, 22 (%40) kadın hasta mevcuttu.(Tablo 4.1.) Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar cinsiyet dağılımı açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel açıdan fark yoktu. (Ki kare testi p=0,180)

Tablo 4.1. Gruplara ait cinsiyet dağılımı

Cinsiyet (%)	Toplam Birey Sayısı	Düşük Çürük Riskli Grup	Yüksek Çürük Riskli Grup	p
	114	59	55	
Erkek	61 (%53,5)	28 (%47,5)	33 (%60)	0,180
Kadın	53 (%46,5)	31 (%52,5)	22 (%40)	

4.1.2. Yaş

Yüksek çürük riskli grubun yaş ortalaması 35 yaş iken, düşük çürük riskli grubun yaş ortalaması 27 yaştır.(Tablo 4.2.) Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar ortalama yaş açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu. (bağımsız gruplara ait t testi , $p<0.001$) Yüksek çürük riski grubun düşük çürük riskli gruba göre yaş ortalaması daha fazladır.

Tablo 4.2. Gruplar arası ortalama yaş dağılımı ve istatistiği

	Düşük Çürük Riskli Grup n=59	**Yüksek Çürük Riskli Grup n=55**	**p**
Ortalama Yaş	27	35	0,000*

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar; bireyler yaş aralıklarına göre genç erişkin (20-24 yaş), orta yaş erişkin (25-44 yaş) ve erişkin (45-64 yaş) olarak gruplandırıldıklarında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (Ki kare testi, p<0.05) Düşük çürük riskli grubun %45,8 'i genç erişkin, %1,7'si erişkin iken yüksek çürük riskli grubun %50.9'u orta yaş erişkin, %23,6'sı erişkindir.(Tablo 4.3.) Yüksek çürük riskli grupta düşük riskli gruba göre erişkin sayısı daha fazladır. (Ki kare testi, p<0.05)

Tablo 4.3. Gruplara ait yaş aralığı dağılımı ve istatistiği

Yaş Aralığı, n (%)	**Düşük Çürük Riskli Grup n=59**	**Yüksek Çürük Riskli Grup n=55**	**p**
20-24 yaş	27 (%45,8)	14 (%25,5)	0,001*
25-44 yaş	31(%52,5)	28(%50.9)	
45-64 yaş	1 (%1,7)	13 (%23,6)	

4.1.3. DMFT İndeksi

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplara göre DMFT ortalamalarının istatistiksel olarak karşılaştırılması ve gruplara göre DMFT skor dağılımları Tablo 4.4.'de verilmiştir. Yüksek çürük riskli grubun DMFT ortalaması 15,8 iken düşük çürük riskli grubun DMFT ortalaması 2.63 dür. Düşük ve yüksek çürük riskli grupların DMFT ortalamalarına göre yapılan istatistiksel karşılaştırmada anlamlı fark saptandı.(bağımsız gruplara ait t testi , p<0.001) Yüksek çürük risk grubunda yer alan bireylerin DMFT ortalamaları düşük çürük risk grubundaki bireylerin DMFT ortalamalarına göre anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. (p<0.001)

Tablo 4.4. Gruplar arası ortalama DMFT indeksi, DMFT dağılımı ve istatistiği

	Düşük Çürük Riskli Grup n=59	**Yüksek Çürük Riskli Grup n=55**	**p**
Ortalama DMFT indeksi	2,63	15,8	0.000*
DMFT skor dağılımı, n(%)	Düşük Çürük Riskli Grup n=59	Yüksek Çürük Riskli Grup n=55	p
0	13 (%22)	0	0,000*
1	8 (%13,6)	0	
2	7 (%11,9)	0	
3	7 (%11,9)	0	
4	8 (%13,6)	0	
5	16 (%27,1)	0	
14	0	27 (%49,1)	
15	0	9 (%16,4)	
16	0	4 (%7,3)	
17	0	2 (%3,6)	
18	0	3 (%5,5)	
19	0	3 (%5,5)	
20	0	3 (%5,5)	
21	0	1 (%1,8)	
22	0	1 (%1,8)	
23	0	2 (%3,6)	

Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerde çevresel risk faktörlerine ait incelenen değişkenlerin aldığı skor değerleri ve istatistiksel olarak karşılaştırılmaları Tablo 4.5.'de gösterilmektedir.

4.1.4. Plak Miktarı

Silness-Löe plak indeksine göre değerlendirilen dişlerden elde edilen skorlar Tablo 4.5.'de gösterildi. Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar plak miktarına göre düşük ve yüksek plak olarak istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark saptandı.(kikare testi $p<0.001$) Düşük çürük riskli grubun %93,2'si düşük plak miktarı gösterirken %6,8'i yüksek plak miktarı gösterdi. Yüksek çürük riskli grubun %50,9 'u düşük plak miktarı

gösterirken %49,1'i yüksek plak miktarı gösterdi. Yüksek çürük riskli grupta düşük çürük riskli gruba göre daha fazla plak miktarı görüldü.

4.1.5. S.mutans ve Laktobasil Sayısı

Düşük çürük riskli grup ile yüksek çürük riskli grup S.mutans ve Laktobasil sayıları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.($p<0.05$)

Laktobasil sayısı düşük riskli grupta %72,9 oranında düşük iken, %27,1 oranında yüksektir; yüksek çürük riskli grupta ise %36,4 oranında düşük iken %63,6 oranında yüksektir. Yüksek çürük riskli grupta düşük çürük riskli gruba göre S.mutans sayısı daha yüksek bulundu. (kikare testi $p<0.001$)

S.mutans sayısı düşük riskli grupta %32,2 oranında düşük iken, %67,8 oranında yüksektir; yüksek çürük riskli grupta ise %12,7 oranında düşük iken %87,3 oranında yüksektir. Yüksek çürük riskli grupta düşük çürük riskli gruba göre Laktobasil sayısı daha yüksek bulundu. (kikare testi $p<0.05$)

Tablo 4.5. Gruplar arası çevresel risk faktörlerinin dağılımı, skorlanması ve yüzdeleri

Risk Faktörü	Risk Değerleri	Skorlama	Düşük Çürük Riskli Grup	Yüksek Çürük Riskli Grup	p
Plak Miktarı	<0.4	1 (Düşük)	55 (%93,2)	28 (%50,9)	0,000*
	0.4-1.0	2 (Düşük)			
	1.1-2.0	3 (Yüksek)	4 (%6,8)	27 (%49,1)	
	>2.0	4 (Yüksek)			
Laktobasil sayısı	$<10^3$	1 (Düşük)	43 (%72,9)	20 (%36,4)	0,000*
	$<10^5$	2 (Düşük)			
	10^5-10^6	3 (Yüksek)	16 (%27,1)	35 (%63,6)	
	$>10^6$	4 (Yüksek)			
S. Mutans sayısı	$<10^3$	1 (Düşük)	19 (%32,2)	7 (%12,7)	0,013*
	$<10^5$	2 (Düşük)			
	10^5-10^6	3 (Yüksek)	40 (%67,8)	48 (%87,3)	
	$>10^6$	4 (Yüksek)			

Tablo 4.5. (Devamı)

Diş Hekimi Ziyareti	Hayır	1	9 (%15,39)	6 (%10,9)	0,024*
	Altı ayda bir	2	23 (%39,0)	11 (%20.0)	
	Yılda bir	3	11 (%18,6)	8 (%14,5)	
	Şikayetim Oldukça	4	16 (%27,1)	30 (%54,5)	
Diş Fırçalama Sayısı	Fırçalamıyor	1	0	4 (%7,3)	0,115
	Günde 1	2	20 (%33,9)	20 (%36,4)	
	Günde 2	3	35 (%59,3)	25 (%45,5)	
	Günde 3	4	4 (%6,8)	6 (%10,9)	
Diş Fırçalama Süresi	<1 dk	1	2 (%3,4)	11 (%20,0)	0,018*
	>1 dk	2	10 (%16,9)	12 (%21,8)	
	1-3 dk	3	32 (%54,2)	25 (%45,5)	
	>3dk	4	15 (%25,4)	7 (%12,7)	
Floürlü Macun Kullanımı	Evet	1	56 (%94,9)	39 (%70,9)	0,001*
	Hayır	2	3 (%5,1)	16 (%29,1)	
Diş İpi Kullanımı	Evet	1	30 (%50,8)	17 (%30,9)	0,031*
	Hayır	2	29 (%49,2)	38 (%69,1)	
Florürlü Gargara Kullanımı	Evet	1	12 (%20,3)	2 (%3,6)	0,007*
	Hayır	2	47 (%79,7)	53 (%96,4)	
Ara Öğün Sayısı (Günde)	Hiç	1	13 (%22,0)	9 (%16,4)	0,674
	1-2 kez	2	38 (%64,4)	36 (%65,5)	
	3-4 kez	3	5 (%8,5)	8 (%14,5)	
	4 den fazla	4	3 (%5,1)	2 (%3,6)	
Şekerli yiyecek-içecek Öğün sayısı (Günde)	Hiç	1	9 (%15,3)	6 (%10,9)	0,860
	1-2 kez	2	38 (%64,4)	35 (%63,6)	
	3-4 kez	3	8 (%13,6)	9 (%16,4)	
	4 den fazla	4	4 (%6,8)	5 (%9,1)	
Sigara Kullanımı	Evet	1	13 (%22)	21 (%38,2)	0,060
	Hayır	2	46 (%46)	34 (%61,8)	

Hastalara yapılan ankette yer alan sorularda diş hekimi ziyareti, diş fırçalama sıklığı ve süresi, florürlü macun ve gargara kullanımı, diş ipi kullanımı, günlük ara öğün sayısı ve günlük şekerli yiyecek-içecek öğün sayısı ile ilgili sorular yer almaktadır. İlgili soruların cevapları ve karşılaştırılması Tablo 4.5'de verilmiştir.

4.1.6. Diş Hekimi Ziyareti

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar diş hekimi ziyareti sorusu açısından karşılaştırıldıklarında cevapları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.(kikare testi $p<0.05$) Düşük çürük riskli grubun %39,0'u altı ayda bir diş hekimi kontrolüne giderken, % 27,1'i şikayeti oldukça diş hekimi kontrolüne gitmektedir. Yüksek riskli grubun %20.0'si altı ayda bir diş hekimi kontrolüne giderken, %54,5'u şikayeti oldukça diş hekimi kontrolüne gitmektedir. Yüksek çürük riskli grup düşük çürük riskli gruba göre daha az sıklıkla diş hekimi kontrolüne gitmektedir.

4.1.7. Diş Fırçalama Sıklığı

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar günlük diş fırçalama sıklığı açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark ytespit edilmedi.(kikare testi $p>0.05$)

4.1.8. Diş Fırçalama Süresi

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar diş fırçalama süresi açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. (kikare testi $p<0.05$) Düşük çürük riskli grubun %54,2'si 1-3 dk arası diş fırçalarken ,%3,4'ü 1 dk'dan az diş fırçalamaktadır. Yüksek çürük riskli grubun %45,5'i 1-3 dk arası diş fırçalarken, %20,0'si 1 dk'dan az diş fırçalamaktadır. Yüksek çürük riskli grup düşük çürük riskli gruba göre daha kısa süre diş fırçalamaktadır.

4.1.9. Florürlü Macun ve Gargara Kullanımı

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar florürlü macun ve gargara kullanıp kullanmama açısından karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlendi. (kikare testi $p<0.05$)

Düşük çürük riskli grubun %94,9'u florürlü macun kullanırken, %5,1'i florürlü macun kullanmamaktadır. Yüksek çürük riskli grubun %70,9'u florürlü macun

kullanırken %29,1'i florürlü macun kullanmamaktadır. Yüksek çürük riskli grup düşük çürük riskli gruba göre florürlü diş macunu kullanmama oranı daha fazla bulundu.

Düşük çürük riskli grubun %20,3'ü florürlü gargara kullanırken, %79,7'si florürlü gargara kullanmamaktadır. Yüksek çürük riskli grubun %3,6'sı florürlü gargara kullanırken %96,4 'ü florürlü gargara kullanmamaktadır. Yüksek çürük riskli grup düşük çürük riskli gruba göre florürlü gargara kullanımı daha az bulundu.

4.1.10. Diş İpi Kullanımı

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar diş ipi kullanıp kullanmama açısından karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (kikare testi $p<0.05$) Düşük çürük riskli grubun %50,8'i diş ipi kullanırken, %49,2'si diş ipi kullanmamaktadır. Yüksek çürük riskli grubun %30,9'u diş ipi kullanırken, %69,1'i diş ipi kullanmamaktadır. Düşük çürük riskli grup yüksek çürük riskli gruba daha fazla oranda diş ipi kullanmaktadır.

4.1.11. Ara Öğün Sayısı

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar günlük tüketilen ara öğün sayısı açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.(kikare testi $p>0.05$)

4.1.12. Günlük Tüketilen Şekerli Yiyecek-İçecek Sayısı

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında günlük tüketilen şekerli yiyecek içecek sayısı açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. (kikare testi $p>0.05$)

4.1.13. Sigara Kullanımı

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında günlük sigara kullanımı açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (kikare testi $p>0.05$)

4.2. Konağa Bağlı Risk Faktörlerine Ait Bulgular

4.2.1. Tükürük Akış Hızı

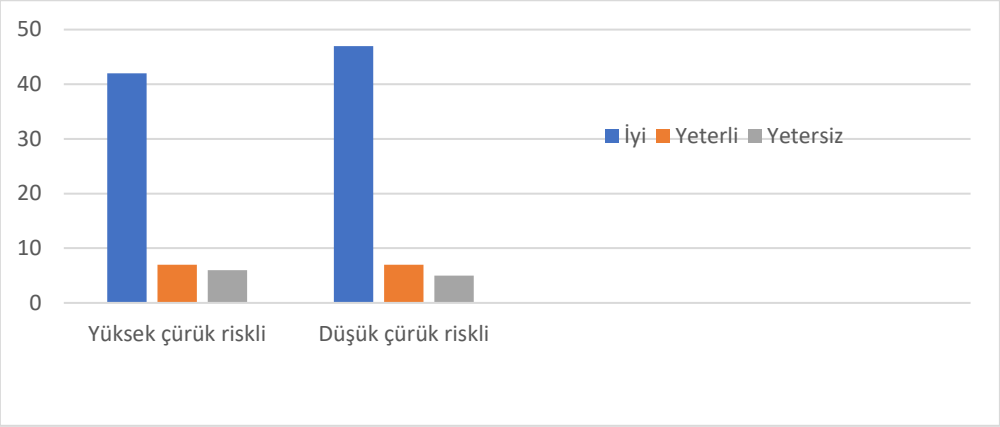
Uyarılmış tükürük akış hızının değerlendirilmesi üretici firma talimatlarına göre aşağıdaki şekilde yapıldı.

›1ml/dk : Çok iyi sekresyon oranı

= 1ml/dk : Yeterli sekresyon oranı

‹0,5 ml/dk: Kötü sekresyon oranı, yetersiz klerens

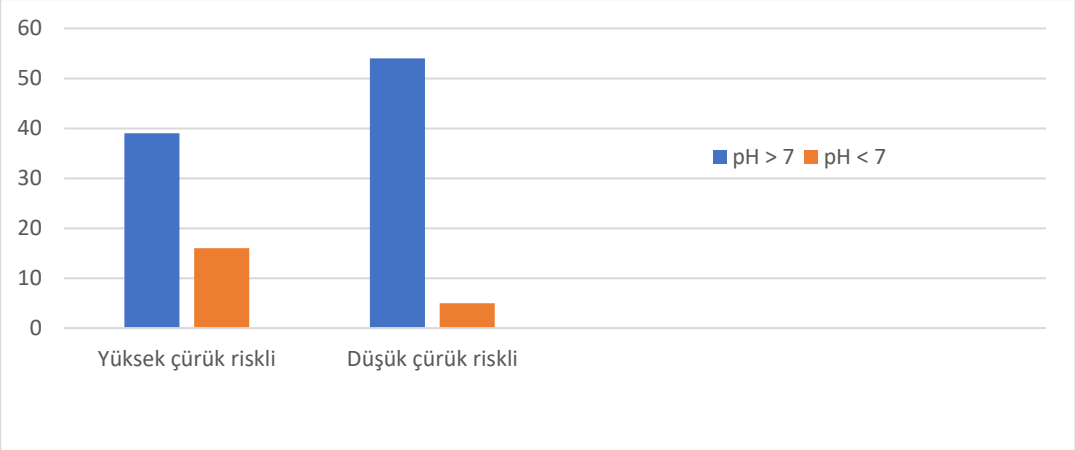
Düşük çürük riskli grup ile yüksek çürük riskli grup tükürük akış hızı açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. (kikare testi p>0.05)



Şekil 4.1. Gruplar arası tükürük akış hızı dağılımı grafiği

4.2.2. Tükürük PH

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar tükürük pH>7 ve pH<7 olması açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. (kikare testi p<0.05) Düşük çürük riskli grubun yüksek çürük riskli gruba göre tükürük pH>7 dir.



Şekil 4.2. Gruplar arası tükürük ph dağılımı grafiği

4.2.3. Tükürük Tamponlama Kapasitesi

Tükürük tamponlama kapasitesinin üretici firma talimatlarına göre değerlendirilmesi aşağıdaki gibi yapıldı.

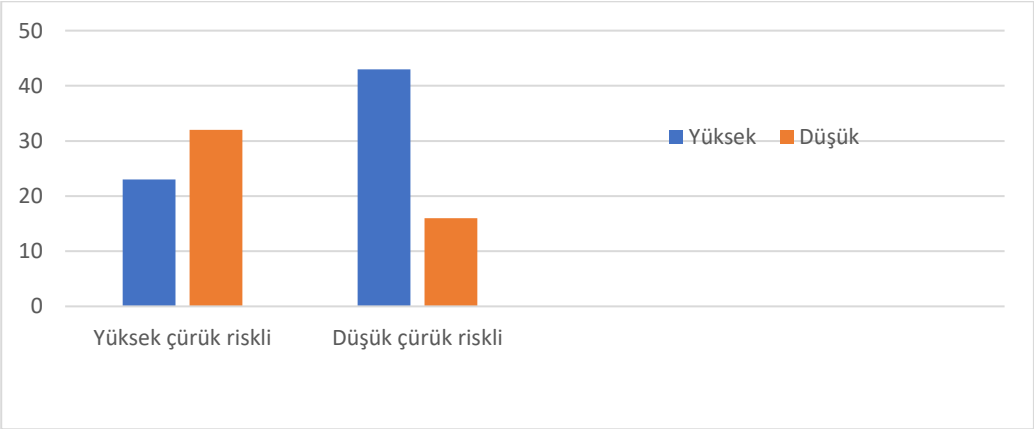
ph ›6.0 çok iyi tampon kapasitesi

ph ›5.0 iyi tampon kapasitesi

ph ‹5.0 kötü tampon kapasitesi

ph ‹4.0 aşırı kötü tampon kapasite

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar tükürük tamponlama kapasitesinin iyi ve kötü olması açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. (kikare testi $p<0.05$) Düşük çürük riskli grubun yüksek çürük riskli gruba göre tükürük tamponlama kapasitesi daha iyi bulundu.



Şekil 4.3. Gruplar arası tükürük tamponlama miktarı dağılımı ve grafiği

4.2.4. AMELX Genotip ve Alel Dağılımı

Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireyler arasında *AMELX* rs17878486 genine ait genotip ve alel frekans dağılımlarının karşılaştırılması Tablo 4.6.'da verilmiştir. Dişin mineralizasyonunda rol oynayan *AMELX* geninin CC homozigot genotipi düşük çürük riskli grupta %10,2 iken yüksek çürük riskli grupta % 1,8 'dir.TC heterezigot genotipi düşük riskli grupta %33,9 iken yüksek çürük riskli grupta %41,8'dir. TT homozigot polimorfik genotipi düşük riskli grupta %55,9 iken yüksek çürük riskli grupta %56,4 olarak bulundu. Düşük ve yüksek çürük risk grupları arasında *AMELX* genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (Ki kare testi, $p>0.05$)

AMELX geninin C alel frekansı, düşük çürük riskli grupta %27,1 iken yüksek çürük riskli grupta %22,7 olarak bulundu. Alel frekansı T olanların oranı düşük çürük riskli grupta %72,9 iken yüksek çürük riskli grupta %77,3 olarak tespit edildi. Düşük ve yüksek çürük risk grubuna ait bireyler *AMELX* geninin alel frekans dağılımları açısından karşılaştırıldıklarında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. (Ki kare testi, $p>0.05$)

4.2.5. ENAM Genotip ve Alel Dağılımı

Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireyler arasında *ENAM rs12640848* genine ait genotip ve alel frekans dağılımlarının karşılaştırılması Tablo 4.6.'da verilmiştir. Dişin mineralizasyonunda rol oynayan *ENAM* geninin AA homozigot genotipi düşük çürük riskli grupta %42,4 iken yüksek çürük riskli grupta % 43,6'dır. AG heterezigot genotipi düşük riskli grupta %45,8 iken yüksek çürük riskli gruptaa %49,1'dir. GG homozigot genotipi düşük riskli grupta %11,9 iken yüksek çürük riskli grupta %7,3 olarak bulundu. Düşük ve yüksek çürük riskli grupları arasında *ENAM*

genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Ki kare testi, p>0.05)

ENAM geninin A alel frekansı düşük çürük riskli grupta %63,6 iken yüksek çürük riskli grupta %68,2 olarak bulundu. Alel frekansı G olanların oranı düşük çürük riskli grupta %36,4 iken yüksek çürük riskli grupta %31,8 olarak tespit edildi. Düşük ve yüksek çürük risk grubuna ait bireyler *ENAM* geninin alel frekans dağılımları açısından karşılaştırıldıklarında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.(Ki kare testi, p>0.05)

4.2.6. AMBN Genotip ve Alel Dağılımı

Düşük ve yüksek çürük riskli gruplardaki bireylerin *AMBN* rs17733915 genine ait genotip ve alel frekans dağılımlarına ait test istatistikleri Tablo 4.6.'da verilmiştir. Dişin mineralizasyonunda rol oynayan *AMBN* geninin CC homozigot genotipi düşük çürük riskli grupta %40,0 iken yüksek çürük riskli grupta % 57,6'dır. CT heterezigot genotipi düşük riskli grupta %38,2 iken yüksek çürük riskli grupta %23,7'dir. TT homozigot genotipi düşük riskli grupta %21,8 iken yüksek çürük riskli grupta %18,6 olarak bulundu. Düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında AMBN genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi.(Ki kare testi, p>0.05)

AMBN geninin C alel frekansı, düşük çürük riskli grupta %59,1 iken yüksek çürük riskli grupta %69,5 olarak bulundu. Alel frekansı T olanların oranı düşük çürük riskli grupta %40,9 iken yüksek çürük riskli grupta %30,5 olarak tespit edildi. Düşük ve yüksek çürük riskli gruplara ait bireyler AMBN geninin alel frekans dağılımları açısından karşılaştırıldıklarında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. (Ki kare testi, p>0.05)

Tablo 4.6. Gruplar arası genotip ve alel dağılımı ve yüzdeleri

Polimorfizm	Genotip frekansı			p	Alel Frekansı		p
AMELXrs17878486	**CC**	**TC**	**TT**		**C**	**T**	
Düşük Çürük Riskli Grup n=59	6 (%10,2)	20 (%33,9)	33 (%55,9)	0,157	32 (%27,1)	86 (%72,9)	0,444
Yüksek Çürük Riskli Grup n=55	1 (%1,8)	23 (%41,8)	31 (%56,4)		25 (%22,7)	85 (%77,3)	
ENAM rs12640848	**AA**	**AG**	**GG**		**A**	**G**	
Düşük Çürük Riskli Grup n=59	25 (%42,4)	27 (%45,8)	7 (%11,9)	0,705	77 (%63,6)	41 (%36,4)	0,467
Yüksek Çürük Riskli Grup n=55	24 (%43,6)	27 (%49,1)	4 (%7,3)		75 (%68,2)	35 (%31,8)	
AMBN rs17733915	**CC**	**CT**	**TT**		**C**	**T**	
Düşük Çürük Riskli Grup n=59	22 (%40,0)	21 (%38,2)	12 (%21,8)	0,144	65 (%59,1)	45 (%40,9)	0,101
Yüksek Çürük Riskli Grup n=55	34 (%57,6)	14 (%23,7)	11 (%18,6)		82 (%69,5)	36 (%30,5)	

4.3. Gen - Çevre Etkileşimine Ait Bulgular

Çalışmada yer alan bireylerin DMFT artışını değerlendirebilmek için genetik ve çevresel faktörler beraber incelendi. Bunun için tek değişkenli ve çok değişkenli lojistik regresyon analizi kullanıldı. Her bir genetik markır önce tek değişkenli analizle kendi içinde daha sonra önemli çevresel risk faktörleri (ortalama yaş, plak indeksi, tükürük tamponlama kapasitesi, tükürük S.mutans sayısı, tükürük Laktobasil sayısı,florürlü macun ve gargara kullanımı) ile beraber çok değişkenli lojistik regresyon analizi ile % 95 güven aralığında değerlendirildi. Sonuçlar Tablo 4.7. de gösterilmektedir.

AMELX geninin rs17878486 polimorfik bölgesinde TC genotipini taşıması CC genotipini taşımasına göre DMFT artışında istatistiksel olarak etkili bir risk faktörü olmadığı bulundu. ($p>0,005$, odds oranı 6,143, güven aralığı 0,661-57,103)

AMELX geninin rs17878486 polimorfik bölgesinde TT genotipini taşıması CC genotipini taşımasına göre DMFT artışında istatistiksel olarak etkili bir risk faktörü olmadığı bulundu. (p>0,005, odds oranı 5,856, güven aralığı 0,649-52,815)

ENAM geninin rs12640848 polimorfik bölgesinde AG genotipini taşıması AA genotipini taşımasına göre DMFT artışında istatistiksel olarak etkili bir risk faktörü olmadığı bulundu. (p>0,005, odds oranı 1,702, güven aralığı 0,417-6,943)

ENAM geninin rs12640848 polimorfik bölgesinde GG genotipini taşıması AA genotipini taşımasına göre DMFT artışında istatistiksel olarak etkili bir risk faktörü olmadığı bulundu. (p>0,005, odds oranı 1,940, güven aralığı 0,476-7,906)

AMBN geninin rs17733915 polimorfik bölgesinde CT genotipini taşıması CC genotipini taşımasına göre DMFT artışında istatistiksel olarak etkili bir risk faktörü olmadığı bulundu. (p>0,005, odds oranı 2,387, güven aralığı 0,954-5,977)

AMBN geninin rs17733915 polimorfik bölgesinde TT genotipini taşıması CC genotipini taşımasına göre DMFT artışında istatistiksel olarak etkili bir risk faktörü olmadığı bulundu. (p>0,005, odds oranı 1,593, güven aralığı 0,582-4,359)

Tablo 4.7. DMFT artışında etkili olan risk faktörlerinin belirlenmesinde uygulanan tek değişkenli ve çok değişkenli lojistik regresyon analizi

Değişkenler		**Genotip**	**Tek Değişkenli Analiz**		**Çok Değişkenli Analiz**	
	rs		p-değeri	Odds oranı (%95 güven aralığı)	p-değeri	Odds oranı (%95 güven aralığı)
AMELX	rs17878486	CC	Referans		Referans	
		TC	0,111	6,143 (0,661-57,103)	0,125	8,188 (0,560-119,786)
		TT	0,115	5,856 (0,649-52,815)	0,324	3,738 (0,273-51,240)
ENAM	rs12640848	AA	Referans		Referans	
		AG	0,459	1,702 (0,417-6,943)	0,399	2,105 (0,373-11,871)
		GG	0,355	1,940 (0,476-7,906)	0,276	2,575 (0,470-14,099)
AMBN	rs17733915	CC	Referans		Referans	
		CT	0,063	2,387 (0,954-5,977)	0,139	2,284 (0,765-6,817)
		TT	0,365	1,593 (0,582-4,359)	0,868	1,119 (0,298-4,208)
Ortalama yaş	AMELX				0,014*	1,092 (1,018-1,172)
	ENAM				0,026*	1,078 (1,009-1,151)
	AMBN				0,017*	1,086 (1,015-1,162)
Plak Miktarı	AMELX				0,005*	7,573 (1,825-31,435)
	ENAM				0,010*	5,954 (1,534-23,109)
	AMBN				0,007*	1,086 (1,015-1,162)
Laktobasil sayısı	AMELX				0,166	2,063 (0,740-5,748)
	ENAM				0,131	2,209 (0,789-6,186)
	AMBN				0,237	1,829 (0,672-4,983)

Tablo 4.7. (Devamı

S.mutans sayısı	AMELX	0,275	1,916 (0,596-6,164)
	ENAM	0,278	1,927 (0,590-6,299)
	AMBN	0,263	1,958 (0,603-6,360)
Florürlü macun kullanımı	AMELX	0,356	2,083 (0,439-9,890)
	ENAM	0,316	2,193 (0,473-10,169)
	AMBN	0,309	2,201 (0,481-10,069)
Florürlü gargara kullanımı	AMELX	0,044*	7,486 (1,053-53,275)
	ENAM	0,023*	10,533 (1,391-79,769)
	AMBN	0,040*	9,115 (1,111-74,819)
Tükürük tamponlama kapasitesi	AMELX	0,323	1,678 (0,601-4,685)
	ENAM	0,222	1,896 (0,680-5,288)
	AMBN	0,254	1,810 (0,653-5,017)

Her bir gen için ayrı yapılan çok değişkenli lojistik regresyon analizinde AMELX rs17878486, ENAM rs12640848, AMBN rs17733915 snp'leri ve çevresel risk faktörleri (ortalama yaş, plak indeksi, tükürük tamponlama kapasitesi, tükürük S.mutans sayısı, tükürük Laktobasil sayısı, florürlü macun ve gargara kullanımı) birlikte değerlendirildiğinde ortalama yaşın artması, plak indeksinin artması ve florürlü gargara kullanımının azalması DMFT artışında istatistiksel olarak etkili bir risk faktörüdür. ($p<0,05$,çok değişkenli lojistik regresyon)

5. TARTIŞMA

Gelişmekte olan ülkelerde en yaygın hastalıklardan biri olan diş çürükleri karmaşık, kronik, çok faktörlü bir hastalıktır.[147] Çürüğün, belirli birey gruplarında daha yoğun göründüğü bilinmektedir. Popülasyonun bir kısmının tedaviye en çok ihtiyaç duyduğu epidemiyolojik hastalık durumlarından birini temsil eder.[148] Vipeholm çalışması, yüksek derecede karyojenik diyet uygulayan bir bireyin çürüklere karşı direncinin kanıtını sağlamıştır. Bu, çürüğe karşı duyarlılığın veya direncin genotipik, fenotipik ve çevresel etkinin sonucu olabileceğini düşündürmektedir. [149]

Genetik bilimi her geçen gün gelişmesi ile birlikte yeni teknolojik imkanlar kullanılarak hastalıkların etiyolojisi daha detaylı olarak incelenip, nedenlerinin tam olarak anlaşılması hususunda yol alınmaktadır. İnsan Genom Projesi bittikten sonra hangi genlerin hangi proteinleri kodladığının açığa çıkması ile birlikte tümdengelim metodu kullanılarak bir protein ile alakalı bozukluk ve hastalıkların genetik altyapısına inilmeye başlanmıştır. Günümüzde de bu çalışmalar hızla devam etmektedir.[7]

Mineyi oluşturan kalsiyum fosfat hidroksiapatit kristalleri, amelogenin, enamelin, ameloblastin, tuftelin ve dentin sialofosfoproteini içeren bir dizi organik matriks molekülünün etkileşimi yoluyla kontrol edilir. Amelogenin (AMELX) geni, X kromozomunun p kolunda bulunur ve lokusu Xp22.31-p22.1'dir.[119] Mine kristalitler için bir yapı iskelesi oluşturur ve büyümelerini kontrol eder.[150] Kromozom 4'te bulunan ve mine oluşumu için anahtar bir adezyon molekülü olan Ameloblastin (AMBN) geni sekretuar ameloblastların farklılaşmış fenotiplerini bağlayarak ve koruyarak önemli bir rol oynar.[151, 152] Dentin sialofosfoprotein (DSPP) geni, kromozom 4q21'de bulunur ve dentin matriksindeki ana, kollajen olmayan proteini kodlar. Mine spesifik proteini olan enamelini(ENAM) kodlayan gendeki mutasyonunun otozomal dominant Amelogenezis İmperfektaya neden olduğu tespit edilmiştir.[153] Diş minesi oluşumunda matriks

metaloproteinaz 20(MMP20) ve kalikrien 4'ün (KLK4) temel işlevi, organik matriksin düzenli olarak mineral ile değiştirilmesini kolaylaştırmak, daha sert, daha az gözenekli ve mine proteinleri tarafından sağlam bir mine tabakası oluşturmaktır. [154] Bu nedenle, bu genlerdeki mutasyonlar, anormal proteinlerin üretilmesine veya gelişen dişlerde bu proteinlerin miktarının azalmasına neden olarak, hem bakteriyel yapışmayı hem de minenin asit pH'ya direncini etkileyebilecek kusurlu mineralizasyona neden olarak yüzeylerin çürüğe duyarlılığını arttırır. [94]

Bu kesitsel çalışmada da mineralizasyondan sorumlu en önemli genlerden olan AMELX, ENAM ve AMBN gen polimorfizmlerinin çürükle ilişkisinin olup olmadığı çevresel faktörlerle beraber değerlendirilmiştir. Diş çürüğüne yatkınlığın veya direncin genetiğini anlamak, bireylerde çürük sürecine yeni bakış açıları sağlayacak ve hedeflenen önleyici stratejilerin geliştirilmesini kolaylaştıracaktır. Ek olarak, genetik duyarlılık faktörlerinin belirlenmesi, çürük riski için geçerli, erken bir tarama testinin geliştirilmesi için kullanılabilir.

Çürüğün epidemiyolojik araştırmasında yaşla beraber görülme sıklığının arttığı bildirilmiştir.[19] Yetişkinlerin ağız ortamları ve çürük risk faktörleri çocuklara göre daha az değişken bir yapıya sahiptir.[155] Yetişkinlerde görülen çürük, dolgu ve çekilmiş diş sayısının oldukça fazla olmasının sebebinin, özellikle ergenlik dönemi ve yetişkinliğin erken dönemlerindeki artmış risk faktörlerinin elimine edilememesi olduğu düşünülmektedir.[51] Ayrıca erişkin bireylerde tedaviye yönelik dental uygulamaların koruyucu uygulamalardan daha çok yapıldığı görülmektedir. Dolayısıyla erişkin bireylerde risk faktörlerinin belirlenmesi, çürük riskinin saptanması ve bunun sonucunda bireye özgü koruyucu tedavilerin önerilmesi önemlidir.[19] Ancak literatürde çürük riskini değerlendiren erişkin bireylerde yapılan çalışmaların az sayıda olduğu; bu çalışmaların daha çok çocuklar üzerinde yapıldığı görülmektedir.[156] Dünya Sağlık Örgütü'nün

kriterlerine göre 15- 24 yaş aralığı genç erişkin, 25-44 yaş aralığı orta yaş erişkin ve 45-64 yaş aralığı erişkin olarak sınıflandırılmaktadır.[147] Çalışmamıza 20-60 yaş aralığındaki erişkin bireyler dahil edilmiştir.

Ağız ve diş sağlığı problemlerine yönelik yapılacak hizmetlerin en doğru şekilde planlanabilmesi için istatistiksel bilgilere gereksinim duyulmaktadır.[34, 35] Dünya Sağlık Örgütü (WHO), ağız ve diş sağlığı ile ilgili yapılan araştırmalarda standardizasyonu sağlamak için temel ölçüt ve yöntemler geliştirmektedir. Diş çürükleri için çürük, kayıp, dolgulu dişler (DMFT), DMF-S ve Significant Caries Index ölçütlerden bazılarıdır.[36, 37] DMFT indeksi; çürük (decayed), kayıp (missing) ve dolgulu (filled) dişlerin toplam sayısını ifade etmektedir. Çalışmamızda Dünya Sağlık Örgütünün risk sınıflaması dikkate alarak DMFT değeri 5 ve daha az olan bireyler düşük çürük riskli gruba, DMFT değeri 14 ve daha yüksek olan bireyler ise yüksek çürük riskli gruba dahil edilmiştir.

Birçok diş hekimi, düşük radyasyon dozu, geniş anatomik alanları göstermesi, kısa sürede çekim yapılmasına imkan sağlaması, hastanın işleme olan toleransının yüksek olması gibi avantajlarından dolayı panoramik radyografi tekniğini tercih etmektedir. Panoramik radyografilerde intraoral radyografilerdeki kadar ayrıntının görülememesi gibi dezavantajları vardır. [157] Bu nedenle çoğu hastada panoramik radyografa ilave olarak tanının doğrulanması ya da kesinleştirilmesi için periapikal ya da bitewing radyografiler ilave edilmektedir.[158] Çalışmamızda radyografik muayene aşamasında öncelikle panoromik radyografilerden faydalanıldı. Ancak çürük teşhisini etkileyen herhangi bir durumda ek olarak bitewing radyografiler de kullanıldı.

Kontrolsüz diyabet ve sjögren sendromu gibi çeşitli sistemik hastalıklar, baş ve boyun radyoterapisi, antikolinerjik ve antihipertansif ilaçlar kronik olarak tükürüğün az salgılanmasına sebep olmaktadır.[46, 159] Bu nedenle hastalardan alınan anamnezde sistemik

hastalık, düzenli kullanılan ilaç, radyoterapi tedavisi görmüş olma ve ağız kuruluğu şikayetleri sorgulanarak bu şikayetlere sahip olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çevresel risk faktörleri kapsamında yaş, plak miktarı, diş hekimi ziyareti, diş fırçalama sıklığı ve süresi, florürülü macun, gargara ve diş ipi kullanımı, S.mutans ve laktobasil sayısı, ara öğün sayısı ve günlük tüketilen şekerli yiyecek-içecek öğün sayısı ve sigara kullanımı incelenmiştir.

Bu çalışmada yer alan 114 bireyden 55'i yüksek çürük riskli grupta yer alırken 59'u düşük çürük riskli grupta yer almaktadır. Yüksek çürük riskli grubun yaş ortalaması, düşük çürük riskli grubun yaş ortalamasına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Çalışmamıza benzer şekilde Yıldız ve ark'nın[160] yaptığı 20-60 yaş arası 154 yetişkinin dahil olduğu çalışmada yüksek çürük riskli grubun yaş ortalaması düşük çürük riskli gruba göre yüksek bulunmuştur. Kamberi ve ark.'nın[161] yaptığı çalışmada, DMFT indeksi ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğunu ve yaş ile birlikte DMFT oranının yükseldiğini belirtmiştir.

Çürük riskinin değerlendirildiği farklı çalışmalarda plak miktarı ölçümü için sıklıkla Silness&Löe plak indeksinin uygulandığı görülmüştür.[3, 4] Bu nedenle çalışmamızda da plak miktarının değerlendirilmesi için Silness&Löe plak indeksi kullanılmıştır. Araştırmamızda çürük riski düşük ve yüksek olan erişkin bireyler dental plak miktarı açısından değerlendirildiğinde, yüksek risk grubundaki bireylerin plak miktarının düşük risk grubundaki bireylerin plak miktarına göre anlamlı olarak daha fazla olduğu saptanmıştır. ($p<0.001$,Tablo 4.5.) Bu sonuç literatürde dental plağın çürük riskiyle ilişkili olup olmadığını erişkinler üzerinde değerlendiren çalışmaların sonuçlarına paralellik göstermektedir. [3, 156]

Ülkemizde ağız ve diş sağlığı konusundaki en temel problemlerden biri de sadece şikayet durumunda bireylerin diş hekimi kontrolüne gitmeleridir. Düzenli diş hekimi

kontrolü olan bireylerin, olmayan bireylere göre gelecekteki diş hastalıkları riski açısından düşük seviyede olduğu düşünülmektedir. Diş hekiminin becerisinin, koruyucu uygulamaları hastaya göstermesinin, modern teknikleri uygulaması ile beraber hastanın düzenli diş hekimi kontrollerine gitmesinin çürük ve diş eti problemlerinin görülme sıklığını etkilediği ifade edilmektedir.[162] Bireylerin sadece şikayet varlığında diş hekimliği hizmeti almaları, düzenli diş hekimi kontrol sıklığının oldukça düşük olmasına, toplumun genel çürük riskinin yükselmesine ve erken yaşlarda diş kayıplarının fazla olmasına neden olmaktadır [163] Bizim çalışmamızda düşük riskli grubun % 27,1 oranında şikayeti oldukça diş hekimi kontrolüne giderken, yüksek riskli grubun %54,5'u şikayeti oldukça diş hekimi kontrolüne gitmektedir. Mumcu ve ark'nın[164] yaptığı Türkiye'de ağız ve diş sağlığı hizmetlerinden yararlanma ile ilgili kesitsel çalışmada Türk toplumunun şikayeti oldukça diş hekimi ziyaretine gittiği bildirilmiştir. Çalışmamızda yüksek çürük riskli grup düşük çürük riskli gruba göre anlamlı derecede daha az sıklıkla diş hekimi kontrolüne gittiği belirlenmiştir. Karabekiroğlu ve ark.[165] yaptığı diş hekimi ziyaret sıklığının çürük deneyimi ve ağız sağlığı faktörleri üzerine etkisi ile ilgili çalışmalarında diş hekimini düzensiz ziyaret eden grupta çürük sayısı daha fazla iken DMFT indeksleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Gelişmiş ülkeler çürüksüz bir toplum için düzenli olarak ağız sağlığı programları yapmaktadır. Bununla birlikte sosyoekonomik olarak düşük düzeyli ülkelerde çürük görülme sıklığının son yıllarda hızla yükseldiği ve önemli bir sağlık sorunu olarak hala güncelliğini koruduğu bilinmektedir. Gelişmekte olan bu ülkelerde sosyoekonomik nedenlere, yetersiz diş hekimi ziyaretlerine, beslenme ve oral hijyen alışkanlıklarının yetersizliğine vb. bağlı olarak diş çürüğünün görülme sıklığının arttığı rapor edilmiştir [166] Çürük riski önceden tespit edilebilirse, koruyucu tedaviler sadece ihtiyaç gerektiren bireylere uygulanacaktır. Böylece gereksiz harcama miktarı azaltılmış olacaktır. Bu

nedenle bireylerin çok küçük yaşlarda diş hekimleri ile tanışmaları, kontrol sıklıklarının ve ağız bakımlarının beraber yürütülmesi açısından oldukça önemlidir.[163] Çalışmamızdaki anket sorularında yer alan oral hijyen sorularına verilen cevaplara bakıldığında gruplar arası diş fırçalama sıklığı açısından fark yokken(p>0,05), fırçalama süreleri açısından yüksek çürük riskli grupta fırçalama süresi anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. 'Mersin Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesine Başvuran Hastaların Çürük Deneyimleri ile Şekerli Besinlerin Tüketimi ve Oral Hijyen Alışkanlıkları Arasındaki İlişkinin Değerlendirildiği' çalışmada fırçalama sıklığı ve fırçalama süresi değişkenlerinin artmasının DMFT ve DMFS indekslerini azalttığı bulunmuştur.[167] Drachev ve ark. yaptığı çalışmada diş fırçalama sıklığı ve DMFT indeksi arasında anlamlı bir ilişki olmadığını göstermiştir.[168] Bu sonuç bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uyumludur. Bu durum çalışmamızın kesitsel olması ve fırçalamanın sıklığına rağmen etkinliğinin bilinmemesine bağlı olabilir. Ağız hijyen alışkanlıklarının artması ile birlikte DMFT ve DMFS indekslerinin düştüğü belirtilmiştir.[169] Ağız ve diş sağlığı için alınan en etkili önlemler; diş fırçalama, diş ipi ve gargara ile plağın günlük olarak temizlenmesidir. Ayrıca florürün eser miktarları bile çürükten korunmada özel bir önem taşır [170] Klinik olarak florürlü ürün kullanmayı bırakan hastalarda çürük gelişiminin arttığı bildirilmiştir.[171] Çalışmamızda ağız hijyen sorularından florürlü macun, florürlü gargara ve diş ipi kullanımı yer almaktadır. Düşük çürük riskli grupta yüksek çürük riskli gruba göre florürlü macun, florürlü gargara ve diş ipi kullanımı istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazladır. Yapılan bir çalışmada florürlü macun kullanımının DMFT indeksini düşürdüğü, ancak diş ipi kullanımının DMFT oranı ile anlamlı bir ilişkisinin bulunmadığı belirtilmiştir. Bu durum etkin ağız bakımı yapmamaları, bu konuda bilgi seviyelerinin düşüklüğü veya soruların anlaşılmamasının etkili olduğu düşünülmektedir.[167] Tannure ve ark.'nın[127] 2012 yılında MMP20 geni ile çevresel risk

faktörlerin çürükle ilişkisini araştırdığı çalışmasında bütün bireylerin florürlü macun kullandığı, florürlü gargara kullanımında çürüklü ve çürüksüz bireyler arasında anlamlı fark yok iken, diş ipi kullanımında anlamlı bir fark olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda florürlü macun kullanımın düşük çürük riskli grupta anlamlı derecede fazla bulunmasının nedeni yüksek çürük riskli gruptaki bireylerin kullandıkları macunların içeriğini bilmemesinden kaynaklanıyor olabilir.

Şekerli besinlerin tüketimi ve oral hijyen alışkanlıkları değerlendirildiğinde, şekerli gıda veya içecek tüketiminin azaltılması ve bu gıdaların ana öğünlerle birlikte alınması çürük riskinin azaltılmasında önemli faktörlerdendir.[172] Çürük riski değerlendirmesinde beslenme alışkanlıkları incelenirken, özellikle ara öğünlerde ve gece geç saatlerde atıştırılan gıdalara odaklanılması gerektiği vurgulanmıştır.[46] Literatürde beslenme içeriğinin analizinde sıklıkla anket ve diyet analiz yöntemleri kullanılmıştır.[19, 46] Anket ve diyet analiz yöntemleri ile yapılan bir çalışmada DMFT indeksi ile şekerli gıda ve içecek tüketimi arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir.[167] Yıldız ve ark'nın[156] yaptığı çalışmada da beslenme alışkanlığı anket yöntemi kullanılarak öğün dışı diyet sıklığının analiz edilmesi ile değerlendirilerek, öğün dışı beslenme sıklığının yüksek çürük risk grubundaki erişkin bireylerde anlamlı olarak daha fazla olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda beslenme alışkanlığı anket yöntemi kullanılarak günlük ara öğün sayısının ve günlük şekerli yiyecek-içecek sayısının analiz edilmesi ile değerlendirilmiş, düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında herhangi bir anlamlı farklılık bulunamamıştır. Bizim çalışmamızla uyumlu olarak bu faktörleri değerlendirmenin sadece hastanın beyanı doğrultusunda gerçekleşmesi dolayısıyla beslenme alışkanlıklarının çürük riskinde etkili bulunmadığı da literatürde bildirilen sonuçlar arasındadır. [4, 51]

Araştırmacılar, bireylerin risk durumunu etkileyen faktörlerin fermente olabilen karbonhidratlardan zengin diyet, fermente olabilen karbonhidratların tüketim sıklığı,

tükürük laktobasil ve S.mutans varlığı ve miktarı, tükürük akış hızı ve tamponlama kapasitesi, sosyoekonomik durum ve sosyal hikaye, mevcut çürük durumu, ağızda var olan kavitasyon oluşmuş ve oluşmamış çürükler, düzenli diş hekimi kontrolleri, flor ve klorheksidin kullanımı, diş hekimliği açısından önemi olan sistemik hastalıklar olabileceğini öne sürmüştür.[39, 46, 173] Çürük riski belirlenirken S.mutans dan sonra en çok araştırılan mikroorganizma Laktobasillerdir. Laktobasillerin çürüğün ilerlemesinde rol oynadığı ve karbonhidratların fazla miktarda tüketimi veya retansiyon alanlarının çoğalması (protez-ortodontik apareyler vb. gibi) sonucunda sayılarının arttığı bildirilmiştir.[174] Yapılan bir çalışmada yüksek çürük riskli grupta düşük çürük riskli grupta yer alan bireylere göre laktobasil sayısı ve öğün dışı diyet sıklığının anlamlı derecede fazla olması öğün dışı diyet sıklığı ile laktobasil sayısının ilişkili olduğu sonucunu desteklemektedir.[156] Ancak bizim çalışmamızda yüksek çürük riskli grupta düşük çürük riskli gruba göre laktobasil sayısı anlamlı derecede yüksek bulunmasına rağmen, günlük tüketilen ara öğün sayısı açısından düşük çürük riskli grup ile yüksek çürük riskli grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu durum literatürde bulunan benzer çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur.[4, 51, 175] Günlük tüketilen ara öğün sayısını değerlendirmenin sadece hastanın beyanı doğrultusunda gerçekleşmesi nedeniyle beslenme alışkanlıklarının çürük riskinde etkili bulunmadığı sonucuna varılabilir. Araştırıcılar, özellikle çürükten koruyucu stratejilerin etkisinin akut dönemlerde takip edilmesinde en önemli kriterlerden birisi olarak da tükürük veya plakta S.mutans ve Laktobasil düzeylerinin baz alınmasını tavsiye etmektedirler [176] Günümüze kadar farklı yöntemlerle tükürük ve plakta bakteri sayımı gerçekleştirilse de, kit şeklindeki basit yöntemler çağdaş yaklaşımlarda daha çok tercih edilmektedir.[177] Bu yöntem, alana özel ölçüm yapılabilmesi ve doğru sonuç vermesi nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir. Literartürde hastaların S.mutans ve Laktobasil düzeyinin dip slide metotla tespit edildiği

birçok çalışma bildirilmiştir..[178-180] Bu nedenle bizim çalışmamızda da klinik amacımıza daha uygun ve uygulaması daha kolay olan dip slide tekniği kullanılarak tükürükten S.mutans ve Laktobasil sayımı yapılmıştır. Piyasada bilinen hasta başı kitlerin piyasadan kaldırılmasıyla (CRT bakteria, Dentocult vs.) birlikte 2020 yılında piyasaya sürülen ve tükürük akış hızı, tükürük pH ve tamponlama, tükürük mutans ve laktobasil sayımı testlerini bir arada bulunduran Karies Screen Test +P (Aurosan GmbH, Essen, Almanya) isimli kit çalışmamızda kullanılmıştır. Ağzında çürük bulunan bireylerin, ağzında çürük bulunmayan bireylere göre önemli ölçüde yüksek Laktobasil seviyesine sahip oldukları belirtilmektedir.[181] Ağız içerisinde Laktobasil türlerinin, S.mutans başta olmak üzere, diğer streptokok türleriyle de bio etkileşimde olduğu gösterilmiş, hatta biyofilm içerisinde S.mutans gelişiminin ve kolonizasyonunun Laktobasil türleri tarafından desteklendiği bildirilmiştir.[182] Bazı araştırmacılarda bireylerin Laktobasil sayısı ile çürük riski arasında herhangi bir ilişki saptamamıştır.[4, 183] Bizim çalışmamızda yüksek çürük riskli grupta düşük çürük riskli gruba göre S.mutans ve Laktobasil sayısı anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p<0,05$) Behram ve ark.[184] yaptığı 'Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı İlk Muayene Kliniğine Başvuran Hastalarda DMFT İndeksi ile Tükürük Özellikleri Arasındaki İlişki' isimli çalışmada S.mutans ve Laktobasil sayısı yüksek olan hastalarda yüksek DMFT indeksi saptamışlardır bizim çalışmamızın sonuçları bu çalışmanın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

Kişilerin alışkanlıklarının ağız ve diş sağlığı üzerine etkisi bilinmektedir. Sigara kullanımı bu alışkanlıklardan en yaygın olanıdır. Ağız kanserleri, ağız içerisinde yumuşak doku lezyonları, diş eti hastalıkları gibi birçok hastalık için sigara kullanımı bir risk faktörü olarak düşünülmektedir. Bu hastalıkların yanısıra dişlerde kuron ve kök çürüklerinin oluşmasında diğer faktörlerle beraber sigara kullanımının rolü olabileceği düşünülmektedir.[185] Karaoğlanoğlu ve ark'nın[186] yaptığı bir çalışmada DMFT indeksi ile

sigara içme oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bildirilmiştir. 'Diş Hekimliği Fakültesi Öğrencilerinde Beslenme Alışkanlığı, Ağız ve Diş Sağlığı Tutum ve Davranışları ve DMFT İndeksinin Değerlendirilmesi' isimli çalışmada sigara içen ve içmeyen öğrenciler arasında DMFT değerleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır.[169] Bizim çalışmamızda da bu çalışmayla uyumlu olarak düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında sigara kullanımı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu sonuca sigara içen bireylerdeki eğitim düzeyinin yüksek oluşu ve ağız hijyeninin iyi olması katkı sağlamış olabilir.

Bu tez çalışmasında çevresel risk faktörlerinden yaş, plak miktarı, diş hekimi ziyareti, diş fırçalama süresi, florürülü macun, gargara ve diş ipi kullanımı ile S.mutans ve laktobasil sayısı yapılan istatistiksel analiz sonucu çürük riski ile ilişkili bulunmuştur. Bu nedenle birinci hipotezimiz kısmen reddedilmiştir.

Konağa bağlı risk faktörlerine ait bulgular arasında tükürük akış hızı, tükürük pH, tükürük tamponlama kapasitesi, AMELX genotip ve alel dağılımı, ENAM genotip ve alel dağılımı, AMBN genotip ve alel dağılımı vardır.

Oral sağlığın düzenlenmesinde önemli bir faktör olan tükürüğün; pH, tamponlama kapasitesi, akış hızı ve mikrobiyal içeriğinin çok sayıda faktörden etkilendiği bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada ortodontik apareyi olan hastaların, olmayan hastalara göre tükürük akış hızı, pH, streptokok ve laktobasil sayılarında değişiklik olduğu tespit edilmiştir.[187, 188]. Bazı sistemik hastalıklar ve sistemik olarak kullanılan ilaçlar tükürüğün akışında azalma, tükürük pH'sı ve tamponlama kapasitesinde değişime neden olmaktadır.[189] Bu nedenle çalışmamıza ortodontik aparey kullanan ve sistemik hastalığı bulunan bireyler dahil edilmemiştir. Tükürüğün çürük önleyici etkisi, tükürük akış hızına, pH'ına, , tükürük tamponlama kapasitesine, antimikrobiyal özelliğine ve tükürüğün içerdiği immün sistem ajanlarına bağlıdır.[190] Araştırmamızda elde edilen

bulgulara göre düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında yapılan karşılaştırmada uyarılmış tükürük akış hızı açısından anlamlı bir fark tespit edilmedi.($p>0,05$) Ancak düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında tükürük pH'sının yediden büyük veya küçük olması açısından karşılaştırıldığında düşük çürük riskli grubun tükürük pH'sının yedinin üzerinde olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu.($p<0,05$) Shetty ve ark.'nın genç erişkinler üzerinde yaptığı bir çalışmada aktif çürük dişi bulunan bireylerde, çürük dişi olmayan bireylere göre tükürük akış hızı ile tükürük pH'sının daha düşük olduğunu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir.[191] Farsi'nin çocuk, genç ve ileri yaştaki 320 hasta üzerinde yaptığı çalışmada tükürük pH'ı ile diş çürüğü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptarken, tükürük akış hızı arasında anlamlı bir fark bulamadığını belirtmiştir.[192] Çalışmamızda uyarılmış tükürük akış hızı açısından anlamlı bir fark olmaması, tükürük akış hızının çürük riskini etkilemediği ve çürük risk modelinde yer almadığını bildiren çalışmalarla uyumludur.[175, 193]

Tükürüğün tamponlama kapasitesi hem tükürük hem de plağın normal pH seviyesinde kalabilmesi için önemlidir.[83] Çalışmamızda ayrıca tükürük tamponlama kapasitesi açısından düşük ve yüksek çürük riskli gruplardaki bireyler karşılaştırılmış, düşük çürük riskli grubun yüksek çürük riskli gruba göre tükürük tamponlama kapasitesi anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur.($p<0,05$) Bazı araştırmacılar, tükürük tamponlama kapasitesinin düşük olmasının ağız içerisindeki karyojenik bakterilerin üremesine izin veren asidik ortamın uzun süre devam etmesine yol açarak erişkin bireylerde çürük riskinin artmasına neden olduğunu belirtmişlerdir.[4, 194, 195] Bulgularımız araştırıcıların bulguları ile uyumludur. Buna rağmen tamponlama kapasitesinin düşük olmasının çürük riskini arttıran bir faktör olmadığını saptayan araştırmalar da bulunmaktadır.[3, 193]

Bu tez çalışmasında yapılan istatistiksel analiz sonucu tükürük akış hızı çürük riski ile ilişkili bulunmamış iken, tükürük pH ve tükürük tamponlama kapasitesi çürük riski ile ilişkili bulunmuştur. Bu nedenle ikinci hipotezimiz kısmen reddedilmiştir.

Diş minesi, amelogenezin salgılama aşamasında mine matriks proteinleri üreten ve salgılayan dişe özgü hücreler olan ameloblastlar tarafından oluşturulur.[196, 197] Bu aşamada, ameloblastlar esas olarak mine matriks proteinlerinin bozunmasından ve yeniden diffüze olmasından sorumludur. Bu tür olaylar, mine kristallerinin kalınlık ve genişlikte artması ve diş minesinin sertleşmesine yol açması için alan yaratır. Amelogenin, insanlarda çürük duyarlılığı için olası bir aday gendir ve erkeklerde kadınlara göre farklı ekspresyona sahiptir. Amelogenindeki mutasyonlar ve delesyonlar, X'e bağlı Amelogenezis İmperfektanın formlarından birine neden olur.[196] Çalışmamızda yer alan 20-60 yaş aralığındaki düşük çürük riskli grup ile yüksek çürük riskli gruplardaki erişkin bireyler arasında AMELX rs17878486 polimorfizmi ile çürük riski açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmemiştir.($p>0,05$) Kang ve ark.'nın 2011 yılında koreli erişkinler üzerinde yaptığı çalışmada AMELX rs17878486 geni ile diş çürüğü ya da duyarlılığı arasında ilişki bildirilmemiştir.[124] Çalışmamızdan farklı olarak yapılan çalışmalarda AMELX rs17878486 polimorfizmi ile çürük riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.[119, 198] Gerreth ve ark. 2017 yılında Polonyalı çocuklar üzerinde yaptığı çalışmada AMELX rs17878486 T alleli ve TT genotipi ile çocuklarda birincil dişlenmede gelişimsel mine kusurlarının oluşumu arasında anlamlı pozitif bir korelasyon bulmuştur.[198] Patir ve ark. ise Türk toplumundaki 3-6 yaş arasındaki çocuklarda AMELX rs17878486, genindeki polimorfizmin minenin yapısını değiştirerek asidik ortamda mineral kaybını artırdığı ve karyojenik bakterilerin diş yüzeyine tutunmasını kolaylaştırdığını bildirmiştir. Bu polimorfizmin çürüğe yatkınlığı artırabileceğini

saptamıştır.[119] Bu farklılık bizim çalışmamızın erişkinler üzerinde ve daimi dişlerde diğer iki çalışmanın da çocuklarda ve süt dişleri üzerinde yapılmasından kaynaklanıyor olabilir.

Mine oluşumundan sorumlu genlerin potansiyel olarak çürüğe yatkınlıkta rol oynadığı ileri sürülmüştür ve amelogenin, tuftelin ve enamelin'deki genetik varyasyon ile yüksek çürük deneyimi arasında pozitif ilişki bildirilmiştir. [2, 8, 119] Enamelin, mine oluşumu sırasında mine matrisindeki en büyük proteindir ve toplam mine matriks proteininin yaklaşık %5'ini oluşturur.[199] Çalışmamızda düşük çürük riskli grup ile yüksek çürük riskli grup arasında ENAM rs12640848 genotip ve alel dağılımı açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Shimizu ve ark.'nın 2012 yılında yaptığı çalışmada ENAM rs12640848 geni ile çürük riski arasında anlamlı bir ilişki tespit etmişlerdir. [200] Abbasoğlu ve ark.'nın 2-5 yaş arası çocuklarda yaptığı bir çalışmada ise ENAM rs1264848 GG genotipi, çoklu değişkenli analizde erken çocukluk çağı çürüğü için koruyucu bir faktör olarak tespit edilmiştir.[201] Yapılan farklı çalışmalarda bizim çalışmamızla uyumlu olarak ENAM geni ile çürük riski arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.[8, 198] Literatürde ENAM geninin çürük riski üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmalar çelişmektedir. Bu nedenle ENAM geni ile ilgili daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Ameloblastin proteini diş gelişimi sırasında mine kristallerinin uzamasını kontrol etmektedir.[2] Çalışmamızda bakılan bir diğer gen olan AMBN rs17733915 düşük çürük riskli grup ile yüksek çürük riskli grup arasında genotip ve alel dağılımı açısından yapılan istatistiksel analizde herhangi bir fark tespit edilmemiştir.($p>0,005$) Shaffer ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada AMBN rs17733915 ile çürük riski arasında ilişki bulunmuştur.[9] Shimizu ve ark.'nın yaptığı çalışmada AMBN rs4694075 da çürük deneyimi ile ilişkili bulunmuştur. Yüksek çürük deneyimi olan bireylerde bu markörün C allelinin frekansı, düşük çürük deneyimi grubundakinden önemli ölçüde daha yüksek olduğu tespit

edilmiştir.[200] Literatürde AMBN geninin farklı polimorfizmlerine ait çalışmalarda çürük riski ile anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir.[2, 8] AMBN rs17733915 gen polimorfizmi ile ilgili literatürde az çalışmaya rastlandığından daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu tez çalışmasında düşük ve yüksek çürük riskli gruplar arasında yapılan istatistiksel analiz sonucunda AMELX genine ait rs17878486 polimorfizmi, AMBN genine ait rs17733915 polimorfizmi ve ENAM genine ait rs12640848 polimorfizmi çürük riski ile ilişkili tespit edilmemiştir. Bu nedenle üçüncü hipotezimiz kabul edilmiştir.

Çürük risk değerlendirme modelleri için iki farklı yaklaşım olan 'risk modeli' ve 'tahmin modeli' tanımlanmıştır.[21] Risk modeli, risk faktörleri olarak adlandırılan nedensel çürük faktörlerini belirler, ancak çürük sonucunu tahmin etmez. Tahmin modeli, gelecekte çürük ilerlemesi riskinin tahminidir. 1980'lerden beri, yukarıda bahsedilen kavramlar kullanılarak çok değişkenli çürük risk stratejileri geliştirilmiştir. Hastalık süreci çok faktörlü olduğundan birden çok değişken içeren risk modelleri daha iyi tahminlerle sonuçlanır.[202, 203] Çürük risk değerlendirmesinde en sık kullanılan istatistiksel yöntemler çok değişkenli regresyon analizleridir.[51] Literatürde gen polimorfizmlerinin çevresel faktörlerle beraber çürük oluşumuna etkisini regregresyon analizi kullanarak inceleyen araştırmalara rastlanmıştır.[11, 119, 160, 201, 204]

Çalışmamızda AMELX, ENAM ve AMBN gen polimorfizmleri tek değişkenli ve çok değişkenli lojistik regresyon analizleriyle değerlendirildiğinde çürükle ilişkili bulunmamıştır.(Tablo 4.7.) Gasse ve ark'nın[204] AMELX'in yaygın SNP'leri ile çürük riski arasındaki ilişkinin çevresel risk faktörleri ile beraber lojistik regresyon analizi kullanılarak değerlendirildiği çalışmada hiçbir SNP çürükle ilişkili tespit edilmemiştir. Literatürde bulunan bazı çalışmalar bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir.[120, 200]

Çalışmamızda önemli risk faktörlerinden ortalama yaş, plak indeksi, tükürük tamponlama kapasitesi, tükürük S.mutans sayısı, tükürük Laktobasil sayısı, florürlü macun ve gargara kullanımı çok değişkenli lojistik regresyon analizi ile değerlendirildiğinde ortalama yaşın artması, plak indeksinin artması ve florürlü gargara kullanımının azalması DMFT artışında istatistiksel olarak etkili bir risk faktörü olarak tespit edilmiştir. Genetik ve çevresel faktörlerin lojistik regresyon analizi ile değerlendirildiği çalışmalarda bizim çalışmamızla uyumlu olarak yaş artışının çürük için risk faktörü olduğu bildirilmiştir.[11, 127] Taletar ve ark.'nın[10] mine formasyon genleri ile çevresel faktörlerin çürükle ilişkisinin yetişkinler üzerinde çok değişkenli lojistik regresyon analizi ile değerlendirdiği çalışmada plak miktarının artması çürük riskinin artması ile ilişkilendirilmiştir.Wang ve ark.'nın[11] yaptığı çalışmada sık diş fırçalama ve sudaki flor düzeyi çürük için koruyucu faktör olarak tespit edilmiştir. Tannure ve ark.'nın[127] MMP20 gen polimorfizmi ile florürlü macun,gargara, diş ipi kullanımı ve fırçalama sıklığı gibi oral hijyen alışkanlıkları ile şekerli yiyecek-içecek tüketimini beraber değerlendirildiği çalışmada çok değişkenli analizde şekerli yiyecek-içecek tüketim sıklığının çürükle ilişkili olduğunu tespit etmiştir. Ancak florür kullanımının genetik faktörlerle beraber değerlendirilmediği vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda oluşturulan risk modelinde florürlü gargara kullanımının çürük riski için koruyucu olduğu tespit edilmiştir. Bu konuda literatürde farklı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Florür kullanımının farklı çalışmalarla desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Önemli mineralizasyon proteinlerini kodlayan AMELX, ENAM ve AMBN gen polimorfizmlerinin ve çevresel risk faktörlerinin diş çürüğü üzerine etkisini incelediğimiz çalışmamızın sonuçları aşağıdaki gibidir:

1) Diş fırçalama sıklığı, günlük tüketilen ara öğün sayısı, günlük tüketilen şekerli yiyecek içecek sayısı ve sigara kullanımı dışında çevresel risk faktörü olarak değerlendirilen plak miktarı, tükürük mutans streptokokları sayısı, tükürük laktobasil sayısı, diş hekimi ziyareti, diş fırçalama süresi, florürlü macun ve garagara kullanımı, diş ipi kullanımı, çalışılan bu hasta populasyonunda çürük riski ile ilişkili bulunmuştur.
2) Tükürük akış hızı hariç konağa ait risk faktörleri olarak değerlendirilen tükürük tamponlama kapasitesi ve tükürük pH'sı çalışılan bu hasta populasyonunda çürük riski ile ilişkili bulunmuştur.
3) AMELX rs17878486 gen polimorfizminin çürük riskinin artması ile ilişkili bulunmaması ve aynı zamanda DMFT artışını açıklayan çürük risk modelinde yer almaması, AMELX gen polimorfizminin çürük etiyolojisinde rol oynamadığı anlamına gelebilir.
4) ENAM rs12640848 gen polimorfizminin çürük riskinin artması ile ilişkili bulunmaması ve aynı zamanda DMFT artışını açıklayan çürük risk modelinde yer almaması, ENAM gen polimorfizminin çürük etiyolojisinde rol oynamadığı anlamına gelebilir.
5) AMBN rs17733915 gen polimorfizminin çürük riskinin artması ile ilişkili bulunmaması ve aynı zamanda DMFT artışını açıklayan çürük risk modelinde yer almaması, AMBN gen polimorfizminin çürük etiyolojisinde rol oynamadığı anlamına gelebilir.

6) DMFT artışını açıklayan çürük risk modelinde çevresel risk faktörlerinden ortalama yaş, plak indeksi ve florürlü gargara kullanımı yer almıştır. Ortalama yaş ve plak indeksinin artışı çürük riski ile pozitif korelasyon gösterirken, florürlü gargara kullanımı negatif korelasyon göstermiştir.

Çalışmamızın sonuçları ile doğru orantılı olarak aşağıda bahsedilen öneriler bu konu ile ilgili yapılacak olan çalışmalara yön verebilir. Çürük riskini yüksek oranda açıklayabilen bir risk modeli geliştirmek için bireyin eğitim seviyesi, sosyoekonomik durumu, mesleği, gibi sosyal ve davranışsal faktörler de çürük risk faktörlerinin değerlendirildiği çalışmalara dahil edilebilir. İleride yapılacak olan araştırmalarda AMELX, ENAM ve AMBN genine ait çalışmamızda incelenen polimorfizm bölgesi yerine farklı bir polimorfizm bölgesi veya mineralizasyonda rol oynayan farklı genlerin değerlendirilmesi, geliştirilecek olan çürük risk modelinin açıklayıcılığının artmasına yardımcı olacaktır. Çalışmamızda araştırılan genlerden farklı olarak, ileriki çalışmalarda çürük riskinde etkili olabileceği belirtilmiş olan mineralizasyonla ilişkili MMP20, TUFT1, KLK4 ve DSPP genlerine ait polimorfizmleri incelenebilir. Buna ek olarak, otomatik DNA dizi analizleri kullanılarak yapılacak olan gen analizi sonucu diş çürüğü ile ilişkili yeni tek nükleotid polimorfizmleri saptanabilir.

Son olarak, çevresel ve genetik tüm risk faktörlerinin doğru olarak tespit edilmesi sonucu populasyondaki çürüğe yatkınlığı olan bireylerin kolay ve hızlı bir şekilde saptanması ile çevresel risk faktörlerinin kısıtlanması, ağız hijyenlerinin artırılması ile diş hekimi ziyaretlerinin sıklaştırılarak daha yakından takip edilmesi koruyucu tedavilerde başarı şansını artıracaktır. Diş çürüğü etiyolojisinde genetiğin rolünün daha fazla aydınlatılması, ileride moleküler aşı ve hatta gen terapisi gibi koruyucu ve terapötik amaçlı yeni yöntemlerin geliştirilmesine de olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Leone CW, Oppenheim FG. Physical and chemical aspects of saliva as indicators of risk for dental caries in humans. *Journal of dental education*, 2001, 65: 1054-1062.
2. Slayton R, Cooper M, Marazita M. Tuftelin, mutans streptococci, and dental caries susceptibility. *Journal of dental research*, 2005, 84: 711-714.
3. Celik EU, Gokay N, Ates M. Efficiency of caries risk assessment in young adults using Cariogram. *European journal of dentistry*, 2012, 6: 270-279.
4. Ruiz Miravet A, Almerich Silla JM. Evaluation of caries risk in a young adult population. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet)*, 2007, 12: 412-418.
5. Al Mulla AH, Kharsa SA, Kjellberg H, Birkhed D. Caries risk profiles in orthodontic patients at follow-up using Cariogram. *The Angle Orthodontist*, 2009, 79: 323-330.
6. Werneck R, Mira M, Trevilatto P. A critical review: an overview of genetic influence on dental caries. *Oral diseases*, 2010, 16: 613-623.
7. İşman NE. PAX9 genindeki G-1031A ve T-912C polimorfizmleri ile diş eksikliği (Hypodonti ve Oligodonti) ilişkisinin incelenmesi. Selçuk Üniversitesi Sağık Bilimleri Enstitüsü, 2009.
8. Deeley K, Letra A, Rose E, Brandon C, Resick J, Marazita M, Vieira A. Possible association of amelogenin to high caries experience in a Guatemalan-Mayan population. *Caries research*, 2008, 42: 8-13.
9. Shaffer JR, Carlson JC, Stanley BO, Feingold E, Cooper M, Vanyukov MM, Maher BS, Slayton RL, Willing MC, Reis SE. Effects of enamel matrix genes on dental caries are moderated by fluoride exposures. *Human genetics*, 2015, 134: 159-167.
10. TELATAR GY, SAYDAM F. Lack of Association between Enamel Gene Variants and Dental Caries in Adults. *Cumhuriyet Dental Journal*, 23: 96-106.
11. Wang X, Willing MC, Marazita ML, Wendell S, Warren JJ, Broffitt B, Smith B, Busch T, Lidral AC, Levy SM. Genetic and environmental factors associated with dental caries in children: the Iowa Fluoride Study. *Caries research*, 2012, 46: 177-184.
12. Manisalı Y, Koray F. Ağız-diş embriyolojisi ve histolojisi. *İstanbul: Yenilik Basımevi*, 1982: 73-98.

13. Bayırlı GŞ, Şirin Ş. *Restoratif tedavi*. Baskı. İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Yayınları, 1985.
14. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *The Lancet*, 2007, 369: 51-59.
15. Seow WK. Biological mechanisms of early childhood caries. *Community dentistry and oral epidemiology*, 1998, 26: 8-27.
16. Marsh PD. Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. *Dental clinics of north America*, 1999, 43: 599-614, v-vi.
17. Anusavice K. Management of dental caries as a chronic infectious disease. *Journal of dental education*, 1998, 62: 791-802.
18. Keyes PH. Research in dental caries. *The Journal of the American Dental Association*, 1968, 76: 1357-1373.
19. Reich E, Lussi A, Newbrun E. Caries-risk assessment. *International dental journal*, 1999, 49: 15-26.
20. Messer LB. Assessing caries risk in children. *Australian Dental Journal*, 2000, 45: 10-16.
21. Beck JD. Risk revisited. *Community dentistry and oral epidemiology*, 1998, 26: 220-225.
22. Panel NIoHCD. National Institutes of Health Consensus Development Conference statement: diagnosis and management of dental caries throughout life, March 26–28, 2001. *The Journal of the American Dental Association*, 2001, 132: 1153-1161.
23. Anderson M. Risk assessment and epidemiology of dental caries: review of the literature. *Pediatric Dentistry*, 2002, 24: 377-385.
24. Featherstone J. The continuum of dental caries—evidence for a dynamic disease process. *Journal of dental research*, 2004, 83: 39-42.
25. Keyes P. Recent advances in dental caries research. Bacteriology. Bacteriological findings and biological implications. *Int Dent J*, 1962, 12: 443-464.
26. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. *Advances in dental research*, 2000, 14: 40-47.
27. Evans RW, Lo EC, Darvell BW. Determinants of variation in dental caries experience in primary teeth of Hong Kong children aged 6–8 years. *Community dentistry and oral epidemiology*, 1993, 21: 1-3.
28. Bastos JLD, Gigante DP, Peres KG, Nedel FB. Social determinants of odontalgia in epidemiological studies: theoretical review and proposed conceptual model. *Ciencia & saude coletiva*, 2007, 12: 1611.

29. Antunes J. Cárie dentária in: Antunes JLF, Peres MA. Epidemiologia da saúde bucal. 2006.
30. Pine C. Introduction to the Symposium-Caries risk: individual and population perspectives. 2005.
31. Alberts B. Molecular Biology of the Cell third ed. Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. 1994.
32. Bretz WA, Corby PM, Melo MR, Coelho MQ, Costa SM, Robinson M, Schork NJ, Drewnowski A, Hart TC. Heritability estimates for dental caries and sucrose sweetness preference. *Archives of oral biology*, 2006, 51: 1156-1160.
33. Ulucan K, Pul U, Akçay T. Dis çürüklerinin olusumuna moleküler yaklasim/Molecular approach to tooth decays. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 2010, 8: 35.
34. Ramos-Gomez F, Crystal YO, Ng MW, Tinanoff N, Featherstone JD. Caries risk assessment, prevention, and management in pediatric dental care. *Gen Dent*, 2010, 58: 505-517.
35. Ettinger RL. Epidemiology of dental caries. A broad review. *Dental clinics of north America*, 1999, 43: 679-694, vii.
36. Petersen PE, Ogawa H. Strengthening the prevention of periodontal disease: the WHO approach. *Journal of periodontology*, 2005, 76: 2187-2193.
37. Hobdell M, Petersen PE, Clarkson J, Johnson N. Global goals for oral health 2020. *International dental journal*, 2003, 53: 285-288.
38. Klein H, Palmer CE, Kramer M. Studies on dental caries. II. The use of the normal probability curve for expressing the age distribution of eruption of the permanent teeth. *Growth*, 1937, 1: 20.
39. Basavaraj P, Khuller N, Khuller RI, Sharma N. Caries risk assessment and control. *J Oral Health Comm Dent*, 2011, 5: 58-63.
40. Organization WH. Oral health surveys: Basic Methods. 3aed. *Suiza: Geneva: World Health Organization*, 1987.
41. Axelsson P. *Diagnosis and risk prediction of dental caries*. Baskı. Quintessence Publishing Company Chicago, 2000.
42. Bischoff J, Van der Merwe E, Retief D, Barbakow F, Cleaton-Jones P. Relationship between fluoride concentration in enamel, DMFT index, and degree of fluorosis in a community residing in an area with a high level of fluoride. *Journal of dental research*, 1976, 55: 37-42.

43. Slakter MJ, Juliano DB, Fischman SL. Estimating examiner consistency with DMFS measures. *Journal of dental research*, 1976, 55: 930-934.
44. Organization WH. *Oral health surveys: basic methods*. Baskı. World Health Organization, 2013.
45. Powell LV. Caries prediction: a review of the literature. *Community dentistry and oral epidemiology*, 1998, 26: 361-371.
46. Fontana M, Zero DT. Assessing patients' caries risk. *The Journal of the American Dental Association*, 2006, 137: 1231-1239.
47. Zero D, Fontana M, Lennon ÁM. Clinical applications and outcomes of using indicators of risk in caries management. *Journal of dental education*, 2001, 65: 1126-1132.
48. Külekçi G, Çintan S, Dülger O. Diş Hekimliğinde Antimikrobiyal Ağız Gargalarının Kullanılması. *ANKEM dergisi*, 1999, 13: 3.
49. Edgar W. Saliva: its secretion, composition and functions. *British dental journal*, 1992, 172: 305-312.
50. KORUNMUŞ F, AKBULUT E, ÇOKPEKİN F. Diş Çürüğü Olan ve Olmayan Çocuklarda Oral Streptokokların Dağılımı ve NaF Gargarasının Etkileri. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 1991, , 8: 39-51.
51. Powell LV. Caries risk assessment: relevance to the practitioner. *The Journal of the American Dental Association*, 1998, 129: 349-353.
52. Karadas M, Tahan E, Köse O, Demirbuga S. 13-20 Yas Grubu Bireylerde Dis Firçalama Sikligi ile Oral Hijyen ve DMFT Arasindaki Iliskinin Degerlendirilmesi/Evaluation of Relationship Between DMFT Index and Oral Hygiene with Tooth Brushing Frequency in 13-20 Year-Old Individuals. *Turkiye Klinikleri. Dishekimligi Bilimleri Dergisi*, 2014, 20: 177.
53. Axelsson P, Lindhe J. Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. *Journal of clinical periodontology*, 1978, 5: 133-151.
54. Chesters R, Huntington E, Burchell C, Stephen K. Effect of oral care habits on caries in adolescents. *Caries research*, 1992, 26: 299-304.
55. Altun C, Güven G, Başak F, Akbulut E. Evaluation of children in the age group of 6 to 11 with respect to oral-dental health. *Gulhane Med J*, 2005, 47: 114-118.
56. Tenovuo J. Salivary parameters of relevance for assessing caries activity in individuals and populations. *Community dentistry and oral epidemiology*, 1997, 25: 82-86.

57. Dhotre S, Suryawanshi N, Selkar S, Nagoba B. Viridans group streptococci and the oral ecosystem. *European Journal of General Medicine*, 2015, 13: 145-148.
58. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of clinical microbiology*, 2005, 43: 5721-5732.
59. Marcotte H, Lavoie MC. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 1998, 62: 71-109.
60. Koray F. Diş çürükleri. *İstanbul: Altın Matbaacılık*, 1981: 45-50.
61. Gold W, Preston FB, Blechman H. The nature and amounts of bound glucose in dental plaque. *Journal of periodontology*, 1973, 44: 263-268.
62. Kelstrup J, Theilade J, Poulsen S, Møller I. Bacteriological, electron microscopical, and biochemical studies on dento-gingival plaque of Moroccan children from an area with low caries prevalence. *Caries research*, 1974, 8: 61-83.
63. Wellington P. Risk factors in dental caries. *Int Dent J*, 1998, 38: 211-217.
64. Erdem V, M. Y. Behçet Hastalarında Tükürük Akış Hızı, pH, Tamponlama Kapasitesi, Tükürüğün Mikrobiyolojik İçeriği İle Dmft İndekslerinin Değerlendirilmesi. Diş Hastalıkları ve Tedavisi

Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 2010.

65. Socransky S, Smith C, Martin L, Paster B, Dewhirst F, Levin A. " Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques*, 1994, 17: 788-792.
66. Lam A, Chu C. Caries management with fluoride varnish of children in US. *The New York state dental journal*, 2011, 77: 38-42.
67. Kidd E. Caries management. *Dental clinics of north America*, 1999, 43: 743-764.
68. Buzalaf MAR, Pessan JP, Honório HM, Ten Cate JM. Mechanisms of action of fluoride for caries control. İçinde:*Fluoride and the oral environment*, Karger Publishers, 2011: 97-114.
69. Oganessian E, Lencova E, Broukal Z. Is systemic fluoride supplementation for dental caries prevention in children still justifiable. *Prague Medical Report*, 2007, 108: 306-314.
70. Adair SM. Evidence-based use of fluoride in contemporary pediatric dental practice. *Pediatric Dentistry*, 2006, 28: 133-142.
71. Dentistry AAoP. *American Academy of Pediatric Dentistry reference manual*. Baskı. American Academy of Pediatric Dentistry, 2008.
72. Tate WH, Snyder R, Montgomery EH, Chan JT. Impact of source of drinking water on fluoride supplementation. *Journal of Pediatrics*, 1990, 117: 419-421.

73. Beltrán-Aguilar ED, Barker LK, Canto MT, Dye BA, Gooch BF, Griffin SO, Hyman J, Jaramillo F, Kingman A, Nowjack-Raymer R. Surveillance for dental caries, dental sealants, tooth retention, edentulism, and enamel fluorosis; United States, 1988-1994 and 1999-2002. 2005.
74. Petersson L. Fluoride mouthrinses and fluoride varnishes. *Caries research*, 1993, 27: 35-42.
75. Beltrán-Aguilar ED, Goldstein JW, Lockwood SA. Fluoride varnishes: a review of their clinical use, cariostatic mechanism, efficacy and safety. *The Journal of the American Dental Association*, 2000, 131: 589-596.
76. Karjalainen S, Eriksson AL, Ruokola M, Toivonen A. Caries development after substitution of supervised fluoride rinses and tooth brushings by unsupervised use of fluoride toothpaste. *Community dentistry and oral epidemiology*, 1994, 22: 421-424.
77. Corpron RE, Clark JW, Tsai A, More FG, Merrill DF, Kowalski CJ, Tice TR, Rowe CE. Intraoral effects of a fluoride-releasing device on acid-softened enamel. *The Journal of the American Dental Association*, 1986, 113: 383-388.
78. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. *The Journal of the American Dental Association*, 2000, 131: 887-899.
79. König K. Role of fluoride toothpastes in a caries-preventive strategy. *Caries research*, 1993, 27: 23-28.
80. Clarkson JJ, McLoughlin J. Role of fluoride in oral health promotion. *International dental journal*, 2000, 50: 119-128.
81. Moynihan PJ. The role of diet and nutrition in the etiology and prevention of oral diseases. *Bulletin of the World Health Organization*, 2005, 83: 694-699.
82. Bowen WH. Food components and caries. *Advances in dental research*, 1994, 8: 215-220.
83. Twetman S, Garcia-Godoy F. Caries risk assessment and caries activity testing. 2004.
84. Teivens A, Mörnstad H, Reventlid M. Individual variation of tooth development in Swedish children. *Swedish dental journal*, 1996, 20: 87-93.
85. Disney JA, Graves RC, Stamm JW, Bohannan HM, Abernathy JR, Zack DD. The University of North Carolina Caries Risk Assessment study: further developments in caries risk prediction. *Community dentistry and oral epidemiology*, 1992, 20: 64-75.

86. Pontigo-Loyola AP, Medina-Solis CE, Borges-Yañez SA, Patiño-Marín N, Islas-Márquez A, Maupome G. Prevalence and severity of dental caries in adolescents aged 12 and 15 living in communities with various fluoride concentrations. *Journal of public health dentistry*, 2007, 67: 8-13.
87. Lukacs JR, Largaespada LL. Explaining sex differences in dental caries prevalence: Saliva, hormones, and "life-history" etiologies. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Association*, 2006, 18: 540-555.
88. Kırzıoğlu Z, Demiröz I. 7-12 yaş grubu Erzurum çocuklarında sosyo-ekonomik durumun diş çürüklerine etkisinin incelenmesi. *Hacettepe Diş Hek Fak Derg*, 1983, 3: 195-200.
89. Brunton PA. *Decision-making in operative dentistry*. Baskı. Quintessence Publishing, 2002.
90. Graves RC, Abernathy JR, Disney JA, Stamm JW, Bohannan HM. University of North Carolina caries risk assessment study. III. Multiple factors in caries prevalence. *Journal of public health dentistry*, 1991, 51: 134-143.
91. Petersen PE. Sociobehavioural risk factors in dental caries–international perspectives. *Community dentistry and oral epidemiology*, 2005, 33: 274-279.
92. Potter R. Twin half-sibs: a research design for genetic epidemiology of common dental disorders. *Journal of dental research*, 1990, 69: 1527-1530.
93. TELATAR GY, ERMİŞ RB. ÇÜRÜK RİSKİ VE GENETİK. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 29: 350-356.
94. Opal S, Garg S, Jain J, Walia I. Genetic factors affecting dental caries risk. *Australian Dental Journal*, 2015, 60: 2-11.
95. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *The Journal of prosthetic dentistry*, 2001, 85: 162-169.
96. Ermis RB, Koray F, Akdeniz BG. Dental caries and fluorosis in low-and high-fluoride areas in Turkey. *Quintessence international*, 2003, 34.
97. Amerongen AN, Veerman E. Saliva–the defender of the oral cavity. *Oral diseases*, 2002, 8: 12-22.
98. Dawes C. Effects of diet on salivary secretion and composition. *Journal of dental research*, 1970, 49: 1263-1272.

99. Fox PC, Busch KA, Baum BJ. Subjective reports of xerostomia and objective measures of salivary gland performance. *The Journal of the American Dental Association*, 1987, 115: 581-584.
100. Özgür B, Ünverdi GE, Çehreli Z. Diş Çürüğünün Tespitinde Geleneksel ve Güncel Yaklaşımlar. *Turkiye Klinikleri Journal of Pediatric Dentistry-Special Topics*, 2018, 4: 1-9.
101. Gul P, Akgul N, Catakci A, Atila A. Effects of of xylitol chewing gum, black tea and white cheese on saliva ph. *The Journal of Dental Faculty of Atatürk University*, 2011, 21: 88-93.
102. Demir T, Demir H, Gorler O, Ozden S, Dogan D. The Effects of Some Drinks on Saliva pH. *J Interdiscipl Med Dent Sci*, 2017, 5: 2.
103. TAŞVEREN SK, Neşe A. Çürük aktivite testleri. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2006, 7: 45-54.
104. Featherstone JD, Domejean-Orliaguet S, Jenson L, Wolff M, Young DA. Caries risk assessment in practice for age 6 through adult. *CDA*, 2007, 35: 703.
105. Sreebny L. Saliva: Its role in health and disease. Working group 10 of the commission on oral health, research and epidemiology (CORE). *Int Dent J.*, 1992, 42: 287-304.
106. Larmas M. Simple tests for caries susceptibility. *International dental journal*, 1985, 35: 109-117.
107. Kavanagh D, Svehla G. Variation of salivary calcium, phosphate and buffering capacity in adolescents. *Archives of oral biology*, 1998, 43: 1023-1027.
108. Fejerskov O, Kidd EA, Nyvad B, Baelum V. Defining the disease: an introduction. İçinde:*Dental caries. The disease and its clinical management*, Blackwell Publishing, 2008: 3-6.
109. ERICSON D, BRATTHALL D. Simplified method to estimate salivary buffer capacity. *European Journal of Oral Sciences*, 1989, 97: 405-407.
110. Bektaş S, Turgut MD. Çocuk Diş Hekimliğinde Çürük Risk Tayini (2. Bölüm). *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 12: 31-41.
111. Moritsuka M, Kitasako Y, Burrow MF, Ikeda M, Tagami J, Nomura S. Quantitative assessment for stimulated saliva flow rate and buffering capacity in relation to different ages. *Journal of dentistry*, 2006, 34: 716-720.
112. HÜ L. Moleküler genetiğin esasları. *Ankara: Nobel Kitabevi*, 2008.
113. Pal GP, NK. M. *Genetics in Dentistry.* Baskı. ndia: Jaypee,, New Delhi,, 2010.

114. Pal G, Mahato N. Genetics in Dentistry. 2010. 2010.
115. Townsend G, Richards L, Hughes T, Pinkerton S, Schwerdt W. The value of twins in dental research. *Australian Dental Journal*, 2003, 48: 82-88.
116. BOYACIOĞLU SÖ, DÜNDAR M. Gen Haritalama Stratejileri. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 21: 50-60.
117. Abbasoğlu Z. Diş minesinin oluşumunda görev alan mmp20 (matriks metalloproteinaz-20) ve klk4 (kallikrein-4) gen polimorfizmleri ile diş çürükleri arasındaki ilişkinin 3-5 yaş grubu çocuklarda değerlendirilmesi Pedodonti Anabilimdalı. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstütüsü, 2013.
118. Muhlemann H. Karies und Parodontopathien beim Menschen in genetischer Sicht. *Schweiz Monatsschr Zahnheilk*, 1972, 82: 942-959.
119. Patir A, Seymen F, Yildirim M, Deeley K, Cooper M, Marazita M, Vieira A. Enamel formation genes are associated with high caries experience in Turkish children. *Caries research*, 2008, 42: 394-400.
120. Vieira A, Marazita M, Goldstein-McHenry T. Genome-wide scan finds suggestive caries loci. *Journal of dental research*, 2008, 87: 435-439.
121. Peres R, Camargo G, Mofatto L, Cortellazzi K, Santos M, Santos M, Bergamaschi C, Line S. Association of polymorphisms in the carbonic anhydrase 6 gene with salivary buffer capacity, dental plaque pH, and caries index in children aged 7–9 years. *The pharmacogenomics journal*, 2010, 10: 114-119.
122. Briseño-Ruiz J, Shimizu T, Deeley K, Dizak PM, Ruff TD, Faraco IM, Poletta FA, Brancher JA, Pecharki GD, Küchler EC. Role of TRAV locus in low caries experience. *Human genetics*, 2013, 132: 1015-1025.
123. Renuka P, Pushpanjali K, Sangeetha R. Review on “Influence of host genes on dental caries”. *IOSR J Dent Med Sci*, 2013, 4: 86-92.
124. Kang S, Yoon I, Lee H, Cho J. Association between AMELX polymorphisms and dental caries in Koreans. *Oral diseases*, 2011, 17: 399-406.
125. Nikiforuk G. Understanding Dental Caries. Vol. 1: Etiology & Mechanism. Switzerland. 1985.
126. Luo W, Wen X, Wang H-J, MacDougall M, Snead ML, Paine ML. In vivo overexpression of tuftelin in the enamel organic matrix. *Cells Tissues Organs*, 2004, 177: 212-220.

127. Tannure PN, Küchler EC, Lips A, de Castro Costa M, Luiz RR, Granjeiro JM, Vieira AR. Genetic variation in MMP20 contributes to higher caries experience. *Journal of dentistry*, 2012, 40: 381-386.
128. Buczkowska-Radlińska J, Pol J, Szmidt M, Bińczak-Kuleta A. The influence of polymorphism of the MUC7 gene on the teeth and dental hygiene of students at a faculty of dentistry in Poland. *Advances in Hygiene & Experimental Medicine/Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*, 2012, 66.
129. Ozturk A, Famili P, Vieira A. The antimicrobial peptide DEFB1 is associated with caries. *Journal of dental research*, 2010, 89: 631-636.
130. Bagherian A, Nematollahi H, Afshari J, Moheghi N. Comparison of allele frequency for HLA-DR and HLA-DQ between patients with ECC and caries-free children. *Journal of Indian Society of Pedodontics and preventive dentistry*, 2008, 26: 18.
131. De Soet J, van Gemert-Schriks M, Laine M, Van Amerongen W, Morré S, Van Winkelhoff A. Host and microbiological factors related to dental caries development. *Caries research*, 2008, 42: 340-347.
132. Pehlivan S, Sipahi M, Ozkinay F, Pehlivan M, Koturoglu G, Alpoz AR. Might there be a link between mannose-binding lectin polymorphism and dental caries? *Molecular immunology*, 2005, 42: 1125-1127.
133. Wendell S, Wang X, Brown M, Cooper M, DeSensi R, Weyant R, Crout R, McNeil D, Marazita M. Taste genes associated with dental caries. *Journal of dental research*, 2010, 89: 1198-1202.
134. Wright JT. Defining the contribution of genetics in the etiology of dental caries. *Journal of dental research*, 2010, 89: 1173-1174.
135. Rupesh S, Nayak UA. Genetic sensitivity to the bitter taste of 6-n propylthiouracil: a new risk determinant for dental caries in children. *Journal of Indian Society of Pedodontics and preventive dentistry*, 2006, 24: 63.
136. Çoğulu Ö DB, Özkınay F. . Genetik Hastalıklara Temel Yaklaşım. . *Ege Pediatri Bülteni*, 2006, 13(1): 57-66.
137. Temizkan G, Arda N. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Nobel Tıp Kitabevi, 3. *Baskı. İstanbul*, 2004: 64-65.
138. Yildirim A, Turhan H, Yanmaz V, Bakan E. EDTA'lı Tam Kan örneklerinden Otomatik DNA İzolasyonu: Manuel DNA İzolasyonu ile Karşılaştırma. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 2008, 10: 32-38.

139. AÇIKGÖZ N, HANCI İH, ÇAKIR AH. Olay yerinden DNA analizi için biyolojik örnek toplama ve örneklerin laboratuara gönderilme usulleri. 2002.
140. Hofman LF. Human saliva as a diagnostic specimen. *The Journal of nutrition*, 2001, 131: 1621S-1625S.
141. Martin FE, Nadkarni MA, Jacques NA, Hunter N. Quantitative microbiological study of human carious dentine by culture and real-time PCR: association of anaerobes with histopathological changes in chronic pulpitis. *Journal of clinical microbiology*, 2002, 40: 1698-1704.
142. Wolk. Klinik ve Laboratuar Standartları Enstitüsü. 2003, Cockerill, 2004.
143. Cockerill III FR. Application of rapid-cycle real-time polymerase chain reaction for diagnostic testing in the clinical microbiology laboratory. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 2003, 127: 1112-1120.
144. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome research*, 1996, 6: 986-994.
145. Kubista M, Andrade JM, Bengtsson M, Forootan A, Jonák J, Lind K, Sindelka R, Sjöback R, Sjögreen B, Strömbom L. The real-time polymerase chain reaction. *Molecular aspects of medicine*, 2006, 27: 95-125.
146. Morris T, Robertson B, Gallagher M. Rapid reverse transcription-PCR detection of hepatitis C virus RNA in serum by using the TaqMan fluorogenic detection system. *Journal of clinical microbiology*, 1996, 34: 2933-2936.
147. Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century–the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community dentistry and oral epidemiology*, 2003, 31: 3-24.
148. Seppa L, Karkkainen S, Hausen H. Caries trends 1992-1998 in two low-fluoride Finnish towns formerly with and without fluoridation. *FLUORIDE*, 2001, 34: 76-76.
149. Gustafsson BE, Quensel C, Lanke LS, Lundqvist C, Grahnen H, Bonow B, Krasse B. The Vipeholm dental caries study. The effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. *Acta odontol. scand.*, 1954, 11: 232-364.
150. Rauth RJ, Potter KS, Ngan AY-W, Saad DM, Mehr R, Luong VQ, Schuetter VL, Miklus VG, Chang P, Paine ML. Dental enamel: genes define biomechanics. *Journal of the California Dental Association*, 2009, 37: 863.

151. MacDougall M, DuPont BR, Simmons D, Reus B, Krebsbach P, Kärrman C, Holmgren G, Leach RJ, Forsman K. Ameloblastin gene (AMBN) maps within the critical region for autosomal dominant amelogenesis imperfecta at chromosome 4q21. *Genomics*, 1997, 41: 115-118.
152. Fukumoto S, Kiba T, Hall B, Iehara N, Nakamura T, Longenecker G, Krebsbach PH, Nanci A, Kulkarni AB, Yamada Y. Ameloblastin is a cell adhesion molecule required for maintaining the differentiation state of ameloblasts. *The Journal of cell biology*, 2004, 167: 973-983.
153. Rajpar MH, Harley K, Laing C, Davies RM, Dixon MJ. Mutation of the gene encoding the enamel-specific protein, enamelin, causes autosomal-dominant amelogenesis imperfecta. *Human molecular genetics*, 2001, 10: 1673-1677.
154. Lu Y, Papagerakis P, Yamakoshi Y, Hu JC-C, Bartlett JD, Simmer JP. Functions of KLK4 and MMP-20 in dental enamel formation. *Biological chemistry*, 2008, 389: 695-700.
155. Kukleva M. Prevention of dental caries on the first permanent molars with fluoride gel in the first year after eruption. *Folia medica*, 1998, 40: 60-64.
156. Yıldız G. Amelx, CA6, DEFB1 ve TAS2R38 gen polimorfizminin ve gen-çevre etkileşiminin erişkinlerdeki çürük etiyolojisi ve risk değerlendirmesi üzerindeki etkilerinin araştırılması Restoratif Diş Tedavisi Anabilimdalı. Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, 2014.
157. Flint DJ, Paunovich E, Moore WS, Wofford DT, Hermesch CB. A diagnostic comparison of panoramic and intraoral radiographs. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 1998, 85: 731-735.
158. Bozdemir E, Yarbaşı Ö. Tanıda sadece panoramik radyografi ne kadar güvenli? *Selcuk Dental Journal*, 6: 100-103.
159. Fontana M, Gonzalez-Cabezas C. Minimal intervention dentistry: part 2. Caries risk assessment in adults. *British dental journal*, 2012, 213: 447-451.
160. Yildiz G, Ermis R, Calapoglu N, Celik E, Türel G. Gene-environment interactions in the etiology of dental caries. *Journal of dental research*, 2016, 95: 74-79.
161. Kamberi B, Koçani F, Begzati A, Kelmendi J, Ilijazi D, Berisha N, Kqiku L. Prevalence of dental caries in Kosovar adult population. *International journal of dentistry*, 2016, 2016.
162. Arrow P. Oral hygiene in the control of occlusal caries. *Community dentistry and oral epidemiology*, 1998, 26: 324-330.

163. Dirican R BN. Halk sağlığı-(Toplum Hekimliği). *2. baskı Uludağ Üniversitesi Basımevi,Bursa, Türkiye*.
164. Mumcu G, Sur H, Yildirim C, Soylemez D, Atli H, Hayran O. Utilisation of dental services in Turkey: a cross-sectional survey. *International dental journal*, 2004, 54: 90-96.
165. Karabekiroğlu S, Öncü E, Kaplanoğlu K, Ünlü N. Okul çağındaki çocuklarda diş hekimi ziyaret sıklığının çürük deneyimi ve ağız sağlığı faktörleri üzerine etkisi. *Selcuk Dental Journal*, 2015, 2: 58-64.
166. Angulo M, Zinemanas E, Pivel L, Jorysz E, Casamayou R, Krasse B. Caries incidence, effect of preventive measures, and caries prediction in Uruguayan children. *Acta Odontologica Scandinavica*, 1995, 53: 1-6.
167. Koçak N. Mersin Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesine başvuran hastaların çürük deneyimleri ile şekerli besinlerin tüketimi ve oral hijyen alışkanlıkları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 12: 160-169.
168. Drachev SN, Brenn T, Trovik TA. Dental caries experience and determinants in young adults of the Northern State Medical University, Arkhangelsk, North-West Russia: a cross-sectional study. *BMC oral health*, 2017, 17: 136.
169. Kıvrak TÇ TA. Diş Hekimliği Fakültesi Öğrencilerinde Beslenme Alışkanlığı, Ağız Diş Sağlığı Tutum ve Davranışları ve DMFT İndeksinin Değerlendirilmesi. *AÜ Diş Hek Fak Derg*, 2017;, 44(1): 1-7.
170. TF L. Roberson TM. Cariology: The lesion, etiology, prevention and control. *Roberson TM, Heymann HO, Sterdevant JR. The Art and Science of Operative Dentistry. 3rd ed. St. Louis: Mosby Co*, 1995: 62-63.
171. Haugejorden O, Lervik T, Birkeland JM, Jorkjend L. An 11-year follow-up study of dental caries after discontinuation of school-based fluoride programs. *Acta Odontologica Scandinavica*, 1990, 48: 257-263.
172. Moynihan PJ. Dietary advice in dental practice. *British dental journal*, 2002, 193: 563-568.
173. Harris R, Nicoll AD, Adair PM, Pine CM. Risk factors for dental caries in young children: a systematic review of the literature. *Community dental health*, 2004, 21: 71-85.
174. Koser C, Nalcaci A. Çürük prevalansındaki yaklaşımlar ve karyogram konsepti. *Cumhuriyet Dental Journal*, 2011, 14: 230-245.

175. Ravald N, Birkhed D, Hamp SE. Root caries susceptibility in periodontally treated patients: results after 12 years. *Journal of clinical periodontology*, 1993, 20: 124-129.
176. Köhler B, Andréen I. Mutans streptococci and caries prevalence in children after early maternal caries prevention: a follow-up at 19 years of age. *Caries research*, 2012, 46: 474-480.
177. Llop MR, Jimeno FG, Acien RM, Dalmau LB. Effects of xylitol chewing gum on salivary flow rate, pH, buffering capacity and presence of Streptococcus mutans in saliva. *European journal of paediatric dentistry*, 2010, 11: 9-14.
178. Aps J, Van Maele G, Claeys G, Martens L. Mutans streptococci, lactobacilli and caries experience in cystic fibrosis homozygotes, heterozygotes and healthy controls. *Caries research*, 2001, 35: 407-411.
179. Alves PV, Alviano WS, Bolognese AM, Nojima LI. Treatment protocol to control Streptococcus mutans level in an orthodontic patient with high caries risk. *American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics*, 2008, 133: 91-94.
180. Gudkina J, Brinkmane A. Caries experience in relation to oral hygiene, salivary cariogenic microflora, buffer capacity and secretion rate in 6-year olds and 12 year olds in Riga. *Stomatologija*, 2008, 10: 76-80.
181. Al Shukairy H, Alamoudi N, Farsi N, Al Mushayt A, Masoud I. A comparative study of Streptococcus mutans and lactobacilli in mothers and children with severe early childhood caries (SECC) versus a caries free group of children and their corresponding mothers. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 2007, 31: 80-85.
182. Filoche S, Anderson S, Sissons C. Biofilm growth of Lactobacillus species is promoted by Actinomyces species and Streptococcus mutans. *Oral microbiology and immunology*, 2004, 19: 322-326.
183. Hegde P, Kumar BA, Ankola V. Dental caries experience and salivary levels of Streptococcus mutans and Lactobacilli in 13-15 years old children of Belgaum city, Karnataka. *Journal of Indian Society of Pedodontics and preventive dentistry*, 2005, 23: 23.
184. Behram Ö, Lofça G, Güray Efes B. Diş hastalıkları ve tedavisi anabilim dalı ilk muayene kliniğine başvuran hastalarda DMFT indeksi ile tükürük özellikleri arasındaki ilişki. *İst Üni Diş Hek Fak Derg*, 2011, 45: 29-36.

185. Heintze U. Secretion rate, buffer effect and number of lactobacilli and Streptococcus mutans of whole saliva of cigarette smokers and non-smokers. *European Journal of Oral Sciences*, 1984, 92: 294-301.
186. Karaoğlanoğlu S, Aydin N, Oktay EA, Duymuş ZY, Şahin A, Topçu FT. Diş Fırçalama ve Sigara İçme Alışkanlığının DMFT Oranına Etkisinin. *Turkiye Klinikleri. Dishekimligi Bilimleri Dergisi*, 2018, 24: 84-92.
187. Percival R, Challacombe S, Marsh P. Flow rates of resting whole and stimulated parotid saliva in relation to age and gender. *Journal of dental research*, 1994, 73: 1416-1420.
188. Kanaya T, Kaneko N, Amaike C, Fukushima M, Morita S, Miyazaki H, Saito I. A study on changes in caries risk and microbial flora with the placement of edgewise appliance. *orthodontic waves*, 2007, 66: 27-32.
189. Dodds MW, Johnson DA, Yeh C-K. Health benefits of saliva: a review. *Journal of dentistry*, 2005, 33: 223-233.
190. Ashley F, Coward P, Jalil R, Wilson R. Relationship between calcium and inorganic phosphorus concentrations of both resting and stimulated saliva and dental plaque in children and young adults. *Archives of oral biology*, 1991, 36: 431-434.
191. Shetty C, Hegde MN, Devadiga D. Correlation between dental caries with salivary flow, ph, and buffering capacity in adult south indian population: an in-vivo study. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 2013, 4.
192. Farsi N. Dental caries in relation to salivary factors in Saudi population groups. *J Contemp Dent Pract*, 2008, 9: 16-23.
193. Scheinin A, Pienihäkkinen K, Tiekso J, Holmberg S. Multifactorial modeling for root caries prediction. *Community dentistry and oral epidemiology*, 1992, 20: 35-37.
194. Daryani H, Nagarajappa R, Sharda AJ, Asawa K, Tak M, Sanadhya S, Batra M. Cariogram model in assessment of dental caries among mentally challenged and visually impaired individuals of Udaipur, India. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: Jcdr*, 2014, 8: 206.
195. Faine MP, Allender D, Baab D, Persson R, Lamont RJ. Dietary and salivary factors associated with root caries. *Special Care in Dentistry*, 1992, 12: 177-182.
196. Hu JC-C, Chun Y-HP, Al Hazzazzi T, Simmer JP. Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs*, 2007, 186: 78-85.

197. Yoshizaki K, de Vega S, Yamada Y. Gene evolution and functions of extracellular matrix proteins in teeth. *orthodontic waves*, 2013, 72: 1-10.
198. Gerreth K, Zaorska K, Zabel M, Nowicki M, Borysewicz-Lewicka M. Significance of genetic variations in developmental enamel defects of primary dentition in Polish children. *Clinical oral investigations*, 2018, 22: 321-329.
199. Pavlič A, Petelin M, Battelino T. Phenotype and enamel ultrastructure characteristics in patients with ENAM gene mutations g. 13185–13186insAG and 8344delG. *Archives of oral biology*, 2007, 52: 209-217.
200. Shimizu T, Ho B, Deeley K, Briseno-Ruiz J, Faraco Jr IM, Schupack BI, Brancher JA, Pecharki GD, Küchler EC, Tannure PN. Enamel formation genes influence enamel microhardness before and after cariogenic challenge. *PloS one*, 2012, 7: e45022.
201. Abbasoğlu Z, Tanboğa İ, Küchler EC, Deeley K, Weber M, Kaspar C, Korachi M, Vieira AR. Early childhood caries is associated with genetic variants in enamel formation and immune response genes. *Caries research*, 2015, 49: 70-77.
202. Stamm J, Stewart P, Bohannan H, Disney J, Graves R, Abernathy J. Risk assessment for oral diseases. *Advances in dental research*, 1991, 5: 4-17.
203. Tinanoff N. Critique of evolving methods for caries risk assessment. *Journal of dental education*, 1995, 59: 980.
204. Gasse B, Grabar S, Lafont A, Quinquis L, Opsahl Vital S, Davit-Béal T, Moulis E, Chabadel O, Hennequin M, Courson F. Common SNPs of AmelogeninX (AMELX) and dental caries susceptibility. *Journal of dental research*, 2013, 92: 418-424.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Büşra ÖZDEMİR
Doğum Tarihi:	06.07.1991
Doğum Yeri:	ERZURUM
Medeni Hali:	Evli
Uyruğu:	T.C.
Adres:	Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM
Tel:	+90 442 231 (3882)
Faks:	+90 442 236 1375
E-mail:	busrakbdy91@gmailmail.com
Eğitim	
Lise:	Özel Yıldırım Bayezit Lisesi (2009)
Lisans:	19 Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (2009-2014)
Uzmanlık:	Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Hekimliği Anabilim Dalı (2017-)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	Orta derecede (YÖKDİL, 51,25, 2020)
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Restoratif Diş Hekimliği Derneği	
İlgi Alanları ve Hobiler	
kitap, sinema, müzik, voleybol	

EK-2. BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU

	ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU **BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU**	

LÜTFEN BU DÖKÜMANI DİKKATLİCE OKUMAK İÇİN ZAMAN AYIRINIZ

Sizi Doç.Dr.Nurcan Özakar İlday tarafından yürütülen " Çürük Oluşumu Üzerine Genetik ve Çevresel Faktörlerin Etkisini İncelemek" amacı olan **araştırmaya** davet ediyoruz. Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle bu formun okunup anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Eğer anlayamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa, ya da daha fazla bilgi isterseniz bize sorunuz.

Bu çalışmaya katılmak tamamen **gönüllülük** esasına dayanmaktadır. Çalışmaya **katılmama** veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmadan **çıkma** hakkında sahipsiniz. **Çalışmayı yanıtlamanız, araştırmaya katılım için onam verdiğiniz** biçiminde yorumlanacaktır. Size verilen **formlardaki** soruları yanıtlarken kimsenin baskısı veya telkini altında olmayın. Bu formlardan elde edilecek bilgiler tamamen araştırma amacı ile kullanılacaktır.

1. **Araştırmayla İlgili Bilgiler: (Hastanın anlayabileceği bir dilde olmalıdır)**
   a. Araştırmanın Amacı: Çürük oluşumu üzerine genetik ve çevresel faktörlerin etkisini incelemek
   b. Araştırmanın İçeriği: Öncelikle içerisinde fırçalama sıklığı ve süresi, diş ipi ve arayüz fırçası kullanımı, beslenme alışkanlıkları ve sigara kullanımı gibi soruları içeren anket yanıtlatılacaktır. Muayene edilerek ağızdaki plak miktarı belirlenecektir. Ardından sakız çiğneterek bir dakika oluşan tükürük miktarını bir kapta biriktirmeniz istenecek son olarak yeniden tükürük örneği ve yanaktan kulak çöpü benzeri bir aletle ileri geri hareketlerle DNA örneği alınarak sonlanacaktır.
   c. Araştırmanın Nedeni: □ Bilimsel araştırma x Tez çalışması
   d. Araştırmanın Öngörülen Süresi: Bir yıl
   e. Araştırmanın Yapılacağı Yer(ler)Atatürk ünv Diş Hekimliği Fakültesi

2. **Çalışmaya Katılım Onayı:**

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce katılımcıya/gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve katılmam istenen çalışmanın kapsamını ve amacını, gönüllü olarak üzerime düşen sorumlulukları tamamen anladım. **Çalışma hakkında yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı, soru sorma ve tartışma imkanı buldum ve tatmin edici yanıtlar aldım. Bana, çalışmanın muhtemel riskleri ve faydaları sözlü olarak da anlatıldı.** Bu çalışmayı istediğim zaman ve

herhangi bir neden belirtmek zorunda kalmadan bırakabileceğimi ve bıraktığım takdirde herhangi bir olumsuzluk ile karşılaşmayacağımı anladım.

Bu koşullarda söz konusu araştırmaya kendi isteğimle, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Katılımcının (Kendi el yazısı ile)
Adı-Soyadı:.....
İmzası:

(Varsa) Velayet veya Vesayet Altında Bulunanlar İçin;
Veli veya Vasisinin (kendi el yazısı ile)
Adı-Soyadı:.....
İmzası:

Gerekiyorsa Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı
Adı-Soyadı:.....
İmzası:

Araştırmacının
Adı-Soyadı: Büşra Özdemir
İmzası:

Not: *Bu form, iki nüsha halinde düzenlenir. Bu nüshalardan biri imza karşılığında gönüllü kişiye verilir, diğeri araştırmacı tarafından saklanır.*

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Bölümü : Dekanlık
Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/138
Konu : Etik Kurul Kararı

13.03.2019

Sayın:Arş.Gör.Dt.Büşra ÖZDEMİR
Diş Hekimliği Fakültesi
Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz **"Mine Oluşumunda Görev Alan AMELX, ENAM ve AMBN Gen Polimorfizmlerinin ve Çevresel Risk Faktörlerinin Çürük Etyolojisi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi"** isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için **Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan** izin alınması gerekmektedir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		**Arş.Gör.Dt.Büşra ÖZDEMİR**
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		**Mine Oluşumunda Görev Alan AMELX, ENAM ve AMBN Gen Polimorfizmlerinin ve Çevresel Risk Faktörlerinin Çürük Etyolojisi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi**
KARAR BİLGİLERİ	**Toplantı Sayısı: 02 Karar No: 08**	**Tarih:** 13.03.2019
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin **kendisi tarafından** karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. **Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.** Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Prof.Dr.M.Hamidullah UYANIK
Üye

Prof.Dr.Zekai HALICI
Üye

Prof.Dr.Mustafa GÜL
Üye

Doç.Dr.Atilla ÇAYIR
Üye

Doç.Dr.Zeynep KARAMAN ÖZLÜ
Üye

Doç.Dr.Ayşenur AKSOY
Üye

Dr.Öğr.Üy.İbrahim KARABULUT
Üye

Dr.Öğr.Üy.Sinan YILMAZ
Üye

Dr.Öğr.Üy.Murat KAYABEKİR
Üye

Emrah MELETLİOĞLU
Üye

EK-4. PROJE ÖZET RAPORU

T.C.ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ

Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi

PROJE ÖZET RAPORU

Proje Yürütücüsü	Doç.Dr. Nurcan ÖZAKAR İLDAY		
Proje Kodu	TDH-2019-7313		
Proje Başlığı	Mine oluşumunda görev alan AMELX, ENAM ve AMBN gen polimorfizmlerinin ve çevresel risk faktörlerinin çürük etyolojisi üzerine etkisinin değerlendirilmesi		
Proje Türü	Tez Projesi, Diş Hekimliğinde Uzmanlık		
Proje Grubu	Tıp Sağlık		
Süresi (Ay)	24		
Proje Durumu	Yürüyen Proje		
Başvuru Tarihi	7.5.2019	Muhtemel Bitiş Tarihi	14.11.2021
Başlangıç Tarihi	14.11.2019	Bitiş Tarihi	
Ek Süre 1 (Ay)		Ek Süre 2 (Ay)	
Onaylanan Bütçesi	54.896,30 ₺		
Ek Ödenek 1	0,00 ₺		
Ek Ödenek 2	0,00 ₺		
Ek Ödenek 3	0,00 ₺		
Toplam Bütçe	54.896,30 ₺	Gerçekleşen Harcama	44.913,60 ₺

Proje Özeti

Diş çürüğü yaygın görülen kronik ve multifaktöriyel bir hastalıktır. Çeşitli çevresel faktörlerin yanısıra genetik faktörlerin de çürük etyolojisi üzerinde rol oynadığı insan genom projesinin tanımlanmasının ardından daha net ortaya konmuştur. Ancak toplumumuzda çevresel ve genetik etkilerin beraber değerlendirildiği çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu çalışmanın amacı AMELX, ENAM ve AMBN gen polimorfizmleri ile diş fırçalama sıklığı, beslenme alışkanlıkları vs. gibi çevresel faktörlerin çürük etyolojisi üzerine etkisini değerlendirmektir. Çalışma kriterlerine uygun 20-65 yaş arası 140 yetişkin hasta DMFT indekslerine göre yüksek ve düşük çürük risk grubuna dahil edilmek üzere iki gruba ayrılacaktır. Çevresel faktörler için bir anket doldurulduktan sonra tükürük tamponlama, ph, tükürük akış hızı, S.mutans ve laktobasil sayısı hasta başı kit kullanılarak değerlendirilecektir. Hastalardan DNA izloasyonu için yanak içi sürüntü örneği alınacaktır. Gerçek zamanlı PZR testi ile birçok çalışmada çürük etyolojisinde en çok etkili olduğu tespit edilmiş olan 3 genin polimorfizmleri; AMELX için rs17878486, ENAM için rs12640848 ve AMBN için rs17733915 değerlendirilecektir. Elde edilen verilerle bu genlerin ve çevresel faktörlerin çürük oluşumundaki etkisi incelenecektir. İstatistiksel sonuçların anlamlılık değeri p<0.05 olacaktır.

Proje Ekibi

Arş.Gör. Büşra ÖZDEMİR, Doç.Dr. Hasan DOĞAN

Araştırma Alanları

Konservatif Diş Tedavisi

Anahtar Kelimeler

Polimorfizm, gen, AMELX, AMBN, ENAM, diş çürüğü,

Rapor Takvimi (Projenin onaylanan rapor planı)

Sıra	Başlık	Beklenen Tarih	Ekleme Tarihi	Onay Tarihi
1	Ara Rapor	14.05.2020	22.05.2020	18.06.2020
2	Ara Rapor	16.11.2020		
3	Ara Rapor	14.05.2021		
4	Sonuç Raporu	15.11.2021		

Proje Bütçesi

Bütçe Türü	Tanımı / Adı	Miktar	K.Miktar	Birimi	Birim Fiyatı	KDV	Tutar (KDV'li)	Durumu
Tüketim Malzemesi (Genel)	KariesScreen Test + P (çürük aktivite testleri) (10 testlik kutu)	15	0	Adet	1.658,00 ₺	8	26.859,60 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	EZ1 Dna Tissue Kit (Otomatik Dna'dan doku izolasyon kiti) (48 testlik Ambalaj)	3	3	Adet	2.380,00 ₺	8	7.711,20 ₺	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	Salıvagen Bukkal Swab (Bukkal doku örneği alma kiti) (50'lik paket)	4	4	Adet	200,00 ₺	18	944,00 ₺	Onaylanan
Hizmet Alımı	SNP analizi AMELX rs17878486,	1	0	Adet	5.475,00 ₺	18	6.460,50 ₺	Onaylanan
Hizmet Alımı	SNP analizi ENAM rs12640848	1	0	Adet	5.475,00 ₺	18	6.460,50 ₺	Onaylanan
Hizmet Alımı	SNP analizi AMBN rs17733915	1	0	Adet	5.475,00 ₺	18	6.460,50 ₺	Onaylanan

Bütçe Özeti

Bütçe Türü	Tutar	Yüzde (%)
Tüketim Malzemesi (Genel)	35.514,80 ₺	64,69
Hizmet Alımı	19.381,50 ₺	35,30

Kullanılabilir Bütçe Özeti

	Toplam	Harcama	Avans	Sipariş	Kalan
Seyahat	0,00 ₺	0,00 ₺	0,00 ₺		0,00 ₺
Mal,Malzeme,Hizmet	54.896,30 ₺	44.913,60 ₺	0,00 ₺	0,00 ₺	9.982,70 ₺

EK-5. ANKET

Ad- Soyad: **Telefon:**

Yaş: **Bay…. Bayan…..**

1)Herhangi bir kronik/sistemik rahatsızlığınız var mı?

A) EVET B) HAYIR

2)Düzenli kullandığınız ilaç veya ilaçlar var mı?

A) EVET B) HAYIR

3)Herhangi bir nedenle kemoterapi/radyoterapi gördünüz mü?

A) EVET B) HAYIR

4)Teşhis edilmiş bir ağız kuruluğu şikayetiniz var mı?

A) EVET B) HAYIR

5)Düzenli diş hekimi kontrolüne gider misiniz?

A) HAYIR

B) EVET Altı ayda bir Yılda bir Şikayetim oldukça

6)Dişlerinizi günde kaç kere fırçalarsınız?

A) Fırçalamıyorum B) Günde 1 defa C) Günde 2 defa D) Günde 3 defa

7)Dişlerinizi fırçalamanız kaç dakika sürer?

A) 1dk dan az B) 1dk dan fazla C) 1-3 Dk Arası D) 3dk

8) Diş ipi yada arayüz fırçası kullanır mısınız?

A) EVET B) HAYIR

9)Florürlü diş macunu kullanır mısınız?

A) EVET B) HAYIR

10)Florür tablet kullanır mınız?

A) EVET B) HAYIR

11)Florürlü Gargara kullanır mısınız?

A) EVET B) HAYIR

12) Daha önce muayenehanede hekim tarafından florür uygulaması yaptırdınız mı ?

A) EVET B) HAYIR

13)Günde kaç öğün yemek yersiniz?

A) HİÇ B) 1öğün C) 2 öğün D) 3 öğün

14)Günde kaç kere ara öğün yaparsınız?

A) HİÇ B) 1-2 kez C) 3-4 kez D) 4 den fazla

15)Günde kaç öğün şekerli yiyecek/içecek kullanırsınız?

A) HİÇ B) 1-2 öğün C) 3-4 öğün D) 4 den fazla

16)Sigara kullanıyor musunuz?

A) EVET B) HAYIR