



**T.C.**  
**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENTAL MATERYAL İÇEREN BİREYLERDE  
ERCC6 VE GSTM3 GENLERİNİN  
POLİMORFİZMLERİNİN BELİRLENMESİ**

**BUĞRA ÖZKUBAT**

**YÜKSEK LİSANS**

**BİYOLOJİ**  
**Anabilim Dalını**

**Nisan-2013**  
**KONYA**  
**Her Hakkı Saklıdır**

**ÖZET****YÜKSEK LİSANS TEZİ****DENTAL MATERYAL İÇEREN BİREYLERDE *ERCC6* VE *GSTM3* GENLERİNİN POLİMORFİZMLERİNİN BELİRLENMESİ****Buğra ÖZKUBAT****Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı****Danışman: Doç. Dr. Emine ARSLAN  
Yrd. Danışman: Doç. Dr. Ayçe ÜNVERDİ ELDENİZ****2013, 56 Sayfa****Jüri****Danışman: Doç. Dr. Emine ARSLAN  
Doç. Dr. Haluk ÖZPARLAK  
Yrd. Doç. Hilal ARIKOĞLU**

Bu çalışmada Konya bölgesinden dental materyalli bireylerden ve dental materyal içermeyen kontrol grubu bireylerinden alınan ağız sıvısı örnekleri incelenmiş olup *ERCC6* ve *GSTM3* gen bölgelerine, diş tedavisinde kullanılan dental materyallerin etkisi ile oluşabilecek polimorfizmler araştırılmıştır. Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti ve Tedavi Bölümü'nden ağızda dental materyal tespit edilmiş olan 54 birey ve dental materyal bulunmayıp kontrol grubunu oluşturan 56 birey çalışmaya alınmıştır. *ERCC6* ve *GSTM3* gen polimorfizmleri PZR-RFLP ve PZR-agaroz jel elektroforez yöntemleri ile analiz edilmiştir.

*ERCC6* geni pozisyon 399'da gözlenen G/G, G/A ve A/A genotipleri dental materyalli bireylerde sırasıyla %63, %35, %2, kontrol grubunda ise sırasıyla %84, %16, %0 oranlarında bulunmuştur. *GSTM3* geni 3 bç delesyonu sonucu görülen A/A, A/B, B/B genotipleri dental materyalli bireylerde sırasıyla %56, %44, %0, kontrol grubunda ise sırasıyla %33, %67, %0 oranlarında bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Dental materyal, *ERCC6*, *GSTM3*, Polimorfizm

**ABSTRACT****MS THESIS****DETERMINATION OF *ERCC6* AND *GSTM3* GENES POLYMORPHISM IN INDIVIDUALS INCLUDING DENTAL MATERIALS****Buğra ÖZKUBAT****THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF  
SELÇUK UNIVERSITY  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
IN BIOLOGY****Advisor: Assoc. Prof. Dr. Emine ARSLAN  
Assoc. Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ayçe ÜNVERDİ ELDENİZ****2013, 56 Sayfa****Jury****Advisor: Assoc. Prof. Dr. Emine ARSLAN  
Assoc. Prof. Dr. Haluk ÖZPARLAK  
Asst.Prof.Dr. Hilal ARIKOĞLU**

In this study, saliva samples obtained from the individuals, living in and around Konya who has dental restorations and the control group who doesn't have any dental materials were studied for polymorphisms in *ERCC6* and *GSTM3* gene regions. 54 people who have dental materials and 56 people who belong to control group were selected from patients of Selcuk University, Faculty of Dentistry, Department of Endodontic and Restorative's Clinics. *ERCC6* and *GSTM3* gene polymorphisms were analyzed with PCR-RFLP and PCR agarose gel electrophoresis methods.

*G/G*, *A/G* and *A/A* genotypes were observed in *ERCC6* gene position 399 in the individuals who have got dental materials [63%, 35%, 2% and in the control group 84%, 16%, 0%]. *A/A*, *A/B* and *B/B* genotypes were observed in 3 bp deletion in *GSTM3* in the individuals who have got dental materials [56%, 44%, 0% and in the control group 33%, 67%, 0% respectively].

**Keywords:** Dental material, *ERCC6*, *GSTM3*, Polymorphism

## ÖNSÖZ

Çalışmalarım süresince benden ilgisini ve tecrübesini esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Emine ARSLAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca numune temin etmemizi sağlayan, bilgisini bizlere sunan ikinci danışman hocam Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekan yardımcısı Doç. Dr. Ayçe ÜNVERDİ ELDENİZ'e, tez şekillerinin düzenlenmesine yardım eden sayın hocam Doç. Dr. Atilla ARSLAN'a, tecrübeleri ile sorunları çözmeme yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Hilal ARIKOĞLU'na, istatistiksel değerlendirmede bilgisinden yararlandığımız sayın hocam Doç. Dr. Haluk ÖZPARLAK'a şükranlarımı sunarım. Başta Ziraat Fakültesi Arş. Gör. Servet ARAS olmak üzere bana yardım ve destekte bulunan tüm çalışma arkadaşlarıma, tüm Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti ve Tedavi Polikliniği çalışanlarıma, bugüne kadar benden maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen değerli ailem, babam Yurdal ve annem Memduha ÖZKUBAT'a, benim zor günlerimde neşe kaynağım olan kardeşim Tuğçe ÖZKUBAT'a, yurt dışı deneyimlerimde benden tecrübesini ve yardımını esirgemeyen sevgili dayım Selim SOYLU'ya, bana çok fazla emeği geçen ve dualarımı eksik etmeyen aile büyüklerim Burhan ve Nazike SOYLU'ya teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca çalışmamı 11201007 nolu proje ile destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (BAP) teşekkürlerimi sunarım.

BUĞRA ÖZKUBAT

KONYA-2013

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>2</b>
<b>ÖNSÖZ .....</b>	<b>3</b>
<b>İÇİNDEKİLER .....</b>	<b>4</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR .....</b>	<b>6</b>
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>7</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....</b>	<b>10</b>
2.1. Dental Materyaller .....	12
2.2. Gen Polimorfizmi .....	14
2.2.1. DNA tamir mekanizmasından sorumlu genlerdeki polimorfizmler .....	14
2.2.2. Detoksifikasyondan sorumlu genlerin polimorfizmleri .....	15
2.3. <i>ERCC6</i> (Excision repair cross- complementing group 6; Eksizyon onarımı çapraz tamamlayıcı grubu 6).....	16
2.4. <i>GSTM3</i> (Glutathion S-Transferase Mu group 3; Glutatyon S-Transferaz Mu grup 3) .....	18
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>20</b>
3.1. Materyal .....	20
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. DNA izolasyonu .....	20
3.2.2. <i>ERCC6</i> gen bölgesinin analizi .....	21
3.2.2.1. Primer özellikleri .....	21
3.2.2.2. PZR karışımının hazırlanması ve programlanması.....	21
3.2.2.3. RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polimorfizm) analizi .....	22
3.2.2.4. Agaroz Jel elektroforezi ve görüntüleme .....	22
3.2.3. <i>GSTM3</i> gen bölgesinin analizi .....	22
3.2.3.1. Primer özellikleri .....	22
3.2.3.2. PZR karışımının hazırlanması ve programlanması.....	23
3.2.3.3. RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polimorfizm) analizi .....	23
3.2.3.4. Agaroz Jel elektroforezi ve görüntüleme .....	24
3.2.4. İstatiksel analiz .....	24
<b>4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....</b>	<b>25</b>
4.1. Genotipleme Analizleri .....	25
4.1.1. <i>ERCC6</i> gen bölgesi PZR sonuçları .....	25
4.1.2. <i>ERCC6</i> gen bölgesi için RFLP sonuçları.....	27
4.1.3. <i>GSTM3</i> gen bölgesi PZR sonuçları.....	29
4.1.4. <i>GSTM3</i> gen bölgesi için RFLP sonuçları .....	30

4.2. İstatistiksel Sonuçlar .....	32
4.2.1. Çalışmaya katılan bireylerin diş restorasyon özellikleri.....	32
4.2.2. Genotip frekans analizleri .....	32
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>37</b>
5.1. Sonuçlar .....	37
5.2. Öneriler .....	38
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>39</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>53</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bis-GMA	:Bis-glisidilmetakrilat
bç	:Baz çifti
BrdU	:Bromodeoksiüridin
DNA	:Deoksiribo nükleik asit
DSB	:DNA çift sarmalının kırılması
EDTA	:Etilen diamin tetra asetat
EGDM	:Etilenglikoldimetakrilat
<i>ERCC6</i>	:Eksizyon onarımı çapraz tamamlayıcı grubu 6
GSH	:Glutasyon
GSTM3	:Glutasyon S transferaz Mu grup 3
HCl	:Hidroklorik asit
HR	:Homolog rekombinasyon
HWE	:Hardy-Weinberg Equilibrium
KCl	:Potasyum klorür
LDH	:Laktat dehidrogenaz
MgCl <sub>2</sub>	:Magnezyum klorür
MMA	:Metilmetakrilat
MRP2	:Aşırı ilaca dayanıklılığa ilişkin protein 2
NaCl	:Sodyum klorür
NHEJ	:Homolog olmayıp sondan eklenen
OR	:Odds oranı
PAHs	:Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
PZR	:Polimeraz zincir reaksiyonu
RFLP	:Restriksiyon fragment uzunluk (Length) polimorfizm
RNA	:Ribonükleik asit
SDS	:Sodyum dodesilsülfat
SNP	:Tek nükleotit polimorfizmi
TEGDMA	:Trietilenglikoldimetakrilat
UDMA	:Uretandimetakrilat
UV	:Ultraviyole
XMEs	:Ksenobiyotiği metabolize eden enzimler
V	:Volt

## 1. GİRİŞ

Dental materyaller insan vücudunda biyolojik doku için en çok kullanılan malzemelerdir. Sanayileşmiş ülkelerde nüfusun yarısı her yıl yeni bir dental restorasyona maruz kalır. Birçok insan bu tür materyallerle çocuk yaşta tanışır ve bu materyaller uzun yaşam periyodu süresince insan vücudunda kalır. Yaygın kullanımı ve uzun süre vücutta kalacağı düşünüldüğü zaman düşük toksisitedeki dental materyallerin kullanılması gerekmektedir. Yüzyıllarca dental restoratif materyali olarak kullanılan amalgamın toksisitesi de günümüzde yaygın bir şekilde tartışılmaya başlanmıştır. Sağlık için potansiyel bir tehlike olarak görülmüş ve çoğu İskandinav ülkesinde kullanımı azaltılmıştır (Mackert ve Berglund, 1997; Magos ve Clarkson, 2006; Tillberg ve ark., 2008). Genel olarak civa ve gümüş temelli bir alaşım olan amalgamın içinde %50 civa, %35 gümüş, %15 kalay, bakır ve çok az miktarlarda çinko bulunmaktadır. Ayrıca amalgam; kadmiyum, platin ve pallyum kalıntıları da içerebilir. İnsanların çoğunlukla civaya maruz kalmasının ana sebebinin amalgam olduğu kabul edilir ve bu metal vücut dokularında önemli ölçüde birikmektedir (WHO,1991; Pietro ve ark., 2008).

Estetik ve toksikolojik değerlendirmelerden dolayı diş renkli kompozit dolgu maddesi ile onarımlar artmıştır (Geurtsen ve Schoeler, 1997). Kalıcı dişlerde dental rezin kompozitler en önemli diş renkli dolgu maddeleridir. Resin kompozitler, inorganik parçacıkların gömülü olduğu bir organik resin matrisi içerir. Direk dolgu maddeleri yanında yapıştırıcı rezinler; simanlar, dental yapıştırıcılar, inlay, kron, ortodontik bant ve veneer kaplama materyalleri olarak da kullanılır (Reichl, 2002). Trietilenglikoldimetakrilat (TEGDMA), 2-hidroksietilenmetakrilat (HEMA), üretandimetakrilat (UDMA) ve bis-glisidilmetakrilat (Bis-GMA) hem resin hem de yapıştırıcı olup yaygın olarak kullanılan komponentlerdir. HEMA ve TEGDMA, rezine dayalı materyallerden salınan ana ko-monomerlerdir (Kaga ve ark., 2001). Bunlar sulu fazda salınarak (Gerzina ve Hume, 1994) ve ağız salyası tarafından seyreltilerek, dentinden pulpa boşluğuna geçer (Gerzina ve ark., 1991) ya kana karışır ya da diş etiyle birleşir veya ağız salyası ile yutulurlar. En sonunda idrar ile dışarı atılırlar (Reichl, 2001). Resin kompozitlerinin organizmada metabolize olduğu gösterilmiştir. Daha sonra toksik ve radikal ara maddelerin oluştuğu bulunmuştur. Bu yüzden mutajenik ve kanserojenik etkilerin mümkün olduğu tartışılmıştır (Reichl ve ark., 2006).

Amalgamın kullanımı gittikçe azalmaktadır. Çünkü amalgamdan civa salınabilmektedir. Civa/Amalgam'ın toksikolojisi detaylı bir şekilde Horstedt-Bindslev



(2004) tarafından tanımlanmıştır. Ayrıca çoğu diş tedavisinde kullanılan protezlerde ve dolgu maddelerinde polimer esaslı malzemeler bulunmaktadır (Davidson ve Gee, 2000). Ağız sıvısının etkisiyle salınan bu malzemeler organizmaya girebilmekte (Oshima ve ark., 1991; Schnuch ve ark., 1998) ve organizma üzerine ürtiker ve kontak dermatitis gibi alerjik reaksiyonlar (Hensten-Pettersen, 1998), sistemik toksisite, sitotoksisite, östrojenisite, mutajenite vb. gibi kötü etki yapabilmektedirler (Schmalz, 1998; Geurtsen, 2000). Bu dental materyallerden salınan metilmetakrilat (MMA), etilenglikoldimetakrilat (EGDMA) ve TEGDMA uzun süreden beri bilinen güçlü alerjik reaksiyonlara yol açan maddelerdir (Oshima ve ark., 1991; Schnuch ve ark., 1998).

İnsan ve hayvan organizmaları yabancı birçok kimyasal maddelere maruz kalmaktadırlar. Organizmanın normal metabolizması için gerekli olmayan bu "yabancı kimyasal maddeler yani ksenobiyotiklerin (kimyasal madde, toksikan ve ksenobiyotik eş anlamlı kullanılmaktadır) (Vural, 2005) genotoksik etkileri tümör başlangıcında önemli bir basamaktır. Ancak muhtemel tümör oluşumu, uzun yıllar sonra belirlenebilmiştir (Maier ve Sennewald, 1994). Amalgamdaki civa, ksenobiyotiği metabolize eden enzimleri (XMEs) inaktive eder. Bu inaktivasyon genetik polimorfizm riski olan bireylerde ksenobiyotiklere toleranssızlığı indükler (Zamm, 1991). Ayrıca oyuncaklardan ve diş çıkarma halkalarından ağıza alınan fitalatlar (yumuşak plastik üretiminde kullanılan sentetik kimyasal) ağız sıvısıyla birlikte salındıklarında genotoksik etki yapmaktadırlar (Kleinsasser ve ark., 2000).

Birçok ortak polimorfizm, ksenobiyotik biyotransformasyonunda, DNA onarımında, hormon metabolizmasında, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde ve geliştirilmesinde apoptoz ve hücre döngüsü kontrolünde ilgili olan genleri çok adımlı kanserojen süreci değiştirebilmektedir (Nebert ve Menon, 2001; Braakhuis ve ark., 2004). Biyotransformasyon süreçleri detoksifikasyon yolunu kapsamaktadır. Fakat bazen reaktif ara ürünler, kanser oluşumunu başlatıp hücrel ve genetik hasara yol açarak (Nair ve Bartsch, 2001) DNA ya da diğer makromoleküllere bağlanabilirler (Parkinson, 1996). XME'lerin genetik polimorfizmleri, kanser ile ilişkili olan kimyasal maddelerin metabolizmasında bireysel farklılıklarda katkıda bulunabilir (Hatagima, 2002). Tütüne özgü nitrozamin polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAHs), alkol ve diğer kanserojen maddeler Glutasyon S transferaz (GST) gibi faz II enzimlerinin düşük aktivitelerine neden olmaktadır (Nebert ve Menon, 2001). Biyolojik olasılık olmasına rağmen tartışmalı sonuçlar, polimorfik XME'ler ve kanserin tutarsız ilişkilerini göstermiştir (Brennan, 2002). DNA tamir gen değişiklikleri DNA tamir kapasitesinde bir

azalmaya sebep olduğu için DNA tamir gen polimorfizmleri oral kanser için risk faktörleri olabilmektedir (Chiu ve ark., 2008).

Son on yılda genetik değişikliklerin birikimi sonucu olarak oral kanser gelişiminin genetik temelini anlamada önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Ancak hangi genleri kapsadığı, hangilerinin önemli olduğu ya da tedavi yöntemi, prognoz, erken belirleme için risk faktörlerinin bilgilendirmesinde veya tahmininde kullanabileceği hakkında çok az şey bilinmektedir. Birkaç çalışma özellikle gelişmekte olan ülkelerde bu alanda gerçekleştirilmiştir. Ksenobiyotik metabolize eden enzimler pek çok kanserojenlerin detoksifikasyonunu kapsar ve kansere yatkınlığı değiştirmede önemli olabilmektedir (Braakhuis ve ark., 2004).

Oral kanser, gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunu haline gelmektedir. Dünya üzerindeki diğer kanser türleri arasında oral kanser yaygınlık açısından altıncı sırada yer almakta ve dünyanın birçok yerinde giderek artan bir problem haline dönüşmektedir (Warnakulasuriya, 2008; Marichalar-Mendia ve ark., 2010). Oral kanser; dudak kanseri, dil kanseri, tükürük bezi kanseri ve ağız bölgesinin diğer kısımlarında oluşabilecek kanserleri kapsamaktadır. Oral kanserin çeşidi ve yaygınlığı açısından ülkeler arasında farklılıklar vardır. Çeşitli ülkelerde ve bazı alt grup populasyonlarda oral kanserin eğilimi zamanla farklı etkiler gösterebilir. Birçok ülkede erkeklerin oral kansere yakalanma olasılığı kadınlardan daha yüksektir (Silverman, 1998; Robinson ve Marshman, 2008). Oral kanserin nedeni ise çok yönlü olmasına rağmen oluşan vakaların üçte ikisini tütün ve alkol kullanımı oluşturmaktadır (Walker ve ark., 2003; Hatagima ve ark., 2008).

Bu çalışmada dental materyallerin bir detoksifikasyon geni olan *GSTM3* ve bir tamir geni olan *ERCC6* üzerindeki polimorfizmlerle ilişkisi incelenmiştir. Dental materyallerin bu genlerdeki polimorfizmle ilişkisinin incelenmesi Türkiye’de ve diğer ülkelerde rastlanılmamıştır. Türk populasyonunda yapılan böyle bir çalışma ilk defa yapılması bakımından önem arz etmektedir.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Dental materyallerin biyolojik olarak değerlendirilme ihtiyacı günümüze kadar tam olarak sorgulanmamıştır. Birçok materyal özellikle de restoratif materyaller dentin, pulpa, periodontal ve periapikal dokular ve oral mukoza gibi canlı dokularla uzun süre sıklıkla da yıllarca temasta kalmaktadır. Bu nedenle yaygın klinik kullanıma geçilmeden önce bu materyallerin ve/veya komponentlerinin ağız dokuları üzerindeki potansiyel zararlı etkilerinin değerlendirilmesi şarttır (EEC, 1993; Schmalz., 1998; Bouillaguet, 2004; Uzun ve Bayındır, 2010).

Dental materyaller uzun yıllardır oral dokularda yaygın olarak kullanım alanı bulmaktadır. Yeni dental materyallerin biyolojik güvenilirliği ile birçok sorun geride kalmıştır. Yine de nikel, kobalt ve akrilik resin materyaller gibi birçok materyal alerji potansiyeli açısından oldukça risklidir (Baran ve Nalçacı, 2007).

Diş hekimliğinde konservatif ve protetik tedavide birçok metal ve alaşımlar kullanılır. Bunlar; civa (Hg), gümüş (Ag), altın (Au), kalay (Sn), bakır (Cu), çinko (Zn), demir (Fe), nikel (Ni), krom (Cr), kadmiyum (Cd), platin (Pt), kobalt (Co), molibden (Mo), tantal, titanyum (Ti) gibi metaller ve alaşımlarıdır. Yüksek altın içeren soy metal alaşımlarının biyolojik olarak en yüksek uyumluluk gösterdikleri bilinmektedir. Ancak özellikle temel metal alaşımlarının bileşiminde bulunan nikel (Ni), krom (Cr), kobalt (Co), bakır (Cu) ve günümüzde kullanımı bırakılan berilyum (Be) biyolojik yönden olumsuz özelliklere sahiptir (Bertolotti, 1980; Kimura ve ark., 1990; Baran ve Nalçacı, 2007). Ağız içinde kullanılan metal alaşımlarının alerjik ve toksik reaksiyonlara neden olduğu bilinmektedir. Ancak bu reaksiyonlara neden olabilmeleri için metal iyonlarının açığa çıkması gerekir. Metal iyonları da korozyon ile ilişkilidir (Avcı, 1990; Hiyasad ve Darmani, 2005; Baran ve Nalçacı, 2007).

Civanın toksikokinetiği ve toksikodinamiği metalin kimyasal formu tarafından büyük ölçüde etkilenir. İnsanlar; aşılarda, termostatlar, yoğun floresan ışıklar gibi çeşitli kaynaklardan civaya maruz kalmalarına rağmen elemental civaya (inorganik) ve metilcivaya (organik) maruz kalmanın ana kaynakları sırasıyla dental amalgamlardan ve balık tüketiminden gelmektedir (ATSDR, 1999; Clarkson ve Magos, 2006; Goodrich ve ark., 2011). Ancak her bir biyomarkör bireyler arasında çok varyasyon gösterir ve bu değerlendirme karmaşıktır. Civa biyomarkörlerindeki bireylerarası varyasyon kısmen genetik faktörlerle açıklanabilir. Örneğin civa Glutasyon S-transferazları içeren (*GSTs*; *GST theta 1*, *GSTT1*; *GST mu 1*, *GSTM1*; *GST pi 1*, *GSTP1*) ve dolaylı olarak glutasyon

sentezi ve yıkım yollarının enzimlerine (glutamat-sistein ligaz katalitik ve değiştirici, GCLC, GCLM; glutatyon sentetaz, GSS; glutatyon redüktaz, GSR;  $\gamma$ -glutamiltransferaz 1, GGT1) bağlı olan glutatyon süreci ile elimine edilir (Ballatori ve Clarkson, 1985; Rooney, 2007; Goodrich ve ark., 2011). Genetik polimorfizmler civanın dağıtımını, metabolizmasını ve eliminasyonunu kolaylaştıran glutatyon geninde yaygındır. Böyle polimorfizmler civa biyomarkör düzeylerini etkileyebilir (Custodio ve ark., 2004, 2005; Engström, 2008; Gundacker ve ark., 2007, 2009; Goodrich ve ark., 2011).

İnsanlar civayı yiyeceklerden, çevresel ve endüstriyel temaslardan ve amalgam restorasyonlardan almaktadırlar. Civanın genlerle etkileşimini değerlendirmek için genel populasyondan (amalgamı olan veya balık tüketen kişilerden) örnek alınabildiği gibi diş hekimlerinden de mesleki olarak civaya maruz kaldıklarından dolayı örnek alınabilir. Diş hekimlerinin hastalara dolgu yaparken civaya maruz kalmaları amalgam kullanan insanların maruz kalmasının ortalamasından daha fazladır (Eklund, 2010; Goodrich ve ark., 2011). Civa intoksikasyonu; diş eti kanaması, alveolar kemik kaybı, salivasyon, stomatit, dişeti, damak ve dilde ülserasyonlar, lökoplaki gibi durumlar gösterir (Baran ve Nalçacı, 2007).

Oral lökoplakiya özellikle sigara içen ve tütün çiğneyen bireylerde görülen yaygın bir kanser öncesi lezyon olup kronik beyaz mukozal makül olarak tanımlanmaktadır (WHO, 1978; Majumder ve ark., 2005). Oral mukoza zararının erken teşhisi olarak lökoplakiya gibi kanser öncesi lezyonlar gelişmektedir. Bu lezyonun erken teşhisi kolay olmakla beraber oral kanser riskinin göstergesi olarak düşünölmektedir (Majumder ve ark., 2005).

Lökoplakiyanın farklı tipleri artan şiddetine göre homojen, ülserli, nodüler ve verüköz olarak sınıflandırılmaktadır (Gupta ve ark., 1980; Sikdar ve ark., 2004). Lökoplakiya lezyonlarının yaklaşık %2-12'si bir kaç yıl içerisinde malignanta dönüşmektedir (Sankaranarayanan ve ark., 1990; Sikdar ve ark., 2004).

Moleküler epidemiyolojik çalışmalar bireylerin oral lökoplakiyaya ve kansere hem genetik hem de çevresel faktörlerle yatkınlık gösterdiğini desteklemektedir (Nair ve ark., 1999; Sikdar ve ark., 2004; Majumder ve ark., 2005). Kanserojenlerin aktivasyon/detoksifikasyonunun etkinliğindeki kalıtsal farklılıklar konukçunun eğiliminde önemli rol oynamaktadır. Bu yüzden bireyin lökoplakiyaya ve sonradan kansere eğilim göstermesinin nedeni olan konukçu genetik markörlerin bilinmesine gerek duyulmaktadır (Sikdar ve ark., 2004). Hücre metabolizma ara ürünlerine ve

çevresel etkenlere maruz kalma DNA'da tamiri mümkün olmayan zararlarla sonuçlanır. Bunların sonucu ise kansere neden olmaktadır. DNA'nın hasarına neden olan tüm işlemler ve devamında hasarın tamiri birçok enzim içerir. DNA, faz I ve faz II enzimlerini içeren kanserojenlerin aktivasyonu ve detoksifikasyonu arasındaki dengenin bir sonucu olarak kendine zarar vermektedir. Faz II enzimlerinin bir grubu olan GST azalan glutatyonla birlikte birçok elektrofilik substratı detoksifiye eder (Jahnke ve ark., 1997; Majumder ve ark., 2005).

## 2.1. Dental Materyaller

Günümüzde dişlerin restorasyonunda kullanılabilecek birçok yeni materyal geliştirilmiştir. Bu materyaller hakkında yapılan ilk çalışmalar biyolojik dokular üzerinde yan etkilere sebep oldukları ve bir kısım maddeler salındığını göstermektedir (Schmalz, 1998). Rezin esaslı restorasyonlarda postoperatif hassasiyet (Unemori ve ark., 2001), lokal immünolojik etkiler (Jontell ve ark., 1995), apoptotik reaksiyonlar (Goldberg ve ark., 1994) ve uzun dönemdeki pulpal enflamasyonlar da rapor edilmiştir. Ayrıca rezin esaslı materyallerin sistemik östrojenik etkilere (Heblin ve ark., 1999) ve alerjik reaksiyonlara sebep olduğu (Schafer ve ark., 1999) veya kanserojenik etkilere de sebep olabileceği de bildirilmiştir (Katsuno ve ark., 1996; Zorba ve Yıldız, 2007).

Rezin esaslı materyallerden salınan bileşikler inaktif haldeki eritrositlerin membranlarıyla kimyasal veya ozmotik olarak etkileşime girebilir ve bu hücrelerden hemoglobin salınmasına da neden olabilir (Geurtsen, 2000; Zorba ve Yıldız, 2007).

Amalgam dolgulardan açığa çıkan cıvaya uzun süreli maruz kalmanın toksikolojik sonuçları birçok ülkede tartışılmaktadır. Vücut ateşinin yükselmesi, gıdaların çiğnenmesi, diş fırçalama, elektrokimyasal aşınma, ağızdaki bakterilerden dolayı biyolojik aşınma ve tükürük pH'sı gibi faktörlerden dolayı ağız boşluğunda cıva salınmaktadır (Sutow ve ark., 2006; Pietro ve ark., 2008). Ayrıca birçok araştırma uçucu elemental cıvanın dental amalgamdan salınabileceğini göstermiştir (Takahashi ve ark., 2003; Brownawell ve ark., 2005; Pietro ve ark., 2008). Salınan uçucu cıva solunabilmekte, akciğer ve sindirim sistemi dokuları tarafından absorbe edilebilmekte ve genelde böbrek, beyin ve karaciğerde tutulmaktadır (Brownawell ve ark., 2005; Pietro ve ark., 2008). Ayrıca en önemlisi dişlerden dokulara taşınma yoluyla oral mukozaya doğrudan bir emilme gözlenmiştir (Henderson ve ark., 2001; Pietro ve ark.,

2008). Amalgamlardan uçucu civanın günlük alınma oranı 5-9 µg'dır (Mackert ve Berglund, 1997; Hujoel ve ark., 2005; Pietro ve ark., 2008).

Metal detoksifikasyonu organizmalarda önemli bir işlemdir. Civa dahil olmak üzere ağır metaller çevrede yaygın olarak bulduklarından dolayı en zararlı ksenebiyotiklerdendir. İnsanlar vücut dokularında kaçınılmaz olarak yüksek miktarda civa absorbe eder ve biriktirirler. Civanın toksisitesi daha çok kimyasal formuna bağlı olarak değişmektedir, örnek olarak organik (metil civa) veya inorganik form (uçucu civa, merkürük civa). İnsanda en çok etkilenen bölgeler merkezi sinir sistemi ve böbreklerdir (Clarkson, 2002; Gundacker ve ark., 2007). Balık tüketimi (genel olarak metil civaya maruz kalmanın ana kaynağı) ile birlikte düşük seviyeli civaya maruz kalmanın sağlık üzerine etkileri tartışılmaktadır (Gundacker ve ark., 2007) .

Amalgam yerine kullanılabilen rezin kompozitleri ve cam iyonomer sementleri gibi diş renkli materyaller ile diş boşlukları restore edilebilmektedir. Bununla birlikte birçok materyal restorasyon materyallerini diş boşluğuna bağlamak için kullanılmaktadır. Ayrıca kompozitlerin ve bağlanma materyallerin bazı bileşenleri polimerizasyondan sonra sulu ortama salgılanmaktadır (Geurtsen, 1998; Ortengren ve ark., 2001; Kleinsasser ve ark., 2004). Bu materyaller organizmada bazı yan etkilere neden olmaktadır, örneğin; ürtiker ve kontakt dermatit gibi alerjik reaksiyonlar (Hensten-Petersen, 1998; Kleinsasser ve ark., 2004), sistemik toksisite, sitotoksisite, östrojenisite ve mutajenisite (Schmalz, 1998; Geurtsen, 2000; Kleinsasser ve ark., 2004).

TEGDMA ve HEMA gibi ko-monomerler, Bis-GMA ve UDMA gibi kompozitlerin bağlanma gücünü ve vizkozitesini etkileyen dental bağlanmalarda ve rezin kompozitlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Tanaka ve ark., 2001; Kleinsasser ve ark., 2004). TEGDMA ve HEMA metarilik asitin türevleridir. TEGDMA dental kompozitlerde kullanılır, HEMA ise modifiye edilmiş iyonomer sementi veya bağlanma ajanıdır. Polimerize olmamış TEGDMA ve HEMA pulpaya yayılabilir, tükürüğe geçebilir ve tükürüğün yutulması ile gastrointestinal bölgeye ulaşabilir (Rogalewicz ve ark., 2006; Gregson ve ark., 2008; Durner ve ark., 2010).

HEMA'nın toksik olmayan konsantrasyonlarının hücreyi öldürmeden hücre fonksiyonunu değiştireceği bilinmektedir (MacDougall ve ark., 1998; Durner ve ark., 2010). Farede ve domuzlarda yapılan *in vivo* çalışmalar TEGDMA ve HEMA'nın bağırsak emilimi ile hızlı bir şekilde alındığını göstermiştir (Reichl ve ark., 2001; Durner ve ark., 2009; Durner ve ark., 2010).

TEGDMA ve HEMA'nın iki metabolik yolu olduğu bildirilmiştir (Reichl ve ark., 2002a; Reichl ve ark., 2002b; Durner ve ark., 2010). TEGDMA'nın metabolik yolu spesifik olmayan esteraz enzimi ile metarilik aside ve trietilen glikole hidrolize olmasıyla başlar, HEMA'nın hidrolizasyonu ise metarilik asite ve etilen glikole neden olur. TEGDMA ve HEMA'dan çıkan metarilik asit 2 farklı yolla metabolize edilebilmektedir (Seiss ve ark., 2007, Durner ve ark., 2010).

## **2.2. Gen Polimorfizmi**

İnsanlardaki kalıtsal genetik kusurlar (mutasyonlar), kimyasalları aktive eden ve detoksifiye eden enzimlerin yapısını ve ifade edilme düzeyini (karsinojen metabolizmasını) etkileyen polimorfik / genetik değişiklikler, kanser riskini arttıran başlıca genetik faktörlerdir. Polimorfizmlere mutasyonlardan daha sık rastlanır. Toplumda %1'den daha yüksek sıklıkta bulunan genetik çeşitlilik tipi ya da gen seçenekleri polimorfizm olarak tanımlanır. İnsan genomunda en çok bulunan genetik çeşitlilik tipi, tek nükleotit polimorfizmleridir (SNP) (Ekmekçi ve ark., 2008). Birçok gen çok sayıda polimorfizm içermektedir ve genomda her 300 bç'inde ortalama bir SNP olduğu düşünülmektedir (Risch ve Merikangas, 1996; Carlson ve ark., 2004; Fasching ve ark., 2009). Genomda çoğunluğu tek nükleotit düzeyinde olmak üzere (insanda on milyon kadar), ikili, üçlü nükleotit tekrar sayılarında değişiklikler ve daha azı kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlemeler şeklinde genetik polimorfizmler vardır. Genetik hastalıklar, DNA'daki bir değişiklik sonucu genin, mRNA ya da protein ürününün niteliğinin ya da niceliğinin (bazen her ikisinin) değişmesi sonucu oluşan hastalıklardır (Ekmekçi ve ark., 2008).

### **2.2.1. DNA tamir mekanizmasından sorumlu genlerdeki polimorfizmler**

İnsan DNA tamir mekanizmaları, birçok içsel ve çevresel ajanlardan (Sugimura ve ark., 2006; Bau ve ark., 2008) kaynaklanan çeşitli saldırılardan ve tümörden kaynaklanan DNA tamir sistemindeki hatalar ve mutasyonlardan genomu korumaktadır (Vogelstein, ve ark., 2002; Miller ve ark., 2006; Bau ve ark., 2008). Bu yüzden DNA tamir genlerinin bazı genetik varyantlarının oral kanser patojenitesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Bau ve ark., 2008).

DNA çift zincirin kırılması (DSB: Double strand break) DNA'nın DSB tamir sistemi tarafından tamir edilmektedir (Yu ve ark., 1999; Wood ve ark., 2001; Bau ve ark., 2008). DNA-DSB tamir sistemi homolog rekombinasyon (HR) ve homolog olmayıp sondan eklenen (*NHEJ*: non-homologous end-joining) grup içermektedir (Khanna ve Jakson, 2001; Bau ve ark., 2008). İnsanlarda *NHEJ* baskın olan bir tamir sistemidir. Günümüzde *NHEJ*'e ilişkin birçok protein tanımlanmıştır; ligaz IV ve buna ilişkin XRCC1 proteini, DNA'ya bağlı protein kinaz kompleksine (DNA-PK) ait üç bileşen (Ku70, Ku80 ve katalitik alt birim PKcs) (Jackson, 2002; Bau ve ark., 2008). *NHEJ* genlerindeki genetik polimorfizmler DNA tamir kapasitesini etkilemekte ve deri (Han ve ark., 2004; Bau ve ark., 2008), göğüs (Bau ve ark., 2004; Chiu ve ark., 2008; Bau ve ark., 2008), gastrit ve oral kanser dahil olmak üzere birçok kansere eğilime neden olmaktadır. DNA-DSB tamir gen değişimlerindeki genetik polimorfizmin bulunması ve birçok kansere eğilim göstermesinin anlaşılmasından bu zamana kadar *XRCC4* ve *Ku70* gen polimorfizmlerinin oral kansere yol açtığı düşünülmektedir (Bau ve ark., 2008).

### 2.2.2. Detoksifikasyondan sorumlu genlerin polimorfizmleri

İnsan glutatyon S-transferazlar (*GSTs*) detoksifiye enzimlerin bir süper gen ailesine dahildir. Günümüze kadar *GST*'ler sekiz grupta sınıflandırılmıştır: alfa, mu, teta, pi, zeta, sigma, kappa ve omegadır (Hayes ve Strange, 2000; ShangXia, 2011). *GST*'ler kanserojenler dahil olmak üzere birçok ksenobiyotik bileşenlerin detoksifikasyonunda ve ilaç metabolizmasında rol almaktadır. Bunların bir çoğu genetik polimorfizm içermektedir. Ksenobiyotik metabolizma enzimlerindeki kalıtsal olarak genetik polimorfizmler birçok hastalığın bireysel yatkınlığında önem göstermektedir. Günümüzdeki bilgiler *GST* genetik polimorfizminin ilaç etkileri, birçok kanser ve astım, koroner kalp hastalıkları ve damar tıkanıklığı terapisinin sonuçları ile yakından ilişkili olduğu yönündedir (Salama ve ark., 2002; Mo ve ark., 2009; ShangXia, 2011).

*GST* genetik polimorfizmi üzerine yapılan araştırmalarda, genetik polimorfizminin dağılımının farklı etnik köken, ulusal ve bölgesel populasyonlar arasında değişiklik gösterdiğini ortaya koymuşlardır (Nelson ve ark., 1995; Sorensen ve ark., 2004; ShangXia, 2011).

Civa detoksifikasyonu genetik geçmişi bireyler arasında yatkınlığın derecesini açıklayabildiğinden dolayı oldukça önemlidir. Bazı seçilen genler, *GST* gibi enzimler ve



glutasyon (*GSH*) dahil olmak üzere glutasyon detoksifikasyon sistemi ile ilişkili olabilir. *GSH* ile hücre içi bağlama reaksiyonu *GST*'ler tarafından katalizlenir ve MRP2 (aşırı ilaca dayanıklılığa ilişkin protein 2) aracılığı ile hücre dışına taşınan *GSH* metal konjugatlarına sabitlemeye neden olur ve dışkı ve idrarla dışarı atılır (Ballatori ve Clarkson, 1985; Ballatori, 2002; Gundacker ve ark., 2007). İnsanların faz I ve faz II ilaç metabolize eden enzimlere benzer şekilde, Glutatyona ilişkin enzimlerin çoğunluğu oldukça polimorfiktir (Hayes ve Strange, 2000; Strange ve ark., 2000; Hayes ve ark., 2005; Gundacker ve ark., 2007).

*GST* genlerinden ikisi *GSTT1* (22q11 bölgesinde lokalize olup, *GST* tetra'yı kodlar) ve *GSTM1* (1p13.3 bölgesinde lokalize olup, *GST* mu'yu kodlar) toksik bileşenlere karşı daha fazla hassasiyete ilişkin tamir edilmiş katalitik aktivite ile sonuçlanan bir delesyon polimorfizmine sahip olduğundan dolayı oldukça önemlidir (Gundacker ve ark., 2007).

Önemli detoksifikasyon proteinlerinden biri metallothioneinlerdir (MT). MT'ler, civa dahil olmak üzere bazı metallerle bağlanan yüksek oranda sistein gruplarını içermektedir. Metaller karaciğerden böbreğe taşınır ki bu iki organ MT'lerin en önemli depo organlarıdır. *GST* polimorfizmine benzer şekilde, MT gen ekspresyonunun az oluşu organizmaların metallerin toksik etkilerinin yatkınlığına sebep olmaktadır (Gundacker ve ark., 2007).

### **2.3. ERCC6 (Excision repair cross- complementing group 6; Eksizyon onarımı çapraz tamamlayıcı grubu 6)**

DNA onarım mekanizmaları endojen veya ekzojen toksik maddelerin herhangi birine maruz kalması sonucu oluşan hasarlı DNA'yı düzeltmek için sürekli çalışırlar. İnsanlarda beş ana DNA tamir yolu içinde gruplanan en az 130 fonksiyonel DNA tamir genleri vardır (Yu ve ark., 1999; Wood ve ark., 2001; Kietthubthaw ve ark., 2006). 1- O<sup>6</sup>-metilguanin DNA metil transferaz (*MGMT*) gibi direk tamir yolu 2- X-ray tamir çapraz tamamlayıcı grup1 (*XRCCI*), Apürinik/Apirimidinik endonükleazlar (*APE*), DNA glikozilazlar, DNA polimeraz-β ve DNA ligazları (I-IV) içeren baz kesip çıkarma tamir yolu (*BER*) 3- Xeroderma pigmentosum tamamlayıcı gruplar: *XPA XPG* gibi pek çok geni içeren nükleotid kesip çıkarma tamir yolu (*NER*) 4- *XRCC3, BRCA1, BRCA2* ve *LIG4* gibi çift zincir kırık tamir yolu (*DSB*) 5- *hMSH2, hMSH3, hMSH6, hMLH1, hPMS1* ve *hPMS2* gibi insanda 6 geni içeren yanlış eşleşme tamir yolu (*MMR*). Son

zamanlarda DNA tamir genlerindeki genetik çeşitliliğinin ve onların bireyin kansere yatkınlığı üzerine etkisinin anlaşılmasına önemli bir ilgi vardır (Spitz ve ark., 2003; Kietthubthew ve ark., 2006).

DNA tamir sistemindeki mutasyonlar ve hasarlar tümör oluşumu için önemlidir. Bu yüzden DNA tamir genlerinin bazı genetik varyantları oral kanser patogenezinde katkıda bulunabilir. DNA onarım genindeki dizi varyantları DNA tamir kapasitesini ayarlama ve bundan dolayı kanser riskinin değişiminde ilişkili olabilir (Hung ve ark. 2005). Genel genom stabilitesinin önemli bir koruyucusu olan *ERCC6* (Excision repair cross-complementing group 6) DNA tamir geninin, insan tümör gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir. *ERCC6* geninin çeşitli ekzonlarında tek nükleotid polimorfizmleri tanımlanmıştır. Bunlardan biri kodon 399 diğerleri ise kodon 1097 ve kodon 1413'dür. Bu kodonlardaki polimorfizmler sırasıyla şu aminoasit değişikliklerine sebep olur; Asp399Gly, Met1097Val ve Gln1413Arg. *ERCC6* kodon 399'un heterozigot ve homozigot A allelinin oral kanserle ilişkili olabileceği ve antikanser müdahalede ve ilk önlem için faydalı bir marker olarak kullanılabilmesi gösterilmiştir (Chiu ve ark. 2008).

Chiu ve ark. (2008) Tayvan popülasyonunda genomun sabitesini sağlayan DNA tamir geni *ERCC6*'nın 399, 1097 ve 1413'üncü kodonlarındaki polimorfizmlerin oral kanser riskini araştırmışlardır. 8 yılda 292 oral kanser teşhisi konulmuş hastalardan kan örnekleri toplamışlardır. Çalışmalar sonucunda 1097 ve 1413'üncü kodonların kontrol grupları ile arasında bir fark olmadığını 399'uncu kodonun ise kanser riski taşıdığını saptamışlardır. *ERCC6* geninin 399'uncu kodonunun A allelinin kanser gelişimiyle ilişkili olabileceğini ve belki de bunun kanser müdahalelerinde önemli bir marker olarak kullanabileceğini belirtmişlerdir.

Kleinsasser ve ark. (2004) yine rezin monomerlerinin dental materyallerden yayılıp diş eti ve diş pulpası tarafından emilmesi ya da salya yoluyla kana karışıp organlara ulaşması üzerinde durarak HEMA, TEGDMA, UDMA, Bis-GMA'nın potansiyel toksik etkilerini incelemişlerdir. 10 gönüllü insan lenfositlerinde DNA tek iplik kırılmaları, kararsız alkali ve tamamlanmamış kesip-çıkarma bölgelerini tek hücre mikrojel elektroforezini kullanarak test etmişlerdir. Sonuç olarak araştırma ile alakalı sitotoksiteye rastlamışlar fakat canlılık seviyesinde risk sadece (%71) Bis-GMA ve (%73) TEGDMA'da bulmuşlardır.

#### 2.4. *GSTM3* (Glutathion S-Transferase Mu group 3; Glutatyon S-Transferaz Mu grup 3)

GST; glutatyon konjugasyonunu, insan ortamında yaygın olarak bulunup kanserojen olarak bilinen poliaromatik hidrokarbonlar dahil olmak üzere birçok elektrofilik bileşeni katalizleyen ksenobiyotik detoksifiye faz II enziminin bir ailesini teşkil eder. En az beş tane memeli *GST* gen ailesinin polimorfik olduğu belirlenmiş ve bu genlerin mutasyon veya delesyonları kanser dahil olmak üzere birçok hastalığa eğilim gösterdiği belirlenmiştir. *GSTM1-GSTM5* gen kümesi *1p13* kromozom bölgesinde lokalize olduğu ve yaklaşık 100 kb'lık uzunluğa sahip olduğu bildirilmiştir. *GSTM3* ve *GSTP1* gibi *GST* ailesinin polimorfik genlerinin kanser riskini modüle ettiği belirtilmiştir. *GSTM3* geninde *GSTM3\*A* ve *GSTM3\*B* olarak iki tip allel tanımlanmış, *B* allelinde *A* allelinden farklı olarak 3 bç'lik bir delesyonun söz konusu olduğu tespit edilmiştir (Inskip ve ark., 1995; Jain, 2007). *GSTM3* poliaromatik hidrokarbon benzo(a)piren gibi zararlı ajanların metabolizmasında rol almakta ve *GSTM1*'e özgü substrat ile örtüşmektedir (Hayes ve Pulford, 1995; Jain, 2007). *GSTM3* polimorfizmi kanserojen metabolizmasında farklı etkiler göstermektedir. Günümüzde yapılan bir çalışmada *GSTM3* AA genotipi ile ilişkin gırtlak kanseri riskinde bir artış olduğu ileri sürülmüştür (Jourenkova-Mironova ve ark., 1999; Jain, 2007). *GSTM3* geninde, yabancı tip alleli *GSTM3\*A* ve varyant alleli *GSTM3\*B*'de YY1 (Ying Yang) transkripsiyon faktörünü kodlamaktadır. Bu allellerin dizi analizinin sonuçlanması ile intron 6'da 3 baz çiftlik delesyon görülmüştür. Bu mutasyonun sonucu olarak *GSTM3* ekspresyonu etkilenmiş olabilir. 3bç'lik bu değişikliğin etki mekanizması tam olarak açıklanamamasına rağmen son ekspresyon düzeyi üzerinde negatif ve pozitif düzenleyici etkilerin olduğu ileri sürülmüştür (Schnakenberg ve ark., 2000; Matthias ve ark., 1998; Jain, 2007). *GSTM1* ile kombinasyon olarak veya sadece *GSTM3* polimorfizminin detoksifikasyonu değiştirmek suretiyle kanser gelişimini etkileyebileceği düşünülmektedir (Jain, 2007).

Reichl ve ark. (2006) dental materyallerle (kompozitler ve amalgam vs.) onarılan dişlerden polimerize olmayan rezin ko-monomerleri ve civanın salınmış olabileceğini ve bunların da diş etine ve diş pulpasına doğru nüfuz edebileceğini düşünmüşlerdir. Ayrıca bu maddelerin yutulan ağız salyasının kana karışmasıyla dolaşım yoluyla diğer organlara da ulaşabileceği üzerinde durmuşlardır. Dental kompozit bileşenlerinin sitotoksitesini diş eti fibroblastlarında araştırmışlardır.

Sitotoksisite maddelerin testinde laktat dehidrogenaz (LDH) ve bromodeoksiüridin (BrdU) kullanılmışlardır. Bu maddeler çeşitli konsantrasyonlarda hücrelere eklenmiş ve 24-48 saat inkübe edilmiştir. Takip eden deneyler sonucunda komposit bileşiklerin toksiteye yol açtığı saptanmış en toksik maddenin MeHgCl olduğu bulunmuştur.

Marques ve ark. (2006) ksenobiyotik metabolize eden enzimlerin pek çok kanserojenlerin detoksifikasyonunu kapsadığını ve kansere yatkınlığı değiştirmede önemli olabileceğini düşünerek PCR-RFLP tekniği ile *CYP1A1*, *CYP2E1*, *GSTM3* ve *NAT-2* genlerindeki polimorfizmleri belirlemişlerdir. Brezilya'da yaptıkları bu çalışmada 231 oral kanser hastası ve 212 kontrol grubu kullanmışlardır. *GSTM3* polimorfizminde kanser vakaları ve kontrol grupları arasında fark bulmuşlar, hasta grubunda %47 oranında *A/A*, %42 *A/B*, %11 *B/B* genotiplerini analiz etmişlerdir. Analizler sonucunda *GSTM3* ve *NAT-2* genlerinin her ikisinin de heterozigot olarak birleşmesi ile oral kanserin gelişebileceğini vurgulamışlardır. *CYP1A1* ve *CYP2E1* genlerinin polimorfizmlerinin ise kanserle önemli bir ilişkisi olmadığını ortaya koymuşlardır.

Chatzimichalis ve ark. (2010) Yunan popülasyonunda gırtlak skuamöz hücre kanserindeki detoksifikasyon enzimlerini kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin tütün ve alkol tüketimi ile ilişkisini incelemişlerdir. Hızlı asetilatör genotipleri ve gırtlak skuamöz hücre kanseri arasında önemli bir ilişki olduğu gösterilmiş, kanser riskinin etkisi tütün ve alkol kullanımı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan alınan 2011/015 sayılı izin ile Helsinki Kriterlerine uygun olarak yürütülmüştür. Tüm hasta ve kontrol grubundaki bireylerden yazılı onam formu alınmıştır. Çalışmaya 2011 – 2013 yılları arasında Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Tedavi ve Endodonti bölümlerine gelen hastalardan ağızında dental materyal bulunan gönüllü 26 kadın 28 erkek olmak üzere toplam 54 bireyden, 31 kadın 25 erkek olmak üzere toplam 56 sağlıklı bireyden örnek alınmıştır. Moleküler ve genetik çalışmalar Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümü Moleküler Biyoloji laboratuvarında yapılmıştır.

Dental materyal bulunan bireylerden ve kontrol grubu olan sağlıklı bireylerden, genetik değerlendirme için %3'lük 5 ml sükröz solüsyonu ile gargara yaptırılmak suretiyle DNA izolasyonu için örnek alınmıştır.

Çalışmada olgu ve kontrol gruplarında, *ERCC6* ve *GSTM3* gen polimorfizmleri sırayla, PZR-RFLP ve PZR-agaroz jel elektroforez yöntemi ile taranmıştır.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. DNA izolasyonu

Örnek alınacak kişilerin %3'lük 5 ml sükröz solüsyonu ile ağızları kuvvetlice gargara yaptırılmıştır. Her bireyin gargarası 15 ml santrifüj tüpünde toplanarak %66 etanolde seyreltilmiş TNE solüsyonundan (17 mM Tris-HCl pH=8, 50 mM NaCl ve 7 mM EDTA) tüpe eklenmiştir. Epitel hücreleri, tüpler 3000 rpm'de santrifüj edilerek pellette toplanmıştır. İkinci bir yıkama için TNE ilave edilerek hücreler yeniden süspanse edilmiştir. Tüpler 2000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek 1 ml lizis solüsyonu (10 mM Tris pH=8, %0.5 SDS, 5mM EDTA) ve proteinaz K (20 mg/ml) ilave edilmiştir. Karışım 55 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra 8 M amonyum asetat ve 1 mM EDTA içeren solüsyondan ilave edilerek proteinler ve diğer kontaminantlar uzaklaştırılmıştır. 10 dk 10000 rpm'de santrifüj edilip 400 µl temiz tüpe dikkatlice dökülmüştür. Temiz tüp 540 µl isopropanol içermelidir. Solüsyonlar karıştırılarak 10000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Pellete 2ml %70'lik etanol ilave edilerek karıştırılmıştır. 10000 rpm'de 5 dk santrifüj edilip pellet havada kurutulduktan sonra DNA 100 µl TE'de çözdürülerek -20 °C'de saklanmıştır (Aidar ve Line, 2007).

### 3.2.2. *ERCC6* gen bölgesinin analizi

#### 3.2.2.1. Primer özellikleri

Primerler Metabion International AG firmasından temin edilmiştir. *ERCC6* gen bölgesi 271 bp uzunluğundadır.

**Tablo 3.1.** *ERCC6* için kullanılan primer dizileri

Primer dizisi	
İleri primer	5' – TGAAGAGTCTGAGTATTTCC - 3'
Geri primer	5' – ATCTTCATCTCCATCATCTC - 3'

#### 3.2.2.2. PZR karışımının hazırlanması ve programlanması

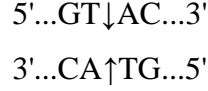
50-100 ng olarak standartize edilen DNA'dan 1 µl, 30 pmol primer, her bir dNTP'den 200 µM, 1 ünite Taq DNA polimeraz (Fermantas) ve 2 µl 10x PZR tampon solüsyonu (100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>) toplamda 30 µl olacak şekilde distile su ile tamamlanarak 0.2'lik tüplerde karıştırılıp Tablo 3.2'deki sıcaklık ve sürelerde PZR yapılmıştır (Marques ve ark., 2006).

**Tablo 3.2.** *ERCC6* gen bölgesinin PZR'si için gerekli sıcaklık

	Sıcaklık °C	Zaman
Başlangıç Denatürasyonu	95	5 dakika
Denatürasyon	94	30 saniye
Birleşme	55.3	30 saniye
Uzama	72	30 saniye
	35 kez tekrar	
Son Uzama	72	10 dakika

### 3.2.2.3. RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polimorfizm) analizi

Enzim kesim bölgesi



olan *RsaI* (Vivantis) kullanılarak PZR ürünü 8 µl DNA, 1 µl tampon ve 1 µl *RsaI* enzimi olacak şekilde karıştırılıp toplamda 10 µl'lik hacim içerisinde 37 °C'de bir saat inkübe edilerek kesim reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.2.4. Agaroz Jel elektroforezi ve görüntüleme

1 gr agaroz ile 50x TAE solüsyonundan 50 ml karıştırılarak kaynatılan jelle 3.5 µl etidyum bromür ilave edilip jel tepsisine dökülmüştür. Hazırlanan %2'lik jel polimerize olmak üzere 30-45 dakika bekletildikten sonra, jel üzerinde oluşan kuyucuklara 3.5 µl kesimi yapılan örnekler ve 1.5 µl yükleme boyası karıştırılarak yüklenmiştir. Örnekler 75-80 V da yaklaşık 1 saat yürütülerek UV görüntüleme cihazında görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır.

### 3.2.3. *GSTM3* gen bölgesinin analizi

#### 3.2.3.1. Primer özellikleri

Primerler Metabion International AG firmasından temin edildi. *GSTM3* gen bölgesi 273 bp uzunluğundaydı.

**Tablo 3.3.** *GSTM3* için kullanılan primer dizileri

Primer dizisi	
İleri primer	5'- CCTCAGTACTTGGAAGAGCT - 3'
Geri primer	5'- CACATGAAAGCCTTCAGGTT - 3'

### 3.2.3.2. PZR karışımının hazırlanması ve programlanması

50-100 ng DNA'dan 1 µl, 30 pmol primer, her bir dNTP'den 200 µM, 1 ünite Taq DNA polimeraz (Fermantas) ve 2 µl 10x PZR tampon solüsyonu (100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>) toplamda 30 µl olacak şekilde distile su ile tamamlanarak 0.2'lik tüplerde karıştırılıp Tablo 3.4'deki sıcaklık ve sürelerde PZR yapılmıştır (Marques ve ark., 2006).

**Tablo 3.4.** *GSTM3* gen bölgesinin PZR'si için gerekli sıcaklık

	Sıcaklık °C	Zaman
Başlangıç Denatürasyonu	95	5 dakika
Denatüras	94	30 saniye
Birleşme	57	30 saniye
Uzama	72	30 saniye
	35 kez tekrar	
Son Uzama	72	10 dakika

### 3.2.3.3. RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polimorfizm) analizi

Enzim kesim bölgesi

5'...C C T C (N)<sub>7</sub>↓...3'

3'...G G A G (N)<sub>6</sub>↑...5'

olan MnlI (Fermantas) kullanılarak PZR ürünü 8 µl DNA, 1 µl tampon ve 1 µl MnlI enzimi olacak şekilde karıştırılıp toplamda 10 µl'lik hacim içerisinde 37 °C'de bir gece inkübe edilerek kesim reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.



*GSTM3*\*A alleli 273 bp

CCTCAGTACTT↓<sup>MnII</sup>GGAAGAGCTACCTGGACAACTGAAACAATTCTCCATGT  
 TTCTGGGGAAATTCTCATGGTTTGCCGGGGAAAAGGTAGGAAGAAGGGA↓<sup>Mn</sup>  
<sup>II</sup>AAAGAAGAGGATACTTCTCTATCTCTGCAGGCTACTACTCCTCAGACCTA↓<sup>M</sup>  
<sup>nII</sup>AGCATCTTATTGCTTTTCTTCTAGCTCACCTTTGTGGATTTTCTCACCTATG  
 ATATCTTGGATCAGAACCGTATATTTGACCCCAAGTGCCTGGATGAGTTCCC  
 AACCTGAAGGCTTTCATGTG

*GSTM3*\*B alleli 270 bp

CCTCAGTACTT↓<sup>MnII</sup>GGAAGAGCTACCTGGACAACTGAAACAATTCTCCATGT  
 TTCTGGGGAAATTCTCATGGTTTGCCGGGGAAAAGGTAGGAAGAAGGGA↓<sup>Mn</sup>  
<sup>II</sup>AAAGAAGATACTTCTCTATCTCTGCAGGCTACTACTCCTCAGACCTA↓<sup>MnII</sup>AG  
 CATCTTATTGCTTTTCTTCTAGCTCACCTTTGTGGATTTTCTCACCTATGATAT  
 CTTGGATCAGAACCGTATATTTGACCCCAAGTGCCTGGATGAGTTCCCAAAC  
 CTGAAGGCTTTCATGTG

#### 3.2.3.4. Agaroz Jel elektroforezi ve görüntüleme

2 gr agaroz ile 50x TAE solüsyonundan 50 ml karıştırılarak kaynatılan jele 3.5 µl etidyum bromür ilave edilip jel tepsinine dökülmüştür. Hazırlanan %4'lük jel polimerize olmak üzere 30-45 dakika bekletildikten sonra, jel üzerinde oluşan kuyucuklara 3.5 µl kesimi yapılan örnekler ve 1.5 µl yükleme boyası karıştırılarak yüklenmiştir. Örnekler 75-80 V da yaklaşık 1 saat yürütülerek UV görüntüleme cihazında görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır.

#### 3.2.4. İstatiksel analiz

Çalışmada, dental materyalli bireylerin polimorfizme ve delesyona uğrama özellikleri için tanımlayıcı istatistik bilgiler elde edilmiştir. Dental materyalli ve kontrol gruplarının genotiplerinin dağılımının değerlendirilmesi için ki-kare (Fisher'e göre) ve Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) testleri uygulanmıştır. Dental materyalli ve kontrol gruplarında, SNP allel frekansları Odds oranı (OR) kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistik analizi SPSS saptama versiyon 10.0 kullanılarak yapılmıştır.

#### 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Çalışma grubunun klinik özellikleri değerlendirildiğinde araştırmaya alınan dental materyalli bireylerden 28'unun (%52.7) erkek, 26'sının (%47.3) kadın, kontrol bireylerin ise 25'inin (%43.8) erkek, 31'sinin (%56.2) kadın olduğu tespit edilmiştir. Dental materyalli bireylerin yaş ortalaması 34 (15-65) olarak hesaplanmış, kontrol grubundaki bireylerin yaşları ise 17-54 arasında değişmekte olup ortalaması 31 olarak tespit edilmiştir.

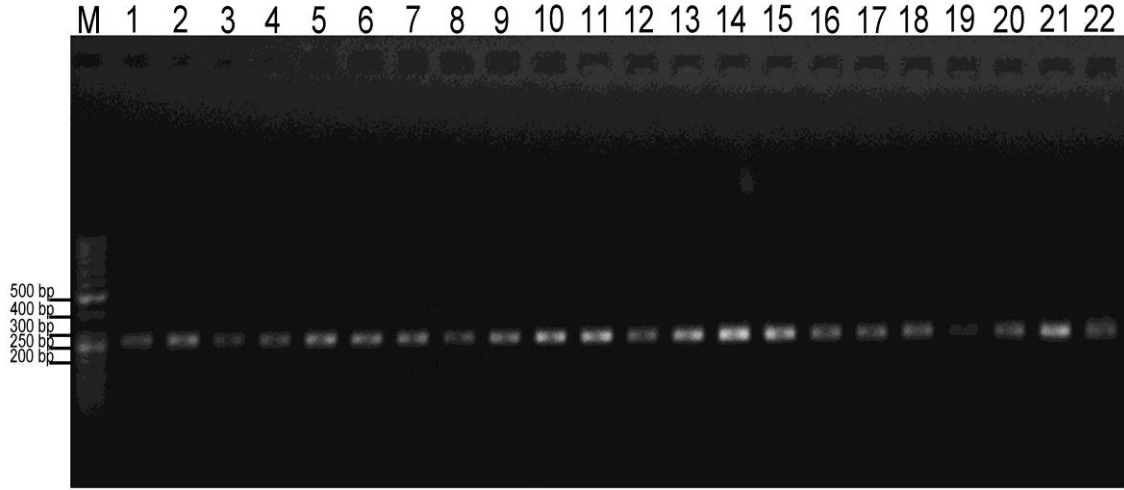
**Tablo 4.1.** Dental materyalli bireylerin ve kontrol gruplarının cinsiyet-yaş dağılımı

	Dental materyalli bireyler	Kontrol grubu
Cinsiyet (E/K)	28/26	25/31
Yaş Ortalaması	34 (20-65)	31 (21-54)

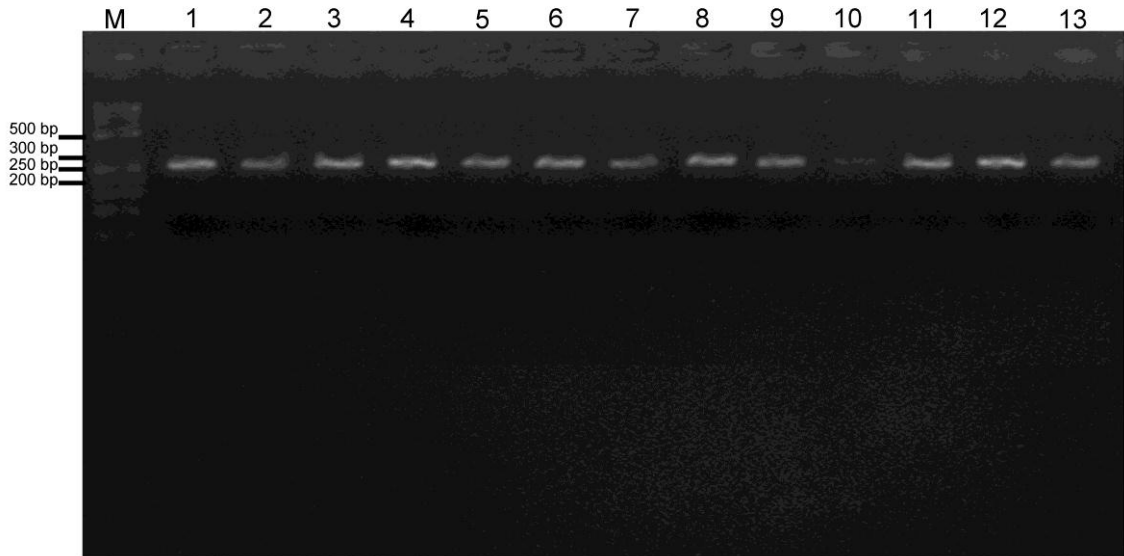
#### 4.1. Genotipleme Analizleri

##### 4.1.1. *ERCC6* gen bölgesi PZR sonuçları

*ERCC6* gen bölgesine ait ürünler %2'lik agaroz jel elektroforezinde hem kontrol hem de dental materyalli bireylerde 271 bp büyüklüğünde bantlar şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.1 ve 4.2).



**Şekil 4.1.** *ERCC6* gen bölgesinde kontrol grubundaki bireylerin PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü. M: Moleküler ağırlık belirleyici (Fermentas *SM071* 50 bç)



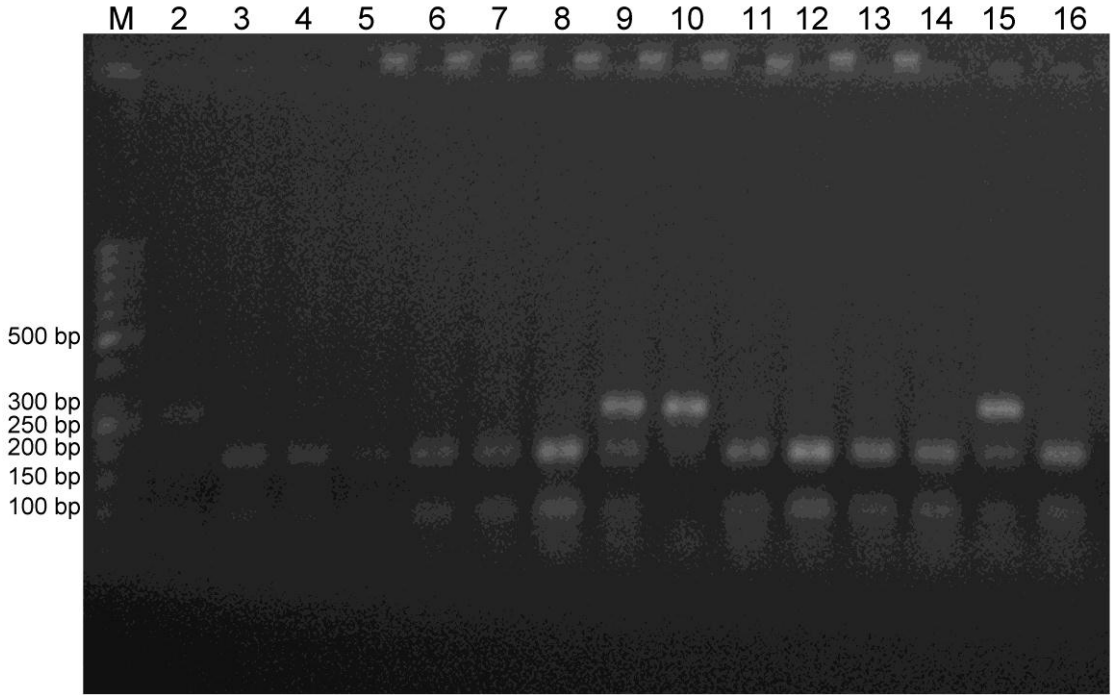
**Şekil 4.2.** *ERCC6* gen bölgesinde dental materyalli bireylerin oluşturduğu gruptaki PZR ürünlerin %2'lik agaroz jel görüntüsü. M: Moleküler ağırlık belirleyici (Fermentas *SM071* 50 bç)

#### 4.1.2. *ERCC6* gen bölgesi için RFLP sonuçları

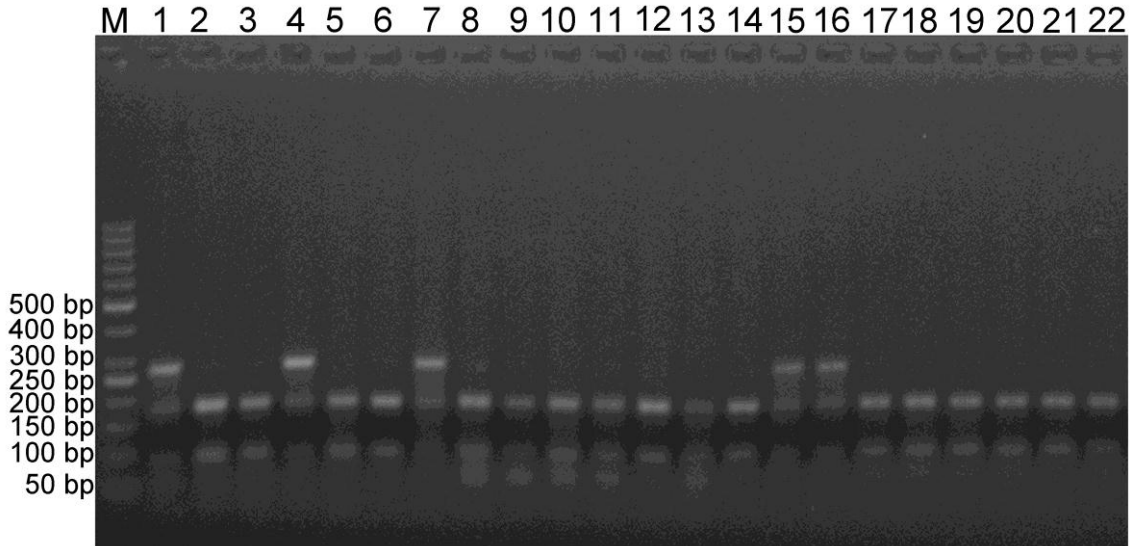
*ERCC6* gen bölgesinin PZR ile elde edilen 271 bç uzunluğundaki *A* allelinin *RsaI* restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucunda bu allelin kesilmeyerek aynı kaldığı, *G* allelinin kesimi sonucunda ise 180+91 bç uzunluklarında bantlar gözlenmiştir. *ERCC6* gen bölgesinin restriksiyon enzimi *RsaI* ile kesilmesi sonucu *A/A* homozigot genotipi tek bant halinde 271 bç'lik, heterozigot olan *G/A* genotipi 271, 180 ve 91 bç'lik 3 bant halinde ve *G/G* homozigot genotipinin ise kesim sonucunda 180 ve 91 bç'lik 2 banta sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.3 ve 4.4). Bu kesim sonuçlarına göre dental materyalli bireylerde *G/G* genotipinin % 63, *A/G* genotipinin %35 oranında bulunduğu gözlenirken *A/A* genotipine ise % 2 gibi oldukça düşük oranda rastlanılmıştır. Her hangi bir dental materyal içermeyen kontrol grubu bireylerinde *G/G* genotipi %84, *A/G* genotipi %16 oranında gözlenirken *A/A* genotipine rastlanmamıştır (Tablo 4.2). Dental materyalli bireylerde homozigot veya heterozigot *A* allelinin bulunma sıklığı kontrol grubundan daha fazla olduğu gözlenmiştir. Dental materyalli sadece bir bireyde risk alleli olan *A/A* genotipinin bulunmasını en yaşlı birey ve ağzında uzun yıllardır kaplama olmasına bağlayabiliriz. Çalışılan dental materyalli olan ve olmayan bireylerden alınan örneklerin enzim kesimi sonuçlarının %2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü (Şekil 4.3 ve 4.4) görülmektedir.

**Tablo 4.2.** Dental materyalli ile kontrol grubundaki bireylerin *ERCC6* genotip varyantları

<i>ERCC6</i> genotipleri	Kontrol grubu n (%)		Dental materyalli bireyler n (%)	
<i>G/G</i>	47	%84	34	%63
<i>G/A</i>	9	%16	19	%35
<i>A/A</i>	1	%0	0	%2



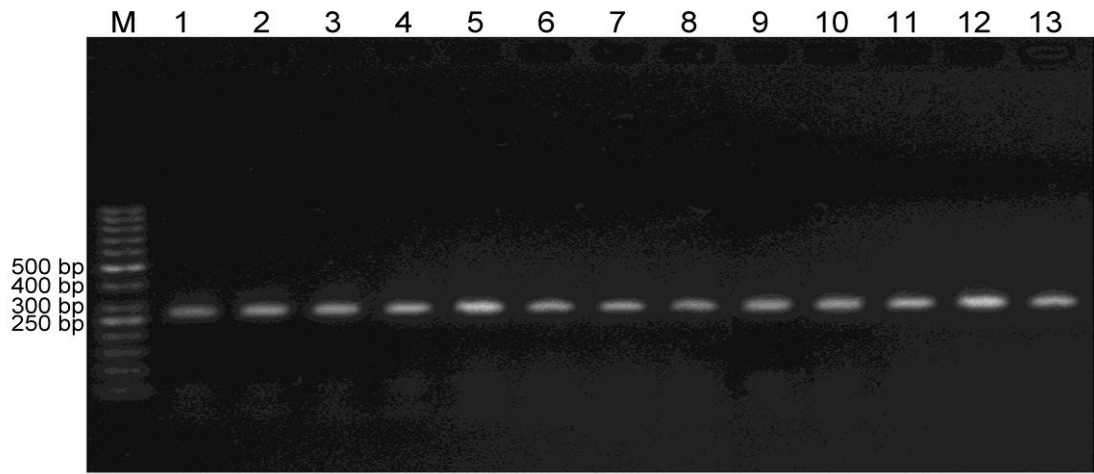
**Şekil 4.3.** Kontrol grubundaki bireylerde *ERCC6* gen polimorfizminin %2'lik agaroz jel görüntüsü. M: Moleküler ağırlık belirleyici (Fermentas *SM071* 50 bç)



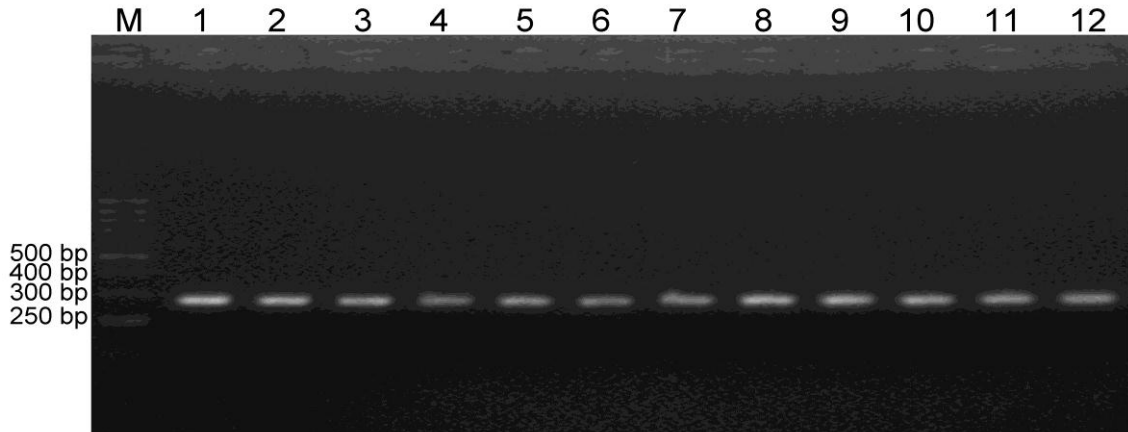
**Şekil 4.4.** Dental materyalli bireylerde *ERCC6* gen polimorfizminin %2'lik agaroz jel görüntüsü. M: Moleküler ağırlık belirleyici (Fermentas *SM071* 50 bç)

#### 4.1.3. *GSTM3* gen bölgesi PZR sonuçları

*GSTM3* gen bölgesine ait ürünler %4'lük agaroz jel elektroforezinde *A* alleleline sahip bireylerde 273 bç'lik bant ve *B* alleleline sahip bireylerde 3 bç delesyona uğramış 270 bç büyüklüğünde bantlar şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.5 ve 4.6). Bu alleller arasındaki fark çok küçük olduğu için heterozigot genotiplerde iki ayrı bant şeklinde gözlenmesi oldukça zor olmuştur. Restriksiyon kesim profilleri sayesinde çok daha iyi ayırım yapılabilmektedir.



Şekil 4.5. *GSTM3* gen bölgesinde kontrol grubundaki bireylerin PZR ürünlerin %4'lük agaroz jel görüntüsü. M: Moleküler ağırlık belirleyici (Fermentas *SM071* 50 bç)



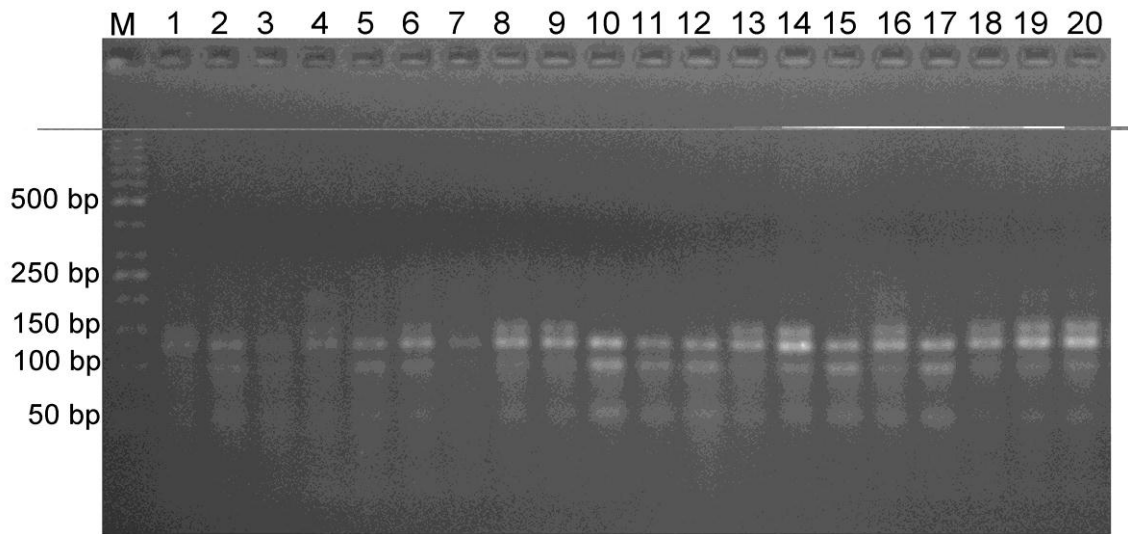
Şekil 4.5. *GSTM3* gen bölgesinde dental materyalli bireylerin PZR ürünlerin %4'lük agaroz jel görüntüsü. M: Moleküler ağırlık belirleyici (Fermentas *SM071* 50 bç)

#### 4.1.4. *GSTM3* gen bölgesi için RFLP sonuçları

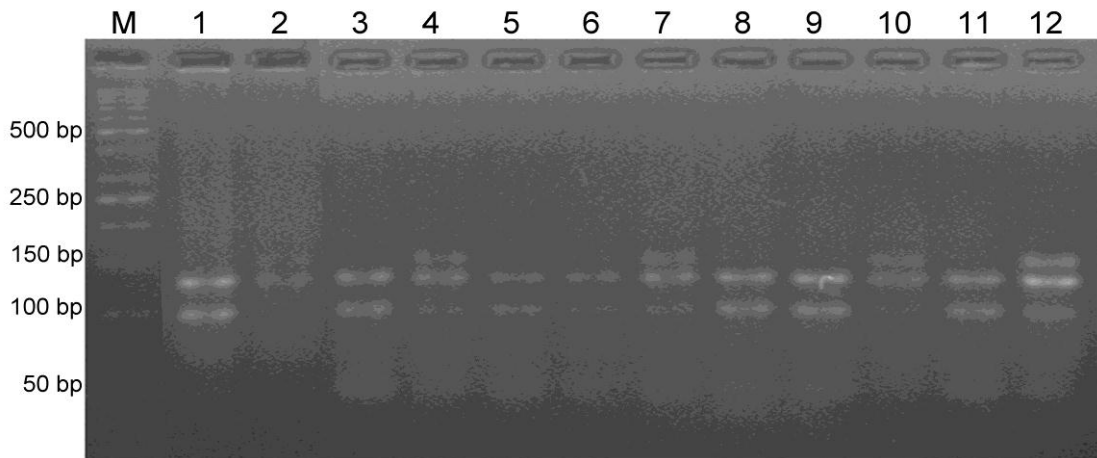
*GSTM3* gen bölgesinin PZR ile elde edilen ürünlerinin bir kısmında sadece 273 bç *GSTM3*\*A gözlenirken bir kısmında ise hem *GSTM3*\*A hem de 270 bç'lik *GSTM3*\*B alleli görülmüştür. Bu PZR ürünlerinden *GSTM3*\*A'nın *MnII* restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucunda 125, 97, 51 bç uzunluklarında bantlar gözlenmiş olup *GSTM3*\*A/*GSTM3*\*B'nin restriksiyon kesimi sonucunda 125, 97, 51 bç bant uzunlukları ve bunlara ilave olarak 145 bç'lik bant görülmüştür. Bunun haricinde ise *GSTM3*\*B'nin kesiminde ise 134, 125, 11 bç'lik bantlar beklenmiş fakat gözlenememiştir. Inskip ve ark. (1995) *GSTM3*\*A allelinin *MnII* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda 125, 86, 51, 11 bç uzunluklarında fragmentler, *GSTM3*\*B allelinin kesimi sonucunda ise 134, 125, 11 bç uzunluklarında fragmentler elde etmişlerdir. Heterozigot *A/B* genotipi kesim sonucu ise 134, 125, 86, 51, 11 bç uzunluklarındaki fragmentlerin oluşumu ile sonuçlanmıştır. Bu kesim profillerini birçok araştırmacı doğrulamıştır (Jourenkova-Mironova ve ark. 1999; Buch ve ark. 2002; Chatzimichalis ve ark. 2010). Ancak bizim sonuçlarımızda *A* allelinin 11 bç ile 86 bç arasındaki *MnII* tanıma bölgesi kaybolmuş ve bu nedenle 11bç ve 86 bç uzunluğundaki fragmentler yerine 97 bç uzunluğundaki fragment oluşmuştur. Bu fragment 4.8'de 100 bç uzunluğundaki marker hizasında gözlenmektedir. *B* allelindeki 3 bç delesyondan sonra enzim tanıma bölgesinin kaybolması ile zaten 134 bç uzunluğunda fragment gözlenmesi gerekiyordu. Fakat 11 bç ile 134 bç arasındaki enzim tanıma dizisinde kaybolduğu görülmüş bu nedenle 145 bç uzunluğunda bir fragment elde edilmiştir. Bu fragment şekil 4.8'de 150 bç uzunluğundaki marker hizasında oldukça yakın olarak gözlenmiştir. Bu tanıma dizilerinin kaybolması ile ilgili tek nükleotit polimorfizmine hem kontrolde hem de dental materyalli bireylerde rastlanmıştır. Bu kesim sonuçlarına göre dental materyalli bireylerde *A/A* genotipinin %62, *A/B* genotipinin %38 oranında bulunduğu gözlenirken *B/B* genotipine hiç rastlanmamıştır. Her hangi bir dental materyal içermeyen kontrol grubu bireylerinde *A/A* genotipi %33, *A/B* genotipi %67 oranında gözlenirken yine *B/B* genotipine rastlanmamıştır (Tablo 4.3). Çalışılan dental materyalli olan ve olmayan bireylerden alınan örneklerin enzim kesimi sonuçlarının %4'lük agaroz jel elektroforez görüntüsü (Şekil 4.7 ve 4.8) görülmektedir.

**Tablo 4.3.** Dental materyalli ile kontrol grubundaki bireylerin *GSTM3* genotip varyantları

<i>GSTM3</i> genotipleri	Kontrol grubu n (%)		Dental materyalli bireyler n (%)	
A/A	19	%33	34	%62
A/B	38	%67	21	%38
B/B	0	%0	0	%0



**Şekil 4.7.** Kontrol grubundaki bireylerde *GSTM3* gen polimorfizminin %4'lük agaroz jel görüntüsü. M: Moleküler ağırlık belirleyici (Fermentas *SM071* 50 bç)



**Şekil 4.8.** Dental materyalli bireylerde *GSTM3* gen polimorfizminin %4'lük agaroz jel görüntüsü. M: Moleküler ağırlık belirleyici (Fermentas *SM071* 50 bç)



## 4.2. İstatistiksel Sonuçlar

### 4.2.1. Çalışmaya katılan bireylerin diş restorasyon özellikleri

Çalışmaya katılan dental materyalli bireylerin polimorfizminde yaş ve cinsiyet dikkate alınmayıp, ağızda bulunan dolgu ya da diğer dental materyallerin sayısına ve çok yıllık olmasına dikkat edilmiştir.

Çalıştığımız dental materyalli 54 bireyde toplam 187 adet amalgam tespit edilmiş olup kişi başına ortalama 3.4 amalgam düşmektedir. Bireylerdeki amalgamın ağız içinde bulunma süresi 2-10 yıl arasında değişmekte olup ortalama 5.6 yıldır. Bununla birlikte 12 kişide kompozit, 10 kişide protez, 22 kişide kaplama olduğu görülmüş, kaplaması olanlarda ise fazladan 4 köprü ve 1 kron olduğu not edilmiştir. Diş teli ise sadece 1 bireyde görülmüştür. Çalışmaya katılan bireylerin 13'ü sigara, 6'sının ise alkol tükettiği kaydedilmiştir. Çalışmaya katılan bütün bireyler arasında doldurulan onam formuna göre bireylerin diş fırçalamasına çok dikkat etmedikleri ve asitli içeceklerle hazır gıdaları çok tükettikleri görülmüştür.

### 4.2.2. Genotip frekans analizleri

#### 4.2.2.1. *ERCC6* gen bölgesindeki Asp399Gly polimorfizmin dental materyalli ve dental materyal içermeyen bireylerde genotip dağılımı

Kromozom 10q11.23 bölgesinde lokalize olan *ERCC6* gen bölgesinin Asp399Gly polimorfizminin görülme sıklığı PCR-RFLP yöntemi ile belirlendi.

A/A genotipinin dental materyalli bireyler ile kontrol grubu bireyler arasında görülme sıklığı istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Dental materyalli bireylerde A/G genotipinin bulunması kontrolden 2.189 kat daha fazladır [RR:2.189, OR:2.835, (CI:1.46-7.013)  $p=0.028$ ]. Homozigot G allelinin görülme sıklığının dental materyallilerde kontrolden daha çok olduğu gözlenmiştir. Ancak bu yeterli örnek sayısının olmayışından dolayı bu şekilde sonuçlanmıştır. Tam tersine daha önceki oral kanser ile ilgili ilişki çalışmalarında A allelinin riskli olduğunu rapor etmişlerdir (Chiu ve ark., 2008). Dental materyalli bireyler ve kontrol grupları Hardy-Weinberg dengesindedir ( $p>0.05$ ).

Literatürde, *ERCC6* gen bölgesindeki Asp399Gly polimorfizminin oral kanser gelişimi ile ilişkili olduğu ve özellikle A allelinin kanser gelişimi için önemli bir risk

faktörü olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada *A* allelini taşıyan dental materyalli bireylerin kontrol grubuna göre yüksek çıkmış olması, bu alleli taşıyan bireylerin ileride oral kanser gelişme riskinin daha yüksek olabileceğini düşündürmektedir. Bu bireylerin genetik yatkınlığa sahip olmaları ve dental materyale (civa gibi), çevresel faktörlere uzun yıllar maruz kalmaları lökoplaki gibi lezyonların gelişiminde veya oral kanser gelişiminde rol oynayabilir.

#### **4.2.2.2. *GSTM3* gen bölgelerindeki 3 baz çifti delesyon polimorfizmin dental materyalli ve dental materyal içermeyen bireylerde genotip dağılımı**

Kromozom 1p13.3 bölgesinde lokalize olan *GSTM3* geninin 3 bç delesyonu sonucu oluşan polimorfizmi PZR-RFLP yöntemi ile tespit edildi. *A/A* genotipin bulunma sıklığı dental materyallilerde, kontrolden 1.637 kat daha fazladır [RR:1.637, OR:2.434, (CI:1.126-5.261) p=0.034]. Türk popülasyonunda *B/B* homozigot genotipine sahip birey bulunmadığı tespit edilmiştir. Buradaki sonuçlar *B* değil *A* allelinin risk alleli olabileceğini göstermiştir.

Dental materyalli bireyle Hardy-Weinberg dengesinde bulunurken ( $p > 0.05$ ), kontrol grubunun Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ).

Literatürde, *GSTM3* geninin *A* ve *B* olmak üzere iki allelinin olduğu, bazı toplumlarda *A* alleli oral kanser gelişimi ile ilişkili olduğu, bazı toplumlarda ise 3 bç'lik delesyona sahip *B* allelinin ilişkisi olduğu ifade edilmiştir. Dental restorasyonların ileride oral kanser gelişiminde önemli bir etkisi olduğu düşünüldüğünden, bizim toplumumuzda *A* allelinin dental materyalli bireylerde yüksek olması bu allelin ileride kanser gelişiminde, kanser gelişiminde yatkınlık oluşturma anlamında rolü olabileceği görüşüne yakınlaştırmaktadır. Çalışmada *B* alleli olarak değerlendirdiğimiz tüm örneklerde; literatürle uyumlu olarak 3 bç delesyonun mevcut olduğu ancak bunun yanında iki enzim kesim bölgesinde ortadan kalktığı tespit edildi. *B* alleli olarak değerlendirdiğimiz bu örneklerin bizim toplumumuza özgü yeni bir allel olabileceği ve belki bu allelinde oral kanserle ilişkisinin ileride yapılacak çalışmalarla araştırabileceğini düşünmekteyiz.

*GSTM3* geninin YY1 transkripsiyon faktörünü kodluyor olması ve bu transkripsiyon faktörünün birçok genin ifadesini regüle ediyor olması da toplumumuza özgü olduğunu düşündüğümüz bu yeni allelin gen ekspresyon çalışmaları ile

araştırılması gerektiğini, özellikle de kanser gelişimindeki rolünün ortaya konulması bakımından önemli olduğunu düşünmekteyiz.

#### 4.2.3. *ERCC6* ve *GSTM3* gen polimorfizmlerinin fenotipik etkilerinin değerlendirilmesi

Amalgam olmayan dolgu ve diş boşlukları için yapıştırma malzemeleri, yüzeylerinden salınabilen ve organizmada biyolojik aktiviteler gösteren bileşenleri ihtiva ederler. Amalgam dolgu ile kıyaslandığında son zamanlarda insan için sadece olası yan etkilerine odaklanılmış ve hala bu maddelerle teması olan insan hücreleri üzerine metakrilatların sitotoksik ve genotoksik etkileri üzerine çok az veri bulunmaktadır. Dolgu malzemelerinin bir kaç önemli komonomerleri TEGDMA ve HEMA, Bis-GMA ve UDMA gibi monomerler vardır. Bu maddelerin genotoksik etki gösterdiği bazı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Xie ve ark., 1990; Heil ve ark., 1996; Kleinsasser ve ark., 2004). Dental amalgam ve balık tüketimi aracılığı ile cıvaya maruz kalan diş hekimleri ve teknisyenlerde, glutasyon enzimleri ve selenoprotein polimorfizmlerinin civa ile anlamlı olarak ilişkili olduğu bildirilmiştir (Goodrich ve ark., 2011).

Bu çalışmada dental materyallerin *GSTM3* ve *ERCC6* genlerindeki polimorfizmler ile ilişkili olduğu tesbit edilmiştir ( $p<0.05$ ). *GSTM3* geninin 3 bç delesyonu ile oluşan homozigot *B* alleleline hem dental materyalli bireylerde hemde kontrol grubunda rastlanmamıştır. Daha önce Türk popülasyonu ile ilgili raporlarla karşılaşılmadığı için kıyaslama yapılamamıştır. Aksine *GSTM3\*B* varyant allelin sıklığı beyaz ırkta %15-24, Afrikan- Amerikanlarda %68 olarak rapor edilmiştir (Jourenkova-Mironova ve ark., 1999; Park ve ark., 2000; Marques ve ark., 2006). Marques ve ark. (2006) *GSTM3\*B* allelinin kontrolde %31, Beyazlarda %21, Melezlerde %40, Zencilerde %60 oranlarına sahip olduğunu bildirmişlerdir. *GSTM3\*B* sıklığındaki bu farklılıkların oral kanser ve kontrol grup arasında gözlemlendiği ve istatistiki olarak önemli olduğu vurgulanmıştır. Araştırma grubu risk analizlerinin *GSTM3* ve oral kanser arasında bir ilişki göstermediğini ancak, eğer *GSTM3* proteini ağırlıklı olarak gırtlaktaki sillerde eksprese oluyorsa, *GSTM3*'deki polimorfizmler oral kanserden çok gırtlak kanserine yatkınlık sağlayabileceğini savunmuşlardır. Oral kanserli bireylerde *GSTM3* (*A/A*) genotipinin beyaz ırklarda ve Afrika-Amerikan'lardaki sıklığı sırasıyla %85 ve %54'dür (Park ve ark., 2000). Hindistan popülasyonunda *A/A* genotipi sıklığı %74'dür

(Sikdar ve ark., 2004). Bu çalışmada dental materyalli bireylerdeki *A/A* genotip sıklığı (%62) bakımından diğer çalışmalara uygunluk göstermektedir. Yine Chatzimichalis ve ark. (2010) ile uyumlu olarak bu çalışmada *GSTM3\*B* allelinin homozigot genotipine hiç rastlanmamıştır. Bu sonuçları destekler şekilde bazı araştırmacılar *B/B* genotipine %2'lik veya %3-4'lük gibi düşük bir oranda karşılaşmışlardır (Buch ve ark., 2002; Inskip ve ark., 1995).

Chatzimichalis ve ark. (2010) *GSTM3 A/A* genotipinin kontrolden ziyade hastalarda daha çok bulunduğunu ifade etmişlerdir. Benzer şekilde bu çalışmada da dental materyalli bireylerde %62 oranında bu allelin kontrolden (%35) daha çok bulunmuştur. Varyant *B* alleli artan transkripsiyon potansiyeline sahiptir ve *GSTM3*'ün kodladığı proteinin detoksifikasyon aktivitesini kuvvetlendirmektedir (Yengi ve ark., 1996; Sikdar ve ark., 2004). Bu allelin gırtlak kanseri riskini azalttığı da bildirilmiştir (Jahnke ve ark., 1997; Sikdar ve ark., 2004). Dolayısıyla YY1 transkripsiyon faktörünü normal eksprese eden *A* allelinin bulunması oral kanser ve lökoplaki için risk teşkil etmektedir. Bunların aksine Jain ve ark. (2007) *GSTM3\*B* allelini bir YY1 sitesine sahip transkripsiyon faktörü olduğu için bir risk alleli olarak düşünmüşlerdir. Bu YY1 tarafından düzenlenen, ya başlatma, aktivasyon ya da baskılama şeklinde pek çok promotörlerin varlığı ile *GSTM3\*B* allelinin, bir bireyin kansere yatkınlığı için karsinojenlerin detoksifikasyonunun etkinliğinde değişikliğe yol açabilen sitozolde çeşitli ekspresyonlara neden olduğu rapor edilmiştir (Nakajima ve ark., 1995; Shi ve ark., 1997; Jain ve ark., 2007). *GSTM3 A/A + B/B* genotiplerinin bayanlarla kıyaslandığında erkeklerde özofagus kanseri için yüksek risk olduğunu belirtmişlerdir.

Bazı araştırmacılar ise *GSTM3* genotipi ve oral kanser riski arasında herhangi bir ilişki göstermediğini (Bunch ve ark., 2002; Sikder ve ark., 2004; Marques ve ark., 2006) fakat *GSTM3 A/A* genotipinin sigara içenler arasında lökoplakiye ve kansere yatkınlığın olduğunu savunmuşlardır [OR:1.8, (CI:1.0-3.4)] (Sikder ve ark., 2004; Majumder ve ark., 2005). Bu çalışmada ise sigara içenlerin %60 oranında *A/A* genotipine sahip olduğu bulunmuştur. DNA çift zincir kırıklarının tamirinde görevli olan bir başka DNA tamir geni *XRCC1* ile *GSTM3 (A/A)* genotiplerinin sigara içenlerde kanser riskini artırdığını [OR:2.4, (CI:1.0-5.8)], varyant *XRCC1* haplotiplerinin ve *GSTM3* risk genotiplerinin varlığı hastalarda kanser süreci olan lökoplakileri belirlemek için faydalı olabileceği ortaya konulmuştur (Majumder ve ark., 2005). Yengi ve ark. (1996)'da benzer şekilde *GSTM3 A/A* genotipinin tek başına tümörün gelişmesi ile ilişkili olmadığını ancak *GSTM3 A/A* genotipinin *GSTM1* null ve *CYP1A1 m1m1* genotipleri ile

kombinasyonlarının artan tümör sayıları ile önemli bir şekilde ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

ERCC6 kodon 399'da homozigot A/A [OR:1.82, (CI:1.19-2.79)] veya heterozigot G/A [OR:1.22, (CI:0.83-1.78)] genotipindeki bireylerde G/G'li bireylere kıyasla oral kanser riskinin arttığı gösterilmiştir (Chiu ve ark., 2008). Alkol tüketiminin değil özellikle sigara içmenin ve tütün çiğnemenin *ERCC6* polimorfizmlerinde önemli olduğu heterozigot ve homozigot A allelinin kanser gelişimi ile ilişkisi olduğu veya oral kansere yüksek yakınlıkla ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Bu araştırmacı grubu oral kanserli bireylerde A/A genotipine kontrolden daha çok % 30.5 oranında rastlarken heterozigot G/A allelinin hem kontrolde hem de hastada sırasıyla % 39.3 ve % 38 gibi birbirine oldukça yakın oranlarda gözlemiştir. G/G genotipi nispeten daha çok bulunmuştur (kontrol; % 39.7 ve hasta; % 31.5) (Chiu ve ark., 2008). Bu çalışmada ise kontrol grubunda hiç A/A allele rastlanmamışken, dental materyalli kişilerde sadece % 2 oranında bir bireyde rastlanmış olması istatistik açıdan önemli olmadığını ortaya çıkarmıştır. Bunu çalışılan örnek sayısının az olmasına bağlayabiliriz. Heterozigot G/A genotipi diğer çalışmanın aksine kontrolde % 16, dental materyalli bireylerde ise % 35 olarak bulunmuştur. Dental materyallerin bu genotipi meydana gelmesinde polimorfizmle ilişkili olduğu tesbit edilmiştir [OR:2.835, (CI:1.146-7.013) p<0.05] G/G genotipi ise çok daha yüksek oranlarda bulunmuştur (kontrol; % 84, dental materyalli bireylerde; % 63).

DNA tamir yolağındaki genetik varyasyonlar oral kanser etiyojisine yol açmaktadır. Çevresel risk faktörleri, sigara ve alkol tüketimi bu tamir yolağındaki genetik yakınlıkla kombine edildiğinde oral kanser riskine neden olabilmektedir.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Günümüzde teknolojinin gelişmesi birçok meslek gibi diş hekimliğinde kullanılan materyallerde de avantaj sağlamanın yanında negatif etkiler de oluşturmaktadır. Materyal seçiminde maksimum faydalı ve minimum zararlı olabilecek materyallerin seçimine dikkat edilmelidir. Akrilik, rezin ve polimerler gibi dental restoratif materyallerin kullanımı ve yaygınlaşması diş hekimliği açısından çok avantajlı olmasına rağmen bu tür materyaller bazı bireylerde alerjik reaksiyonlara sebep olabilir (Baran ve Nalçacı, 2007).

Birçok materyal özellikle de restoratif materyaller dentin, pulpa, periodontal, periapikal dokular ve oral mukoza gibi canlı dokularla uzun süre temasta kalmaktadır. Bu sebeple yaygın klinik kullanıma geçilmeden önce bu materyallerin ağız dokuları üzerindeki zararlı etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. İnsan vücudunda kullanılacak tüm restoratif materyallerin fiziksel ve mekanik özelliklerinin yanında biyoyumluluk yönünden de değerlendirilmesi ve insan sağlığı için güvenilir materyallerin seçimine özen gösterilmesi yapılan dental tedavilerin uzun süreli başarısını arttıracaktır (Uzun ve Bayındır, 2010).

Genetik polimorfizmler, tıpta bazı hastalıklara karşı duyarlılıkta kişisel farklılıkları belirlememizi sağlar. Bazı gen polimorfizmleri (allel) bir hastalık riskini arttırırken bazıları azaltabilmekte (koruyucu allel), bazı polimorfik alleller ise yalnızca çevresel bir faktörün etkisi altındayken riski etkileyebilmektedir (Ekmekçi ve ark., 2008).

Bu çalışmada kontrol grubu ile dental materyalli bireyleri kıyasladığımızda *ERCC6* geni için önceki oral kanser çalışmalarında risk alleli olduğu belirtilen A alleleline kontrolden daha fazla rastlanmıştır. Oral kanser ile ilgili çalışmalarda *GSTM3* geni için risk alleli olan homozigot A/A genotipine bu çalışmada kontrolden daha çok rastlanmıştır. Türk popülasyonunda *ERCC6* gen polimorfizmi G/G, G/A ve A/A genotiplerinin görülme sıklığı dental materyalli bireylerde sırasıyla %63, %35, %2, kontrol grubunda ise sırasıyla %84, %16, %0 oranlarında bulunmuştur. *GSTM3* geni 3 bç delesyonu sonucu görülen A/A, A/B, B/B genotipleri dental materyalli bireylerde sırasıyla %56, %44, %0, kontrol grubunda ise sırasıyla %33, %67, %0 oranlarında bulunmuştur. Sonuç olarak *ERCC6*'da A allelinin, *GSTM3*'de A allelinin bireyin çok yıllık dental materyallere maruz kalması ve genetik olarak yatkın olması ilerleyen yıllarda kanser gelişiminde rol oynayabilir.

## 5.2. Öneriler

Bu çalışmada Konya ili ve civarından ağızda çeşitli dental restorasyonlar bulunan bireylerden ve dental materyal içermeyen kontrol grubu bireylerden alınan ağız sıvısı örneklerinden DNA izole edilmiş, tamir ve detoksifikasyondan sorumlu birer gen polimorfizmi incelenmiştir. Dental materyallerin polimorfizmle ilişkilendirebilmek için ağız içi epitel hücrelerinin dışında kan doku gibi başka dokulardan izole edilmiş DNA örnekleri ile de doğrulamak gerekir. Biz bu çalışmada hücre ömrü kısa olan epitel hücrelerinden izole edilmiş DNA örnekleri ile çalıştık ve oral kanserde riskli olan genotiplerin dental materyalli bireylerde frekansına baktık. Bu genotiplerin ilerleyen zamanda oral kansere dönüşme riski ile ilgili gerek ilişki çalışmaları gerekse ekspresyon çalışmaları planlanabilir. Kansere yatkınlıkta etkili olan nükleotit kesip çıkarma onarımı ve diğer çift zincir kırık onarımı genleri ile diğer detoksifikasyon genlerinin polimorfizmlerle ilişkili olup olmadığı çalışılarak daha etkili sonuçlar alınabileceği kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

- Aidar, M., Line, S.R.P., 2007, A Simple and Cost-Effective Protocol for DNA Isolation from Buccal Epithelial Cells, *Braz Dent J*, 18 (2), 148-152.
- ATSDR, 1999, Toxicological Profile for Mercury, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, G.A.
- Avcı, M., 1990, Metal destekli porselen restorasyonlarda kullanılan kıymetsiz metal alaşımları, *A.Ü. Diş Hek Fak Derg*, 17 (1), 145-150.
- Ballatori, N., Clakson, T.W., 1985, Biliary secretion of glutathione and glutathione-metal complexes, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 5, 816-831.
- Baran, İ., Nalçacı, R., 2007, Dental materials and allergic reactions, *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.*, 2, 26-32.
- Bau, D.T., Fu, Y.P., Chen, S.T., Cheng, T.C., Yu, J.C., Wu, P.E., 2004, Breast cancer risk and the DNA double-strand break end-joining capacity of non-homologous end-joining genes are affected by BRCA1, *Cancer Res*, 64, 5013-5019.
- Bau, D.T., Tseng, H.C., Wang, C.H., Chiu, C.F., Hua, C.H., Wu, C.N., Liang, S.Y., Wang, C.L., Tsai, C.W., Tsai, M.H., 2008, Oral cancer and genetic polymorphism of DNA double strand break gene Ku70 in Taiwan, *Oral Oncology*, 44, 1047-1051.
- Bertolotti, R.F., 1980, Calculation of interfacial stress in porcelain-fused to metal system, *J Dent Res*, 59 (11), 1972-1977.
- Braakhuis, B. J. Leemans, C. R. Brakenhoff, R. H., 2004, A genetic progression model of oral cancer: current evidence and clinical implications, *J Oral Pathol Med*, 33, 317-322.



- Brownawell, A.M., Berent, S., Brent, R.L., Bruckner, J.V., Doull, J., Gershwin, E.M., Hood, R.D., Matanoski, G.M., Rubin, R., Weiss, B., Karol, M.H., 2005, The potential adverse health effects of dental amalgam, *Toxicol. Rev.*, 24, 1-10.
- Bouillaguet, S., 2004, Biological risks of resin-based materials to the dentin-pulp complex, *Crit Rev Oral Biol Med*, 15, 47-60.
- Buch, S.C., Notani, P.N., Bhisey, R.A., 2002, Polymorphism at *GSTM1*, *GSTM3* and *GSTT1* gene loci and susceptibility to oral cancer in an Indian population, *Carcinogenesis*, 23(5), 803–807.
- Carlson, C.S., Eberle, M.A., Kruglyak, L., Nickerson, D.A., 2004, Mapping complex disease loci in whole-genome association studies, *Nature*, 429, 446-452.
- Chatzimichakis, M., Xenellis, J., Tzagaroulakis, A., Sarof, P., Banis, K., Gazouli, M., Biras, A., 2010, GSTT1, GSTM1, GSTM3 and NAT2 polymorphisms in laryngeal squamous cell carcinoma in a Greek population, *The Journal of Laryngology & Otology*, 124, 318-323.
- Chiu, C.F., Wang, H.C., Wang, C.H., Wang, C.L., Lin, C.C., Shen, C.Y., A novel single nucleotide polymorphism in *XRCC4* gene is associated with breast cancer susceptibility in Taiwanese patients, *Anticancer Research*, 28, 267-270.
- Clarkson, T.W., Magos, L., 2006, The toxicology of mercury and its chemical compounds, *Crit. Rev. Toxicol.* 36, 609-662.
- Custodio, H.M., Broberg, K., Wennberg, M., Jansson, J.H., Vessby, B., Hallmans, G., Stegmayr, B., Skerfving, S., 2004, Polymorphisms in glutathione-related genes affect methylmercury retention, *Arch. Environ. Health*, 59, 588–595.
- Custodio, H.M., Harari, R., Gerhardsoon, L., Skerfving, S., Broberg, K., 2005, Genetic influences on the retention of inorganic mercury, *Arch. Environ. Occup. Health*, 60, 17–23.

- Davidson, C. L. de Gee, A. J., 2000, Light-curing units, polymerization, and clinical implications, *J Adhes Dent*, 2, 167–73.
- Dorland's Illustrated Medical Dictionary (26. Ed), 1981, Biocompatibility Philadelphia: W.B., *Saunders Co.*, 168.
- Durner, J., Kreppel, H., Zaspel, J., Schweikl, H., Hickel, R., Reichl, F.X., 2009, The toxicokinetics and distribution of 2-hydroxyethyl methacrylate in mice, *Biomaterials*, 30, 2066-2071.
- Durner, J., Walther, U.I, Zaspel, J., Hickel, R., Reichl, F.X., 2010, Metabolism of TEGDMA and HEMA in human cells, *Biomaterials*, 31, 818-823.
- EEC. (European Economic Community), 1993, Council Directive of 14 June 1993 concerning medical devices (93/42/EEC), *Official journal of the European Community* L169, 1-43.
- Ekmekçi, A., Konaç, E., Önen, H.İ., 2008, Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık, *Marmara Medical Journal*, 21 (3), 282-295.
- Engström, K.S., Stromberg, U., Lundh, T., Johannsson, I., Vessby, B., Hallmans, G., Skerfving, S., Broberg, K., 2008, Genetic variation in glutathione-related genes and body burden of methylmercury, *Environ. Health Perspect*, 116, 734–739.
- Fasching, P.A., Gayther, S., Pearce, L., Schildkraut, J.M., Doode, E., Thiel, F., Chenevix-Trench, G., Chang-Claude, J., Wang-Gohrke, S., Ramus, S., Pharoah, P., Berchuk, A., 2009, Role of Genetic polymorphism and ovarian cancer susceptibility, *Molecular Oncology*, 3, 171-181.
- Gerzina, T. M. Picker, K. Hood, A. Hume, W., 1991, Toxicity and quantitative analysis of TEGDMA and composite resin eluates, *Journal of Dental Research*, 70 (S), 424.

- Geurtsen, W. Schoeler, U. A., 1997, 4-year retrospective clinical study of class I and class II composite restorations, *J Dent*, 3, 229-232.
- Geurtsen, W., 1998, Substances released from dental resin composites and glass ionomer cements, *European Journal of Oral Sciences*, 106, 687-695.
- Geurtsen, W., 2000, Biocompatibility of resin-modified filling materials, *Crit Rev Oral Biol Med*, 11, 333-355.
- Gregson, K., Beiswanger, A.J., Platt, J., 2008, The impact of sorption, buffering, proteins on leaching of organic and inorganic substances from dental resin core material, *J Biomed Mater Res A*, 84, 256-264.
- Goldberg, M., Lasfargus, J.J., Legrand, J.M., 1994, Clinical testing of dental materials-histological considerations, *J Dent*, 22, 25-28.
- Goodrich, J.M., Wang, Y., Gillespie, B., Werner, R., Franzblau, A., Basu, N., 2011, Glutathione enzyme and selenoprotein polymorphisms associate with mercury biomarker levels in Michigan dental professionals, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 257, 301-308.
- Gundacker, C., Komarnicki, G., Jagiello, P., Gencikova, A., Dahmen, N., Wittmann, K.J., Gencik, M., 2007, Glutathione s-transferase polymorphism, metallothioneins expression, and mercury levels among students in Austria, *Sci. Total. Environ.*, 385, 37-47.
- Gundacker, C., Wittmann, K.J., Kukuckova, M., Komarnicki, G., Hikkel, I., Gencik, M., 2009, Genetic background of lead and mercury metabolism in a group of medical students in Austria, *Environ. Res.*, 109, 786-796.
- Gupta, P.C., Mehta, F.S., Daftary, D.K., Pindborg, J.J., Bhonsle R.B., 1980, Incidence rates of oral cancer and natural history of oral precancerous lesion in a 10-year follow-up study of Indian villagers, *Comm Dental Oral Epidemiol*, 8, 287-333.

- Han, J., Colditz, G.A., Samson, L.D., Hunter., D.J., 2004, Polymorphisms in DNA double-strand break repair genes and skin cancer risk, *Cancer Res*, 64, 3009-3013.
- Hatagima, A., 2002, Genetic polymorphisms and metabolism of endocrine disruptors in cancer susceptibility, *Cad Sau' de Pu'blica*, 18 (2), 357-377.
- Hatagima, A., Costa, E.C.B., Marques, C.F.S., Koifman, R.J., Boffetta, P., Koifman, S., 2008, Glutathione S-transferase polymorphisms and oral cancer: A case-control study in Rio de Janeiro, Brazil, *Oral Oncology* 44, 200-207.
- Hayes, J.D., Pulford, D.J., 1995, The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance, *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 30, 445-600.
- Hayes, J.D., Strange, R.C., 2000, Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequence, *Pharmacology*, 61, 154-166.
- Hebling, J., Giro, E.M., Costa, C.A., 1999, Human pulp response after an adhesive system application in deep cavities, *J Dent*, 27, 567-564.
- Heil, J., Reifferscheid, G., Waldmann, P., Leyhausen, G., Geurtsen, W., 1996, Genotoxicity of dental materials, *Mutation Research*, 368, 181-194.
- Henderson, D.C., Clifford, R., Young D.M., 2001, Mercury-reactive lymphocytes in peripheral blood are not a marker for dental amalgam associated disease, *J. Dent.*, 29, 469-474.
- Hensten-Pettersen, A., 1998, Skin and mucosal reactions associated with dental materials, *European Journal of Oral Sciences*, 106, 707-712.
- Hiyasad, A.S., Darmani, H., The effects of recasting on the cytotoxicity of base metal alloys, *J Prosthet Dent*, 93, 158-163.

- Horstedt-Bindslev, P., 2004, Amalgam toxicity-environmental and occupational hazards, *J Dent*, 32, 359–365.
- Hujoel, P.P., Lydon-Rochelle, M., Bollen, A.M., Woods, J.S., Geurtsen, W., Aguila, M.A., 2005, Mercury exposure from dental filling placement during pregnancy and low birth weight risk, *Am. J. Epidemiol*, 161, 734-740.
- Inskip, A., Elexperu-Camiruaga, J., Buxton, N., 1995, Identification of polymorphism at the glutathione S-transferase, GSTM3 locus: evidence for linkage with GSTM1\*A, *Biochem J*, 312, 713-716.
- Jackson, S.P., 2002, Sensing and repairing DNA double-strand breaks, *Carcinogenesis*, 23, 687-696.
- Jain, M., Kumar, S., Lal, P., Tiwari, A., Ghoshal, U.C., Mittal, B., 2007, Role of GSTM3 polymorphism in the risk of developing esophageal cancer, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 16 (1).
- Jahnke, V., Strange, R., Matthias, C., Fryer, A., 1997, Glutathione S-Transferase and cytochrome P450 genotypes as a risk factors for laryngeal carcinoma, *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 254, 147-149.
- Jontell, M., Hanks, C.T., Bratel, J., Bergenholtz, G., 1995, Effects of unpolymerized resin components on the function of accessory cells derived from the rat incisor pulp, *J Dent Res*, 74, 1162-1167.
- Jourenkova-Mironova, N., Voho, A., Bouchardy, C., 1999, Glutathione S-transferase GSTM3 and GSTP1 genotypes and larynx cancer risk, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 8, 185-188.
- Kaga, M. Noda, M. Ferracane, J. L. Nakamura, W. Oguchi, H. Sano, H., 2001, The in vitro cytotoxicity of eluates from dentin bonding resins and their effect on tyrosine phosphorylation of L929 cells, *Dent Mater*, 4, 333-439.

- Katsuno, K., Manabe, A., Itoh, K., Nakamura, Y., Wakumoto, S., Hisamitsu, H., Yoshida, T., 1996, Contact dermatitis caused by 2-HEMA and GM dentin primer solutions applied to guinea pigs and humans, *Dent Mater J*, 15, 22-30.
- Khanna, K.K., Jackson, S.P., 2001, DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection, *Nat Genet*, 27, 247-254.
- Kietthubthew, S., Sriplung, H., Au, W.W., Ishida, T., 2006, Polymorphism in DNA repair genes and oral squamous cell carcinoma in Thailand, *Int. J. Hyg. Environ.-Health*, 209, 21-29.
- Kimura, H., Horng, C.J., Okazaki, M., Tkahashi, J., 1990, Oxidation effects on porcelain-titanium interface reactions and bond strength, *Dent Mater J*, 9 (1), 91, 99.
- Kleinsasser, N.H., Kastenbauer, E. R. Weissacher, H. Muenzenrieder, R. K. Harre'us, U. A., 2000, Phthalates demonstrate genotoxicity on human mucosa of the upper aerodigestive tract, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35, 9-12.
- Kleinsasser, N.H., Wallner, B.C., Harreus, U.A., Kleinjung, T., Folwaczny, M., Hickel, R., Kehe, K., Reichl, F.X., 2004, Genotoxicity and cytotoxicity of dental materials in human lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (comet) assay, *Journal of Dentistry*, 32, 229-234.
- Lopez, A.D., Mathers, C.D., Ezzati, M., Jamison, D.T., Murray, C.J.L., editors., 2006, Global burden of disease and risk factors, *Washington: The Word Bank/Oxford University Press*.
- MacDougall, M., Selden, J.K., Nydegger, J.R., Carnes, D.L., 1998, Immortalized mouse odontoblast cell line MO6-G3 application for *in vitro* biocompatibility testing, *Am J Dent*, 11, S11-16.

- Mackert, J.R., Berglund, A., 1997, Mercury exposure from dental amalgam fillings: absorbed dose and the potential for adverse health effects, *Crit Rev Oral Biol Med*, 8 (4), 410-436.
- Magos, L., Clarkson, T.W., 2006, Overview of the clinical toxicity of mercury. *Ann Clin Biochem*, 43, 257-268.
- Maier, H. Sennewald, E., 1994, Plattenepithelkarzinome, Risikofaktoren für Plattenepithelkarzinomeim Kopf- Hals-Bereich: Ergebnisse der Heidelberger Fallkontrollstudien, Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften, Sankt Augustin.
- Majumder, M., Sikdar, N., Paul, R.R., Roy, B., 2005, Increased risk of oral leukoplakia and cancer among mixed tobacco users carrying XRCC1 variabtp haplotypes and cancer among smokers carrying two risk genotypes: one on each of two loci, *GSTM3* and *XRCC1* (Codon 280), *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 14 (9).
- Marques, C.F.S., Koifman S., Koifman, R.J., Boffeta, P., Brennan P., Hatagima, A., 2006, Influence of *CYP1A1*, *CYP2E1*, *GSTM3* and *NAT2* genetic polymorphisms in oral cancer susceptibility: Results from a case-control study in Rio de Janeiro, *Oral Oncology*, 42, 632-637.
- Matthias, C., Bockmuhl, U., Jahnke, V., 1998, Polymorphism in cytochrome P450 CYP2D6, CYP1A1, CYP2E1 and glutathione S-transferase, *GSTM1*, *GSTM3*, *GSTT1* and susceptibility to tobacco-releted cancers: studiesin upper aerodigestive tract cancers, *Pharmacogenetics*, 8, 91-100.
- Miller, K.L., Karagas, M.R., Kraft, P., Hunter, D.J., Catalano, P.J., Byler, S.H., 2006, XPA, haplotypes, and risk of basal squamous cell carcinoma, *Carcinogenesis*, 27, 1670-1675.
- Mo, Z., Gao, Y., Gao, F., 2009, An updating meta-analysis of the *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* polymorphisms and prostate cancer: a HuGE review, *Prostate*, 69, 662-688.

- Nair, U.J., Nair, J., Mathew, B., Bartsch, H., 1999, Glutathione S-Transferase M1 and T1 null genotypes as risk factors for oral leukoplakia in ethnic Indian betel quid/tobacco chewers, *Carcinogenesis*, 20, 743-748.
- Nair, U. Bartsch, H., 2001, Metabolic polymorphisms as susceptibility markers for lung and oral cavity cancer, *IARC Sci*, 154, 271-290.
- Nakajima, T., Elovaara, E., Anttila, S., 1995, Expression and polymorphism of glutathione S-transferase in human lungs: risk factor in smoking-related lung cancer, *Carcinogenesis*, 16, 707-711.
- Nebert, D. W. Menon, A. G., 2001, Pharmacogenomics, ethnicity, and susceptibility genes, *Pharmacogenomics J*, 1 (1), 19-22.
- Nelson, H.H., Wiencke, J.K., Christiani, D.C., 1995, Ethnic differences in the prevalence of the homozygous, deleted genotype of glutathione S-transferase theta, *Carcinogenesis*, 16, 1243-1246.
- Ortengren, U., Wellendorf, H., Karlsson, S., Ruyter, I.E., 2001, Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in an aqueous environment, *Journal of Oral Rehabilitation*, 12, 1106-1115.
- Oshima, H. Kawahara, D. Kosugi, H. Nakamura, M. Sugai, T. Tamaki, T., 1991, Epidemiologic study on occupational allergy in the dental clinic, *Contact Dermatitis*, 24, 138-139.
- Parkinson, A., 1996, Biotransformation of xenobiotics. In: Casarett, Doull's, editors. 5th ed. Toxicology. The basic science of poisons. New England: Curtis D. Klaassen;. chapter 6.
- Park, J.Y., Muscat, J.E., Kaur, T., Schantz, S.P., Stern, J.C., Richie, J.P., 2000, Comparison of GSTM polymorphism and risk for oral cancer between Africans-Americans and Caucasians, *Pharmaco-genetics*, 10, 123-131.



- Petersen, P.E., 2009, Oral cancer prevention and control – the approach of the World Health Organization, *Oral Oncology*, 45: 454-460.
- Pietro, A.D., Visalli, G., Maestra, S.L., Micale, R., Baluce, B., Matarese, G., Cingano, L., Scoglio, M.E., 2008, Biomonitoring of DNA damage in peripheral blood lymphocytes of subjects with dental restorative fillings, *Mutation Research*, 650, 115-122.
- Reddy, B.S., Doshi, D., Reddy, M.P., Kulkarni, S., Gaffar, A., Reddy, V.R., 2012, Oral cancer awareness and knowledge among dental patients in South India, *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 40, 521-524.
- Reichl, F.X., Durner, J., Hickel, R., Kunzelmann, K.H., Jewett, A., Wang, M.Y., Spahl, W., Kreppel, H., Moes, G.W., Kehe, K., Walther, U., Forth, W., Hume, W.R., 2001, Distribution and excretion of TEGDMA in guinea pigs and mice, *Journal of Dental Research*, 80, 1412-1415.
- Reichl, F. X. Durner, J., Hickel, R., Spahl, W., Kehe, K., Walther, U., 2002a, Uptake, clearance and metabolism of TEGDMA in guinea pigs, *Dent Mater*, 18, 581-589.
- Reichl, F. X. Durner, J., Kehe, K., Manhart, J., Folwaczny, M., Kleinsasser, N., 2002b, Toxicokinetic of HEMA in guinea pigs, *J Dent*, 30, 353-358.
- Reichl, F.X., Simon, S., Esters, M., Seiss, M., Kehe, K., Kleinsasser, N., Hicked, R., 2006, Cytotoxicity of dental composite (co)monomers and the amalgam component  $Hg^{2+}$  in human gingival fibroblasts, *Arch Toxicol*, 80, 465-472.
- Risch, N., Merikangas, K., 1996, The future of genetic studies of complex human diseases, *Science*, 273, 1516-1517.
- Robinson, P.G., Marshman, Z., 2008, School of Clinical Dentistry, Sheffield,UK, *Dental Epidemiology*, 119-126.

- Rogalewicz, R., Batko, K., Voelkel, A., 2006, Identification of organic extractables from commercial resin-modified glass-ionomers using HPLC-MS, *J Environ Monit*, 8, 750-758.
- Rooney, J.P.K., 2007, The role of thiols, dithiols, nutritional factors and interacting ligands in the toxicology of mercury, *Toxicology*, 234, 145-156.
- Salama, S.A., Au, W.W., Hunter, G.C., 2002, Polymorphic metabolizing genes and susceptibility to atherosclerosis among cigarette smokers, *Environ Mol Mutagen*, 40, 153-160.
- Sankaranarayanan, R., Duffy S.W., Padmakumary, G., Day, N.E., Nair, M.K., 1990, Risk factors for cancer of the buccal and labial mucosa in Kerala, southern India, *J. Epidemiol Comm Health*, 44, 286-292.
- Seiss, M., Nitz, S., Kleinsasser, N., Butters, J.T., Behrendt, H., Hickel, R., 2007, Identification of 2,3-epoxymethacrylic acid as an intermediate in the metabolism of dental materials in human liver microsomes, *Dent Mater*, 23, 9-16.
- Schafer, T.E., Lapp, C.A., Hanes, C.M., Lewis, J.B., Wataha, J.C., Schuster, G.S., 1999, Estrogenicity of bisphenol A and bisphenol A dimethacrylate in vitro, *J Biomed Mater Res*, 45, 192-197.
- Schmalz, G., 1998, The biocompatibility of non-amalgam dental filling materials, *European Journal of Oral Sciences*, 106, 696-706.
- Schnuch, A., Uter, W., Geier, J., Frosch, P. J., Rustemeyer, T., 1998, Contact allergies in healthcare workers. Results from the IVDK, *Acta Derm Venereol*, 78, 358-363.
- Schnakenberg, E., Breuer, R., Werdin, R., Dreikorn, K., Schloot, W., 2000, Susceptibility genes: GSTM1 and GSTM3 as genetic risk factors in bladder cancer, *Cytogenet Cell Genet*, 91, 234-238.

- ShangXia, P., XingFen, Y., LinQing, Y., Qing, W., Ying, Y., GuangNing, X., ZhongNing, L., JunMing, H., 2011, Human GSTs polymorphisms in the Hakka population of South China and their associations with family history of several chronic diseases, *Biomed Environ*, 24 (5), 491-498.
- Shi, Y., Lee, J.S., Galvin, K.M., 1997, Everything you have ever wanted to know about Ying Yang 1, *Biochim Biophys Acta*, 1332, 49-66.
- Sikdar, N., Paul, R.R., Roy, B., 2004, Glutathione S-Transferase M3 (A/A) genotype as a risk factor for oral cancer and leukoplakia among Indian tobacco smokers, *Int. J. Cancer*, 109, 95-101.
- Silverman, S., 1998, Hamilton, Ontario: American Cancer Society, *Oral Cancer*.
- Sorensen, M., Atrup, H., Tjonneland, A., 2004, Glutathione S-transferase T1 null-genotype is associated with an increased risk of lung cancer, *Int J Cancer*, 110, 219-224.
- Sugimura, T., Kumimoto, H., Tohnai, I., Fukui, T., Matsuo, K., Tsurusako, S., 2006, Gene-environment interaction involved in oral carcinogenesis: molecular epidemiological study for metabolic and DNA repair gene polymorphisms, *J Oral Pathol Med*, 35, 11-18.
- Sutow, E.J., Maillet W.A., Hall, G.C., 2006, Corrosion potential variation of aged dental amalgam restorations over time, *Dent. Mater.*, 22, 325-329.
- Takahashi, E.J., Tsuruta, S., Arimoto, M., Tanaka, H., Yoshida, M., 2003, Placental transfer of mercury in pregnant rats which received dental amalgam restorations, *Toxicology*, 185, 23-33.
- Tanaka, J., Hashimoto, T., Stansbury, J.W., Antonucci, J.M., Suzuki, K., 2001, Polymer properties on resins composed of UDMA and methacrylates with the carboxyl group, *Dental Materials Journal*, 20, 206-215.

- Tillberg, A., Jarvholm, B., Berglund, A., 2008, Risks with dental materials, *Dental Materials*, 24, 940-943.
- Turkish Ministry of Health, RSHC. The School of Public Health, National Burden of Disease and Cost Effectiveness Study (Burden of Disease Study), Ankara, 2004, [www.toraks.org.tr/pdf/ulusal\\_hastalik\\_yuku\\_maliyetetkililikTR.pdf](http://www.toraks.org.tr/pdf/ulusal_hastalik_yuku_maliyetetkililikTR.pdf) [Ziyaret Tarihi: 12 mayıs 2009]
- Unermori, M., Matsuya, Y., Akashi, A., Goto, Y., Akamine, A., 2001, Composite resin restoration and postoperative sensitivity: clinical follow-up in an undergraduate program, *J. Dent*, 29, 7-13.
- Uzun, İ.H., Bayındır, F., 2010, Testing procedures for biocompatibility of dental materials, *GÜ Diş Hek Fak Derg*, 28, 115-122.
- Vogelstein, B., Alberts, B., Shine, K., 2002, Genetics. Please don't call it cloning!, *Science*, 295, 1237.
- Vural, N., 2005, Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No; 73, Ankara, ISBN: 975-482-289-1.
- Walker, D.M., Boey, G., McDonald L., 2003, The pathology of oral cancer, *Pathology* 35 (5), 376-383.
- Warnakulasuriya, S., 2008, Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer, *Oral Oncol* 45 (4-5), 309-316.
- Wood, R.D., Mitchell, M., Sgouros, J., Lindahl, T., 2001, Human DNA repair, genes, *Science*, 291, 1284-1289.
- World Health Organization, 1978, Definition of leukoplakia and related lesions: an aid to studies to precancer, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 46, 517-539.
- World Health Organization, 1991, Environmental Health Criteria-118: Inorganic Mercury, WHO, Geneva, Switzerland.
- World Health Organization, 2004, The World Health Report: changing history, Geneva: WHO.
- World Health Organization, 2008, Report on the Global TOBA CCO Epidemic.

World Health Organization, 2008, 2009, World Cancer Report, 390.

Xie, D.Y., Zhang, W., Cao, L.F., Sun, W.Q., Li, Z.S., Gao, Q., Wu, Y.L., Yang, H.F., Zuo, J., 1990, Studies on the genotoxicity of glycidyl methacrylate, *Biomedical and Environmental Science*, 3, 281-289.

Yılmaz, H. H., Yazıhan, N., Tunca, D., Sevinç, A., Olcayto, E. Ö., Özgül, N., Tuncer, M., 2011, Cancer trends and incidence and mortality patterns in Turkey, *Jpn J Oncol*, 41 (1), 10-16.

Yu, Z., Chen, J., Ford, B.N., Brackley, M.E., Glickman, B.W., 1999, Human DNA repair systems: an overview, *Environ Mol Mutagen*, 33, 3-20.

Zamm, A. V., 1991, Dental Mercury: A Factor That Aggravates and Induces Xenobiotic Intolerance, *Journal of Orthomolecular Medicine*, 6, 2.

Zorba, Y.O., Yıldız, M., 2007, The biocompatibility tests and criteria for adhesive restorative materials, *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.*, 2, 15-21.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Buğra Özkubat  
**Uyruğu** : T.C.  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : Ereğli 1985  
**Telefon** : 0 542 782 56 12  
**Faks** :  
**e-mail** : biyologbugra@hotmail.com

### EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Alanya yabancı dil ağırlıklı lise Alanya Antalya	2003
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi Konya	2009
Yüksek Lisans	: Selçuk Üniversitesi Konya	2013
Doktora	:	

### İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2005	Başkent Üniversitesi Hastanesi Alanya	Staj
2006	Başkent Üniversitesi Hastanesi Alanya	Staj
2011	Westfälische Wilhelms Üniversitesi Münster Almanya	Erasmus

**UZMANLIK ALANI:** Moleküler Biyoloji ve Genetik

**YABANCI DİLLER:** İngilizce, Almanca, Rusça

### BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

### YAYINLAR

Gülbahçe, E., Özkubat, B., Arslan, E., 2010, Konya bölgesinden toplanan *Phaseolus vulgaris* (Leguminosae) populasyonları arasındaki genetik çeşitliliğin SDS-PAGE yöntemi ile belirlenmesi, *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 35, 59-64.