

Özgün araştırma makalesi

AMELX gen polimorfizminin cinsiyet ve çürük riski açısından değerlendirilmesi

Gül Yıldız,^{1*} R. Banu Ermiş²

¹Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Diş Hekimliği Fakültesi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Rize,

²Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Diş Hekimliği Fakültesi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, Türkiye

ÖZET

AMAÇ: Minenin gelişimi sırasındaki mineralizasyona katılan amelogenin proteini AMELX geni tarafından kodlanmaktadır. Bu proteindeki normalin dışındaki genetik değişiklikler minenin yapısını değiştirerek mineral kaybına ve çürük riskinin artmasına sebep olabilmektedir. Bu çalışmanın amacı, X kromozomunda yer alan AMELX genindeki tek nükleotid polimorfizminin, cinsiyet kromozom seti XX olan kadınların yüksek çürük risk grubunda daha fazla sayıda yer almasına neden olup olmayacağını araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Yaş aralığı 20-60 olan 'düşük çürük risk' (DMFT ≤5) grubundaki 77 birey ve 'yüksek çürük risk' (DMFT ≥14) grubundaki 77 bireyden alınan yanak içi sürüntü örneklerinden genomik DNA izolasyonu yapıldı. AMELX genine ait (+522, rs6639060) tek nükleotid polimorfizminin genotip ve alel dağılımları, PCR-RFLP yöntemi ile değerlendirildi. AMELX genine ait genotip ve alel dağılımlarının cinsiyet ve risk grupları açısından farklı olup olmadığını saptamak için ki-kare testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak belirlendi.

BULGULAR: Çalışmadaki kadın ve erkek bireylerin dağılımı açısından düşük ve yüksek çürük risk grubu arasında anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$). Düşük ve yüksek çürük risk grupları arasında yapılan karşılaştırmada AMELX (+522) gen polimorfizmi açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). Çalışmada AMELX (+522) gen polimorfizmi genotip (ki-kare=8.189, $p = 0.017$) ve alel dağılımı (ki-kare=10.006, $p = 0.002$), cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi. Buna göre TT homozigot polimorfik genotip dağılımı kadın bireylerde %41.7 iken erkek bireylerde %58.3 olarak, T polimorfik alel dağılımı ise kadınlarda %39.7 iken erkeklerde %60.3 olarak bulundu.

SONUÇ: AMELX (+522, rs6639060) gen polimorfizmi çürük riski ile ilişkili bulunmadı, polimorfik genotip ve alel sayısı

kadınlarda erkeklere oranla daha az gözlemlendi.

ANAHTAR KELİMELER: Amelogenin; cinsiyet; diş çürükleri; polimorfizm, tek nükleotid

KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN: Yıldız G, Ermiş RB. AMELX gen polimorfizminin cinsiyet ve çürük riski açısından değerlendirilmesi. Acta Odontol Turc 2017;34(3):81-5

EDITÖR: Neşe Akal, Gazi Üniversitesi, Ankara, Türkiye

YAYIN HAKKI: © 2017 Yıldız ve Ermiş. Bu eserin yayını hakkı [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) ile ruhsatlandırılmıştır. Sınırsız kullanım, dağıtım ve her türlü ortamda çoğaltım, yazarlar ve kaynağın belirtilmesi kaydıyla serbesttir.

[Abstract in English is at the end of the manuscript]

GİRİŞ

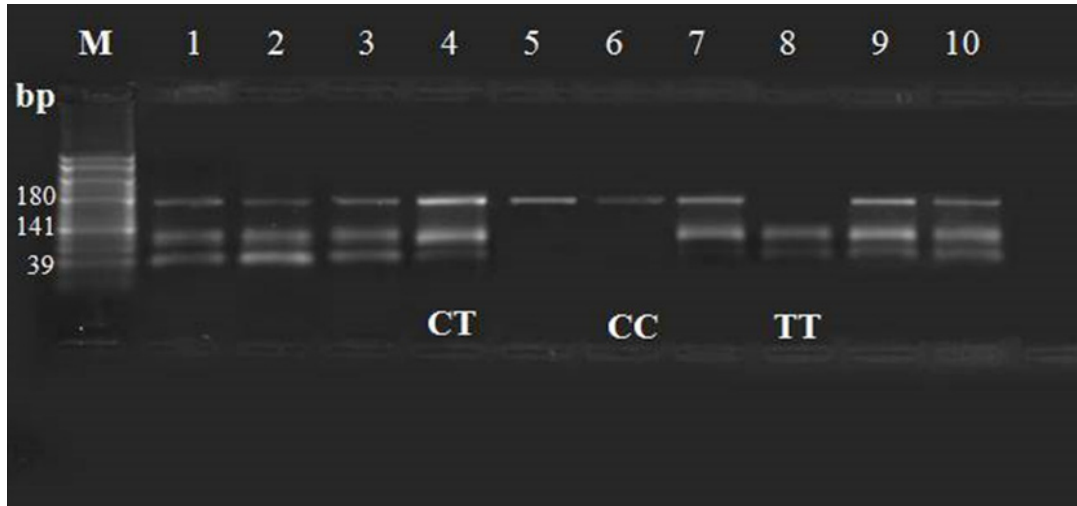
Ağız ortamında normal şartlarda belirli bir denge içerisinde birbirini izleyen demineralizasyon ve remineralizasyon olayları bakteri plağı varlığında bozulabilmekte ve demineralizasyonun ön plana geçmesi ile ortaya çıkan mineral kaybı sonucunda çürük meydana gelmektedir.¹⁻³ Diş çürüğü, etiolojisinde yer alan dört temel faktör olan biyofilim, diyet, zaman ve konak etkileşiminin bir sonucu olarak meydana gelmektedir.^{4,5} Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar ile diş çürüğünün oluşumuna neden olan ve çürüğe yatkınlığı artıran daha fazla risk faktörü belirlenmiştir.⁵

Cinsiyet ve kalıtım çürük riski açısından araştırılan risk faktörleridir. Yapılan epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda kadınların geçmiş çürük deneyiminin erkeklere göre daha yüksek oranda olduğu gösterilmiştir.⁶ Bunun sebebi olarak, kadınların tükürük akış hızı ve içeriğinin daha az koruyucu özellikte olması, beslenme alışkanlıklarındaki farklılıklar ve hamilelik dönemindeki hormonal değişiklikler gösterilmektedir.^{7,8} Ayrıca kadınlardaki cinsiyet kromozomunun X olması, kadınlardaki çürük sıklığının erkeklere göre daha yüksek olmasına yol açmaktadır.⁶

Populasyonda %1 veya daha fazla sıklıkta görülen DNA dizi değişiklikleri polimorfizm olarak olarak adlandırılmaktadır.^{9,10} Bu yönde yapılan çalışmalarda X kromozomu üzerinde yer alan genlere ait polimorfik dizi varyasyonlarının çürük riski ile ilişkili olduğu belirtilmektedir.^{5,11} Mine formasyonunu düzenleyen protein olan amelogenin, X kromozomunda bulunan

Makale gönderiliş tarihi: 03 Haziran 2016, Yayına kabul tarihi: 31 Aralık 2016
*İletişim: Gül Yıldız, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Rize, Türkiye;
E-posta: gulyildiz@gmail.com

Resim 1. AMELX geninin (+522) bölgesinin Msel restriksiyon enzimiyle kesim yapıldıktan sonraki jel elektroforez görüntüsü



M: moleküler markör; bp: baz çifti; CC homozigot normal 180 baz çifti uzunluğunda tek parça; CT heterozigot normal 180, 141 ve 39 baz çifti uzunluklarında üç parça; TT homozigot polimorfik 141 ve 39 baz çifti uzunluğunda iki parça

AMELX geni tarafından kontrol edilmektedir. Bu gendeki değişikliklerin minenin düzensiz oluşmasına sebep olarak çürüğe karşı hassasiyeti artırdığı bildirilmektedir.⁶

Bu çalışmanın amacı; X kromozomunda yer alan AMELX genindeki tek nükleotid polimorfizminin (TNP), cinsiyet kromozom seti XX olan kadınların yüksek çürük risk grubunda daha fazla sayıda yer almasına neden olup olmayacağını araştırılmasıdır. Bu amaçla çalışmadaki temel hipotezimiz, yüksek çürük risk grubunda yer alan kadınların sayısının daha fazla olacağı şeklindedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı Kliniği ve Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanan gönüllü olur formları her katılımcıya imzalatıldı (B.30.2.SDÜ.0.20.05.07-50/3932). Çalışmaya 20-60 yaş aralığındaki bireyler katıldı. Çalışma grubunda DMFT \geq 14 olan yüksek çürük riskli 77 birey, kontrol grubunda ise DMFT \leq 5 olan düşük çürük riskli 77 birey yer aldı.^{12,13} Araştırmaya nörolojik, mental, sistemik ve genetik hastalığı bulunan, düzenli ilaç kullanan ve dental florozisi olan hastalar dahil edilmedi.

Klinik ve radyolojik değerlendirmenin sonunda WHO kriterlerine göre geçmiş çürük deneyimi için DMFT değeri hesaplandı. Klinik muayenede reflektör ışığı, ayna ve sond kullanılarak dişlerin tüm yüzeyleri çürük açısından değerlendirildi. Arayüz çürüklerinin tespiti için dijital panoramik radyografilerden yararlanıldı. Dijital radyografide çürük teşhisini engelleyen süperpozisyonların olması durumunda sağ ve sol

posterior bölgeden iki adet ısırtma radyografisi (E-speed film, Planmeca, Helsinki, Finlandiya) alındı. Klinik ve radyolojik değerlendirmenin sonunda çürük dişlerin (D), çürük nedeniyle çekilmiş dişlerin (M) ve dolgulu dişlerin (F) sayısı toplanarak her hastaya özgü DMFT değerleri saptandı.¹³

DNA izolasyonu için hastaların yanak içi mukoza dokusundan sürüntü örnekleri alındı (Saliva Gene Buccal Swab, Stratec Molecular GmbH, Berlin, Almanya). İçerisinde, Proteinaz K, Binding Buffer A, Wash Buffer 1, Wash Buffer 2 ve Elution Buffer D bulunan DNA izolasyon kiti (PSP SalivaGene DNA, İnvitex, Berlin, Almanya) kullanılarak örneklerin laboratuvar ortamında izolasyonu sağlandı.

AMELX geni, X kromozomunda p22.31-p22.1'de lokalize 835 baz çifti uzunluğunda ve 7 eksone sahiptir. Çalışmamızda incelenmek üzere sekans numarası rs6639060 olan, AMELX (+522) polimorfizmi seçildi. Söz konusu polimorfizmde Sitozin bazının Timine (C/T) dönüşmesi sonucu, Lösin (Leu) aminoasitinde değişiklik gözlenmemektedir.¹⁴ İzole edilen DNA örneklerinden AMELX (+522) polimorfizminin bulunduğu bölge polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile çoğaltıldı. Çoğaltılan DNA örnekleri üzerinde Msel kesim (restriksiyon) enzimi (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, ABD) kullanılarak 'Kısıtlayıcı Enzim Kesimi Parça Uzunluğu Polimorfizmi' tekniği ile kesim reaksiyonu gerçekleştirildi. Kesim yapılan DNA örneklerinin elektroforez cihazında jel üzerinde yürütülmesi sonucu birbirinden ayrılması sağlandı. Yürütme sonrası ayrılan parçalar jel üzerinde bant şeklinde görüntüldü ve bantların büyüklükleri transillüminatör cihazında (Ultra-Lum Inc., Claremont, CA, ABD) değerlendirildi. Değerlendirme sonucunda DNA örneğinin genotip görünümü CC ise homozigot normal, CT ise heterozigot normal, TT ise homozigot polimorfik olduğuna karar verildi (Resim 1).

Düşük ve yüksek çürük risk grupları arasında cinsiyet açısından fark olup olmadığı ki-kare (χ^2) testi ile incelendi. *AMELX* genine ait genotip ve alel dağılımlarının cinsiyet ve risk grupları açısından farklı olup olmadığını saptamak için χ^2 testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya katılan 20-60 yaş aralığındaki bireylerin yaş ortancası (medyan) 28.0 (çeyreklikler arası genişlik=19.0; min=20.0; maks=60.0) olarak saptandı. Çalışmadaki düşük ve yüksek çürük risk grubunda eşit sayıda birey yer aldı ($n=77$). Kadın ve erkek bireylerin dağılımı açısından düşük ve yüksek çürük risk grubu arasında fark yoktu ($p=0.871$; Tablo 1).

Düşük ve yüksek çürük risk grubundaki bireylerin *AMELX* genine ait genotip ve alel frekans dağılımlarına göre istatistiksel olarak karşılaştırılmaları Tablo 1'de gösterilmektedir. *AMELX* geninin CC homozigot normal genotipi düşük çürük risk grubunda %50.9, yüksek çürük risk grubunda %49.1, TT homozigot polimorfik genotipi düşük risk grubunda %50.0, yüksek çürük risk grubunda %50.0 olarak bulundu. Düşük ve yüksek çürük risk grupları arasında *AMELX* genotip dağılımları açısından istatistiksel açıdan anlamlı fark gözlenmedi ($p=0.889$; Tablo 1).

Düşük ve yüksek çürük risk grubuna ait bireyler *AMELX* geninin alel frekans dağılımları açısından karşılaştırıldıklarında her iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.784$; Tablo 1).

AMELX (+522) polimorfizminin cinsiyet değişkenine bağımlı olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılan ki-kare testi sonuçları Tablo 2'de gösterilmiştir. Buna göre *AMELX* genine ait genotip dağılımı ile cinsiyet arasında anlamlı farklılık olduğu belirlendi ($p=0.017$). *AMELX* geni genotipi CC (homozigot normal) olanların %63.6'sının ve TT (homozigot polimorfik) olanların %41.7'sinin kadın olduğu saptandı (Tablo 2). *AMELX* geni alel frekansı C (normal) olanların %61.2'sinin ($n=147$) ve alel frekansı T (polimorfik) olanların %39.7'sinin ($n=27$) kadınlardan oluştuğu bulguları ($p=0.002$; Tablo 2).

TARTIŞMA

Geçmişte diş çürüğünün etiolojisi üzerine genetiğin etkisi önemsenmemiş olsa da zamanla tek ve çift yumurta ikizlerini kapsayan geniş popülasyon çalışmalarının gerçekleşmesi ve genetik haritalama çalışması ile diş çürüklerinin genetik temelleri araştırılmıştır.⁵ Çürükle ilişkili genomik bölgelerin tespiti için yapılan insan genom projesi sonucu 5q13.3, 14q11.2, ve Xq27.1 lokuslarının çürük yatkınlığının düşük olmasıyla ilgili olduğu tespit edilmiştir.^{5,11} *AMELX* geni X kromozomunda p22.31-p22.1'de yer almakta ve minenin gelişimi sırasındaki mineralizasyonda rol oynayan amelogenin proteinini kodlamaktadır.^{15,16} Genom veri tabanlarından biri

Tablo 1. Düşük çürük risk gruplarında ($n=77$) ve yüksek çürük risk gruplarında ($n=77$) cinsiyet ve *AMELX* genine ait genotip ve alel dağılımı (ki-kare testi, $p < 0.05$)

	Düşük çürük risk grubu (DMFT ≤ 5) n (%)	Yüksek çürük risk grubu (DMFT ≥ 14) n (%)	p değeri (χ^2 testi)
Cinsiyet			
Kadın	44 (50.6)	43 (49.4)	0.871
Erkek	33 (49.3)	34 (50.7)	
Genotip			
CC (homozigot normal)	56 (50.9)	54 (49.1)	0.889
CT (heterozigot normal)	9 (45.0)	11 (55.0)	
TT (homozigot polimorfik)	12 (50.0)	12 (50.0)	
Alel			
C (normal)	121 (50.4)	119 (49.6)	0.784
T (polimorfik)	33 (48.5)	35 (51.5)	

Tablo 2. *AMELX* (+522) polimorfizminin cinsiyet değişkenine bağımlı olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılan ki-kare testi sonuçları

<i>AMELX</i> (+522)	Erkek, n (%)	Kadın, n (%)	χ^2	P değeri
Genotip				
CC (homozigot normal)	40 (36.4)	70 (63.6)	8.189	0.017
CT (heterozigot normal)	13 (65.0)	7 (35.0)		
TT (homozigot polimorfik)	14 (58.3)	10 (41.7)		
Alel				
C (normal)	93 (38.8)	147 (61.2)	10.006	0.002
T (polimorfik)	41 (60.3)	27 (39.7)		

olan Ensembl veri tabanında *AMELX* geni için 76 TNP girişinin mevcut olduğu tespit edilmiştir.¹⁴ Çalışmamızda *AMELX* genine ait seçilen polimorfizm, Lösin (Leu) aminoasitinde değişiklik oluşturmeyen *AMELX* (+522, rs6639060) polimorfizmidir. Yapılan çalışmalarda bu polimorfizmin çürük riski ile ilişkisinin sadece çocuklarda araştırılması ve gen çalışmalarında sonuçların başka araştırmalarla da desteklenmesi gerekliliği göz önünde bulundurularak *AMELX* (+522, rs6639060) polimorfizmi ile çalışılmasına karar verilmiştir.^{5,17,18}

Çalışmamızda yer alan çürük riski düşük (DMFT ≤ 5) ve çürük riski yüksek (DMFT ≥ 14) olan 20-60 yaş aralığındaki erişkin bireylerde *AMELX* (+522, rs6639060) polimorfizmi ile çürük arasında ilişki gözlenmemiştir. Bu sonuç 2008 yılında *AMELX* gen polimorfizmi ve çürük arasında ilişki bulan iki çalışmadan farklılık göstermektedir.^{15,19} Çalışmalardan Deeley ve ark.¹⁵ 14-60 yaş arasındaki genç ve erişkinlerde *AMELX* gen

polimorfizminin (hCV2190967), amelogenin proteinini etkileyerek mine prizmalarının düzensiz yerleşmesine neden olduğunu dolayısıyla Guetemala toplumundaki bireylerin çürük yatkınlığını yükselttiğini bildirmiştir. Çalışmamızdan farklı olarak erişkin bireylerde *AMELX* gen polimorfizmi ve çürük arasında ilişkinin bulunması, bu araştırmanın Guetemala toplumunda gerçekleşmesine bağlanabilir. Patir ve ark.¹⁹ ise Türk toplumundaki 3-6 yaş arasındaki çocuklarda *AMELX* genindeki polimorfizmin (rs17878486), minenin yapısını değiştirerek asidik ortamda mineral kaybını artırdığı ve karyojenik bakterilerin diş yüzeyine tutunmasını kolaylaştırdığını bildirmiş ve bu polimorfizmin çürüğe yatkınlığı artırabileceğini saptamıştır. Çalışmanın Türk toplumunda gerçekleştirilmiş olmasına rağmen, *AMELX* gen polimorfizminin süt dişlerindeki çürük ile ilişkilendirilmesi, erişkin bireylerin daimi dişlerinde gerçekleştirilmiş olan çalışmamızın sonuçlarından farklılık göstermesine neden olmuş olabilir. Nitekim süt ve daimi dişler üzerinde farklı genlerin etkili olması veya aynı genin süt ve daimi dişler üzerinde farklı etkiler göstermesi dolayısıyla bebek ve erişkinler üzerinde genetik etkinin farklı olabileceği bildirilmiştir.^{20,21}

Çalışmamızın bulgularına benzer olarak, Yıldız ve arkadaşlarının²² 2016 yılında Türk toplumundaki erişkin bireylerde, Olsowski ve arkadaşlarının¹⁸ 2012 yılında Polonyalı çocuklarda ve Ouryouji ve arkadaşlarının¹⁷ 2008 yılında Japon çocuklarda yapmış oldukları çalışmalarda da *AMELX* (+522, rs6639060) polimorfizmi ile çürük riski arasında ilişki bulunamamıştır. Bu sonuç farklı toplumlar üzerinde *AMELX* (+522, rs6639060) polimorfizminin etkisinin farklı olmadığını destekler niteliktedir.

Cinsiyet kromozomu olarak kadınlarda XX, erkeklerde ise XY kromozomu bulunmaktadır. Kadınların çürüğe karşı daha duyarlı olmasının sebebi X kromozomu üzerinde yer alan gen varyasyonlarına bağlanabilmektedir.^{6,20} Bu gen değişimlerinin, mine matriksinin düzensiz oluşmasına sebep olduğu ve kadınların ağız florasını değiştirerek çürüğün başlamasına uygun ortamı meydana getirdiği bildirilmiştir.⁶ Erkeklerde ise *AMELX* geninin yanında *AMELY* geni yer almaktadır. Erkeklerdeki *AMELY* geninin aktif ve normal olarak ikiye ayrıldığı belirtilmektedir. Eğer erkek birey, aktif *AMELY* geni taşıyorsa, bu genin *AMELX* genindeki değişikliklerin kompanse edilmesini sağladığı ve böylece çürük riskinin erkeklerde kadınlara göre daha az olmasına yol açtığı ifade edilmiştir.^{6,20} Çalışmamızda düşük ve yüksek çürük riskli grupta cinsiyet dağılımı anlamlı farklılık göstermezken, *AMELX* genine ait (+522) polimorfizme erkeklerde daha fazla rastlanmıştır. *AMELX* gen polimorfizminin kadınlara oranla erkeklerde daha fazla oranda görülmesi, erkek bireylerin cinsiyet kromozomundaki *AMELY* geninin aktif olmasına, dolayısıyla erkeklerde polimorfik X alelinin Y aleli tarafından kompanse edilememesine bağlanabilir. Çalışmanın limitasyonu olarak *AMELX* genine ait daha fazla tek nükleotid polimorfizmi ile çalışılması genetiğin cinsiyet ve çürük riski ile olan ilişkisini daha net ortaya çıkarabilir.

SONUÇ

Sonuç olarak çalışmada, *AMELX* (+522, rs6639060) gen polimorfizmi çürük riski ile ilişkili bulunmamış, polimorfik genotip ve alel sayısı kadınlarda erkeklere oranla daha az gözlenmiştir. Ayrıca, düşük ve yüksek çürük risk grubunda yer alan kadın ve erkek sayısının dağılımı arasında fark olmadığı sonucuna varılmıştır. İleride yapılacak olan araştırmalarda *AMELX* genine ait çalışmamızda incelenen polimorfizm bölgesi yerine diğer tek nükleotid değişikliklerinin veya cinsiyet kromozomlarında lokalize olan farklı genlerin değerlendirilmesi çürük riskinin cinsiyet ile bağlantısını daha net ortaya çıkarabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Fejerskov O, Kidd E. Dental Caries the Disease and Its Clinical Management, 1st edn. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2000.
2. Koray F. Diş Çürükleri, İstanbul: Altın Matbaacılık; 1981.
3. Newburn, E. Cariology, 3rd edn. Chicago: Quintessence Publishing Co. Inc; 1989.
4. Evans R, Lo E, Darwell B. Determinants of variation in dental caries experience in primary teeth of Hong Kong children aged 6-8 years. Community Dent Oral Epidemiol 1993;21:1-3.
5. Werneck RI, Mira MT, Trevilatto PC. A critical review: an overview of genetic influence on dental caries. Oral Dis 2010;16:613-23.
6. Ferraro M, Vieira AR. Explaining gender differences in caries: A multifactorial approach to a multifactorial disease. Int J Dent 2010;2010:649643.
7. Reich E, Lussi A, Newbrun E. Caries risk assessment. Int Dent J 1999;49:15-26.
8. Basavaraj P, Khuller N, Khuller RI, Sharma N. Caries risk assessment and control. J Oral Health Comm Dent 2011;5:58-63.
9. Lüleypap HÜ. Moleküler Genetiğin Esasları. Ankara: Nobel Kitabevi; 2008.
10. Ekmekçi A, Konaç E, Önen Hİ. Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. Marmara Med J 2008;21:282-95.
11. Vieira AR, Modesto A, Marazita ML. Caries: Review of Human Genetics Research. Caries Res 2014;48:491-506.
12. Vieira AR, Marazita ML, Goldstein-McHenry T. Genome-wide scan finds suggestive caries loci. J Dent Res 2008;87:435-39.
13. World Health Organization. Oral Health Surveys: Basic Methods, 4th ed. Geneva: 1997.
14. Ensembl.org [Internet]. Hinxton: Ensembl genome browser [updated 2016 Oct; cited 2016 Feb 13]. Available from: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000125363;r=X:11293413-11300761
15. Deeley K, Letra A, Rose EK, Brandon CA, Resick JM, Marazita ML, et al. Possible association of amelogenin to high caries experience in a Guatemalan-Mayan population. Caries Res 2008;42:8-13.
16. Kang SW, Yoon I, Lee HW, Cho J. Association between *AMELX* polymorphisms and dental caries in Koreans. Oral Dis 2011;17:399-406.
17. Ouryouji K, Imamura Y, Fujigaki Y, Oomori Y, Yanagisawa S, Miyazawa H, et al. Analysis of mutations in the amelogenin and the enamel genes in severe caries in Japanese pediatric patients. Pediatr Dent J 2008;18:79-85.
18. Olszowski T, Adler G, Janiszewska-Olszowska J, Safranow K, Kaczmarczyk M. MBL2, MASP2, *AMELX*, and ENAM gene polymorphisms and dental caries in Polish children. Oral Dis 2012;18:389-95.
19. Patir A, Seymen F, Yildirim M, Deeley K, Cooper ME, Marazita

ML, et al. Enamel formation genes are associated with high caries experience in Turkish children. *Caries Res* 2008;42:394-400.

20. Renuka P, Pushpanjali K, Sangeetha R. Review on "Influence of host genes on dental caries". *J Med Dent Sci* 2013;4:86-92.

21. Wang X, Willing MC, Marazita ML, Wendell S, Warren JJ, Broffitt B, et al. Genetic and environmental factors associated with dental caries in children: the Iowa Fluoride Study. *Caries Res* 2012;46:177-84.

22. Yıldız G, Ermiş RB, Calapoglu NS, Celik EU, Turel GY. Gene-environment interactions in the etiology of dental caries. *J Dent Res* 2016;95:74-9.

Evaluation of *AMELX* gene polymorphism regarding gender and caries risk

ABSTRACT

OBJECTIVE: *AMELX* is the gene encoding amelogenin, which is involved in biomineralization during tooth enamel development. The genetic variation of this protein contributes to structural alterations of the enamel that may cause mineral loss and increased caries risk. The aim of this study was to investigate whether single nucleotide polymorphism of *AMELX* located on the X chromosome led to greater number of women (XX chromosome set) in the high caries risk group.

MATERIALS AND METHOD: Genomic DNA was extracted from the buccal mucosa of 77 adults with 'low caries risk group' (DMFT \leq 5) and 77 adults with 'high caries risk group' (DMFT \geq 14) aged 20-60 years. The allele and genotype frequencies of *AMELX* (+522, rs6639060) single nucleotide polymorphism (SNP) were genotyped with the PCR-RFLP method. The difference of allele and genotype frequencies of *AMELX* across gender and risk groups was compared with the chi-square test. The level of significance was set at $p < 0.05$.

RESULTS: There was no significant difference between the low and high caries risk groups in relation to gender ($p > 0.05$). No significant difference was found regarding the distribution of *AMELX* (+522) gene polymorphism between the low and high caries risk groups ($p > 0.05$). Differences between the two genders for allele (chi-square=10.006, $p=0.002$) and genotype (chi-square=8.189, $p=0.017$) frequencies of *AMELX* (+522) were statistically significant. The frequency of TT polymorphism was found to be 41.7% in women and 58.3% in men. The frequency of T allele was found to be 39.7 % in women and 60.3% in men.

CONCLUSION: *AMELX* (+522, rs6639060) gene polymorphism was not associated with caries risk, and the number of polymorphic genotypes and alleles was lower in women than in men.

KEYWORDS: Amelogenin; dental caries; gender; polymorphism, single nucleotide