

MİKROARRAY TEKNOLOJİSİ VE DİŞ HEKİMLİĞİ'NDE KULLANIMI

MICROARRAY TECHNOLOGY AND USE IN DENTISTRY

Dt. Özge ŞİMŞEK*

Makale Kodu/Article code: 891
Makale Gönderilme tarihi: 07.08.2012
Kabul Tarihi: 12.09.2012

ÖZET

Son yıllarda bilgisayar teknolojileri ile moleküler biyoloji tekniklerindeki ilerlemeler her iki tekniğin birlikte kullanılmasına olanak tanımaktadır. Moleküler biyolojik yöntemlerdeki gelişmeler ile son yıllarda mikroarray teknolojisi ön plana çıkmıştır. Mikroarray teknolojisi, geleneksel yöntemlerin aksine aynı anda pek çok genin araştırılmasına olanak sağlayan yeni analitiksel metodlar sunmaktadır. Bu teknik özellikle tıp alanı olmakla birlikte; biyoloji, mikrobiyoloji, genetik gibi pek çok alanda da kullanılmaktadır. Farklı amaçlara uygun pek çok mikroarray tipi mevcuttur.

Diş hekimliğinde mikroarray tekniğinin kullanımı son yıllarda yeni gelişmekte olan bir sistemdir. Bu yöntem ile aynı anda pek çok genin incelenebilmesinden dolayı genetik yatkınlıkla ilgili birçok çalışma için bu tekniğin avantajlı olacağı düşünülmektedir. Hastalıkların teşhisi ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde mikroarray teknolojilerinin yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

Bu derlemenin amacı mikroarray yöntemini tanıtmak ve bu yeni gelişmekte olan biyoinformatiksel yöntemin diş hekimliği alanında kullanımı hakkında bilgi vermektir.

Anahtar Kelimeler: Mikroarray, diş hekimliği, periodontal hastalıklar

ABSTRACT

In recent years, the advances in the computer technologies and molecular biology techniques opened the door to use these techniques together. Microarray technology is based on using new methods which provide the detection of many genes at the same time within one sample. Although the microarray technologies are used particularly in medical science, they are also, used in biological, microbiological and genetical sciences. There are many types of microarray technologies which are used for different purposes.

Currently, using microarray techniques bloomed in dental research area. This technique seemed to be very advantageous, as many genes can be detected at the same time unit in the studies which are related with genetic susceptibility. It is considered that, microarray technology is a guide method in the diagnosis of diseases and development of new treatment procedures.

The purpose of this review is to make known the microarray method and give information how to use this bioinformatic methods in dentistry.

Key words: Microarray, dentistry, periodontal disease.

Doğadaki canlıların tümüne yakın kısmının genetik materyali deoksiribonükleik asit (DNA)'tir. Birbirini tamamlayıcı ikili sarmal yapıda uzun bir polimer olan DNA'nın temelini şeker ve fosfat tekrarları oluşturur ve nükleotid baz çiftlerinin farklı diziler halinde sıralanması ile genetik bilgi oluşur. Bir bireyin taşıdığı tüm genler ise "genom" olarak adlandırılmaktadır.¹

Ribonükleik asit (RNA), nükleotitlerden oluşan tek sarmallı bir polimerdir. Her nükleotid bir azotlu baz, bir riboz şeker ve bir fosfattan oluşur. RNA ; DNA'da taşınan genetik bilginin proteine çevirisi (translasyon) ile ilişkili çeşitli süreçlerde de yer alır.²

DNA ve RNA'nın protein yapı ve işlevinin incelenmesinde, yeni genlerin bulunmasında veya transkripsiyon farklılıklarının ve genetik koddaki küçük

* Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı



farklılıklar olarak bilinen "polimorfizmlerin" belirlenmesinde etkin bir şekilde kullanılan biyoinformatiksel yaklaşımlar günümüzde çok önemli bir yere sahiptir. Moleküler biyoinformatik; büyük moleküllerle (DNA, RNA, protein) ilgili her türlü bilginin toplanması, sınıflandırılması, uygun formata getirilerek analiz edilmesi, analizlerin yorumlanması ve bu bilgilerin ham veya işlenmiş olarak veri tabanlarında paylaşımını sağlayarak biyoloji, bilgisayar ve istatistik bilimlerinin ortak olarak kullanımını sağlamaktadır.^{3, 4}

Son yıllarda bilgisayar teknolojisi ve moleküler biyolojik yöntemlerdeki gelişmeler ile iki disiplinin birlikte çalışması mümkün hale gelmiştir. Moleküler biyolojideki geleneksel metotlarda genellikle "bir deneyde bir gen" ilkesi geçerlidir. Yani; aynı çalışmada gen fonksiyonlarının tamamını görmek geleneksel yöntemlerle zordur.^{5, 6} Gen çip teknolojisi olarak da adlandırılan yeni yöntemler ile bütün genomun görüntülenmesi sağlanır ve bu metod aynı anda binlerce genin birbirleriyle olan etkileşimlerinin görülmesine olanak tanır.⁵ Binlerce genin tek bir çalışmada incelenmesi esasına dayanan mikroarray teknolojilerinin ilk girişimleri 1990'ların başında Schena⁷ tarafından gerçekleştirilmiştir.^{8, 9} Bu teknoloji tek seferde çok sayıda genin ekspresyon düzeyinin incelenmesine olanak tanıyan bir teknolojidir ve binlerce DNA'nın aynı anda analiz edilebilmesini sağlamaktadır.¹⁰

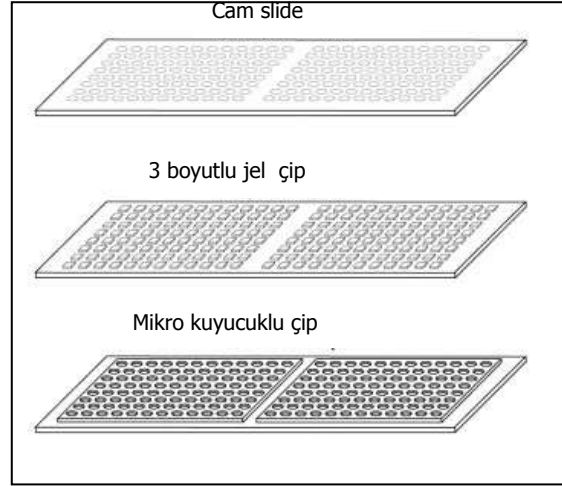
Yöntem ve ortaya çıkış metodlarında bazı küçük farklar olmasına rağmen "DNA array", "DNA çip" ve "mikroçip" gibi tanımlamalar da benzer uygulamaları ifade etmek için kullanılmaktadır.¹¹

DNA mikroarray; plastik, silikon veya cam gibi küçük bir yüzeye tutturularak sıralı bir şekilde oluşturulmuş mikroskobik DNA spotlarıdır.^{6,10} En basit array mikroskop lamının yüzeyine binlerce DNA molekülünün noktalar halinde değişik yöntemlerle sabitlenmesiyle oluşturulur. Çalışılacak örnekler çeşitli işlemlerden geçtikten sonra bu noktacıklar (kuyucuk) içerisine konulur.

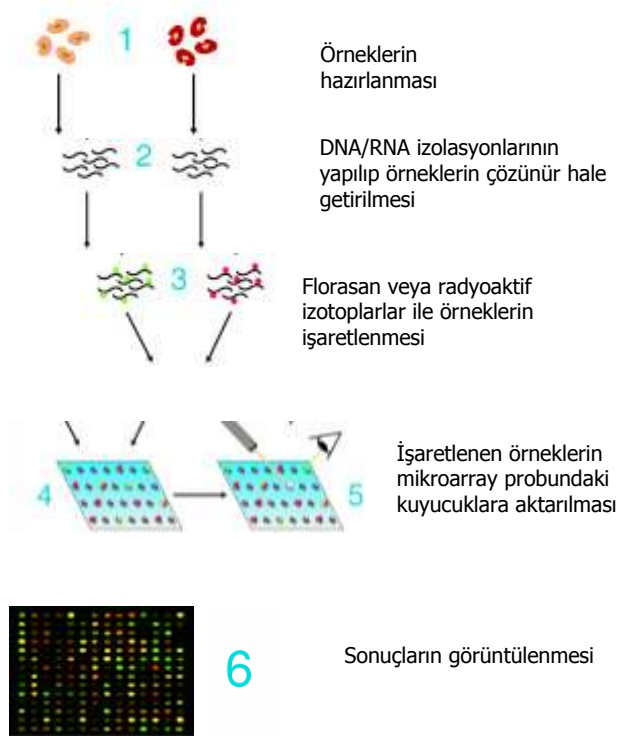
Genel olarak kullanılan üç farklı mikroarray tipi bulunmaktadır. Bunlar; DNA çipleri, cam membran bazlı mikrodizilimleri veya naylon membran mikrodizilimleri şeklinde olabilir.³ (Şekil 1).

Mikroarraylerin çalışma prensibinde incelenecek olan örnekler öncelikle sıvı hale getirilir ve gerekli ise DNA veya RNA izolasyonu yapılır. Ardından örnekler florasan işaretleyiciler ile (Cy3 -yeşil, Cy5- kırmızı)

işaretlenir ve mikroarray lamellerinin kuyucuklarına yerleştirilip görüntü almayı sağlayan lazer veya kemiluminesans yazıcıya gönderilip elde edilen görüntüler ilgili bilgisayar programından faydalanarak analiz edilir.¹² Mikroarray yöntemlerinin çalışma prensibi Şekil 2 'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Mikroarrayler için kullanılan farklı prob türleri



Şekil 2. Mikroarray yönteminin çalışma prensibi¹²

Mikroarraylerin kullanım alanları:

Mikroarray'ler ilk olarak tıp alanında, gen ekspresyon analizlerinde kullanılmıştır. Buna ek olarak gen profillerinin araştırılması, genotipleme, mutasyon taraması, polimorfizm analizleri ve evrimsel çalışmalarda da kullanılabilir. ¹³ Ayrıca araştırmacılar mikroarray'i farklı profiller gösteren doku türleri ve farklı süreçlerde bulunan bakteriyel hücreleri saptamak ve değerlendirmek için de kullanmışlardır. ^{13, 14} Buradan yola çıkarak mikroarray yönteminin; hastalıkların patolojisinde ve ilerlemesinde hangi spesifik gen ekspresyonundaki farklılıkların rolünün olduğunu ortaya koyduğunu ve genetik yatkınlıkların tespit edilmesi için öngörü sağladığını söylemek mümkündür. ^{5,15}

Bu yöntemin diğer kullanım alanları aşağıdaki gibi sıralanmıştır ^{10, 11}:

- 1-Çeşitli fizyolojik veya patolojik süreçlerdeki gen ekspresyon değişimlerin incelenmesi,
- 2-Doku ve/veya hücre fenotip analizleri,
- 3-Polimorfizm analizleri,
- 4- Mutasyon analizleri,
- 5-DNA dizi analizleri
- 6- Potansiyel terapötik ajanların bulunması, geliştirilmesi ve klinik kullanımının değerlendirilmesi.

Mikroarrayler kullanım amaçlarına göre özelleştirilerek de üretilebilmektedirler. Örnek alınan doku ve/veya sıvının kaynağına göre insan, sıçan veya fare; bakılacak belirteçlere göre enflamasyon array, sitokin array, kemokin array ve anjiyogenezis array olarak (üretici firmaya göre değişiklik gösterebilir) ayrılabilir. ¹⁰

Dişhekimliğinde Mikroarraylerin Kullanımı:

Diş hekimliğinde mikroarray teknolojisinin uygulamaları yeni olmakla birlikte bu yöntem, diğer yöntemlere göre daha hassas olduğu ve aynı anda pek çok geni birden tespit ettiği için çeşitli gen ekspresyon analizlerinde kullanılmaktadır. ¹⁵ Mikroarray ile tanımlanan ilk ökaryotik genom ise *Saccharomyces cerevisiae*'nininki olmuştur. ¹⁶

Birçok farklı mikroarray sistemleri farklı amaçlarla diagnostik olarak veya tedavi için yeni stratejilerin belirlenmesinde kullanılabilir. Örneğin; mezenşimal hücrelerden gen ekspresyon analizleri yapılarak rejenerasyonda farklı hücre tiplerinin etkisini saptamada veya rejenerasyon amaçlı kullanılan tedavi yöntemlerinin etkinliğinin değerlendirilmesinde, DNA

ekspresyon yöntemlerini kullanan mikroarray sistemleri kullanılmıştır. ¹⁷⁻¹⁹

Luan ve ark. nın çalışmasında ²⁰ hayvan modellerinde mandibulalardan dişlerin kökünü, sementini, periodontal ligamentini ve alveoler kemiği içeren kesitler alınmıştır. Bu kesitlerden mRNA izolasyonları yapıp cDNA'ya çevirilmiş ve ekstraselüler matriks ve adezyon molekülleri gen arrayi kullanılmıştır. Sonuç olarak ilgili bilgisayar yazılımı kullanılarak ekstraselüler matriks ve adezyon moleküllerine cevap olarak 96 tane genin ilişkisi tanımlanmıştır. ²⁰

Antibiyotik tedavileri günümüzde tüm enfeksiyon hastalıklarında olduğu gibi diş hekimliğinde de sıkça kullanıma başvuru alan antienfektif bir tedavi seçeneğidir. Enfeksiyonları önlemede etkili olmasına rağmen son yıllarda sık antibiyotik kullanılması ile dirençli bakteri suşlarının gelişimi, hastalıkların tedavisinde risk oluşturmaktadır. Direnç oluşumunu engellemek için hastalık etkeni bakteriler kültür yöntemi, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) vs gibi yöntemler ile tespit edilmeli ve bu bakterilere uygun antibiyotik seçilmelidir. Bunun için antibiyotik duyarlılık testi gibi testleri uygulamak gerekmektedir. ²¹ Bu durum klinik koşullarında her zaman mümkün olmayabilir, ayrıca bazı türlerin kültüre edilmesi zordur. ²² DNA mikroarray yöntemi bu konuda da çok faydalı olmaktadır. Kültüre edilemeyen bakteri türlerinin bile genomik DNA'sının tespiti ile küçük miktarlarda örneklerden çok sayıda bakteri türü kısa sürede ve aynı anda tespit edilebilmektedir. ^{7, 23}

Mikroarrayler, günümüzde oral kanserlerin teşhisi ve tespitinde de kullanılmaktadır. ²⁴ Lökoplakiler gibi ağız içi beyaz lezyonlar prekanseröz özellikler gösterebildiğinden ve maliniteye dönüşme riski olmasından dolayı bu lezyonların çok iyi teşhis edilmesi ve takibi gerekmektedir. ^{25,26} Klasik mikroskopik incelemeler bu lezyonların teşhisi için eksik kalabilmektedir, çünkü mikroskopik inceleme amacıyla bu lezyonlardan sınırlı bir miktar örneklenebilir ve alınan sonuç yanıltıcı olabilir. ²⁷ Ağız içi lezyonlardan gen ekspresyon profilinin veya gen haritasının çıkarılması, klinisyenlere beyaz lezyonları prekanseröz lezyonlardan veya erken dönemdeki malign lezyonlardan ayırt etme imkanı vermektedir. ^{25, 28}



Mikroarray Teknolojisinin Periodontoloji Alanında Kullanımı

Periodontal hastalıklar gibi kronik enflamatuvar hastalıkların gelişiminde mikroorganizmalar ve/veya ürünleri ile konak cevabı arasındaki ilişkinin daha detaylı anlaşılabilmesi için günümüze kadar pek çok teknolojiye dayanılarak gerçekleştirilmiştir.^{4,29-31} Periodontal hastalıklarda pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar yanıtın belirlenmesi³², patojenlerin tanımlanması³³, konak doku- mikroorganizma ilişkisinin açıklanması¹⁵, konak yatkınlığının saptanması gibi birçok çalışmada mikroarray teknolojisi kullanılmaktadır.³⁴⁻³⁶ Bu çalışmaların bir kısmında pro-enflamatuvar sitokinlerle stimüle edilmiş gingival fibroblastlar ile konak dokuda bunlara karşı gelişen enflamatuvar yanıtlar araştırılmıştır.^{37, 38} Çalışmalarda mikroarray teknolojisi kullanılarak konak dokuda enflamatuvar yanıtın gelişmesinde hangi sitokinlerin rolü olduğu, bazılarının miktarında artış gözlenirken, bazılarının konsantrasyonlarının azaldığı gözlenmiştir.^{37, 38}

Periodontal hastalıkların tanısında ve hastalıklarla ilgili biyolojik belirleyicilerin ve mikrobiyal türlerin saptanmasında pek çok çalışmada dişeti oluşu sıvısı, serum, subgingival plak ve dişeti dokusu gibi örneklerden yararlanılmıştır.^{39,40} Bu örneklerden hastalık etkeni belirleyicilerin tespiti için günümüze kadar birçok yöntem denenmiştir (ELISA-(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), PZR, Flow sitometri, DNA hibridizasyon, enzimatik ve mikrobiyolojik yöntemler).⁴¹ Geleneksel yöntemlerin yanı sıra mikroarrayler teknolojilerinden de yararlanılabilir.^{42,43} Mikroarrayler, klinik örneklerden onlarca sitokin ve bakteri türünü tek bir test ile saptayabildiği ve uygulanan tedavi sonrasında bu türlerdeki artış ve/veya azalışların aynı anda görülmesine olanak tanıdığı için günümüzde çok ilgi gören biyoinformatiksel yaklaşımlardan olmaktadır.^{44, 45}

Asikainen ve ark.⁴⁶ yaptıkları çalışmalarında periodontitise sahip bireylerden dişeti oluşu sıvısı ve subgingival plak örneklerinden bakteriyel türleri saptamak için DNA mikroarray kullanmışlardır.

Periodontitisli bireylerden alınan örneklerde toplam 133 tür bakteri saptarlarken, dişeti oluşu sıvısı ve plak örneklerinde her bireyde aynı bakteri türleri saptandığı gibi her 2 örnek arasında farklı tür bakterilere de rastlamışlardır.

Sakai ve ark.³² 7 kronik periodontitisli ve 7 periodontal sağlıklı bireyde 79 sitokinin tek bir

membranda belirlenebildiği insan sitokin array ile yaptıkları çalışmalarında, dişeti oluşu sıvısında periodontal olarak sağlıklı bölgelerde 10 adet sitokin belirlerken; periodontal hastalıklı olanlardan alınan dişeti oluşu sıvısı örneklerinde 36 adet sitokin belirlenmiştir. IL-8 ve transforme edici büyüme faktörü beta 2 (TGF- β 2) hem sağlıklı hem de hastalıklı alanlarda yüksek oranda saptanmıştır. Periodontal hastalıklı alanlarda yüksek oranda matris metalloproteinazların doku inhibitörü 2 (TIMP-2), TNF- β , büyüme ile ilişkili onkogen (GRO), IL-1 β , TIMP-1, interferon indüklenebilir protein-10 (IP-10), ve anjiogenin (Ang) saptanmıştır. Dişeti oluşu sıvısında hastalıklı ve sağlıklı bölgeler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanan sitokinler TIMP-2, TNF-b, GRO, IP-10, Ang, (VEGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), osteoprotegerin (OPG), epidermal büyüme faktörü (EGF), glial kökenli nörotrofik faktör (GDNF), pulmoner ve aktivasyon düzenleyici kemokin (PARC), onkostatın M (OSM), fibroblast büyüme faktörü-4 (FGF-4), IL-16, lenfotoksin için homolog (LIGHT), ve plasenta büyüme faktörü (PlGF) olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada sitokinlerden GRO, Ang, IGF, GDNF, PARC, OSM, FGF-4, IL-16, LIGHT ve PlGF dişeti oluşu sıvısında ilk kez değerlendirilmiştir.

Rody ve ark.⁴⁷ 2011 yılında ortodontik tedavi gören hastalarda yaptıkları çalışmada farklı tip ortodontik aparat kullanan bireylerin dişeti oluşu sıvısı (DOS) örneklerinde MMP-9, IL-10 ve Inf- γ seviyelerini değerlendirmişlerdir. Quantibody Array (RayBiotech) kullanılarak hareketli ve sabit aparat kullananlar ile aparat kullanan bireylerin dişeti oluşu sıvısı örneklerinden farklı tip aparat kullanımının MMP-9, IL-10 ve Inf- γ miktarlarına etkisi olup olmadığını değerlendirmişlerdir. Buna göre sabit aparat kullananlarda MMP-9 seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunurken ($p=0.02$), hareketli aparat kullananlarda IL-10 ve Inf- γ seviyeleri düşük olarak bulunmuştur ($p=0,17$).

Ramseier⁴⁸ ve ark.ları çalışmalarında periodontitisli hastalardan ve sağlıklı bireylerden aldıkları tükürük örneklerinde florasan bazlı protein mikroarray yöntemi ile periodontal hastalık metabolizmasında etkili olduğu düşünülen sitokinlerin değerlendirilmesini planlamışlardır. Protein mikroarray ile gruplar arasında IL-1 β , -2, -4, -5, -6,-10, ve -13, TNF- α ve interferon (IFN)- γ seviyelerine bakılmıştır. Hastalıklı ve sağlıklı bireylerde bu sitokinden başka ELISA yöntemi ile

MMP seviyelerine bakılmış ve mikrobiyal dental plak içerisindeki bakterilerin miktarları karşılaştırılarak hastalık aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Dişeti dokularından da çeşitli sitokinler veya enflamasyon belirteçleri farklı array tipleri kullanarak belirlenebilmektedir.²⁴ Bu tür çalışmalar göstermiştir ki az miktarda örnek içerisinde DNA izolasyonları yaparak saf DNA'yı elde edip istenilen belirteçlere ait genlerin varlığı ve/veya yokluğu tespit edilebilmektedir.^{20,49} Böylelikle dişeti dokusu gibi çok küçük örnek boyutlarında bile daha önce kullanılan yöntemlere göre daha fazla hassasiyet ile genler tespit edilmekte, aynı zamanda bu belirteçlerin dental plak içerisindeki mikroorganizma grupları ile ilişkileri de saptanabilmektedir.^{49, 50}

İnsan oral mikroorganizmalarını belirleyen mikroarrayler ile (Human oral microbe identification microarray-HOMIM) subgingival biyofilm örneklerinden patojen bakterilerin varlığı ve miktarı saptanabilmektedir.⁴⁵ Bu yöntemin avantajı DNA analizi yaptığı için hem kültüre edilebilir mikroorganizmaları hem de daha önce kültüre edilmemiş 300'e yakın mikroorganizma türünü tespit edebilmektedir.⁵¹ Colombo ve ark. yaptıkları çalışmalarında⁴⁴ mikroorganizma belirleyen tip array kullanmışlar ve inatçı periodontitis hastalarında subgingival biyofilmde yer alan mikroorganizmaları ve bunların periodontal durum ile ilişkisini bildirmişlerdir. Buna göre; inatçı periodontitisli bireylerde daha fazla ataşman kaybı ve cep derinliği gözlenen bölgelerde sağlıklı kontrollere göre patojen türlerin miktarında belirgin fazlalık vardır.

Mikroarray'in Avantajları

Mikroarraylerin en önemli avantajları aynı anda birçok gen ile ilgili bilgi vermesi, az sayıda deney ile hızlı sonuç elde edilmesi ve güvenilir olmasıdır. Otomasyona dayalı bir sistem olduğu için insan kaynaklı hataların ortaya çıkma ihtimali düşüktür.⁵²

Mikroarraylerin yüksek hassasiyetli olması, diğer moleküler yöntemlerle belirlenmesi çok zor olan küçük farklılıkların saptanmasını da sağlamaktadır.⁵³ Bu yöntemde kullanılan substratlar, geleneksel yöntemlerde kullanılan hacimlerde (5-50 ml) daha küçük tepkime hacimlerinin (5-200 µL) kullanılmasına olanak tanır. Küçük tepkime hacimleri; çözelti tüketimi ve maliyetini azaltırken kullanılan nükleik asit ayırıcılarının derişimini arttırmaktadır.⁵⁴ Buna göre dişeti oluğu sıvısı gibi küçük hacimlerde toplanabilen

örneklerden hastalık belirteçleri olan sitokin veya diğer belirteçlerin tespiti geleneksel olarak kullanılan ELISA veya flowsitometri gibi yöntemlere göre bu yöntem ile daha doğru sonuçlar verebileceği düşünülmektedir.

Mikroarray yöntemlerinde kullanılan çoklu renk floresan, tek bir çalışmada iki veya daha çok biyolojik örneğin aynı anda analizine veya çoğaltılmasına olanak sağlamaktadır. Çoğaltma işlemi, hem gen ekspresyonu hem de mutasyon tespiti çalışmalarında sonuçların doğruluğunu büyük ölçüde arttırmaktadır.⁷ Ayrıca tarayıcı ve görüntüleme cihazı ile uyumlu bilgisayar programı varlığında bireysel spotların ve ölçülen spotun yoğunluğunun belirlenmesini sağlar. Bu bilgisayar programları ile elde edilen sonuçların detaylı analizi, standart eğrileri ve verilerin istatistiksel değerlendirmesi yapılabilmektedir.⁴⁸

Mikroarray Yönteminin Dezavantajları

Mikroarraylerin bilimin hizmetine sunulmasıyla birlikte bazı problemleri de beraberinde getirmiştir. Geleneksel yöntemlerden farklı olarak özel üretim gerektirdikleri için ELISA, PCR, Flow sitometri ve gibi yöntemlerden oldukça pahalı sistemlerdir. Birbirinden farklı çipler kullanılarak yapılan deneylerin birbirleriyle karşılaştırılmasında yaşanan problemler, optimizasyon ve standardizasyon sorunları, herhangi bir deneyde elde edilen sonuçların her yönüyle değerlendirilebileceği biyoinformatik ve biyoistatistik programlarının henüz geliştirilmemiş olması karşılaşılan diğer sorunlardandır.⁵⁵

Mikroarray çalışmalarından elde edilen verilerin oldukça fazla olması ve bu verilerin analizi için ilave programlara ve tekniğe ihtiyaç duyulması da tekniği zorlaştıran etkenlerdendir.

SONUÇ

İnsan biyolojisi, sağlığı, hastalıkların teşhis ve tedavileri için günümüze kadar pek çok yöntem kullanılmıştır.⁴ Geleneksel yöntemlere ek olarak son yıllarda yüksek hassasiyetli, çok küçük örnek miktarlarının bile çalışılabileceği biyoloji, mikrobiyoloji ve nanoteknoloji alanlarını enformatiksel alanlar ile birleştiren sistemler geliştirilmektedir.¹¹ Mikroarray teknoloji de de denilen bu sistemle yapılan çalışmalar ile elde edilen sonuçların geçerliliği, tekrarlanabilirliği ve günlük hayatta uygulanabilirliği konusunda çalışmalar hızla devam etmektedir. Bu pahalı ve ilave



bilgi ve sistem gerektiren yöntemin diş hekimliği rutinine katılabilmesi için konu ile ilgili merkezlerin çoğalması, araştırmacıların deneyim kazanması için ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Nares S. The genetic relationship to periodontal disease. *Periodontol* 2000 2003;32:36-49.
2. Landau DA, Slack FJ. MicroRNAs in mutagenesis, genomic instability, and DNA repair. *Semin Oncol* 2011;38:743-51.
3. Tefferi A, Bolander ME, Ansell SM, Wieben ED, Spelsberg TC. Primer on medical genomics. Part III: Microarray experiments and data analysis. *Mayo Clin Proc* 2002;77:927-40.
4. Çetiner DE, M. Periodontal Teşhiste Hastalığa Ait Potansiyel Markerlar. *Atatürk Üniv. Diş. Hek. Fak. Dergisi* 2000;10:66-72
5. Bier FF, von Nickisch-Rosenegk M, Ehrentreich-Forster E, Reiss E, Henkel J, Strehlow R, et al. DNA microarrays. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2008;109:433-53.
6. Liu H, Bebu I, Li X. Microarray probes and probe sets. *Front Biosci (Elite Ed)* 2010;2:325-38.
7. Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995;270:467-70.
8. Fodor SP, Read JL, Pirrung MC, Stryer L, Lu AT, Solas D. Light-directed, spatially addressable parallel chemical synthesis. *Science* 1991;251:767-73.
9. Offenbacher S, Heasman PA, Collins JG. Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol* 1993;64(5 Suppl):432-44.
10. Iida K, Nishimura I. Gene expression profiling by DNA microarray technology. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13:35-50.
11. Yula ED, Ö. Nanotıp, mikrodizilimler ve klinik mikrobiyolojide kullanımları. *Dicle Tıp Dergisi* 2010;37.
12. Miller MB, Tang YW. Basic concepts of microarrays and potential applications in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev* 2009;22:611-33.
13. Friend SH, Stoughton RB. The magic of microarrays. *Sci Am* 2002;286:44-9, 53.
14. Howbrook DN, van der Valk AM, O'Shaughnessy MC, Sarker DK, Baker SC, Lloyd AW. Developments in microarray technologies. *Drug Discov Today* 2003;8:642-51.
15. Coppee JY. Do DNA microarrays have their future behind them? *Microbes Infect* 2008;10:1067-71.
16. Spellman PT, Sherlock G, Zhang MQ, Iyer VR, Anders K, Eisen MB, et al. Comprehensive identification of cell cycle-regulated genes of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* by microarray hybridization. *Mol Biol Cell* 1998;9:3273-97.
17. Kim SH, Kim YS, Lee SY, Kim KH, Lee YM, Kim WK, et al. Gene expression profile in mesenchymal stem cells derived from dental tissues and bone marrow. *J Periodontal Implant Sci* 2011;41:192-200.
18. Mori G, Brunetti G, Oranger A, Carbone C, Ballini A, Lo Muzio L, et al. Dental pulp stem cells: osteogenic differentiation and gene expression. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1237:47-52.
19. Parkar MH, Tonetti M. Gene expression profiles of periodontal ligament cells treated with enamel matrix proteins in vitro: analysis using cDNA arrays. *J Periodontol* 2004;75:1539-46.
20. Luan X, Ito Y, Holliday S, Walker C, Daniel J, Galang TM, et al. Extracellular matrix-mediated tissue remodeling following axial movement of teeth. *J Histochem Cytochem* 2007;55:127-40.
21. Jenkins SG, Schuetz AN. Current concepts in laboratory testing to guide antimicrobial therapy. *Mayo Clin Proc* 2012;87:290-308.
22. Slavkin HC. Human genome, oral infection/systemic diseases & the future of clinical dentistry. *Ann Dent* 2001; 5: 12-21.
23. Kuo WP, Whipple ME, Sonis ST, Ohno-Machado L, Jenssen TK. Gene expression profiling by DNA microarrays and its application to dental research. *Oral Oncol* 2002; 38: 650-6.
24. Radhakrishnan R, Solomon M, Satyamoorthy K, Martin LE, Lingen MW. Tissue microarray - a high-throughput molecular analysis in head and neck cancer. *J Oral Pathol Med* 2008;37:166-76.
25. Alevizos I, Mahadevappa M, Zhang X, Ohyama H, Kohno Y, Posner M, et al. Oral cancer in vivo gene expression profiling assisted by laser capture microdissection and microarray analysis. *Oncogene* 2001;20:6196-204.



26. Konkimalla VB, Suhas VL, Chandra NR, Gebhart E, Efferth T. Diagnosis and therapy of oral squamous cell carcinoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2007;7:317-29.
27. Kuo WP, Whipple ME, Jenssen TK, Todd R, Epstein JB, Ohno-Machado L, et al. Microarrays and clinical dentistry. *J Am Dent Assoc* 2003;134:456-62.
28. Kuo WP, Jenssen TK, Park PJ, Lingen MW, Hasina R, Ohno-Machado L. Gene expression levels in different stages of progression in oral squamous cell carcinoma. *Proc AMIA Symp* 2002:415-9.
29. Duarte PM, da Rocha M, Sampaio E, Mestnik MJ, Feres M, Figueiredo LC, et al. Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: a pilot study. *J Periodontol* 2010;81:1056-63.
30. Eley BM, Cox SW. Advances in periodontal diagnosis. 9. Potential markers of cell death and tissue degradation. *Br Dent J* 1998;184:427-30.
31. Tüter G. Periodontal Patogenezin Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler. *Gazi Üniv. Diş. Hek. Fak. Dergisi* 2001;18:147-53.
32. Sakai A, Ohshima M, Sugano N, Otsuka K, Ito K. Profiling the cytokines in gingival crevicular fluid using a cytokine antibody array. *J Periodontol* 2006;77:856-64.
33. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001;409:860-921.
34. Frye JG, Jesse T, Long F, Rondeau G, Porwollik S, McClelland M, et al. DNA microarray detection of antimicrobial resistance genes in diverse bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2006;27(2):138-51.
35. Duran-Pinedo AE, Paster B, Teles R, Frias-Lopez J. Correlation network analysis applied to complex biofilm communities. *PLoS One* 2011;6:e28438.
36. Papapanou PN, Behle JH, Kerschull M, Celenti R, Wolf DL, Handfield M, et al. Subgingival bacterial colonization profiles correlate with gingival tissue gene expression. *BMC Microbiol* 2009;9:221.
37. Davanian H, Bage T, Lindberg J, Lundeberg J, H QC, Sallberg Chen M, et al. Signaling pathways involved in the regulation of TNFalpha-induced toll-like receptor 2 expression in human gingival fibroblasts. *Cytokine* 2012.
38. Vardar-Sengul S, Arora S, Baylas H, Mercola D. Expression profile of human gingival fibroblasts induced by interleukin-1beta reveals central role of nuclear factor-kappa B in stabilizing human gingival fibroblasts during inflammation. *J Periodontol* 2009;80:833-49.
39. Orban JE, Stallard RE. Gingival crevicular fluid: a reliable predictor of gingival health? *J Periodontol* 1969;40:231-5.
40. Gorska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madalinski K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2003;30:1046-52.
41. Chandler HL, Colitz CM. Molecular biology for the clinician: understanding current methods. *J Am Anim Hosp Assoc* 2006;42:326-35.
42. Rimini R, Schwenk JM, Sundberg M, Sjoberg R, Klevebring D, Gry M, et al. Validation of serum protein profiles by a dual antibody array approach. *J Proteomics* 2009;73:252-66.
43. Varnum SM, Woodbury RL, Zangar RC. A protein microarray ELISA for screening biological fluids. *Methods Mol Biol* 2004;264:161-72.
44. Colombo AP, Boches SK, Cotton SL, Goodson JM, Kent R, Haffajee AD, et al. Comparisons of subgingival microbial profiles of refractory periodontitis, severe periodontitis, and periodontal health using the human oral microbe identification microarray. *J Periodontol* 2009;80:1421-32.
45. Preza D, Olsen I, Willumsen T, Boches SK, Cotton SL, Grinde B, et al. Microarray analysis of the microflora of root caries in elderly. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28:509-17.
46. Asikainen S, Dogan B, Turgut Z, Paster BJ, Bodur A, Oscarsson J. Specified species in gingival crevicular fluid predict bacterial diversity. *PLoS One* 2010;5:e13589.



47. Rody WJ, Jr., Akhlaghi H, Akyalcin S, Wiltshire WA, Wijegunasinghe M, Filho GN. Impact of orthodontic retainers on periodontal health status assessed by biomarkers in gingival crevicular fluid. *Angle Orthod* 2011;81:1083-9.
48. Ramseier CA, Kinney JS, Herr AE, Braun T, Sugai JV, Shelburne CA, et al. Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *J Periodontol* 2009;80:436-46.
49. Wang PL, Ohura K, Fujii T, Oido-Mori M, Kowashi Y, Kikuchi M, et al. DNA microarray analysis of human gingival fibroblasts from healthy and inflammatory gingival tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;305:970-3.
50. Wright JT, Hart TC. The genome projects: implications for dental practice and education. *J Dent Educ* 2002;66:659-71.
51. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001;183:3770-83.
52. Kashi Y, King D, Soller M. Simple sequence repeats as a source of quantitative genetic variation. *Trends Genet* 1997;13:74-8.
53. Bryant PA, Venter D, Robins-Browne R, Curtis N. Chips with everything: DNA microarrays in infectious diseases. *Lancet Infect Dis* 2004;4:100-11.
54. Schena MD, R.W. Genes, Genomes, and Chips. Eds; Schena M. *DNA Microarrays A Practical Approach*. New York: Oxford University Press; 2001. 1-16.
55. Karaca MA, A.N. Array gen ekspresyon teknolojisi ve bitkisel üretimde kullanımı. *Alatarım* 2004;3.

Yazışma Adresi

Dt. Özge ŞİMŞEK
Primadent Ağız, Diş Sağlığı ve İmplantoloji Kliniği
Mahmut Yesari Sokak 3/A Çankaya/ ANKARA
Tel: 0312-438 44 38
Fax: 0312-441 66 80
e-mail: ozgerol_83@hotmail.com

