

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

DİŞ BEYAZLATILMASINDA KULLANILAN AJANLARIN
TÜKÜRÜK VE TÜKÜRÜK HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZGE GÜRBÜZ

DANIŞMAN
DOÇ DR. ÜMİT BEGÜM GÜRAY EFES

DİŞ HASTALIKLARI VE TEDAVİSİ ANA BİLİM DALI
KONSERVATİF DİŞ TEDAVİSİ PROGRAMI

İSTANBUL-2012



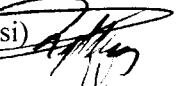
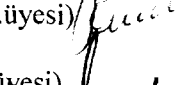

İ. Ü. Kütüphane ve Dök. D. Bşk.	
Dem. No.	42929
Sıra No.	

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü /İ.Ü.Dişhekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı Diş Hastalıkları ve Tedavisi Programında Dok.Öğr.Özge GÜRBÜZ tarafından hazırlanan Diş Beyazlatılmasında Kullanılan Ajanların Tükürük ve Tükürük Hücreleri Üzerine Etkisi başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

28 / Şubat / 2012

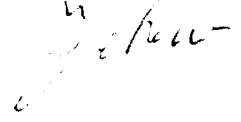
Tez Sınav Jürisi

- | <u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u> | <u>İmzası</u> |
|---|---|
| 1.Doç.Dr.Ü.Begüm EFES (İ.Ü.Dişhek.Fak. Diş Hastalıkları ve Tedavisi A.B.Dalı/Danışman) |  |
| 2.Prof.Dr.Can DÖRTER (İ.Ü.Dişhek.Fak. Diş Hastalıkları ve Tedavisi A.B.Dalı öğr.üyesi) |  |
| 3.Prof.Dr.Nejat DALAY (İ.Ü.Onkoloji Enstitüsü. Temel Onkoloji Anabilim Dalı öğr. üyesi) |  |
| 4.Prof.Dr.Sami BÜYÜKGÖKÇESU (İ.Ü.Dişhek.Fak. Diş Hast. ve Tedavisi A.B.Dalı öğr.üyesi) |  |
| 5.Doç.Dr.Şeyda HERGÜNER SİSO (Bezmialem Üni.Diş Hast.ve Tedavisi A.B.Dalı öğr.üyesi) |  |

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmamı olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Özge GÜRBÜZ (İmza)



ITHAF

Eşim 'e ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Eğitimim ve doktora çalışmalarım sırasında bilimsel katkıları ile bana yardımcı olan, yardımlarını esirgemeyen, tez danışmanım ve hocam Doç. Dr. Ümit Begüm GÜRAY EFES' e en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım. Araştırma süresince tezim için desteklerini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Nejat DALAY' a, büyük yardımlarını ve desteğini gördüğüm, Prof. Dr. Güven KÜLEKÇİ' ye, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını sunan Araş. Gör. Dr. Nursen TOPÇUOĞLU' na, deneylerimi oluşturmamda bana önemli bir yol gösteren, bilgilerinden yararlandığım MSc. Orkun GÜRBÜZ' e teşekkür ederim. Doktora eğitimim boyunca bana yardım eden ve destek olan Diş Hastalıkları ve Tedavisi Ana Bilim Dalı' nın tüm öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Yaşamım ve çalışmalarım boyunca bana her türlü desteği veren tüm aileme sonsuz teşekkürler.

Bu alışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 6901

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diş Renklenmesi ve Renklenmenin Sınıflandırılması:	3
2.2. Beyazlatma Ajanları ve İçerikleri	6
2.2.1. Hidrojen Peroksit	6
2.2.2. Karbamiit Peroksit	7
2.2.3. Sodyum Perborat.....	7
2.2.4. Kalınlaştırıcı Ajanlar.....	8
2.2.5. Üre.....	8
2.2.6. Taşıyıcılar.....	8
2.2.7. Yüzey Nemlendiriciler.....	8
2.2.8. Koruyucular	8
2.2.9. Aromatikler	9
2.3. Diş Beyazlatma Mekanizması.....	9
2.4. Diş Beyazlatmayı Etkileyen Faktörler	10
2.4.1. Beyazlatma Çeşidi:	10
2.4.2. Konsantrasyon ve Zaman.....	11
2.4.3. Isı ve Işık.....	12
2.4.4. Diğer Etkenler:.....	13

2.5. Diş Beyazlatma Tedavisinin Yan Etkileri.....	14
2.5.1.Yerel Yan Etkiler.....	14
2.5.1.1. Diş Hassasiyeti	14
2.5.1.2. Mine ve Dentin Dokuları Üzerine Etkileri:.....	14
2.5.1.3.Sement Üzerine Etkileri:.....	15
2.5.1.4.Pulpa Üzerine Etkileri:.....	15
2.5.1.5.Dişeti Üzerine Etkileri:	16
2.5.1.6.Yüzey Sertliği ve Aşınma Direnci Üzerine Etkileri:	16
2.5.1.7.Restoratif Materyaller Üzerine Etkileri:	17
2.5.2. Genotoksisite ve Karsinojenite Açısından Etkileri	17
2.5.3. Genel Sağlık Üzerine Yan Etkiler.....	18
2.6. Tükürük.....	18
2.6.1. Tükürük Salgılanmasını Etkileyen Faktörler	19
2.6.2. Tükürüğün Görevleri.....	20
2.6.3. Tükürüğün Ağız-Diş Sağlığı Açısından Diagnostik Amaçlı Kullanımı	22
2.6.3.1. Tükürük Akış Hızı.....	22
2.6.3.2. Tükürük Tamponlama Kapasitesi	22
2.6.3.3. Mikrobiyolojik Testler	23
2.6.4. Tükürüğün Diagnostik Amaçlı Diğer Kullanım Alanları	24
2.6.5. Tükürük Hücrelerinde Genetik Materyal	26
2.7. Apoptoz (Tükürükte Kontrollü Hücre Ölümü).....	29
2.7.1. Apoptoz ve Nekroz Arasındaki Farklar	29
2.7.2. Apoptozun Aşamaları	30
2.7.3. Apoptozun Sınıflandırılması	31
2.7.4. Apoptozun Genetiği	32
2.7.4.1. Bcl-2 Geni	33
2.7.4.2. Bax Geni.....	33
2.8. Serbest Radikaller (Oksidanlar).....	34
2.8.1. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT) Apoptoza Etkisi.....	35
2.8.2. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT) Meydana Getirdiği DNA Yıkımı	36
2.9. Antioksidanlar.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38

3.1. Çalışmaya Katılacak Olan Gönüllülerin Seçimi	38
3.2. Çalışmaya Katılan Bireylere Beyazlatma Uygulaması Yapılması	39
3.3. Çalışmaya Katılan Bireylerden Mikrobiyolojik Testler İçin Tükürük Toplanması	42
3.3.1. Çalışmaya Katılan Bireylerin Toplanan Tükürüklerinden Tükürük Akış Hızı ve Tamponlama Kapasitesi Tayini	42
3.3.2. Çalışmaya Katılan Bireylerin Toplanan Tükürüklerinden Mutans Streptokokları (cfu/ml) Tayini	43
3.3.3. Çalışmaya Katılan Bireylerin Toplanan Tükürüklerinden Laktobasil (cfu/ml) Tayini	43
3.4. Çalışmaya Katılan Bireylerden Genetik Testler İçin Tükürük Toplanması	45
3.4.1. Çalışmaya Katılan Bireylerden Toplanan Tükürükten Hücrelerin Elde Edilmesi	45
3.4.2. Elde Edilen Tükürük Hücrelerinden RNA İzolasyonu	46
3.4.3. Elde Edilen RNA' ların Jel Elektrofrezinde Görüntülenmesi.....	47
3.4.4. RNA' dan cDNA Sentezi.....	48
3.4.5. Real-time PCR İle Genlerin İfade Düzeylerinin İncelenmesi.....	48
3.4.6. Genetik Testler İçin Kullanılan Kimyasallar, Malzemeler, Cihazlar ve Çözeltiler.....	51
3.5. İstatistiksel İncelemeler	54
4. BULGULAR.....	55
4.1. Tükürüklerdeki Akış Hızına (ml/dk) İlişkin Bulgular	55
4.2. Tükürüklerdeki Tamponlama Kapasitesine (pH) İlişkin Bulgular	57
4.3. Tükürüklerdeki Mutans Streptokoklarına (cfu/ml) İlişkin Bulgular.....	59
4.4. Tükürüklerdeki Laktobasillere (cfu/ml) İlişkin Bulgular	61
4.5. Tükürük Hücrelerindeki Bax Geninin İfadesine İlişkin Bulgular.....	63
4.6. Tükürük Hücrelerindeki Bcl-2 Geninin İfadesine İlişkin Bulgular	64
4.7. Bax ve Bcl-2 Gen İfadesindeki Korelasyona İlişkin Bulgular.....	65
5. TARTIŞMA	66
KAYNAKLAR	81
FORMLAR	114
ETİK KURUL KARARI	118
ÖZGEÇMİŞ	119

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Diş renklenmesinin nedenleri ve ortaya çıkan renkler.....	4
Tablo 2-2: Antioksidan Sınıflaması	37
Tablo 3-1: Çalışmamızda kullandığımız tükürük analizine yönelik değerler.....	44
Tablo 3-2: cDNA sentezinin sağlanması için gerekli olan reaksiyon koşulları.....	48
Tablo 3-3: Genlerin primerlerinin her bağlanma yaptığında floresans ışımaya yaparak Real-time PCR' in algıladığı ışık dalga boyları.....	49
Tablo 3-4: Bax ve Bcl-2 genlerine özgü dizayn edilerek oluşturulan ve Real-time PCR da çoğalmalarını sağlayacak primer dizileri.....	50
Tablo 3-5: Real-time PCR karışımı.....	50
Tablo 3-6: Real-time PCR uygulaması için gerekli olan koşullar.....	51
Tablo 3-7: Genetik testler için kullanılan kimyasal maddeler ve malzemeler.....	51
Tablo 3-8: Genetik testler için kullanılan cihazlar.....	52
Tablo 3-9: Genetik testler için kullanılan tampon ve çözeltiler.....	53
Tablo 4-1: Grupların tükürük akış hızı değerlendirilmesi (ml/dk)	56
Tablo 4-2: Grupların tükürük tamponlama kapasitesi değerlendirilmesi (pH)	58
Tablo 4-3: Grupların tükürüklerindeki mutans streptokoklarının bireylerdeki dağılımının % olarak belirlenmesi ve istatistiksel olarak karşılaştırılması	60
Tablo 4-4: Grupların tükürüklerindeki laktobasillerin bireylerdeki dağılımının % olarak belirlenmesi ve istatistiksel olarak karşılaştırılması	62
Tablo 4-5: Grupların tükürük hücrelerindeki Bax gen ifadesindeki ΔCt değerlendirilmesi.....	63
Tablo 4-6: Grupların tükürük hücrelerindeki Bcl-2 gen ifadesindeki ΔCt değerlendirilmesi	64
Tablo 4-7: A, B ve C zamanlarında Bax ve Bcl-2 gen ifadelerindeki ΔCt korelasyonları	65

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Hidrojen peroksitin etki mekanizması.....	10
Şekil 2-2: Transkripsiyon.....	28
Şekil 2-3: Translasyon.....	29
Şekil 3-1: Dişler üzerinde mekanik temizlik yapılan fırça.....	39
Şekil 3-2: Diş renklerinin saptanmasında kullanılan Vita renk skalası.....	40
Şekil 3-3: Bireylere uygulanan beyazlatıcı ajan.....	41
Şekil 3-4: Ağız ve çevre dokuları korumak amacıyla bireylere uygulanan ekartör.....	41
Şekil 3-5: Tükürük toplanan steril kaplar.....	42
Şekil 3-6: Mitis Salivarius agar içindeki mutans streptokokları kolonileri.....	43
Şekil 3-7: Ragosa agar içindeki laktobasil kolonileri.....	44
Şekil 3-8: Bireylerden alınan tükürük örneklerinin aktarıldığı falkon tüpler.....	45
Şekil 3-9: Tükürük içindeki hücreleri elde etmek amacıyla tükürüğün santrifüjlemesi işlemi.....	46
Şekil 3-10: Elde edilen materyallerin -80°C' deki soğutucularda saklanması.....	46
Şekil 3-11: Trizol ile RNA izolasyonunun sağlanması.....	47
Şekil 3-12: cDNA sentezi için hazırlık ve materyalin termal döngü cihazına yerleştirilmesi.....	48
Şekil 3-13: Real-time PCR' da kullanılan mikropate ve yerleştirildiği real-time PCR cihazı.....	49
Şekil 4-1: Gruplardaki tükürük akış hızı değerleri (ml/dk)	56
Şekil 4-2: Grupların tükürük tamponlama kapasitesi değerleri (pH)	58
Şekil 4-3: Gruplardaki mutans streptokoklarının bireylerdeki dağılımı (%).....	60
Şekil 4-4: Gruplardaki laktobasillerin bireylerdeki dağılımı (%).....	62
Şekil 4-5: Gruplarda Bax gen ifadesinin değerlendirilmesi	63
Şekil 4-6: Gruplarda Bcl-2 gen ifadesinin değerlendirilmesi	64

SEMBOLLER / KISALTMALAR LISTESİ

A: Adenin

ACP: Amorf kalsiyum fosfat

ADA: American Dental Association

AIF: Apoptoz uyarıcı faktör

APAF-I: Apoptotik proteaz aktive etme faktörü

BFB: Brom Fenol Blue

C: Sitozin

Ca: Kalsiyum

CP: Karbamiit peroksit

CT: Cycle threshold

DMBA: 9,10,-dimetil-1,2benzanthracene

DNA: Deoksiribonükleik asit

dNTP: Deoksinükleotidtrifosfat

ECETOX: European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals

EDTA: Etilen-diamin-tetraasetikasit

EtBr: Etidyum Bromür

G: Guanin

HAV: Hepatit A virüsü

HBV: Hepatit B virüsü

HP: Hidrojen peroksit

H₂O₂: Hidrojen peroksit

IARC: International Agency on Research on Cancer

IFN: Interferon

Ig: Immunglobulin

IL-2: Interlokin-2

K: Potasyum

LB: Laktobasil

LED: Light Emitting Diode-Işık Yayan Diyot

LDH: Laktat dehidrogenaz

LD₅₀: Popülasyonun yarısını öldürebilecek doz

mPa.s: Milipaskal saniye

MS: Mutans streptokokları **MSB agar:** Mitis Salivarius agar

Na: Sodyum

NaCl: Sodyum klorür

NCBI: Natural center for biotechnology

P: Fosfat

PBS: Phosphate Buffered Saline

PCR: Polimerase Chain Reaction

QTH: Quartz tungsten halojen

ROT: Reaktif oksijen türleri

RNA: Ribonükleik asit

RPM: Dakikadaki dönme sayısı (returns per minute)

SCCP: Scientific Committee on Consumer Products

SCCNFP: Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products

intended for Consumers

SDS: Sodyum dodesil sülfat

SOD: Süperoksit dismutaz

SS: Standart sapma

T: Timin

TEB: Tris-EDTA-Borik Asit

UPL: Universal probe library

ÖZET

Gürbüz, Ö. (2012). Diş Beyazlatılmasında Kullanılan Ajanların Tükürük ve Tükürük Hücreleri Üzerine Etkisi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diş Hastalıkları ve Tedavisi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu çalışmada %38' lik hidrojen peroksit ile 3 seanslık bir beyazlatma işleminin, tükürük içeriğindeki meydana getireceği değişimlerin ve tükürük içindeki hücrelerin apoptozu üzerine etkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

Tükürük içeriğinde oluşabilecek değişiklikler bireylerden sakız çiğnetilerek alınan uyarılmış tükürüğün toplanmasının ardından; tükürük akış hızı, tükürük tamponlama kapasitesi, tükürükteki mikroorganizma miktarına bakılarak araştırılmıştır. Hücrede oluşabilecek değişikliklerin araştırılması için ise; tükürük içerisinde bulunan hücrelerin apoptoza giden yolda uğrayacakları değişiklikler real-time PCR (Polimerase Chain Reaction) ile incelenerek, proapoptotik ailesinden olan Bax ve antiapoptotik ailesinden olan Bcl-2 genlerinin ifade oranlarındaki değişim araştırılmış ve hücrelerin hidrojen peroksitten ne kadar etkilendiğine bakılmıştır. Bu testler hastalardan uygulamadan önce, sonra ve 6 ay sonra tükürük örnekleri alınarak 3' er defa yapılmıştır. Bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) programı kullanılmıştır.

Sonuç olarak; bireylerin tükürük akış hızlarının beyazlatmadan sonra etkilenmediği ($p>0,05$), fakat beyazlatmadan 6 ay sonra bir düşme olduğu ($p<,01$), bireylerin tükürük pH değerlerinde değişiklikler gözlemlenmediği ($p>0,05$), mutans streptokoklarının beyazlatma işleminden sonra etkilenmediği ($p>0,05$), fakat 6 ay sonra sayılarında düşme olduğu ($p<0,05$), laktobasillerin beyazlatma uygulamalarından etkilenmediği ($p>0,05$), Bax geni ifadesinde beyazlatmadan sonra bir azalma meydana geldiği ($p<0,05$), 6 ay sonra bu azalmanın tekrar eski miktarlarına geri döndüğü ($p>0,05$) ve beyazlatmanın Bcl-2 gen ifadesini etkilemediği ($p>0,05$) bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler : Beyazlatma, Hidrojen Peroksit, Tükürük, Genetik, Mikrobiyoloji

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 6901

ABSTRACT

Gurbuz, O. (2012). The Effect of Dental Bleaching Agents On The Human Saliva and The Human Saliva Cells. Istanbul University, Institute of Health Science, Operative Dentistry. PhD Thesis. Istanbul.

The aim of this study is to evaluate the effect of 3 session tooth bleaching with 38% hydrogen peroxide gel on saliva composition and the apoptosis of the cells in human saliva.

The possible effects of the bleaching agents on saliva compositions are investigated by examining the salivary flow rates and buffering capacity of the saliva and the amounts of the microorganisms in the saliva after collecting chewing gum stimulated saliva samples. For examining the possible changes in the saliva cell structure, the process of the apoptosis of the saliva cells are investigated by real time PCR (Polimerase Chain Reaction) and the changes in the gene expression of proapoptotic Bax and antiapoptotic Bcl-2 genes were observed, also the effects of hydrogen peroxide on the cells were evaluated. These experiments were done three times for every patient which were before bleaching, after bleaching and 6 months after bleaching. Statistical Package for Social Sciences (SPSS) program was used for the statistical analysis.

The results of the study is that after bleaching sessions the salivary flow rates were not effected ($p>0.05$), but after 6 months the salivary flow rates were decreased ($p<0.01$), the pH value of the saliva was not effected ($p>0.05$), after bleaching streptococcus mutans were not effected ($p>0.05$) but after 6 months the amount of the streptococcus mutans decreased ($p<0.05$), the bleaching sessions did not effected the amount of the lactobacillus ($p>0.05$), the amount of the Bax gene expression decreased after bleaching ($p<0.05$) but after 6 months it increased to its first value ($p>0.05$), the amount of the Bcl-2 gene expression was not effected by bleaching ($p>0.05$).

Key Words: Bleaching, Hyrogen Peroxide, Saliva, Genetics, Microbiology

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 6901

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bireyler diş tedavileri sayesinde elde edebilecekleri estetik yararlar konusuna fazlasıyla ilgi duymaktadırlar. Günümüzde insanların artan estetik beklentilerine cevap verebilmek için diş hekimliğinde çeşitli yöntemler ve teknikler geliştirilmiştir. Estetik diş hekimliği alanında yapılan çalışmalar; diş renklenmelerinin giderilmesine yönelik materyallerin ve yöntemlerin bulunması üzerine yoğunlaşmıştır (Greenwall 2001; Özel 2007). Bu yöntemler arasında kompozit ve porselen venerler, kuronlar, kompozit reçine restorasyonlar, ve mekanik abrazyon uygulamaları sayılabilmektedir. Bu geleneksel restoratif tekniklerin dışında, dişlerdeki renklenmeleri gidermek için, daha az invazif olan, kolay kullanıma sahip ve oldukça etkili olan beyazlatma yöntemleri de uygulanmaktadır (Aykent ve ark. 2002; Ulukapı ve Ulu 2003). Özellikle 1990' lı yılların başından beri beyazlatma ajanlarının hızlı gelişimi sonucunda, beyazlatma uygulamaları yaygınlaşmıştır (Frysh ve ark. 1995).

Değişik renklenmelerin giderilmesinde farklı kimyasal maddeler ve metodlar kullanılmaktadır (Bishara 1993; Greenwall 2001). İlk olarak devital dişlerin renklenmelerinin tedavisi için geliştirilmiş asetik asit ve klorid kullanılmıştır (Greenwall 2001). Daha sonraki zamanlarda beyazlatma amaçlı oksalik asit, kalsiyum hipoklorid, pirozon (eter - peroksit), hidroklorik asit, perborat, sodyum perborat, hidrojen peroksit, süperoksil gibi malzemelerin kullanımına başlanmıştır. Yapılan farklı araştırmalar sonunda, vital dişlerde de uygulanabilecek hem etkili, hem de dişlere ve diş eti dokularına zarar vermeyecek en uygun malzeme olan hidrojen peroksit yaygın kullanım alanı kazanmıştır (McCracken ve Haywood 1996; Jorgensen ve Carroll 2002; Ulukapı ve Ulu 2003).

Beyazlatma işleminde kullanılan preparatlar okside edici maddelerdir (Greenwall 2001). Serbest radikallere dönüşerek, açığa çıkardıkları düşük molekül ağırlığı olan oksijen sayesinde, minenin interprizmatik aralıklarındaki organik materyallerden elektron almaktadırlar. Oksijen dişlerin renklenmesine sebep olan pigmentleri okside ederek, efervesan özelliği sayesinde, minenin organik fazından kopardığı küçük molekülleri yüzeye taşıyarak dişlerin rengini açarak etki gösterdiği bilinmektedir (Yurdukoru ve ark. 1998).

Beyazlatma ajanları, farklı firmalar tarafından farklı kimyasal kombinasyonlarda ve konsantrasyonlarda üretilen karbamid ya da hidrojen peroksit içeren ürünlerdir.

Farklı konsantrasyonlardaki beyazlatıcı maddelerin uygulama süreleri, lokal ve sistemik etkileri birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (McCracken ve Haywood 1996; Bağış ve Ertaş 2000; Aykent ve ark. 2002). Bazı araştırmacılar okside edici maddelerin minenin kimyasal yapısına olan etkilerini (Altınöz ve ark. 2002), diğerleri minenin morfolojik (Ersöz ve Özyurt 1998), makrosertlik (Tulga ve ark. 2000), kırılma direnci ve bağlanma özelliklerinin (Bağış ve Ertaş 2000; Aykent ve ark. 2002) değişimini, ağız içindeki mikrobiyolojik değişimleri (Scherer ve ark. 1992; Gautier ve ark. 2000), hidrojen peroksitin toksisitesini, karsinojenite ve mutajenitesini (Royack ve ark. 2000; Aren 2003) incelemişlerdir.

Çalışmamızda; güven sınırları içinde yapılan beyazlatmanın ağız içine ve tükürük içindeki hücelere herhangi bir etki oluşturup oluşturmadığını araştırmak amaçlanmıştır. Daha önce hem tükürük akış hızı, tükürük tamponlama kapasitesi ve tükürükteki mikroorganizma miktarının hem de tükürükten cDNA elde edilerek Bcl-2 ve Bax genlerinin ifade (ekspresyon) oranlarındaki değişikliklerinin araştırıldığı çalışmalara rastlanmadığından özgün bir araştırma oluşturmak hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Renk ışığın meydana getirdiği fiziksel bir olgudur. Işığın değişik dalga boylarının gözün retinasına ulaşması ile ortaya çıkmaktadır. Retinada konik hücreler ve çubuk hücreler olmak üzere ışık algılayıcı iki tip hücre bulunmaktadır. Rengin algılanmasından sorumlu olan hücreler konik hücrelerdir. Üç tip konik hücre vardır ve her biri farklı rengin algılanmasından sorumludur (kırmızı, yeşil ve mavi). Retina renk skalasındaki bütün renklere aynı oranda hassas değildir. Renk spektrumunun orta bölgesindeki renklere daha fazla hassasiyet göstermektedir. Gözün en hassas olduğu renk ise 550-570 nm dalga boyundaki sarımsı yeşildir. (Phillips 1991; Precise color communication 1994). Doğru bir renk seçimi için 800 ile 2700 lux arasında aydınlatma sağlayan lambalar kullanılmalıdır (Fondriest 2003).

Munsell Renk Sistemi diş hekimliği literatüründe en çok kullanılan renk tanımlama sistemidir. Bu sistemde rengin üç sıfatı; ana renk (hue), parlaklık (value) ve yoğunluk (chroma) olarak adlandırılmaktadır (Pizzamiglio 1991; Rosenstiel ve ark. 2001).

2.1. Diş Renklenmesi ve Renklenmenin Sınıflandırılması

Dişlerde görülen renklenme nedenleri çok çeşitlidir. Diş renklenmeleri, pek çok araştırmacı tarafından dış ve iç kaynaklı olarak sınıflandırılmaktadır (Dayan ve ark. 1983, Hayes ve ark. 1986; Koruk ve Kırzioğlu 2010). Dış renklenme, mine yapısını içine alan ve profilaktik uygulamalarla uzaklaştırılabilen, iç renklenme ise mine veya dentin yapısını içine alan, diş macunu veya patlarla yapılan profilaksilerle uzaklaştırılamayan renklenme olarak tanımlanmaktadır. Diş renklenmesinin nedenleri ve ortaya çıkan renkler (Dzierzak 1991; Nathoo 1997; Munther 2008) Tablo 2.1' de sunulmaktadır. Çeşitli nedenlerle renklenmiş dişlerin tedavisinde diş beyazlatma, mikroabrazyon ve restoratif tedavi uygulamaları gibi yöntemler kullanılmaktadır. Çalışmamız bu seçeneklerden diş beyazlatma uygulamaları ile ilgilidir.

Tablo 2-1: Diş renklenmesinin nedenleri ve ortaya çıkan renkler

	Etken	Oluşan Renk
Dış Kaynaklı Renklenme	Sigara vb.	Sarı-kahverengiden siyaha değişen renkler
	Kahve, çay, yiyecekler	Sarı-kahverengiden siyaha değişen renkler
	Zayıf oral hijyen	Sarı-kahverengiden siyaha değişen renkler
Dış ve İç Kaynaklı Renklenme	Florozis	Beyaz, sarı, kahverengi, gri veya siyah
	Yaşlanma	Sarı
İç Kaynaklı Renklenme	Genetik defektler: -amelogenezis imperfekta vb.	Kahverengi, siyah
	Sistemik problemler: -sarılık, porfiriya	Kahverengi, siyah
	Diş gelişimi süresince kullanılan ilaçlar: - -tetrasiklin, flor	Kahverengi, siyah
	Vücut ürünleri: -bilirubin -hemoglobin	Kahverengi, siyah
	Pulpal değişiklikler: -kök kanalının tıkanması - pulpa nekrozu	Kahverengi, siyah
	İatrojenik faktörler: -pulpanın çıkarılması sırasında dentin kanallarına kan sızması -pulpa odasında bırakılan doku artıkları restoratif ve endodontik materyaller	Kahverengi, siyah

Vital dişlerin beyazlatılmasıyla ilgili olarak çalışmalar bulunmaktadır. Beyazlatma ajanlarının konsantrasyon ve uygulama süreleri, beyazlatma kitindeki ürünün içeriği, ürünün uygulama şekli ve ışık aktivasyonu kullanılıp kullanılmaması bu çeşitliliklere sebep olmaktadır (Goldstein 1995; Greenwall 2001; Sulieman ve ark 2004; Giachetti 2010). Günümüz diş hekimliğinde üç temel beyazlatma yaklaşımı mevcuttur. Bu uygulamalar; diş hekimi danışmanlığında ev tipi beyazlatma (nightguard), beyazlatma jelini direkt olarak hekimin uyguladığı ofis tipi beyazlatma (in-office veya power beyazlatma) ve bireylerin hekim tarafından herhangi bir yönlendirme ve denetimi olmaksızın marketlerden aldıkları ürünlerle kendi uyguladıkları beyazlatma işlemleridir (Haywood ve Heyman 1989).

Ev tipi beyazlatma, ADA (American Dental Association) standartlarına göre %10, %16, %22 konsantrasyonlarında karbamiit peroksit içeren ürünlerdir ve en çok tercih edileni %10' luk konsantrasyonudur. Genellikle hastadan alınan ölçüye göre özel olarak hazırlanan bir plak yolu ile dişlere uygulanmaktadır (Giachetti 2010). Bu tedavi sırasında hasta diş hekimi tarafından takip edilmektedir (Haywood ve Heyman 1989; Goldstein 1995; Greenwall 2001).

Hidrojen peroksit içeren ofis tipi beyazlatma uygulamaları, ev tipi beyazlatmaya göre daha yüksek konsantrasyonlarda (ADA standartlarına göre %15-35) beyazlatma ajanları kullanılarak yapılmaktadır (Giachetti 2010). Beyazlatıcı jel, yumuşak dokuları koruma altına alındıktan sonra dişle uygulanarak ve kullanılan yöntemine göre peroksit ısı veya ışık vasıtasıyla da aktive edilebildiği öne sürülmektedir (Goldstein 1995; Greenwall 2001). Ofis tipi tedavi, sadece bir uygulama sonrasında beyazlatma sağlamaktadır, ancak ideal beyazlatma için bir kaç seans daha gerekli olabilmektedir (Shethri ve ark 2003, Sulieman 2005a). Piyasada yoğun olarak bulunan ve market tipi diye adlandırdığımız ürünler, genellikle düşük konsantrasyonlarda beyazlatma ajanları (ör. %3-6 hidrojen peroksit) içermektedirler. Bu tip ürünler, hazır plaklar (gum shield), yapışkan bantlar (strip) ve küçük fırçalar (paint-on) ile uygulanabilmekte ve bu şekilde dişlere beyazlatma jelinin kişinin kendisinin uyguladığı farklı ürün formları bulunmaktadır ve genel olarak bu ürünler kullanım talimatlarına göre 2 haftaya kadar kullanılabilirler (Gerlach ve ark 2002b; Collins ve ark 2004).

2.2. Beyazlatma Ajanları ve İçerikleri

Beyazlatma tedavileri için daha çok hidrojen peroksit ve türevlerini içeren ürünler kullanılmaktadır (Goldstein 1995). Diş beyazlatma tedavisinde kullanılan ürünler; hidrojen peroksit, karbomit peroksit, sodyum perborat, kalınlaştırıcı ajanlar, üre, taşıyıcılar, yüzey nemlendiricileri, koruyucular, aromatikler içermektedirler (Greenwall 2001).

2.2.1. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit ve türevleri yalnız diş hekimliğinde değil endüstride de yaygın olarak kullanılmaktadır. Hidrojen peroksit (H_2O_2), acı bir tadı olan, suda yüksek oranda çözünebilen ve asidik bir solusyon oluşturan renksiz bir maddedir. Endüstride saç, tüy gibi keratinize dokuların, kumaşların ve yiyeceklerin ağartılması, koku giderilmesi ve suyun temizlenmesi işlemlerinde kullanıldığı gibi, tohum dezenfektanı ve şarap üretiminde nötralizan olarak da kullanılmaktadır (Goldstein 1995). İç ve dış kaynaklı nedenlerle renk değişikliğine uğramış dişleri beyazlatmak amacıyla kullanılan hidrojen peroksit farklı konsantrasyonlarda kullanılmaktadır. En çok tercih edilen hidrojen peroksit solüsyonu, sudaki %30-38' lik konsantrasyonudur. Yumuşak dokularda yakıcı etkiye sahiptir ve buharlaştırıcı özelliği bulunmaktadır. Bu nedenle ağız içi uygulamalarında çevre dokulara koruyucu işlemler yapılmalıdır. (Greenwall 2005).

Alkalin koşulları altında, hidrojen peroksit beyazlatması genellikle perhidroksil anyonu vasıtasıyla gerçekleşmektedir. Diğer koşullar serbest radikallerin oluşumunu arttırabilmektedir. Yani beyazlatma etkinliği en fazla olan serbest radikallerden biri perhidroksil serbest radikalidir (Goldstein ve Garber 1995; Joiner 2006). Yapılan bir çalışmada, ışık veya lazer kullanılarak fotokimyasal olarak başlatılmış reaksiyonlarda, hidrojen peroksitten hidroksil radikallerinin oluşumu arttırdığı ($H_2O_2 \rightarrow 2OH^\bullet$) (Kashima-Tanaka ve ark 2003), perhidroksil radikallerinin ($HO^\bullet + H_2O_2 \rightarrow H_2O + HO_2^\bullet$) ve süperoksit anyonlarının oluşması ($HO_2^\bullet \leftrightarrow H^+ + O_2^-$) görülmüştür (Dahl ve Pallesen 2003).

Hein ve ark, peroksit içeren iki beyazlatma jelinin karıştırıldıkları çalışmada kimyasal aktivasyonlu beyazlatma tedavisinde, peroksit çözülmesinin anlamlı düzeyde arttığını bildirmişlerdir (Hein ve ark. 2003). Genelde, beyazlatıcı ürünlerdeki hidrojen

peroksit içeren jel asidik pH'a sahiptir. Peroksitin çözünürlüğü asidik ortamda çok daha az olduğu için hidrojen peroksitin raf ömrü uzamaktadır. Aktive edici jelin (katalizör) temel fonksiyonunun beyazlatıcı jel karışımının pH'ını arttırmak olduğu ve bu şekilde peroksit çözünürlüğünü artırıp aktif beyazlatıcı radikallerin oluşumunu sağladığı gösterilmiştir (Goldstein ve Garber 1995).

2.2.2. Karbamid Peroksit

Karbamid peroksit, $[\text{CO}(\text{NH}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}_2]$ genelde ev tipi beyazlatma ajanı olarak kullanılan sulu bir solusyondur. %10 karbamid peroksit ($\text{CH}_6 \text{N}_2\text{O}_3$), beyazlatma işlemi sırasında; %3,35 hidrojen peroksit (H_2O_2) ve %6,65 üreye ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) parçalanır. Beyazlatmanın birincil ajanı olan hidrojen peroksitin (H_2O_2) açığa çıkabilmesi için karbamid peroksitin su ile reaksiyona girmesi gerekmektedir (Ito ve Momoi 2011). Karbamid peroksitten hidrojen peroksitin açığa çıkması $\text{H}_2\text{NCONH}_2 \bullet \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow (\text{su ile}) \rightarrow \text{H}_2\text{NCONH}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$ formülüyle ifade edilmektedir (Dahl ve Pallesen 2003).

Karbamid peroksit parçalandığında hidrojen peroksitin yanısıra açığa çıkan üre, bir sonraki aşamada amonyak ve karbondioksit parçalanmaktadır. Amonyakın ortamın pH'ını yükselterek beyazlatma reaksiyonlarını kolaylaştırdığı düşünülmektedir (Haywood ve Heyman 1991).

2.2.3. Sodyum Perborat

Sodyum perborat ($\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), suda çözünerek sodyum metaborat ve hidrojen peroksit parçalanmış beyaz bir tozdur (Arı ve ark 2008). Sodyum perborattan hidrojen peroksitin açığa çıkması $\text{Na}_2[\text{B}_2(\text{O}_2)_2(\text{OH})_4] + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NaBO}_3 + 2\text{H}_2\text{O}_2$ formülüyle ifade edilmektedir (Dahl ve Pallesen 2003).

Dünyadaki sodyum perborat tüketimi 1990 yılında 600 000 ton olarak bildirilmiştir (Watts ve Addy 2001). Endodontik tedavi sonrası renk değişikliği görülen dişlerde intrakoronel beyazlatmada kullanılan sodyum perborat, alkali pH'a sahip bir beyazlatma materyalidir. Alkalin pH'daki bir beyazlatma jeli hidrojen peroksitin daha kontrollü salınımına izin vermektedir (Weiger ve ark. 1994). Bu maddelerin pH'ını karıştırıldıkları zaman çözünen sodyum perboratın miktarına bağlı olarak asitten alkaline dereceli olarak değişmektedir.

Rengi değişmiş nekrotik dişlerin hidrojen peroksit kullanılarak intrakoronel olarak beyazlatılmasını takiben eksternal servikal kök rezorpsiyonu olduğu

bildirilmiştir. Bu sebeple beyazlatmadan kaynaklanabilecek eksternal servikal kök rezorpsiyonunu engellemek ya da en aza indirmek için hidrojen peroksit yerine su kullanılması önerilmektedir (Weiger ve ark. 1994; Rotstein ve Freidman 1991).

2.2.4. Kalınlaştırıcı Ajanlar

Genel olarak beyazlatıcı ürünlere eklenen kalınlaştırıcı ajan karboksipolimetilen (karbopol) bir poliakrilik asit polimeridir. pH düşürme amaçlı olarak bu ürünlere trolamin de eklenebilmektedir. Karbapol beyazlatma ürünlerinin viskozitelerini arttırarak oksijen salınımını yavaşlatır. Bu sayede bu ürünler daha uzun süreli aktif halde kalır ve beyazlatma jeli dişler ve taşıyıcılara iyi bir şekilde adapte olabilir. Aynı zamanda tükürük tarafından hidrojen peroksitin etkinliğinin azalması da engellenmektedir (Matis ve ark 1999, Greenwall 2001).

2.2.5. Üre

Üre insan vücudunda doğal olarak bulunan bir maddedir. Ürenin yıkılması sonucu amonyak ve karbondioksit oluşmaktadır. Hidrojen peroksitin stabilizasyonunu sağlaması ve pH'ı arttırmasının yanı sıra antikaryojenik etkisi, tükürük sitümilasyonu ve yara iyileşmesi üzerine etkileri nedeniyle beyazlatma tedavisinde kullanılan ürünlere üre eklenmektedir (Greenwall 2001).

2.2.6. Taşıyıcılar

Beyazlatma ürünleri gliserin veya glikol bazlıdır. Gliserin; beyazlatma ürünlerinin viskozitelerini arttırarak kullanım kolaylığı sağlamaktadırlar. Ancak gliserin bazlı taşıyıcıların bir dezavantajı olarak dişlerde dehidratasyona neden olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Glikol ise anhidroz bir gliserindir (Greenwall 2001)

2.2.7. Yüzey Nemlendiriciler

Beyazlatma ürünlerine eklenen yüzey nemlendiricileri sayesinde hidrojen peroksitin diş yüzeyine penetrasyonu kolaylaşmaktadır. Nemlendirici içeren ürünlerin, içermeyen ürünlere oranla daha etkili olduğu belirtilmektedir (Feinman ve ark 1991).

2.2.8. Koruyucular

Beyazlatma ürünlerinin hepsinde sitroksain, fosforik asit, sitrik asit veya sodyum stannat gibi koruyucular vardır. Bu koruyucular sayesinde hidrojen peroksitin

parçalanmasını hızlandıran demir, bakır, magnezyum gibi metallerin beyazlatıcı ürünleri etkilemesi engellenerek jel stabilizasyonu sağlanmaktadır (Greenwall 2001).

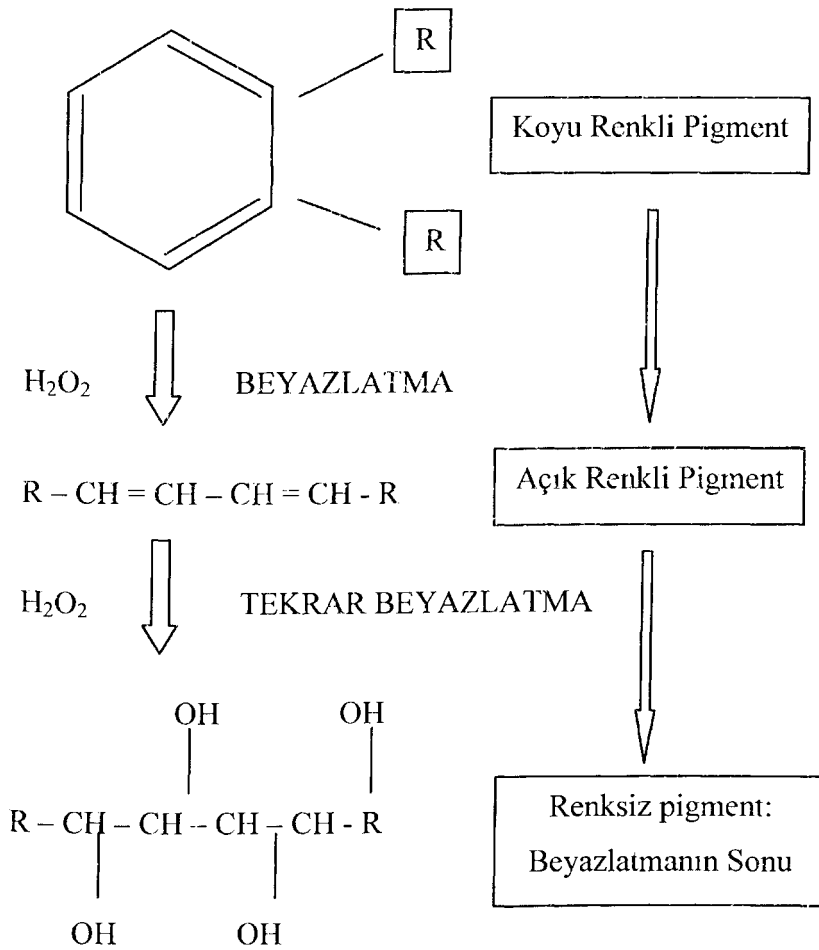
2.2.9. Aromatikler

Beyazlatma ürünlerine katılan nane ve meyve özü gibi aromatikler, bu ürünlerin tatlarının ve kokularının hastaların kabul edebileceği şekilde ayarlanmasını sağlamaktadır (Greenwall 2001).

2.3. Diş Beyazlatma Mekanizması

Beyazlatma, bir çözelti veya bir yüzeydeki renk giderme sürecidir. Beyazlatma diş renklenmelerine sebep olan polimerik organik pigmentlerin oksidasyonu ile gerçekleşmektedir. Bir çözeltide veya bir yüzeyde renk oluşturan maddeler genel olarak kromofor olarak adlandırılırlar. Kromoforlar değişen tekli veya çiftli geniş karışık zincir bağları içeren ve sıklıkla heteroatomlar, karbonil, ve fenil halkalar bulunduran organik bileşiklerdir. Kromoforun beyazlatılması ve renk giderilmesi birleşik zincirdeki bir veya daha fazla sayıda çift bağı yok ederek, zinciri ayırarak, veya zincirdeki başka kimyasal parçaların oksidasyonu yolu ile sağlanabilmektedir. Peroksitler serbest radikallere ayrıştıktan sonra, bu serbest radikaller diş yapısı içine difüze olmakta ve yüksek derecede pigmente karbon zincirli bileşenleri daha küçük ve az renklenmiş zincirlere parçalamaktadır (Haywood ve Heymann 1989). Hidrojen peroksit organik ve inorganik bileşikleri oksitleyebilir. Oksidasyonun, mine ve dentinin organik ve inorganik elementlerine zarar vermeye başladığı saturasyon noktasını aşmaması gerekmektedir. Bu reaksiyonlar çeşitlilik göstermekle birlikte; substrata, reaksiyonun gerçekleştiği çevre koşullarına ve katalizöre bağlıdır (Goldstein ve Garber 1995; Joiner 2006).

Ağartma işleminde; mine renklenmesinden sorumlu ve karbon halkalarından oluşan koyu renkli organik materyalin, peroksitlerin ayrışması ile oluşan serbest radikaller ile karbon halkalarının açılması sonucu doymuş karbon bağlı pigmente olmayan (açık renkli) karbon zincirlerine dönüştüğü bir doyma noktasının olduğu ve ağartmanın ideal olarak bu noktada sonlandırılması gerektiği bildirilmektedir (Şekil 2.1) (Flaitz ve Hicks 1996).



Şekil 2-1: Hidrojen peroksitin etki mekanizması

Peroksit diş içine nüfuz ederken, renkte bir açılmaya neden olacak şekilde diş yapılarının içinde bulunan renkli maddelerle reaksiyona girebilir. Yapılan bir çalışmada, karbamid peroksit ile yapılan beyazlatma sonrası dentin boyunca renk değişimleri oluşmuştur. Bu durum dentinin de etkilendiğini kanıtlamaktadır (McCaslin ve ark 1999).

2.4. Diş Beyazlatmayı Etkileyen Faktörler

2.4.1. Beyazlatma Çeşidi:

Son yıllarda yapılan diş beyazlatma çalışmalarının çoğunda, günümüzde de sıklıkla kullanılan hidrojen peroksit veya karbamid peroksit kullanılmaktadır. Diş yüzeyine uygulanan ve asidik koşullarda etkili olduğu ileri sürülen sodyum klorit esaslı bir diş

beyazlatma sistemi de bulunmaktadır, ancak bugüne kadar beyazlatma etkisine yönelik yapılmış herhangi bir çalışma bildirilmemiştir (Attin ve ark 1997, Attin ve ark 2004). Bu ürün dışındaki diğer vital diş beyazlatma sistemleri ve etkileriyle ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar, sodyum perborat (Addy ve ark 1991), peroksimonosülfat (Ellingsen ve ark 1982), peroksit metal kalatizörleri (Suliman 2005a) ve oksiredüktaz enzimleri içerirler. Bu alternatif diş beyazlatma sistemlerinin uzun dönemli etkinlikleri değerlendirilmektedir (Joiner 2006).

2.4.2. Konsantrasyon ve Zaman

Peroksit içeren ürünler ile yapılan diş beyazlatma tedavisini etkileyen ana faktörler konsantrasyon ve zamandır. Genel olarak yüksek konsantrasyonlar düşük konsantrasyonlardan daha hızlı bir beyazlama sağlarlar. Buna karşılık uygulama süresi artırılarak düşük konsantrasyonların beyazlatma derecesi yüksek konsantrasyonlara yaklaştırılabilir. Örneğin, araştırmacılar %5-35 arası hidrojen peroksit içeren beyazlatıcı jellerin beyazlatma etkilerini *in vitro* bir araştırmayla karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada benzer düzeyde bir renk değişimi sağlamak için beyazlatma jelinin konsantrasyonun yükseltilmesi ve jel uygulama sayısının azaltılması gerektiğini bildirmişlerdir (Suliman ve ark 2004).

Yapılan bir çalışmada %5' lik %10' luk ve %16' lık karbamid peroksit jellerinin *in vitro* yöntemle diş beyazlatma etkileri karşılaştırılmıştır. Beyazlatma süresi standart tutulduğunda beyazlatma etkinliğinin, yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona sırasıyla %16'lık %10' luk daha sonra da %5' lik konsantrasyonda olduğu bildirilmiştir (Leonard ve ark 2003). %5' lik beyazlatma jeli, tedavi süresi uzatıldığında daha yüksek konsantrasyonlu beyazlatma jellerine göre benzer düzeyde renk değişimi yapmıştır. Ev tipi beyazlatma ajanlarıyla yapılan bir klinik çalışmada, 2 haftalık kullanım sonrasında %15' lik karbamid peroksit jelinin %10' luk karbamid jelinden kayda değer ölçülerde daha fazla diş beyazlığı sağladığını göstermişlerdir (Kihn ve ark 2000). Bu sonuç Matis ve arkadaşları tarafından bildirilen diğer bir klinik çalışma ile doğrulanmıştır (Matis ve ark 2000). Bu çalışmada, uygulama zamanı 6 haftaya uzatıldığında diş parlaklığındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Tetrasiklin renkleşmesi olan bireylerde 6 aylık klinik takip çalışmasında, karbamid peroksitin yüksek konsantrasyonları ile başlangıçta daha hızlı bir renk değişimi sağlanmıştır (Matis ve ark 2002).

%20' lik, %15' lik ve %10' luk karbamid peroksitlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, en hızlı beyazlatma çalışmanın başlangıcında %20' lik karbamid peroksitte meydana gelmiştir. Ayrıca, hidrojen peroksitli yapışan bant tarzı (strip bant) ürünlerle yapılan klinik çalışmalar, diğer çalışmalarla kıyaslandığında diş beyazlatma etkisi açısından benzer etkiler gözlenmiştir (Gerlach 2002a; Ferrari ve ark 2004).

2.4.3. Isı ve Işık

Kimyasal reaksiyonların hızı, ısı yoluyla artırılabilir. 10°C'lik bir ısı yükselmesi reaksiyonun hızını iki katına çıkartabilir (Goldstein ve Garber 1995). Dişlerin kimyasal beyazlatılma hızını arttırmak amacıyla, yüksek yoğunluklu ışık kullanılması önerilmektedir. Isıtılmış diş hekimliği aletleri kullanarak peroksitin ısını yükseltmek ve dolayısıyla diş beyazlatmayı hızlandırmak gibi yaklaşımlar geçmişte kalmıştır. (Greenwall 2001). Aşırı derecede ısıtma diş pulpasında geri dönülemez hasarlara neden olabilmektedir. Günümüzde yapılan çalışmalar, dişlerin farklı seviyelerde dalga boyları olan çeşitli ışık kaynaklarıyla eş zamanlı aydınlatılması ile peroksit beyazlatmasının hızlandırıp hızlandırmadığını araştırmaya odaklanmıştır. Bu kaynaklara; Quartz tungsten halojen (QTH), plazma ark lambaları, lazerler ve LED'ler (Light Emitting Diode-Işık Yayan Diyot) örnek olarak gösterilebilmektedir (Sulieman 2005a; Wetter ve ark 2004). Diş beyazlatma süresince *in vitro* modeller kullanıldığında bazı ışık kaynakları, pulpa ısını dikkate değer miktarda arttırmıştır (Baik ve ark 2001; Eldeniz ve ark 2005). Sun, çalışmasında kullanılan ışık kaynağının, beyazlatma sürecindeki kimyasal redoks reaksiyonlarını hızlandırmak için peroksiti etkinleştirebileceğini söylemiştir (Sun 2000). Işık ile etkinleştirilmiş beyazlatma tedavilerinde kullanılan bazı ürünler, karoten ve mangan sülfat gibi genellikle renkli olan ve peroksit jeline enerji transferine yardımcı olduğu iddia edilen materyaller içermektedirler (Wetter ve ark 2004; Sulieman 2005a).

Günümüze kadar yapılan çalışmalar ışık ile etkinleştirilen peroksit diş beyazlatma tedavilerinin etkinliğini göstermiştir (Smigel 1996, Nash 1999, Lu ve ark 2001, Nakamura ve ark 2001, Greenwall 2001). Doğal olarak renklenmiş insan dişleri kullanılan bir *in vitro* çalışma da, çeşitli ışık kaynaklarının uygulanması, bazı beyazlatıcı malzemelerin, beyazlatma etkinliğini önemli ölçüde artmıştır (Luk ve ark 2004). Aynı zamanda bazı *in vitro* çalışmalar, peroksit ışıkla aktive edildiğinde uygun kontrol koşullarında önemli derecede beyazlama miktarını arttırmıştır. Bu çalışmalarda

diş örnekleri yapay olarak; siyah çay, kahve, tütün ve kırmızı şarap gibi iç ve dış renkleşme oluşturan içeceklerle renklendirilmiştir (Wetter ve ark 2004; Sulieman ve ark 2005b).

2.4.4. Diğer Etkenler

Beyazlatıcı maddenin yoğunluğu, serbestlenen oksijen oranı (Greenwall 2005), renkleşmenin yeri ve derinliği (Howard 1992), materyalin bozulma oranı (Matis ve ark. 1999) gibi etkenler beyazlatmayı etkileyen faktörler arasında yer almaktadır.

Detertraj ve polisaj işlemleri ile diş yüzeyindeki tüm birikintiler uzaklaştırılarak diş yüzeyi temizlenmelidir (Goldstein ve Garber 1995).

İç renklenmelerin tipi ve başlangıçtaki diş rengi, diş beyazlatma tedavisinin sonuçlarında önemli bir rol oynamaktadır. Hafiften orta dereceye kadar olan tetrasiklin renklenmeleri daha uzun süreli (2-6 ay arası) beyazlatma tedavilerine daha iyi cevap verirler (Haywood 2000a, Kugel 2002). Bununla beraber, daha ciddi tetrasiklin renklenmelerinin daha zor beyazlatıldığı gösterilmiştir (Haywood 2000a). Bazı araştırmacılar da daha koyu renk dişleri beyazlatmak için daha uzun süreler gerektiğini göstermişlerdir (Mahony ve ark 2003). Ayrıca; tetrasiklin renklenmeleri dişin kole bölgesinde görüldüğü ve renklenme koyu gri, mavi olduğunda da prognozun zayıf olduğu bildirilmiştir (Haywood 2000b).

Sağlıklı dişler için, hasta tarafından %10' luk karbamid peroksit kullanılarak uygulanan bir diş beyazlatma çalışması; peroksit kullanan bireylerin %93' ünde ve kontrol grubunun %20' sinde vita renk skalasına göre 2 birimlik bir değişiklik olduğunu göstermiştir. (Niederman ve ark 2000). Geniş kapsamlı bir diğer *in vivo* çalışmanın sonuçları, dişlerin daha sarı olması durumunda beyazlatmaya verilen cevabın daha iyi olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada ayrıca, bireylerin yaşı ile beyazlatmaya verilen cevabın değeri arasında kayda değer bir ilişki bulunduğu, genç bireylerde daha yüksek oranda beyazlama sağlanmıştır. Bireylerin yaşı ve başlangıç diş rengi ile beyazlatmaya verilen cevap arasında bir ilişki mevcuttur. Başlangıç daha az sarılıkta diş rengine sahip yaşlı bireyler beyazlatma sonrasında daha az beyazlama gösterirlerken, başlangıç diş rengi daha sarı genç bireylerde ise en fazla beyazlama görülmüştür. Buna ek olarak, cinsiyet farklılığının veya kahve/çay tüketiminin diş beyazlatmaya verilen cevap üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır (Gerlach 2001).

Pelikül ve plağın diş yüzeyi üzerindeki varlığı, peroksit aktivitesini düşürecek etkiye sahiptir. Wattanapayungkul ve ark., diş yüzeylerinde bulunan pelikülün peroksitin stabilitesi üzerinde herhangi bir etkisi olmadığını göstermişlerdir. (Wattanapayungkul 1999). Gerlach ve ark., bireylere %6,5' lik hidrojen peroksit kullandırdıkları bir diş beyazlatma çalışmasında beyazlatma öncesi fırçalamanın etkisini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları beyazlatmanın hemen öncesinde diş fırçalamanın beyazlama derecesi üzerinde etkisinin düşük düzeyde olduğunu ileri sürmektedir (Gerlach 2002b).

Diş beyazlama miktarını etkileyen dışsal faktörler lekenin cinsi, dişin başlangıç rengi ve bireyin yaşıdır (Joiner 2006). Ayrıca literatürlerde beyazlatma uygulamalarının bazı yan etkilerinden de bahsedilmektedir (Seghi ve Denry 1992; Tam 1999a; Addy 2002).

2.5. Diş Beyazlatma Tedavisinin Yan Etkileri

2.5.1. Yerel Yan Etkiler

2.5.1.1. Diş Hassasiyeti

Diş hassasiyeti beyazlatma uygulamalarının en belirgin yan etkilerindendir (Tam 1999b; Haywood 2000a). %10 karbomit peroksit içeren beyazlatma ürünleriyle yapılan çalışmalarda hastaların %15-65' i artan bir hassasiyetten söz etmektedir (Haywood ve ark. 1994; Schulte ve ark. 1994; Leonard ve ark. 1997; Tam 1999a). Beyazlatma için hidrojen peroksitin ısıyla aktive edildiği çalışmalarda da diş hassasiyetleri görülmüştür (Cohen ve Chase 1979; Nathanson ve Parra 1987). Dişlerde oluşan hassasiyetin 4 gün boyunca devam ettiği ifade edilmiştir (Cohen ve Chase 1979; Schulte ve ark. 1994). Restorasyon bulunan dişlere uygulama yapıldığında bu dişlerde restorasyon bulunmayan sağlıklı dişlere oranla daha çok hassasiyet görüldüğü bildirilmiştir (Gökay ve ark. 2000).

2.5.1.2. Mine ve Dentin Dokuları Üzerine Etkileri

Beyazlatma tedavisinin mine yüzeyine etkileri ile ilgili yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda hidrojen peroksitin minenin kimyasal kompozisyonunu değiştirmedeği görülürken (Haywood ve ark. 1991), bazı çalışmalarda hem minenin hem dentinin kalsiyum-fosfat oranını belirgin bir şekilde azalttığını göstermişlerdir (Lewinstein 1994; Goldstein ve Garber 1995; Rotstein ve ark 1999). Beyazlatma ajanlarınca oluşturulan demineralizasyonun tükürük komponentlerinin

absorpsiyonu ve çökmesi ile tamir edilebilmektedir (Amaechi ve Higham 2001; Attin ve ark. 2003).

Bu ajanlar, diş rengini ağartmada etkili olmalarına rağmen kullanımları; dentin geçirgenliğinin artması, diş yapısında değişiklikler, eksternal servikal kök rezorbsiyonu, restorasyonlarda mikrosızıntı, kompozit reçinelerin bağlanma dayanımında (Crim 1992; Stokes 1992; Titley 1993; Chng 2002) ve kırılma dirençlerinde azalma gibi komplikasyonlara yol açabilmektedir (Teptoranintra 2001).

Dentin dokusu, dişin pulpasını saran mineralize bir bağ dokusu olduğu bilinmektedir. Başlıca yapı elemanları; pulpadan mine-dentin sınırına kadar uzanan pulpal basınca bağlı olarak dışarı ya da içeri doğru hareketlilik gösteren dentin sıvısı ile dolu olan dentin tübülleri, dentin dokusunu oluşturan odontoblast hücreleri ve uzantıları olan Thomes lifleri, tübüllerin çevresindeki hipermineralize dentinle kaplı peritübüler dentin ile tübüller arasında daha az mineralize dentin kısmı olan intertübüler dentinden oluşmaktadır. Yapılan çalışmalarda hassas dentinde hassas olmayan dentine göre daha geniş ve daha fazla açık dentin tübülü olduğu saptanmaktadır. Bu bulgular, dentin yüzeyinde daha fazla ve daha geniş dentin tübülünün uyarı iletimi olasılığını ve ağrı iletimini arttırdığını göstermektedir (Absi ve ark. 1987; Addy 2002)

Peroksit içeren beyazlatma ajanlarının dentin dokusuna penetre olduğu ve fibroblast mekanizmasını baskıladığı görülmektedir (Fat ve ark. 1991). Ayrıca leke ve renklenmelerin giderilmesiyle dentin tübüllerinin açıldığı ve diş hassasiyetinin tübüllerdeki sıvı hareketi ile arttığı da bilinmektedir (Addy 2002).

2.5.1.3.Sement Üzerine Etkileri

Ev tipi beyazlatma ajanları kullanılan uygulamalarda sementin etkilenmediği çalışmalarda görülmektedir (Murphy ve ark. 1992, Rotstein ve Friedman 1991). Scherer'in 1991 yılında ev tipi beyazlatma sistemi ile yaptığı çalışmada sement yüzey morfolojisinin bozulmadığı görülmüştür.

2.5.1.4.Pulpa Üzerine Etkileri

Genellikle, beyazlatma aktivasyon işlemlerinde bahsedilen ısı artışı diş yüzeyinde olduğu gibi pulpa odasında da olabilmektedir. Uygulanan beyazlatıcı jel ısıya karşı bir izolatör gibi davranmaktadır. Lazer (diod laser 30sn, 3W, 830nm) dişe direkt olarak uygulandığında pulpa ısısında 16°C'lik bir artış olurken, aktivasyon sırasında jel

kullanıldığında puldada 8,7 °C' lik ısı artışı olmaktadır (Sulieman 2005a). Isı artışının miktarı ayrıca jellerdeki renk pigmentlerinin miktarı ve çeşidine bağlıdır (Eldeniz ve ark 2005). Nyborg ve Brannstrom klasik deneylerini yaptıklarından beri, pulpa içi ısı artışının pulpanın patolojik değişimlerine ve pulpal nekrozlara neden olduğunu raporlamışlardır (Nyborg ve Brannstrom 1968). Hayvanlar üzerinde yapılan bir çalışmanın sonucunda pulpa içi ısıda 5,5 °C' lik bir artış, limit değeri olarak kabul edilmektedir ve bu değer geri dönüşümü olmayan pulpa hasarına yol açmamak için aşılmamalıdır (Zach ve Cohen 1965).

Birçok araştırmacı tarafından *in vitro* koşullarda yapılan deneylerde de, çeşitli peroksit ürünlerine ve çözeltilerine 15-30 dakika maruz bırakılma sonrasında, düşük seviyelerdeki peroksitin çekilmiş dişlerin pulpa hücrelerine nüfuz ettiğini göstermiştir (Thitinthapan ve ark 1999; Slezak ve ark 2002; Joiner ve Thakker 2004). Bu araştırmalara göre, ölçülen peroksit seviyeleri, pulpa hücrelerinin inaktivasyonunu başlatmak için yeterli değildir ve pulpa dokusuna bir zararı yoktur (Joiner ve Thakker 2004). Pulpa odasındaki peroksit miktarının uygulanan peroksitin konsantrasyonuna bağlı olduğu bildirilmektedir (Gökay ve ark. 2000).

2.5.1.5. Dişeti Üzerine Etkileri

Beyazlatma tedavisinde en yaygın görülen yan etkilerden biri de diş eti iritasyonudur. Taşıyıcıların neden olduğu mekanik iritasyonun yanı sıra beyazlatma ajanlarının dokularda meydana getirdiği kimyasal iritasyondan da söz edilebilir (Goldstein ve Garber 1995).

2.5.1.6. Yüzey Sertliği ve Aşınma Direnci Üzerine Etkileri

Mine yüzey sertliği beyazlatma uygulamaları ile etkilenmemektedir (Zalkind ve ark. 1996, Kelleher ve Roe 1999). Ancak bazı çalışmalarda da %10'luk karbomit peroksit kullanıldığı zaman mine yüzey sertliğinde azalmalar görülmektedir. Bu tip durumlarda florid uygulaması ile minenin remineralizasyonu artırılmaktadır. Sertliğin azalması mineden mineral kaybının yansımaya ortaya çıkmaktadır ve sonuçta da aşınma direnci azalmaktadır (Seghi ve Denry 1992). Araştırmacılar sonuçta kırılma dayanıklılığında da bir değişim olduğunu belirtmektedirler (McCracken ve ark. 1996).

2.5.1.7. Restoratif Materyaller Üzerine Etkileri

Bazı çalışmalar beyazlatma ajanlarının kompozit, cam iyonomer gibi restoratif materyaller üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını söylerken (Hafez 2010), bazıları da restoratif materyallerin yüzeylerinde bir takım değişikliklere sebep olduklarını söylemektedirler (Robinson ve ark. 1997).

Ev tipi beyazlatma uygulaması sonrasında seramiklerde yüzey pürüzlülüğünde artışla birlikte diş yüzeylerinde plak birikimi de artmıştır. Bunun sonucu olarak da sekonder çürük ve periodontal problemler meydana gelmektedir. Ayrıca seramiklerin dokularını bozarak estetik görüntüde de problemler meydana getirmektedirler (Zaki ve Fahmy 2009). Yapılan bir çalışmada da ev tipi %10 ya da %16 konsantrasyonlu karbamiit peroksit içeren beyazlatma materyallerinin 126 saatlik kullanımında seramiklerin yüzey pürüzlülüğünün etkilenmediği rapor edilmiştir (Oirique ve ark 2011).

2.5.2. Genotoksisite ve Karsinojenite Açısından Etkileri

Hidrojen peroksit değerlendirildiğinde direkt teması halinde bakteri veya hücre kültürlerinde genotoksik yani; genler üzerinde toksik etkisi olan bir madde olduğu gösterilmektedir (ECETOX; Li 1996). Peroksitin, hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalayan ve hücreleri koruyan enzim olan katalaz ya da metabolik enzimler (ribonükleaz, fosfataz, lipaz, glikozidaz, peroksidaz vb.) ile birlikte bakteri veya hücre kültürlerine uygulandığında bu genotoksik etkilerinin azaldığı ya da ortadan kalktığı görülmüştür. Hidrojen peroksitin sistemik genotoksik etkileri hayvanlar üzerinde araştırıldığında herhangi bir mutajenite yani; herhangi bir mutasyona sebep olabilme bulgusu ortaya çıkmamıştır. Hidrojen peroksitten oluşan hidroksil radikalleri, perhidroksil iyonları ve süperoksit anyonları DNA'ya atak yapma özelliğine sahiptirler ve hidrojen peroksitin genotoksik potansiyeli serbest radikallerin DNA'ya ulaşabilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu da metabolik enzimler varlığında hidrojen peroksitin neden genotoksisiteyi uyardığını göstermektedir. Karbamiit peroksit içeren beyazlatma ajanları belirli bakteri suşlarına karşı mutajenik özellik göstermekte, bazıları ise eklenen enzimler bu mutajenik özellikleri göstermesini engellemektedir. *In-vivo* çalışmalarda karbamiit peroksite maruz bırakıldıktan sonra kemik iliği hücrelerinin mikroçekirdek ve kardeş kromatidlerinde herhangi bir genotoksik etkiye rastlanmamıştır (Dahl ve Pallesen 2003). Çalışmalar hidrojen peroksitin zayıf lokal

karsinojenik yani; kansere sebep olabilecek etkisinin bulunduğunu da göstermektedir (Ito ve ark. 1982; Takahashi ve ark. 1986; Costa Filho ve ark. 2002). Mekanizması tam olarak belirli olmamakla birlikte, hidrojen peroksitten oluşan serbest radikallerin genotoksik etkisi olduğu unutulmamalıdır. Hidrojen peroksitin bir tümör destekleyici olarak hareket edebilmektedir (Klein-Szanto ve Slaga 1982, Weitzman ve ark. 1986).

Uluslararası Kanser Araştırma Birliği (International Agency on Research on Cancer) hidrojen peroksitin, hayvanlar üzerindeki karsinojenitesi ile ilgili kanıtların limitli olduğunu, insanlar üzerindeki karsinojenitesi ile ilgili kanıtların ise yetersiz olduğunu bildirmiştir (IARC 1999). %3,6 oranına kadar hidrojen peroksitin genotoksik potansiyelinin değerlendirildiği çalışmada tütün kullananlarda, alkol kullananlarda veya genetik yatkınlığı olanlarda ağız kanserlerinde bir artış olduğu görülmüştür (SCCNFP 1999).

2.5.3. Genel Sağlık Üzerine Yan Etkiler

Diş beyazlatma uygulamalarının risklerinin ve olumsuz etkilerinin belirlenebilmesi amacına odaklanan klinik çalışmalar henüz yapılamamaktadır. Doğru sonuçlara ulaşılabilmesi için çok sayıda birey üzerinde çalışmalar yapılmalıdır. Yeterli katılımcı sayısına ulaşamadığı için ve çoğu çalışmanın bir kontrol grubu olmadığı için beyazlatmanın genel yan etkileri değerlendirilememektedir (Bjerre ve LeLorier 2000).

Bahsedilen bütün etkiler üzerinde tükürüğün önemi büyüktür. Çünkü tükürük bu etkilerin hem yerel hem de genel olarak etkilenmesinde önemli rol almaktadır. Tükürüğün; ağız içi ve dişleri yıkayarak lokal olarak, beyazlatmadan sonra tükürüğün yutulmasıyla da genel olarak etkileri bulunmaktadır (Li ve ark. 1996; Dahl ve Pallesen 2003).

2.6. Tükürük

Sindirim fonksiyonunda rolü olan ve birçok fonksiyonel immün maddeyi içeren tükürük oral kavite ve tüm organizma için önemli bir akışkan olduğu bilinmektedir. Büyük tükürük bezleri (parotis, submandibular, sublingual) ve ağzın farklı yerlerine dağılmış (damak, yanak, dudak, dil) minör tükürük bezleri tarafından salgılanan tükürük (Edgar 1992, Kaya 1997), makromoleküller ve su olmak üzere iki ana komponentten oluşmaktadır. Uyarılmış, karışık tükürük, %99-99,5 oranında su içermektedir. Geri kalan %1' lik kısmını ise; proteinler, glikoproteinler, lipidler gibi büyük organik

moleküler ile glikoz, üre, aminoasitler gibi küçük moleküller ve kalsiyum, magnezyum, sodyum, potasyum, klorür, fosfat gibi elektrolitler oluşturmaktadır. Tükürükte; amilaz, karbonik anhidraz, lipaz fosfataz gibi enzimler de bulunmaktadır (Mandel 1980).

Normal tükürüğün renksiz, transparan, viskoz ve tatsız olduğu bilinmektedir (Diaz-Arnold 2002). Tükürüğün yoğunluğu 1003--1009 g/ml arasında değişmektedir. Hipotoniktir, viskozitesinin de 19-35 mPa.s (milipaskalsaniye) arasında olduğu bilinmektedir. Pityalin, musin, rodanürler, glikoproteinler, maltaz, mukopolisakkarit tükürüğün organik maddelerini oluşturmaktadırlar. Tükürükte, amilaz, muramidaz (lizozim), laktoferrin, maltaz, alkalen ve asit fosfataz, adenozin trifosfataz, peroksidaz, laktoperoksidaz, kalikrein, laktik dehidrogenaz gibi enzimler yer almaktadır (Edgar 1992; Diaz-Arnold ve Marek 2002).

Tükürük bezleri, müesine özgü boyları tutup tutmadığına göre müköz, seröz ve karışık olmak üzere üç tipe ayrılmaktadırlar. Sublingual, palatal, bukkal bezler müköz salgı yapmaktadırlar. Müköz bezlerde, alveolü döşeyen hücrelerin sitoplazmaları müsin boya alırlar ve bu bezlerin salgılarının müsinden zengin olup viskoziteleri yüksek olduğu bilinmektedir. Bu salgı daha çok mukoza kayganlığını sağlamaktadır. Mukozayı koruyucu özelliği bulunmaktadır. Seröz bezlerde hücreler küçük olup müsin boylarını almamaktadırlar. Salgıları daha fazla su içermektedir. Parotis salgısı sulu olduğu için gıda maddelerini ıslatıp yumuşatmaktadır. Karışık bezlerde her iki tipte hücre bulunmaktadır. Submandibuler bezde seröz hücreler, sublingual bezde müköz hücreler daha fazla bulunmaktadır. Minor tükürük bezleri seröz, müköz veya karışık asiniler içermektedirler (Diaz-Arnold ve Marek 2002).

2.6.1. Tükürük Salgılanmasını Etkileyen Faktörler

Tükürük salgılanmasında gerek akım hızı gerekse şimik özellikleri yönünden büyük farklılıklar olabilmektedir. İstirahat anında, yani herhangi bir uyarın yokken tükürük ancak ağız mukozasının nemliliğine yetecek kadar az salgılanmaktadır. Tükürük salgı hızı ve şimik yapısı; yaş, cins, uyku, diyet, dehidratasyon, emosyonel etkenler, infeksiyon hastalıkları, sinir sistemi hastalıkları, kullanılan ilaçlar ve uyarınların cinsi ve uygulanış şekli gibi durumlara göre değişiklik göstermektedir. Çiğneme etkinliği, tükürük salgısında en kuvvetli stimülandır. Koku, tat kadar şiddetli uyarın etkisi yapmaktadır (Kaya 1997; Humphrey ve Williamson 2001; Almeida ve ark. 2008).

Tükürük salgılanması 6-14 yaş arasında en fazladır. 20 yaşından sonra salgı azalmaya başlamaktadır. 60 yaş civarında akım hızı ortalama 0,025 ml/dakika -- 0,034 ml/dakikadır. Erkeklerde salgı daha fazla olmaktadır (Kaya 1997, Humphrey ve Williamson 2001).

2.6.2. Tükürüğün Görevleri

Sindirim işleminin başlangıcı ağızda olmaktadır. Tükürüğün ana görevi yiyeceklerin sindirilmesine yardım etmek ve sindirim kanalının giriş bölgesinin korunmasıdır. Gıdaların çiğnenmesi sırasında, gıdaların ufalanması, kimyasal olarak parçalanması ve lokmanın özofagusa taşınmasında yardımcı olmaktadır. Ağızda çiğnenerek küçültülmüş besinler tükürük musini yardımı ile yumuşak kıvamlı bir kitle şekline dönüşmektedirler. Gıdalar sulandırılıp kaygan şekle geldiklerinden yutma daha kolaylaşmış olmaktadır. Tükürükteki müsin, ufalanan parçaları birbirine yapıştırarak yutulabilir hale getirmektedir. Ağız kuruluğu olan kişilerde yutmanın zorlaştığı bilinmektedir (Tabak 1990; Kaya 1997; Humphrey ve Williamson 2001; Amerongen ve Veerman 2002; Pedersen ve ark. 2002). Tükürük yapısında bulunan pityalin (amilaz), karbonhidrat sindiriminde önemli rol oynamaktadır. Dilin posterior kısmındaki von-Ebner bezlerinden salgılanan lipaz da trigliseritlerin parçalanmasında görev almaktadır. Fazla miktarda alınacak yağlı diyet sonrası, pankreatik lipaz ile birlikte salgı miktarında artış görülmektedir (Mandel 1987; Kaya 1997; Humphrey ve Williamson 2001; Amerongen ve Veerman 2002; Pedersen ve ark. 2002).

Tükürüğün organizmanın su gereksinimini sağlamasında önemli etkisi olduğu bilinmektedir. Ağız ve boğaz mukozasının kuruması susuzluğa ve dolayısıyla su içilmesine neden olmaktadır. Sağlıklı organizmada bu durum geçerlidir.. Bukkal ve faringeal mukozanın yeterince ıslatılması koruyucu yönü yanında, konuşma yönünden de gerekli olmaktadır (Tabak 1990; Pedersen ve ark. 2002).

Tükürük yapısında mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen ve mukozayı enfeksiyonlardan koruyan birçok madde yer almaktadır. Bunlardan birisi, asiner hücrelerden salgılanan peroksidaz ve duktal sistemden salgılanan iyodittir. Peroksidaz, bakteriyel proteinlerdeki tirozini parçalamaktadır. Tükürükteki diğer antibakteriyel protein, lizozimdir. Lizozim, bakteriyel hücre membranının polisakkaritlerini hidrolize ederek etki göstermektedir. Bir çok mikroorganizmanın destrüksiyonunda yani yıkımında ve inhibisyonunda önemli göreve sahiptir. Normal olarak tükürük bezlerinde

aminopeptidaz, histokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir. Oral kavitedeki bradikin gibi fizyolojik olarak aktif peptitlerin inaktivasyonunda rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Oral kavite hastalıklarında bu enzimin aktivitesi artmaktadır. Çeşitli ağız hastalıklarında enzim aktivitesi değişiklik göstermektedir. Diğer bir savunma elemanı tükürük immunglobulinleridir (Ig). Burada IgA daha önemlidir. Bezlerin stromasındaki bağ dokusunda yer alan plazma hücrelerinden salgılanan IgA mukozanın dış yüzeylerini mikroorganizmalara karşı korumaktadır. Tükürükte IgG ve IgM de görülmektedir. Demire bağlı protein olan laktoferrin de antibakteriyel özellik göstermektedir. Parotis ve submandibuler bezlerin seröz hücrelerinde immunofloresan yöntemlerle lokalize edilebilmiştir. Tükürüğün, sayısız antibakteriyel etkinliğinin yanında non-karyojenik mikrofloraya ait bazı bakterilerin üremesine olan katkısı ilginçtir (Cowman ve ark. 1979; Pollock ve ark. 1987; Kaya 1997; Humphrey ve Williamson 2001; Amerongen ve Veerman 2002,).

Tükürük ağız temizliği ve diş sağlığında önemli rol oynamaktadır ve oral kavitede optimum düzeyde tükürük salgısı olmalıdır. Tükürük bakteriler üzerine bakteriostatik ve bakterisit etki gösterdiğinden ağız kokusuna neden olan bakterilerin üremesini engellemektedir. Ayrıca tükürük azlığında karbonhidratların fermantasyonu ile oluşacak asit dişlerin çürümesine de yol açmaktadır. Tükürük dişler arasındaki yemek artıklarının çözerek ağız temizliğine katkı sağlamaktadır. Salgılanma hızının dişlerin yüzeylerinin mekanik olarak temizlenmesinde payı büyüktür, yapısındaki glikoproteinler dişin mine tabakasında bir ağ oluşturmaktadırlar. Mikroorganizmalar karbonhidratların fermantasyonuna yol açarak asit ve dekstranları ortaya çıkarmaktadırlar. Asitler mine tabakasında demineralizasyon yaparak çürüğü oluşturmaktadırlar. Dekstran, bakteriler için besin kaynağıdır. Ağızda asiditenin görülmesinde diyet, tükürük pH'ı ve tamponlama özelliği amonyak ve üre miktarları rol oynamaktadır. Tükürükle salgılanan bikarbonat tamponlama görevi ile çürük oluşmasını engellemektedir. Tükürükteki karbonik asit-bikarbonat sistemi ve daha az olarak da fosfat ve proteinler tamponlama görevlerini sağlamaktadır. Çürük olmayan kişilerde tamponlama özelliği daha yüksek bulunmuştur. Tükürükteki amonyak ve üre diş çürümelerine karşı nötralizasyon yolu ile etki yaparken, kalsiyumunun yüksek düzeylerde bulunması çürük oluşumunu engellemektedir. İnorganik fosfat ise, çürük oranı fazla olan bireylerde daha yüksek bulunmuştur. Tükürükteki kalsiyum/fosfat oranının dişlerin remineralizasyonunda etkili olduğu, dolayısıyla çürüğün

önlenmesinde önemli bir rol oynadığı ileri sürülmüştür (Kaya 1997; Humphrey ve Williamson 2001; Amerongen ve Veerman 2002; Diaz-Arnold ve Marek 2002; Pedersen ve ark. 2002).

2.6.3. Tükürüğün Ağız-Diş Sağlığı Açısından Diagnostik Amaçlı Kullanımı

2.6.3.1. Tükürük Akış Hızı

Tüm tükürüğün dakikada mililitre cinsinden eşik değerleri, tükürük akış hızını vermektedir. Hastanın tükürük akış hızı değişiklikleri, ağız sağlığı hakkında güvenilir bir indikatördür.

Tükürük akış hızı ölçümleri; çürüklerin koruyucu ve restoratif tedavisinde, diş çürüğü bulunan hastalarda uygulanacak tedavinin ağız sağlığını nasıl etkileyeceğinin değerlendirilmesinde, korunmasız diş yüzeyleri olan hastalarda, düzenli medikal tedavi alan yaşlı hastalarda, depresyon tedavisi gören, Sjögren Sendromu olan ya da özellikle baş-boyun bölgesine tedavi amaçlı radyasyon uygulanan hastalarda yapılmalıdır (Axelsson 2000).

Tükürük salgısındaki enzimler ve elektrolitler tükürük akış hızına bağlı olarak artabilmekte veya azalabilmektedir (Kaya 1997, Humphrey ve Williamson 2001). Tükürük salgısı azalması ile tükürük içindeki koruyucu enzimler, antimikrobiyal maddeler azalmaktadır. Klinik olarak ise tükürük salgısında azalma meydana geldiğinde çatlama, kuru ve desquamatif dudaklar, kuru, eritemli ve yarıklı dil, angüler şelitis, mukositis ve oral ülserasyonlar görülebilmektedir (Reijden ark. 1999). Yani tükürüğün azalması sonucunda oral mukoza fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik etkenlere karşı dirençsiz hale geldiği rapor edilmektedir (Hashimi 2001).

2.6.3.2. Tükürük Tamponlama Kapasitesi

Tükürük pH'ını etkileyen iyonlar bikarbonatlar, karbonik asitler, fosfatlar ve tükürük proteinleridir. Normalde tükürüğün pH'ı 6,5-7,5 oranındadır. Diş yüzeyindeki sıvının, hidroksiapatite göre doymamış olduğu ve mineden kalsiyum ve fosfatın ayrılmasına izin veren değere kritik pH değeri denir. Bu değer 5,5 ve bunun altındaki pH' lar olarak bilinmektedir. Kritik pH'ın altında diş minesinden çözünme başlamaktadır. Bu da diş çürüklerinin başlaması için önemli bir nedendir. pH tespiti indikatör ve elektriksel yol ile yapılabilmektedir (Gao ve ark. 2001).

Tamponlama kapasitesi, ortama asit ve baz ilave edildiğinde, çözeltinin pH değişikliğine karşı direnme yeteneğidir. Tükürüğün yeterli tamponlama kapasitesine sahip olması, diş çürüklerini önlemede önemli bir faktördür. Tükürüğün tamponlama kapasitesini arttırabilmek için diş macunları, gargaralar ve tükürük salgısını artırıcı sakız, kraker vb. maddeler kullanılmalıdır. İstirahat halinde önemli tamponlayıcı elemanlar inorganik fosfatlar, uyarılmış tükürükte karbonik asit- bikarbonat sistemi devreye girmektedir. Bikarbonat iyonu arttığı için tamponlama kapasitesi daha yüksek değerlerdedir (Axelsson 2000).

Tükürüğün tamponlayıcı komponentleri, bakteri plağına difüze olabilmekte ve asit üretimini direkt olarak nötralize edebilmektedirler. Tükürük akışı yeterli olduğu sürece, nötral pH değerlerinin devamlılığı sağlanmakta ve dişlerin, asitlerden, gastrik refludan, yemeklerden ve asidik tarzda içeceklerden, ağız ve özafagus yollarının korunduğu gibi korunması söz konusu olmaktadır (Hall 1993).

2.6.3.3. Mikrobiyolojik Testler

İnsanların ağız florasında stafilokoklar, streptokoklar, koliform bakteriler, spiroketler, fusiform bakteriler, spiriller ve vibriolar vb. gibi 200-300 çeşit bakteri bulunmakla birlikte en fazla bulunan mutans streptokok ve laktobasillerdir (Meşe ve Meşe 2005).

Tükürüğün bir diğer özelliği antimikrobiyal özelliğidir. Tükürük içerdiği lizozim, laktoperoksidaz, salgısal immunglobulin A gibi enzimleri sayesinde oral enfeksiyonların kontrolüne yardımcı olmaktadır (Özcan ve ark. 2011).

Plak ve diş mine tabakası arasındaki pH' ın 5,5 veya daha altına düşmesi tükürük ile dengelenemeyince oluşan laktik asit minede erimeye Ca ve PO₄ iyonlarının ayrışmasına sebep olmaktadır (Gao ve ark. 2001). Bu aşamada bakteriyolojik örnekler alındığında diğer bakterilere oranla mutans streptokokları sayısında çok önemli artış görülmektedir. Lezyon ilerleyip kavite oluştuğunda aynı zamanda laktobasiller de görülmeye başlamaktadır. Lezyonlar daha da ilerleyip klinik çürük görülmeye başladığında ise mutanslar azalmaya laktobasiller artmaya başlamaktadır. Mutans streptokokları çürük oluşumunda etkin bir rol oynadığından sayısının belirlenmesi sık kullanılan çürük aktivite testlerinden biridir. Etkenin ortaya konması yani mutans streptokokları varlığının bilinmesi hastanın bilgilendirilerek çürük oluşumundan

korunmasında ve başlamış çürüklerin ilerlemesinin yavaşlatılmasında işe yaramaktadır (Ollila ve ark. 1997).

2.6.4. Tükürüğün Diagnostik Amaçlı Diğer Kullanım Alanları

Tükürük kolay elde edilebilmesi, elde edilme yönteminin ucuz olması ve minimal infeksiyon riski taşıması, sağlık personeline ihtiyaç duyulmadan hasta tarafından kolaylıkla elde edilebilmesi ve değerlendirilmesinin hasta tarafından evde yapılabilme imkanı nedeni ile, çeşitli hastalıkların tanısında ve tedavisinin değerlendirilmesinde kolaylıkla kullanılabilir (Kaufman ve Lamster 2002).

Yapılan çalışmalarda; nitrit ve ürik asit gibi tükürük biyomarkerlarının yani biyolojik belirteçlerin ölçümünün hemodiyaliz etkinliğinin ölçülmesinde alternatif bir ölçüm yöntemi olabileceğini belirtilmiştir (Blicharz ve ark. 2008). İnsan tükürüğünde üre olduğu ilk defa 1841 de Wright tarafından bildirilmiştir. Tükürükte artmış ürenin bulunmasının böbrek hastalığını gösterdiğini ileri sürülmüştür. Diyalize giren hastalardan diyalize girmeden aldıkları tükürük örneklerinde sağlıklı bireylere oranla artmış ürik asit seviyesini saptanmıştır (Meucci ve ark. 1998).

Tükürük akış hızı, pH, tamponlama kapasitesi, laktobasil ve mantar konsantrasyonunun tükürük bezlerindeki hipofonksiyonu gösterebileceğini belirtilmiştir (Sreebny ve Zhu 1996) Sjögren Sendromu'nun teşhisinde tükürükteki sitokin, interlokin-2 (IL-2) ve interferon (IFN) seviyelerinden ve serum antijenlerinden anti Ro/SS-A and anti La/SS-B değerlerinin saptanmasının yeterli olacağı savunulmaktadır (Sreebny ve Zhu 1996, Hu ve ark 2007).

Bir diğer çalışmada egzersiz, stresli durum gibi kalp atım hızının arttığı durumlarda tükürükte α -amilaz seviyesinde artma saptanmış ve kalp atım değişimlerinin başarılı bir şekilde saptanabileceğini belirtilmiştir (Chatterton ve ark. 1996). Dengesiz hipertansiyonlu hastaların tükürüklerinde, yüksek lizozom seviyesinin saptandığı çalışmalar da bulunmaktadır (Qvarnstrom ve ark. 2008). Kardiyovasküler rahatsızlıklarda kişilik özelliklerinin önemini incelenen bir çalışmada, tükürüğün kolay elde edilebilir örnek olma özelliği değerlendirilerek tükürük kortizol seviyesi araştırılmıştır (Whitehead ve ark. 2005).

Tükürükte HIV antikorlarını enzim bağlantılı floresan tahlil ile araştırılmış (ELFA) ve sonuçları Western Blot test yöntemi ile kontrol edilmiştir. HIV pozitif

hastalarda virüsün tükürükten izole edilebildiği ve tükürüğün hastalığın teşhisinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Martinez ve ark. 1999). Çeşitli hastalıkların tanısı amacıyla tükürükten birçok bakteri ve virüs izole edilebilmektedir. *Helicobacter Pylori*'yi teşhis etmek amacıyla tükürükte PCR (Polimerase Chain Reaction) yöntemi ile araştırma yapılmış ve serum oranlarına yakın sonuç elde edilmiştir (Li ve ark. 1996). Oral kavitede bulunan bakteriler ve mantarlar da tükürükten izole edilerek incelenebilmektedir. Oranlarına göre koruyucu önlemler alınabilmektedir (Hicks ve ark. 1998). Hepatit A virüsü (HAV) ve hepatit B virüsünün (HBV) teşhisi amacıyla tükürük IgM ve IgG antikorlarının araştırıldığı çalışmada tükürüğün HAV'ın tanımlanmasında başarıyla kullanılabileceğini belirtilmiştir (Parry ve ark. 1989). Hepatit B yüzey antijeninin tükürükte araştırıldığı çalışma ise HBV teşhisinde başarılı sonuç vermiştir (Chaita ve ark. 1995). Kızamık, kızamıkçık ve kabakulak antikorlarının tükürükte serum seviyesine yakın olarak saptanabildiği ve bu oranların güvenilir ve kolay bir şekilde kullanılabileceği de belirtilmiştir (Thieme ve ark. 1994).

Diğer doku sıvılarına benzer şekilde tükürükten de ilaç taraması yapılabilmektedir. İlacın tükürükte saptanabilmesi için tükürük serumdan tükürük bezlerine ilerleyebilmeli ve oradan da salgılanmalıdır. Bu yüzden araştırılacak ilacın fizikokimyasal özellikleri önemlidir. İlacın molekül büyüklüğü, yağda eriyebilirliği, iyonizasyon, tükürüğün pH'sı ve ilacın proteine bağlanabilme özelliği önemlidir (Drobitch ve Svensson 1992, Siegel 1993).

Tükürük, hastanın hormonal rahatsızlığının teşhisi amacıyla hormon miktarının tespitinde kullanılabilmektedir. Yağda eriyebilirliklerine bağlı olarak kortizoller tükürükten kan serum seviyesine çok yakın bir şekilde izole edilebilmektedirler (Vining ve McGinley 1986). Yapılan bir çalışmada tükürük aldosteron seviyesini kan serum seviyesine oranını 0,96 şeklinde saptanmış ve teşhis için kullanılabileceğini belirtilmiştir (McVie ve ark. 1979). En kullanışlı alan olabilecek diyabet hastalarının tükürüklerinden insülin seviyelerinin ölçülebilmesi amacıyla yapılan çalışmada, insülin düzeyini tükürükten radyoimmünoessay tekniğiyle saptamaya çalışılmış ve sonucun kan serum düzeyine oranının 0,74 olduğunu açıklanmıştır. İnsülinin kan serumunda maksimum seviyeye ulaşmasından 30 dakika sonra tükürükte maksimum seviyeye ulaştığını belirtilmiştir (Fekete ve ark. 1993). Hastalar tarafından pratik olarak kullanılabilecek tükürük testleri için ileri çalışmalar gerekmektedir.

Suçluların saptanmasında da tükürükten yoğun şekilde faydalanılmaktadır. Elde edilebilecek tükürük örneğinden kişinin cinsiyetinin tayinini yapabileceği belirtilmiştir. Tükürüklerden Barr cisimciklerinin miktarı tayin edilmiş ve oranın erkeklerde ortalama %1,14 ve kadınlarda ise %39,29 olduğu belirtilmiştir. Bu yöntemle yanılma payı olmadan cinsiyet tayininin yapılabileceği belirtilmiştir (Mittal ve ark. 2008). Ortamda bulunacak sigara izmaritinden veya çiğnenmiş sakızdan DNA tayini yapılarak suçlunun kimliğinin saptandığı çalışmalar mevcuttur (Bond ve Hammond 2008; Virkler ve Lednev 2009).

Tükürük değerlerinden prekanseröz lezyonların teşhisinin amaçlandığı çalışmada, ağız kanserine sahip bireylerle sağlıklı bireylerin interlokün-1 β , IL-6, IL-8 ve osteopontin miktarları karşılaştırılmış ve bu sitokinlerin ağız kanserli bireylerde daha yüksek olduğu özellikle IL-6 farkının çok belirgin olduğu saptanmıştır (Katakura ve ark. 2007). Oral skuamöz ve verrüköz karsinoma hastalarının kan serum ve tükürüklerinden p53 teşhisinin değerlendirildiği çalışmada tükürüğün, kan serumuna yakın değerler verdiği, erken teşhis amacıyla kullanılabilmesi ancak ileri çalışmaların gerekli olduğu belirtilmiştir (Warnakulasuriya ve ark. 2000). Başka bir çalışmada p53'ün tükürükten izolasyonunun gelecekte kanser teşhisinde başarıyla kullanılabilmesi belirtilmiştir (Tavassoli ve ark. 1998).

2.6.5. Tükürük Hücrelerinde Genetik Materyal

Tükürüğün vücutta genomik hedeflerin ortaya çıkarılması açısından oldukça önemli bir aydınlatıcı ve bilgi verici ajan olduğu bilinmektedir. Teknolojiyle birlikte genom dizilim verileri tükürükten elde edilebilmektedir. Klinik çalışmalar için ağız hücreleri ve tükürük, genetik bilgilerin elde edilebilmesinde kullanılmaktadır. Tükürük ile; DNA, RNA, genler, hastalık işaretçilerine, tümör markerlara vb. bilgilere ulaşabilmek ve araştırmalar yapabilmek günümüzde sıkça kullanılan yöntemler haline gelmiştir (Zimmermann ve ark. 2007).

Deoksiribo nükleik asit (DNA), tüm organizmalar ve bazı virüslerin canlılık işlevleri ve biyolojik gelişmeleri için gerekli olan genetik talimatları taşıyan bir nükleik asittir (Pabo ve Sauer 1984). DNA'nın başlıca rolü bilginin uzun süreli saklanmasıdır. Protein ve RNA gibi hücrenin diğer bileşenlerinin oluşturulabilmesi için gerekli olan bilgileri içermesinden dolayı DNA bir kalıp olarak görev yapmaktadır. Bu genetik

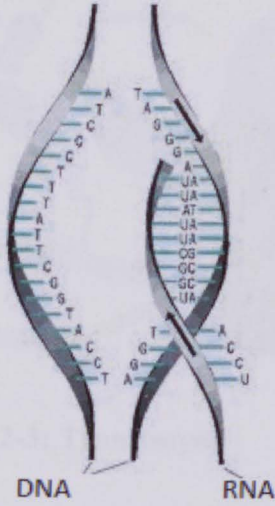
bilgileri içeren DNA parçaları gen olarak adlandırılmaktadır. DNA dizilerinin yapısal işlevleri (kromozomların şeklini belirlemek gibi) ve genetik bilginin ne şekilde (hangi hücrelerde, hangi şartlarda) kullanılacağına düzenlenmesi gibi görevleri de vardır (Ghosh ve Bansal 2003).

Hücrelerde DNA, kromozom olarak adlandırılan yapıların içinde yer almaktadır. Hücre bölünmesinden önce kromozomlar eşlenir, bu sırada DNA ikileşmesi gerçekleşmektedir. Ökaryot canlılar (yani hayvan, bitki, mantar ve protistalar) DNA'larını hücre çekirdeği içinde bulundururken prokaryot canlılarda (bakteri vb.) DNA, hücre sitoplazmasında yer almaktadır ve çekirdeksizdir. Kromozomlarda bulunan kromatin proteinleri (histonlar gibi) DNA'yı sıkıştırıp organize etmektedirler. Bu sıkışık yapılar DNA ile diğer proteinler arasındaki etkileşimleri düzenleyerek DNA'nın hangi kısımlarının okunacağını kontrol etmektedir (Wahl ve Sundaralingam 1997).

Kimyasal olarak DNA, nükleotid olarak adlandırılan basit birimlerden oluşan iki uzun polimerden meydana gelmektedir. Bu polimerlerin omurgaları, ester bağları ile birbirine bağlanmış şeker ve fosfat gruplarından meydana gelmektedir. Bu iki iplik birbirlerine ters yönde uzanırlar. Her bir şeker grubuna baz olarak adlandırılan dört tip molekülden biri bağlıdır. Bu moleküllere nükleotidler denilmektedir. Nükleotidler; Adenin (A), Timin (T), Guanin (G) ve Sitozin (C) olarak adlandırılmaktadır. DNA'nın omurgası boyunca bu bazların oluşturduğu dizi, genetik bilgiyi kodlamaktadır. Protein sentezi sırasında bu bilgi, genetik kod aracılığıyla okununca proteinlerin amino asit dizisi belirlenmektedir. Bu süreç sırasında DNA'daki bilgi, DNA'ya benzer yapıya sahip başka bir nükleik asit olan ribonükleik asite (RNA) kopyalanmaktadır (Şekil 2.2). Bu işleme transkripsiyon adı verilmektedir (Benham ve Mielke 2005).

Transkripsiyonda, DNA'yı oluşturan nükleotit dizisi RNA polimeraz enzimi tarafından bir RNA dizisi olarak kopyalanmaktadır. Başka bir deyişle, DNA'dan RNA'ya genetik bilginin aktarımı olmaktadır. Sentezlenecek bir proteinin amino asit dizisine karşılık gelen kimyasal şifreyi taşıyan bir molekül olan mRNA (mesajcı RNA), bir DNA kalıptan transkripsiyon yoluyla sentezlenir ve protein sentez yeri olan ribozomlara, protein kodlayıcı bilgiyi taşır. Protein kodlayan DNA durumunda, transkripsiyon, DNA'da bulunan genetik bilginin (mRNA aracılığıyla) bir protein veya peptit dizisine çevirisinin ilk aşamasıdır. RNA'ya yazılan bir DNA parçasına

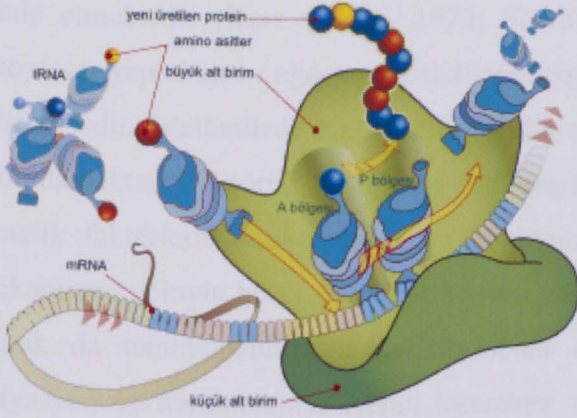
"transkripsiyon birimi" denilmektedir. Transkripsiyonda hata kontrol mekanizmaları vardır, fakat bunlar DNA çoğalmasındakinden daha az sayıda ve etkindirler (Brinkmann ve Wong 2011).



Şekil 2-2: Transkripsiyon

Transkripsiyon aşamasından sonra protein sentezlenmesi için translasyon başlamaktadır. Translasyon, transkripsiyon sonucu oluşan mRNA' lardaki koda uygun olarak ribozomlarda gerçekleştirilen amino asit zinciri veya polipeptit sentezi sürecidir. Daha sonra üretilen amino asit zinciri veya polipeptit uygun bir şekilde katlanarak etkin bir protein haline gelmektedir (Şekil 2.3). Translasyon, protein biyosentezinin ilk aşamasıdır. 4 nükleotidli (A, C, G ve T) DNA dilindeki mesajın 20 harfli amino asit diline çevrilmesinden ötürü, "çeviri" anlamına gelen translasyon sözcüğü kullanılmaktadır. Translasyon hücrenin sitoplazmasında gerçekleşmektedir (Konig ve ark. 2012). Sitoplazmada bulunan iki ribozom alt birimi translasyon sırasında mRNA zincirinin 5' ucuna bağlanmaktadır. 5' başlık (diğer adlarıyla RNA başlığı, RNA 7-metilguanozin başlığı veya RNA m⁷G başlık), transkripsiyon başlangıcından hemen sonra bir ökaryotik mRNA'nın önüne yani 5' ucuna eklenmiş, değişime uğramış guanin bazlı bir nükleotittir Ribozom üzerindeki bağlanma bölgelerinde, mRNA' daki baz üçlüleri (kodon), tRNA' daki tamamlayıcıları olan antikodonlara bağlanmaktadır (Shabalina ve ark. 2006). tRNA (taşıyıcı RNA) kodonun tanınmasına aracılık etmekte ve ona karşılık gelen amino asiti getirmektedir. mRNA' daki kodonlara karşılık gelen antikodonu bulunduran tRNA' ların ard arda eklenmesi sırasında tRNA' nın sonundaki

3' ucuna bağlanmış olan amino asitler birbirine bağlanarak polipeptit zincirini oluşturmaktadır (Ross ve Orlowski 1982) .



Şekil 2-3: Translasyon

DNA hücre siklusunu yönetecek proteinleri kodladığı gibi, hücrenin ne zaman öleceğine ya da çoğalacağına karar veren genleri de bünyesinde bulundurmaktadır. Hücre içindeki bir çok mekanizma birbirlerine belli başlı yollarla bağlıdır. Hücrenin kontrollü ölümü olarak bilinen apoptozda rol alan ve apoptozu aktive eden bax ile apoptozu inhibe eden bcl-2 genleri de hücre siklusunun bir çok aşamasında diğer genler ile iletişim halinde bulunarak hücrenin yaşamı üzerinde önemli rol oynamaktadırlar (Kues ve ark. 2000).

2.7. Apoptoz (Tükürükte Kontrollü Hücre Ölümü)

2.7.1. Apoptoz ve Nekroz Arasındaki Farklar

Hücre ölümü nekroz ve apoptoz olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleşmektedir (Hara ve Snyder 2007).

Nekroz; hücrenin kendi içinde gerçekleşen olaylardan ziyade dış faktörler yani olumsuz şartlar sonucu ortaya çıkmaktadır. Nekroz, eş zamanlı gerçekleşen iki olaydan kaynaklanır (Cotran ve ark. 2002).

1- Hücrenin enzimatik sindirimi

a- Hücrenin kendi enzimleri tarafından sindirimi (otoliz)

b- Hücrenin lökositler tarafından sindirimi (heteroliz)

2- Protein denatürasyonu

Apoptoz ise; nekrozdan farklı olarak hücrenin programlı olarak ölümüdür. Apoptoz ilk olarak 1972 de patolog J.F.K.Kerr tarafından nekrozdan farklı olarak gerçekleşen diğer bir ölüm şekli olarak tanımlanmıştır ve fizyolojik hücre ölümünü ifade etmektedir (Kerr ve ark. 1972; Searle ve ark. 1982). Kelime anlamı olarak apoptoz; yaprakların ağaçtan, petallerin çiçekten doğal olarak düşmesi anlamına gelmektedir. Günümüzde bu terim fizyolojik nedenlerden kaynaklanan hücre ölümünü tanımlamaktadır. Teorik olarak apoptoz, çeşitli travmatik hücre dışı lezyonlar ya da genetik faktörlerle aktive edilen ve hücrenin kendisi tarafından programlanmış bir mekanizma yoluyla hücre ölümünü kontrol eden aktif bir işlem olup, hücrenin intiharı olarak da tanımlanabilmektedir. Hormonal olarak çeşitli aktif maddeler, iyonize radyasyon ve kemoterapiyi içeren travmatik ajanlar vasıtasıyla gerçekleşen hücre lezyonların ya da genetik faktörlerle aktive edilen hücre kontrolü ölüm programının apoptoza neden olduğu söylenebilmektedir (Searle ve ark. 1982). Apoptoz tek hücreli organizmalarda hücre ölümünün tek yoludur (Lumachi ve Basso 2002). Çok hücreli organizmalarda ise genetik oluşumlu hücre hasarının bloke edilmesi ya da hücrenin tamamen yok edilmesi apoptoz aracılığıyla gerçekleşmektedir. Böylece hasarın yayılması ve tümör oluşumu gibi zararlı olasılıklar engellenmiş olmaktadır (Evan ve Littlewood 1998). Apoptoz olayının oluşmasından daha önce hücre replikasyon işlemi durur (DNA onarımı), eğer bu esnada DNA tamiri gerçekleşemezse apoptoz ile sonuçlanan olaylar serisi başlamaktadır. Bu sırada apoptozun başlayıp başlamaması hasarın boyutuna, hücrenin tipine ve hücrenin üretkenlik potansiyeli olan tümör geliştirme riskine bağlıdır. Apoptoz sadece intra-uterin gelişme esnasındaki organogenez ve sinaptogenez olaylarında değil, aynı zamanda farklılaşmış dokuların olgunlaşmasında da esastır. Çünkü apoptoz vücudun bütünündeki hücre sayısının sabit tutulmasını ve immün sistem faaliyetlerinin gerçekleşmesini sağlamaktadır (Evan ve Littlewood 1998).

2.7.2. Apoptozun Aşamaları

Yapılan çalışmalar apoptozun ani gerçekleşen hızlı bir olay olduğunu göstermektedir. Apoptotik uyarıdan sonra hücre sitoplazması büzülür ve hızla ortamdaki uzaklaşır. Protoplazmanın (hücre içeriğinin) zardan uzaklaşmasından, apoptotik cisim oluşumuna kadar bütün apoptotik olaylar zinciri birkaç dakika sürmektedir (Walker ve ark. 1988).

Apoptozun gerçekleşmesi sırasında oluşan DNA çözülmesi, apoptozun mekanizmasında önemlidir. DNA çözülmesi olayı kromatin (DNA topluluğu) yığılmasına dayalı olarak apoptoz sırasında çarpıcı bir şekilde ortaya çıkmaktadır (Tilly 1992). Apoptoz işlemi aktive edildikten 1 saat ya da daha uzun bir süre sonra, DNA' da tek iplikte bir çentikle başlayan çok karakteristik ve geri dönüşsüz bir parçalanma görülmektedir. Böylece bu çözülmenin apoptozda bir anahtar olduğu düşünülmektedir. DNA yarıklanması, DNA' yı parçalayan enzim olan endonükleaz aktivitesini artırdığından önemli role sahiptir (Schwartzman ve Cidlowski 1993). Bu enzim aktivasyonu Ca/Mg oranının 1 ya da daha fazla oluşuna bağlı olabilmektedir (Tilly 1992; Schwartzman ve Cidlowski 1993). Ama yinede DNA çözülmesi apoptoz için şart değildir. Sağlıklı bir hücrede basit hücresel ve moleküler bir olay herhangi bir anda apoptoza neden olabilmektedir. Bu durum hücrelerin zaten sahip oldukları intihar programını gerçekleştirip gerçekleştirmeyeceklerini belirleyen inhibitör bir molekül taşımaları gerektiğini göstermektedir (Tilly 1992).

2.7.3. Apoptozun Sınıflandırılması

Apoptozun sınıflandırılması lizozomun fonksiyonuna göre yapılmaktadır (Schweichel ve Merker 1973). Schweichel ve Merker, sıçanlardan aldıkları çeşitli fetal ve embriyonik dokularda yaptıkları çalışmalardan sonra 3 ana tip ve 2 alt tip içeren bir sınıflandırma yapmışlardır. Bu sınıflandırma aşağıda özetlenmiştir:

Tip.1 Hücre Ölümü (Heterofaji): Hem çekirdek hem de sitoplazmanın yoğunlaşmasıyla başlamaktadır. Çekirdek yoğun kromatin kitlesi içerir ve bu yoğunlaşma çekirdek yarı piknotik (kromatinlerin çekirdekte yoğunlaşması) olana kadar artmaktadır. Yüksek büyütmeye DNA iplikçiklerinden oluşan paketlerin yoğun kromatin alanına daha yakın oldukları görülmektedir. Daha sonraki en önemli değişiklik hücre zarının katlanmasıdır. Sonraki rutin fagositoz aşamasından sonra hücre içeriği lizozomlar tarafından parçalanmaktadır. Bu tip hücre ölümünde hücrenin kendi lizozomlarının belirgin bir rolü yoktur. Hücrenin parçalanması diğer hücrelerin lizozomları vasıtasıyla olmaktadır (O'Connor ve Wyttenbach 1974; Pilar ve Landmesser 1976). Hücre ölümünün bu şekli hemen hemen bütün özelleşmiş hücrelerde gözlenmektedir. Bu çeşit hücre ölümünü yapısal hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır (Erickson 1997).

Tip-2 Hücre Ölümü (Otofaji): Bu tip hücre ölümünde, hücrenin sindirimi büyük ölçüde hücrenin kendi lizozomlarıyla olmaktadır. Belirgin olarak geniş miktarda otofajik vakuollerle karakterizedir (Gozuacik ve Kimchi 2007) ve bazen bu vakuoller mitokondri ve endoplazmik retikulumu da içerebilmektedir . Bu şekilde gerçekleşen hücre ölümünde genelde primer lizozomlar etkilidir. Bu lizozomlar içerdikleri hidrolitik enzimleri otofajik vakuollere boşaltmaktadırlar. Ölen hücreler etraflarındaki sağlam hücrelerin endositozuna maruz kalmaktadır (Clarke 1984). Schweichel ve Merker'e göre bu çeşit hücre ölümü dejenere dokularda ortaya çıkmaktadır (Schweichel ve Merker 1973).

Tip-3 Hücre Ölümü: Bu tip hücre ölümü de kendi içinde 2 alt tipe ayrılır:

a- Non-lizozomal Vezikül Parçalanması:

Bu tipte hücre içi organellerin şişmesini takiben sitoplazmik alanların hücre dışı boşluklarla birleşmesi olayı gerçekleşmektedir. Hücre ve hücrel yapılar küçültülerek tahrip edilir ve organeller elektron mikroskobuyla bile görülemeyecek kadar küçülmektedir. Aynı şekilde hücre zarı parçalanmaktadır. Çekirdeğin tahribatı hücrenin logaritmik fazda olup olmadığına bağlıdır (Clarke 1990). Fakat genelde çekirdek parçalanması hücre parçalanmasıyla aynı anlamda kullanılır. Hücrelerin kendi lizozomları tarafından sindirildiği görülmemiştir. Fakat komşu hücreler tarafından fagosite edildiği de kesinleşmiş değildir.

b-Sitoplazmik Tip Parçalanma:

Bu tip hücre ölümünde çekirdekte ve zar içeriğinde parçalanmadan ziyade karyoliz (hücre çekirdeğinin erimesi), ödem ya da diffüz dejenerasyon görülür. Sitoplazmik tip hücre ölümü, tip-1 hücre ölümünden çekirdeğin erken evrede kondanse olmayışı ile ayrılmaktadır. Hücrede, küçük elementlerde parçalanma ve ribozomlarda sayıca azalma görülmemektedir (Beaulaton ve Lockshin 1982).

2.7.4. Apoptozun Genetiği

Apoptoz olayının gerçekleşmesi esnasında gözlenen genetik olaylar hem en toksik ilaçların hücre ölümünü bu yolla gerçekleştirdiği açık olduğundan, hem de bu işlemde tümör supresör genleri ile onkoproteinlerin (tümör oluşumunda görevli proteinler) birlikte iş görmesi açısından önemlidir. Her hücrel işlemde olduğu gibi apoptozun genetiğinde de belli aşamalar görülmektedir:

- Ölüme karar verme
- Hücre ölümünü gerçekleştirme
- Parçalanma
- Fagositoz

2.7.4.1. Bcl-2 Geni

Bcl-2 ailesi antiapoptotik ve proapoptotik üyelerden oluşan ve apoptozu düzenlemede en önemli role sahip olan onkoprotein grubudur. Bcl-2 apoptozu engelleme fonksiyonunu ya kaspasların öncü formlarını durdurarak ya da kaspas akışını direkt olarak aktive eden sitoplazmadaki apoptoz uyarıcı faktör (AIF) ve sitokrom-C gibi apoptoza neden olan genlerin mitokondriden serbestleşmesini engelleyerek gerçekleştirmektedir (Tsujimoto 1998). Bax gibi proapoptotik üyeler heterodimerizasyon yoluyla kaspas serbestleşmesini uyarmakta ve mitokondri zarının geçiş porlarının açıklığını değiştirerek sitokrom C' yi serbestleştirmektedir. Dolayısıyla kaspas aktivasyonuna yol açmaktadır (Tsujimoto 1998; Taneja 2001).

Kaspaslar, sitoplazmada normalde inaktif proenzimler olarak bulunmaktadır. Proteolitik parçalanmadan sonra aktif hale geçmektedirler ve böylece kaspas aktivasyon zinciri başlamaktadır. Başlangıçta, kaspaslar mitokondride membran hasarı oluşturmakta ve bu olayların sonucunda; zar değişimleri, hücre iskeleti ve çekirdek değişimine yol açan hasarlar ortaya çıkmaktadır (Saikumar ve ark. 1999). Bazı kaspaslar mitokondride inhibe edilmektedir. Bcl-2 ve Bax mitokondri dış zar geçirgenliğini ayarlamaktadır. Apoptotik uyarıda mitokondriyal bir protein olan sitokrom-C, apoptotik proteaz aktive etme faktörünü (APAF-I) aktive etmektedir ve kaspasların aktive edildiği yer olan sitoplazmaya salmaktadır (Shi 2001).

2.7.4.2. Bax Geni

Bir hücrenin apoptoza eğilimli oluşu heterodimer ya da homodimer formundaki Bcl-2 ailesi genlerinin etkisine bağlıdır. Bax geni de Bcl-2 gen ailesinin bir üyesidir. Bcl-2 salgılanması sonucu Bcl-2 homodimerleri şekillenmektedir. Bcl-2 geni antiapoptotik rol oynarken Bax geni proapoptotik rol oynayarak hücreyi apoptoza gitmeye yöneltmektedir. Böylece Bax geni apoptozu aktive edilebilmektedir (Miyoshito ve ark. 1994). Bax, tümör supresör bir gen olan p53 aracılığıyla indüklenmekte ve bulunduğu hücrenin apoptoza gidişini hızlandırmaktadır. Azalmış Bax oluşumu, ağız boşluğu kanserlerinde kötü bir prognoza işaret etmektedir.

Birçok anti-tümör ilaç, hedef olarak hücre DNA'sını seçmekte ve p53 seviyesini arttırmaktadır. Bu aktivasyon ya hasarın tamirine ya da apoptoza yol açmaktadır (Fisher 1994). Bax hücrede az miktardaysa ve p53 de mutasyona uğramışsa apoptoz gerçekleşmemektedir (Blogosklonny 1996).

Hücre, DNA hasarına neden olan sayısız farklı etkene maruz kalmaktadır. Hasar kaynakları eksojen veya endojen olabilir. Eksojen kaynaklar içerisinde, güneşten gelen ultraviyole radyasyon, radon bozunumundan kaynaklanan iyonize radyasyon, mantar kaynaklı aflatoksin, yanmış tütün ve birçok kemoterapötüğü sayabiliriz. Endojen kaynaklara örnek olarak, serbest radikallerin etkisi, oksidatif metabolizma, DNA'nın spontan değişimleri, elektron transferine dayanan oksidasyon (elektron kaybı)-redüksiyon (elektron kazanma) verilebilmektedir (Butuner ve Kantarcı 2006).

2.8. Serbest Radikaller (Oksidanlar)

Kimyasal bileşikler iki veya daha çok elementin aralarında kimyasal bağ oluşturması ile meydana gelmektedir. Bu bağlar negatif yüklü elektronlarla sarılmıştır ve bu elektronların düzeni bileşiğe kararlılık sağlamaktadır. Kararlı bileşiklerin elektronları çiftlenmiş halde bulunmaktadır. Eğer elektron çiftlenmemiş ise molekül daha reaktif ve kararsız duruma geçmektedir. Bir ya da daha fazla sayıda çiftlenmemiş elektrona sahip element veya bileşiklere "serbest radikaller" denilmektedir (Gökpinar ve ark. 2006, Derviş 2011).

Serbest radikallerdeki çiftlenmemiş elektronlar kararlı duruma geçmek istemekte ve kararlı halde bulunan bir bileşikten elektron alarak, bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürmektedir. Serbest radikallerin başlattığı bu zincirleme reaksiyonlar dizisi, antioksidanlar tarafından durduruluncaya kadar devam etmektedir. Oksidasyon olayı aslında hayatın her evresinde yaşamakta olduğumuz doğal bir süreçtir. Günlük hayatta, örneğin kabuğu soyulan bir elmanın bir süre sonra kahverengileşmesini oksidasyon olayına bir örnek olarak verilebilmektedir.

Oksijen, yaşam için vazgeçilmez bir molekül olmasına rağmen aynı zamanda vücut içinde reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olmaktadır. Reaktif oksijen türleri metabolizmaya zarar verebilecek bir dizi reaksiyonu başlatmaktadır ve bunlar canlı için aynı zamanda bir tehdit unsuru haline gelmektedir (Gökpinar ve ark. 2006).

Organizmada serbest radikaller gerek normal metabolik faaliyetlerin bir yan ürünü olarak, gerekse radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasalların etkisi ile

oluşmaktadır. Metabolizma yan ürünleri olarak süperoksit anyonları (O_2^- , $O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH) gibi mutajenler meydana gelmektedir. Biyolojik sistemlerdeki önemli serbest radikaller oksijenden oluşan serbest radikallerdir ve bunlara reaktif oksijen türleri (ROT) denilmektedir. Çevre dokulardaki moleküler oksijeni süperoksite çeviren NADPH oksidaz gibi bazı enzimler reaktif oksijen türleri (ROT) üretmektedir. Hidrojen peroksit doku hasarına neden olan zayıf bir ROT türüdür (Özcan ve Özdemir 2011). Hücre içi ROT'un %90' dan fazlası aerobik solunum reaksiyonları zincirinde mitokondriumun iç membranında üretilmektedir (Wei ve Pang 2005). İki tarafı keskin bir bıçak gibi kabul edilen ROT, düşük dozlarda çeşitli stres tepkilerinde arabulucu gibi rol oynarken, yüksek dozlarda (oksidatif stres gibi) hücresele zararlar yol açmaktadır (Martin ve Barret 2002). ROT' un hücrede giderek artan bir şekilde oluşturduğu zararlar esas olarak, yaşlı hücrelerde telomer erozyonu, genom kararsızlığı, DNA mutasyonları ve gen profillerindeki değişimleri kapsamaktadır (Wei ve Pang 2005). Oksidan ve mutajen özellikte olan bu metabolizma yan ürünleri DNA, proteinler ve diğer makromoleküllerde tahribata hatta hücrenin ölümüne neden olarak kronik hastalıkları başlatmaktadır (Kazanç 1997; Çanakçı ve ark. 2005).

2.8.1. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT) Apoptoza Etkisi

Hücre ölümünde nekroz ve apoptoz olmak üzere iki farklı yol bulunmaktadır. Apoptoz (kontrollü hücre ölümü) nekrozdan (yaralanma nedeniyle kaotik hücre ölümü) morfolojik ve biyokimyasal açılardan farklı olduğu bilinmektedir. Histolojik olarak apoptoz hücre küçülmesi ve büzülmesiyle, membranın parçalanması, kromatin kondensasyonu ve apoptotik gövde içerisinde kromatin parçalarının şekillenmesi ile ilişkilidir (Peter ve ark. 1997; Guzik ve Potempa 2007; Shi ve ark. 2004). Nekroz ise hücre şişmesi ve lizisi ile çevreleyen dokularda hücre içeriğinin kaybolması ile ilişkilidir. Hücre ölümünü başlatan başlangıç biyokimyasal olaylar hala tam olarak açık olmamasına rağmen apoptozun modülatörü olarak ROT üretimine ait deliller bulunmaktadır. *In vitro* çalışmalar, düşük dozda ROT' un salınımı veya hücresele antioksidanların azalması sonucunda apoptoz olayının gerçekleştiğini ve apoptozun antioksidanların ilavesi ile bloke edilebileceğini göstermektedir (Çanakçı ve ark. 2005).

2.8.2. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT) Meydana Getirdiği DNA Yıkımı

Oksidatif stresler yalnızca lipid ve proteinlere zarar vermez, aynı zamanda hücreler için öneme sahip olan DNA'ya etki ederek hücre hasarına neden olmaktadır. ROT, DNA'da farklı mekanizmalar ile bazı değişikliklere neden olmaktadır (Yokuş ve Çakır 2002; Jornot ve ark. 1998; Takane ve ark. 2002; Çanakçı ve ark. 2009). Peroksinitrit ve hidroksil radikalleri tarafından DNA da ipliğin bozulması, nokta mutasyonu, Guaninin 8-hidroksideoksiguanosin'e dönüşmesi, baz eksilmeleri, baz eklenmeleri ve inversiyonlar yaparak hasar vermektedirler (Chapple ve Matthews 2007). Memeli hücrelerinde DNA moleküllerinin mutasyonları çekirdekte, mitokondride ve her ikisinde de oluşabilmektedir. Ancak mitokondrial DNA, nukleer genoma göre 17 kez daha fazla oranda mutasyona uğramaya eğilimlidir. Mitokondrial DNA daha küçük bir molekül yapısına sahiptir ve oksidatif yıkıma oldukça hassastır. ROT, mitokondrial DNA' da çok bölgede fragmantasyona yani parçalanmaya ve silinmeye neden olmaktadır (Çanakçı ve ark. 2005; Fahn ve ark. 1998; Bahar ve ark. 2007). DNA mutasyonunun çoğunun hidroksil radikallerine bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu da, hücrenin ya malign transformasyonuna ya da ölümüne neden olmaktadır (Çanakçı ve ark. 2005).

2.9. Antioksidanlar

Çeşitli mekanizmalar sonucu ortaya çıkan serbest radikallere karşı vücutta doğal bir savunma mekanizması bulunmaktadır. Bu savunma mekanizmasını oluşturan bileşiklere "antioksidanlar" denilmektedir (Derviş 2011). Antioksidanlar bu savunmalarını; oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek süpürme etkisiyle, oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktive ederek (vitaminler, flavanoidler, timetazidin, mannitol), zincir reaksiyonlarını kırarak, oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onararak yapmaktadırlar.

Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirilirler. Hücre dışı savunma, albümin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon- S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom

oksidazdır (Tablo 2.2). Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir (Altan ve ark. 2006).

Tablo 2-2: Antioksidan Sınıflaması

Süpürücü Antioksidanlar	Enzimatik Antioksidanlar	Sentetik Antioksidanlar	Preventif Antioksidanlar
Askorbik asit		N-asetilsitein	
Alfa-tokoferol	Katalaz	Allopurinol	Transferrin
Tiyoller	Paraoksonaz	Probakol	Albümin
Beta-karoten	Süperoksit dismutaz	Penisilamin	Seruloplasmin
Ürik asit	Glutasyon peroksidaz	Deferoksamin	Ferritin
Flavanoidler		Butil-Hidroksitoluen	
Ko-enzim Q			

3. GEREÇ VE YÖNTEM

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilen çalışmamıza İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'ndan 24/06/2009 tarih ve 2009/1792 sayılı onay alındıktan sonra başlanmış ve çalışma öncesi bir klinik görevlisinin tanıklığı altında, hastalara yapılacak beyazlatma uygulamasına ilişkin, hastalara yazılı bir metin üzerinden bilgi verilerek, soruları cevaplandırılmış ve çalışmaya gönüllü olarak katılacaklarına ilişkin yazılı onay alınmıştır (Form 1).

3.1. Çalışmaya Katılacak Olan Gönüllülerin Seçimi

Çalışmamıza İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı kliniklerine müracaat etmiş ve dişlerinin renginden memnun olmayan, estetik ve kozmetik bir yaklaşımla daha parlak ve açık renkli dişlere sahip olmak isteyen sağlıklı 50 gönüllü kadın ve erkek birey dahil edilmiştir. 50 bireye beyazlatma uygulanmış fakat çalışmamızın 6 aylık kontrollerinde kişilerin 42' sine ulaşılabildiğinden çalışmamız 42 birey üzerinden Haziran 2011-Ocak 2012 tarihleri arasında tamamlanmıştır. Çalışmamız için hazırlanan anamnez formu eksiksiz doldurulmuştur (Form 2).

Çalışmaya katılan gönüllülerin çalışmaya dahil edilmesinde; bireylerin sistemik açıdan sağlıklı olmaları, hamilelik ve ezirme döneminde bulunmamaları, sürekli ilaç kullanmıyor olmaları, radyoterapi, kemoterapi görmemiş olmaları, daha önce beyazlatma yaptırmamış olmaları, sosyokültürel olarak uygulamalara katılım gösterebilecek kişiler olmaları, peroksitler ve glikollere karşı allerjisi olmaması, kimyasal maddelere karşı hassasiyeti olmaması gibi kriterler dikkate alınmıştır.

Çalışmaya katılan gönüllülere yapılan intraoral muayenede ağız içine ilişkin dikkate alınan kriterler;

- Bireylerin alt ve üst kesici bölgelerinde daha önce çekilmiş dişlerinin olmaması,
- Bireylerin alt ve üst ön kesici dişlerinde çatlak, çürük, kırık vb. beyazlatma kontrendikasyonuna sebep olacak bulgular olmaması,
- Bireylerin dişlerinde herhangi bir aşınma bulunmaması (erezyon, abrazyon vb.),
- Bireylerin dişlerinde düzgün yüzeyli homojen renklenmeler olması,

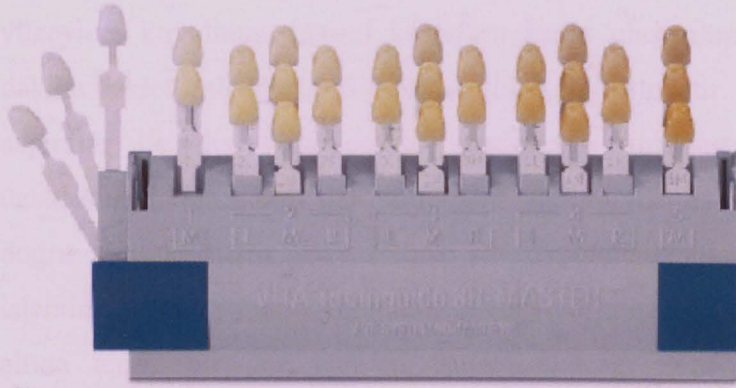
- Bireylerin pulpa ve pulpa odalarının geniş olmaması,
- Bireylerin periodontal dokularında herhangi bir hastalık olmaması,
- Bireylerin dişlerinde mevcut bir mobilitenin bulunmaması (Miller 1938),
- Bireylerin tükürük sekresyonunu azaltacak bir faktörün bulunmaması şeklindedir.

3.2. Çalışmaya Katılan Bireylere Beyazlatma Uygulaması Yapılması

Bireylerden önce çürük aktivite testleri (tükürük tamponlama kapasitesi, tükürük akış hızı, mutans streptokokları ve laktobasil bakterilerinin sayıları) ve genetik testler için tükürük örnekleri toplanmıştır. Daha sonra alt ve üst kesici dişler bir fırça (Stoddard, England) yardımı ile mekanik olarak temizlenmiştir (Şekil 3.1). Beyazlatma işleminden önce, ikinci seanstan sonra, son uygulama olan üçüncü seanstan sonra ve kontrol seansı olan uygulamadan 6 ay sonra Vita renk skalası (VITA;Zahnfabrik,Germany) ile renk saptanarak kayıtlar yapılmıştır (Şekil 3.2) ve beyazlatma uygulamasına başlanmıştır. Beyazlatma işlemi üçer gün arayla üç seans uygulanmıştır. Beyazlatma jeli diş yüzeylerinde 15 dakika süre ile bekletilmiştir. Jel önce üst kesici dişlere sonra alt kesici dişlere uygulanmıştır. Üçüncü seansın sonunda 15 dakikalık bir bekleme süresinin ardından bireylerden çürük aktivite testleri ve genetik testler için tükürük alma işlemi aynı yöntemlerle tekrarlanmıştır. Beyazlatma uygulamasından 6 ay sonra çürük aktivite testleri ve genetik testler için tükürük alma işlemi aynı yöntemlerle tekrarlanmıştır.



Şekil 3-1: Dişler üzerinde mekanik temizlik yapılan fırça



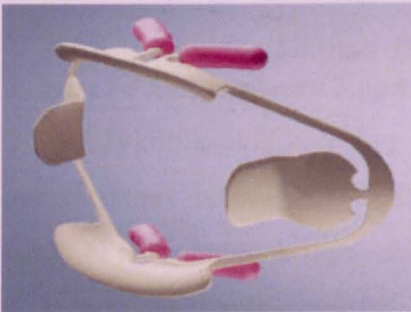
Şekil 3-2: Diş renklerinin saptanmasında kullanılan Vita renk skalası

Beyazlatma işlemi için Opalescence Boost (%38 hydrogen peroxide; Ultradent Products, Inc., South Jordan, UT, USA) kullanılmıştır (Şekil 3.3). Kullanımından önce hastaya ve hekime yan korumalı gözlükler takılmıştır. Bireylere ekartör (OptiView KerrHawe, Switzerland) uygulanmıştır (Şekil 3.4). Dişetlerine beyazlatma kitinde bulunan OpalDam uygulaması yapılmıştır. OpalDam' ın şiringasından kapağı çıkartılmıştır ve atılabilir bir Micro 20 G ucu sıkıca takılmıştır. OpalDam reçine 4-6 mm x 1,5-2 mm kalınlığında ve mineye yaklaşık 0,5 mm taşırarak yerleştirilmiştir. Reçine dört bölgede de kaninlerin distalini, interproksimal alanı ve 1. küçük azının mezial kenarında vestibule yüzeye taşacak şekilde uygulanmıştır. Gingival embrasürler reçine ile doldurulmuştur. Bariyer uygulaması tamamlandıktan sonra OpalDam 20 saniye boyunca halojen ışık kaynağı-QTH (Hilux 200) ile sertleştirilmiştir. Opalescence Boost iki şiringadan oluşmaktadır. Bu iki haznenin kapakları çıkartılarak birleştirilmiştir. Ürünü karıştırmadan önce şiringa içeriğinin oda sıcaklığına gelmesi beklenmiştir. Aktive etmek için başparmaklar kullanılarak kırmızı şiringadaki kimyasal madde saydam şiringaya itilmiştir. Saydam pistonun orta saydam hazneye hızla ve kuvvetle bastırılmasıyla iç piston memranı patlatılmıştır ve aktivatör beyazlatıcı ajanla karıştırılmıştır. İşlem tersten yapılarak 25 kez daha (her tarafa 12-13 kez) hızla karıştırılmıştır. Karışmış kimyasal madde kırmızı şiringaya itilmiştir ve saydam şiringa çıkartılmıştır. Kırmızı şiringaya Micro 20g FX uç çevirerek takılmıştır. Beyazlatıcı ajan ağız içinde kullanılmadan önce akışın düzgünlüğünü sağlamak amacıyla bir pamuk bez veya karıştırma pedine materyalin akması kontrol edilmiştir. Direnç hissedilirse devam edilmeyip yeni bir uç takılmış ve tekrar test edilmiştir. Opalescence Boost diş

yüzeylerinde 1 mm kalınlığında bir tabaka oluşturacak şekilde uygulanmıştır. Jel labial yüzeylere koyulmuş, insizal kenarlara kadar ulaştırılmıştır. Jel diş yüzeylerinde 15 dakika bekletilmiştir. Her 5 dakikada bir karıştırılmıştır. 15 dakika sonunda jel cerrahi aspirator ile diş yüzeylerinde gezdirilerek uzaklaştırılmıştır. Tüm görünür jel uzaklaştırıldıktan sonra gaz tamponlar yardımıyla diş yüzeyleri gingivalden insizale doğru temizlenmiştir. Beyazlatma jeli uygulanmış olan bütün dişlerde temizleme işlemine su ile yıkama yapılarak devam edilmiştir. Yıkama yapılırken dişin hemen altına temiz bir gaz tampon, suyun akacağı yöne doğru bir cerrahi aspiratör yerleştirilmiştir. Diş yüzeylerinin temizlendiğinden emin olduktan sonra OpalDam bariyer bir sond yardımıyla kaldırılmıştır. Gerekli olduğunda da interproksimal alanlarda diş ipi kullanılarak OpalDam çıkarılmıştır ve tekrar kuvvetli hava su spreyi ve aspirasyon ile yıkama yapılmıştır. Daha sonrasında ekartör çıkarılmıştır. Bu işlemlerin sonunda çürük aktivite testleri ve genetik tetkikler için tükürük alınmıştır ve beyazlatma işlemi yapılmış diş yüzeylerine beyaz renkli nötral florür jeli uygulanmıştır (Denti-Care Denti-Pro Gel %2 Neutral Sodium Fluoride). Dişler kurutulup pamuk tamponlarla izole edildikten sonra florür 60 saniye boyunca diş yüzeylerine uygulanmıştır. Kuvvetli aspirasyonla jel diş yüzeylerinden uzaklaştırılmıştır ve bireye 30 dakika herhangi bir şey yiyip içmemesi söylenmiştir.



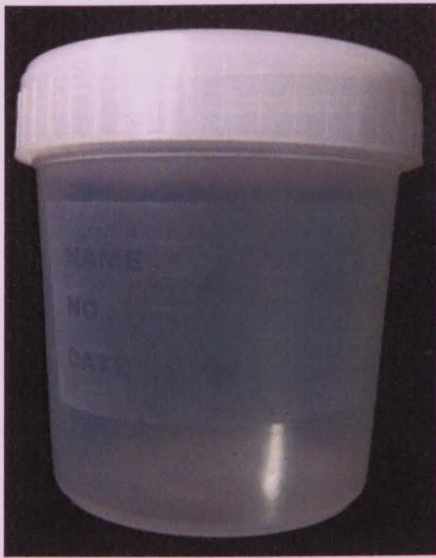
Şekil 3-3: Bireylere uygulanan beyazlatıcı ajan



Şekil 3-4: Ağız ve çevre dokuları korumak amacıyla bireylere uygulanan ekartör

3.3. Çalışmaya Katılan Bireylerden Mikrobiyolojik Testler İçin Tükürük Toplanması

Tükürük akış hızı, tamponlama kapasitesi ile mutans streptokokları (MS) ve laktobasil (LB) sayılarının belirlenmesi için çalışmaya katılan bireylere tükürük örnekleri alınmadan önceki 1 saat süresince herhangi bir şey yiyip içmemeleri belirtilmiştir. Bireylerden 1 adet şekersiz sakızı yumuşayınca kadar çiğnemeleri ve bu esnada oluşan tükürüğü yutmaları istenmiştir. Sakız yumuşadıktan sonra, 5 dakika boyunca çenenin her iki tarafı da kullanılarak yapılan çiğnemeyle oluşan tükürük, steril kaplarda (Şekil 3.5) toplanmıştır. Kontaminasyondan korunmak için kapların ağzı sadece tükürme esnasında açılıp tekrar kapatılmıştır (Dural ve ark. 2008; Yıldırım ve ark. 2010). 5 dakika sonra çiğneme durdurulmuştur. Tükürüğün toplanması boyunca oluşan köpük ölçülen miktara dahil edilmemiştir. Bu yöntemle uyarılmış tükürük örnekleri alınmıştır.



Şekil 3-5: Tükürük toplanan steril kaplar

3.3.1. Çalışmaya Katılan Bireylerin Toplanan Tükürüklerinden Tükürük Akış Hızı ve Tamponlama Kapasitesi Tayini

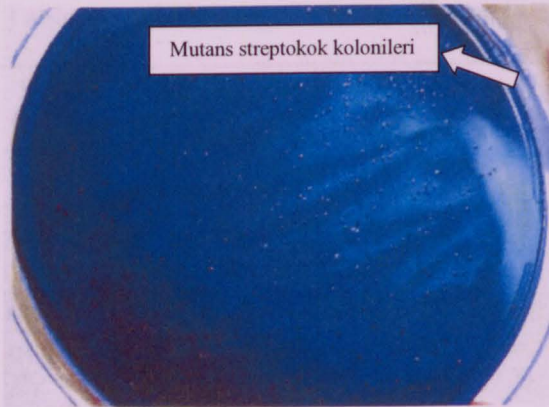
Tükürük akış hızı, beş dakika boyunca biriken tükürük miktarı ölçülerek ml/dakika olarak belirlenmiştir. Tükürük tamponlama kapasitesi için 1 ml tükürük 3 ml 0.005 N HCl bulunan tüpe eklenmiş, 10 dakika sonra pH indiktor kağıtları (Merck) ile sıvının pH'sı belirlenmiştir.

3.3.2. Çalışmaya Katılan Bireylerin Toplanan Tükürüklerinden Mutans Streptokokları (cfu/ml) Tayini

Tükürükten mutans streptokokları sayımı için MSB agar petripleri hazırlanmıştır. Mitis Salivarius agar (Acumedia Manufacturers Incorporate, Baltimore, Maryland), 150 gram sakkaroz ve 1000 ml distile su karıştırıp kaynatılarak eritilmiştir. 121 °C' de 15 dakika boyunca otoklavda steril edilmiştir. Yaklaşık 50 °C' ye soğuduğunda, Chapman Tellurite solüsyonu (Difco Laboratories Incorporate, Detroit) ve 200U/ml basitrasin de (Sigma Diagnostics, St Louis) hafifçe karıştırılarak 9 cm çaplı normal petri kutularına 20 ml olarak steril koşullarda dağıtılmıştır (Gold 1973). Alınmış olan tükürük örneği uygun 10 katlı sulandırmalar yapılarak yüzeye 50 mikrolitre damlatılıp yaydırılmıştır. Uygun bekleme süresi sonunda (%10 CO₂ li ortamda, 37 °C' de 48 saat) MSB agar yüzeyindeki koloniler steromikroskop ya da bir büyüteç yardımıyla incelenmiştir. Açık mavi tanecikli buzlu cam görünümündeki ufak, pürüklü, kalkık ve besiyerine yapışık mutans streptokokları kolonileri ve acıbadem kurabiyesi şeklinde rengi kahverengiden griye değişen Sabrinus streptokok kolonileri mutans streptokok kolonileri olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.6). Sonuç, sulandırma oranı ile ekim yapılan miktar çarpımının koloni sayısını bölünmesi sonucu cfu/ml olarak bulunmuştur.

Koloni sayısı

Sulandırma oranı x Ekim yapılan miktar

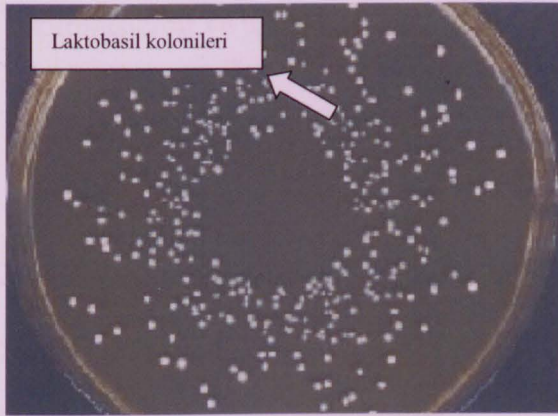


Şekil 3-6: Mitis Salivarius agar içindeki mutans streptokokları kolonileri

3.3.3. Çalışmaya Katılan Bireylerin Toplanan Tükürüklerinden Laktobasil (cfu/ml) Tayini

Tükürükten laktobasil sayımı için ise Rogosa SL Agar petripleri hazırlanmıştır (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) (Rogosa 1951). Rogosa SL Agar ile 1000 ml distile su karıştırılmıştır. Karışıma 1,32 ml glasiyal asetik asit eklenmiştir ve tüplere

dağıtılarak 2-3 dakika 90-100 °C' de ısıtılmıştır. Yakalşık 45 °C' ye soğuduğunda 9 cm çapında petri kutularına yaklaşık 20 ml olarak dağıtılmıştır. Alınmış olunan tükürük örneği 10 katlı sulandırmalar yapılarak yüzeye 50 mikrolitre damlatılıp yaydırılmıştır. Uygun bekleme süresi sonunda (%10 CO₂' li ortamda, 37 °C' de 48 saat) Ragosa agar yüzeyindeki tipik koloniler sayılmıştır (Şekil 3.7). Sonuç, sulandırma oranı ile ekim yapılan miktar çarpımının koloni sayısını bölünmesi sonucu cfu/ml olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçların değerlendirmeleri Tablo 3.1' deki verilere göre yapılmıştır.



Şekil 3-7: Ragosa agar içindeki laktobasil kolonileri

Tablo 3-1: Çalışmamızda kullandığımız tükürük analizine yönelik değerler

Akış Hızı	Normal	> 0,7 ml / dk
	Düşük	≤ 0,7 ml / dk
	Çok Düşük	≤ 0,1 ml / dk
Tamponlama Kapasitesi	Normal	pH 5 – 7
	Düşük	pH ≤ 4
	Sınır	pH 4 – 5
Mutans Streptokokları Sayısı	Yüksek	≥ 10 ⁶ cfu / ml
	Orta	> 10 ⁵ - < 10 ⁶ cfu / ml
	Düşük	≤ 10 ⁵ cfu / ml
Laktobasil Sayısı	Yüksek	≥ 10 ⁵ cfu / ml
	Orta	> 10 ⁴ - < 10 ⁵ cfu / ml
	Düşük	≤ 10 ⁴ cfu / ml

3.4. Çalışmaya Katılan Bireylerden Genetik Testler İçin Tükürük Toplanması

Tezimizin tükürük içindeki hücrelerin apoptozunu incelediğimiz bölümünde ise; hücrenin kontrollü ölümü olarak bilinen apoptoz sırasında baskılayıcı ve aktive edici genlerden olan Bax ve Bcl-2 genlerinin ifade düzeyleri beyazlatma işlemi öncesi, sonrası ve 6 ay sonrasında karşılaştırılmıştır.

Bu genetik analizler için tükürük örnekleri toplanırken bireyler 10 ml %0,9 NaCl çözeltisi ile ağızlarını çalkalamışlardır. Daha sonra steril kaplara üçer kez tükürmüşlerdir ve tükürükler falkon tüplere alınmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3-8: Bireylerden alınan tükürük örneklerinin aktarıldığı falkon tüpler

3.4.1. Çalışmaya Katılan Bireylerden Toplanan Tükürükten Hücrelerin Elde Edilmesi

Tükürük örneklerinden hücre izolasyonu yapmak için örnekler, 1/1 oranında dilue (sulandırılmış) edilmiş ve 1970 RPM' de 30 dakika santrifüjlenmiştir (Şekil 3.9). Santrifüj sonunda üstte kalan sıvı kısım olan süpernatant dökülmüş, pellet üzerine 2 ml PBS eklenerek pipetlenmiş ve cryo (-80°C ve -196°C' de saklanabilen vidalı tüplere) tüplere dağıtılmıştır. Tekrar 1970 RPM' de santrifüjlenerek süpernatant dökülmüş, pellet -80°C' deki soğutucularda saklanmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3-9: Tükürük içindeki hücreleri elde etmek amacıyla tükürüğün santrifüjlenmesi işlemi

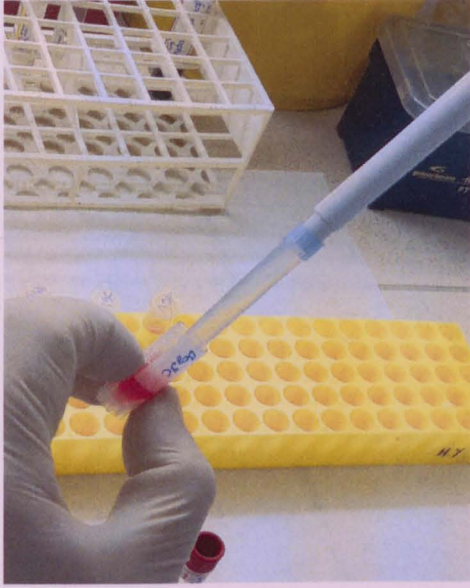


Şekil 3-10: Elde edilen materyallerin -80°C' deki soğutucularda saklanması

3.4.2. Elde Edilen Tükürük Hücrelerinden RNA İzolasyonu

Elde ettiğimiz hücrelerdeki Bax ve Bcl-2 genlerinin ifade düzeylerindeki değişimi görebilmek için ihtiyacımız olan mRNA, RNA izolasyonu metoduyla elde edilmiştir. Bax ve Bcl-2 genlerinin ifade düzeylerindeki değişim araştırılacağı için tükürük hücrelerindeki RNA' ya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle RNA izolasyonu yapılmıştır. RNA izolasyonu için hücrelerin üzerine 1 ml trizol eklenmiş (Şekil 3.11), 10 dakika inkübe edildikten sonra 200 µl kloroform üzerine eklenerek 11000 RPM' de santrifüjlenip supernatant temiz bir tüpe alınarak üzerine 550 µl propanol eklenmiş ve

tekrar 11000 RPM' de santrifüjlenerek supernatant dökülmüş, pellet üzerine 500 μ l %70' lik etanol koyulmuştur. Tekrar 11000 RPM' de 10 dakika santrifüjlenmiş, supernatant dökülmüş ve pelletteki RNA 20 μ l steril suda çözülmüştür. Elde edilen RNA' lar agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiştir.



Şekil 3-11: Trizol ile RNA izolasyonunun sağlanması

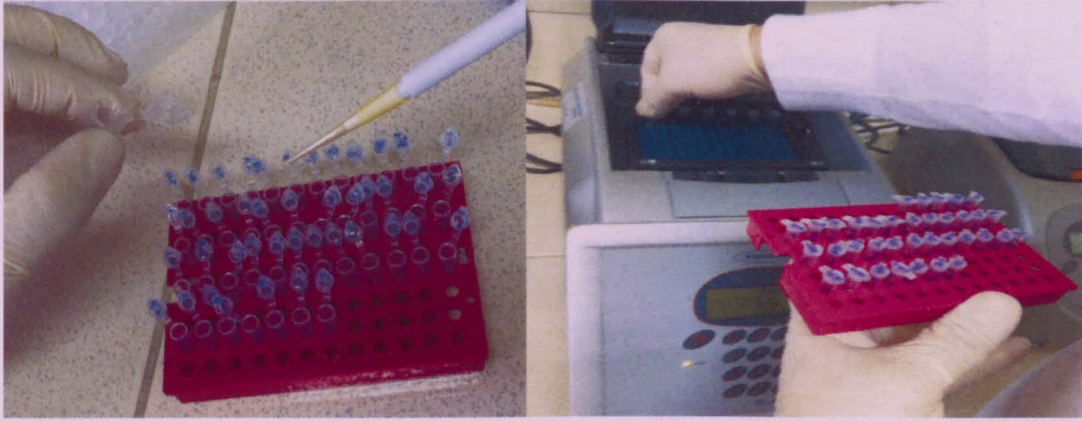
3.4.3. Elde Edilen RNA' ların Jel Elektrofrezinde Görüntülenmesi

RNA' ları yürütmek için jeldeki porların büyüklüğü RNA molekülüne uygun olmalıdır. Çalışmamızda uygun konsantrasyon %1,5 olarak belirlenmiştir. 100 ml jel hazırlamak için 1,5 gr agaroz tartılmış, 100 ml 0,5X TEB ile tamamlanarak kaynatılmıştır. Homojen hale gelen karışıma 5 μ l EtBr (Etidyum Bromür) eklenerek jel kütetine dökülmüş ve kuyuları oluşturacak tarak jel üzerine yerleştirilmiştir. Jel donduktan sonra elde edilen RNA' lardan 6 μ l örnek 0,5 μ l BFB (Brom Fenol Blue) eklenerek kuyucuklara yüklenmiştir. Örnekler 150 Volt potansiyel farkı ile 3 cm kadar yürütülerek ultraviyole altında görüntülenmiştir.

PCR cihazı sırasıyla çift iplikli genetik materyalleri; denatürasyon (iki ipliğin açılması), bağlanma (aradığımız bölgeye özgü primer dizisinin bağlanması) ve uzama (istediğimiz gen bölgesinin enzimlerle çoğaltılması) işlemlerinden geçirerek istediğimiz bölgenin çoğalmasını gerçekleştirmiştir.

3.4.4. RNA' dan cDNA Sentezi

RNA yapısı tek iplikten oluştuğu için insanda bulunmayan reverse transkriptaz enzimi (virüslerde bulunan RNA dizisine komplementer dizi üreterek DNA yapısına dönüştüren enzim) ile cDNA, RNA' dan sentezlenmiştir. cDNA sentezi için 5µl RNA üzerine 1µl Random Hexamer ve 6 µl distile su eklenerek termal döngü cihazında ilk döngü bitiminden sonra örneklerin üzerine 4 µl reaksiyon tamponu, 1µl RNase inhibitor, 2µl 10 Mm dNTP (deoksinükleotidtrifosfat) ve 1 µl reverse transkriptaz enzimi eklenerek uygun reaksiyon koşulları sağlandıktan sonra (Tablo 3.2) diğer döngülerle cDNA sentezi tamamlanmıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3-12: cDNA sentezi için hazırlık ve materyalin termal döngü cihazına yerleştirilmesi

Tablo 3-2: cDNA sentezinin sağlanması için gerekli olan reaksiyon koşulları

Döngü Sayısı	Sıcaklık (°C)	Süre
1	80	3 dk.
1	37	90 dk.
1	94	2 dk.

3.4.5. Real-time PCR İle Genlerin İfade Düzeylerinin İncelenmesi

Tükürük hücrelerinden elde edilen cDNA' lardan hedeflediğimiz genler ve referans genlerin ifade miktarları real-time PCR ile tayin edilmiştir (Şekil 3.13). Deneylerimizde cDNA' nın kontrolü amacıyla referans gen olarak β -aktin geni

kullanılmıştır. Kullanılan genlerin problemlarına ait dalga boyları yani genlerin primerlerinin her bağlanma yaptığında floresans ışına yaparak real-time PCR'in algıladığı ışık dalga boyları Tablo 3.3' de verilmiştir. Bax ve Bcl-2 genlerine ait primerler literatürlerden, Roche UPL probe library ve NCBI' in sitesinden kontrol edilerek oluşturulmuştur. Bax ve Bcl-2 genlerine özgü dizayn edilerek oluşturulan ve real-time PCR da çoğalmalarını sağlayacak primer dizileri Tablo 3.4' de gösterilmektedir. Real-time PCR hem referans hem de hedef genler için aynı kuyucuklarda gerçekleştirilerek çift problu çalışma yapılmıştır.



Şekil 3-13: Real-time PCR' da kullanılan mikropate ve yerleştirildiği real-time PCR cihazı

Tablo 3-3: Genlerin primerlerinin her bağlanma yaptığında floresans ışına yaparak Real-time PCR' ın algıladığı ışık dalga boyları

	Kullanılan Problemlerin Emüsyonlarına Ait Dalga Boyları (nm)
Hedef genler için	465-510 nm
Referans gen için	533-580 nm

Tablo 3-4: Bax ve Bcl-2 genlerine özgü dizayn edilerek oluşturulan ve Real-time PCR da çoğalmalarını sağlayacak primer dizileri

	Kullanılan Primer Dizileri
Bcl-2 Geni	F- 5'GAAGCACCTCCGGAACCT3' R- 5'GTCACCTAGTTCATGCACTC3'
Bax Geni	F- 5'CGAGCTGGACGAGACCAT3' R- 5'GAGCCGAACTCAAGTTTCCA3'

Master miks, proplar ve genlere ait primer dizileri Roche Diagnostic' ten temin edilmiştir. PCR karışımı Tablo 3.5' te gösterilmiştir.

Tablo 3-5: Real-time PCR karışımı

Real-Time PCR Karışımı	Master Miks → 10 µl UPL Probe → 0,4 µl Actin Probe → 0,4 µl F Primer → 0,5 µl R Primer → 0,5 µl Aktin Primer → 0,5 µl cDNA → 3 µl dH ₂ O → 4,7 µl
Toplam Reaksiyon Hacmi	20 µl

Real-time PCR çalışmasının optimizasyonu Tablo 3.6' daki döngü sayısı ve sıcaklıklarla sağlanmıştır.

Tablo 3-6: Real-time PCR uygulaması için gerekli olan koşullar

Döngü Sayısı	Sıcaklık (°C)	Süre
1	95	10 dk.
45	95	10 sn.
	60	30 sn.
	72	1 sn.
1	40	30 sn.

3.4.6. Genetik Testler İçin Kullanılan Kimyasallar, Malzemeler, Cihazlar ve Çözeltiler

Genetik testler için kullanılan kimyasal maddeler ve malzemeler Tablo 3.7' de gösterilmiştir. Genetik testler için kullanılan cihazlar Tablo 3.8' de, kullanılan tampon ve çözeltiler Tablo 3.9' da gösterilmiştir.

Tablo 3-7: Genetik testler için kullanılan kimyasal maddeler ve malzemeler

Genetik Testler İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler
Biocoll Separating Solution [BIOCHROM]
Etilen-diamin-tetraasetik asit (EDTA)
β -Merkaptoetanol
Tris(hidroksimetil aminometan)
Borik Asit [MERCK]
Etidyum Bromür (EtBr)
Bromfenol Mavisi (BFB) [SIGMA]
High Pure RNA İzolasyon Kiti [ROCHE]
Revertaid First Strand cDNA Sentez Kiti [FERMENTAS]
Primer 200 Mer [RFT]
Lightcycler UPL Real-Time PCR Probu [ROCHE]
Lightcycler 480 Master Prob Miks [ROCHE]
Lightcycler 480 Multiwell Plate [ROCHE]

Tablo 3-8: Genetik testler için kullanılan cihazlar**Genetik Testler İçin Kullanılan Cihazlar**

Real-time PCR Light Cycler 480 [ROCHE]

Thermal Cycler TC 412 [TECHNE]

Santrifüjler [HERAUS, HETTICH, JUAN]

Mikropipetler [FINNPIPETTE]

Yatay elektroforez tankları ve jel dökme sistemleri [BRL]

Distile Su Cihazı [MILLIPORE]

Vortex [SNIJDERS]

Tablo 3-9: Genetik testler için kullanılan tampon ve çözeltiler

Genetik Testler İçin Kullanılan Tampon ve Çözeltiler	Miktarları
	1 litre için;
10X PBS (Phosphate Buffered Saline) Tampon Çözeltisi	<ul style="list-style-type: none"> • 80 gr NaCl • 2 gr KCl • 11,5 gr Na₂HPO₄ • 2 gr KH₂PO₄
	2 ml için ;
10X BFB Yükleme Tamponu	<ul style="list-style-type: none"> • %1 Sodyumdodesilsülfat(SDS) • 5mg Bromfenol Mavisini • 2ml Gliserol
	1 litre için;
10X TEB (Tris-EDTA-Borik Asit) Tampon Çözeltisi	<ul style="list-style-type: none"> • 0,88 M Borik Asit • 5M Tris • 0,02 EDTA (pH: 8.00)
Etidyum Bromür	10mg/ml

3.5. İstatistiksel İncelemeler

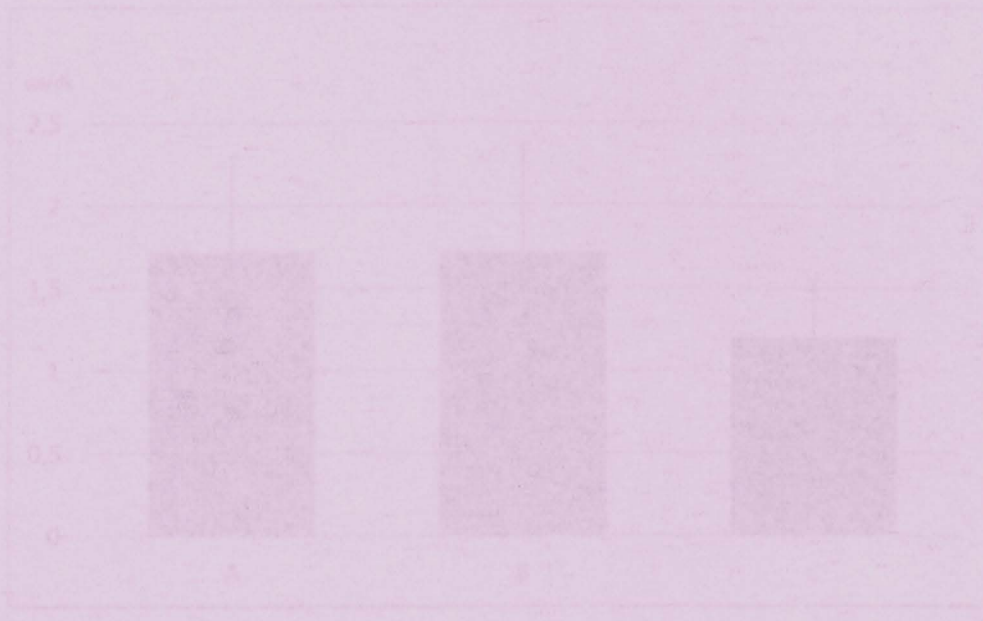
Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında paired sample t testi, normal dağılım göstermeyen parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında ise Wilcoxon işaret testi kullanılmıştır. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Mc Nemar testi kullanılmıştır. Normal dağılıma uygunluk gösteren parametreler arasındaki ilişkilerin incelenmesinde Pearson korelasyon analizi kullanılmıştır. Anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda 42 bireye uygulanan beyazlatma işlemi yapılmıştır. 42 hastanın Vita skalasına göre 34' ünde 2 derecelik, 8' inde ise 1 derecelik beyazlamaya yönelik renk değişimi tespit edilmiştir.

4.1. Tükürüklerdeki Akış Hızına (ml/dk) İlişkin Bulgular

Beyazlatma işlemi yapılmadan önceki akış hızı ortalamasına ($1,72 \pm 0,58$ ml/dk) göre, beyazlatma işleminden sonra ölçülen akış hızı ortalamasında ($1,71 \pm 0,66$ ml/dk) istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmezken ($p > 0,05$); beyazlatma işleminin öncesine göre ($1,72 \pm 0,58$ ml/dk) beyazlatma işleminden 6 ay sonra ölçülen akış hızı ($1,20 \pm 0,35$ ml/dk) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlılık bulunmuştur ($p < 0,01$). Beyazlatma işleminin sonrasına göre ($1,71 \pm 0,66$ ml/dk) beyazlatma işleminden 6 ay sonra ($1,20 \pm 0,35$ ml/dk) ölçülen akış hızı ortalamasında görülen düşüş de istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p < 0,01$), (Şekil 4.1), (Tablo 4.1).

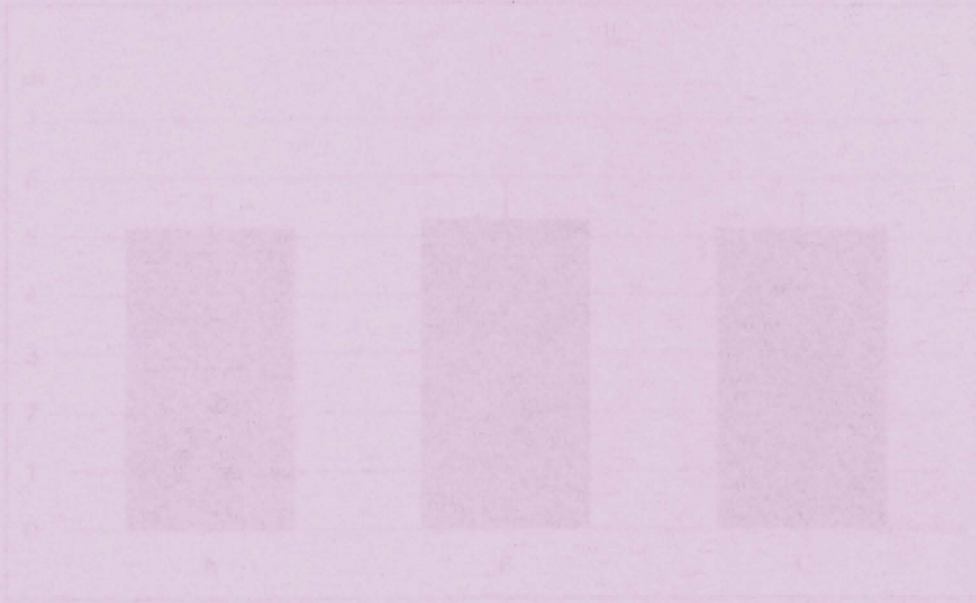


Şekil 4.1: Gruplardaki Akış Hızı (ml/dk) Ortalamaları

4.2. Tükürüklerdeki Tamponlama Kapasitesine (pH) İlişkin Bulgular

Beyazlatma işleminden önce tamponlama kapasitesi değerine (pH 5,17±0,52) göre, beyazlatma işleminden sonra (pH 5,28±0,66) ve 6 ay sonra (pH 5,16±0,58) bakılan tamponlama kapasitesi düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$). Beyazlatma işleminin öncesine göre (pH 5,17±0,52) beyazlatma işleminden 6 ay sonra (pH 5,16±0,58) bakılan tamponlama kapasitesinde de istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$), (Şekil 4.2), (Tablo 4.2).

Beyazlatma işleminden önce	5,17±0,52
Beyazlatma işleminden 6 ay sonra	5,16±0,58
A-B grafikleri arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu	0,317
A-C grafikleri arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu	0,387
B-C grafikleri arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu	0,387
Wilcoxon sign test	

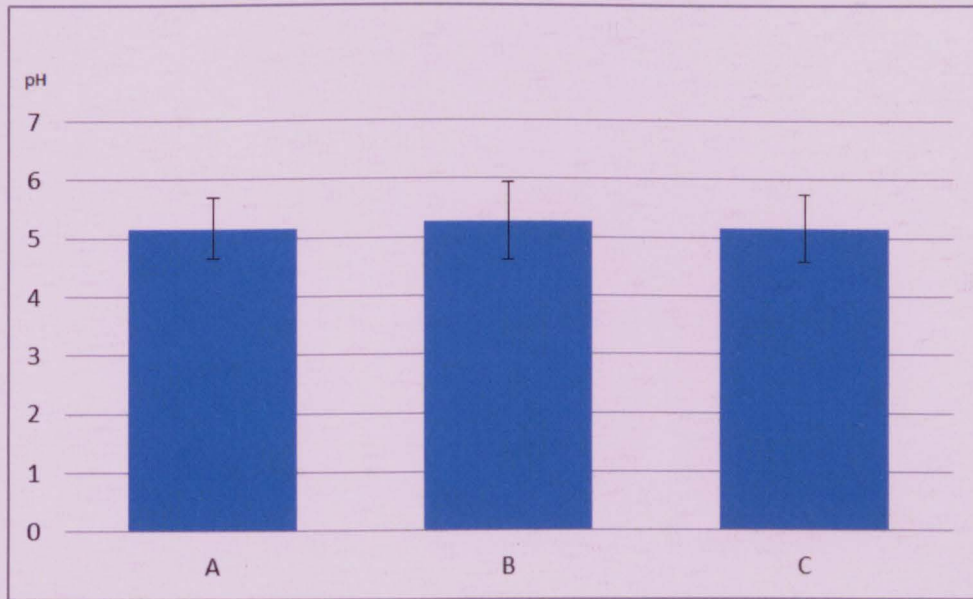


Şekil 4-2: Graphinin iletirlik tamponlama kapasitesi değerleri (pH)

Tablo 4-2: Grupların tükürük tamponlama kapasitesi değerlendirilmesi (pH)

	Tamponlama Kapasitesi (pH değeri)		Normal pH 5 – 7
	Ort±SS	Medyan	Düşük pH ≤ 4 Sınır pH 4 – 5
^A Beyazlatma işleminden önce	5,17±0,52	5	
^B Beyazlatma işleminden sonra	5,28±0,66	5	
^C Beyazlatma işleminden 6 ay sonra	5,16±0,58	5	
<i>A–B grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>		0,517	
<i>A–C grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>		0,841	
<i>B–C grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>		0,371	

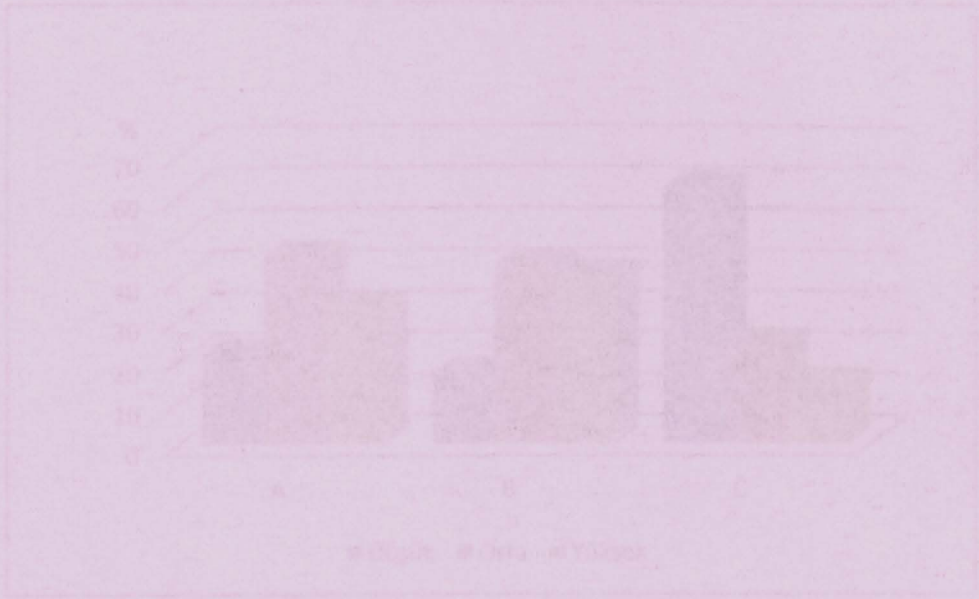
Wilcoxon sign test



Şekil 4-2: Grupların tükürük tamponlama kapasitesi değerleri (pH)

4.3. Tükürüklerdeki Mutans Streptokoklarına (cfu/ml) İlişkin Bulgular

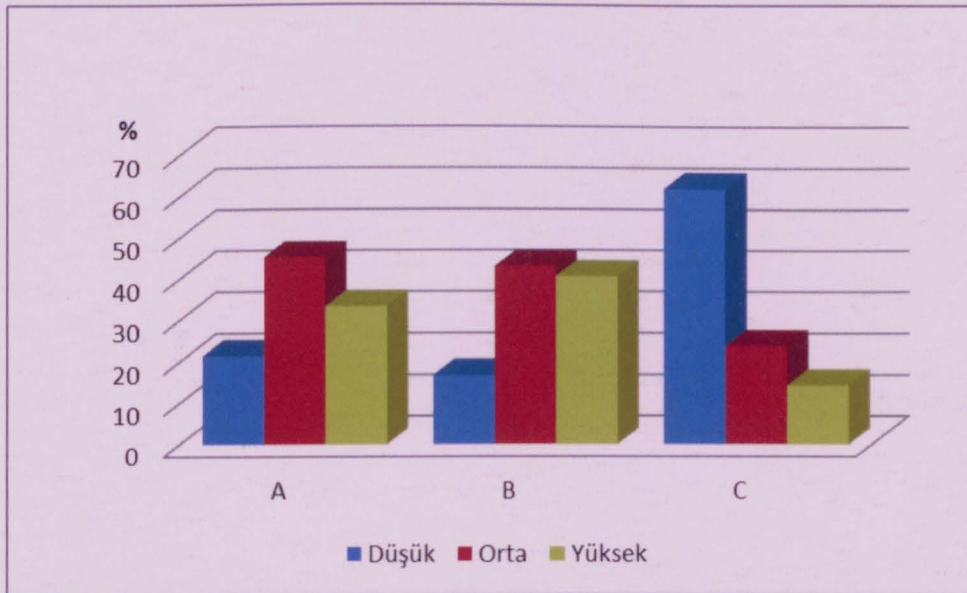
Beyazlatma işleminden önceki mutans streptokokları değerleri; bireylerin %21,4'ünde ($\leq 10^5$ cfu/ml) düşük, %45,2'sinde ($>10^5$ - $<10^6$ cfu/ml) orta ve %33,3'ünde ($\geq 10^6$ cfu/ml) yüksek düzeydedir. Beyazlatma işleminden sonra mutans streptokokları değerleri; bireylerin %16,7'inde ($\leq 10^5$ cfu/ml) düşük, %42,9'unda ($>10^5$ - $<10^6$ cfu/ml) orta ve %40,5'inde ($\geq 10^6$ cfu/ml) yüksek düzeydedir. Beyazlatmadan önce elde edilen düşük mutans streptokokları düzeyine ($\leq 10^5$ cfu/ml) sahip birey sayısı (%21,4) ile beyazlatmadan sonra düşük mutans streptokokları düzeyine sahip birey sayısı (%16,7) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$). Beyazlatma işleminden 6 ay sonraki mutans streptokokları değerleri ise; bireylerin %61,9'unda ($\leq 10^5$ cfu/ml) düşük, %23,8'inde ($>10^5$ - $<10^6$ cfu/ml) orta ve %14,3'ünde ($\geq 10^6$ cfu/ml) yüksek düzeydedir. Beyazlatma işleminden önce elde edilen düşük mutans streptokokları düzeyine ($\leq 10^5$ cfu/ml) sahip birey sayısı (%21,4) ile beyazlatmadan 6 ay sonra elde edilen düşük mutans streptokokları düzeylerine sahip birey sayısı (%61,9) arasında görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Beyazlatma işleminden sonra elde edilen düşük mutans streptokokları düzeyine ($\leq 10^5$ cfu/ml) sahip birey sayısı (%16,7) ile beyazlatmadan 6 ay sonra elde edilen düşük mutans streptokokları düzeyine sahip birey sayısı (%61,9) arasındaki artış da istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$), (Şekil 4.3), (Tablo 4.3).



Şekil 4.3. Beyazlatma işleminden önce ve sonra mutans streptokokları düzeyine sahip bireylerin dağılımı (%)

Tablo 4-3: Grupların tükürüklerindeki mutans streptokoklarının bireylerdeki dağılımının % olarak belirlenmesi ve istatistiksel olarak karşılaştırılması

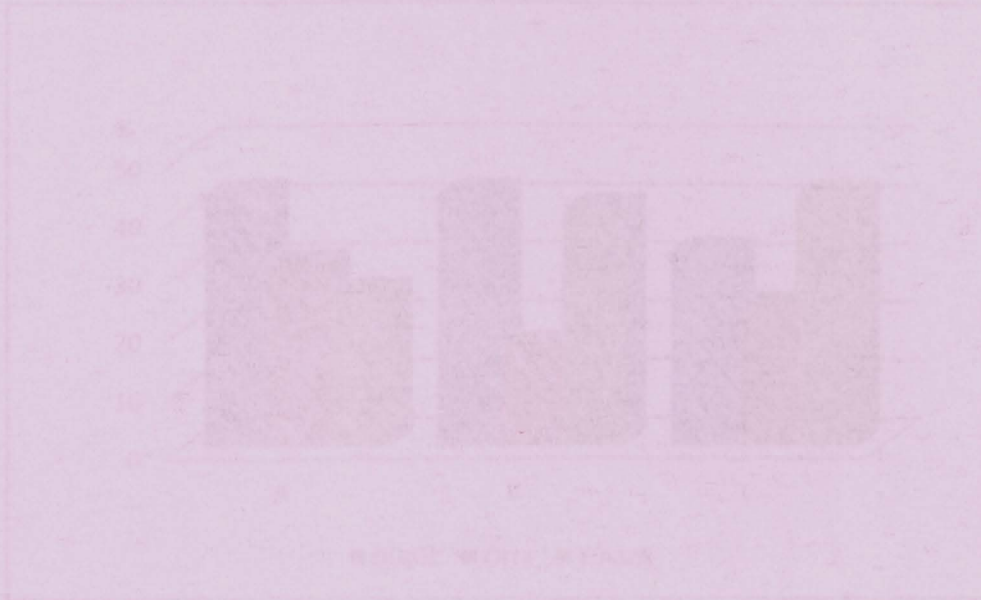
	Mutans Streptokokları Sayısı		
	Düşük ($\leq 10^5$ cfu/ml)	Orta ($> 10^5 - < 10^6$ cfu/ml)	Yüksek ($\geq 10^6$ cfu/ml)
	n (%)	n (%)	n (%)
^A Beyazlatma işleminden önce	9 (%21,4)	19 (%45,2)	14 (%33,3)
^B Beyazlatma işleminden sonra	7 (%16,7)	18 (%42,9)	17 (%40,5)
^C Beyazlatma işleminden 6 ay sonra	26 (%61,9)	10 (%23,8)	6 (%14,3)
<i>A-B grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>		0,774	
<i>A-C grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>		0,014*	
<i>B-C grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>		0,002**	
<i>Mc Nemar test</i>	<i>* p<0,05</i>	<i>** p<0,01</i>	



Şekil 4-3: Gruplardaki mutans streptokoklarının bireylerdeki dağılımı (%)

4.4. Tükürüklerdeki Laktobasillere (cfu/ml) İlişkin Bulgular

Beyazlatma işleminden önceki laktobasil değerleri; bireylerin %42,9' unda ($\leq 10^4$ cfu/ml) düşük , %31' inde ($>10^4$ - $<10^5$ cfu/ml) orta ve %26,2' sinde ($\geq 10^5$ cfu/ml) yüksek düzeydedir. Beyazlatma işleminden sonra laktobasil değerleri; bireylerin %42,9' unda ($\leq 10^4$ cfu/ml) düşük, %16,7' sinde ($>10^4$ - $<10^5$ cfu/ml) orta ve %40,5' inde ($\geq 10^5$ cfu/ml) yüksek düzeydedir. Beyazlatma işleminden 6 ay sonraki laktobasil değerleri; bireylerin %33,3' ünde ($\leq 10^4$ cfu/ml) düşük , %23,8' inde ($>10^4$ - $<10^5$ cfu/ml) orta ve %42,9' unda ($\geq 10^5$ cfu/ml) yüksek düzeydedir. Beyazlatmadan önce elde edilen düşük laktobasil düzeyine ($\leq 10^4$ cfu/ml) sahip birey sayısı (%42,9) ile beyazlatmadan sonra düşük laktobasil düzeyine sahip birey sayısı (%42,9) ve beyazlatmadan 6 ay sonra düşük laktobasil düzeyine sahip birey sayısı (%33,3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$), (Şekil 4.4), (Tablo 4.4).

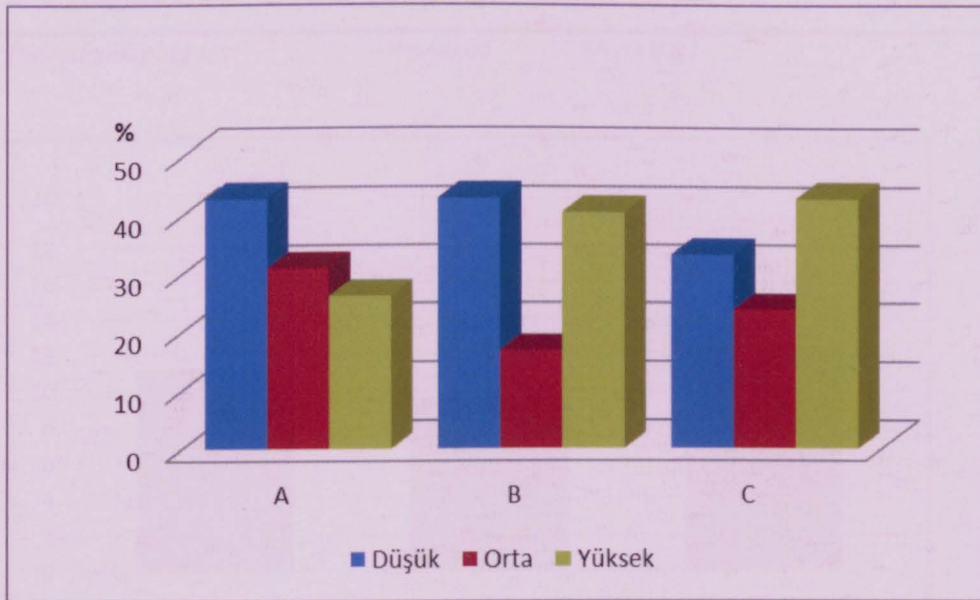


Şekil 4.4. Gaspirdaki laktobasillerin düzeylerindeki dağılım (%)

Tablo 4-4: Grupların tükürüklerindeki laktobasillerin bireylerdeki dağılımının % olarak belirlenmesi ve istatistiksel olarak karşılaştırılması

	Laktobasil Sayısı		
	Düşük ($\leq 10^4$ cfu/ml)	Orta ($> 10^4 - < 10^5$ cfu/ml)	Yüksek ($\geq 10^5$ cfu/ml)
	n (%)	n (%)	n (%)
^A Beyazlatma işleminden önce	18 (%42,9)	13 (%31,0)	11 (%26,2)
^B Beyazlatma işleminden sonra	18 (%42,9)	7 (%16,7)	17 (%40,5)
^C Beyazlatma işleminden 6 ay sonra	14 (%33,3)	10 (%23,8)	18 (%42,9)
<i>A-B grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>		0,180	
<i>A-C grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>		0,086	
<i>B-C grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>		0,751	

Mc Nemar test



Şekil 4-4: Gruplardaki laktobasillerin bireylerdeki dağılımı (%)

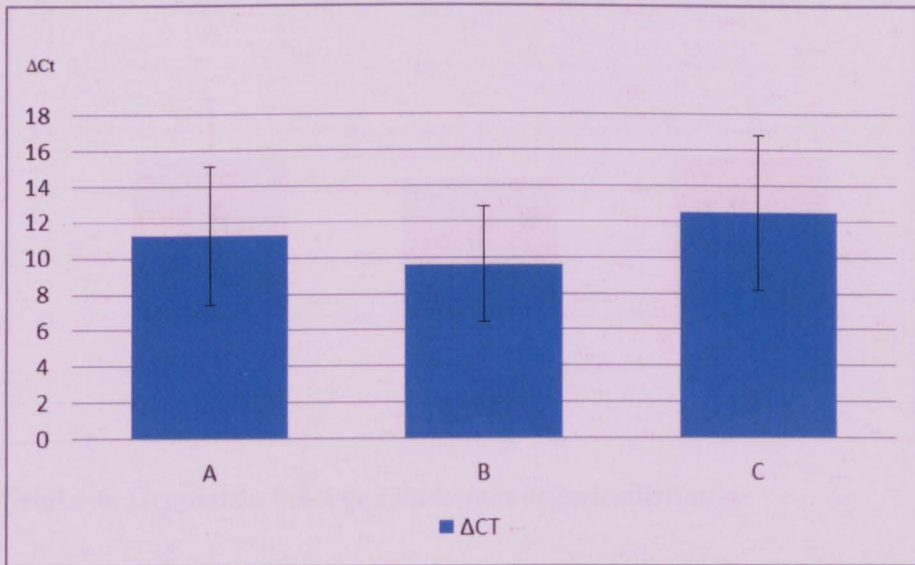
4.5. Tükürük Hücrelerindeki Bax Geninin İfadesine İlişkin Bulgular

Beyazlatma işleminden önce Bax geninin ifadesinden elde edilen ΔCt (cycle threshold) ortalamasına göre ($11,26 \pm 3,86$), beyazlatma işleminden sonraki ΔCt ortalamasında ($9,63 \pm 3,16$) görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Beyazlatma işleminden önce Bax geninin ifadesinden elde edilen ΔCt ortalamasına göre ($11,26 \pm 3,86$), beyazlatma işleminden 6 ay sonraki ΔCt ortalamasında ($12,53 \pm 4,32$) istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p > 0,05$). Beyazlatma işleminden sonraki ΔCt ortalamasına göre ($9,63 \pm 3,16$), beyazlatma işleminden 6 ay sonraki ΔCt ortalamasında ($12,53 \pm 4,32$) görülen artış istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p < 0,01$), (Şekil 4.5), (Tablo 4.5).

Tablo 4-5: Grupların tükürük hücrelerindeki Bax gen ifadesindeki ΔCt değerlendirilmesi

BAX	ΔCt
	Ort \pm SS
^A Beyazlatma işleminden önce	11,26 \pm 3,86
^B Beyazlatma işleminden sonra	9,63 \pm 3,16
^C Beyazlatma işleminden 6 ay sonra	12,53 \pm 4,32
<i>A-B grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>	0,044*
<i>A-C grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>	0,097
<i>B-C grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>	0,001**

Paired sample t test * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$



Şekil 4-5: Gruplarda Bax gen ifadesinin değerlendirilmesi

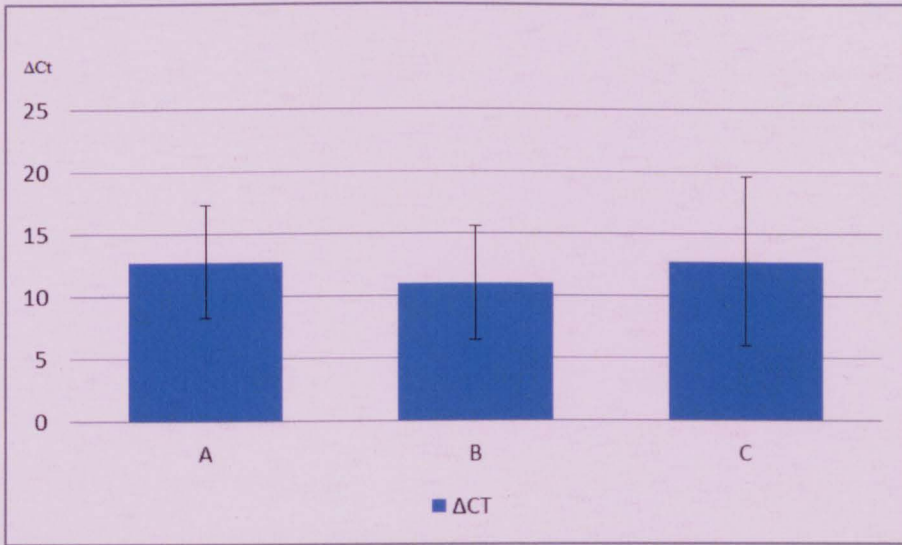
4.6. Tükürük Hücrelerindeki Bcl-2 Geninin İfadesine İlişkin Bulgular

Beyazlatma işleminden önce Bcl-2 geninin ifadesinden elde edilen ΔCt ortalamasına göre ($12,77 \pm 4,53$), beyazlatma işleminden sonraki ($11,00 \pm 4,58$) ve 6 ay sonraki ΔCt ortalamalarında ($12,79 \pm 6,80$) istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p > 0,05$). Beyazlatma işleminden sonraki ΔCt ortalamasına göre ($11,00 \pm 4,58$), beyazlatma işleminden 6 ay sonraki ΔCt ortalamasında da ($12,79 \pm 6,80$) istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p > 0,05$), (Şekil 4.6), (Tablo 4.6).

Tablo 4-6: Grupların tükürük hücrelerindeki Bcl-2 gen ifadesindeki ΔCt değerlendirilmesi

BCL-2	ΔCt
	Ort \pm SS
^A Beyazlatma işleminden önce	12,77 \pm 4,53
^B Beyazlatma işleminden sonra	11,00 \pm 4,58
^C Beyazlatma işleminden 6 ay sonra	12,79 \pm 6,80
<i>A-B grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>	0,091
<i>A-C grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>	0,986
<i>B-C grupları arasındaki istatistiksel değerlendirme sonucu</i>	0,212

Paired sample t test



Şekil 4-6: Gruplarda Bcl-2 gen ifadesinin değerlendirilmesi

4.7. Bax ve Bcl-2 Gen İfadesindeki Korelasyona İlişkin Bulgular

Beyazlatma işleminden önce, sonra ve 6 ay sonra; Bax ve Bcl-2 genlerinin ifadesinden elde edilen ΔCt ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0,05$), (Tablo 4.7).

Tablo 4-7: A, B ve C zamanlarında Bax ve Bcl-2 gen ifadelerindeki ΔCt korelasyonları

	Bax-Bcl-2	
	r	P
^A Beyazlatma işleminden önce	-0,031	0,845
^B Beyazlatma işleminden sonra	-0,272	0,082
^C Beyazlatma işleminden 6 ay sonra	0,062	0,697

Pearson korelasyon analizi

5. TARTIŞMA

Gelişen toplumlarda, estetik anlayışı sürekli değişmekte ve dişler yüz estetiğinin en önemli tamamlayıcı unsurlarından biri olarak kabul edilmektedir. Beyazlatma tedavisine artan talep nedeniyle farklı beyazlatıcı ürünler piyasaya sunulmaktadır. İçerikleri, konsantrasyonları, tatları, kullanım şekilleri sürekli değişen bu beyazlatma sistemlerinin etkilerinin ve kalıcılıklarının belirlenmesinde daha fazla klinik çalışmaya gerek olmaktadır. Çalışmamızın amacı beyazlatma uygulamalarının tükürük içeriğinde değişime sebep olup olmadığının ve tükürük içindeki hücrelerin apoptozu üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

Çalışmamızda beyazlatma işlemleri, dişlerinin renginden memnun olmayan, estetik ve kozmetik bir yaklaşımla daha parlak ve açık renkli dişlere sahip olmak isteyen sağlıklı bireyler üzerinde yapılmıştır. Beyazlatmanın etkilerinin incelendiği bir çok çalışma sağlıklı bireyler üzerinde gerçekleştirilmiştir (Deliperi ve ark. 2004; Keçeci 2006; Worschech ve ark. 2006; Keçeci ve Özdemir 2008, Bentley ve ark. 1999; Türkün ve ark. 2010; Giachetti ve ark. 2010). Yapılan çalışmalarda beyazlatma uygulaması genel sağlığın iyi olduğu 18-65 yaş aralığına yapılmaktadır (Tang ve Millar 2010). Bizim çalışmamızda da yaş aralığımız 18-65 olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda; beyazlatma ajanlarının, tükürük akış hızı, tükürük tamponlama kapasitesi, tükürükteki mutans streptokokları ve laktobasil sayılarında meydana getirdiği değişiklikler ve tükürük içerisinde bulunan hücrelerin apoptoza giden yolda uğrayacakları değişiklikler incelenmiştir. Bu araştırma için proapoptotik ailesinden olan Bax ve antiapoptotik ailesinden olan Bcl-2 genlerinin ifadelerindeki değişiklikler incelenmiştir. Bu incelemeler için sırasıyla hücre ve RNA izolasyonu yapılarak, elde edilen RNA örneklerinden cDNA elde edilmiştir. Daha sonra cDNA'dan real-time PCR yöntemiyle Bcl-2 ve Bax genlerinin ifade oranlarındaki değişimlerine bakılmıştır.

Çalışmamızda renk almadan önce bireylerin kesici dişlerine fırça ile polisaj yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada beyazlatma öncesinde yapılan polisaj işlemi ile sonradan oluşturulan dış kaynaklı renklenmelerin çıkartılması gerektiği bildirilmektedir (Attın 2003). Klinikte de beyazlatma işlemi öncesi pelikülü ve dış renklenmeleri çıkartmak amacıyla profesyonel bir temizlik ve polisaj önerilmektedir (Goldesin ve Garber 1995).

Çalışmamızda bireylerin 1. küçük azı dişlerine kadar alt ve üst kesici dişlere 15 dakika boyunca beyazlatma jeli uygulanmıştır bu işlem 3 seans tekrarlanmıştır. Bireylerden beyazlatmadan önce, son seans olan üçüncü seansın tamamlanmasından 15 dakika sonra ve 6 ay sonra mikrobiyolojik ve genetik testler için tükürük örnekleri alınmıştır. Li ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada bir grupta beyazlatmadan 15 dakika diğer bir grupta beyazlatmadan 30 dakika sonra yeme-içme serbest bırakılmıştır (Li ve ark. 2004). Ağız dokuları, plak indeksi, ağızda kötü bir etki, diş hassasiyeti gibi konularda gruplar arasında anlamlı olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. Başka bir çalışmada ise beyazlatmadan hemen sonra beklemeksizin bireylere sakız çiğnetilerek beyazlatma sonrası farklı içeriklerdeki sakızlarının diş hassasiyetine etkisi bakılmıştır. Bir gruba hassasiyeti giderici, amorf kalsiyum fosfat (ACP) içeren şekerli sakız çiğnetilmiş, diğer bir grup kontrol grubu olarak kabul edilip hiçbir şey çiğnetilmemiştir, son gruba ise normal şekerli sakız çiğnetilmiştir. Beyazlatma uygulamalarından sonra sakız çiğneyen iki grupta sakız çiğnemeyen kontrol grubuna göre daha az hassasiyet belirlenmiştir. Sakız çiğnetilen iki grup arasında hassasiyet azalması açısından anlamlı derecede bir farklılık bulunamamıştır (Tang ve Millar 2010). Beyazlatmadan sonra tükürükteki mikroorganizmalarının ölçümünün yapıldığı bir diğer çalışmada ise tükürük örnekleri; beyazlatmadan hemen önce, hemen sonra hiç beklemeden, 12 saat sonra ve 7 gün sonra parafin çiğnetilerek toplanmıştır (Franz-Montan ve ark. 2009). Bizim çalışmamızda beyazlatma uygulamasından sonra yeme-içme için 15 dakika beklenmesi tercih edilmiştir ve tükürük alınması için sakız çiğnetme işlemi uygulamadan 15 dakika sonra yapılmıştır.

Benzer bir beyazlama sağlamak amacıyla kullandığımız beyazlatma ürününün yoğunluklarına ve kullanım kılavuzundaki önerilere göre uygulama süre ve sayısına karar verilmiştir. Beyazlatma işlemi hidrojen peroksit konsantrasyonu %38 olan malzemeye bireylere üçer gün arayla üç seans ve her seans 15' er dakika olacak şekilde uygulanmıştır. Braden' in çalışmasında bir sıvının bir substratı renklendirmesi, materyale difüzyon hızı, sıvının yoğunluğu ve zamanla orantılıdır şeklinde açıklanmıştır (Braden 1976). Sulieman ve ark. (2004), farklı yoğunluklardaki beyazlatma ajanlarının değerlendirildiği çalışmada bu durumu doğrulamıştır. Bir başka deyişle, bu çalışmada yüksek konsantrasyonlu beyazlatma jelleri kullanılarak daha az sayıda uygulama ile düşük konsantrasyonlu beyazlatma jelleri ile aynı düzeyde beyazlama etkisi elde edilebileceğini göstermişlerdir.

Çalışmamızda %38 hidrojen peroksit içeren bir beyazlatma materyali kullanılmıştır. Yüksek konsantrasyonlu beyazlatma maddelerinin daha hızlı beyazlatma yaptığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Attin 2003; Sulieman ve ark. 2003; Sulieman ve ark. 2005b; Berger 2008; Griffiths 2008; Lee 2008). Yüksek konsantrasyonlu beyazlatma sistemlerinin daha hızlı bir beyazlatma meydana getirdiği ancak düşük konsantrasyonlu beyazlatma ajanlarının uzun süre kullanımlarının aynı beyazlatma etkisini daha yavaş bir hızla gerçekleştirdikleri bilinmektedir (Matis ve ark 2000). Beyazlatmadaki bu hızlı etkinin tükürük ve tükürük hücreleri üzerine benzer bir etki gösterip göstermediği merak edilmektedir.

Çalışmamızda beyazlatma uygulamaları alt ve üst kesici dişlere 15' er dakika 3 seans uygulanmıştır. Poore ve arkadaşlarının 36 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışma ile aynı beyazlatma ajanını 7 gün tüm gece kullanan grup ile günde 2 saat 14 gün boyunca kullanan grup arasında fark bulamamışlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre sadece kullanılan beyazlatma ajanının konsantrasyonu değil kullanım süresi de beyazlatma işlemi etkilediği bulunmuştur. Hidrojen peroksit ve karbamiit peroksitten aynı miktarda açığa çıkan hidrojen peroksit, eşit sürelerde kullanıldığında benzer düzeyde renk değişimi elde edildiği bilinmektedir (Matis ve ark 2000).

Çalışmamızda bireylere uygulanan beyazlatma işlemi sonucunda hastalardan hassasiyete ilişkin bir şikayet gelmemiştir. Yapılan bir çalışmada beyazlatıcı ajanın diş yüzeyleri ile üretici firma direktiflerindeki daha fazla temasta bulundurulmaması sonucunda hassasiyetin hiç olmadığı veya çok az olduğu görülmüştür (Türkün ve ark. 2010).

Hidrojen peroksit kuvvetli bir oksidizan ajan olduğundan yumuşak dokularda yanıklara neden olabilmektedir. Beyazlatma ajanının gingival dokulara temas etmesi durumunda hem dokuların yanması hem de çalışmamızın sonuçlarının etkilenmesi gibi sonuçlar ortaya çıkabilmektedir (Matis ve ark. 2005). Bu nedenle uygulamalar dikkatle ve gingival dokulara temassız olarak tamamlanmıştır.

Çalışmamızda beyaz renkli nötral florür (Denti-Care Denti-Pro Gel %2 Neutral Sodium Fluoride), üçüncü beyazlatma seansının sonunda bütün bireylere uygulanmıştır. Dişler kurutulup pamuk tamponlarla izole edildikten sonra florür 60 saniye boyunca diş yüzeylerine enjektör yardımıyla uygulanmıştır. Kuvvetli aspirasyonla jel diş yüzeylerinden uzaklaştırılmıştır ve bireye 30 dakika herhangi bir şey yiyip içmemesi

söylenmiştir. Bazı çalışmaların raporlarına göre bu uygulamanın da beyazlatma sonrası mikrosertliği azalan minenin mikrosertliğinde artışın hızlanmasında etkili olduğu (Collys ve ark. 1993) ve herhangi bir hassasiyet durumu ortaya çıktığında duyarlılığın önlenmesi amacıyla kullanıldığı bilinmektedir (Civelek ve ark. 2004).

Çalışmamızda beyazlatma uygulamaları sırasında herhangi bir ışık kaynağından yararlanılmamıştır. Tavares ve ark.; %15' lik gaz plazma ışık kaynağı ile aktive edilmiş hidrojen peroksit jeli ile yalnızca %15' lik peroksit, plasebo jel + ışık, koşullarını karşılaştırmak amacıyla *in vivo* bir diş beyazlatma çalışması yapmışlardır. Tüm gruplarda süre, 1 saat olarak standardize edilmiştir. Peroksit + ışık, yalnızca peroksit, plasebo + ışık için, referans noktasına ve vita renk skalasına göre renk değişimleri sırasıyla 8,35, 5,88, ve 4,93 birim olarak gerçekleşmiştir. Değerlerin de gösterdiği gibi peroksit + ışık diğer iki gruptan anlamlı derecede farklılık göstermiştir (Tavares ve ark 2003). Ancak, Hein ve arkadaşları ağız splinti ile uygulanan üç ticari ürünü, üç farklı ışık kaynağı ile bireylere kullanırmışlardır. Bu çalışma kullanılan ışık kaynaklarının herhangi birisinin beyazlatma derecesinde ek bir etkiye sahip olmadığını göstermiştir (Hein ve ark 2003). Ayrıca ışık ve ısı uygulamasının hidrojen peroksitin çözülmesini hızlandırmadığı bildirilmiştir (Hein ve ark 2003). İçerdiği karoten nedeniyle kırmızımsı görünümlü beyazlatma jelinin ısısı anlamlı derecede artsa da, ısı artışı peroksit çözülmesini önemli ölçüde arttırmamıştır. (Baik ve ark 2001; Hein ve ark 2003; Buchalla ve Attin 2006). Işık ile etkinleştirilmiş diş beyazlatma sistemleri ve bu sistemlerin ışısız kontrollerine göre ek bir etkinlik sağladığını kesin bir şekilde göstermek için daha ileri seviyede çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda; çürük aktivite testleri için uyarılmış tükürük toplanmıştır. Dural ve arkadaşları da menopoz ile ağız sağlığı arasındaki ilişkiyi inceledikleri bir çalışmada tükürüğü çalışmamızda kullandığımız tükürük toplama yöntemiyle elde etmişlerdir (Dural ve ark. 2006). Aynı zamanda Yıldırım ve arkadaşları da çalışmalarında tükürük toplamak için aynı yöntemi seçmişlerdir (Yıldırım ve ark. 2010).

Beyazlatma ajanlarının diş sert dokusu üzerine etkisi oldukça önemlidir. Bu konu hakkında çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Örneğin peroksit bazlı materyallerin minenin bağlanma dayanıklılığına ve yapısına etkileri ile ilgili araştırmalar yapılmıştır (Titley ve ark 1992, Ruse ve ark 1990). Bu çalışmalar sonucunda bağlanmanın düştüğü saptanmıştır. Klinik olarak bağlanma değerlerindeki bu düşüş önemlidir. Çünkü

beyazlatma çoğu kez restorasyondan önce dişin estetiğini düzeltmek için yapılmaktadır. Bazı araştırmacılar hidrojen peroksitlerin bağlanma üzerindeki olumsuz etkilerinin artık oksijenden kaynaklandığını bildirmiş ve bu durumun rezinin polimerizasyonunu engellediğini vurgulamışlardır (McGuckin ve ark 1992). Beyazlatma tedavisi sonrasında azalmış bağlanma dayanıklılığı ile ilgili klinik problemlerden kaçınmak için pek çok yöntem önerilmektedir. Beyazlatma tedavisi sonrası restorasyon yapımının 24 saat ile 2 hafta geciktirilmesi en çok önerilen yöntemdir (Garcia-Godoy ve ark 1993). Beyazlatma uygulamalarının mine yüzeyine etkisini inceleyen çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Bazı araştırmacılar, beyazlatma ajanlarının minenin morfolojisine zararlı etkilerinin olmadığını vurgularken, bir grup araştırmacı da beyazlatma ajanlarının minenin yüzeyinde porözite veya erozyon oluşturduğunu ve yüzeyi pürüzlü hale getirdiğini belirtmişlerdir (Shannon ve ark 1993, Leonard ve ark 2001). Bazı çalışmalarda beyazlatılmış mine mikrosertliğindeki azalmanın beyazlatma işlemi takiben remineralizasyon süreci ile eski haline dönebileceğini göstermektedir (Attin ve ark. 1997). Çalışmalar beyazlatma sonrasında minede mineral içeriğinde kayıp meydana geldiği, mine prizmaları arasında aralık artış olduğunu (Perdigao ve ark. 1998), yüzey pürüzlülüğünde artış olduğunu ve mutans streptokokları kolonilerinde artış meydana geldiğini ve tekrarlayan beyazlatma seansları sonrası bakteriyel adezyonda artışa sebep olduğunu ve maksimum bakteri koloni sayısının beş seans beyazlatma sonrası oluştuğunu göstermektedir (Hosaya ve ark. 2003).

Sağlıklı bireylere yapılan bir çalışmada beyazlatma ajanı bir kere uygulanmış ve sonrasında bireylere diş fırçalamamaları önerilmiştir. Beyazlatmadan önce, 3 gün sonra ve 5 gün sonra renk (VITA;Zahnfabrik,Germany) ve plak ölçümleri (Quigley-Hein Plaque Index ve Modified Navy Plaque Index) yapılmıştır. Dişlerin renginde bütün kontrollerde açılma görülmüştür. Plak birikiminde ise 3 günlük kontrollerde azalma fakat 5 günlük kontrollerde artma gözlenmiştir (Gürsoy ve ark. 2008). Beyazlatma çalışmalarında diş rengi değişimlerinin belirgin olduğu yapılan bir çok çalışmada da görülmektedir (Nakamura ve ark. 2001; Al Shetri ve ark. 2003). Ofis tipi (%37 karbomit peroksit), ev tipi (%10 karbomit peroksit) ve plasebo etkisi olarak beyazlatıcı olmayan bir jelin sürüldüğü ev ve ofis tipi uygulama yapılan 4 grubun olduğu başka bir çalışmada ise beyazlatmadan hemen önce, hemen sonra, 12 saat sonra ve 7 gün sonra tükürük örnekleri alınmıştır. Mikroorganizma ölçümlerinden sonra bakteri sayılarında bir değişiklik olmadığı görülmüştür (Franz-Montan ve ark. 2009).

Çalışmamızda mutans streptokok ve laktobasil değerleri tayini için toplanan uyarılmış tükürükten alınan örnekler hazırlanan agarlara uygulanmıştır. Yapılan bir çalışmada hücre kültürlerine beyazlatma ajanları uygulanmıştır. Beyazlatma ajanlarının bazılarında klorheksidin de ilave edilmiştir ve ajanın mutans streptokokları, *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans*lara karşı etkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda, klorheksidin eklenen beyazlatma ajanlarının eklenmeyenlere oranla daha antimikrobiyal etki gösterdiği belirtilmiştir. En dayanıklı mikroorganizmanın ise *Enterococcus faecalis* olduğu bildirilmiştir (Oliveria ve ark. 2008).

Çalışmamızda beyazlatma işleminden önceki mutans streptokokları değerleri; bireylerin %21,4'ünde $\leq 10^5$ cfu/ml olduğundan düşük düzeyde, %45,2'sinde $>10^5$ - $<10^6$ cfu/ml arasında olduğundan orta düzeyde ve %33,3'ünde $\geq 10^6$ cfu/ml olduğundan yüksek düzeydedir. Beyazlatma işleminden sonra mutans streptokokları değerleri; bireylerin %16,7'inde $\leq 10^5$ cfu/ml olduğundan düşük düzeyde, %42,9'unda $>10^5$ - $<10^6$ cfu/ml arasında olduğundan orta düzeyde ve %40,5'inde $\geq 10^6$ cfu/ml olduğundan yüksek düzeydedir. Beyazlatmadan önce elde edilen düşük mutans streptokokları düzeyine ($\leq 10^5$ cfu/ml) sahip birey sayısı (%21,4) ile beyazlatmadan sonra düşük mutans streptokokları düzeyine sahip birey sayısı (%16,7) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$). Beyazlatma işleminden 6 ay sonraki mutans streptokokları değerleri ise; bireylerin %61,9'unda $\leq 10^5$ cfu/ml olduğundan düşük düzeyde, %23,8'inde $>10^5$ - $<10^6$ cfu/ml arasında olduğundan orta düzeyde ve %14,3'ünde $\geq 10^6$ cfu/ml olduğundan yüksek düzeydedir. Beyazlatma işleminden önce elde edilen düşük mutans streptokokları düzeyine ($\leq 10^5$ cfu/ml) sahip birey sayısı (%21,4) ile beyazlatmadan 6 ay sonra elde edilen düşük mutans streptokokları düzeylerine sahip birey sayısı (%61,9) arasında görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Beyazlatma işleminden sonra elde edilen düşük mutans streptokokları düzeyine ($\leq 10^5$ cfu/ml) sahip birey sayısı (%16,7) ile beyazlatmadan 6 ay sonra elde edilen düşük mutans streptokokları düzeyine sahip birey sayısı (%61,9) arasındaki artış da istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Çalışmamızda beyazlatma işleminden önceki laktobasil değerleri; bireylerin %42,9'unda $\leq 10^4$ cfu/ml olduğundan düşük düzeyde, %31'inde $>10^4$ - $<10^5$ cfu/ml olduğundan orta düzeyde ve %26,2'sinde $\geq 10^5$ cfu/ml olduğundan yüksek düzeydedir. Beyazlatma işleminden sonra laktobasil değerleri; bireylerin %42,9'unda $\leq 10^4$ cfu/ml olduğundan düşük düzeyde, %16,7'inde $>10^4$ - $<10^5$ cfu/ml olduğundan orta düzeyde ve %40,5'

inde $\geq 10^5$ cfu/ml olduğundan yüksek düzeydedir. Beyazlatma işleminden 6 ay sonraki laktobasil değerleri; bireylerin %33,3' ünde $\leq 10^4$ cfu/ml olduğundan düşük düzeyde, %23,8' inde $>10^4$ - $<10^5$ cfu/ml olduğundan orta düzeyde ve %42,9' unda $\geq 10^5$ cfu/ml olduğundan yüksek düzeydedir. Beyazlatmadan önce elde edilen düşük laktobasil düzeyine ($\leq 10^4$ cfu/ml) sahip birey sayısı (%42,9) ile beyazlatmadan sonra düşük laktobasil düzeyine sahip birey sayısı (%42,9) ve beyazlatmadan 6 ay sonra düşük laktobasil düzeyine sahip birey sayısı (%33,3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$). Anaerobik bakteriler farklı konsantrasyonlarda karbamid peroksit solüsyonlarına karşı yüksek bir duyarlılık göstermektedir (Scherer ve ark. 1992; Gautier ve ark. 2000). Ancak bu duyarlılık, aerobik ve fakültatif oral mikroorganizmaları türüne göre değişmektedir. *Mutans streptokokları*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *Lactobacillus casei*, ve *Lactobacillus acidophilus* gibi türlerin %10 karbamid peroksit içeren üç çeşit beyazlatma ajanı kullanıldığında *in vitro* koşullarda inhibe edilmesine rağmen, 6 hafta evde kullanılan %10' luk karbamid peroksit çözeltisi tükürükteki mutans streptokok düzeylerini azaltmak için başarısız olmuştur (Gurgan ve ark. 1996). Daha önceki çalışmalarda da alt ve üst çeneye %10' luk karbamid peroksit ya da %7,5' luk hidrojen peroksit uygulaması üç hafta boyunca günde bir kere yapıldığında mutans streptokoklarına karşı hiç bir antimikrobiyal aktivite gözlenmemiştir (Alkmin ve ark. 2005). Bu sonuçlar, farklı konsantrasyonlarda (%10 ve %37) karbamid peroksit içeren beyazlatma ajanlarının kullanıldığı çalışmalarda gözlenen sonuçlarla benzer bulunmuştur. Bizim çalışmamızın sonuçlarında mutans streptokokları sayısı azaldığından diğer çalışmaların sonuçları ile farklılık gözlenmektedir. Laktobasil miktarı bizim çalışmamızda da anlamlı derecede bir değişim göstermeyerek diğer çalışmaları destekler niteliktedir.

Karbamid peroksit içeren belirli üç beyazlatma ajanının (Nitewhite, Opalescence, Proxigel) kullanıldığı bir *in-vitro* çalışmada araştırmacılar karbamid peroksitin laktobasil ve mutans streptokoklarına karşı bakteriyostatik etkisinin olduğunu bulmuşlardır (Bentley ve ark. 2000). Fakat aynı araştırmacıların yaptığı %10' luk karbamid peroksit içeren beyazlatıcı ajanın (Proxigel) kullanıldığı bir *in-vivo* çalışmada mutans streptokoklarına karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite gözlenmemiştir.

Nachnani' nin çalışmasında hiçbir beyazlatma işlemi yapılmayan gruba beyazlatma uygulaması yapılan grubun 14 gün ve 6 aylık kontrollerinde; pulpa canlılığında, yumuşak dokularda ve yapışık dişetlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir

fark bulunamamıştır (Nachnani 1997). Schulte ve arkadaşlarının 28 gün boyunca günde 7 saat %10 karbamiit peroksit kullanılan çalışmasında da gingival indeks skorlarında fark bulunamamıştır (Schulte ve ark. 1993).

Çalışmamızda, beyazlatma işleminden önceki tamponlama kapasitesi değerlerine göre (pH 5,17±0,52), beyazlatma işleminden sonra (pH 5,28±0,66) ve 6 ay sonra (pH5,16±0,58) bakılan tamponlama kapasitesi değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir (p>0,05). Beyazlatma işleminin öncesine göre beyazlatma işleminden 6 ay sonra bakılan tamponlama kapasitesinde de istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir (p>0,05). Beyazlatmadan önce normal seviyelerde (pH 5-7) olan tamponlama kapasitesi değerleri beyazlatmadan sonra da normal sınırlar içinde kalmıştır. Leonard ve arkadaşlarının %10' luk karbamiit peroksitin (pH 5,3) tükürük pH' ını inceledikleri çalışmalarında, pH' da anlamlı derecede bir azalma olmamıştır. Bunun aksine pH' da zaman içinde bir artma gözlemlenmiştir. Bunun sebebini ise karbamiit peroksitin, hidrojen peroksit ve üreye dönüşmesi olarak açıklamışlardır. Hidrojen peroksit su ve oksijeni, üreye ise amonyak (asidin en büyük nötralizatörü) oluşturmuştur. Çalışmada ürenin aynı zamanda tükürük bezlerinden salgılanarak, tükürük akış hızı ve tamponlama kapasitesini yükselttiği gözlemlenmiştir ve bizim çalışmamızdan farklı sonuçlar vererek pH' ın yükseldiği bildirilmiştir. Sonuç olarak da karbamiit peroksit kullanımında yükselen pH sebebiyle dişleri demineralize etmediğini rapor edilmiştir (Leonard ve ark. 1994b).

Ev tipi beyazlatma için %10' lik karbamiit peroksitin kullanıldığı bir *in-vivo* çalışmada plaktaki pH değişimleri incelenmiştir. Öncelikle karbamiit peroksitin ve plağın işlem uygulamadan önce pH değerleri ölçülmüştür. Beyazlatma plağına pH elektrodunu yerleştirmek için bir delik açılmıştır ve 5 dakikada aralıklarla karbamiit peroksit solüsyonunun pH ölçümleri yapılmıştır. 2 saatin sonunda beyazlatma palağı çıkarılmış ve dental plağın pH ölçümü yapılmıştır. Dental plak pH' ının başlangıçtaki ortalama değeri 6,31 iken en sondaki değeri 6,86 olarak ölçülmüştür. Aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Beyazlatma plağı içinde başlangıçtaki pH değeri ise 4,50 iken bu değer 8,06' ya kadar çıkmıştır. Bu sonuçlar arasındaki fark da istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Dental plağın, tükürüğün ve beyazlatma plağı içindeki karbamiit peroksit solüsyonunun pH' ı anlamlı derecede artmıştır ve çalışmanın yapıldığı 2 saatlik sürede boyunca da yüksek olarak kalmıştır (Leonard ve ark. 1994a).

Çalışmamızda, beyazlatma işleminden önceki akış hızı ortalamasına göre ($1,72 \pm 0,58$ ml/dk), beyazlatma işleminden sonra bakılan akış hızı ortalamasında ($1,71 \pm 0,66$ ml/dk) istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmezken ($p > 0,05$); beyazlatma işleminin öncesine ve sonrasına göre beyazlatma işleminden 6 ay sonra bakılan akış hızı ortalamasında ($1,20 \pm 0,35$ ml/dk) görülen düşüş istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p < 0,01$). Fakat beyazlatmadan önce normal seviyelerde ($> 0,7$ ml/dk) olan tükürük akış hızı değerleri beyazlatmadan sonra da normal sınırlar içindedir. Tükürük salgı hızı ve kimyasal yapısı; yaş, cins, uyku, diyet, dehidratasyon, emosyonel etkenler, infeksiyon hastalıkları, sinir sistemi hastalıkları, kullanılan ilaçlar ve uyaranların cinsi ve uygulanış şekli gibi durumlara göre değişiklik göstermektedir (Kaya 1997, Humphrey ve Williamson 2001, Almeida ve ark. 2008). Çalışmamızda katılan bireylerin sistemik bir rahatsızlığı, infeksiyon hastalıkları ve devamlı kullandıkları bir ilaç olmadığından tükürük akış hızını bu tip sistemik faktörlerin etkileyeceği bir durum söz konusu olmamıştır.

Çalışmamızda alınan tükürüğün içindeki hücrelerden RNA izolasyonu yapılmış, elde edilen RNA örneklerinden cDNA elde edilmiştir. Sonrasında ise cDNA' dan real-time PCR yöntemiyle Bcl-2 ve Bax genlerinin ifade oranlarındaki değişimlere bakılmıştır. Choe ve arkadaşları; hidrojen peroksitin insanların peridontal ligament fibroblastlarının, çoğalma ve farklılaşmasını nasıl etkilediğinin incelediği çalışmalarında da real-time PCR yöntemi ile araştırmalarını tamamlamışlardır (Choe ve ark. 2011). Park ve arkadaşlarının tükürükte RNA' yı inceledikleri çalışmaları da PCR yöntemiyle yapılmıştır. RNA' nın tükürükte bir tutarlılık içinde bulunduğunu ve oral kanserlerde bir biyomarker olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Park ve ark. 2006).

Çalışmamızda hidrojen peroksitin etkilerine proapoptotik ailesinden olan Bax ve antiapoptotik ailesinden olan Bcl-2 genlerinin ifadesindeki değişiklikler incelenerek bakılmıştır. Beyazlatma işleminden önce Bax geninin ifadesinden elde edilen ΔCt ortalamasına göre ($11,26 \pm 3,86$), beyazlatma işleminden sonraki ΔCt ortalamasında görülen düşüş ($9,63 \pm 3,16$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Beyazlatma işleminden önce Bax geninin ifadesinden elde edilen ΔCt ortalamasına göre, beyazlatma işleminden 6 ay sonraki ΔCt ortalamasında ($12,53 \pm 4,32$) istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p > 0,05$). Beyazlatma işleminden sonraki ΔCt

ortalamasına göre, beyazlatma işleminden 6 ay sonraki ΔCt ortalamasında görülen artış istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p < 0,01$). Bcl-2 geninin ifadesinde ise; beyazlatmadan önce ($12,77 \pm 4,53$), sonra ($11,00 \pm 4,58$) ve 6 ay sonra ($12,79 \pm 6,80$) anlamlı derecede bir değişim gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Burdon ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı çalışmada hidrojen peroksit ($100 \mu M$) ile tedaviyle fibroblast hücrelerinde büyümenin engellendiği ve apoptotik hücre ölümlerinin uyarıldığı yani proapoptotik gen aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir (Burdon ve ark. 1996). Bizim çalışmamızın beyazlatmadan sonraki Bax geni ifadesi ölçümleri ile elde edilen sonuç diğer çalışmalarla farklı değerler vermekle birlikte, 6 aylık kontrollerinde meydana gelen Bax geni ifadesindeki artma diğer çalışmaları destekler nitelikte bulunmuştur. Bcl-2 geninin ifadesinde anlamlı derecede değişme olmaması ile de yapılan çalışmanın bulguları çalışmamızdan elde edilen bulguları destekler niteliktedir.

Hannig ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada %5 hidrojen peroksit ve %10 karbamiit peroksit ile beyazlatma uygulanan kişilerin tükürükleri fotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Sonuçlarda %5' lik hidrojen peroksit içeren beyazlatma ajanının kullanıldığı grubun tükürüklerinde daha fazla oranda hidrojen peroksite rastlanmıştır. Fakat beyazlatmanın sonunda tükürükteki hidrojen peroksit miktarında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Hannig ve ark. 2003).

Beyazlatma ajanlarının kanserojenik etkileri hakkında farklı sonuçlar bildirilmiştir. Oksidatif stres premalignant değişiklikler ile sonuçlanabilecek oral epitelyal hücrelerin zedelenmesine neden olabilmektedir (Royack ve ark. 2000). Hidrojen peroksit ve DMBA (9,10,-dimetil-1,2benzanthracene) sigara içiminde kanserojenik analog olarak bilinmektedir (Weitzman ve ark. 1986). Hidrojen peroksidin konsantrasyonuna bağlı olarak deney farelerinin (hamster) mukozalarında hiperkeratozis ve karsinomaya neden olmuştur. Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada ise %35 karbamiit peroksidin kronik kullanımı sıçanların oral mukozasında hücre döngüsünde değişikliklere neden olmamıştır (Gomez ve ark. 2002). Bazı literatürler %10 karbamiit peroksit ile dişhekiminin gözetiminde evde yapılan beyazlatma işlemi kanserojen risk taşımamakta ve midede geri dönüşümü olmayan etkiye neden olmadığını göstermektedir (Li 1998; Li 2000).

Yapılan çalışmalarda %35' lik hidrojen peroksidin yanlışlıkla yutulması halinde zehirlenme ve ölümcül tehlikeler olabileceği bildirilmiştir (Litovitz ve ark.1995; Ijichi

ve ark. 1997). Beyin enfarktüsleri, gaz embolizmi nedeniyle kalpte iskemik değişiklikler görülebilmektedir (Sherman ve ark. 1994; Ijichi ve ark. 1997). Çocuklarda ise kazayla hidrojen peroksit yutma sonrasındaki risk daha da büyüktür. Bir vakada 290 mg hidrojen peroksit/kg BW, %35' lik hidrojen peroksit içeren 100 ml' lik bir solüsyon yutan 2 yaşındaki bir çocuğun öldüğü bildirilmiştir (Christensen ve ark. 1992). Düşük konsantrasyonlardaki hidrojen peroksitin yutulmasında ciddi hasarlara neden olabilmektedir. Örneğin 16 aylık bir bebeğin 600 mgHidrojen peroksit/kg BW, %3' lük hidrojen peroksit solüsyonu yutması sonucunda akciğerlerde ödem ve bağırsaklarda yaygın amfizem gözlenmiştir (Cina ve ark. 1994). Ayrıca 2 yaşındaki bir çocukta da %3' lük hidrojen peroksit solüsyonu yutulması sonucunda portal ven gaz embolizmi gözlenmiştir (Rackoff ve Merton 1990).

%18 karbomit peroksit içeren bir şırınga (3,5 gr) 210 mg hidrojen peroksit içermektedir. Vücut ağırlığı yaklaşık 12 kg olan bir çocuğun bir şırınga beyazlatma ajanı yutması sonucunda; oral mukaoza ülserasyonları, mide ülserasyonları, bulantı ve kusma gibi belirtiler, karın şişmesi, boğazda yara gibi durumlar rapor edilmiştir (Dickson ve Caravati 1994).

Çalışmamızda, beyazlatma işleminden önce, sonra ve 6 ay sonra Bax ve Bcl-2 genlerinin ifadesi korelasyonu incelendiğinde elde edilen ΔCt ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Suematsu ve arkadaşlarının çalışmasında; insan nöronal hücrelerinde apoptoza neden olan hidrojen peroksit karşısında kuersetinin nöroprotektif etkisinin araştırılmış ve kuersetin usule uygun bir şekilde kullanıldığında, hidrojen peroksitin sitotoksisite oluşturmasını ve laktat dehidrogenazların serbest bırakılmasına neden olmasını baskıladığı görülmüştür. Sonuç olarak kuersetin; pro-apoptotik Bax geninin ifadesini (ekspresyon) baskımlarken, hücrelerdeki anti-apoptotik Bcl-2 geninin ifadesini artırdığı bildirilmiştir. Ayrıca kuersetinin, DNA parçalanmasına (fragmentasyon) öncülük eden kaspaz yolağının aktivasyonunu inhibe ettiği görülmüştür. Sonuç olarak kuersetinin oksidatif stres ve apoptozun neden olduğu nörodejeneratif hastalıkları önlediği bildirilmiştir (Suematsu ve ark. 2011).

Oral LD₅₀ belirlenmesi bileşiğin toksisitesi hakkında basit bir tahmin sağlamaktadır. LD₅₀; toksik maddenin bir defada verildiğinde deney grubunun yarısını öldürebilecek miktardır. Karbopol içermeyen %10' luk karbomit peroksitin LD₅₀ değeri

143 mg/kg, karbopol içeren %10' luk karbomit peroksitin LD₅₀ değeri 87 mg/ kg' dır. Bu defa kg BW başına 15 ve 9 mg karbomit peroksiti göstermektedir (Woolverton ve ark. 1993). Bir çalışmada hidrojen peroksit için ise oral LD₅₀ değeri yaklaşık 1600 mg/kg olduğu belirtilmiştir (Ito ve ark. 1976). Bu tip dozlar uygulandığında farelerde solunum depresyonu, kilo kaybı, midede histolojik anormallikler, nekrotik mukoza, bozulmuş mide bezleri görülebilmektedir (Cherry ve ark. 1993).

Dökümanlarda hidrojen ve karbomit peroksitin akut ve subakut etkileri arasında herhangi bir allerjik duyarlılığa neden olduğuna dair bilgi bulunmamaktadır (Michel ve ark. 2010). Zorla 5, 15 ve 50 mg karbomit peroksit/kg ile beslenen farelerde ilk 1 saat içinde mukoza ülserasyonları kolaylıkla saptanabilmiştir. Fakat 24 saat sonra iyileşme gözlenmiştir. Araştırmacılar böbreklerde ve akciğerler üzerinde ise herhangi bir ters etkiye rastlamamışlardır (Dahl ve Becher 1995).

Yayınlanan bir raporda %35' lik hidrojen peroksit kullanıldığında kontrol hücreleriyle karşılaştırıldığında canlı hücrelerin sayısı %60' a düştüğü bildirilmiştir (FM3A cell line). Bu oranın karbomit peroksit kullanıldığında %20-43' e düştüğü görülmüştür. 70 kg' lik bir birey için toksik etkileri ve riskleri önlemek için uygun doz ≤ 10 mg karbomit peroksit ya da $\leq 3,3$ mg hidrojen peroksit olmalıdır (Aren 2003).

Uluslararası Kanser Araştırma Birliği'ne göre beyazlatma ajanlarının profesyonel kullanımlarında herhangi bir mutasyon veya kanser riski görülmemekle birlikte, hayvanlar üzerindeki karsinojenitesi ile ilgili kanıtların limitli olduğunu, insanlar üzerindeki karsinojenitesi ile ilgili kanıtların ise yetersiz olduğunu bildirmiştir (International Agency on Research on Cancer 1999). Yapılan başka bir çalışmada da hidrojen peroksitin sindirim sisteminde herhangi bir karsinojenik etki olmadığı belirtilmiştir (Desesso ve ark. 2000). %3,6 oranına kadar hidrojen peroksitin genotoksik potansiyelinin değerlendirildiği çalışmada tütün kullananlarda, alkol kullananlarda veya genetik yatkınlığı olanlarda ağız kanserlerinde bir artış olduğu görülmüştür (SCCNFP 1999).

Hidrojen peroksitin deri kanserlerine sebep olabildiği görülmektedir (Klein-Szsanto ve Slaga 1982). Oral kavitede %30' luk hidrojen peroksitin 22 hafta boyunca tekrarlanan uygulamalarında hiperkeratoz, hiperplazi ve displazilere sebep olabilmektedir (Radosevich ve Weitzman 1989). Hidrojen peroksitin Salmonella typhimurium ve Escherichia coli suşlarında mutajenik etki gösterdiği bildirilmiştir

(Abu-Sharkra ve Zeiger 1990). Bazı hücre kültürlerinde ise hidrojen peroksit fare lenfoma hücrelerindeki DNA zincirinde kırılmalara sebep olarak mutajenik etki göstermektedir (Kruszewski ve ark. 1994).

Woolveton ve arkadaşlarının fareleri %10 karbamit peroksit içeren iki çeşit solüsyonla besledikleri bir çalışmada herhangi bir genotoksisiteye rastlamamışlardır (Woolverton ve ark. 1993).

Karbamit ve hidrojen peroksit içeren beyazlatma ajanlarının bakteri kültürleri oluşturulduktan sonra, *Escherichia coli* suşlarına uygulandığı bir çalışmada DNA zararını tamir etme kapasitesi en düşük olan suşlarda beyazlatma ajanları etkisinin en yüksek olduğu bulunmuştur (Zouain-Ferreira ve arkadaşları 2002).

Hidrojen peroksitin oral kavitedeki etkinliğinin araştırıldığı çalışmada; sigara, alkol ve genetik yatkınlığın ağız kanserlerini arttırmadığı bulunmuştur. Ağız kanserlerinin tekrarlayan beyazlatma tedavileriyle artabileceği ve bunun için de daha çok araştırmanın gerektiği söylenmektedir (Burningham ve ark. 2004).

Hidrojen peroksitin yüksek konsantrasyon ve uzun dönem kullanıldığında çalışmalarda oral mukozaya hasar verdiği, genötoksik ve karsinojenik etkilerinin olduğu da bildirilmiştir (Naik ve ark. 2005; Tredwin ve ark. 2006).

SCCP' nin (Scientific Committee on Consumer Products) görüşüne göre beyazlatma ajanlarında %0,1' lik hidrojen peroksit kullanılması güvenli bulunmuştur. %0,1' den %6' ye kadar olan hidrojen peroksit içeren beyazlatma ajanlarının kullanımı için ise tüketicinin diş hekiminin onayının gerek olduğu belirtilmektedir. %6' den yüksek konsantrasyonlarda hidrojen peroksit içeren beyazlatma ajanlarının ise tüketicilerin direkt olarak ulaşmaması gerekmektedir (SCCP 2005).

Nagler' in yaptığı çalışmada; sağlıklı ve oral kanserli bireylerin tükürüklerinden yapılan analizler sonucunda; kanserli bireylerde sodyum (Na), kalsiyum (Ca), fosfat (P), magnezyum (Mg), albümin, laktat dehidrogenaz (LDH), total immunglobulin G (IgG) miktarlarında artma gözlenirken, amilaz, potasyum (K), salgısal immunglobulin A (IgA) miktarlarında azalma gözlenmiştir (Nagler 2009).

Hastalar ve tüketiciler açısından diş beyazlatmanın önemi diş beyazlatma ürünleri ve prosedürlerinin çeşitlerinin dikkate değer ölçülerde artışını beraberinde getirmiştir. Bu duruma bağlı olarak *in vivo* ve *in vitro* diş beyazlatma çalışmalarında hızlı bir artış vardır. Beyazlatma tedavilerinde etkili bir sonuç elde edilebilmesi için kullanılan beyazlatma ajanının yapısı ve konsantrasyonu kadar yan etkilerinin

engellenebilmesi de oldukça önemlidir. Klinik olarak belirti göstermemesine rağmen beyazlatma ajanlarının oluşturabileceği kimyasal ve mikroyapısal değişikliklerin dişlerin yüzey özelliklerini, mineralizasyon derecesini ve belki de çürük benzeri lezyon gelişimini ve tükürük özelliklerini etkileyebileceği bildirilmiştir. Çalışmamızda beyazlatma uygulaması yaptırmak isteyen ve beyazlatma yapılmaya uygun bireylere tedaviler yapılmıştır. Çalışmamız sonucunda da beyazlatma yapılan 42 hastanın Vita skalasına göre 34'ünde 2 derecelik, 8'inde ise 1 derecelik beyazlamaya yönelik renk değişimi tespit edilerek amaca yönelik uygulamalar gerçekleştirilmiştir ve bireylerin tükürük analizleri yapılmıştır. Çalışmamız ışığında beyazlatma ajanları güvenli kozmetik ürünler olarak görülmektedir. Çalışmamızda Bax geninin ifadesi üzerine geri dönüşebilen ve kısa süreli bir etki oluşmuştur. Meydana gelen değişiklikler, daha büyük hasta gruplarında ve araştırılan genlerle bağlantılı diğer genlerin araştırılması yönünde bir araştırma alanı oluşturmaktadır. Bu sonuçlar diğer çalışmalar ve araştırmalar için başlangıç noktası ve yeni bir yön oluşturmuştur. Çalışmamızda beyazlatmadan 6 ay sonra yüksek mutans streptokoklarına ($\geq 10^6$ cfu/ml) sahip birey sayısı (%14,3) anlamlı derecede azalmıştır. Bu azalmada, çalışmaya katılan bireylerin estetik ve kozmetik bir uygulama yaptırmaları, tarafımızca verilen ağız hijyeni eğitiminin neticesinde var olan durumu korumaya yönelik motivasyonun etkili olduğu ve hidrojen peroksitin antiseptik özelliğinden dolayı tükürükten ağız ortamına taşınarak mutans streptokokları üzerine etkili olduğu düşünülmektedir. Yüksek laktobasil seviyelerine ($\geq 10^5$ cfu/ml) sahip birey sayısının beyazlatmadan önce (%26,2), sonra (%40,5) ve 6 ay sonra (%42,9) anlamlı derecede değişiklik göstermemesinin de, yüksek şeker tüketimi olmadığından ve bireylerin uygulamaya yönelik motivasyonundan dolayı olduğu düşünülmektedir. Beyazlatmadan önce ($1,72 \pm 0,58$) ve sonra ($1,71 \pm 0,66$) normal düzeylerde olan ($> 0,7$ ml / dk) tükürük akış hızında 6 ay sonra meydana gelen düşme ($1,20 \pm 0,35$ cfu/ml) yine normal düzeylerde ($> 0,7$ ml / dk) gözlemlenmektedir ve gerek çürük aktivitesini gerekse ağız sağlığını değiştirecek bir etki oluşturmamıştır. Aynı zamanda hastaların tedavilerinin sonrasında takiplerinin sağlıklı yapılması açısından beyazlatma tedavilerinin mutlaka bir hekim kontrolü altında gerçekleşmesinin önemi bir kez daha teyid edilmiştir.

SONUÇLAR

- Beyazlatma uygulamaları sonrası diş renklerinde değişim sağlanmıştır.
- Beyazlatmadan 6 ay sonra bireylerde uygulama yapılan dişlerle ilgili hassasiyet, çürük, kırık vb. herhangi bir problem meydana gelmemiştir.
- Beyazlatma işleminde; bireylerin tükürük akış hızları kısa zaman içinde yani beyazlatmadan sonra etkilenmemektedir. Fakat uzun sürede yani beyazlatmadan 6 ay sonra bireylerin tükürük akış hızlarında düşme gözlemlenmiştir.
- Beyazlatma işlemi sonucunda bireylerin tükürük tamponlama kapasitesi değerlerinde anlamlı derecede değişiklikler gözlenmemiştir.
- Beyazlatma işleminden sonra yapılan ölçümlerde düşük mutans streptokok değerine sahip bireylerin sayısı anlamlı derecede değişime uğramamaktadır. Fakat beyazlatmadan 6 ay sonra düşük mutans streptokok değerlerine sahip bireylerin sayısında anlamlı derecede artma gözlemlenmiştir.
- Beyazlatma uygulamalarıyla düşük ve yüksek laktobasil değerine sahip bireylerin sayısında anlamlı derecede bir değişim meydana gelmemiştir.
- Proapoptotik bir gen olan Bax geni ifadesinde beyazlatmadan sonra bir azalma meydana gelirken, beyazlatmadan 6 ay sonra bu azalma tekrar eski ifade miktarlarına geri dönmüştür.
- Beyazlatma işlemi antiapoptotik bir gen olan Bcl-2 ifadesinde anlamlı derecede bir değişim meydana getirmemiştir.
- Beyazlatma işleminden önce, sonra ve 6 ay sonra ; Bax ve Bcl-2 genlerinin ifadesinden elde edilen ΔCt ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.
- Beyazlatma işlemlerinin estetik ve kozmetik bir uygulama olmasından ve bireylere ağız hijyeni ve temizliği konusunda verilen motivasyondan dolayı bireylerin ağız bakımlarını daha iyi yapmaları sebebiyle; beyazlatma ajanları hekim kontrolü altında yapıldıkları sürece güvenli kozmetik ürünler olarak görülebilirler.

KAYNAKLAR

- Absi, E.G., Addy, M. ve Adams, D. (1987). Dentine hypersensitivity. A study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine. *Journal of Clinical Periodontology*, **14**, 280-284.
- Abu-Sharkra, A. ve Zeiger, E. (1990). Effects of salmonella genotypes and testing protocols on H₂O₂-induced mutation. *Mutagenesis*, **5**, 469-471.
- Addy, M., Al- Arrayed, F. ve Moran, J. (1991). The use of an oxidising mouthwash to reduce staining associated with chlorhexidine. Studies *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Clinical Periodontology*, **18**, 267-271.
- Addy, M. (2002). Dentine hypersensitivity: new perspectives on an old problem. *International Dental Journal*, **52**, 367-375.
- Al Shethri., Matis, B.A., Cochran, M.A., Zekonis, R. Ve Stropes, M. (2003). A clinical evaluation of two in-office bleaching products. *Operative Dentistry*, **28**, 488-495.
- Alkmin, Y.T., Sartorelli, R., Florio, F.M. ve Basting, R.T. (2005). Comparative study of effects of two bleaching agents on oral microbiota. *Operative Dentistry*, **30**, 417-423.
- Almeida, P.D.V., Grégio, A.M.T., Machado, M.Â.N., Lima, A.A.S. ve Azevedo, L.R. (2008). Saliva Composition and Functions: A Comprehensive Review. *Journal of Contemporary Dental Practice*, **9**, 72-80.
- Altan, N., Dinçel, A. ve Koca, C. (2006). Diabetes mellitue ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, **31**, 51-56.
- Altınöz, H.C., Bayraktar, A. ve Alaçam, T. (2002). Devital dişlerde kullanılan hidrojen peroksit içerikli bir ağartma ajanının dentinin inorganik yapısına olan etkisinin x-ışınları kırınımı ve infrared spektrometre ile incelenmesi. *Gazi Üniversitesi Dishekimliği Fkültesi Dergisi*, **19**, 29-33.

Amaechi, B.T. ve Higham, S.M. (2001). *In vitro* remineralization of eroded enamel lesions by saliva. *Journal of Dentistry*, **29**, 371-376.

Amerongen, N.A.V. ve Veerman, F.C. (2002). Saliva the defender of the oral cavity. *Oral Diseases*, **8**, 12-22.

Aren, G. (2003). *In vitro* effects of bleaching agents on FM3A cell line. *Quintessence International*, **34**, 361-365.

Arı, H., Özcan, E. ve Yıldırım, C. (2008). Farklı sodyum perborat tiplerinin endodontik olarak tedavi edilmiş ve kompozit ile restore edilmiş dişlerin kırılma direnci üzerine etkisi. *Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **11**, 5-9.

Attin, T., Kielbassa, A.M., Schwanenberg, M. ve Hellwig, E. (1997). Effect of fluorid treatment on remineralization of bleached enamel. *Journal of Oral Rehabilitation*, **24**, 282-288.

Attin, T., Manolakis, A., Buchalla, W. ve Hannig, C. (2003). Influence of tea on intrinsic colour of previously bleached enamel. *Journal of Oral Rehabilitation*, **30**, 488-494.

Attin, T., Muller, T., Patyk, A. ve Lennon A.M. (2004). Influence of different bleaching systems on fracture toughness and hardness of enamel. *Operative Dentistry*, **29**, 188-195.

Axelsson, P. (2000). Interval Modifying Factors Involved In Dental Caries. Diagnosis and Risk Prediction of Dental Caries. *Quintessence Publishing Company Sweden*, **2**, 91-150.

Aykent, F., Üsümez, A. ve Kont Çobankara, F. (2002). Hidrojen peroksit ile ağartma işleminin minenin makaslama bağlanma dayanımına etkisi. *Ege Üniversitesi Dishekimliği Fakültesi Dergisi*, **23**, 25-29.

Bagis, Y.H. ve Ertas, E. (2000). Kompozit restorasyonların yapımından önce ve sonra uygulanan vital agartma işlemlerinin mikrosızıntı üzerine etkileri. *Ankara Üniversitesi Dishekımlığı Fakültesi Dergisi*, **27**, 137-142.

Bahar, G., Feinmesser, R., Shpitzer, T., Popovtzer, A. ve Nagler, R.M. (2007). Salivary analysis in oral cancer patients. *American Cancer Society*, **109**, 54-59.

Baik, J.W., Rueggeberg, F.A. ve Liewehr, F.R. (2001). Effect of light enhanced bleaching on *in vitro* surface and intrapulpal temperature rise. *Journal of Esthetic Restorative Dentistry*, **13**, 370-378.

Beaulaton, J. ve Lockshin, R.A. (1982). The relation of programmed cell death to development and reproduction: comparative studies and an attempt at classification. *International Review of Cytology*, **79**, 215-35.

Benham, C. ve Mielke, S. (2005). DNA mechanics. *Annual Review of Biomedical Engineering*, **7**, 21-53.

Bentley, C., Leonard, H., Nelson, C. ve Bentley, S. (1999). Quantitation of vital bleaching. *American Dental Association*, **130**, 809-816.

Bentley, C.D., Leonard, R.H. ve Crawford, J.J. (2000). Effect of whitening agents containing carbamide peroxide on cariogenic bacteria. *Journal of Esthetic Dentistry*, **12**, 33-37.

Berger, S.B., Coelho, A.S., Oliveira, V.A., Cavalli, V. ve Giannini, M. (2008). Enamel susceptibility to red wine staining after 35% hydrogen peroxide bleaching. *Journal of Applied Science*, **16**, 201-205.

Bishara, S.E., Sulieman, A.H. ve Olson, M. (1993). Effect of enamel bleaching on the bonding strenght of orthodontic brackets. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, **104**, 444-447.

Bjerre, L.M. ve LeLorier, J. (2000). Expressing the magnitude of adverse effects in case control studies: "the number of patients needed to be treated for one additional patient to be harmed". *British Medical Journal*, **320**, 503-506.

Blicharz, T.M., Rissin, D.M., Bowden, M., Hayman, R.B., DiCesare, C. ve Bhatia, J.S. (2008). Use of colorimetric test strips for monitoring the effect of hemodialysis on salivary nitrite and uric acid in patients with end-stage renal disease: a proof of principle. *Clinical Chemistry*, **54**, 1473– 1480.

Blogosklonny, M.V.E. ve Deiry, W.S. (1996). In vitro evolution of a p53 expressing adenovirus as an anti-cancer drug. *International Journal of Cancer*, **67**, 386-392.

Bond, J.W. ve Hammond, C. (2008). The value of DNA material recovered from crime scenes. *Journal of Forensic Sciences*, **53**, 797-801.

Braden, M. (1976). Biophysics of the tooth. *Frontiers of Oral Physiology*, **2**, 1-37.

Brinkmann, O. ve Wong, D.T. (2011). Salivary transcriptome biomarkers in oral squamous cell cancer detection. *Advances In Clinical Chemistry*, **55**, 21-34.

Buchalla, W. ve Attin, T. (2006). External bleaching therapy with activation by heat, light, or laser: A systematic review. *Dental Materials*, **23**, 586-596.

Burdon, R.H., Gill, V. ve Alliangana, D. (1996). Hydrogen peroxide in relation to proliferation and apoptosis in BHK-21 hamster fibroblasts. *Free Radical Research*, **24**, 81-93.

Burningham, A.R., Davidson, B.J., Malekzadeh, S., Dasgupta, R., Yoder, B.E. ve Newkirk, K.A. (2004). Tooth whiteners as a risk factor for oral cavity squamous cell carcinoma: A report of cases. 6. International conference on Head and Neck Cancer, Augustos 2004, Washington.

Butuner, B. ve Kantarcı, G. (2006). Mutasyon, DNA hasarı, onarım mekanizmaları ve kanserle ilişkisi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **35**, 149-170.

Chaita, T.M., Graham, S.M., Maxwell, S.M., Sirivasin, W., Sabchareon, A. ve Beeching, N.J. (1995). Salivary sampling for hepatitis B surface antigen carriage: a sensitive technique suitable for epidemiological studies. *Annals of Tropical Paediatrics*, **15**, 135-139.

Chapple, L.C. ve Matthews, J.B. (2007). The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontology 2000*, **43**, 160-232.

Chatterton, R.T., Vogelsong, K.M., Lu, Y.C., Ellman, A.B. ve Hudgens, G.A. (1996). Salivary alpha-amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. *Clinical Physiology*, **16**, 433-448.

Cherry, D.V., Bowers, D.E., Thomas, L. ve Redmond, A.F. (1993). Acute toxicological effects of ingested tooth whiteners in female rats. *Journal of Dental Research*, **72**, 1298-1303.

Chng, H.K., Palamara, J.E.A. ve Messer, H.H. (2002). Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on biomechanical properties of human dentine. *Journal of Endodontics*, **28**, 62-67.

Choe, Y., Yu, J., Son, Y., Park, S., Kim, J., Shi, X. ve Lee, J. (2011). Continuously generated H₂O₂ stimulates the proliferation and osteoblastic differentiation of human periodontal ligament fibroblasts. *Journal of Cellular Biochemistry*, 15 Aralık 2011.

Christensen, D.V., Faught, W.E., Black, R.E., Woodward, G.A. ve Timmons, O.D. (1992). Fatal oxygen embolization after hydrogen peroxide ingestion. *Critical Care Medicine*, **20**, 543-544.

Cina, S.J., Downs, J.C.U. ve Conradi, S.E. (1994). Hydrogen peroxide: a source of lethal oxygen embolism. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, **15**, 44-50.

Civelek, A., Özel, E. ve Çıldır, Ş.K. (2004). Diş hekimliğinde topikal florür uygulamaları. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **5**, 103-109.

Clarke, P.G. (1984). Identical populations of phagocytes and dying neurons revealed by intravascularly injected horseradish peroxidase, and by endogenous glutaraldehyde resistant acid phosphatase, in the brains of chick embryos. *Histochemical Journal*, **16**, 955-969.

Clarke, P.G. (1990). Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms. *Anatomy and Embryology*, **181**, 195-213.

Cohen, S.C. ve Chase, C. (1979). Human pulpal response to bleaching procedures on vital teeth. *Journal of Endodontics*, **5**, 134-138.

Collins, L.Z., Maggio, B., Liebman, J., Blanck, M., Lefort, S., Waterfield, P. ve ark. (2004). Clinical evaluation of anovel whitening gel, containing 6% hydrogen peroxide and a Standard fluorid toothpaste. *Journal of Dentistry*, **32**, 13-20.

Collys, K., Cleymaet, R., Coomans, D., Michotte, Y. ve Slop, D. (1993). Rehardening of surface softened and surface etched enamel *in vitro* and by intraoral exposure. *Caries Research*, **27**, 15-20.

Costa Filho, L.C.C., Costa, C.C. ve Sória, M.L. ve Taga, R. (2002). Effect of home bleaching and smoking on marginal gingival epithelium proliferation: a histological study in women. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, **31**, 473-480.

Cotran, R.S., Robbins, S.L. ve Kumar, V. (2002). Robbins Basic Pathology. 7th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 4-31.

Cowman, R.A., Schaefer, S.J. ve Fitzgerald, R.J. (1979). Specificity of utilization of human salivary proteins for growth by oral streptococci. *Caries Research*, **13**, 181-189.

Crim, G.A. (1992). Post-operative bleaching: Effect on mikroleakage. *American Journal of Dentistry*, **5**, 109-112.

Çanakçı, C.F., Çiçek, Y. ve Çanakçı, V. (2005). Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. *Biochemistry Moscow*, **70**, 619-628.

Çanakçı, C.F., Çiçek, Y., Yıldırım, A., Sezer, U. ve Çanakçı, V. (2009). Increased levels of 8 hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. *European Journal of Dentistry*, **3**, 100-106.

Dahl, J.E. ve Becher, R. (1995). Acute toxicity of carbamide peroxide and a commercially available tooth-bleaching agent in rats. *Journal of Dental Research*, **74**, 710-714.

Dahl, J.E. ve Pallensen, U. (2003). Tooth bleaching-A critical review of the biological aspects. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, **14**, 292-304.

Dayan, D., Heifferman, A., Gorski, M. ve Beigletier, A. (1983). Tooth discoloration-extrinsic and intrinsic factors. *Quintessence International, Dental Digest*, **14**, 195-199.

Deliperi, S., Bardwell, D. ve Papathanasiou, A. (2004). Clinical evaluation of a combined in-office and take-home bleaching system. *The Journal of the American Dental Association*, **135**, 628-634.

Derviş, E. (2011). Oral Antioksidanlar. *Dermatoz*, **2**, 263-267.

Desesso, J.M., Lavin, A.L., Hsia, S.M. ve Mavis, R.D. (2000). Assessment of the carcinogenicity associated with oral exposures to hydrogen peroxide. *Food and Chemical Toxicology*, **38**, 1021-1041.

Diaz-Arnold, A.M. ve Marek, C.A. (2002). The impact of saliva on patient care: A literature review, *Journal of Prosthetic Dentistry*, **88**, 337-343.

Dickson, K.F. ve Caravati, E.M. (1994). Hydrogen peroxide exposure---325 exposures reported to a regional poison control center. *Clinical Toxicology*, **32**, 705-714.

Drobitch, R.K. ve Svensson,C.K. (1992). Therapeutic drug monitoring in saliva. *Clinical Pharmacokinetics*, **23**, 365-379.

Dural, S., Hatipoğlu, M. ve Çağırankaya, B. (2006). Evaluation of the effect of menopause on saliva and dental health. *Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, **30**, 15-18.

Dural, S. ve Büyükköprü, D. (2008). Baş boyun radyoterapisinin tükürük eser elementlerine etkisi. *Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **32**, 82-90.

Dzierzak, J. (1991). Factors which cause tooth color changes protocol for in-office power bleaching. *Practical Periodontics Aesthetic Dentistry*, **3**, 15-20.

ECETOX (1996). European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals. Hydrogen peroxide OEL criteria document CAS No. 7722-84-1. Özel rapor.No.10.

Edgar, W.M. (1992). Saliva: its secretion, composition and functions. *British Dental Journal*, **72**, 305-312.

Eldeniz, A.U., Usumez, A., Usumez, S. ve Ozturk, N. (2005). Pulpal temperature rise during light-activated bleaching. *Journal of Biomedical Material Research Part B Applied Biomaterials*, **72**, 254-263.

Ellingsen, J.E., Rolla, G. ve Eriksen, H.M. (1982). Extrinsic dental stain caused by chlorhexidine and other denaturing agents. *Journal of Clinical Periodontology*, **9**, 317-322.

Erickson, G.F. (1997). Defining apoptosis: players and systems. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, **4**, 219-28.

Ersöz, E. ve Özyurt, P. (1998). Karbamid peroksit içeren farklı agarma ajanlarının mine yüzeyinde olan etkisi: SEM çalışması. *Türkiye Klinikleri Dis Hekimliği Bilimleri Dergisi*, **4**, 180-186.

Evan, G. ve Littlewood, T. (1998). A matter of life and cell death. *Science*, **281**, 1317-1321.

Fahn, H.J., Wang, L.S., Kao, S.H., Chang, S.C., Huang, M.H. ve Wei, Y.H. (1998). Smoking associated mitochondrial DNA mutations and lipid peroxidation in human lung tissue. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **19**, 901-909.

Fat, J.C., Corcoran, J.F. ve Hanks, C.T. (1991). Cytotoxicity and dentin permeability of "Night Guard" vital bleaching material in vitro. *Journal of Endodontics*, **17**, 193.

Feinman, R.A., Madray, G. ve Yardborough, D. (1991). Chemical, optical and physiologic mechanism of bleaching products: a review. *Practical Periodontics and Aesthetic Dentistry*, **3**, 32-38.

Fekete, Z., Korec, R., Feketeova, E., Murty, V.L., Piotrowski, J., Slomiany, A. Ve ark. (1993). Salivary and plasma insulin levels in man. *Biochemistry and Molecular Biology International*, **30**, 623-9.

Ferrari, M., Kugel, G., Cagidiaco, M.C., Barker, M.L. ve Gerlach, R.W. (2004). Clinical trial evaluating the peroxide concentration response of whitening strips over 28 days. *American Journal of Dentistry*, **17**, 291-295.

Fisher, D.E. (1994). Apoptosis in cancer therapy: crossing the threshold. *Cell*, **78**, 539-542.

Flaitz, C.M. ve Hicks, M.J. (1996). Effects of hydrogen peroxide whitening agents on enamel surfaces and caries-like lesion formation: an scanning electron microscope and polarized light microscopic in vitro study. *American Society Journal of Dentistry for Children*, **63**, 249-256.

Fondriest, J. (2003). Shade: Matching in Restorative Dentistry. The Science and Strategies. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, **23**, 467-479.

Franz-Montan M, Ramacciato JC, Rodrigues JA, Marchi GM, Rosalen PL, Groppo FC (2009). The effect of combined bleaching techniques on aral microbiota. *Indian Journal of Dental Research*, **20**, 304-307.

Frysh, H., Bowles, W.H., Baker, F., Rivera-Hidalgo, F. Ve Guillen, G. (1995). Effect of pH on hydrogen peroxide bleaching agents. *Journal of Esthetic Dentistry*, **7**, 130-133.

Gao, X.J., Fan, Y., Kent, R.L., Van Haute, J. ve Morgalis, H.C. (2001). Association of caries activity with the composition of dental plaque fluid. *Journal of Dental Research*, **80**, 1834-1839.

Garcia-Godoy, F., Dodge, W.W., Donohue, M. ve O'Quinn, J.A. (1993). Composite resin bond strength after enamel bleaching. *Operative Dentistry*, **18**, 144-147.

Gautier, G., Nouger, M., Costa, N., Canela, J. ve Vinas, M. (2000). Mouthrinses: a comparative microbiological study. *Bulletin du Groupement International Pour la Recherche Scientifique en Stomatologie & Odontologie*, **42**, 23-29.

Gerlach, R.W. ve Zhou, X. (2001). Vital bleaching with whitening strips: summary of clinical research on effectiveness and tolerability. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, **2**, 1-16.

Gerlach, R.W. (2002a). Whitening paradigms 1 year later: introduction of a novel Professional tooth –bleaching system. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, **23**, 4-8.

Gerlach, R.W., Sagel, P.A., Jeffers, M.E. ve Zhou, X. (2002b). Effect of peroxide concentration and brushing on whitening clinical response. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, **23**, 16-21.

Ghosh, A. ve Bansal, M. (2003). A glossary of DNA structures from A to Z. *Acta Crystallographica, Section D, Biological Crystallography*, **59**, 620–626.

Giachetti, L., Bertini, F., Bambi, C., Nieri, M. ve Scaminaci, R. (2010). A randomized clinical trial comparing at-home and in-office tooth whitening techniques. *Journal of American Dental Association*, **141**, 1357-1364.

Gold, O.G., Jordan, H.V. ve Houte, J.V. (1973). A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Archives of oral Biology*, **18**, 1357-1364

Goldstein, R.E. ve Garber, D.A. (1995) Complete Dental Bleaching. *Chicago, Quintessence International Publishing*.

Gomez, R.S., de Casto Albuquerque, R. ve Dutra, R.A. (2002). Effects of a bleaching agent containing 35% carbamide peroxide on the immunolocalization of cyclin D and p16. *Journal of Oral Rehabilitation*, **29**, 906-909.

Gozuacik, D. ve Kimchi, A. (2007). Autophagy and cell death. *Current Topics in developmental Biology*, **78**, 217-245.

Gökay, O., Yilmaz, F., Akin, S., Tuncbilek, M. ve Ertan, R. (2000). Penetration of the pulp chamber by bleaching agents in teeth restored with various restorative materials. *Journal of Endodontics*, **26**, 92-94.

Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T. ve Durmaz, Y. (2006). Algal Antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **23**, 85-89.

Griffiths, C.E., Bailey, J.R., Jarad, F.D. ve Youngson, C.C. (2008). An investigation into most effective method of treating stained teeth: An *in vitro* study. *Journal of Dentistry*, **36**, 54-62.

Greenwall, L. (2001). Bleaching Techniques in Restorative Dentistry. *London : Martin Dunitz*.

Gurgan, S., Bolay, S. ve Alanam, R. (1996). Antibacterial activity of 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Journal of Endodontics*, **22**, 356-357.

Gursoy, U., Eren, D., Bektaş, O., Hurmuzlu, F., Bostancı, V. ve Özdemir, H. (2008). Effect of external tooth bleaching on dental plaque accumulation and tooth discoloration. *Medicina Oral, Patología Oral Cirugía Bucal*, **13**, 266-269.

Guzik, K. ve Potempa, J. (2007). Friendly fire against neutrophils: proteolytic enzymes confuse the recognition of apoptotic cells by macrophages. *Biochimie*, **90**, 405-415.

Hafez, R., Ahmed, D., Yousry, M., El-Badrawy, W. ve El-Mowafy, O. (2010). Effect of in-office bleaching on color and surface roughness of composite restoratives. *European Journal of Dental Education*, **4**, 118-127.

Hall Douglas, H. (1993). Protective and Maintenance Functions of Human Saliva. *Quintessence International*, **24**, 813-816.

Hannig, C., Zech, R., Henze, E., Dorr-Tolui, R. ve Attin, T. (2003). Determination of peroxides in saliva—kinetics of peroxide release into saliva during home-bleaching with Whitestrips and Vivastyle. *Archives of Oral Biology*, **48**, 559-566.

Hara, M.R. ve Snyder, S.H. (2007). Cell signaling and neuronal death. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, **47**, 117-141.

Hashimi, I.A. (2001). The management of Sjögren's syndrome in dental practice. *Journal of the American Dental Association*, **132**, 1409-1417.

Hayes, P.A., Full, C. ve Pinkham, J. (1986). The etiology and treatment of intrinsic discolorations. *Journal of the Canadian Dental Association*, **52**, 217-220.

Haywood, V.B. ve Heyman, H.O. (1989). Nightguard vital bleaching. *Quintessence International*, **20**, 173-176.

Haywood, V.B. ve Heyman, H.O. (1991). Nightguard vital bleaching: how safe is it? *Quintessence International*, **22**, 515-523.

Haywood, V.B., Leonard, R.H., Nelson, C.F. ve Brunson, W.D. (1994). Effectiveness, side effects and long term status of nightguard vital bleaching. *The Journal of the American Dental Association*, **125**, 1219-1226.

Haywood, V.B. (2000a). A comparison of at-home and in-office bleaching. *Dentistry Today*, **19**, 44-53.

Haywood, V.B. (2000b). Current status of nightguard vital bleaching. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, **21**, 10-17.

Howard, W.R. (1992). Patient-applied tooth whiteners. *The Journal of the American Dental Association* **132**, 57-60

Hein, D.K., Ploeger, B.J., Hartup, J.K., Wagstaff, R.S., Palmer, T.M., ve Hansen, L.D. (2003). In-office vital tooth bleaching—what do they add? *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, **24**, 340-352.

Hicks, M.J., Carter, A.B., Rossmann, S.N., Demmler, G.J., Simon, C.L., Cron, S.G., Flaitz, C.M., Shearer, W.T. ve Kline, M.W. (1998). Detection of fungal organisms in saliva from HIV-infected children: a preliminary cytologic analysis. *American Academy of Pediatric Dentistry*, **20**, 162-168.

Hosaya, N., Honda, K., Lina, F. ve Arai, T. (2003). Changes in enamel surface roughness and adhesion of *Streptococcus mutans* to enamel after vital bleaching. *Journal of Dentistry*, **31**, 543-548.

Hu, S. Wang, J., Meijer, J., Jeong, S., Xie, Y., Yu, T. ve ark. (2007). Salivary proteomic and genomic biomarkers for primary Sjögren's syndrome. *Arthritis and Rheumatism*, **56**, 3588-3600.

Humphrey, S.P. ve Williamson, R.T. (2001). A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *Journal of Prosthetic Dentistry*, **85**, 162-169.

IARC (1999). International Agency on Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. **71**, Lyon: IARC.

Ijichi, T., Itoh, T., Sakai, R., Nakaji, K., Miyauchi, T. ve Takahashi, R. (1997). Multiple brain gas embolism after ingestion of concentrated hydrogen peroxide (see comments). *Neurology*, **48**, 277-279.

International Agency on Research on Cancer (1999). Hydrogen peroxide. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. IARC, Lyon, **71**, 671-689.

Ito, R., Kawamura, H., Chang, H.S., Toda, S., Matsuura, S., Hidano, T. ve ark. (1976). Safety study on hydrogen peroxide: acute and subacute toxicity. *Journal of the Medical Society of Toho University*, **23**, 531-537.

Ito, A., Naito, M., Nayto, Y. ve Watanabee, H. (1982). Induction and characterization of gastroduodenal lesions in mice given continuous oral administration of hydrogen peroxide. *Gann*, **73**, 315-322.

Ito, Y. ve Momoi, Y. (2011). Bleaching using 30% hydrogen peroxide and sodium hydrogen carbonate. *Dental Materials*, **30**, 193-198.

Joiner, A. ve Thakker, G. (2004). *In vitro* evaluation of a novel 6% hydrogen peroxide tooth whitening product. *Journal of Dentistry*, **32**, 19-25.

Joiner, A. (2006). The Bleaching of Teeth: A Review of the Literature. *Journal of Dentistry*, **34**, 412- 419.

Jorgensen, M.G. ve Carroll, W.B. (2002). Incidence of tooth sensitivity after home whitening treatment. *Journal of the American Dental Association*, **133**, 1076-1082.

Jornot, L., Petersen, H. ve Junot, A.F. (1998). Hydrogen peroxide-induced DNA damage is independent of nuclear calcium but dependent on redox-active ions. *Biochemical Journal*, **335**, 85-94.

Kashima-Tanaka, M., Tsujimoto, Y., Kawamoto, K., Senda, N., Ito, K. ve Yamazaki, M. (2003). Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite. *Journal of Endodontics*, **29**, 141-144.

Katakura, A., Kamiyama, I., Takano, N., Shibahara, T., Muramatsu, T., Ishihara, K. ve ark. (2007). Comparison of salivary cytokine levels in oral cancer patients and healthy subjects. *The Bulletin Of Tokyo Dental College*, **48**, 199-203.

Kaufman, E. ve Lamster, I.B. (2002). The diagnostic applications of saliva--a review. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. **13**, 197-212

Kaya, S. (1997). Tükürük bezi hastalıkları. *Güneş Tıp Kitabevi*, Ankara.

Kazanç, M.B. (1997). Antioksidan Vitaminler. *Sendrom*, Temmuz, 14-22.

Keçeci, D. (2006). Devital dişlerin intrakoronal ağartılmasında kullanılan iki farklı materyalin klinik etkinliğinin karşılaştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **13**, 4-8.

Keçeci, D. ve Özdemir, F. (2008). Dental florozisin beyazlatılmasında kullanılan bir office bleaching materyalinin pulpa ve periapikal dokular üzerindeki yan etkilerinin incelenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **15**, 6-11.

Kelleher, M.G.D. ve Roe, F.J.C. (1999). The safety-in-use of 10% carbamide peroxide (Opalescence) for bleaching teeth under the supervision of a dentist. *British Dental Journal*, **187**, 190-194.

Kerr, J.F., Wyllie, A.H. ve Currie, A.R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*, **26**, 239-257.

Kihn, P.W., Barnes, D.M., Romberg, E. ve Peterson, K. (2000). A clinical evaluation of 10 percent vs 15 percent carbamide peroxide tooth-whitening agents during daytime use. *Journal of the American Dental Association*, **131**, 1478-1484.

Klein-Szanto, A.J.P. ve Slaga, T. (1982). Effects of peroxide on rodent skin: epidermal hyperplasia and tumor promotion. *Journal of Investigative Dermatology*, **79**, 30-34.

Konig, J., Zarnack, K., Luscombe, N.M. ve Ule, J. (2012). Protein-RNA interactions: new genomic technologies and perspectives. *Nature reviews. Genetics*, **13**, 77-83.

Koruk, D.C. ve Kırzioğlu, Z. (2010). Çocuklar ve gençlerde diş beyazlatma işlemlerine yaklaşım. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **3**, 44-53.

Kruszewski, M., Green, M.H.L., Lowe, J.E. ve Szumiel, I. (1994). DNA strand breakage, cytotoxicity and mutagenicity of hydrogen peroxide treatment at 4°C and 37°C in L5178 Y sublines. *Mutation Research*, **308**, 233–241.

Kues, W.A., Anger, M., Carnwath, J.W., Paul, D., Motlik, J. ve Niemann, H. (2000). Cell cycle synchronization of porcine fetal fibroblasts: effects of serum deprivation and reversible cell cycle inhibitors. *Biology of Reproduction*, **62**, 412–419.

Kugel, G., Aboushala, A. ve Gerlach, R. (2002). Daily use of whitening strips on tetracycline stained teeth: comparative results after 2 month. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, **23**, 29-34.

Lee, B., Huang, S., Chiang, Y., Chien, Y., Mau, C. ve Lin, C. (2008). Development of *in vitro* tooth staining model and usage of catalyst to elevate the effectiveness of tooth bleaching. *Dental Materials*, **24**, 57-66.

Leonard, R.H., Austin, S.M., Haywood, V.B. ve Bentley, C.D. (1994a). Change in pH of plaque and 10% carbamide peroxide solution during nightguard vital bleaching treatment. *Quintessence International*, **25**, 819-823.

Leonard, R.H., Bentley, C.D. ve Haywood, V.B. (1994b). Salivary pH changes during 10% carbamide peroxide bleaching. *Quintessence International*, **25**, 547-550.

Leonard, R.H., Haywood, V.B. ve Phillips, C. (1997). Risk factors for developing tooth sensitivity and gingival irritation associated with nightguard vital bleaching. *Quintessence International*, **28**, 527-534.

Leonard, R.H., Bentley, C., Eagle, J.C., Garland, G.E., Knight, M.C. ve Phillips, C. (2001). Nightguard vital bleaching: a long-term study on efficacy, shade retention, side effects, and patients' perceptions. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, **13**, 357-369.

Leonard, R.H., Haywood, V.B., Caplan, D.J. ve Tart, N.D. (2003). Nightguard Vital Bleaching of Tetracycline-Stained Teeth: 90 Months Post Treatment. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, **15**, 142-153.

Lewinstein, I., Hirschfeld, Z., Stabholz, A. ve Rotstein, I. (1994). Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on the microhardness of human enamel and dentin. *Journal of Endodontics*, **20**, 61-63.

Li, C., Ha, T., Ferguson, D.A., Chi, D.S., Zhao, R. ve Patel, N.R. (1996). A newly developed PCR assay of *H. pylori* in gastric biopsy, saliva, and feces. Evidence of high prevalence of *Helicobacter Pylori* in saliva supports oral transmission. *Digestive Diseases and Sciences*, **41**, 2142-2149.

Li, Y. (1998). Tooth bleaching using peroxide-containing agents: Current status of safety Issues. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, **19**, 783-790.

Li, Y. (2000). Peroxide-containing tooth whiteners: An update on safety. *Compendium of Continuing Education in Dentistry Supplement*, **28**, 4-9.

Li, Y., Lee, S.S., Cartwright, S., Wilson, A.C., DeVizio, W., Petrone, M. ve ark. (2004). Comparative tooth whitening efficacy of 18% carbamide peroxide liquid whitening gel using three different regimens. *Journal of Clinical Dentistry*, **15**, 11-16.

Litovitz, T.L., Felberg, L., Soloway, R.A., Ford, M. ve Geller, R. (1995). 1994 annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *American Journal of Emergency Medicine*, **13**, 551-597.

Lu, A., Margiotta, A. ve Nathoo, S.A. (2001). In-office tooth whitening current procedures. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, **22**, 798-805.

Luk, K., Tam, L. ve Hubert, M. (2004). Effect of light energy on peroxide tooth bleaching. *Journal of the American Dental Association*, **135**, 194-201.

Lumachi, F. ve -Basso, S. (2002). Apoptosis: life through planned cellular death regulating mechanisms, control systems, and relations with thyroid diseases. *Thyroid*, **12**, 27-34

Mahony, C., Barker, M.L., Engel, T.M. ve Walden, G.I. (2003). Peroxide degradation kinetics of a direct application percarbonate bleaching film. *American Journal of Dentistry*, **16**, 9-11.

Mandel, I.D. (1980). Sialochemistry in disease and clinical situations affecting salivary glands. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, **4**, 321-366.

Mandel, I.D. (1987). The function of saliva. *Journal of Dental Research*, **66**, 623-627.

Martin, K.R. ve Barret, J.C. (2002). Reaktif oksijen species as double-edged swords in cellular processes: low-dose cell signaling versus high-dose toxicity. *Human and Experimental Toxicology*, **21**, 71-75.

Martinez, P.M., Torres, A.R., Ortis de Lejarazu, R., Montoya, A., Martin, J.F. ve Eiros, J.M. (1999). Human immunodeficiency virus antibody testing by enzyme-linked fluorescent and western blot assays using serum, gingival-crevicular transudate and urine samples. *Journal of Clinical Microbiology*, **37**, 1100-1106.

Matis, B.A., Gaião, U. ve Blackman, D. (1999). In-vivo degradation of bleaching gel used in whitening teeth. *Journal of the American Dental Association*, **130**, 227-235.

Matis, B.A., Mousa, H.N., Cochran, M.A. ve Eckert, G.J. (2000). Clinical evaluation of bleaching agents of different concentrations. *Quintessence International*, **31**, 303-310.

Matis, B.A., Wang, Y., Jiang, T. ve Eckert, G.J. (2002). Extended at-home bleaching agents of tetracycline-stained teeth with different concentrations of carbamide peroxide. *Quintessence International*, **33**, 645-665.

Matis, B.A., Cochran, M. ve Wang, G. (2005). A clinical evaluation of bleaching using whitening wraps and strips. *Operative Dentistry*, **30**, 588-592.

McCaslin, A.J., Haywood, V.B., Potter, B.J., Dickinson, G.L. ve Russell, C.M. (1999). Assessing dentin color changes from nightguard vital bleaching. *Journal of the American Dental Association*, **130**, 1485-1490.

McCracken, M.S. ve Haywood, V.B. (1996). Demineralisation effects of 10 percent carbamide peroxide. *Journal of Dentistry*, **24**, 395-398.

McGuckin, R.S., Thurmond, B.A. ve Osovitz, S. (1992). Enamel shear bond strengths after vital bleaching. *American Journal of Dentistry*, **5**, 216-222.

McVic, R., Levine, L.S. ve New, M.I. (1979). The biologic significance of the aldosterone concentration in saliva. *Pediatric Research*, **13**, 755-759.

Meşe, A. ve Meşe, S. (2005). Protetik restorasyonların oral floraya etkileri. *Dicle Tıp Dergisi*, **32**, 96-101.

Meucci, E., Littaru, C., Deli, G., Luciani, G., Tazza, L. ve Littarru, G.P. (1998). Antioxidant status and dialysis: plasma and saliva antioxidant activity in patients with fluctuating urate levels. *Free Radical Research*, **29**, 367-376.

Michel, G., Martin, G. ve Edward, L. (2010). Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review. *Clinical Oral Investigations*, **14**, 1-10.

Miller, S.C. (1938). Textbook of periodontia. Blakiston Company, Philadelphia.

Mittal T, Saralaya KM, Kuruvilla A, Achary C (2008). Sex determination from buccal mucosa scrapes. *International Journal of Legal Medicine*, **123**, 437-440.

- Miyoshito, T., Krojewski, S. ve Krowjewski, M. (1994). Tumor suppressor P53 is regulator of Bcl-2 and Bax gene expression in vitro and in vivo. *Oncogene*, **9**, 1799-1805.
- Munther, A.M. ve Suleiman. (2008). An overview of tooth-bleaching techniques: chemistry, safety and efficacy. *Periodontology 2000*, **48**, 148-69.
- Murphy, A., Samarawickrama, D.Y.D. ve Lynch, E. (1992). Microradiographic assessment of roots of teeth after home bleaching. *Journal of Dental Research*, **701**, 540.
- Nachnani, S. (1997). Efficacy of Nite White Whitening Gel : a clinical trial. *University of California at Los Angeles School of Dentistry*, Mart, 1997.
- Nagler, R. (2009). Saliva as a tool for oral cancer diagnosis and prognosis. *Oral Oncology*, **45**, 1006-1010.
- Naik, S., Tredwin, C.J. ve Scully, C. (2005). Hydrogen peroxide toothwhitening (bleaching): review of safety in relation to possible carcinogenesis. *Oral Oncology*, **42**, 668-674.
- Nakamura, T., Saito, O., Ko, T. ve Maryyama, T. (2001). The effects of polishing and bleaching on the colour of discoloured teeth *in vivo*. *Journal of Oral Rehabilitation*, **28**, 1080-1084.
- Nash, R.W. (1999). In-office bleaching system for quick esthetic change. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, **20**, 986-990.
- Nathanson, D. ve Parra, C. (1987). Bleaching vital teeth—a review and clinical study. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, **8**, 490-498.
- Nathoo, S.A. (1997). The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration. *The Journal of the American Dental Association*, **128**, 6-10.

- Niederman, R., Tantraphol, M.C., Conway, S., Ferguson, M., Redmon, P. ve Hayes, C. (2000). Effectiveness of Dentist-Prescribed, home applied tooth whitening: a meta analysis. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, **15**, 20-36.
- Nyborg, H. ve Brannstrom M (1968). Pulp reaction to heat. *Journal of Prosthetic Dentistry*, **19**, 605–612.
- O'Connor, T.M. ve Wyttenbach, C.R. (1974). Cell death in the embryonic chick spinal cord. *The Journal of Cell Biology*, **60**, 448-459.
- Oliveria, D.P., Gomes, B.P.F.A., Zaia, A.A., Souza-Filho, F.J. ve Ferraz, C.C.R. (2008). Ex vivo antimicrobial activity of several bleaching agents used during the walking bleach technique. *International Endodontic Journal*, **41**, 1054-1058.
- Ollila, P., Niemela, M., Uhari, M. ve Larmas, M. (1997). Risk factors for colonization of salivary lactobacilli and *Candida* in children. *Acta Odontologica Scandinavica*, **55**, 9-13.
- Ourique, S.A.M., Arrais, C.A.G., Cassoni, A., Ota-Tsuzuki, C. ve Rodrigues, J.A. (2011). Effects of different concentrations of carbamide peroxide and bleaching periods on the roughness of dental ceramics. *Journal of Brazilian Oral Research*, **25**, 453-8.
- Özel, Y., Özel, E., Attar, N. ve Aksoy, G. (2007). Dişhekimliğinde beyazlatma. *Ege Üniversitesi Dişhekimliği Dergisi*, **28**, 33-40.
- Özcan, E. ve Özdemir, A. (2011). Periodontal doku yıkımında reaktif oksijen türlerinin rolü. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **21**, 255-261.
- Pabo, C. ve Sauer, R. (1984). Protein-DNA recognition. *Annual Review of Biochemistry*, **53**, 293–321.

Park, N.J., Li, Y., Yu, T., Brinkman, T. ve Wong, D.T. (2006). Characterization of RNA in saliva. *Clinical Chemistry*, **52**, 988-994.

Parry, J.V., Perry, K.R., Panday, S. ve Mortimer, P.P. (1989). Diagnosis of hepatitis A and B by testing saliva. *Journal of Medical Virology*, **28**, 255-60.

Pedersen, A.M., Bardow, A., Jensen, B.S. ve Nauntofte, B. (2002). Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Diseases*, **8**, 117-129.

Perdigao, J., Francci, C., Swift, Jr E.J., Ambrosse, W.W. ve Lopes, M. (1998). Ultra-morphological study of the interaction of dental adhesives with carbamide peroxide-bleached enamel. *American Journal of Dentistry*, **11**, 291-301.

Peter, M.E., Heufelder, A.E. ve Hengartner, M.O. (1997). Advanced in apoptosis research. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **94**, 12736-12737.

Phillips, R.W. (1991). Skinner's Science of Dental Materials. 9 Ed, *WB Saunders Company Philadelphia*, 47-527.

Pilar, G. ve Landmesser, L. (1976). Ultrastructural differences during embryonic cell death in normal and peripherally deprived ciliary ganglia. *The Journal of Cell Biology*, **68**, 339-356.

Pizzamiglio, E.A. (1991). A color selection technique. *Journal of Prosthetic Dentistry*, **66**, 592-596.

Pollock, J.J., Lotardo, S., Gavai, R. ve Groosbard, B.L. (1987). Lysozyme-protease-inorganic monovalent anion lysis of oral bacterial strains in buffers and stimulated whole saliva. *Journal of Dental Research*, **66**, 467-474.

Precise color communication (1994). *Minolta Company Ltd. Japan*.

Qvarnstrom, M., Janket, S., Jones, J.A., Nuutinen, P., Baird, A.E., Nunn, M.E. ve ark. (2008). Salivary lysozyme and prevalent hypertension. *Journal of Dental Research*, **87**, 480-484.

Rackoff, W.R. ve Merton, D.F. (1990). Gas embolism after ingestion of hydrogen peroxide. *Pediatrics*, **85**, 593–594.

Radosevich, C.A. ve Weitzman, S.A. (1989). Hydrogen peroxide induces squamous metaplasia in a hamster tracheal organ explant culture model. *Carcinogenesis* **10**, 1943–1946.

Reijden, W.A., Vissink, A., Veerman, E.C.I. ve Amerongen, A.V.N. (1999). Treatment of oral dryness related complaints (xerostomia) in Sjögren's syndromes. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **58**, 465-473.

Robinson, F., Haywood, V.B. ve Myers, M. (1997). Effect of 10% carbamide peroxide on color of provisional restoration materials. *The Journal of the American Dental Association*, **128**, 727-31.

Rogosa, M., Mitchell, J.A. ve Wiseman, R.F. (1951). A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal lactobacilli. *Journal of Bacteriology*, **62**, 132-133.

Ross, J.F. ve Orłowski, M. (1982). Growth-rate-dependent adjustment of ribosome function in chemostat-grown cells of the fungus *Mucor racemosus*. *Journal of Bacteriology*, **149**, 650–653.

Rosenstiel, S.F., Land, M. ve Fujimoto, J. (2001). Contemporary Fixed Prosthodontics. C.V. Mosby.

Rotstein, C.D. ve Freidman, S. (1991). pH Variation among materials used for intracoronal bleaching. *Journal of Endodontics*, **17**, 376-9.

Rotstein, I., Dankner, E., Goldman, A., Heling, I., Stabholz, A. ve Zalkind, M. (1999). Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *Journal Endodontology*, **22**, 23-28.

Royack, G.A., Nguyen, M.P., Tong, D.C., Poot, M. ve Oda, D. (2000). Response of human oral epithelial cells to oxidative damage and the effect of vitamin E. *Oral Oncology*, **36**, 37-41.

Ruse, N.D., Smith, D.C., Torneck, C.D. ve Titley, K.C. (1990). Preliminary surface analysis of etched, bleached and normal bovine enamel. *Journal of Dental Research*, **69**, 1610-1613.

Saikumar, P., Dong, Z., Mikhailov, V., Denton, M., Weinberg, J.M. ve Venkatachalam, M.A. (1999). Apoptosis definition, mechanism and relevance to disease. *American Journal of Medicine*, **107**, 489-506.

Scientific Committee on Consumer Products, SCCP (2005). Opinion on hydrogen peroxide in tooth whitening products. European commission.

Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products intended for consumers, SCCNFP (1999). Hydrogen peroxide and hydrogen peroxide releasing substances in oral health products.

Scherer, W., Cooper, H., Ziegler, B. ve Vijayaraghaven, T.V. (1991). At-home bleaching system: effects on enamel and cementum. *Journal of Esthetic Dentistry*, **3**, 54-56.

Scherer, W., Boylan, R. ve Bhatt, S. (1992). Vital bleaching agents and oral antiseptic: Effect on anaerobic bacteria. *Journal of Esthetic Dentistry*, **4**, 84-85.

Schulte, J.R., Morrissette, D.B., Gasior, E.F. ve Czajewski, M.V. (1993). Clinical changes in the gingiva as a result of at-home bleaching. *Compendium Continuing Education of Dentistry*, **14**, 1362-1368.

Schulte, J.R., Morrissette, D.B., Gasior, E.J. ve Czajewski, M.V. (1994). The effects of bleaching application time on the dental pulp. *The Journal of the American Dental Association*, **125**, 1330-1335.

Schwartzman, R.A. ve Cidlowski, J.A. (1993). Apoptosis: the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrine Reviews*, **14**, 133-150.

Schweichel, J.U. ve Merker, H.J. (1973). The morphology of various types of cell death in prenatal tissues. *Teratology*, **7**, 253-266.

Searle, J., Kerr, J.F. ve Bishop, C.J. (1982). Necrosis and apoptosis distinct modes death with fundamentally different significance. *Pathology Annual*, **17**, 229-259.

Seghi, R.R. ve Denry, I. (1992). Effects of external bleaching on indentation and abrasion characteristics of human enamel *in vitro*. *Journal of Dental Research*, **71**, 1340-1344.

Shabalina, S.A., Ogurtsov, A.Y. ve Spiridonov, N.A. (2006). A periodic pattern of mRNA secondary structure created by the genetic code. *Nucleic Acids Research*, **34**, 2428-2437.

Shannon, H., Spencer, P., Gross, K. ve Tira, D. (1993). Characterization of enamel exposed to 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Quintessence International*, **24**, 39-44.

Sherman, S.J., Boyer, L.V. ve Sibley, W.A. (1994). Cerebral infarction immediately after ingestion of hydrogen peroxide solution. *Stroke*, **25**, 1065-1067.

Shethri, S.A., Matis, B.A., Cochran, M.A. Zekonis, R. ve Stropes, M.A. (2003). A clinical evaluation of two in Office bleaching products. *Operative Dentistry*, **28**, 488-495.

Shi, H., Hudson, L.G. ve Liu, K.J. (2004). Oxidative stress and apoptosis in metal ion induced carcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*, **37**, 582-593.

Shi, Y.A. (2001). Structural view of mitochondria mediated apoptosis. *Nature Structural Biology*, **8**, 394-401.

Siegel, I.A. (1993). The role of saliva in drug monitoring. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **694**, 86-90.

Slezak, B., Santarpia, P., Xu, T., Monsul-Barnes, V., Heu, R.T., Stranick, M., ve ark. (2002). Safety profile of a new liquid whitening gel. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, **23**, 4-11.

Smigel, I. (1996). Laser tooth whitening. *Dentistry Today*, 32-38.

Sreebny, L.M. ve Zhu, W.X. (1996). The use of whole saliva in differential diagnosis of *Sjögren's syndrome*, **10**, 17-24.

Stokes, A.N., Hood, J.A.A., Dhariwal, D. ve Patel, K. (1992). Effect of peroxide bleaches on resin- enamel bonds. *Quintessence International*, **23**, 769-771.

Suematsu, N. ve Hosoda Mi Fujimori, K. (2011). Protective effects of quercetin against hydrogen peroxide-induced apoptosis in human neuronal SH-SY5Y cells. *Neuroscience Letters*, **504**, 223-227.

Sulieman, M., Addy, M. ve Rees, J. (2003). Development and evaluation of a method *in vitro* to study the effectiveness of tooth bleaching. *Journal of Dentistry*, **31**, 415-422.

Sulieman, M., Addy, M., Macdonald, E. ve Rees, J. (2004). The effect of hydrogen peroxide concentration on the outcome of tooth whitening: an *in vitro* study. *Journal of Dentistry*, **32**, 295-329.

- Sulieman, M. (2005a). An overview of bleaching techniques. In-surgery or power bleaching. *Dental Update*, **32**, 101-109.
- Sulieman, M., Addy, M., Macdonald, E. ve Rees, J. (2005b). The bleaching depth of a 35% hydrogen peroxide based in-office product: a study *in vitro*. *Journal of Dentistry*, **33**, 33-40.
- Sun, G. (2000). The role of lasers in cosmetic dentistry. *Dental Clinics of North America*, **44**, 831-850.
- Tabak, L.A. (1990). Structure and function of human salivary mucins. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, **1**, 229-234.
- Takahashi, M., Hasegawa, R., Furukawa, F., Toyoda, K., Sato, H. ve Hayashi, Y. (1986). Effects of ethanol, potassium metabisulphite, formaldehyde, and hydrogen peroxide on gastric carcinogenesis in rats after initiation with N-methyl-N9-nitro-N nitrosoguanine. *Gann*, **77**, 118-124.
- Takane, M., Sugano, N., Iwasaki, H., Iwano, Y., Shimizu, N. ve Ito, K. (2002). New biomarker evidence of oxidative DNA damage in whole saliva from clinically healthy and periodontally diseased individuals. *Journal of Periodontology*, **73**, 551-554.
- Tam, L. (1999a). Clinical trial of three 10% carbamide peroxide bleaching products. *Journal of the Canadian Dental Association*, **65**, 201-205.
- Tam, L. (1999b). The safety of home bleaching techniques. *Journal of the Canadian Dental Association*, **65**, 453-455.
- Taneja, N., Tjalkens, R., Philbert, M.A. ve Rehemtulla, A. (2001). Irradiation of mitochondria initiates apoptosis in a cell free system. *Oncogene*, **20**, 167-177.
- Tang, B. ve Millar, B.J. (2010). Effect of chewing gum on tooth sensitivity following whitening. *British Dental Journal*, **208**, 571-577.

Tavares, M., Stultz, J., Newman, M. Smith, V., Kent, R., Carpino, E. ve ark. (2003). Light augments tooth whitening with peroxide. *Journal of the American Dental Association*, **134**, 167-175.

Tavassoli, M., Brunel, N., Maher, R., Johnson, N.W. ve Soussi, T. (1998). p53 antibodies in the saliva of patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. *International Journal of Cancer*, **78**, 390-391.

Teptoranintra, S., Benjakul, P., Dhanasomboon, S. ve Cheumarrom, C. (2001). Influences of various bleaching agents on fracture resistance of endodontically treated anterior teeth. *Journal of Dental Research*, **80**, 1378.

Thieme, T., Piacentini, S., Davidson, S. ve Steingart, K. (1994). Determination of measles, mumps, and rubella immunization status using oral fluid samples. *Journal of the American Medical Association*, **272**, 219-221.

Tilly, J.L. (1992). Ovarian follicular atresia as an apoptotic process, a paradigm for programmed cell death in endocrine tissues. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **84**, 19-23.

Thitinanthapan, W., Satamanont, P. ve Vongsavan, H. (1999). *In vitro* penetration of the pulp chamber by three brands of carbamide peroxide. *Journal of Esthetic Dentistry*, **11**, 259-264.

Titley, K.C., Torneck, C.D. ve Ruse, N.D. (1992). The effect of a carbamide-peroxide gel on the shear bond strength of a microfil resin to bovine enamel. *Journal of Dental Research*, **71**, 20-24.

Titley, K.C., Torneck, C.D., Ruse, N.D. ve Krmeç, D. (1993). Adhesion of a resin composite to bleached and unbleached human enamel. *Journal of Endodontics*, **19**, 112-115.

Tredwin, C.J., Naik, S., Lewis, N.J. ve Scully, C. (2006). Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: review of adverse effects and safety issues. *British Dental Journal*, **200**, 371-376.

Tsujimoto, Y. (1998). Role of Bcl-2 family of proteins in apoptosis, apoptosomes or mitochondria? *Genes to Cells*, **3**, 697-707.

Tulga, F., Özok, R., Gürbüz, A. ve Özkan, P. (2000). Effect of different types of vital bleaching agents on microhardness of human enamel. *Balkan Journal of Stomatology*, **4**, 164-166.

Türkün, M., Çelik, E., Aladağ, A. ve Gökay, N. (2010). One- year clinical evaluation of the efficacy of a new daytime at- home bleaching technique. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, **22**, 139-148.

Ulukapı, H., ve Ulu, T. (2003). Beyazlatma maddelerin mine üzerine etkisi. *Dış Hekimliğinde Klinik Dergisi*, **3**, 104-106.

Vining, R.F. ve McGinley, R.A. (1986). Hormones in saliva. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, **23**, 95-146.

Virkler, K. ve Lednev, I.K. (2009). Analysis of body fluids for forensic purposes: From laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. *Forensic Science International*, **188**, 1-17.

Wahl, M. ve Sundaralingam, M. (1997). Crystal structures of A-DNA duplexes. *Biopolymers*, **44**, 45-63.

Walker, N.I., Harnon B.W., Gobe, G.C. ve Kerr, J.F. (1988). Patterns of cell death. *Methods and Achievements in Experimental Pathology*, **13**, 18-54.

Warnakulasuriya, S., Soussi, T., Maher, R., Johnson, N. ve Tavassoli, M. (2000). Expression of p53 in oral squamous cell carcinoma is associated with the presence of IgG and IgA p53 autoantibodies in sera and saliva of the patients. *The Journal of Pathology*, **192**, 52-57.

Wattanapayungkul, P., Matis, B.A., Cochran MA & Moore, B.K. (1999). A clinical study of the effect of pellicle on the degradation of 10% carbamide peroxide within the first hour. *Quintessence International*, **30**, 737-741.

Watts, A. ve Addy, M. (2001). Tooth discoloration and staining. A review of the literature *Brazilian Dental Journal*, **190**, 309-316.

Wei, Y.H. ve Pang, C.Y. (2005). The Role of Mitochondria in human aging process. *Biotechnology International*, **17**, 8-13.

Weiger, R., Kuhn, A. ve Löst, C. (1994). *In vitro* comparison of various types of sodium perborate used for intracoronal bleaching of discolored teeth. *Journal of Endodontics*, **20**, 338-344.

Weitzman, S.A., Weitberg, A.B., Stossel, T.P., Schwartz, J. ve Shklar, G. (1986). Effects of hydrogen peroxide on oral carcinogenesis in hamsters. *Journal of Periodontology*, **57**, 685-688.

Wetter, N.U., Barroso, M.C. ve Pelino, J.E.P. (2004). Dental bleaching efficacy with diode laser and LED irradiation: an *in vitro* study. *Lasers in Surgery and Medicine*, **35**, 254-262.

Whitehead, D L., Strike, P., Perkins-Porras, L. ve Steptoe, A. (2005). Frequency of distress and fear of dying during acute coronary syndromes and consequences for adaptation. *American Journal of Cardiology*, **96**, 1512-1516.

Woolverton, C.J., Haywood, V.B. ve Heymann, H.O. (1993). Toxicity of two carbamide peroxide products used in night vital bleaching. *American Journal of Dentistry*, **6**, 310–314.

Worschech, C., Rodrigues, J., Martins, L. ve Ambrosano, G. (2006). Brushing effect of abrasive dentifrices during at-home bleaching with 10% carbamide peroxide on enamel surface roughness. *Journal of Contemporary dental Practice*, **7**, 25-34.

Yıldırım, G., Kaya, A. ve Ateş, M. (2010). Sigara içen ve içmeyen genç bireylerde bazı tükürük özelliklerinin karşılaştırılması. *İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **44**, 167-173.

Yokuş, B. ve Çakır, D.Ü. (2002). İnvivo oksidatif DNA hasarı biyomarkeri; 8-hydroxy 2' Deoxyguanosine. *Turkey Clinics Journal of Medical Sciences (Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi)*, **22**, 535-543.

Yurdukoru, B., Akören, A.C. ve Ünsal, M.K. (1998). Diş beyazlatma işleminin mine yüzey morfolojisine etkileri. *Ankara Üniversitesi Diş. Heimliği Fakültesi Dergisi*, **25**, 291-298.

Zach, L. ve Cohen, G. (1965). Pulp response to externally applied heat. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, **19**, 515–530.

Zaki, A.A. ve Fahmy, N.Z. (2009). The effect of a bleaching system on properties related to different ceramic surface textures. *Journal of Prostthodontics*, **18**, 223-229.

Zalkind, M., Arwaz, J.R., Goldman, A. ve Rotstein, I. (1996). Surface morphology changes in human enamel, dentin and cementum following bleaching: a scanning electron microscope study. *Endodontics & Dental Traumatology*, **12**, 82.

Zimmermann, B., Park, N.J. ve Wong, D. (2007). Genomic targets in saliva. *New York Academy of Sciences*, **1098**, 184-191.

Zouain-Ferreira, S.L., Zouain- Ferreira, T.R., Da Silva, C.R., Cervantes Dras, K.R., Caldeira de-Aranja, A. ve Bernardo-Filho, M. (2002). Radiation induced-like effects of four home bleaching agents used for tooth whitening effect on bacterial cultures with different capabilities of repairing deoxyribonucleic acid (DNA) damage. *Cellular and Molecular Biology*, **48**, 521-524.

FORMLAR

Form 1- Gönüllü onam formu

GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME VE ONAY FORMU

ÇALIŞMANIN ADI:

DIŞ BEYAZLATILMASINDA KULLANILAN AJANLARIN TÜKÜRÜK VE TÜKÜRÜK HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

ÇALIŞMANIN AMACI:

Diş beyazlatma ajanları ile yapılan işlemlerin oldukça başarılı sonuçlar meydana getirdiği bilinmektedir. Çalışmamızda çeşitli konsantrasyonlarda hidrojen peroksitin beyazlatma işlemi sonrası tükürük içeriğindeki değişimlere ve tükürük içindeki hücrelerin üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

ÇALIŞMANIN İÇERİĞİ:

Çalışmamızda beyazlatma işleminden önce ve beyazlatma işleminden sonra tükürük örnekleri alınarak; tükürük akış hızı, tükürük tamponlama kapasitesi, PH, tükürükteki mikroorganizma sayısındaki değişikliklere bakılacaktır. Ayrıca yine beyazlatma işleminden önce ve beyazlatma işleminden sonra tükürük örnekleri alınarak bu örneklerin içerisinde bulunan hücrelerin uğrayacakları değişiklikler incelenecektir..

ÇALIŞMANIN BAŞLAMA TARİHİ VE SÜRESİ:

Çalışmanın Haziran 2009'da başlaması ve 2 yıl sürmesi öngörülmektedir.

AÇIKLAMALAR:

Bu çalışmaya gönüllü olmaya karar vererseniz bu gönüllü bilgilendirilmiş onay formunu imzalamanız gerekecektir. Sadece kendi rızanız ile hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, dişhekimi kontrolünde alınacak tükürük örneğiniz ile çalışmaya katılmış olacaksınız. Sizden ayrıca araştırmaya yardımcı olacak bazı kişisel bilgileriniz (yaş, meslek, sigara kullanımı vs.) istenebilir. Diş beyazlatma işlemi esnasında dişlerde nadir olarak hassasiyet görülebilir. Hassasiyeti engellemek ve gidermek amacıyla özel jeller uygulanabilir. İstenildiğinde alınan tükürük örneklerinin araştırma için kullanılmasından vazgeçebilir. Tüm bu yapılacak

araştırmalar için sizden herhangi bir ücret talep edilmeyeceği gibi ücret ödemesi de yapılmayacaktır. Ayrıca yapılan bilimsel sunumlar ve yayınlarda sizin tüm kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır.

Herhangi bir soru yada sorunuz olduğu takdirde ilgili araştırıcı Özge Behram'a 0212 414 20 20 / 30381 no'lu telefondan ulaşabilirsiniz.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgiler tarafıma sözlü ve yazılı olarak aktarıldı. Bu koşullarda söz konusu çalışmaya kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Çalışma için alınan materyalimin ilerideki çalışmalarda da kullanılmasını

EVET kabul ediyorum.

HAYIR kabul etmiyorum.

Hastanın:

Adı Soyadı:

Telefonu:

Adresi:

İmza:

Açıklamaları Yapan Dişhekiminin:

Adı Soyadı:

İmza:

Tanıklık Eden Görevlinin:

Adı Soyadı:

İmza:

Form 2- Anamnez formu

ANAMNEZ FORMU

HASTA ADI / SOYADI:

TARİH:

SIRA NO:

EVET-HAYIR Herhangi bir sistemik rahatsızlığınız var mı?

Var ise belirtiniz.....

EVET-HAYIR Devamlı kullandığınız bir ilaç var mı?

EVET-HAYIR Sigara kullanıyor musunuz?

EVET-HAYIR Alkol kullanıyor musunuz?

EVET-HAYIR Hamilelik durumunuz var mı?

EVET-HAYIR Emzirme durumunuz var mı?

Dişlerinizi ne sıklıkla fırçalarsınız?.....

Ne sıklıkla diş ipi kullanıyorsunuz?.....

Kaç öğün yemek yiyorsunuz?.....

EVET-HAYIR Ağız kuruluğu şikayetiniz var mı?

EVET-HAYIR Daha önce beyazlatma işlemi yapıldı mı?

Evet ise ne zaman?.....

EVET-HAYIR Dişlerde renkleşme hissediyor musunuz?

Var ise renkleşme nedenleri nedir?

- Doğuştan
- Yaşlanma
- Dış renkleşme
- Travma
- Non-vital
- Tetrasiklin
- Fluorozis
- Restorasyona bağlı

EVET-HAYIR Radyografik muayenede bir problem var mı?

Var ise nelerdir?.....

EVET-HAYIR Periodontal dokularda problem var mı?

Var ise nelerdir?.....

EVET-HAYIR Dişlerin morfolojik özelliklerine ilişkin problem var mı?

Var ise;

EVET-HAYIR yüzeyde beyaz opak leke.....

EVET-HAYIR gelişimsel defektler.....

EVET-HAYIR renkleşmiş tek diş.....

EVET-HAYIR açığa çıkmış dentin.....

EVET-HAYIR ön bölge restorasyonlu dişler.....

EVET-HAYIR arka bölge restorasyonlu dişler.....

EVET-HAYIR protezli dişler.....

EVET-HAYIR çürük.....

EVET-HAYIR abrazyon.....

EVET-HAYIR abfraksiyon.....

EVET-HAYIR hava veya temasta hassasiyet.....

İşlemden önce alınan renk.....

İşlem sonrasında alınan renk 1.Seans.....
 2.Seans.....
 3.Seans.....

KİŞİSEL ANALİZ FORMU

- EVET-HAYIR Gülümseme sırasında dişlerinizin dış yüzü görünüyor mu?
- EVET-HAYIR Herhangi bir dişiniz kısa veya uzun gözüküyor mu?
- EVET-HAYIR Herhangi bir dişinizde kalıcı lekeler var mı?
- EVET-HAYIR Şeklini beğenmediğiniz dişiniz var mı?
- EVET-HAYIR Tam gülüş sırasında üst dudağınız yukarı kalktığında dişlerinizin boyun kısmı ve diş etleriniz gözüküyor mu?
- EVET-HAYIR Üst ön dişleriniz düzgünce sıralanıyor mu?
- EVET-HAYIR Alt ön dişleriniz düzgünce sıralanıyor mu?
- EVET-HAYIR Dişlerinizin rengini beğeniyor musunuz?
- EVET-HAYIR Tüm dişleriniz aynı renkte mi?
- EVET-HAYIR Hayır ise hangi dişiniz daha koyu?.....
- EVET-HAYIR Ön dişlerinizde dolgunuz var mı?.....
- EVET-HAYIR Arka dişlerinizde dolgunuz var mı?.....
- EVET-HAYIR Dişetlerinizde kanama var mı?
- EVET-HAYIR Dişeti çekilmesi probleminiz var mı?
- EVET-HAYIR Dişeti sorunu olmadığı halde nefesinizde kötü koku var mı?

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
YEREL ETİK KURUL TUTANAĞI



Toplantı Tarihi : 24.06.2009
Toplantı Yeri : Behçet Kutuphanesi Etik Kurul Toplantı Salonu
Toplantı Sayısı : 06

Sorumlu araştırmacılığını Üniversitemiz Dış Hekimliği Fakültesi Klinik Bilimler Bölümü Dış Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Begüm Guray EFES'in üstlendiği ve doktora öğrencisi Dr. Özge BEHRAM'ın yürüteceği 2009/1792 protokol numaralı "Dış Beyazlatılmasında kullanılan ajanların Toksik ve Toksik Hücreler Üzerine Etkisi" başlıklı tez çalışması kurulumuzda incelendi.

Etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü bilimsel araştırma projeleri birimi tarafından desteklendiği takdirde uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof. Dr. Güher SARUHAN DİRESKENELİ
Etik Kurul Başkanı (Dekan Yardımcısı)

Prof. Dr. A. Yağız ÜREŞİN
Farmakoloji ve Klinik A.D.

Prof. Dr. Ahmet GÜL
İç Hast. A.D. Romatoloji Bilim Dalı

Prof. Dr. Berrin UMMAN
Kardiyoloji A.D.

Prof. Dr. Kamil PEMBEÇİ
Anesteziyoloji A.D.

Prof. Dr. Sevinç EMRE
Çocuk Sağ. Ve Hast. A.D.

Prof. Dr. Nuran YILDIRIM
Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D.

Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN
Nefroloji A.D.

Prof. Dr. Pınar SAİP
T.U. Onkoloji Enstitüsü

Prof. Dr. Ümit TÜRKÖĞLU
Biyokimya A.D.

Prof. Dr. Neşe ÇOLAK
İç Hast. A.D. End. Ve Meta. Hast. B.D.

Prof. Dr. Nurhan ENGİNAR
Farmakoloji ve Klinik A.D.

Fatma Ceyda DÖNMEZER
Sivil Toplum Örgütü Üyesi

Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK
Hukukçu

Prof. Dr. Y. Sümer YAMANER
Genel Cerrahi A.D.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Özge	Soyadı	Gürbüz
Doğ.Yeri	Şanlıurfa	Doğ.Tar.	11/01/1984
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	44026950864
Email	ozgebehram@hotmail.com	Tel	05353486616

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü	
Yük.Lis.	İ.Ü. Dış Hekimliği Fakültesi	2006
Lisans		
Lise	Üsküdar Fen Lisesi	2000

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayım)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi	51.250	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	73.290	75.224	75.938
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Behram O, Lofça G, Efes B (2011). Diş Hastalıkları ve Tedavi Anabilim Dalı İlk Muayene Kliniğine Başvuran Hastalarda DMFT İndeksi İle Tükürük Özellikleri Arasındaki İlişki. İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 45, 29-36.

14.10.2011-Conseuro- Poster: Effects of Bleaching Agents, Neutral Fluoride Gels, Surface Sealants On The Enamel Surface Roughness

Özel İlgi Alanları (Hobileri):