Ağartılmış Mineye Rezin Bağlanma Dayanımında Sarı Kantaron Ekstraktının Antioksidan Etkisi: Bir *in vitro* Çalışma

The Antioxidant Effect of Hypericum perforatum L. on Resin Bond Strength to Bleached Enamel: An in vitro Study

Nasibe Aycan YILMAZ[1], **Rukiye YAVAŞER**[2], **Arife Alev KARAGÖZLER**[2]

[1] Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi Ana Bilim Dalı, Aydın, Türkiye
[2] Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Aydın, Türkiye

Atıf/Citation: Yılmaz, N.A., Yavaşer, R., Karagözler, A.A., (2021). Ağartılmış Mineye Rezin Bağlanma Dayanımında Sarı Kantaron Ekstraktının Antioksidan Etkisi: Bir *in vitro* Çalışma. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 42(2), 81-80.

ÖZ

Giriş ve Amaç: Amaç: Sarı kantaron (Hypericum perforatum L.) ekstraktından hazırlanan ve ağartılmış mineye uygulanan farklı antioksidan protokollerinin mine-rezin bağlanma dayanımına etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem ve Gereçler: Yöntem: Toplam 200 adet sığır kesici mine örneği, rastgele 8 gruba ayrıldı (n=25): NK (Negatif kontrol)=Ağartma Yok, PK (Pozitif kontrol)=Ağartma+Hemen Restorasyon, ER=Ağartma+Ertelenmiş Restorasyon, 10SA15=Ağartma+%10'luk Sodyum Askorbat-15 dk, 5SK15=Ağartma+%5'lik Sarı Kantaron-15 dk, 5SK30=Ağartma+%5'lik Sarı Kantaron-30 dk, 10SK15=Ağartma+%10'luk Sarı Kantaron-15 dk, 10SK30=Ağartma+%10'luk Sarı Kantaron-30 dk. NK haricindeki tüm gruplar, %16'lık karbamid peroksit kullanılarak ağartıldı (6 saat/günX7). Kompozit restorasyonlar, NK grubuna direkt olarak, PK grubuna ağartmadan hemen sonra, ER grubuna ağartmadan 15 gün sonra, diğer gruplara ise ilgili antioksidan solüsyonları uygulandıktan sonra yapıldı. Makaslama bağlanma dayanımı (MBD) analizi, kafa hızı 0,5 mm/dk olarak ayarlanan test cihazında gerçekleştirildi. Veriler megapascal (MPa) cinsinden kaydedildi. İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve post-hoc Tukey HSD testleri kullanılarak 0,05 güven aralığında yapıldı.

Bulgular: Bulgular: Ortalama(±SS) MBD değerleri (MPa) şu şekildedir: NK=22,99(±1,36)^{a}, PK=10,63(±0,95)^{b}, ER=19,89(±1,86)^{c}, 10SA15=18,56(±1,47)^{d}, 5SK15=14,43(±1,40)^{e}, 5SK30=15,14(±1,17)^{e}, 10SK15=17,16(±1,44)^{f}, 10SK30=18,31(±1,50)^{df}. Aynı üst simgeyi taşıyan ortalamalar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır (p>0,05).

Tartışma ve Sonuç: Sonuç: Sarı kantaron ekstraktından hazırlanan 10SK30 protokolü, sodyum askorbattan hazırlanan 10SA15 protokolüne benzer düzeyde (p>0,05) antioksidan etkinlik göstererek ağartma sonrasında azalan mine-rezin MBD'ı arttırmıştır.
Anahtar Kelimeler: *Antioksidan, diş ağartma, karbamid peroksit, makaslama bağlanma dayanımı*

ABSTRACT

Introduction: Objectives: To investigate the influence of different antioxidant protocols derived from Hypericum perforatum L. on bleached enamel-resin bond strength.

Methods: Methods: Two hundred bovine incisor enamel samples were allocated randomly to 8 groups (n=25): NK (Negative control)=No Bleaching, PK (Positive control)=Bleaching+Immediate Restoration, ER=Bleaching+Delayed Restoration, 10SA15=Bleaching+10% Sodium Ascorbate-15 min, 5SK15=Bleaching+5% Hypericum Perforatum-15 min, 5SK30=Bleaching+5% Hypericum perforatum-30 min, 10SK15=Bleaching+10% Hypericum perforatum-15 min, 10SK30=Bleaching+10% Hypericum perforatum-30 min. All groups except NK were bleached with %16 carbamide peroxide (6 h/dayX7). Composite restorations were performed immediately in the NK, immediately after bleaching in the PK, 15 days after bleaching in the ER, and immediately after the application of relevant antioxidant solutions in the other groups. Shear bond strength (SBS) analyses were performed at a crosshead speed of 0.5 mm/min. SBS data, recorded as megapascal (MPa), were analyzed with one-way ANOVA and post-hoc Tukey HSD tests at 0.05 significance level.

Results: Results: Mean(±SD) SBS values (MPa) were as follows: NK=22.99(±1.36)^{a}, PK=10.63(±0.95)^{b}, ER=19.89(±1.86)^{c}, 10SA15=18.56(±1.47)^{d}, 5SK15=14.43(±1.40)^{e}, 5SK30=15.14(±1.17)^{e}, 10SK15=17.16(±1.44)^{f}, 10SK30=18.31(±1.50)^{df}. Means with same superscripts were not statistically different (p>0,05).

Discussion and Conclusion: Conclusion: Hypericum perforatum-derived 10HP30 protocol exhibited an antioxidant efficacy that was statistically similar (p>0,05) to sodium ascorbate-derived 10SA15 protocol in terms of improving the compromised resin SBS to bleached enamel.

Keywords: *Antioxidant, tooth bleaching, carbamide peroxide, shear bond strength*

Sorumlu yazar/Corresponding author*: dt.aycanyilmaz@yahoo.com
Başvuru Tarihi/Received Date: 24.06.2020
KabulTarihi/Accepted Date: 05.08.2020

1. GİRİŞ

Dental ağartma, renklenmiş dişlerin estetik tedavisi amacıyla günümüz klinik pratiğinde sıklıkla tercih edilen, konservatif, hızlı ve ekonomik bir seçenektir. Çeşitli konsantrasyonlarda hidrojen peroksit (HP) veya karbamid peroksit (KP) içeren materyallerin kullanıldığı ağartma tedavilerinin etki mekanizması oksidasyon reaksiyonuna dayanır. Karbamid peroksit diş dokusu ile temas ettiğinde hidrojen peroksit ve üreye ayrışır. Hidrojen peroksitin yıkım ürünleri su ve oksijen, ürenin yıkım ürünleri ise amonyak ve karbondioksittir. Hidrojen peroksit düşük molekül ağırlığı sayesinde mine prizmaları arasındaki porlara penetre olarak dentine kadar ulaşır. Burada iyonik bir ayrışmaya uğrar ve bu ayrışma sonucunda hidroksil radikali, perhidroksil ve süperoksit anyonları şeklinde serbest radikaller ve rezidüel oksijen açığa çıkar [1, 2]. Serbest radikaller, eşleşmemiş bir elektronu bulunan oldukça reaktif moleküllerdir. Diş yapısındaki pigmente moleküllerin elektron bakımından zengin alanlarına hücum ederler. Birbirine çift bağlarla bağlı büyük pigmente moleküller ile temasa geçip onları parçalayarak daha kısa zincirli ve daha az pigmente moleküllere dönüştürürler. Bu şekilde diş renginin açılması yani ağartılması sağlanmış olur [1, 2].

Dental ağartma tedavisi hastaların estetik beklentilerini karşılamada yeterli olmadığında, diastema kapama, build-up, kompozit veneer gibi ilave estetik restorasyonların yapılması veya mevcut restorasyonların yenilenmesi gerekebilmektedir. Rezin esaslı restoratif materyaller yeni ağartılmış diş dokularına uygulandığında bağlanma dayanımlarının azaldığı tespit edilmiştir ve bu durumdan öncelikli olarak HP'in ayrışması sonucu açığa çıkan, mine prizmaları veya dentin yapısı içerisinde mahsur kalan rezidüel oksijen ve serbest radikaller sorumlu tutulmaktadır [2].

Hidrojen peroksitin yan ürünlerinin tamamen salınıp diş sert dokularından uzaklaşmasına olanak sağlamak amacıyla restorasyonların bir süre ertelenmesi önerilmiştir. Ağartma sonrası rezin restorasyonların başarılı bir şekilde yapılabilmesi için 1-3 hafta arasında değişen sürelerde beklenilmesi gerektiği bildirilmiştir [3, 4]. Klinik açıdan değerlendirildiğinde, önerilen bekleme sürelerinin oldukça uzun olması ve tedavi seans sayısının artması, pek çok hasta tarafından tolere edilememekte ve memnuniyetsizliğe yol açmaktadır.

Yakın dönemde, ağartılmış diş yüzeylerine antioksidanların uygulanarak serbest radikal yok edici etkilerinden yararlanılması fikri gündeme gelmiştir. Antioksidanlar, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize edebilen bileşiklerdir. Antioksidanların uygulanması ile ağartılmış diş yapısında mahsur kalan rezidüel oksijenin ve serbest radikallerin uzaklaştırılması ve rezin içerikli restoratif materyallerin bağlanma dayanımının artırılması amaçlanır. Ağartma sonrası bekleme süresinin ortadan kaldırılarak, seans sayısının azaltılması ve ilave adeziv restoratif işlemlerin ağartma tedavisi ile aynı seansta tamamlanabilmesi hedeflenir [5, 6].

Ağartılmış diş dokuları üzerindeki antioksidan etkinliği en fazla araştırılan, sentetik sodyum askorbatın %10 konsantrasyondaki çözeltisidir [6]. Sodyum askorbat, vitamin C olarak da bilinen askorbik asitin tuzudur. Sodyum askorbatın ısı, ışık, oksijen, nem, pH gibi ortam koşullarından oldukça fazla etkilenmesi, stabilitesini ve etkinliğini hızlıca kaybetmesine yol açan bir dezavantajdır[7].

Son dönemde araştırmalar, oksidize diş sert dokularına güvenle uygulanabilecek, toksik olmayan, yan etkisiz, biyouyumlu ve etkili bir antioksidan protokolü geliştirmek amacıyla doğal bitki ekstraktlarına yönelmiştir. Yapılarında flavonoidler, fenolik bileşikler ve türevlerini içeren doğal bitkiler, serbest radikalleri temizleme, metal iyonlarla bileşik oluşturma, oksijen oluşumunu azaltma veya engelleme gibi farklı mekanizmalarla otooksidasyonu önleyebilmektedirler [8]. Oksidize diş dokuları üzerindeki serbest radikal yok edici/antioksidan etkinliği incelenen farklı sentetik ve doğal antioksidan kaynakları bulunmakla birlikte, diş hekimliği klinik uygulamalarında yerini alabilmiş bir antioksidan protokolü bulunmamaktadır [5].

Bu çalışmaya, ağartılmış mine üzerindeki antioksidan etkinliğini incelemek üzere, Sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) bitkisi dahil edilmiştir. Antidepresan, antibakteriyel, antifungal, antiviral, yara iyileştirici, analjezik vb. [9] terapötik etkilerinden dolayı dünyada en çok kullanılan medikal bitkilerden biri olan sarı kantaronun son yıllarda antioksidan etkisi dikkat çekmektedir. Sarı kantaronun etanol ekstraktlarının flavonoid gibi fenolik bileşikler ve fenolik asitler açısından zengin olduğu ve bu sayede antioksidan özelliğinin yüksek olduğu bildirilmiştir[9-12]. Ancak literatürde sarı kantaronun diş sert dokuları üzerindeki antioksidan etkinliğini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, sarı kantaron bitki ekstraktı içeren farklı deneysel antioksidan protokolleri oluşturularak ağartılmış mine üzerindeki antioksidan etkinliklerinin sodyum askorbat ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada oluşturulan yokluk hipotezi; ''ağartılmış mineye uygulanan beş farklı deneysel antioksidan protokolünün, mine-rezin makaslama bağlanma dayanımına etkileri açısından bir farklılık oluşmayacaktır'' şeklindedir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Sarı Kantaron Bitki Ekstraktının Hazırlanması

Çalışma kapsamında antioksidan kapasitesi araştırılan sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) bitki materyali, Aydın yöresindeki yerel pazardan mevsiminde temin edildi. Bitkiler yabancı maddelerden ayıklandıktan sonra, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat

Fakültesi Biyoloji Bölümünde bitkinin tanımlaması yapıldı. Botanik karakterizasyonu tamamlanan bitkiler yıkandı, kurumaları için bekletildi ve daha sonra yaprakları ile çiçekli kısımları makas yardımıyla ayrıldı. Geniş bir yüzeye yayılan bitki kısımları oda sıcaklığında ve doğrudan güneş ışığına maruz kalmayacak şekilde kurutuldu.

Kurutulmuş yaprak ve çiçeklerin etanol ekstraktları ayrı ayrı hazırlandı. Çiçek etanol ekstraktının hazırlanması amacıyla, analitik tartı (Radwag, AS 220/C/2, Radom, Polonya) kullanılarak çiçekler tartıldı ve uygun hacimli bir beher içerisine aktarıldı. Çiçekler blender ile parçalandı ve iki saat çalkalandıktan sonra filtre kağıdından süzüldü. Kalıntılar beher içerisine alınarak üzerlerine tekrar etanol eklendi ve 15 saat boyunca 120 rpm'de masaüstü çalkalayıcıda (Promax 2020, GmbH & Co KG, Kelheim, Almanya) çalkalandıktan sonra süzüldü. Kalıntılar birleştirildikten sonra üzerlerine tekrar etanol eklenerek 15 saat daha çalkalandı. Her süzme işleminden sonra elde edilen süzüntüler birleştirilerek +4°C'de muhafaza edildi. Etanol ekstraktlarının çözücüsü rotary evaporatör (RE, IKA RV 05 basic 1B, Staufen, Almanya) kullanılarak 40°C'de uzaklaştırıldı. Çiçek etanol ekstraktının elde edilmesi için uygulanan tüm işlemler yaprak etanol ekstraktının elde edilmesi için tekrarlandı. Elde edilen tüm ekstraktlar tartıldı ve kullanılıncaya kadar -18°C'de muhafaza edildi. Yüzde onluk ekstrakt çözeltisinin hazırlanması için 5,0 g yaprak ve 5,0 g çiçek ekstraktı karıştırılarak 100 mL etil alkolde çözüldü. Yüzde beşlik ekstrakt çözeltisinin hazırlanması için 2,5 g yaprak ve 2,5 g çiçek ekstraktı karıştırılarak 100 mL etil alkolde çözüldü.

2.2. Deneysel Antioksidan Solüsyonlarının Hazırlanması

Analitik tartıda ölçülen 10 g sodyum askorbat tozu (Sigma-Aldrich, St. Louis, ABD), otomatik pipet (Isolab Pipette by CAPP, Wertheim, Almanya) ile alınan 100 ml distile su içerisinde çözülerek %10'luk sodyum askorbat çözeltisi (solüsyonu) hazırlandı ve pH-metre (pH 211 Microprocessor, Hanna Instruments, İtalya) ile pH'ı ölçüldü. (pH=7,76)

Beş g sarı kantaron bitki ekstraktı, 100 ml etanol ile seyreltilerek filtreden geçirildi ve hazırlanan %5'lik sarı kantaron ekstrakt çözeltisinin pH'ı belirlendi (pH=4,95).

On g sarı kantaron bitki ekstraktı, 100 ml etanol ile seyreltilerek filtreden geçirildi ve hazırlanan %10'luk sarı kantaron ekstrakt çözeltisinin pH'ı belirlendi (pH=5,05).

Hazırlanan antioksidan solüsyonları, deney anına kadar buzdolabında $+4^0$C'de, ağzı sıkıca kapalı cam kavanozlarda muhafaza edilmiş ve en fazla 1 hafta içerisinde kullanılmıştır.

2.3. Mine Örneklerinin Hazırlanması ve Gruplandırılması

Çalışmada mezbahaneden elde edilen ve 2 yaşını geçmemiş sığırlardan toplanan 200 adet sığır kesici dişi kullanıldı. Dişler, akan su altında periodontal küret yardımıyla eklentilerinden arındırıldı ve dezenfeksiyon amacıyla 1 hafta süreyle %0,1'lik timol solüsyonu içerisinde bekletildi. Deney anına kadar distile su içerisinde muhafaza edilen dişler en geç bir ay içerisinde kullanıldı.

Elektrikli mikromotor, piyasemen ve elmas separeler yardımıyla dişler mine-sement birleşiminden kesilerek kron ve kök olarak ikiye ayrıldı. Kökler uzaklaştırıldı. Kronlar, fasiyal mine yüzeyleri üstte ve açıkta kalacak şekilde standart boyuttaki PVC kalıplara yerleştirilen otopolimerizan soğuk akrilik rezin (Leaddent; İzmir, Türkiye) içerisine gömüldü. Mine-kompozit rezin bağlantısının gerçekleştirileceği örnek yüzeylerinde standart smear tabaka oluşturabilmek amacıyla 600 ve 400 gritlik silikon karbit zımparalarla 10'ar sn aşındırma yapıldı. Toplam 200 adet mine örneği rastgele 8 gruba ayrıldı (Tablo 1) ve her grupta 25'er adet örnek yer aldı (n=25):

Kontrol: Örneklere ağartma (veya antioksidan) uygulanmadan restorasyonlar tamamlandı.

HR: Örneklere ağartma uygulandıktan hemen sonra (bekletilmeden ve antioksidan uygulanmadan) restorasyonlar tamamlandı

ER: Örneklere ağartma uygulandıktan 15 gün sonra (antioksidan uygulanmadan) restorasyonlar tamamlandı.

10SA15: Örneklere ağartma uygulandıktan sonra, %10'luk sodyum askorbat solüsyonu 15 dk süreyle uygulandı ve sonra restorasyonlar tamamlandı.

5SK15: Örneklere ağartma uygulandıktan sonra, %5'lik sarı kantaron ekstrakt solüsyonu 15 dk süreyle uygulandı ve restorasyonlar tamamlandı.

5SK30: Örneklere ağartma uygulandıktan sonra, %5'lik sarı kantaron ekstrakt solüsyonu 30 dk süreyle uygulandı ve restorasyonlar tamamlandı.

10SK15: Örneklere ağartma uygulandıktan sonra, %10'luk sarı kantaron ekstrakt solüsyonu 15 dk süreyle uygulandı ve restorasyonlar tamamlandı.

10SK30: Örneklere ağartma uygulandıktan sonra, %10'luk sarı kantaron ekstrakt solüsyonu 30 dk süreyle uygulandı ve restorasyonlar tamamlandı.

Tablo 1. Çalışmada oluşturulan gruplar

Gruplar (n=25)	Ağartma Protokolü	Antioksidan Protokolü	Restorasyon Erteleme
NK	-	-	
PK	%16 KP (6 saat X 7gün)	-	-
ER	%16 KP (6 saat X 7gün)	-	15 gün
10SA15	%16 KP (6 saat X 7gün)	%10'luk Sodyum Askorbat, 15 dk	-
5SK15	%16 KP (6 saat X 7gün)	%5'lik Sarı Kantaron, 15 dk	-
5SK30	%16 KP (6 saat X 7gün)	%5'lik Sarı Kantaron, 30 dk	-
10SK15	%16 KP (6 saat X 7gün)	%10'luk Sarı Kantaron, 15 dk	-
10SK30	%16 KP (6 saat X 7gün)	%10'luk Sarı Kantaron, 30 dk	-

2.4. Mine Örneklerine Ağartma Uygulanması

Kontrol haricindeki tüm gruplara, üretici firmanın önerileri doğrultusunda %16'lık karbamid peroksit (KP) içerikli ev tipi ağartma tedavisi (Whiteness Perfect, FGM, Brezilya) uygulandı (6 saat/günX7). Klinik koşulları taklit edebilmek amacıyla şeffaf plak hazırlama cihazında her örnek için 2'şer adet bireysel şeffaf plak hazırlandı. Her örneğe özel hazırlanmış şeffaf plaklardan biri ağartma jelinin, diğeri ise deneysel antioksidan solüsyonlarının topikal olarak uygulanmasında kullanıldı. Bu sayede gerek ağartma jelinin gerekse deneysel antioksidan solüsyonunun ortama akıp uzaklaşmadan ve miktarı azalmadan örnek yüzeyleri ile sürekli teması sağlandı.

Ev tipi ağartma tedavisi örneklere 7 gün boyunca uygulandı. Yirmi dört saatlik tedavi protokolünde, %16'lık KP içerikli ağartma jeli, şeffaf plakların içerisine yaklaşık 1-2 mL miktarda yerleştirildi ve üretici firmanın önerisi doğrultusunda mine yüzeylerine 6 saat süreyle uygulandı. Süre sonunda şeffaf plak uzaklaştırıldı, örnek yüzeyinde kalan ağartma jeli gaz tampon yardımıyla alındı ve yüzey distile suyla 60 sn süreyle yıkandı. Daha sonraki 18 saat boyunca örnekler distile su içerisinde muhafaza edildi (bir sonraki 24 saatlik tedavi protokolüne kadar).

Toplam 7 günlük ağartma tedavi protokolünün tamamlanmasını takiben;

- HR grubundaki örnekler hemen restore edildi.
- ER grubundaki örnekler etüve (Memmert UNB 400, Schwabach, Almanya) alınarak 15 gün süreyle, 37 ^{0}C ve 100% nemli ortamda muhafaza edildi. Daha sonra kompozit rezin restorasyonları yapıldı.
- 10SA15, 5SK15, 5SK30, 10SK15 ve 10SK30 gruplarındaki örneklere ilgili deneysel antioksidan solüsyonları uygulandı ve bekletilmeden restorasyonları tamamlandı.

2.5. Mine Yüzeylerine Kompozit Rezin Restorasyonların Yapılması

Mine yüzeyleri %35'lik fosforik asit jeli (K-etchant, Kuraray, Japonya) ile 30 sn süreyle asitlenip yıkandı ve hava-su şırıngası aracılığıyla ile kurutuldu. Daha sonra iki basamaklı asitle&yıka tip adeziv sistem (Adper Single Bond 2, 3M ESPE, ABD), üretici firmanın önerileri doğrultusunda asitlenmiş mine yüzeylerine iki tabaka halinde uygulandı. Adeziv solüsyon, yaklaşık 15 sn süreyle yüzeylere mikrofırça aracılığıyla ovuşturmak suretiyle uygulandı. Daha sonra çözücünün uzaklaştırılması için adeziv uygulanan yüzeylere 5'er sn hafifçe hava uygulanmış ve bir LED ışık kaynağı (Monitex, New Taipei City, Tayvan) aracılığıyla 10 sn süreyle polimerize edildi. Mine yüzeylerine uygulanacak olan kompozit rezin restorasyonların, standardizasyonu amacıyla 4 mm yükseklikte 2 mm genişlikteki standart şeffaf plastik tüpler kullanıldı. Mikrohibrit kompozit rezin (Filtek Z 250, 3M ESPE, ABD), şeffaf plastik tüplerin içerisine 2 mm'lik tabakalar halinde yerleştirilip 20 sn süreyle polimerize edildi ve restorasyon 2 aşamada tamamlandı. Şeffaf plastik tüpler bistüri yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra, örnekler etüve alındı ve 24 saat boyunca 37^{0}C 'de, 100% nemli ortamda bekletildi.

2.6. Makaslama Bağlanma Dayanımı Testi ve İstatistiksel Analiz

Makaslama bağlanma dayanımı testi, kesme ucu bıçak şeklinde olan test cihazında (Mod Dental, Esetron Smart Robotechnologies, Ankara, Türkiye) gerçekleştirildi. Ölçümlere geçmeden önce, makaslama bağlanma test cihazına bağlı yazılımda restorasyon yüzey alanı (12,56 mm^2), maksimum yük (500N), kafa hızı (0,5 mm/dk) ile ilgili veri girişleri yapıldı. Daha sonra örnekler test cihazına bağlanarak mine-rezin bağlantısında kopmanın

gerçekleştiği andaki sayısal değerler, N ve MPa (N/mm^2) cinsinden kaydedildi. Tek yönlü ANOVA ve post-hoc Tukey HSD testleri kullanılarak 0,05 güven aralığında verilerin istatistiksel analizleri yapıldı.

Örneklerin kopma arayüzleri, stereomikroskop (Olympus SZ61, Munster, Almanya) altında X40 büyütmede incelendi ve kırılma tipleri adeziv, koheziv ve karma olarak sınıflandırıldı.

3. BULGULAR

Tüm grupların grupların MBD verilerinin (MPa) ortalama±standart sapma, minimum ve maksimum değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Ortalama (±SS) MBD değerleri (MPa) şu şekildedir: NK=22,99(±1,36)[a], PK=10,63(±0,95)[b], ER=19,89(±1,86)[c], 10SA15=18,56(±1,47)[d], 5SK15=14,43(±1,40)[e], 5SK30=15,14(±1,17)[e], 10SK15=17,16(±1,44)[f], 10SK30=18,31(±1,50)[df]. Aynı üst simgeye sahip ortalamalar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır (p>0,05).

Kırılma tiplerinin sayı ve yüzde olarak gruplara göre dağılımı Tablo 2'de yer almaktadır. Adeziv tip kırılmalar en yüksek oranda ağartma sonrasında restorasyonların hemen uygulandığı pozitif kontrol grubunda (PK), en düşük oranda ise negatif kontrol grubunda (NK) tespit edilmiştir.

Ertelenmiş restorasyon grubunda (ER) ve tüm deneysel antioksidan gruplarında (10SA15, 5SK15, 5SK30, 10SK15, 10SK30); pozitif kontrol grubuna kıyasla daha fazla oranda karma tipi kırılma gözlenmiştir.

Tablo 2. Grupların MBD verilerinin (MPa) ortalama±standart sapma, minimum, maksimum değerleri ile kırılma tiplerinin sayı (n) ve yüzdeleri (%)

Gruplar (n=25)	Min - Maks MBD (MPa)	Ort. MBD (± SS)* (MPa)	Kırılma Tipleri Sayı (n) / Yüzde (%)		
			Adeziv	Koheziv	Karma
NK	20,76 - 24,97	22,99 ± (1,36) [a]	0 / %0	1 / %4	24 / %96
PK	9,03 - 12,66	10,63 ± (0,95) [b]	18 / %72	-	7 / %28
ER	17,03 - 22,77	19,89 ± (1,86) [c]	1 / %4	1 / %4	23 / %92
10SA15	16,06 - 20,86	18,56 ± (1,47) [d]	3 / %12	-	22 / %88
5SK15	12,80 - 16,92	14,43 ± (1,40) [e]	10 / %40	-	15 / %60
5SK30	13,22 - 17,19	15,14 ± (1,17) [e]	7 / %28	-	18 / %72
10SK15	15,36 - 19,86	17,16 ± (1,44) [f]	4 / %16	1 / %4	20 / %80
10SK30	16,18 - 20,72	18,31 ± (1,50) [df]	3 / %12	-	22 / %88

NK: Negatif Kontrol, **PK:** Pozitif Kontrol**, ER:** Ertelenmiş Restorasyon, **10SA15:** %10'luk Sodyum Askorbat Solüsyonu-15 dk uygulama, **5SK15:** %5'lik Sarı Kantaron Solüsyonu-15 dk uygulama, **5SK30:** %5'lik Sarı Kantaron Solüsyonu-30 dk uygulama, **10SK15:** %10'luk Sarı Kantaron Solüsyonu-15 dk uygulama, **10SK30:** %10'luk Sarı Kantaron Solüsyonu-30 dk uygulama.

* Aynı üst simgeye sahip ortalamalar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır (p>0,05).

4. TARTIŞMA

Bu *in vitro* çalışmada, serbest radikal yok edici/antioksidan etkinliklerini incelemek üzere beş farklı deneysel antioksidan protokolü oluşturulmuş ve ağartılmış mine yüzeylerine uygulanmıştır. Çalışmada elde edilen en yüksek ortalama MBD değeri ve en düşük oranda adeziv tip kırılma, ağartma uygulanmayan negatif kontrol grubunda; en düşük ortalama MBD değeri ve en yüksek oranda adeziv tip kırılma, ağartma sonrası restorasyonların hemen uygulandığı pozitif kontrol grubunda ölçülmüştür (p<0,05). Bu bulgular, rezin esaslı restoratif materyallerin ağartılmış mineye bağlanmasının azaldığını bildiren diğer çalışmalarla uyumluluk göstermektedir [5, 6].

Ağartma sonrası 15 gün süreyle etüvde bekletilen ER grubu, hidrojen peroksitin yan ürünlerinin tamamen salınıp diş sert dokularından uzaklaşmasına olanak sağlamak amacıyla tavsiye edilen, adeziv restoratif işlemlerin ertelendiği klinik durumu temsil etmektedir. Ağartma sonrası restorasyonların hemen uygulandığı pozitif kontrol grubuna kıyasla, ER grubunda ölçülen ortalama MBD değeri anlamlı düzeyde daha yüksek (p<0,05), adeziv tip kırılma ise daha düşük oranda tespit edilmiştir.

Bu çalışmada deneysel olarak oluşturulan doğal antioksidan protokollerinin etkinliği, literatürde en çok araştırılmış olan ve etkinliği birçok *in vitro* çalışmada kanıtlanmış olan %10'luk sodyum askorbat solüsyonu ile kıyaslanmıştır [6] . Literatür incelendiğinde ağartılmış diş yüzeylerine uygulanan sodyum askorbat protokollerinin standart olmadığı, uygulanma süreleri ve yöntemleri açısından deney dizaynlarında farklılıklar bulunduğu görülmektedir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda sodyum askorbat 1 dk ila 40 saat arasında değişen sürelerde uygulanmıştır [6]. Lai ve ark. [13], antioksidan uygulama

süresinin, ağartma süresinin en az üçte biri kadar olması gerektiğini savunmuşlardır. Türkün ve Kaya [14] ağartılmış mine yüzeylerine aktif şekilde uygulandığında, sodyum askorbat solüsyonunun 10 dakika gibi kısa bir sürede rezin bağlanma dayanımını artırabildiğini bildirmiştir. Freire ve ark. [15], sodyum askorbatın diş yüzeyiyle oluşturduğu reaksiyonun yaklaşık 1 dk içerisinde en üst seviyeye ulaştığını ve daha sonra kademeli olarak azaldığını tespit etmiştir. Araştırıcılar antioksidanın uygulanma sıklığının, diş yüzeyiyle temas ettiği toplam süreden daha önemli olduğunu belirtmişlerdir. Park ve ark. [16], sodyum askorbat antioksidan solüsyonunun ağartılmış diş yüzeylerine pasif şekilde uygulanması halinde, diş yapılarına penetrasyonunun oldukça yavaş şekilde gerçekleşeceğini ve basit difüzyon mekanizması nedeniyle zaman alacağını bildirmişlerdir. Antioksidan solüsyonu devamlı olarak tazelendiğinde ve yüzeye aktif şekilde uygulandığında, ağartılmış diş yüzeylerinde açığa çıkan antioksidan etkinlik artırılabildiğinden, bu çalışmada %10'luk sodyum askorbat solüsyonu ağartılmış mine yüzeylerine aktif şekilde uygulanmış ve solüsyon her dakika sonunda tazelenmiştir. Çalışmada uygulanan sodyum askorbat protokolü, MBD değerini pozitif kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde artırmış ($p<0,05$) ve örneklerde daha düşük oranda adeziv tip kırılma gözlenmiştir.

Ağartılmış mine üzerindeki antioksidan etkinliğini incelemek üzere çalışmamıza, daha önce literatürde bu amaçla incelenmemiş olan sarı kantaron bitkisi (*Hypericum perforatum* L.) dahil edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi öncesi bitkinin botanik karakterizasyonu yaptırılarak çalışmada saf bitki ekstraktının kullanılması sağlanmıştır. Literatür incelendiğinde, bazı çalışmalarda doğal antioksidanlara ulaşmak amacıyla ticari olarak satılan kapsül veya tablet formundaki suplement preparatlarından yararlanıldığı görülmektedir [17, 18]. Doğal antioksidan solüsyonu hazırlamak amacıyla suplementlerin kullanıldığı çalışmaların dezavantajlı olarak kabul edilebilecek bir yanı, piyasada bulunan kapsül/tablet formundaki suplementlerin sadece saf bitki ekstraktlarından oluşmayıp katkı maddeleri de içermeleridir [19].

Çalışmada, Sarı kantaron ekstraktından hazırlanan antioksidan protokollerinin tümünde (5SK15, 5SK30, 10SK15, 10SK30), pozitif kontrol grubuna kıyasla daha yüksek ortalama MBD değerleri ve daha düşük oranda adeziv tip kırılma elde edilmiş; dolayısıyla ağartma sonrası azalan mine-rezin bağlanma dayanımı artmıştır. Ancak, SK ekstraktından hazırlanan antioksidan protokolleri arasında yalnızca 10SK30, sodyum askorbattan hazırlanan antioksidan protokolüne istatistiksel olarak benzer düzeyde ($p>0,05$) antioksidan etkinlik gösterebilmiştir. Dolayısıyla, ''ağartılmış mineye uygulanan beş farklı deneysel antioksidan protokolünün, mine-rezin makaslama bağlanma dayanımına etkileri açısından bir farklılık oluşmayacaktır'' şeklinde oluşturduğumuz hipotezimiz reddedilmiştir.

Sarı kantaron ekstraktının antioksidan aktivitesi zengin fenolik bileşik içeriğinden kaynaklanmaktadır. Sarı kantaron ekstraktlarında flavonoidler, fenolik asitler, naftodiantronlar ve floroglusinoller gibi çeşitli fenolik bileşikler tespit edilmiştir. Bu fenolik bileşikler arasında özellikle flavonoidler (kuersetin, kaempferol glikozitleri, aglikonlar, biflavonoidler) ve fenolik asitler (kafeoilkuinik asit), bitkinin antioksidan aktivitesi ile doğrudan ilişkili bulunmuştur [9-12].

Ağartma sonrası antioksidan uygulamasının diş-rezin bağlanma dayanımına etkisinin incelendiği *in vitro* çalışmalarda; kullanılan ağartma materyalindeki hidrojen peroksit konsantrasyonu, ağartma materyalinin diş dokusuyla temas süresi, restorasyon erteleme süresi, uygulanan antioksidanın tipi, antioksidan uygulama süresi ve yöntemi gibi pek çok faktör farklı sonuçların ortaya çıkmasında etkili olmaktadır. Ayrıca, bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini inceleyen çalışmalarda, bitkinin yetiştiği bölge, ekstrakt elde etmede kullanılan bitki kısmı, bitkinin ekstraksiyon yöntemi, ekstraktın içerdiği fenolik bileşiklerin tipi ve konsantrasyonu, üzerinde çalışılan substrat gibi birçok faktör çalışma sonuçlarını etkileyebilmektedir. Bitki ekstraktları, saf bir bileşikten oluşmayıp farklı molekül ağırlıklarına sahip pek çok antioksidan bileşik içerirler. Dolayısıyla bitki ekstraktlarından hazırlanan solüsyonlardaki antioksidan bileşiklerin oranı ve solüsyonun nihai molekül ağırlığı belirlenememektedir [20, 21].

Tüm bu sınırlılıklara rağmen, bitki ekstrakt çalışmaları farmasötik endüstriye temel teşkil eden ve yön veren, düşük maliyetli, öncül çalışmalardır. Günümüzde kullanılmakta olan birçok ilaç veya ürün, ekstrakt çalışmaları sonucunda terapötik etkinliği kanıtlanan medikal bitkilerin bioaktif içeriklerinden veya bunların laboratuvar koşullarında üretilen sentetik türevlerinden elde edilmiştir [21].

Sarı kantaronun oksidize diş sert dokusundaki antioksidan etkinliği çalışmamız sınırlamaları dahilinde ilk defa incelenmiştir. Bunun yanında sarı kantaron ekstraktından türetilecek bir ürünün, ağız ortamında kullanılmak üzere iyi bir seçenek olabileceğini gösteren başka çalışmalar da bulunmaktadır. Suntar ve ark. [22], sarı kantaron bitkisinin Streptococcus mutans, S. sabrinus, L. plantarum, and E. faecalis bakterilerine ve biofilm formasyonuna karşı antimikrobiyal etkinliğini incelemişler ve sarı kantaronun ağız bakım ürünlerinde kullanılmaya uygun, doğal bir antibakteriyel ajan olduğunu vurgulamışlardır. Bir başka *in vivo* çalışmada, sarı kantaronun ağız içi yumuşak dokularda kemoterapiye bağlı gelişen mukozitin tedavisindeki yara iyileştirici etkisine dikkat çekilmiştir[23]. Dolayısıyla, sarı kantaronun antioksidan etkinliğinin yanısıra taşıdığı kıymetli terapötik etkiler, ağız ortamında kullanılmak üzere sentetik antioksidanlara kıyasla avantaj oluşturabilir.

Diş hekimliği alanında, oksidize diş dokuları üzerindeki antioksidan etkinliği incelenen farklı bitki

ekstraktları bulunmakla birlikte, henüz klinik kullanıma uygun formda geliştirilebilmiş bir antioksidan ürünü bulunmamaktadır. Ağız ortamında emniyetli bir şekilde kullanılabilecek, doğal bitki ekstraktlarından izole edilen, molekül ağırlığı bilinen bioaktif bileşiklerin tek başlarına veya doğru oranlarda kombine edilerek kullanıldığı, öngörülebilir ve tekrarlanabilir etki sağlayan bir antioksidan ürün formülasyonunun geliştirilebilmesi için bu alanda daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

5. SONUÇ

Çalışmanın sınırları dahilinde elde edilen sonuçlar şunlardır:

- %16'lık Karbamid peroksit ile ağartılan mine yüzeyine kompozit rezin restorasyonun hemen yapılması mine-rezin MBD'nı azaltmıştır.
- %16'lık Karbamid peroksit ile ağartılan mine yüzeyine yapılacak kompozit rezin restorasyonun 15 gün sonraya ertelenmesi mine-rezin MBD'nı pozitif kontrol grubuna kıyasla artırmış ancak negatif kontrol grubu düzeyine ulaştıramamıştır.
- %16'lık Karbamid peroksit ile ağartılan mine yüzeyine antioksidan uygulanan grupların tamamında mine-rezin MBD, pozitif kontrol grubuna kıyasla artmıştır.
- %16'lık Karbamid peroksit ile ağartılan mine yüzeyine antioksidan uygulanan grupların hiçbirinde mine-rezin MBD, negatif kontrol grubu düzeyine veya ertelenmiş restorasyon grubu düzeyine ulaşamamıştır.
- Sarı kantaron ekstraktından hazırlanan 10SK30 protokolü, sodyum askorbattan hazırlanan 10SA15 protokolüne benzer düzeyde antioksidan etkinlik göstererek ağartma sonrasında azalan mine-rezin MBD'nı artırmıştır.

KAYNAKLAR

1. Rodríguez-Martínez J, Valiente M, Sánchez-Martín MJ. Tooth whitening: From the established treatments to novel approaches to prevent side effects. J Esthet Restor Dent. 2019;31(5):431-440.
2. Kwon SR, Wertz PW: Review of the mechanism of tooth whitening. J Esthet Restor Dent. 2015;27(5):240-257.
3. Salome P, Bueno R, Nascimento P, Pozzobon R: Residual oxygen releasing time from dental structure after carbamide peroxide exposure: study of the effects of a neutralizer gel. Gen Dent 2012;60(2):147-150.
4. Sundfeld RH, Briso ALF, De Sá PM, Sundfeld MLMM, Bedran-Russo AKB: Effect of time interval between bleaching and bonding on tag formation. Bull Tokyo Dent Coll 2005;46(1-2):1-6.
5. Feiz A, Mosleh H, Nazeri R: Evaluating the effect of antioxidant agents on shear bond strength of tooth-colored restorative materials after bleaching: A systematic review. J Mech Behav Biomed Mater 2017;71:156-164.
6. Nascimento GCR, Guerreiro MYR, Carvalho FF, Força AR, Loretto SC: Does sodium ascorbate improve bond strength after dental bleaching techniques? Revista Odonto Ciência 2015;30(4):205-210.
7. LeBlanc JG: Vitamin C-an Update on Current Uses and Functions. 2019.
8. Pisoschi AM, Negulescu GP: Methods for total antioxidant activity determination: a review. Biochem Anal Biochem 2011;1(1):106.
9. Ersoy E, Özkan EE: Yeni Çalışmalar Işığında Hypericum Türlerinin Farmakolojik Aktiviteleri. Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi;2(2):71-79.
10. Silva BA, Ferreres F, Malva JO, Dias AC: Phytochemical and antioxidant characterization of Hypericum perforatum alcoholic extracts. Food Chem 2005;90(1):157-167.
11. Orčić DZ, Mimica-Dukić NM, Francišković MM, Petrović SS, Jovin EĐ: Antioxidant activity relationship of phenolic compounds in Hypericum perforatum L. Chem Cent J 2011;5(1):1-8.
12. Orhan IE, Kartal M: LC-DAD-MS-Assisted quantification of marker compounds in Hypericum perforatum L.(St. John's Wort) and its antioxidant activity'. Turk. J. Pharm. Sci 2015;12:279-286.
13. Lai S, Tay F, Cheung G, Mak Y, Carvalho R, Wei S, Toledano M, Osorio R, Pashley DH: Reversal of compromised bonding in bleached enamel. J Dent Res 2002;81(7):477-481.
14. Türkün M, Kaya A: Effect of 10% sodium ascorbate on the shear bond strength of composite resin to bleached bovine enamel. J Oral Rehabil 2004;31(12):1184-1191.
15. Freire A, Durski MT, Ingberman M, Nakao LS, Souza EM, Vieira S: Assessing the use of 35 percent sodium ascorbate for removal of residual hydrogen peroxide after in-office tooth bleaching. JADA 2011;142(7):836-841.
16. Park J-Y, Kwon T-Y, Kim Y-K: Effective application duration of sodium ascorbate antioxidant in reducing microleakage of bonded composite restoration in intracoronally-bleached teeth. Restor Dent Endod 2013;38(1):43-47.
17. Sharafeddin F, Farshad F: The Effect of Aloe Vera, Pomegranate Peel, Grape Seed Extract, Green Tea, and Sodium Ascorbate as Antioxidants on the Shear Bond Strength of Composite Resin to Home-bleached Enamel. J Dent (Shiraz) 2015;16(4):296-301.

18. Vidhya S, Srinivasulu S, Sujatha M, Mahalaxmi S: Effect of grape seed extract on the bond strength of bleached enamel. Oper Dent 2011;36(4):433-438.
19. Booker A, Agapouda A, Frommenwiler DA, Scotti F, Reich E, Heinrich M: St John's wort (Hypericum perforatum) products - an assessment of their authenticity and quality. Phytomedicine 2018;40:158-164.
20. Sonam K, Guleria S: Synergistic antioxidant activity of natural products. Annal. Pharmacol. Pharm. 2017; 2: 1 2017;6.
21. Freires IA, Rosalen PL: How natural product research has contributed to oral care product development? A critical view. Pharm Res 2016;33(6):1311-1317.
22. Süntar I, Oyardı O, Akkol EK, Ozçelik B: Antimicrobial effect of the extracts from Hypericum perforatum against oral bacteria and biofilm formation. Pharm Biol 2016;54(6):1065-1070.
23. Tanideh N, Namazi F, Tadbir AA, Ebrahimi H, Koohi-Hosseinabadi O: Comparative assessment of the therapeutic effects of the topical and systemic forms of Hypericum perforatum extract on induced oral mucositis in golden hamsters. Int J Oral Maxillofac Surg 2014;43(10):1286-1292.