

DENTAL PROTEZLERDE KULLANILAN MIKNATISLARIN OLUŞTURDUĞU STATİK MANYETİK ALANIN İNSAN GİNGİVAL DOKU FİBROBLASTLARININ MİTOTİK AKTİVİTELERİNE OLAN ETKİLERİNİN *İN VİTRO* İNCELENMESİ*
***In Vitro* Investigation of Effects of Static Magnetic Field Produced by Magnets Used in Dental Prostheses on Human Gingival Tissue Fibroblasts' Mitotic Activity**
Filiz YAĞCI¹, Bülent KESİM², Hilal AKALIN³, Munis DÜNDAR⁴, Halil İbrahim KILINÇ⁵

Özet: Bu çalışmanın amacı dental protezlerde kullanılan mıknatısların oluşturduğu statik manyetik alanın (SMA) insan gingival doku fibroblastlarının mitotik aktivitesine etkisinin *in vitro* olarak araştırılmasıdır.

Bu çalışmada 500 gr çekme kuvvetinde Dyna dental mıknatıslar kullanıldı. Mıknatıslar tek ve çift olmak üzere iki ayrı düzende otopolimerizan akrilik rezine gömüldü. Bilgilendirilmiş onamları alındıktan sonra 14 bireyden alınan dişeti örnekleri kültüre edilerek 2 farklı mıknatıs düzeneğinin oluşturduğu ve şiddeti ölçülen SMA'ya maruz bırakıldı. Her bireyden alınan dişeti örneğinden deney ve kontrol olmak üzere iki ayrı kültür oluşturuldu. Toplamda 28 gingival fibroblast kültürü yapıldı. Kültürler sonlandırıldıktan sonra mitotik indeks analizi yapıldı. Veriler $p=0,05$ anlamlılık düzeyinde student *t* ve eşleştirilmiş *t* testi ile analiz edildi. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, iki deney grubu (Dyna-1ve 2) arasında mitotik indeks değerleri açısından fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,889$). Mıknatıs uygulanması sonucu elde edilen mitotik indeks değerlerinin kendi kontrol değerleri ile karşılaştırıldığı grup içi karşılaştırmalarda da, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Dyna-1 için $p=0,623$; Dyna-2 için $p=0,196$). Bu sonuçlara göre uygulanan manyetik alanın gingival fibroblastlarının mitotik aktivitesini etkilemediği söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Dental mıknatıs, gingival fibroblast, statik manyetik alan, mitotik indeks

Abstract: The aim of this study is to investigate the effects of static magnetic field (SMF) produced by magnets used in dental prostheses, on human gingival tissue fibroblasts' mitotic activity *in vitro*.

For this investigation Dyna dental magnetic attachments which have 500 gr brake-away force were used. Magnets were embedded into cold curing acrylic resin for two different configuration including single and double magnets. After informed consent had been obtained from all subjects, gingival biopsies were taken from 14 individuals and cultured in SMF which is produced by two different magnet configurations. Each gingival biopsy divided into two pieces and cultured as experiment and control flasks. Thereby totally 28 gingival fibroblast cultures were conducted. After cultures had been terminated, mitotic index analysis was performed. The data was analyzed at $p=0,05$ significance level statistically by student *t* and paired *t* test. Our statistical evaluations revealed that, the difference of mitotic index rates, between the two experimental groups (Dyna-1 and 2) was not statistically significant ($p=0,889$). Intra-group comparisons (between experiment and control groups) of mitotic index rates did not reveal any statistically significant difference, either (For Dyna-1 $p=0,62$; for Dyna-2 $p=0,196$). In the light of these results, it can be said that magnetic field applied in this study, did not affect gingival fibroblasts' mitotic activity.

Keywords: Dental magnet, gingival fibroblast, static magnetic field, mitotic index.

¹Dr. Arş. Gör. Erc. Ün. Diş Hek. Fak. Prot. Diş Ted. AD, Kayseri

²Prof. Dr. Erc. Ün. Diş Hek. Fak. Prot. Diş Ted. AD, Kayseri

³Uzman Biy. Erciyes Ün. Tıp Fak. Tıbbi Gen. AD, Kayseri

⁴Prof. Dr. Erciyes Ün. Tıp Fak. Tıbbi Gen AD, Kayseri

⁵Arş. Gör. Erciyes Ün. Diş Hek. Fak. Prot. Diş Ted. AD, Kayseri

Geliş Tarihi : 22.02.2011

Kabul Tarihi : 08.03.2012

***Bu araştırma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSD-08-542 nolu proje ile doktora tezi olarak desteklenmiştir .**

Dental protezlerin yeterli fonksiyonu için tutuculuk esastır. Tutuculuk genellikle sürtünmesel, mekanik kilitleme, atmosferik basınç ve nöromuskuler kontrol ile sağlanır (1).

Geleneksel overdenture desteklerinin tutuculuğu, hassas bağlayıcılar ile artırılabilir. Bunlar teleskobik kronlar, topuzlar, barlar, kök içi ankorlar veya mknatıslar olabilir (2).

Mknatıslar protetik diş tedavisinde, diş ve implant destekli overdenture'larda, hareketli bölümlü protezlerde, obturatörlerde ve çene yüz protezlerinde tutucu eleman olarak kullanılır. Mknatıslar yaygın şekilde overdenture tutuculuğuna yardımcı olmak amacıyla kök destekler üzerinde kullanılmaktadırlar (3).

Küçük boyutlarına karşın güçlü çekim kuvvetine sahip olmaları nedeniyle çok yer kaplamadan protezin içerisine yerleştirilir ve tutuculuk sağlarlar. Temizleme kolaylığı, hasta ve hekim açısından yerleştirilme kolaylığı, otomatik olarak oturma, tutuculuğunun sabit olması (4), protez yerleştirildiğinde veya çıkartıldığında destek dişte çok az stres oluşturması, çok fazla lateral kuvvet iletmemesi, kozmetik görünümünün iyi olması ve hasta tarafından kullanımının kolay olması (5) gibi avantajlara sahiptir. Bunların yanı sıra mknatıslar, giriş yoluna diğer hassas bağlayıcılardan daha az duyarlıdır (6,7).

Ayrıca mknatıslar, hem mandibular hem de maksiller implant destekli, tam-ark bar, sabit-çıkartılabilir protezlerde de kullanılır. İmplant destekli overdenture, implant destekli "keeper" ve proteze yerleştirilen mknatıstan oluşur. İki veya dört implant kullanılabilir ve ağzın ön bölgesine yerleştirilir; maksimum destek ve stabiliteyi sağlamak için geniş aralıklarla yerleştirilir. Mknatıslar, tek implantlar üzerine tutucu olarak veya bir bar ile kombine kullanılabilir (8). Pek çok klinik çalışma mknatısların implant destekli overdenture sistemleri ile başarılı şekilde kullanımını göstermiştir (9-13).

Mknatıslar, belirli bir statik manyetik alana (SMA) sahiptir ve oral kavitede kullanıldıklarında çevre dokular da bu manyetik alana maruz kalır.

SMA'ların, genotoksisite veya diğer karsinojenik süreç üzerine olası etkileri hakkında araştırmalar vardır. Literatürde dental protezlerde ve ortodontide kullanılan mknatıslar tarafından oluşturulan SMA'nın insan vücudundaki etkileri ile ilgili az sayıda araştırma raporu bulunmaktadır. Bu az sayıda raporda ise, ağız içinde kullanılan mknatısların oluşturduğu SMA'ya maruz kalan hücrelerin histolojisi, proliferasyonu, hücre iskeleti yapısı ile mknatıs ve kaplama materyalinin hücre üzerindeki direk sitotoksik etkileri gibi konular araştırılmıştır (14-18).

Manyetik alanların hayati fonksiyonlar üzerindeki etkilerine artan ilgi, insan sağlığı üzerindeki olası zararlı etkileri hakkındaki endişeden kaynaklanmaktadır. Literatürde rapor edilen verilerin manyetik alan yoğunluğu (10^{-7} 'den 10 Tesla (T)'ya), alanın tipi (veya titreşimli) ve manyetik alana maruz bırakılan örnekler (*in vitro* hücre kültürlerinden, insanlara) açısından oldukça heterojen olmasına karşın, manyetik alan ve tümör oluşumu arasında bağlantı öne sürülmüştür (19).

Mitotik indeks, bir hücre popülasyonunda metafazdaki hücrelerin, gözlenen toplam hücre sayısına oranıdır; o popülasyonun proliferasyon derecesinin bir işaretidir. Sitotoksik/sitostatik etkilerin bir ölçüsüdür ve uygulama sonrası zamana bağlıdır. Hücre kültüründen preparat hazırlanması sırasında kontrollerle karşılaştırıldığında mitotik indeks derecesindeki azalma (% 50'den daha fazla), sitotoksisitenin bir işareti olarak düşünülür (20) ve aşağıdaki gibi formüle edilir:

Mitotik indeks= Metafazdaki hücre sayısı / Sayılan toplam hücre sayısı x 100

Dental protezlerde kullanılan mknatısların oluşturduğu statik manyetik alanın hücre bölünmesine etkisi konusunda literatürde sınırlı sayıda araştırma vardır; mitotik indeksin araştırıldığı bir çalışma ise bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışmada dental protezlerde kullanılan mknatısların oluşturduğu statik manyetik alanın (SMA) insan gingival doku fibroblastlarının mitotik aktivitesine etkisinin *in vitro* olarak araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada 500 gr çekme kuvvetinde cerrahi çelik kaplı Nd-Fe-B alaşımı (Dyna Dental Engineering, Hollanda) mıknatıslar kullanıldı.

Mıknatıslar, protezin içindeki konumlarını taklit etmek ve yerlerini sabitlemek amacıyla plastik petri kabı içinde otopolimerizan akrilik rezine tek ve çift mıknatıs olmak üzere iki ayrı düzende gömüldü (Dyna-1 ve Dyna-2) (Resim 1). İki mıknatıs yerleştirilirken yetişkin kadın ve erkek mandibular kaninler arası mesafenin yaklaşık ortalaması esas alındı (25,5 mm) (21). Mıknatıslar akrilik rezine, mıknatısın protez içindeyken ağıza bakan yüzeyi siman camına temas edecek şekilde gömüldü.

Deney grupları için akrilik kaideler, kültür kaplarının altına, kabın geometrik merkezinde olacak şekilde yerleştirildi.

Her grup için mıknatısların çevresinde oluşan manyetik alan bir Gaussmetre (manyetik alan ölçer) (Sypris 5170, F.W Bell, A.B.D.) yardımı ile ölçüldü. Gaussmetre, yerküre ve diğer manyetik kaynaklardan doğan manyetik alanı sıfırlayarak ölçüm yapma özelliğine sahipti.

Çalışmaya başlamadan önce Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi etik kurulundan onay raporu alındı. Dişeti örneklerinin alımı için, sigara içmeyen, ağız hijyeni iyi, herhangi bir kronik hastalığı ve düzenli kullandığı ilaç olmayan, yakın zamanda major radyolojik inceleme geçirmemiş ve 25-50 yaş arasında, gömülü veya yarı gömülü 3. molar diş çekimi operasyonu gerektiren hastalar seçildi. Çekimi yapılan dişte veya çevre dokularda herhangi bir enfeksiyon veya enflamasyon olmasına dikkat edildi. Primer kapatmaya izin verecek şekilde, operasyon bölgesinden 3-4 mm çapında dişeti örneği Dyna-1 ve Dyna-2 grupları için 7'şer örnek olacak şekilde 14 bireyden alındı.



Resim 1. Tek ve çift düzende akrilik rezine gömülmüş mıknatıslar

Alınan her bir diş eti örneği, taşıma medyumunu içersine konularak, bekletilmeden Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Laboratuvarına getirildi. Biyogüvenlik kabiniinde doku ve taşıma medyumunu, kan tüpünden steril edilmiş, kapaklı cam petri kabına transfer edildi ve steril bir bistüri yardımıyla küçük parçalara (yaklaşık 0,5 mm çapında) ayırdı. Bu şekilde bir gece % 5 CO₂ içeren atmosferde, 37 °C'de inkübatörde (*Heraeus, Hera Cell*, Kandro Laboratory Products, *Almanya*) bekletildi. Daha sonra petri kabından steril pastör pipeti ile steril kültür tüpüne alınan materyal 1400 devir/dakikada 5 dakika santrifüje edildi (UNIVERSAL 320, Hettich, Andreas Hettich GmbH Co. KG., katalog no:1401; *Almanya*). Süpernatant atılıp 2 ml tripsin-EDTA (Sigma Aldrich Inc. St. Louis, katalog numarası: T4049; *Missouri, A.B.D.*) ilave edildi. Bir saat boyunca 37 °C'de bekletildi. Yeniden 1400 devir/dakikada 5 dakika santrifüje edildi. Süre sonunda süpernatant atıldı ve 1 ml kollajenaz ve 1 ml ön hazırlık medyumunu ilave edildi. İki saat boyunca 37 °C'de bekletildi. Daha sonra 1400 devir/dakikada 5 dakika santrifüje edilerek süpernatant atıldı ve 2 ml ön hazırlık medyumunu ilave edildi. Tekrar 1400 devir/dakikada santrifüje edilerek süpernatant atıldı. Hücre içeren sıvı iki kısma ayrıldı ve altına mknatıslı akrilik kaide yerleştirilen (deney) ve yerleştirilmeyen (kontrol) kültür kaplarına alınarak BIO-AMF-1 basal medium ve supplement (Biological Industries, *İsrail*), penisilin-streptomisin, L-Glutamine ve heparin içeren doku kültür medyumunu eklenerek % 5 CO₂ içeren atmosferde, 37 °C'de inkübe edildi.

Bir hafta sonra invert ışık mikroskobunda (Eclipse TS100, Nikon, *Japonya*) x200'lük büyütmede kültür kaplarına hücrelerin yapışıp yapışmadığı kontrol edildi (Şekil 1). Yapışma yeterli değilse 37 °C'de ısıtılmış 1 ml doku kültür medyumunu eklenip birkaç gün daha hücrelerin yapışması için beklendi. Kültür süresi hücrelerin yapışma ve üreme hızına bağlı olarak 10-12 gün arasında değişti.

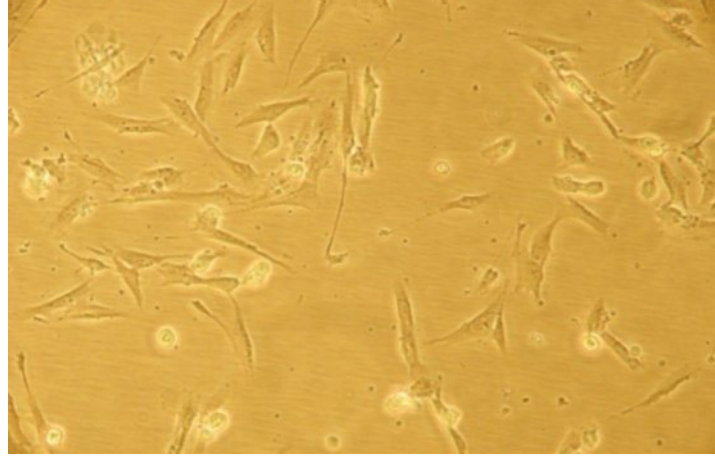
Kültürün Sonlandırılması

Hücreler kültür kabının tabanını kapladıktan sonra, 4 ml % 0,25 tripsin-EDTA (Sigma Aldrich Inc. St. Louis, *Missouri, A.B.D.*) ile kaldırılarak kültür sonlandırıldı. Tripsin-EDTA içerisindeki hücreler kültür tüplerine alındı. Bin rpm'de santrifüj edildikten sonra üzerine 10 ml 0,075 M KCl hipotonik solüsyonu eklenerek hücrelerin şişerek parçalanması sağlandı. Parçalanmış hücreleri fikse etmek için 3:1 oranında metanol:asetik asit kullanıldı.

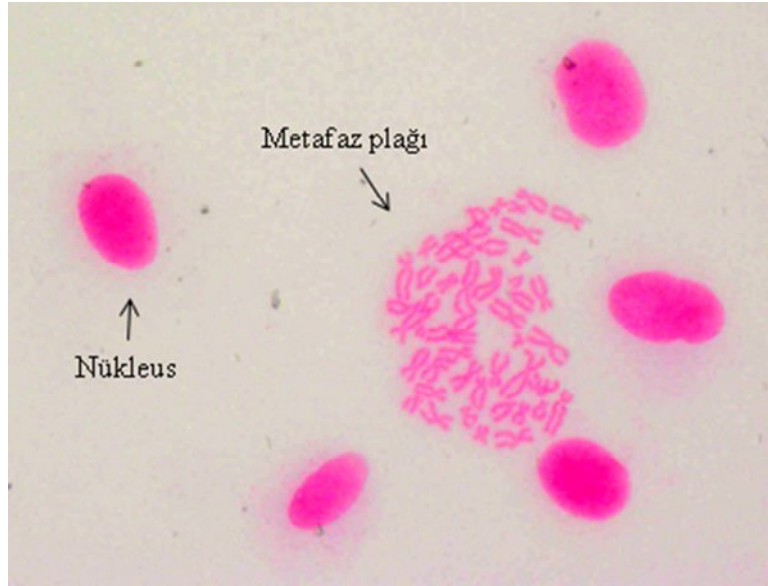
Preparatların Hazırlanması

Pastör pipeti ile fiksatifli hücre içeren kültür tüplerine pipetaj yapılarak hücre süspansiyonundan lamalara 30-40 cm yüksekten 7-8 damla damlatıldı; 2-3 sn bekleyip üzeri soğuk fiksatif ile yıkandı ve preparatlar kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra Giemsa boyası eklenmiş Sorenson tamponu ile boyandı. Kuruyan preparatlar ışık mikroskobunda (Olympus CX41, *A.B.D.*) x400'lük büyütmede bilgisayar programı (Analysis FIVE Image Analysis Software, Soft Imaging System Corp. *A.B.D.*) ile görüntü ekrana yansıtılarak incelendi. Her 1000 hücreden mitozaya giren hücreler (metafaz plağı) sayılmak üzere mitotik indeks sıklığı belirlendi (Şekil 2).

Çalışma sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi, SPSS 15.0 (SPSS Inc., *Chicago, Illinois 60606, A.B.D.*) yazılımı kullanılarak yapıldı. Dyna-1'in kontrol grubu ile Dyna-2'nin kontrol grubu ve Dyna-1'in deney grubu ile Dyna-2'nin deney grubunun karşılaştırılmasında (gruplar arası karşılaştırma) veriler normal dağılım gösterdiğinden Student t Testi kullanıldı. Dyna-1'in kontrol ile deney grubunun ve Dyna-2'nin kontrol ile deney grubunun karşılaştırılmasında (grup içi karşılaştırma) veriler normal dağılım gösterdiği için eşleştirilmiş t testi uygulandı.



Şekil 1. Ekimden 1 hafta sonra kültür kabına yapışan gingival fibroblastların x200'lük büyütmede görünümü



Şekil 2. Nükleuslar ve metafaz plağının x400 büyütmede görünümü

BULGULAR

Mıknatısların manyetik akı ölçümleri

Ölçümler tek mıknatıs için mıknatısın merkezinden, mıknatıs kenarından ve merkezden 5, 10, 15 ve 20 mm uzaklıktan yapıldı.

Çift mıknatısta ise mıknatısların arasındaki mesafenin orta noktasından, mıknatıslardan birinin merkezinden, mıknatısın merkezinden ortaya doğru 5 ve 10 mm mesafelerden yapıldı. Değerler mili Tesla (mT) cinsinden verildi.

Bir Dyna mıknatısın manyetik akı yoğunluğunun mesafeye bağlı değişimi Şekil 3'de, iki Dyna mıknatısın manyetik akı yoğunluğunun mesafeye bağlı değişimi Şekil 4'de görülmektedir.

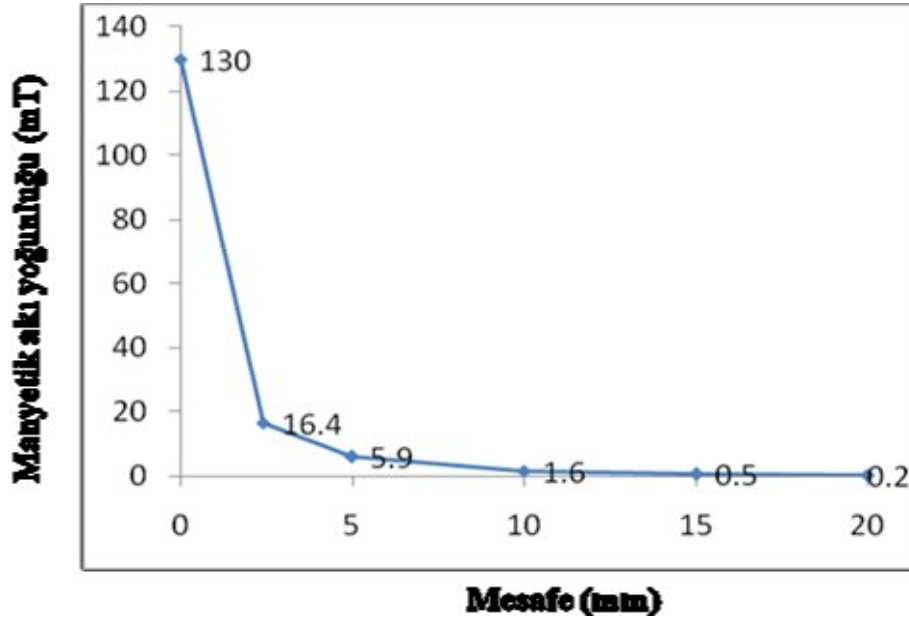
Mitotik İndeks Açısından Grup İçi Farkların İncelenmesi

İstatistiksel analiz sonucunda Dyna-1'in grup içi değerlendirmesinde $p=0,623$; Dyna-2'nin grup içi değerlendirmesinde $p=0,196$ bulunmuştur. (Tablo I). Anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

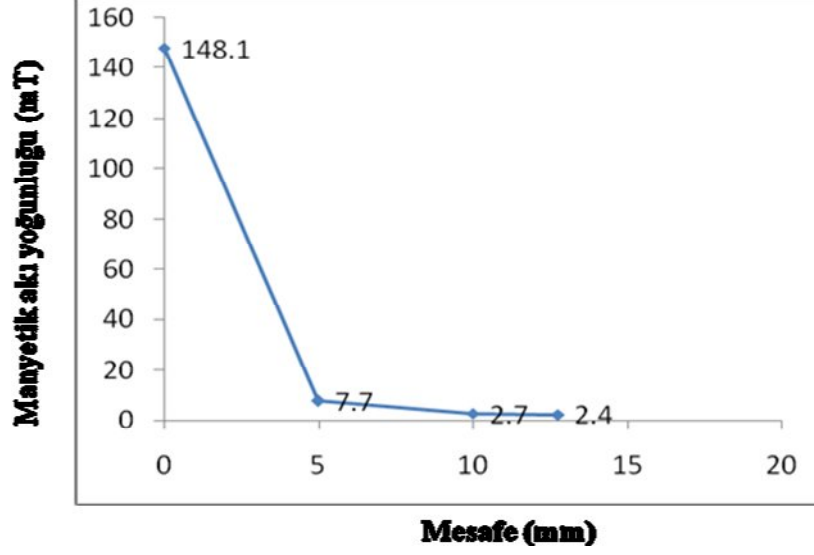
Mitotik İndeks Açısından Gruplar Arası Farkların İncelenmesi

Dyna-1 ve Dyna-2'nin kontrol gruplarının karşılaştırılmasında fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p=0,771$). Bu sonuçla grupların başlangıç değerlerinin denkliği gösterilmiş oldu.

Dyna-1 ve Dyna-2'nin deney gruplarının karşılaştırılmasında fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p=0,889$) (Tablo I).



Şekil 3. Dyna-1'in mesafeye bağlı manyetik akı yoğunluğu



Şekil 4 . Dyna-2'nin mesafeye bağlı manyetik akı yoğunluğu

Tablo I. Dyna-1 ve Dyna -2 grubunun mitotik indeks deney ve kontrol değerlerinin kendi arasındaki ve grup içi farklılıkların istatistiksel olarak incelenmesi

Gruplar (n=7)	Dyna 1	Dyna 2	p
Kontrol	50,143 ± 24,017	58,429 ± 69,457	0,771
Deney	55,429 ± 33,936	51,714 ± 60,052	0,889
p	0,623	0,196	

TARTIŞMA

Manyetik alanların biyolojik sonuçları hakkındaki çalışmalar, memelilere ait çeşitli dokular ve hücreler üzerinde genellikle zararlı olan, şaşırtıcı şekilde geniş spektrumda sonuçlar göstermiştir (22). Ortaya konan sonuçlar ile manyetik alanların biyolojik cevaplara neden olabileceği deneysel olarak gösterilmiştir (23-25).

Mıknatısların biyolojik güvenlik testleri, hem statik manyetik alan etkilerini hem de materyalin veya korozyon ürünlerinin olası toksik etkilerini değerlendirmektedir. Başlıca ilgi alanı olmasına rağmen, mıknatısların insan üzerindeki biyolojik etkileri üzerine bilgiler halen oldukça sınırlıdır. Bununla birlikte çeşitli hayvan örneklerinde ve hücre kültürlerinde bir takım çalışmalar yapılmıştır (26).

Karsinogenezde son nokta, hücre bölünmesinin kontrolünün dikkat çekici kaybıdır (27) ve bu nedenle manyetik alanın hücre proliferasyonu ve büyümesi üzerindeki etkilerinin araştırılması önemlidir (28). Literatürde dental mıknatısların sahip olduğu SMA'nın canlı dokularda neden olabileceği etkiler ile ilgili çalışmalar sınırlıdır.

Yapılan *in vivo* çalışmalar, yumuşak ve sert dokularla yakın temastaki nadir toprak mıknatıslarının mitotik aktiviteyi etkileyebileceğini göstermiştir (29-32).

Hüresel proliferasyon miktarı farklı yöntemler kullanılarak belirlenebilir. Mitotik sayımlar, mitozdaki hücre sayısını tahmin eder ve tümör derece şemasında olduğu gibi yaygın olarak kullanılır. Elde edilen veriler, yorumlama, hesaplama sistemi, dokuların fiksasyonu ve diğer değişkenlerden etkilenebilir (33). Mitotik indeks hücre bölünmesi frekansını yansıtır ve sitotoksosite miktarının belirlenmesi için önemli bir parametredir (34). Bu nedenle bu çalışmada mitotik indeks analizi tercih edilmiştir.

Çalışmamızda, overdenture uygulamalarında farklı sayıda destek diş veya implant üzerinde mıknatıs kullanımını taklit etmek için Dyna mıknatıslar, tek ve çift olarak iki ayrı düzende yerleştirilmiştir. Kapalı alan mıknatıslarının daha az eksternal manyetik alan oluşturduğu bilindiğinden (3) açık alan

mıknatısları seçilmiştir. Mıknatıslar, tutucu yüzeyleri açıkta kalacak şekilde akrilik rezine gömülerek protez içindeki konumları taklit edilmiştir.

Linder-Aronson ve Lindskog (14), Yamaguchi ve ark. (35) ile Yamamoto ve ark.'nın (36) yöntemlerindeki gibi, mıknatıslar hücre kültür kaplarının altına yerleştirilmek suretiyle manyetik alan uygulanmıştır. Böylece, protezin içinde kalan ve dokulara temas etmeyen mıknatısın klinik kullanımı taklit edilmiştir. Kültür kaplarına yapışan hücreler ve mıknatıs arasında, kültür kabının kalınlığı kadar (1 mm) mesafe olduğu için gaussmetre ile yapılan tüm manyetik alan ölçümleri mıknatıs yüzeyinden dikey yönde 1 mm uzaktan yapılmıştır.

Gingival fibroblastlar, diş eti dokularının en büyük kısmını oluşturmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda insan gingival fibroblastlarının kullanılması tercih edilmiştir. Gingival fibroblastlar hasta seçim kriterlerini sağlayan bireylerden alınarak primer hücre kültürleri elde edilmiştir. Primer hücre kültür yöntemi, üretilmelerinin zor olmasının yanında, devamlı hücre kültürlerine göre orijinal fizyolojik durumu ifade etmeleri nedeniyle tercih edilmiştir (37,38). Fakat primer hücre kültürleri bireysel farklılıkları içerdiğinden sonuçların standardizasyonu zordur.

Veriler analiz edilirken grup içi karşılaştırmalarda, her bireye ait kültürden mıknatıs uygulaması sonucu elde edilen değer, kendi kontrolü ile karşılaştırılarak bireylerin başlangıç değerlerindeki farklılıkların sonuca etki etmemesi amaçlanmıştır.

Sato ve ark., HeLa S3 (insan epitelyal karsinoma) hücrelerini ve normal insan gingival fibroblastları kültüre ederek, yüzeyinde 0,2 T manyetik alana sahip Sm-Co mıknatıs bloklarının (5 x 4,5 x 1,5 cm) üzerine yerleştirmişlerdir. Altın kaplı bir iğneyi de vertikal olarak kültür yüzeyine yerleştirmişlerdir. İğne ucu merkezinden 10-0,3 mm uzaklıktaki, 1,1-0,3 T manyetik alana maruz kalan hücrelerin büyüme oranı incelenmiştir. DNA içeriği mikroflorometre ile belirlenmiştir. DNA sentezi ve DNA etiketleme indeksi için 1,1-0,35 T'lik manyetik alandaki hücreler kullanılmıştır. Manyetik alana maruz kalan hücrelerde, kontrollere göre DNA sentezi, DNA içeriği, hücre şekli ve hücre sayısı açısından anlamlı bir farklılık bulunamamışlardır (39).

Linder-Aronson ve Lindslog, çalışmalarında insan periodontal fibroblastlarını paslanmaz çelik kaplı, 32 mm çapında ve 7 mm kalınlığında Nd-Fe-B mıknatısların üzerine yerleştirilen petrielerde 5 hafta süre ile kültüre etmişlerdir. Bu çalışmada hücrelerin yapıştığı tabakada manyetik alan 107 mT ile 230 mT arasında değişmekteydi. Çalışma sonucunda statik manyetik alana maruz kalan hücrelerin yapışması ve büyümesinde belirgin zayıflama görülmüştür. Her iki gözlem de azalmış hücre döngüsü veya mitotik aktivite ile uyumludur (14). Bizim çalışmamızda maksimum manyetik alan yoğunlukları Dyna-1'de mıknatısın merkezinde 130 mT, Dyna-2'de mıknatıslardan birinin merkezinde 148,1 mT ölçülmüştür. Bu çalışmaya göre bizim çalışmamızda mitotik indeksin istatistiksel olarak anlamlı değişim göstermemesi kültür süresinin daha az, uygulanan manyetik alan yoğunluğunun daha fazla oluşuna bağlı olabilir.

Yamaguchi ve ark.'nın insan gingival fibroblastlarını, Sm-Co manyetik blok üzerinde 6-8 ay süreyle 0,2 T manyetik alana maruz bıraktıkları çalışmalarında, hücre proliferasyonu oranı, nükleer DNA içeriği (mikroflorometre ile belirlenmiş), laktat üretimi ve glikoz tüketimi ile ATP içeriği belirlenmiş ve hücre morfolojisi ışık ve elektron mikroskopları ile araştırılmıştır. Sonuçlar kontrol grubuna göre manyetik alana maruz kalan grupta istatistiksel olarak belirgin farklılık göstermemiştir (35).

Mc Donald, Neodimiyum mıknatısın oluşturduğu SMA'nın (0,61 T) varlığında 1, 3, 5, 7 ve 10 gün sürelerince kültüre edilen yeni doğan rat kalvaryum osteoblast ve fibroblastlarını incelemiş ve fibroblastlarda artmış çoğalma ve sistemik aktivite gözlemlenmiştir. Osteoblastlarda ise stimülasyon olmamıştır (40).

Burada kaynak gösterilen çalışmalarda farklı SMA yoğunlukları, saatlerden aylara kadar değişen uygulama süreleri ve farklı hücre tiplerinin kullanılmış ve farklı yöntemlerin uygulanmış olması bu çalışmaların sonuçlarını bizim çalışmamız ile direk karşılaştırmayı zorlaştırmaktadır.

Manyetik alanın hücreler üzerindeki etkilerini değerlendiren çok sayıda çalışma olmasına rağmen, şu ana kadar standart bir deney protokolü belirlenmemiştir. Hücre tipi, hücre döngüsü ve stimülasyon teknikleri değişken sonuçlar göstermiştir ve bu doku cevaplarının spesifikliği, hücre cevapları ve doz ilişkisi ile çatışabilir (41).

Bu çalışmada insan gingival doku fibroblast kültürlerine Dyna mıknatısların tek ve çift konfigürasyonda uygulandığı koşullardaki SMA, 2 deney grubu (Dyna-1 ve 2) arasında $p=0,05$ anlamlılık düzeyinde mitotik indeks değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmamıştır ($p=0,889$). Mıknatıs uygulanması sonucu elde edilen mitotik indeks değerlerinin kendi kontrol değerleri ile karşılaştırıldığı grup içi karşılaştırmalarda, fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (Dyna-1 için $p=0,623$; Dyna-2 için $p=0,196$).

Bu çalışmanın sınırlamaları dahilinde manyetik alan uygulanması kültür süresince gingival fibroblastlarda mitotik aktivite yönünden farklılık oluşturmamıştır. Fakat *in vitro* çalışmaların *in vivo* koşulları tam olarak yansıtmayacağı ve çalışmamızdaki 10-12 günlük kültür süresine karşın manyetik tutuculu overdenture'ların yıllarca kullanılacağı göz önüne alındığında uzun süreli *in vivo* çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Cerny R. *Magnetodontics. The use of magnetic forces in dentistry. Aust Dent J* 1987; 23: 392-394.
2. Jenkins G. *Precision Attachments. A Link to Successful Restorative Treatment. Quintessence Publishing Co Ltd, Illinois 1999, 335-338.*
3. Ulusoy M, Aydın AK. *Diş Hekimliğinde Hareketli Bölümlü Protezler. Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yayınları, Ankara 2003; 487-498.*

4. Riley MA, Walmsley AD, Harris IR. Magnets in prosthetic dentistry. *J Prosthet Dent* 2001; 86: 137-142.
5. Chung CH, Choe HC, Kwak JH. Degradation Phenomena of magnetic attachments used clinically in the oral environment. *Met Mater Int* 2006; 12: 357-364.
6. Walmsley AD. Magnetic retention in prosthetic dentistry. *Dent Update* 2002; 29: 428-433.
7. Allen PF, Ullhuq A, Kearney J. Strategic use of a new dental magnet system to retain partial and complete overdentures. *Eur J Prosthodont Restor Dent* 2005; 13: 81-86.
8. Jackson TR. The application of rare earth magnetic retention to osseointegrated implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1986; 1: 81-92.
9. Carlyle LW, Duncan JM, Richardson JT, Garcia L. Magnetically retained implant denture. *J Prosthet Dent* 1986; 56: 583-586.
10. Strnat KJ. The hard magnetic properties of rare earth-transition metal alloys. *IEEE T Magn* 1972; 8: 511-516.
11. Burns DR, Unger JW, Elswick RK, Beck DA. Prospective clinical evaluation of mandibular implant overdentures. Part I. Retention, stability and tissue response. *J Prosthet Dent* 1995; 73: 354-363.
12. Burns DR, Unger JW, Elswick RK, Beck DA. Prospective clinical evaluation of mandibular implant overdentures. Part II. Patient satisfaction and preference. *J Prosthet Dent* 1995; 73: 364-369.
13. Walmsley AD, Frame JW. Implant supported overdentures-the Birmingham experience. *J Dent* 1997; 25(Suppl 1): 543-547.
14. Linder-Aronson A, Lindskog S. Effects of static magnetic fields on human periodontal fibroblasts in vitro. *Swed Dent J* 1995; 19: 131-137.
15. Abdel-Kader HM, Aref MI, Hussein FA. Coating failure of commercial orthodontic magnets and DNA fragmentation of oral mucosa cells. *Aust Orthod J* 2008; 24: 32-40.
16. Hopp M, Rogaschewski S, Groth TH. Testing the cytotoxicity of metal alloys used as magnetic prosthetic devices. *J Mater Sci Mater Med* 2003; 14: 335-345.
17. Bondemark L, Kurol J, Larsson A. Long-term effects of orthodontic magnets on human buccal mucosa- a clinical, histological and immunohistochemical study. *Eur J Orthod* 1998; 20: 211-218.
18. Bondemark L, Kurol J, Larsson A. Human dental pulp and gingival tissue after static magnetic field exposure. *Eur J Orthod* 1995; 17: 85-91.
19. Mc Cann J, Dietrich F, Rafferty C, Martin AO. A critical review of the genotoxic potential of electric and magnetic fields. *Mutat Res* 1993; 297: 61-95.
20. US EPA. (United States Environmental Protection Agency) 1998. Health Effects Test Guidelines. OPPTS 870.5375. In vitro mammalian chromosome aberration test. EPA 712-C-98-223.
21. Pershad N. Longitudinal Study of Arch Dimensions in Relationship to Growth Pattern, Dental and Skeletal Age. Master of Science, Faculty of Graduate Studies of the University of Manitoba, Canada 2005.
22. Papadopoulos MA. Biological aspects of the use of permanent magnets and static magnetic fields in orthodontics. *Hellenic Orthodontic Review* 1998; 1: 145-157.
23. Becker JJ. Permanent magnets. *Scientific American* 1970; 223: 92-100.
24. Barnothy MF. Biological Effects of Magnetic Fields, Vol II, Plenum Publishing Corp, New York 1969, 103-126.

25. Busby DE. *Space biomagnetics. Space Life Science* 1968; 1: 23-63.
26. Jena AK, Duggal R, Batra P. *Magnet as a dental material - An overview. Trends in Biomaterials and Artificial Organs* 2003; 16 (2): 73-80.
27. Cohen SM, Ellwein LB. *Cell proliferation in carcinogenesis. Science* 1990; 249: 1007-1011.
28. Löscher W, Liburdy RP. *Animal and cellular studies on carcinogenic effects of low frequency (50/60-Hz) magnetic fields. Mutat Res* 1998; 410: 185-220.
29. Linder-Aronson S, Lindskog S. *A morphometric study of bone surfaces and skin reactions after stimulation with static magnetic fields in rats. Am J Orthod Dentofac Orthop* 1991; 99: 44-48.
30. Linder-Aronson S, Lindskog S, Rygh P. *Orthodontic magnets: effects on gingival epithelium and alveolar bone in monkeys. Eur J Orthod* 1992; 14: 255-263.
31. Camilleri S, McDonald F. *Static magnetic field effects on the sagittal suture in Rattus Norvegicus. Am J Orthod Dentofac Orthop* 1993; 103: 240-246.
32. Linder-Aronson A, Rygh P, Lindskog S. *Effects of orthodontic magnets on cutaneous epithelial thickness and tibial bone growth in rats. Acta Odontol Scand* 1995; 53(4): 159-163.
33. Thor AD, Liu S, Moore DH, Edgerton SM. *Comparison of mitotic index, in vitro Bromodeoxyuridine labeling, and MIB-1 assays to quantitate proliferation in breast cancer. J C O* 1999; 17: 470-477.
34. Erdal N, Gürgül S, Çelik A. *Cytogenetic effects of extremely low frequency magnetic field on Wistar rat bone marrow. Mutat Res* 2007; 630: 69-77.
35. Yamaguchi H, Hosokawa K, Soda A, Miyamoto H, Kinouchi Y. *Effects of seven months exposure to a static 0,2 T magnetic field on growth and glycolytic activity of human gingival fibroblasts. Biochim Biophys Acta* 1993; 1156: 302-306.
36. Yamamoto Y, Ohsaki Y, Goto T, Nakasima A, Iijima T. *Effects of static magnetic fields on bone formation in rat osteoblast cultures. J Dent Res* 2003; 82(12): 962-966.
37. Browne RM. *The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials-does it have a role? Int Endod J* 1988; 21: 50-58.
38. Mjör IA, Hensten-Pettersen A. *The Biological Compatibility of Alternative Alloys. Int Dent J* 1983; 33: 35-40.
39. Sato K, Yamaguchi H, Miyamoto H, Kinouchi Y. *Growth of human cultured cells exposed to a non-homogeneous static magnetic field generated by Sm-Co magnets. Biochim Biophys Acta* 1992; 1136: 231-238.
40. McDonald F. *Effect of static magnetic fields on osteoblasts and fibroblasts in vitro. Bioelectromagnetics* 1993; 14: 187-196.
41. Kim HJ, Chang IT, Heo SJ et al. *Effect of magnetic field on the fibronectin adsorption, cell attachment and proliferation on titanium surface. Clin Oral Implants Res* 2005; 16: 557-562.