

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENTAL PROTEZLERDE KULLANILAN MIKNATISLARIN
OLUŞTURDUĞU STATİK MANYETİK ALANIN İNSAN GİNGİVAL
DOKU FİBROBLASTLARINA OLAN GENOTOKSİK
ETKİLERİNİN *İN VİTRO* İNCELENMESİ**

**Tezi Hazırlayan
Filiz YAĞCI**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr. Bülent KESİM**

**Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Kasım 2010
KAYSERİ**

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENTAL PROTEZLERDE KULLANILAN MIKNATISLARIN
OLUŞTURDUĞU STATİK MANYETİK ALANIN İNSAN GİNGİVAL
DOKU FİBROBLASTLARINA OLAN GENOTOKSİK
ETKİLERİNİN *İN VİTRO* İNCELENMESİ**

**Tezi Hazırlayan
Filiz YAĞCI**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr. Bülent KESİM**

**Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TSD-08-542 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Kasım 2010
KAYSERİ**

Prof.Dr. Bülent KESİM Danışmanlığında tarafından hazırlanan “**Dental Protezlerde Kullanılan Mıknatısların Oluşturduğu Statik Manyetik Alanın İnsan Gingival Doku Fibroblastlarına Olan Genotoksik Etkilerinin İn Vitro İncelenmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Protetik Diş Tedavisi** Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

30/11/2010

JÜRİ**İmza**

Başkan : Doç. Dr. Atilla Gökhan ÖZYEŞİL



Üye : Prof. Dr. Bülent KESİM (DANIŞMAN)

Üye : Doç. Dr. Tancan UYSAL



Üye : Yrd. Doç. Dr. Ayşegül GÜLERYÜZ GÜRBULAK

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mustafa ZORTUK

**ONAY**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim boyunca değerli bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve kendime her zaman örnek alacağım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Bülent KESİM'e ve bizlerle bilgilerini paylaşan anabilim dalımızdaki tüm öğretim üyelerine,

Tez çalışmamın deney aşamasındaki katkılarından dolayı E.Ü. Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Munis DÜNDAR'a ve doktora öğrencisi Hilal AKALIN'a, teknik imkanlarından yararlandığım Ortodonti Anabilim Dalına,

İstatistik değerlendirmelerindeki katkılarından dolayı Sayın Öğr. Gör. Dr. Ahmet ÖZTÜRK ve asistan arkadaşım Dt. Halil İbrahim KILINÇ'a

Tüm yaşantım boyunca sonsuz sevgi ve desteklerini esirgemeyerek bugünlere gelmemi sağlayan, sevgili babam ve anneme,

Her konuda olduğu gibi tez çalışmam boyunca da yardımlarını eksik etmeyen sevgili eşim Ahmet YAĞCI'ya bütün kalbimle teşekkürlerimi sunarım.

**DENTAL PROTEZLERDE KULLANILAN MIKNATISLARIN OLUŞTURDUĞU STATİK
MANYETİK ALANIN İNSAN GİNGİVAL DOKU FİBROBLASTLARINA OLAN
GENOTOKSİK ETKİLERİNİN *İN VİTRO* İNCELENMESİ**

ÖZET

Bu çalışmanın amacı dental protezlerde kullanılan mıknatısların oluşturduğu statik manyetik alanın (SMA) insan gingival doku fibroblastlarına olan genotoksik etkilerinin mikronükleus, mitotik indeks analizleri ve agaroz jel elektroforezi ile DNA kırığının değerlendirilmesi yöntemleriyle *in vitro* olarak araştırılmasıdır.

Bu araştırmada 500 gr çekme kuvvetinde Dyna ve 173 gr çekme kuvvetinde Steco marka dental mıknatıslar kullanıldı. Mıknatıslar tek ve çift olmak üzere iki ayrı düzende otopolimerizan akrilik rezine gömülerek 4 farklı konfigürasyon elde edildi. Bilgilendirilmiş onamları alındıktan sonra 28 bireyden alınan dişeti örnekleri kültüre edilerek 4 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 56 gingival fibroblast kültürü yapıldı. Kültürler sonlandırıldıktan sonra mikronükleus ve mitotik indeks analizleri yapıldı. Veriler $p=0,05$ anlamlılık düzeyinde ANOVA, Wilcoxon işaret testi ve eşleştirilmiş t testi ile analiz edildi. Agaroz jel elektroforezi yöntemi ile DNA kırıkları incelendi. .

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, 4 deney grubu (Dyna-1 ve 2; Steco-1 ve 2) arasında mitotik indeks değerleri açısından fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,764$). Mıknatıs uygulanması sonucu elde edilen mitotik indeks değerlerinin kendi kontrol değerleri ile karşılaştırıldığı grup içi karşılaştırmalarda da, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Mıknatıs uygulanan 4 deney grubu arasında mikronükleus oluşumu açısından fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p = 0,350$). Mıknatıs uygulaması sonucu elde edilen mikronükleus değerlerinin kendi kontrol değerleri ile karşılaştırıldığı grup içi karşılaştırmalarda, sadece Steco-2 grubunda fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0,016$). Yani Steco-2 grubu kontrollere göre daha fazla mikronükleus oranına neden olmuştur. Agaroz jel elektroforez yöntemi ile elde edilen görüntüye göre DNA kırıklarının rastgele büyüklükte olduğu söylenebilir ve genellikle mıknatıs uygulanan örneğin, kontrolü ile görüntüsü benzerdir. Bu nedenle uygulanan SMA'nın DNA kırıklarını artırdığı söylenemez.

Anahtar kelimeler: Dental mıknatıs, gingival fibroblast, statik manyetik alan, genotoksisite.

**IN VITRO INVESTIGATION OF GENOTOXIC EFFECTS OF STATIC MAGNETIC
FIELD PRODUCED BY MAGNETS USED IN DENTAL PROSTHESES ON HUMAN
GINGIVAL TISSUE FIBROBLASTS**

ABSTRACT

The aim of this study is to investigate *in vitro* genotoxic effects of static magnetic field (SMF) produced by magnets used in dental prostheses on human gingival tissue fibroblasts by micronuclei, mitotic index analysis and evaluation of DNA strand breaks by agarose gel electrophoresis assay.

For this investigation Dyna dental magnetic attachment which has 500 gr brake-away force and Steco dental magnetic attachment which has 173 gr brake-away force were used. Magnets embedded into cold curing acrylic resin for 4 different configuration including single and double magnets of each type. After informed consent had been obtained from all subjects, gingival biopsies were taken from 28 individuals and cultured in SMF which is produced by 4 different magnet configurations. Each gingival biopsy divided into two pieces and cultured as experiment and control flasks. Thereby totally 56 gingival fibroblast cultures were conducted. After cultures had been terminated, micronucleus and mitotic index analysis were performed. The data was analyzed at $p=0,05$ significance level statistically by ANOVA, Wilcoxon signed rank test and paired t test. DNA strand breaks were evaluated by agarose gel electrophoresis assay. As a result of our statistically evaluations it was seen that, in terms of mitotic index rates, among the 4 experimental groups (Dyna-1 and 2; Steco-1 and 2) the difference hadn't been found statistically significant ($p= 0,764$). Intra-group comparisons (between experiment and control groups) of mitotic index rates didn't reveal any statistically significant difference, too. In terms of micronucleus rates, among the 4 experimental groups (Dyna-1 ve 2; Steco-1 ve 2) the difference hadn't been found statistically significant ($p = 0,350$). Among intra-group comparisons (between experiment and control groups) of micronucleus rates, only Steco-2 group revealed statistically significant difference ($p = 0,016$). So, application of Steco-2 group caused more micronucleus rate according to controls. According to image that was provided from agarose gel electrophoresis assay, it can be said that DNA strand breaks' dimensions were random and typically the subject's view which was exposed to static magnetic field and its control subject's view were similar. Therefore it can't be said that the SMF that is applied with our magnetic attachments, increase DNA strand breaks in gingival fibroblasts.

Keywords: Dental magnet, gingival fibroblast, static magnetic field, genotoxicity.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇ KAPAK.....	I
KABUL ONAY SAYFASI.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLO LİSTESİ.....	IX
ŞEKİL LİSTESİ	X
RESİM LİSTESİ.....	XI
KISALTMALAR.....	XII
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.MANYETİZM	3
2.1.1.Manyetizm ve Tarihçesi	3
2.1.2.Mıknatıslar ve Fiziksel Özellikleri	4
2.1.2.1.Manyetik Alan ve Manyetik Alan Şiddeti.....	4
2.1.2.2.Manyetik Akı ve Manyetik Akı Yoğunluğu.....	4
2.1.2.3.Maddelerin Manyetik Özellikleri	5
2.2. DENTAL MANYETİK TUTUCULAR	6
2.2.1.Mıknatısların Protetik Diş Tedavisinde Kullanımının Tarihsel Gelişimi	8
2.2.2.Mıknatısların Protetik Diş Tedavisinde Kullanımı.....	10
2.2.2.1.Dental Protezlerde Kullanılan Mıknatıs Sistemleri	11
2.2.2.1.1.Çift ve Tek Mıknatıs Sistemleri.....	11
2.2.2.1.2.Kapalı Alan ve Açık Alan Mıknatıs Sistemleri	12
2.2.2.2.Klinik Prosedürler.....	13
2.2.2.3. Manyetik Tutucuların Avantaj ve Dezavantajları.....	14
2.3.MANYETİK ALANLARIN BİYOLOJİK ETKİLERİ	16
2.4.HÜCRE KÜLTÜRÜ	21
2.4.1.Hücre Kültürü Teknikleri	22
2.4.1.1.Primer Hücre Kültürleri	22
2.4.1.2.Devamlı Hücre Kültürleri	22

	<u>Sayfa no</u>
2.4.1.3.Diploid Hücre Kültürleri.....	23
2.4.2.Hücre Kültürlerinin Avantajları	23
2.4.3.Hücre Kültürlerinin Dezavantajları	24
2.5.GENOTOKSİSİTE.....	24
2.5.1.Mitotik Hücre Siklusu	26
2.5.2.Özelleşmiş Sitogenetik Tanı Yöntemleri.....	27
2.5.2.1.Kardeş Kromatid Değişimi ‘Sister Chromatid Exchange’ (SCE).....	28
2.5.2.2.Mikronükleus (MN) Analizi.....	28
2.5.2.3.Frajl Bölge Tespiti.....	29
2.5.3.Mitotik İndeks	29
2.5.4.Agaroz Jel Elektroforezi	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1.GRUPLARIN OLUŞTURULMASI.....	31
3.2.DİŞETİ ÖRNEĞİNİN ALINMASI.....	35
3.3.GİNGİVAL FİBROBLAST KÜLTÜRÜ.....	36
3.3.1.Hücre Kültüründe Kullanılan Medyumların İçeriği	36
3.3.1.1.Taşıma Medyumu	36
3.3.1.2.Ön Hazırlık Medyumu	36
3.3.1.3.Doku Kültür Medyumu.....	36
3.3.2.Hücre Kültürünün Hazırlanması ve Takibi.....	37
3.3.3.Hücre Kültürünün Sonlandırılması (Çıkarım)	41
3.3.3.1.Pasajlama İle Elde Edilen Kültürün Çıkarımı	41
3.3.3.2.DNA İzolasyonu.....	41
3.3.3.3.İlk Ekim Yapılan Kültürün Çıkarımı	42
3.3.4.Preparatların Hazırlanması	42
3.3.5.Preparatların Boyanması.....	43
3.4.MİKRONÜKLEUS ANALİZİ.....	43
3.5.MİTOTİK İNDEKS ANALİZİ	45
3.6.AGAROS JEL ELEKTROFOREZİ	45
3.6.1.Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması.....	45
3.7.İSTATİSTİKSEL YÖNTEM	47
4.BULGULAR	48
4.1.MIKNATISLARIN MANYETİK AKI ÖLÇÜMLERİ	49

4.2.MİKRONÜKLEUS BULGULARI	51
4.2.1.Kontrol Grupları Arasındaki Farklılığın İncelenmesi	52
4.2.2.Bir Adet Dyna Mıknatıs Uygulanan Grubun (Dyna-1) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi.....	53
4.2.3.İki Adet Dyna Mıknatıs Uygulanan Grubun (Dyna-2) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi.....	54
4.2.4.Bir Adet Steco Mıknatıs Uygulanan Grubun (Steco-1) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi.....	55
4.2.5.İki Adet Steco Mıknatıs Uygulanan Grubun (Steco-2) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi.....	56
4.2.6.Farklı Mıknatıs Uygulanan Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi	57
4.3.MİTOTİK İNDEKS BULGULARI.....	58
4.3.1.Kontrol Grupları Arasındaki Farklılığın İncelenmesi	58
4.3.2.Bir Adet Dyna Mıknatıs Uygulanan Grubun (Dyna-1) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi.....	59
4.3.3.İki Adet Dyna Mıknatıs Uygulanan Grubun (Dyna-2) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi.....	60
4.3.4.Bir Adet Steco Mıknatıs Uygulanan Grubun (Steco-1) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi.....	61
4.3.5.İki adet Steco Mıknatıs Uygulanan Grubun (Steco-2) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi.....	62
4.3.6.Farklı Mıknatıs Uygulanan Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi	63
4.4.DNA KIRIĞININ ANALİZİ.....	64
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	66
5.1.ÇALIŞMANIN AMACI	66
5.2. GEREÇ VE YÖNTEMİN BELİRLENMESİ.....	67
5.3. İNSAN GİNGİVAL DOKULARINDA SMA’NIN ETKİLERİ İLE İLGİLİ YAPILAN ARAŞTIRMALAR.....	70
5.4.ÇEŞİTLİ HÜCRE VE HAYVANLAR ÜZERİNDE MANYETİK ALANLARIN ETKİLERİ İLE İLGİLİ YAPILAN ARAŞTIRMALAR	72
6.KAYNAKLAR.....	82
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO LİSTESİ

Sayfa no

Tablo 3.1.	Çalışmada kullanılan manyetik tutucular.....	32
Tablo 4.1.	Farklı marka ve sayıda mıknatıs uygulanan ve uygulanmayan gruplardaki mikronükleuslu hücre sayıları (MN'li hücre/2000 hücre)	51
Tablo 4.2.	Kontrol grupları arasındaki farklılığın incelenmesi.....	52
Tablo 4.3.	Dyna-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi	53
Tablo 4.4.	Dyna-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi	54
Tablo 4.5.	Steco-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi	55
Tablo 4.6.	Steco-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi	56
Tablo 4.7.	Mıknatıs uygulanan gruplardaki farklılığın incelenmesi	57
Tablo 4.8.	Farklı marka ve sayıda mıknatıs uygulanan ve uygulanmayan gruplardaki mitoz sayıları (mitoz sayısı/1000 hücre)	58
Tablo 4.9.	Kontrol grupları arasındaki farklılığın incelenmesi.....	58
Tablo 4.10.	Dyna-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi	59
Tablo 4.11.	Dyna-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi	60
Tablo 4.12.	Steco-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi	61
Tablo 4.13.	Steco-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi	62
Tablo 4.14.	Mıknatıs uygulanan gruplardaki farklılığın incelenmesi	63

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Şekil 2.1. Mıknatısların maksimum enerji ürünündeki (BH max) kronolojik sıraya göre ilerleme	6
Şekil 2.2. Kapalı alan mıknatıs sistemi	12
Şekil 2.3. Açık alan mıknatıs sistemi	13
Şekil 2.4. DNA’da mutasyon sonucu oluşan moleküler değişikliklerin sınıflandırılması.....	26
Şekil 2.5. Mitoz. Somatik hücre bölünmesinin aşamaları	27
Şekil 2.6. Mikronükleuslu hücrelerin oluşumu.....	29
Şekil 4.1. Dyna-1’in mesafeye bağlı manyetik akı yoğunluğu.	49
Şekil 4.2. Dyna-2’nin mesafeye bağlı manyetik akı yoğunluğu.	50
Şekil 4.3. Steco-1’in mesafeye bağlı manyetik akı yoğunluğu.....	50
Şekil 4.4. Steco-2’nin mesafeye bağlı manyetik akı yoğunluğu.....	51
Şekil 4.5. Kontrol grupları arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü	52
Şekil 4.6. Dyna-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü.....	53
Şekil 4.7. Dyna-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü.....	54
Şekil 4.8. Steco-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü.....	55
Şekil 4.9. Steco-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü.....	56
Şekil 4.10. Mıknatıs uygulanan gruplardaki farklılığın grafik üzerinde görünümü.....	57
Şekil 4.11. Kontrol grupları arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü.	59
Şekil 4.12. Dyna-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü.....	60
Şekil 4.13. Dyna-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü.....	61
Şekil 4.14. Steco-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü.....	62
Şekil 4.15. Steco-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü.....	63
Şekil 4.16. Mıknatıs uygulanan gruplardaki farklılığın grafik üzerinde görünümü.....	64
Şekil 5.1. Manyetik alanın rol oynayabileceği klasik karsinogenez basamakları	80

RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Resim 3.1. Dyna mıknatıs ve Steco mıknatıs	32
Resim 3.2. Kullanılan akrilik kaideler	33
Resim 3.3. Gaussmetrenin görünümü	34
Resim 3.4. Gaussmetre probu ile ölçümün yapılışı	34
Resim 3.5. Tek mıknatıs için manyetik alan ölçüm noktaları	35
Resim 3.6. Çift mıknatıs için manyetik alan ölçüm noktaları	35
Resim 3.7. Supplement ve basal medyum.....	37
Resim 3.8. İnkübatör.....	38
Resim 3.9. Santrifüj.	39
Resim 3.10. Mıknatıs uygulanmış kültür kabı.....	39
Resim 3.11. Mıknatıs uygulanmamış kontrol kültür kabı	40
Resim 3.12. Ekimden 1 hafta sonra kültür kabına yapışan gingival fibroblastların x200'lük büyütmede görünümü	40
Resim 3.13. İzole edilmiş DNA içeren tüpler	42
Resim 3.14. Mikroskoptaki görüntünün bilgisayara aktarılması.....	44
Resim 3.15. Mikronükleus görünümü.	44
Resim 3.7. Nükleuslar ve metafaz plağının x400 büyütmede görünümü	45
Resim 3.8. Agaroz jel elektroforez sistemi	47
Resim 4.1. Tüm gruplardan izole edilen DNA'ların agaroz jel elektroforezi görüntüsü	65

KISALTMALAR

SMA	: Statik manyetik alan
Wb	: Weber
G	: Gauss
T	: Tesla
Sm-Co	: Samaryum-Kobalt
Nd-Fe-B	: Neodmiyum-Demir-Bor
PTFE	: Politetrafloroetilen
Co-Pt	: Kobalt-Platin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
MN	: Mikronükleus
Mİ	: Mitotik İndeks
mT	: MiliTesla
Fe	: Demir
Ni	: Nikel
Co	: Kobalt
mm	: Milimetre
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mıknatıslar diş hekimliğinde büyük ilgi uyandırmıştır ve pek çok kullanım alanına sahiptir. Temel kullanım alanları protetik ve ortodontik tedavilerdir. Protetik diş tedavisinde, diş ve implant destekli overdenture’larda, hareketli bölümlü protezlerde, obturatörlerde ve çene yüz protezlerinde tutucu eleman olarak kullanılır. Ortodontide dişlerin intrüzyonu, ark telleri boyunca diş hareketi, ekspansiyon, sabit tutuculuk, ön açık kapanışın düzeltilmesinde, fonksiyonel apareylerde ve gömülü dişlerin sürdürülmesinde kullanılır. Manyetik tutucular, 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 manyetik tutucular tarafından oluşturulan SMA’nın insan vücudundaki etkileri ile ilgili az sayıda araştırma raporu bulunmaktadır. Günümüze kadar yapılmış olan araştırmalar, dental manyetik tutucuların oluşturduğu SMA’ya maruz kalan hücrelerin histolojisi, proliferasyonu, differensiasyonu, hücre iskeleti yapısı ve dental manyetik tutucuların hücre üzerindeki direk sitotoksik etkileri gibi konular üzerinde yoğunlaşmıştır. Yine literatürde dental manyetik tutucular dışında, diğer SMA kaynaklarının (manyetik rezonans görüntüleme, elektrikli aletler, yüksek gerilim hatları, manyetik yükselticili trenler vb.) canlılar

zerindeki etkileri, hücre büyümesi, morfolojisi, oryantasyonu, hücrede iyon transferi, mutasyon ve mikronükleus indüksiyonu, proto-onkogen ekspresyonu ve hücresel stres cevap proteinleri gibi indikatörler yoluyla araştırılmıştır. Dental manyetik tutucuların oluşturduğu manyetik alanın hücrenin genetik yapısı ve hücre bölünmesine etkisi konusunda ise araştırma sayısı oldukça azdır. Bu nedenle, bu çalışmada dental protezlerde kullanılan manyetik tutucuların oluşturduğu SMA'nın insan gingival doku fibroblastlarında oluşturduğu genotoksik etkinin mikronükleus, mitotik indeks analizi ve agaroz jel elektroforezi ile DNA kırığının tespit edilmesi yöntemleriyle *in vitro* olarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.MANYETİZM

2.1.1.Manyetizm ve Tarihçesi

Manyetizme dair ilk söylemler, manyetizme ismini veren eski Yunan'a dayanır. Bir Yunan kenti ve Anadolu'da bir vilayet olan 'Magnesia'dan türer. 'Magnet' kelimesinin etimolojik kökeni 'Magnesia taşı' anlamındadır. Bu taş manyetitden (Fe_3O_4) oluşmaktaydı ve bir parça demirin buna sürtüldüğünde manyetize olacağı bilinirdi. Manyetik materyallerdeki saklı gücü kullanmak için daha ciddi çabalar, çok daha sonraları sarf edildi. Örneğin, 18. yüzyılda küçük manyetik materyal parçaları birleştirilerek, önemli ölçüde kaldırma kuvveti olduğu keşfedilen daha büyük mıknatıslara dönüştürüldü. Pek çok ünlü bilim adamının (Gauss, Maxwell ve Faraday) manyetizm fenomenini teorik yönden ele almasına rağmen, 20. yy fizikçileri manyetik materyallere doğru tanımı vermek ve modern teknolojinin temellerini kurmak için çaba harcamalıydı. Curie ve Weiss, spontan manyetizasyon ve ısıya bağlılığını açığa çıkardı. Manyetik alanın varlığı Weiss tarafından bir materyalin nasıl manyetize olacağını ve bununla birlikte nasıl sıfır manyetizasyona sahip olacağını açıklamak için varsayıldı. Bu manyetik alan duvarlarının özellikleri Bloch, Landau ve Néel tarafından detaylarıyla çalışıldı (1).

2.1.2.Mıknatıslar ve Fiziksel Özellikleri

Genel olarak kendisinden belirli bir uzaklıkta bulunan demir, çelik, nikel, kobalt gibi iletkenler ile bu iletkenlerin alaşımlarını kendine çekme özelliği gösteren cisimlere *mıknatıs* adı verilir. Uygulamada mıknatıslar, tabii mıknatıslar ve yapay mıknatıslar olarak iki sınıfa ayrılırlar. Tabii mıknatıslar metalurji biliminde *mağnetite* adı verilen ve kimyasal bileşeni Fe_3O_4 olan demir oksitten başka bir şey değildir. Bazı cisimlere mıknatıs özellikleri taşımadıkları halde bir takım tekniklerle mıknatıslık özelliği kazandırılabilir. İşte sonradan mıknatıslık özelliği kazandırılan demir, nikel kobalt gibi cisimlere yapay mıknatıslar denilir (2).

2.1.2.1.Manyetik Alan ve Manyetik Alan Şiddeti

Basitçe tanımlamak gerekirse bir mıknatısın etrafında meydana gelen bölgeye "manyetik alan" denir. Manyetik alan içinde bulunan manyetik cisimler üzerine manyetik kuvvet etki eder ve bu kuvvetin şiddeti, manyetik alanın büyüklüğü ile orantılıdır. Manyetik alan şiddetine bazen sadece alan şiddeti denir, H harfi ile gösterilir ve birimi Henry'dir.

Vektörel bir büyüklük olan manyetik alan veya manyetik alan şiddetine teğet ve alanla aynı yöndeki hayali çizgilere "manyetik kuvvet çizgileri" adı verilir. Manyetik kuvvet çizgilerinin yoğunluğu mıknatısın kutuplarına yaklaştıkça artar, uzaklaştıkça azalır. Bu kuvvet çizgileri mıknatısın içinden de geçerek kapalı bir devre oluştururlar. Manyetik kuvvet çizgilerinin yönünün mıknatısın N kutbundan sonsuza ve sonsuzdan da S kutbuna doğru olduğu varsayılır. Ancak mıknatısın içerisinde manyetik kuvvet çizgilerinin yönü S kutbundan N kutbuna doğrudur. Manyetik kuvvet çizgileri genelde bütün malzemelerden geçer, birbirlerini kesmezler ancak, birbirlerini iterler (2).

2.1.2.2.Manyetik Akı ve Manyetik Akı Yoğunluğu

En basit tanımıyla bir mıknatısın kuvvet çizgileri sayısına "manyetik akı" diyebiliriz. Birimi Weber (Wb)'dir. Manyetik akı yoğunluğu ise birim yüzeyden dik olarak geçen manyetik kuvvet çizgilerinin sayısıdır. Manyetik akı yoğunluğu B harfi ile gösterilir (2).

Manyetik akı yoğunluğu (B), Gauss (G), Tesla (T), weber/metre² (Wb/m^2) veya Vs/ m² olarak ifade edilebilir.

$$1 \text{ T} = 1 \text{ Wb/m}^2 = 1 \text{ Vs/ m}^2 = 1 \times 10^4 \text{ G} \quad (3)$$

Herhangi iki mıknatıs arasındaki çekme veya itme kuvveti, aralarındaki mesafenin karesi ile ters orantılıdır; akı yoğunluğu ise mıknatısın büyüklüğü ile doğru orantılıdır (4).

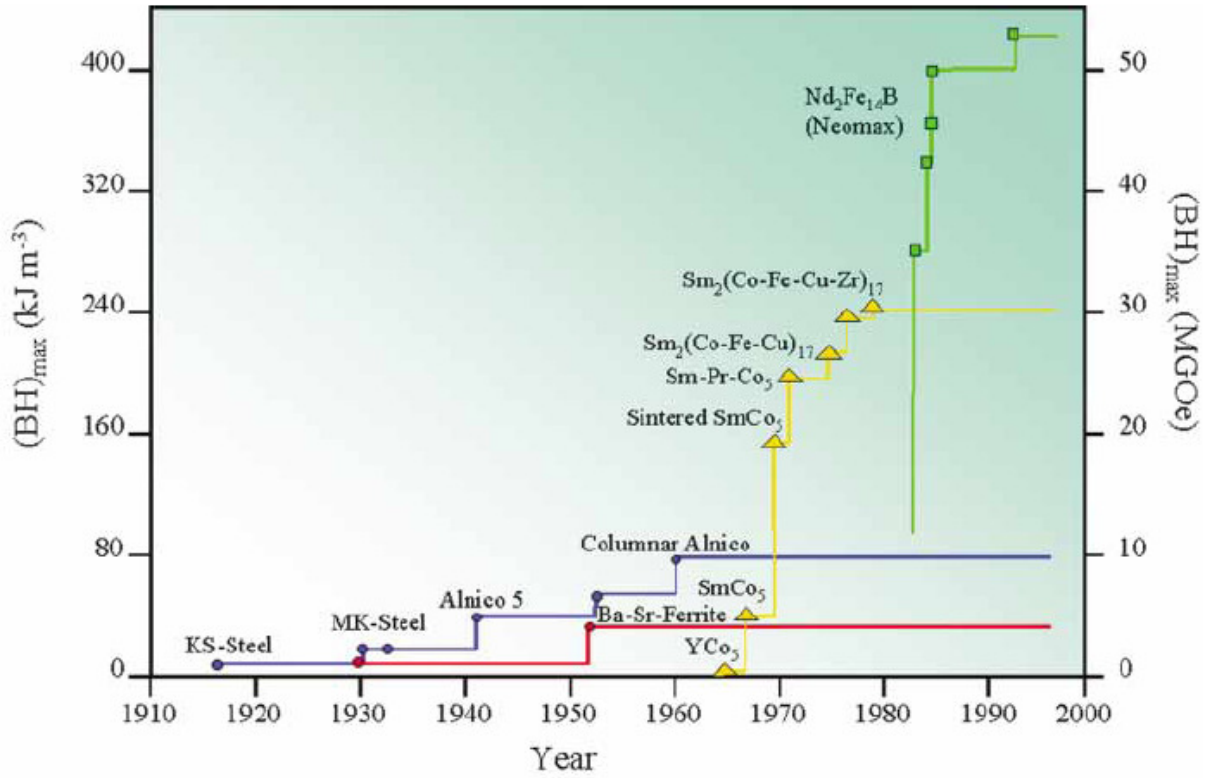
2.1.2.3.Maddelerin Manyetik Özellikleri

Tabii bir mıknatıs ya da bir elektromıknatıs tarafından oldukça zayıf bir itme kuvveti ile itilen bakır, bizmut, altın, gümüş, kurşun, sodyum klorür, quartz, kükürt, elmas, grafit, su ve sıvı azot gibi maddeler *diamanyetik* maddeler olarak bilinir. Ayrıca inorganik bileşiklerin çoğu ve hemen hemen bütün organik bileşikler yine diamanyetik maddelerdir.

Manyetik alan içine yerleştirildikleri zaman manyetik kuvvet çizgilerinin içinden geçmesine izin veren sodyum, potasyum, titanyum, alüminyum, bakır klorür, nikel sülfat ve sıvı oksijen gibi maddeler *paramanyetik* maddelerdir.

Manyetik alan içinde kalınca çok iyi mıknatıslanma özelliği gösteren saf demir, nikel, kobalt, çelik ve manyetit gibi maddelere *ferromanyetik* maddeler denir (2).

Her atom bir mıknatıstır, çünkü elektronlar çekirdeğin çevresinde yörüngede dönerek manyetik alan oluşturur. Bununla birlikte, çoğu elektron çifttir ve eşit ve karşıt alanlar birbirini dengeler. Fe, Ni ve Co gibi bazı atomlarda küçük bir manyetik alan yaratan eşleşmeyen elektronlar vardır. Manyetik bir materyalde bu atomların büyük bir kısmı "etki alanı (domain)" adı verilen küçük bölgelerde sıralanır. Manyetize olmayan bir durumda, bu bölgeler rastgele yerleşmiştir. Manyetik alan (H) uygulandığında, etki alanları sıralanır ve örnekte bir doygunluk noktasına (Ms) ulaşacak manyetizasyon oluşturur. Örnekteki bu manyetizasyon, eşit fakat zıt yönde alan uygulanmasıyla sıfır olur. Bu noktadaki H değeri, "intrinsik koersivite" (iHc) dir. Daimi bir mıknatıs için maksimum enerji ürünü (BH max), gücünün bir işaretidir. Bu değer ne kadar büyükse, mıknatıs tarafından üretilen alan o kadar büyüktür (5). Son yüzyılda, çeşitli mıknatıs materyallerinin geliştirilmesi ve enerji ürünündeki ilerlemeler şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Mıknatısların maksimum enerji ürünündeki (BH max) kronolojik sıraya göre ilerleme (5)

Manyetik materyaller, yumuşak veya sert olarak sınıflandırılabilirler. Bir materyalin sert veya yumuşak oluşu, uygulanan bir manyetik alanın kaldırılmasından sonra manyetik özelliklerini sürdürüp sürdürmemesine bağlıdır. Manyetik olarak yumuşak materyaller, doygunluğa ulaşmak için küçük alanlara gereksinim duyarken, manyetik olarak sert materyaller daha büyük alanlar gerektirir. Uygulanan manyetik alan kaldırıldığında daimi mıknatıs veya sert mıknatıs, manyetizasyonun çoğunu korur (5). Manyetize olabilen bir materyalin sertliği veya yumuşaklığı "intrinsik koersivite" olarak tanımlanır. Yumuşak materyaller düşük intrinsik koersivite'ye sahiptir. Sert materyaller ise yüksek intrinsik koersivite'ye sahiptir ve manyetizasyona dirençlidir, fakat demanyetizasyona da dirençlidir (6).

2.2.DENTAL MANYETİK TUTUCULAR

Manyetik tutuculuk, mıknatıslarda benzer kutupların birbirini itmesi, zıt kutupların birbirini çekmesi prensibi kullanılarak oluşur. Mıknatıslar ferromanyetik alaşımların kuvvetli manyetik alana maruz bırakılarak manyetize edilmeleri sonucu oluşur (7).

Alnico (alüminyum, nikel, kobalt), platin-kobalt ve Ferrite mıknatısları 1953'den beri diş hekimliğinde kullanılmışlardır. Ticari olarak bulunabilen mıknatıslar içinde en yüksek çalışma sıcaklığına sahip olanıdır, korumak için elektroliz ile kaplanabilir ve kolaylıkla manyetize edilebilir. Diğer manyetik materyallerden fiziksel olarak daha güçlüdürler. Fakat bu geleneksel mıknatıslarla ilgili demanyetizasyon riski ve daha az çekim gücüne sahip olmaları ve yüksek maliyetleri gibi sorunlar mevcuttur. Bu mıknatısların klinik kullanımı neredeyse santimetre düzeyindeki boyutları nedeniyle sınırlanmıştır. 1965'de geleneksel mıknatıslarla karşılaştırıldığında üstün manyetik özellikleri olan samaryum-kobalt (Sm-Co) alaşımı mıknatıs geliştirilmiştir. Demanyetizasyona neredeyse tamamen dirençli olmasının yanında boyutlarda belirgin küçülme ve performans artışına izin vermişlerdir. Bu yüzden daimi mıknatıslardır. Sm-Co mıknatıslar izotropik formda ve iyi termal özelliklere sahip sinterlenmiş materyal olarak da bulunabilir (4).

1967'de Joseph Becker ve Gary Hoffer tarafından kobalt veya demir gibi geçit elementi, nadir toprak (rare earth) elementleri veya Lanthanum serileri olarak bilinen diğer bir sınıf elementle alaşım haline getirildiğinde, daimi mıknatısların daha üstün özelliklere sahip olduğu bulunmuştur. Bu yeni sınıfa "nadir toprak mıknatısları" adı verilmiştir (7).

Kullanılan esas manyetik materyal olan nadir toprak alaşımı neodmiyum - demir - bor (Nd-Fe-B), ticari olarak bulunabilen en güçlü mıknatıs materyalidir (8, 9). Nadir toprak alaşımı içeren diğer materyal ise Sm-Co 'tır (10, 11). Nd-Fe-B, Sm-Co'dan daha az kırılğan olmakla birlikte, daha düşük çalışma ısısı ve korozyon direncine sahip olduğundan koruyucu kaplama gereklidir (4). Nd-Fe-B alaşımı, Sm-Co'a göre 5 kat daha güçlü olmakla birlikte, manyetik özellikleri 70 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda azalmaktadır (7).

Nd-Fe-B gibi sert bir mıknatıs, yüksek intrinsik koersiviteye sahiptir ve uygulanan manyetik alan kaldırıldığında da manyetik özelliklerini korur. Pd-Co-Ni gibi yumuşak bir mıknatıs, Permendur veya AUM20 (manyetik bir paslanmaz çelik) ise düşük intrinsik koersiviteye sahiptir ve sadece dıştan bir alan uygulandığında manyetiktir. Bugün kullanılan sistemler, döküm koping veya önceden şekillendirilmiş "keeper" olarak kök veya dental implanta bağlanan yumuşak manyetik materyal ve protez kaidesine gömülen sert mıknatıstan oluşur (12).

Mıknatıslar az miktarda ısıtıldıklarında bile geri dönüşümsüz manyetik kayba uğrarlar. Pek çok uygulamada mıknatıslar akrilik içine gömülür ve metil metakrilatın ekzotermik sertleşme reaksiyonu sırasında meydana gelen 80 °C ve 90 °C arasındaki sıcaklık, manyetik alan yoğunluğunda belirgin azalmaya neden olabilir (4)

Nadir toprak mıknatısları, konvansiyonel mıknatıslardan 2-6 kat daha fazla manyetik alan gücüne sahiptir ve demanyetizasyona direnci konvansiyonel mıknatısların 20-50 katıdır. Bu özellikler Sm-Co alaşımının belirgin bir manyetik güç kaybı olmadan 1 mm kadar küçük mıknatıslara dönüştürülmesine izin verir (13).

Samaryum- Demir nitrit ise demanyetizasyona karşı yüksek direnci, yüksek manyetizasyonu ve ısıya ve korozyona Nd-Fe-B tip mıknatıslardan daha iyi direnci nedeniyle daimi mıknatıs uygulamaları için umut vadeden bir alaşımdır (14). Bu materyal hala gelişim aşamasındadır fakat yakın gelecekte tıp ve diş hekimliği uygulamalarında kullanılabilir olacağı umulmaktadır (5).

2.2.1.Mıknatısların Protetik Diş Tedavisinde Kullanımının Tarihsel Gelişimi

Mıknatısların diş hekimliğinde kayda geçen ilk kullanımı, benzer kutupların birbirini itmesinden yararlanılmasıyla tam protezlerin oturmasının ve yerinde kalmasının sağlanmasıdır (15). Kullanılan manyetik materyal, çekim gücü için geniş hacim gerektirdiğinden dental uygulamalarda kullanımına devam edilmeyen Alnico tipiydi. Mıknatıslar, benzer kutuplar birbirine bakacak şekilde tam protez tabanında molar bölgelere gömülürdü. Hasta ağzını kapattığında mıknatısın benzer kutupları, protezi alveol kreterlerine doğru yerleştirirdi (16). Bununla birlikte sürekli itme kuvveti alveoler kemikte rezorbsiyona neden olmuş ve yerleştirme etkisi azalmıştır (5).

İki mıknatıs arasındaki çekim gücünün protez tutuculuğu için kullanımı 1960'ların başlarında rapor edilmiştir (17, 18). Bu ilk girişimler, dişsiz hastanın mandibulasına cerrahi olarak implante edilen Alnico V tipi ve hem dikdörtgen hem de silindirik PMMA kaplı mıknatıslar ile gerçekleştirilmiştir. Bu denemede, protez tutuculuğunu arttırmak için iki mıknatıs arasındaki mesafe nedeniyle manyetik kuvvetin yeterli olmadığı görülmüştür. Daha küçük ve daha güçlü Co-Pt mıknatısların çıkması klinik denemelerin devam etmesini sağlamıştır (18). Ne yazık ki Co-Pt mıknatısların, yüksek maliyetleri, elde edilme sınırlılıkları ve zor üretimleri gibi dezavantajları vardı. Ayrıca implante edilen mıknatısın kemik ve dokulardan geçerek oral kaviteye çıktığı

görülmüştür (19). Bu uygulama da yüksek maliyeti ve zayıf başarı oranları nedeniyle terk edilmiştir.

Güçlü mıknatıs materyali Sm-Co'nun tanıtılması ile protez tutuculuğunu arttırmak için mıknatısların implantasyonu yeniden araştırılmıştır (20). Bu mıknatıslar Co-Pt mıknatısların yaklaşık beşte biri boyutlarında üretilebiliyor ve hala aynı kuvveti sağlıyordu. Mıknatısların korozyona hassasiyeti nedeniyle, bir proplast kaplama (politetrafloroetilen [PTFE] ve pirolitik grafit) kullanılmıştır. Proplast'ın Sm-Co mıknatıslar için *in vivo* çevrede kullanılabilecek, etkili bir kaplama olup olmadığını saptamak için köpekler üzerinde deneyler yapılmıştır. Çalışmada, cerrahi yerleştirme süresince bir çizik veya hasar olmadığı sürece kaplamanın korozyona karşı koruma sağladığı sonucuna varılmıştır. Proplast kaplama materyali olarak kullanılmamaktadır, fakat PTFE polimer bağlı mıknatıslarda tutkal olarak kullanılmaktadır (14). Bununla birlikte, nemin polimerden difüzyonu sonucu mıknatıs materyalinin korozyondan yeterince korunmaması nedeniyle bunların vücutta uzun dönem kullanımı uygun değildir (5).

Mıknatısların overdenture'ların tutuculuğu için ilk rapor edilen kullanımı, yarık dudak-damaklı bir hastanın rehabilitasyonu ile 1960'larda olmuştur (21). Manyetik Co-Pt alaşımı, döküm Co-Pt protez ile kalan 3 diş için kron yapımında kullanıldı. Daha sonra bunu overdenture'ların tutuculuğu için mıknatısları kalan kökler üzerine simante etme tekniği izledi (22). Bir Sm-Co mıknatıs, kök yüzeyinde hazırlanan kaviteye simante edildi ve benzer bir mıknatıs proteze yerleştirildi. Teknik, oral çevrede mıknatısların korozyonunu önlemek için, mıknatısı saran, başarılı olup olmadığı belirsiz olan döküm altın koping kullanımı ile modifiye edildi.

Materyal teknolojisi geliştikçe, proteze yerleştirilen benzer üniteleri olan, kalan köklerin içine yerleştirilebilen daha küçük mıknatıslar üretildi. Daha sonra protez yerindeyken manyetize olan, protezin çıkarılmasıyla demanyetize olan yumuşak manyetik materyalden üretilen kök mıknatısı geliştirildi (5).

Son 20 yılda, manyetik tutucuların dizaynı, protez yerindeyken dışarı sızan manyetik alanları azaltmaya yönelik olarak değişti. Manyetik materyallerdeki gelişmeler Sm-Co ve Nd-Fe-B'den daha küçük ve daha güçlü manyetik tutucuların üretilmesine izin verdi (5).

2.2.2.Mıknatısların Protetik Diş Tedavisinde Kullanımı

Dental protezlerin yeterli fonksiyonu için tutuculuk esastır. Tutuculuk genellikle sürtünmesel, mekanik kilitlenme, atmosferik basınç ve nöromusküler kontrol ile sağlanır (23). Tam ve hareketli bölümlü protezlerin tutuculuğunu sağlamak için yaylar, vakumlu tutucular, klipsler ve çiviler gibi araçlar kullanılmıştır (24). Geleneksel overdenture desteklerinin tutuculuğu, hassas bağlayıcılar ile artırılabilir. Bunlar teleskobik kronlar, topuzlar, barlar, kök içi ankorlar veya mıknatıslar olabilir (25).

Protezin içine yerleştirilmeleri kolay olduğundan ve klinik ve teknik prosedürleri kolaylaştırabildiğinden mıknatıslar da bu amaçla kullanılmışlardır.

Manyetik tutucuların kullanımı iki şekilde olmaktadır:

1. Aynı manyetik kutupların birbirini itmesine dayanan sistem,
2. Karşıt manyetik kutupların birbirini çekmesine dayanan sistem (26).

Karşılıklı itme sistemi: Alt ve üst protezlere yerleştirilmiş olan mıknatıslar birbirine yaklaştığında veya temasa geldiğinde kuvvetler her iki protezi de iterek yerinde tutmaktadır. Bu sistemin iki büyük dezavantajı vardır:

- a. İtme kuvvetleri çeneler açıldıkça hızla azalmakta dolayısıyla tutuculuk düşmektedir.
- b. Sabit itme kuvvetleri, kret rezorbsiyonunu hızlandırmaktadır. Bu sistem söz edilen nedenlerden dolayı günümüzde kullanılmamaktadır (13,15, 26-28).

Karşılıklı çekme sistemi: Manyetik tutucular, prostodontide, parçalı protezlerde, obturatörlerde, çok parçalı çene yüz protezlerinde, overdenture’larda ve bölümlü protezlerde başarıyla kullanılmışlardır (7, 13, 26).

Ayrıca, manyetik tutucular, hem mandibular hem de maksiller implant destekli, tam-ark bar, sabit-çıkarılabilir protezlerde de kullanılır. İmplant destekli overdenture, implant destekli “keeper” ve proteze yerleştirilen mıknatıstan oluşur. İki veya dört implant kullanılabilir ve ağzın ön bölgesine yerleştirilir ve maksimum destek ve stabiliteyi sağlamak için geniş aralıklarla yerleştirilir. Mıknatıslar, tek implantlar üzerine tutucu olarak veya bir bar ile kombine kullanılabilir (29). Pek çok klinik çalışma manyetik tutucuların implant destekli overdenture sistemleri ile başarılı şekilde kullanımını göstermiştir (30-34).

2.2.2.1.Dental Protezlerde Kullanılan Mıknatıs Sistemleri

2.2.2.1.1.Çift ve Tek Mıknatıs Sistemleri

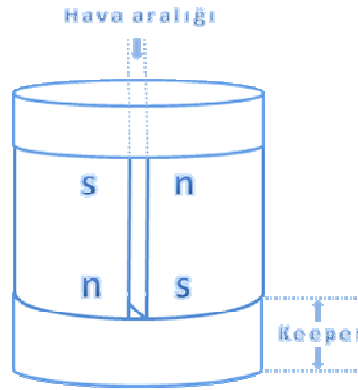
Manyetik tutucular en yaygın şekilde overdenture tutuculuğuna yardımcı olmak amacıyla kök destekler üzerinde kullanılmaktadırlar. İlk uygulamalarda mıknatıslardan biri kök yüzeyi ile aynı hizada kalacak şekilde overdenture desteğine; zıt kutuplu diğer mıknatıs ise protez kaidesine yerleştirilmiş ve bu sistem “çift mıknatıs sistemi” olarak isimlendirilmiştir. Bu tip bir sistemde protezdeki her bir mıknatıs için ortalama 150-400 gr değerinde tutuculuk elde edilmiştir. Çift mıknatıs sisteminde bazı dezavantajlar belirlenmiştir:

- 1-Kök yüzeyi küçük olan destek dişlerde mıknatıs boyutuna getirilen sınırlanma, tutuculukta azalma ile sonuçlanmıştır.
- 2- Mıknatıs alaşımı ağızda korozyona uğramış ve kırılmalar görülmüştür. Bu problemin giderilmesi amacı ile mıknatıs yüzeylerinin çeşitli şekillerde kaplanmasına ilişkin yaklaşımlar sonucu tutuculuk kaybı ortaya çıkmıştır.
- 3-Sistemdeki mıknatıslar etrafında kaçınılamayan ve sürekli olan bir manyetik alan oluşmuştur.

Sonraki uygulamalarda mıknatıslardan biri yerine manyetize olabilen alaşım kullanılmış ve önemli bir tutuculuk kaybı görülmemiştir. Tek bir mıknatısın kullanıldığı bu sistem “tek mıknatıs sistemi” olarak bilinmektedir. Bu sistemde Pd, Co ve Ni’den oluşan ferromanyetik döküm alaşımından elde edilen ve “keeper” adı verilen döküm parça, kök içindeki mıknatısın yerini almıştır. Protez yerleştirildiğinde düşük manyetik alan direnci nedeniyle destek kök içindeki “keeper”, indüklenmiş bir mıknatıs haline gelmekte ve diğer sistemdeki kök içi mıknatısı gibi protezin yerinde kalmasını sağlamaktadır. Protezi çıkartılması durumunda ise “keeper” tekrar manyetize olmayan duruma geçmektedir. Sistemin tutuculuğu açısından ideal “keeper” kalınlığının 1,2 mm olduğu belirlenmiştir (7). Bu sistem protez ağızda olmadığı zaman, hastanın dokularının herhangi bir manyetik alana maruz kalmamasını sağlar. Bununla birlikte protez yerindeyken bir eksternal manyetik alan vardır (6).

2.2.2.1.2.Kapalı Alan ve Açık Alan Mıknatıs Sistemleri

Kapalı alan sistemleri (Şekil 2.2): Kapalı alan manyetik tutucu ünitesi, protez tutucu eleman (mıknatıs çifti ve ona bağlanmış “keeper”) ve diş kök elemanından oluşur. Çıkarılabilir “keeper”, Pd-Co-Ni alaşımı kök başlığına benzer fonksiyon görecektir. Şekilde kök yüzeyine simante edilir. Sağlanan tutuculuk, “keeper”ın şekline, kalınlığına, aradaki hava boşluğunun boyutuna ve mıknatısın şekline, boyutuna ve kalınlığına bağlıdır (6).

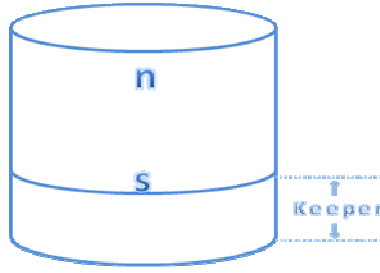


Şekil 2.2. Kapalı alan mıknatıs sistemi

Serbest manyetik akım alanlarının giderilmesi için mıknatısın iki kutbu demir veya paslanmaz çelikten herhangi bir ferromanyetik plaka (“keeper”) ile birleştirildiğinde serbest manyetik alan çelik plakaya geçer. Akımı bu şekilde kapalı devreye sokan sistemlerdir. Kapalı alan mıknatıslarında manyetik alan mıknatısın tabanında kuzeyden güneye doğru aktığından kısa manyetik alanlar oluşur ve “keeper” ile temasa geçtiğinde herhangi bir değişikliğe uğramazlar. Kapalı alan mıknatıslarının protez tutuculuğunda kullanımı ile canlı dokular içinde dünyanın manyetik alanından dolayı mevcut olan 0,05 militesla (mT)’lık akım alanının en fazla 0,1 mT’ye ulaşması bu sistemlerin avantajı olarak değerlendirilebilir. Bu sisteme örnek olarak Gillings, Jackson, Magedent, Keystone verilebilir (7).

Açık alan sistemleri (Şekil 2.3): Tek mıknatıs sistemlerinde protez içindeki mıknatısta, tutuculuk için tek bir mıknatısın sadece kuzey ve güney kutbunun kullanıldığı sistemlerdir. Örnek olarak Dyna sistem ve Dyna direkt sistem verilebilir. Açık alan mıknatıslarında akım yine kuzeyden güneye ancak bu kez mıknatısın dışında seyreder. Bu şekilde uzun manyetik alanlar oluşur. Tek bir mıknatısın kullanımıyla manyetik

alanlar ikiye bölünüp ayrı yönlerde hareket ettiğinden açık alan mıknatıslarının tutuculuğa katkısı daha azdır. Mıknatıs “keeper” ile temasa geçtiğinde manyetik alanlar eğilir, azalır ve “keeper” boyunca hareket etmeye başlar. Protezin hareket etmesiyle mıknatıs “keeper”dan uzaklaştığında manyetik alanlar yayılır ve protezi tekrar eski konumuna getirmeye çalışır (7).



Şekil 2.3. Açık alan mıknatıs sistemi

2.2.2.2.Klinik Prosedürler

Tüm mıknatıs üreticileri, ürünleri ile ilgili detaylı klinik ve laboratuvar talimatlarını sağlar. Burada pek çok sisteme uygulanabilen aşamalar ve tavsiyeler sunulmuştur.

Değişik kapalı alan mıknatıslarını tanıtan Gillings, bu mıknatıslarla beraber kullanılan farklı “keeper” sistemlerini de geliştirmiş olup, manyetik tutucuların kök destekli hareketli protezler için uygulanmasında,

- a) Simante edilen “keeper”
- b) Vidаланan “keeper”
- c) Post ve başlık, (koping) şeklindeki “keeper” olmak üzere üç sistem önermiştir.

“Keeper” sistemlerinin seçiminde kök yüzeyinin boyutu, şekil ve durumu, hastanın ağız sağlığı, çürüğe yatkınlığı ve kanal tedavisinin prognozu göz önünde tutulmaktadır (7).

Mıknatıslı overdenture desteği olarak seçilecek dişler, çürüksüz ve periodontal olarak sağlam olmalıdır. Diş preparasyonu kron-kök oranını düşüreceğinden ve sıklıkla var olan mobilitayı elimine edeceğinden mobil dişler göz ardı edilmemelidir. Destek diş sağlıklı bir kanal dolgusuna sahip olmalıdır. Eğer çürükler subgingival bölgeye uzanıyorsa, cerrahi olarak kron boyu uzatılması gerekli olabilir (35).

“Keeper”, mıknatıs, protez kaidesi ve protetik yapay dişe yeterli dikey boyutun sağlanması gereklidir. Eğer yetersiz boşluk varsa, protez kaidesi zayıflar veya protez

serbest konuşma aralığını azaltabilir. Tedavi planlaması aşamasında diş pozisyonlarını ve mesafe gereksinimini belirlemek için diagnostik mumlama yapılması akıllıca olacaktır (35).

Seçilmiş destek dişlerin kronları, dişetinin üzerinde 2 mm kalacak şekilde uzaklaştırılır. Post kanalı ve ferrule ile prepare edilir. Geleneksel ölçü tekniği kullanılır. Geçmişte tüm koping yumuşak manyetik alaşımdan dökülmekteydi, fakat modern sistemlerle, küçük bir “keeper” döküm altın posta yerleştirilmektedir. “Keeper”lara zarar vermemek için laboratuvar işlemleri dikkatli yapılmalıdır (36, 37). Prefabrik post ve “keeper” sistemleri de vardır (34). Fakat bunlar tüm olgular için uygun değildir.

“Keeper” elemanı veya döküm koping yerleştirildikten ve simante edildikten sonra keskin kenarlar yuvarlatılır ve düzeltilir. Bu keskin köşeler, mine, dentin veya metal olabilmektedir. Optimum tutuculuğu sağlamak için, “keeper”ın mıknatısla temas edecek olan düz yüzeyini korumaya özen gösterilmelidir (13).

Mıknatısların proteze tespitinin hekim tarafından yapılması önerilmekle beraber bu işlemin teknisyen tarafından yapılması da mümkündür (7).

Akaltan ve Can bir çalışmalarında, maksimum tutuculuğun mıknatıs ve “keeper”ın temas halindeyken elde edildiğini, aradaki boşluk arttığında tutuculuğun hızla azaldığını ve kapalı alan sistemlerinin aradaki boşluktan, açık alan sistemlerine göre daha çok etkilendiğini göstermişlerdir (38). Ayrıca “keeper”, mıknatıs ile sıkı temasta olmadığına kökün ortodontik olarak ekstrüze olacağı öne sürülmüştür (39).

2.2.2.3. Manyetik Tutucuların Avantaj ve Dezavantajları

Hassas bağlayıcılar, esnek olduklarında bile, fonksiyon sırasında destek dişe zarar veren lateral kuvvetler oluşturabilir (40). Mıknatıs ve “keeper”lar genellikle düzdür ve fonksiyon sırasında kayar ve rotasyon yapar; bu özellik bir miktar protez hareketine izin verir ve zararlı lateral kuvvetlerin destek dişe iletilmesini potansiyel olarak azaltır (39, 41). Mıknatıslar özellikle destek dişlerin periodontal kemik kaybı olduğunda kullanışlıdır (35).

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 (5), 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 (42) gibi avantajları vardır.

Mıknatıslar, giriş yoluna diğer hassas bağlayıcılardan daha az duyarlıdır (39, 41), bununla birlikte, mıknatıs oryantasyonu önemlidir. Chopra ve arkadaşları, düz ve kubbemsi Magfit implant tutucularının ayrılma kuvvetlerini karşılaştırmışlar ve tutuculuk kuvvetinin aksiyal kuvvet uygulandığında en fazla olduğunu bulmuşlardır (43). Aksiyal olmayan bir kuvvet uygulandığında ayırma kuvveti, her iki yüzey için ayırma açısı ile belirgin olarak ters orantılı bulunmuştur ($p<0,0001$). Uygun bir tedavi planı ile aksiyal tutuculuk elde etmek için dişleri prepare etmek ve döküm “keeper” yapmak mümkündür (35).

Mıknatısların tutucu olarak kullanılmasıyla ilgili esas problem, ağız sıvılarıyla korozyona uğramalarıdır (44-46). Korozyon bir maddenin, özellikle metalin çevre ile olan tepkimesi sonucunda yıkımına neden olan bir fenomendir. Oral çevre çeşitli yiyeceklere maruz kaldığından korozivdir (42).

Drago manyetik tutucuların klinik kullanımı ile ilgili, korozyon, renginin bozulması ve tutuculuk kuvvetinde demanyetizasyona bağlı olarak önemli azalmayı kapsayan önemli problemler tanımlamıştır ve hasta memnuniyetinin yüksek olmadığını rapor etmiştir (45).

Naert ve arkadaşları, implantlarda kullanılan manyetik tutucularda abrazyon, korozyon ve retantif kuvvetlerinde önemli azalma rapor etmişlerdir (47). Kitsugi ve arkadaşları, Nd-Fe-B ve Sm-Co alaşımı mıknatıslardaki korozyona göre çekim kuvveti ve korozyon arasındaki ilişkiyi inceleyip sürekli mıknatısların tükürüğe karşı düşük direnç gösterdiklerini ve korozyon olduğunda demanyetizasyona bağlı olarak manyetik kuvvetin düştüğünü rapor etmişlerdir (46).

Hem Nd-Fe-B hem de Sm-Co mıknatıslar tükürükte hızla korozyona uğrarlar ve Nd-Fe-B mıknatısların bakteri varlığında korozyonunun arttığı gösterilmiştir (48). Korozyon problemini elimine etmek için çeşitli yöntemler denenmiştir; bunlar ağız içinde kullanılacak mıknatısların kapsülle sarılması ya da kaplanmasıdır. Dental tutucuların kaplanmasında en yaygın kullanılan materyaller titanyum ve paslanmaz çeliktir, fakat polimerik materyaller de hem prostodontik hem de ortodontik uygulamalarda kullanılır. Bununla birlikte kaplama materyalinin devamlı aşınması mıknatısın açığa çıkmasına neden olur. Bu durum klinik olarak gösterilmiştir (34). Paslanmaz çelikteki çukurcuk

korozyonu koreziv oral çevre sebebiyle olur; benzer korozyon farklı sistemlerde de görülür (12). Dental mıknatısların kullanımı ile ilgili bu problemlerin üstesinden gelmek için farklı kapsül materyalleri veya yüzey kaplamaları gerekli görünmektedir. Endüstride, aşınmayı önlemek için titanyum ve krom nitrit gibi farklı yüzey kaplamaları kullanılır. Titanyum nitridin bazı ortopedik uygulamalarda kullanılmasına rağmen bu kaplamaların kullanımdan önce araştırılması gerekir.

Mevcut bazı mıknatısların paslanmaz çelik veya titanyumla kaplanmasına rağmen, bazıları klinik kullanımda yaklaşık 18 ay sonra korozyon ve tutuculuk kaybı nedeniyle başarısızlığa uğramıştır (34, 45, 46, 49, 50). Korozyon ürünleri protez dişlerinin renginin bozulmasına neden olabilir (51).

Manyetik tutucuların korozyonu iki mekanizma ile olur (12): (i) kaplama materyalinin bozulması, (ii) nem ve iyonların mıknatısa epoksi katmandan sızması.

Polimerik materyaller ile örtülen tutucularla ilgili ilave bir problem de mıknatısa zarar verecek nem ve iyonların geçmesidir. Büyük ölçüde güvenilir bir sistem sağlamak için lazerle birleştirme (laser welding) gibi geçirgen olmayan bir örtme sistemi kullanılmalıdır. Bu sistem Dyna ve Steco gibi ticari açık alan sistemlerinde kullanılmaktadır (52).

Bazı sistemlerde, kapsül materyali bozulursa korozyon ürünleri dışarıya sızar (12). Mıknatıs materyali kaybolur, paslanmaz çelik desteklenmez ve içeri doğru plastik deformasyona uğrar. Bu durum klinik olarak mıknatıs yüzeyinin merkezinde çöküntü şeklinde gözlenir (34).

Sonuç olarak, hem Sm-Co hem de Nd-Fe-B oldukça kırılgandır ve özellikle tükürük gibi klorid içeren sıvılarda korozyona yatkındır. Nadir toprak mıknatıslarının korozyon ürünlerinin sitotoksik etkilerinin olduğu *in vitro* çalışmalarda gösterilmiştir (53, 54). Bu yüzden manyetik materyaller dental uygulamalarda kullanılmadan önce ağız sıvılarından güvenli şekilde ayrılmalıdır.

2.3.MANYETİK ALANLARIN BİYOLOJİK ETKİLERİ

Bir elektrik akımı olduğu zaman, daima bir manyetik alan da vardır. Kural olarak manyetik alan statik veya zamana bağlı olarak değişken olabilir. Statik alan, doğru akım varlığında oluşur; zamana bağlı olarak değişen akım ise alternatif akım kaynakları tarafından üretilir. Statik ve zamana bağlı değişen alanları ayrı ayrı değerlendirmek

yararlı olacaktır. Zamana bağlı değişen manyetik alanın şiddetinde periyodik değişiklikler vardır ve vücuttaki endüksiyon akımını uyarır (55). Diş hekimliğinde kullanılmayan zamana bağlı olarak değişen alanlar, örnek olarak, elektrikli ev aletleri ve elektrik iletim hatlarının çevresinde oluşur. Zamana bağlı olarak değişen alanlara karşı farklı biyolojik sistemlerde çok çeşitli reaksiyonlar rapor edilmiştir (56, 57).

Son yıllarda SMA'lar, araştırmalarda, tıpta ve endüstride yaygın olarak kullanılmaya başlandı. Bu yüzden de günlük hayatta SMA'ya maruz kalma olasılığı artmıştır. SMA'ların insan sağlığı üzerinde oluşturduğu riskleri değerlendirmek önemlidir, çünkü epidemiyolojik çalışmalar SMA'ların lösemi, beyin tümörleri vb. hastalıklara yol açabileceğini öne sürmüştür (55, 58).

Wertheimer ve Leeper 1979'da elektrik nakil hatlarının yakınında oturan çocuklarda kanser meydana gelme riskinin 2 ila 3 kat fazla olduğunu rapor etmişlerdir (59). Onların raporları, küçük manyetik alanların ve kısa süreli maruziyetin bile potansiyel biyolojik etkileri hakkında kayda değer dikkat uyandırmıştır (60).

Sürekli mıknatısların nitelikleri geliştirildiğinden ve daha yüksek manyetik kuvvetler elde edildiğinden bu yana manyetizm modern tıpta daha yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Örnek olarak manyetizm dental protezlerde sıklıkla kullanılır. Manyetik rezonans görüntüleme ve transkraniyal manyetik stimülasyon gibi tıbbi cihazlardaki son gelişmeler ile güçlü manyetik alanların (tesla boyutunda) insan sağlığını etkileyip etkilemediği soruları ortaya çıkmıştır. Zayıf manyetik alanların (1-200 mT) ağrının azaltılması ve doku iyileşmesi amaçlarıyla kullanımlarının da yıllardır üzerinde çalışılmaktadır. Sürekli mıknatısların ve diğer manyetik araçların tedavi amaçlı uygulamaları, ağrının ve romatoid artrit ile kanser gibi hastalıkların tedavisi gibi alanlara yayılmıştır (61).

Elektromanyetik alanların olumsuz etkileri kadar yararlı etkileri hakkında da birçok rapor ve iddia vardır (62-65). Manyetik *B*-alanların biyolojik etkileri hakkındaki iddiaların çoğunun biyofizik olarak mantıklı açıklanması zordur ve bu yüzden tartışmalara yol açmaktadır (60).

Manyetit veya mıknatıs taşı gibi doğal olarak bulunan manyetik mineraller orta çağlardan beri terapötik amaçlar için kullanılmışlardır (66). Bununla beraber, 19.yy'da elektromıknatısların ve 20. yy ortalarında ise süper iletken (superconducting)

mıknatısların geliştirilmesi insanların yoğun manyetik alanlara maruz kalmasını olası kılmıştır (67).

Manyetik alanların hayati fonksiyonlar üzerindeki etkilerine olan artan ilgi, insan sağlığı üzerindeki olası zararlı etkileri hakkındaki endişeden kaynaklanmaktadır. Literatürde rapor edilen verilerin manyetik alan yoğunluğu (10^{-7} 'den 10 T'ye), 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 (68).

SMA'ların biyolojik etkilerini ortaya koymak için çok sayıda *in vitro* hücre çalışmaları, *in vivo* hayvan çalışmaları ve epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalarda hücrenin büyümesi, çoğalması, apoptozis, metabolik aktivitesi, morfolojisi, iyon transportu, genotoksik etkiler, gen ekspresyonu ve hücrelerin manyetik oryantasyonları incelenmiştir.

Statik ve zamana bağlı olarak değişen alanlar, hareketli iyonik yük taşıyıcılarının üzerine kuvvet uygularlar ve böylece uyarılmış elektrik alanına ve akımlarına neden olurlar. Bu etkileşim, hem statik hem de zamana bağlı olarak değişen alanlar ile çalışılmış olan, manyetik olarak uyarılmış kan akımı potansiyellerinin temelidir (55). Manyetik alan dokular ile etkileştiğinde üç parametre düşünülmelidir: alanın değişim ölçüsü, alanın şiddeti ve biyolojik örneğin maruz kaldığı alan vektörünün yönü (69).

SMA'ların biyolojik etkilerini açıklamak için öncelikle bu alanları zayıf (<1 mT), orta (1 mT-1 T), güçlü (1-5 T) ve çok güçlü (>5 T) olarak sınıflandırmak yararlı olur (70).

Doğal manyetik alan, daimi bir mıknatıs gibi davranan yerküre ve özellikleri güneşin aktivitesi ve atmosferik olaylarla ilişkili olarak değişen bir takım küçük öğelerden oluştuğundan, dünyayı çevreleyen zayıf manyetik alan, bir çeşit SMA'dır. Doğal manyetik alanın şiddeti dünya yüzeyinde 0,3 ve 0,7 G arasında değişir (55).

Yer kürenin ve vücudumuzun her bölgesinde elektromanyetik (EM) alan özellikleri saptanmış olup, vücut manyetik alanının 10^{-11} - 10^{-13} T arasında değiştiği bildirilmiştir. Jeomanyetik alan büyüklüğü (5×10^{-5} T) ile karşılaştırıldığında vücut manyetik alanlarının bu alanla uyumlu olduğu görülmektedir (71). Teknolojinin sunduğu, yaşamımızı kolaylaştıran aletlerin EM alanları ise yaklaşık 0,1-500 T arasında değişmekte olup, vücut ve doğal çevrenin EM alanından daha fazladır (72).

Yaşayan organizmalar, sürekli olarak dünyanın yüzeyinde var olan, yaklaşık 20-70 μT civarındaki doğal jeomanyetik alana maruz kalırlar (67). Bazı organizmalar tarafından dünyanın zayıf manyetik alanı uzayda yer yön bulmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu organizmalar, biyojenik manyetiti (Fe_3O_4) sensör olarak kullanacak sistemler geliştiren magnetotaktik bakteriler ve daha karmaşık organizmaların çeşitli dokularıdır (73). Zayıf SMA'ların biyolojik etkilerini açıklayacak birkaç mekanizma düşünülmüştür. Bunlar, manyetik alanların etkileri için primer hedeflerden biri olan endojen radikalleri kapsar (74). Diğer bir teori, hücre nükleusundaki yüksek frekanslı titreşimlerin olası değişimidir (75).

Orta yoğunluktaki SMA'ların, özellikle de fonksiyonu membran kanallarının özellikleri ile yakından bağlantılı olan bir takım biyolojik sistemleri etkileyebileceğini belirten güçlü kanıtlar vardır (76). Bununla birlikte, başlangıç raporların çoğu, olayın mekanizmasının kesinleşmediği fenomenolojik tanımlamalardır. Örneğin Barnothy ve arkadaşlarının çalışmasında, 400 mT'lik alana maruz kalma, farelerde lökopeniyi indüklemiştir (77). Bunu takiben Eiselein ve arkadaşlarının çalışmasında beyaz kan hücrelerinin sayısında ve gelişiminde değişiklik görülmemiştir (78).

SMA'ların biyolojik sistemlerdeki etkisi, bu alanlardan etkilenme potansiyeline sahip olan membran moleküler yapısının özelliği (diamanyetik anizotropi) ile bağlantılıdır. Pek çok inorganik ve neredeyse tüm organik bileşikler bir derecede diamanyetizme sahiptir. Orta yoğunluktaki SMA'ların biyolojik sistemler üzerindeki etkisi için genel mekanizma, uyarılabilen membranların moleküler yapısı üzerindeki iyon spesifik kanalların fonksiyonunu değiştirmeye yeterli etkisi ile olabilecektir. Orta yoğunluktaki SMA'lar, membran fosfolipit moleküllerinin rotasyonunu, ortak diamanyetik özellikleri ile etkileyebilir. Bu da SMA'lara atfedilen neredeyse tüm biyo-etkileri açıklar. Bu hipotez birkaç farklı nörofizyolojik teknik kullanılarak test edilebilir (76).

Statik ve 50 Hz manyetik alanların, hücrelerde çoklu tepkileri stimüle ettiği iddia edilmiştir:

- (i) Memeli hücrelerinde *in vitro* olarak proliferasyon yeteneğini engeller (79).
- (ii) Çeşitli mutajenik maddelere maruz kalan hücrelerde mutasyon oranlarını artırır (80, 81).

- (iii) Hücreleri öldüren tedavilerden sonra tümör hücrelerinin yaşama oranlarını artırır (82).
- (iv) Kanserden kolay etkilenen fare türlerinde tümör oranını artırır (83).
- (v) Kansere ilişkili genlerin ekspresyonunu değiştirerek neoplastik gelişimi etkiler (84).

Diğer çalışmalar manyetik alanların hücre içi organellerin farklı fonksiyonları üzerindeki etkilerini ortaya koymuşlardır:

- (i) Lipit peroksidasyonu ve reaktif oksijen türlerinin üretimi (85).
- (ii) DNA hasarı (86).
- (iii) İntraselüler Ca^{+2} sinyali (87).

Bunlarla birlikte manyetik alanların son çalışmalarla ortaya konulan bazı sürpriz özellikleri, altta yatan mekanizmaları yorumlamayı karmaşık hale getirmiştir. Birincisi, göreceli olarak düşük manyetik alan enerjilerinde farklı etkiler gözlenmiştir. İkincisi, statik ve değişken manyetik alanların aynı anda varlığı, biyolojik sistemlerle manyetik alan etkileşimini optimale çevirmektedir. Üçüncüsü, biyolojik cevapların, tahmin edilemeyecek şekilde düşük amplitütte (<1 Gauss) ve frekanstaki (8-60 Hz) manyetik alanların belli pencereleri ile tespit edilmesidir (70).

0,6 T SMA'nın genotoksik aktivitesinin, 0,14 mJm⁻²s⁻¹ yoğunluğundaki UV ışını ile benzer olduğu tahmin edilmiştir (88). Bununla birlikte bugüne kadar 2 T'nin altındaki akım yoğunluğundaki çevrede çalışmanın veya 2 T'nin altındaki akıma maruz kalmanın açık bir şekilde olumsuz sağlık etkileri bulunmamıştır. Bu yüzden SMA'nın olumlu veya olumsuz biyolojik etkileri hakkında tam bilgiye ihtiyaç vardır (70).

Manyetik alanlar göreceli olarak biyolojik dokularla etkileşmez. Bu alanlar, manyetik olarak anisotropik (polarize) veya ferromanyetik materyaller ve hareketli yükler ile direk olarak etkileşir. SMA'lar, nükleer ve elektron enerji seviyelerini ve dönüş oryantasyonunu değiştirebilir ve biyolojik moleküller üzerine kuvvet uygulayabilir. Bununla birlikte atom çekirdeği ile manyetik alanın etkileşimleri, elektronlarıki ile karşılaştırıldığında çok zayıftır ve biyolojik sonuçlarının küçük olması olasıdır. Teorik analizlere göre 10 T'ye kadar olan manyetik alanların, reaksiyonda ara aşama olan radikaller hariç, kimyasal reaksiyonları etkilemesi olası değildir (89).

2.4.HÜCRE KÜLTÜRÜ

Hücrelerin, dokudan mekanik yollarla ve bunu takiben de proteolitik enzimlerle muamele edilerek tek hücre veya küçük kümeler halinde ayrıştırılmasına ve bunların bir besi yeri ile cam veya plastik şişelerde doku ile bağlantısı olmadan *in vitro* olarak çoğaltılmasına *hücre kültürü* adı verilmektedir (90).

Biyolojik özellikleri değerlendirmenin *in vitro* ve *in vivo* olmak üzere iki temel yöntemi bulunmaktadır. *In vitro* deneyler, *in vivo* deneylerin aksine, deney faktörlerinin kontrol edilebilir olması avantajına sahiptirler. Ancak, materyal ve konak doku arasındaki karmaşık etkileşimler çalışılmak istendiğinde *in vitro* deneyler yeterli olamamaktadırlar. *Doku* ve *organ kültürü* tanımları, doku ve organ parçalarının genel özellik ve normal fonksiyonlarını korumak şartı ile *in vitro* olarak korunmalarını ve kültüre edilmelerini ifade etmektedirler (90, 91).

Spontan bölünme hızı yüksek olan hücrelerden direk olarak sitogenetik çalışma yapılır; düşük olan hücreler ise önce kültüre edilerek yapay uyarıcılarla mitoz bölünmeye sokulur, çoğaltılır ve daha sonra sitogenetik çalışmalar için kullanılır (92)

Hücre kültürleri, canlı dokuların vücut dışında yaşatılmasını, sürekli üretilmesini ve gelişimini ifade etmektedir. Canlı yapılardan elde edilen dokular, vücut ısısında kültüre edilmekte ve vücudun özgün fizyolojik konumunu taklit eden besleyici sıvılarda beslenerek çoğaltılmaktadır. Besleyici sıvılar, hayvan embriyo ekstratları, plazma ve serum, aminoasit, mineraller, şeker, tuz, vitamin ve antibiyotikleri içermektedir (93, 94).

In vitro hücre kültürü deneylerinde, hücrelerin yaşatılması için açık ya da kapalı sistem inkübatörler kullanılmaktadır. Açık sistemde; kültür ortamı ile inkübatör içerisindeki hava ilişkidir. Bu tür inkübatörlerde ortama, sisteme bağlı olan bir tüpten CO₂ gelmekte, hücre ve dokuların yaşatılması için, genellikle, 37 °C’de , % 5 CO₂’li ve % 95 nemli ortam sağlanmaktadır. Uzun süreli kültürlerde, mutlaka açık sistem kullanılmalı ve birkaç gün ara ile kültür vasatı yenilenmelidir. Bu işlem metabolizma artıklarının uzaklaştırılıp yeni, geliştirici ve besleyici faktörlerin sağlanması için yapılmaktadır (91, 95).

Hücre ve doku kültürlerinin kullanılması ile son yıllarda moleküler biyoloji ve tıp alanlarında büyük aşamalar sağlanmış, hastalıkların epidemiyolojisi, patogenezi, teşhis ve tedavisinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Hücre kültürü çalışmaları, hücre metabolizmasının organizmanın ölümünden sonra bir süre daha devam ettiğinin gözlenmesi ile ortaya çıkmıştır (95).

2.4.1.Hücre Kültürü Teknikleri

Farklı dokulardan üretimi sağlanan hücre kültürleri *primer hücre kültürleri*, *devamlı hücre kültürleri* ve *diploid hücre kültürleri* olmak üzere üç grupta toplanmaktadır.

2.4.1.1.Primer Hücre Kültürleri

Orijinal dokudan yeni ayrılan ve ilk olarak kültür şartlarında bulunan hücrelerden oluşmaktadır. Dokunun fizyolojik durumunu yansıtan bu hücrelerin genotipi ve fenotipi, orijinal doku hücresi ile aynı özellikleri taşımaktadır. Primer hücre kültürleri ilk pasajdan sonra bir kültür ortamından diğerine taşınmaktadırlar. Bu işleme *subkültür* adı verilmektedir. Yeni üretilen hücre kültürleri aynı fonksiyonel özelliklere sahip hücre hatlarını oluşturmaktadırlar. Hücre hatları, hücrelerin alındığı dokuların özelliklerine göre değişmek şartı ile farklı oranlarda subkültüre izin vermektedirler. Ancak bu hücrelerin deneysel ortamlarda çoğalmaları sınırlıdır (91, 96, 97). Primer hücre kültürleri, üretim aşamalarının zor olmasına, hassas hücreler olmalarına, çalışma esnasında ortaya çıkabilecek sorunlara ve kontrollerinin son derece güç olmasına rağmen orijinal fizyolojik durumu ifade etmeleri nedeniyle değer kazanmışlardır (98, 99).

2.4.1.2.Devamlı Hücre Kültürleri

Subkültürleri sonsuz olarak yapılabilen ve karyotipleri alındıkları dokulardan farklı olarak geliştirilmiş kültürlerdir. Herhangi bir kültürün, devamlı doku kültürü olabilmesi için en az 70 kere subkültürünün olması gerekmektedir. Transformasyonları nedeniyle fizyolojik özelliklerini koruyamamaktadırlar (91).

Devamlı hücre hatları, standart kültür örnekleri olarak embriyonik veya kanserli dokulardan kodlanmış ve kullanıma sunulmuştur (97).

2.4.1.3.Diploid Hücre Kültürleri

Primer kültürlerin subkültürlerinin yapılmasından elde edilmektedirler. Ancak bu kültürlerdeki bütün hücreler, alındıkları dokunun karyotipini % 85 oranında korumaktadırlar. Diploid kültürlerde bazı hücrelerde kromozom tipleri kaybolabilmektedir (97). Sitotoksitenin değerlendirilmesinde primer hücrelerin devamlı hücrelere oranla daha etkili oldukları bilinmektedir. Bununla birlikte, primer ve devamlı hücre kültürlerinin sitotoksik maddeye verdikleri metabolik cevaplar arasında bazı farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Devamlı hücre kültürleri genetik ve metabolik olarak stabil olduklarından test sonuçlarının standardizasyonu daha kolaydır (100, 101).

2.4.2.Hücre Kültürlerinin Avantajları

1. Hücre kültürü ortamında fizikokimyasal çevre ve buna bağlı olarak fizyolojik koşullar daha iyi kontrol edilebilmektedir. Sıcaklık, pH, ozmotik basınç, oksijen ve karbondioksit kısmi basınçları gibi fizikokimyasal koşullar hücre kültüründe daha kolay sağlanırken, canlı vücudunda sabit bir çevre oluşturarak birtakım testleri yapmak daha zordur.
2. Örnek homojenitesinin kontrolü sağlanabilmektedir. Doku örnekleri çoğunlukla heterojendir. Ancak birkaç pasaj sonra kültüre edilmiş hücreler homojen hale gelmektedirler. Hücrelerin homojenitesi, elde edilen ürünlerin homojenitesi açısından son derece önemlidir. Bunun sağlanmasının bir diğer yolu da çalışan kişilerin homojenitesi ve çalışmaların aynı koşullarda yapılmasıdır.
3. Hücre kültürleri ekonomiktir. *İn vivo* sistemlerde test için canlı organizmaya verilen maddelerin bir kısmı çeşitli yollarla dışarıya atılacak, bir kısmı da organizmanın bağışıklık sistemi tarafından ortadan kaldırılacaktır. Bu koşullarda canlı bir organizmada verilen maddenin ancak % 10'una cevap alınabilirken, hücre kültürlerinde bu oran % 90'lara çıkabilmektedir.
4. Hücre kültürleri ürün elde edilmesinde endüstriyel amaçlı olarak kullanılabilir. Son yıllarda geliştirilen teknikler ile bu daha kolay hale gelmiştir (90).

2.4.3.Hücre Kültürlerinin Dezavantajları

1. Primer kültür ile başlandığında, birbirini izleyen pasajlarda hücreler farklılaşmakta ve her zaman bir miktar ölüm gerçekleşmektedir. Yani hücre kültürlerinde zamana bağlı bir kararsızlık söz konusudur.
2. Hücre kültürlerinde hijyen çok önemli olduğundan primer kültürlerin elde edildiği doku ve bunların bulunduğu koşullar hücre kültürlerini etkilemektedir.
3. Deneyim çok önemli bir faktördür. *In vitro* çalışmalarda sterilizasyon, kültürlerin hazırlanması ve mikroskopik inceleme uzmanlık gerektirmektedir.
4. Hücre kültürleri, *in vivo* yöntemlere oranla daha ekonomik olmasına karşın kullanılan hücre üretme vasatları ve diğer malzemeler son derece pahalıdır. Buna rağmen elde edilen ürünün saf olması önemli bir avantajdır. Ancak son yıllarda bu teknolojinin gelişmesi, kullanılan malzemelerin geliştirilmesine ve giderek daha da ucuzlamasına olanak tanımaktadır (90, 91, 102).

2.5.GENOTOKSİSİTE

Genetik toksikoloji, toksikolojinin alt dallarından biri olarak, toksisitesi canlı sistemlerinin kalıtsal komponentine yönelen ajanların etkisini belirler ve analiz eder. Subtoksik seviyelerde, modifiye kalıtsal karakteristikler veya DNA inaktivasyonu ile sonuçlanacak şekilde, nükleik asitlerde ve ilgili komponentlerde değişimlere neden olan ajanlar *genotoksik* olarak sınıflandırılır (103). Bir ajanın genotoksitesini, birçok değişik hastalıkla sonuçlanabilir ancak, kanser en sık rastlanandır. Birçok insan karsinojeninin, genotoksik olduğu sağlam verilere dayanmaktadır (103, 104).

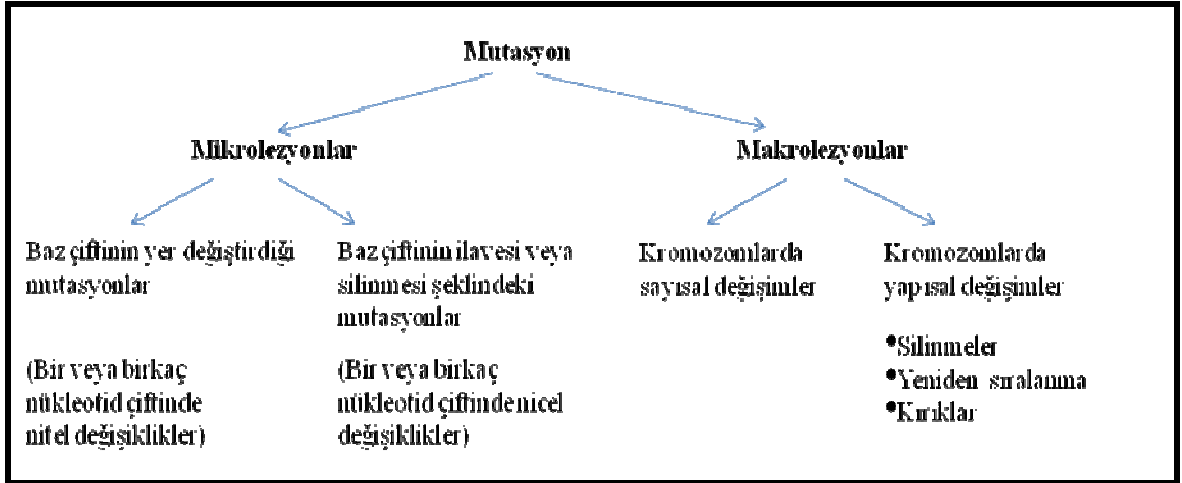
Karsinojenisite, DNA'daki değişikliklerin bir hücrenin uygun olmayan şekildeki büyümesine ve bölünmesine yol açması anlamına gelir (105). Karsinojen ise, biyolojik sistemlerde kanser oluşturan herhangi bir etken için kullanılmaktadır. Bu etkenler kimyasal maddeler, fiziksel etkenler veya virüsler olabilir (106). Karsinojenisite mutasyonlar sonucu oluşur (105). Bir maddenin karsinojenik potansiyeli, mutajenik kapasitesi ile yakından ilgilidir (106). Bütün mutajenik olayların karsinojeniteye öncülük etmeyeceğinin anlaşılması önemlidir (105).

İnsan hücrelerindeki genetik hasar hakkındaki ilgiden sorumlu ana faktörler iki alana ayrılır. Birincisi, insan gen havuzunu korunması, ikincisi ise onkogenezdır. Kimyasalların tümör oluştıurucu ve genotoksik özellikleri arasındaki yakın korelatif ilişki ve kanseri başlatan spesifik nükleer genlerin (onkogen) belirlenmesi, genetik testleri, kimyasalların bilinmeyen karsinojenik potansiyelleri için etkili ve öncelikli teknik haline getirmiştir. Genetik etkilerin önemini değerlendirirken, en önemli nokta etkilenen hücrenin lokasyonudur. Eğer mutasyon üreme sisteminin parçası olmayan hücrelerde (somatik hücreler) gerçekleşirse değişimden sadece genotoksik ajana maruz kalan birey etkilenecektir. Eğer değişim gametlerde veya gamete dönüşen kök hücrelerde olursa hasarın gelecek nesilleri etkileme olasılığı vardır (103).

Bilinen tüm insan genetik toksisitesi, şu 3 genotoksisiteden köken alır: gen mutasyonları, stabil kromozom aberasyonları veya kromozom sayısında değişim (103).

Hücrelerde çevresel etkilerin neden olduğu lezyonlar, genetik materyalin kromozom, gen veya DNA gibi herhangi bir seviyesinde olabilir. Tüm bu hasarları ölçmek ve karakterize etmek için testler vardır. Kromozom seviyesinde son yıllardaki teknik gelişmelerle aberasyonlar ve mikronükleus ölçümlerinin hızı ve hassasiyeti artmıştır. Somatik hücrelerdeki genetik lezyonlar, DNA'nın ilgili bölgesinde hatalı bilgi veya bilgi kaybı ile sonuçlanır. Genellikle bu lezyonlar 'mutasyonlar' olarak adlandırılır. Kromozom seviyesindeki genetik hasar, eğer hücre için ölümcül değilse, mutasyonla sonuçlanır ve bir geni bozar veya geni ya da kontrol eden elemanını siler. Benzer olarak DNA lezyonları kendileri mutasyon değilse de somatik genetik kod sıralamasında değişikliğe neden olabilir (107).

DNA hasarı iki ana kategoriden oluşur: kromozomların sitolojik analizi ile tespit edilebilen görünür etkiler (makrolezyonlar) ve nükleotid seviyesinde olan görülemeyen değişiklikler (mikrolezyonlar). İki kategoriye ayrılan DNA hasarının spesifik tipleri şekil 2.4'de görölmektedir.



Şekil 2.4. DNA’da mutasyon sonucu oluşan moleküler değişikliklerin sınıflandırılması (103).

Mutasyonlar DNA’da rutin olarak oluşur. Bu mutasyonların çoğu vücudun onarım mekanizmaları ile tamir edilir, bazıları DNA’nın önemli olmayan bölümlerinde oluşur, bazılarının ise fonksiyonel sonuçları yoktur (105).

DNA’nın hücresel bilgiyi saklamak ve işlemek gibi benzersiz bir pozisyonu olduğundan, bu molekülün içsel kendini tamir etme kapasitesi, çevresel adaptasyonu ile beraber gelişmiştir. DNA canlı organizmalardaki kendini onarabilen tek moleküldür. Bu tamir işleminin, pek çok lezyonu daimi hasar olarak sabitlenmekten koruyarak, mutasyon kinetiğini etkilediğine inanılmaktadır (103).

Risk saptanmasında genotoksisitenin önemi bilindiği için, genotoksisiteyi saptamak ve değerlendirmek amaçlı metotlar geliştirmek için büyük çabalar harcanmıştır. Şu ana kadar literatürde iki yüze yakın metot bildirilmiştir. Bunlardan yirmiyeye yakını yararlı ve pratik bulunmuştur. Bu metotlarda değişik test sistemleri kullanılmıştır. Bunların arasında mikroplar, mantarlar, bitkiler, böcekler, memeli hücre kültürleri ve hayvanlar vardır (103, 104, 108, 109).

2.5.1.Mitotik Hücre Siklusu

Ökaryotik hücrelerde, özellikle memeli hücrelerinde belli aşamaları olan hücre siklusu vardır. Bu aşamaların spesifik aktivitelerinin ve süresinin bilinmesi, programlanmamış DNA sentezi, kardeş kromatid değişimi ve çeşitli *in vitro* ve *in vivo* kromozom anomalileri gibi genetik toksikolojideki pek çok testin yürütülmesi ve değerlendirilmesi açısından gereklidir. Mitoz fazı, eşlenen DNA’nın belirgin kromozomlara dönüştüğü (hücre siklusunun diğer aşamalarında kromozomlar sitolojik olarak görünebilir değildir)

ve iki yeni kardeş hücreye dağıtıldığı aşamadır. Mitoz süreci beş ayrı basamağa bölünmüştür (Şekil 2.5). Bu basamaklardan metafaz, sitolojik testlerde, kromozomların kırık ve yeniden düzenlenmeleri açısından incelenir (103).



Şekil 2.5. Mitoz. Somatik hücre bölünmesinin aşamaları (103).

2.5.2.Özelleşmiş Sitogenetik Tanı Yöntemleri

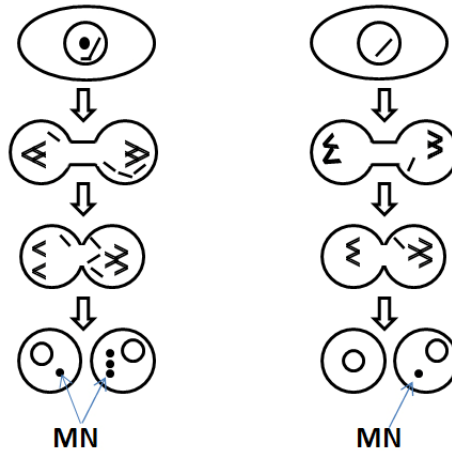
DNA üzerinde hasarların oluşmasına neden olan kimyasal maddelere karşı maruziyetin biyo-göstergesi olarak çeşitli sitogenetik yöntemler kullanılmaktadır (110). Herhangi bir kimyasal maddeye maruz kalınması halinde oluşacak etkinin genotoksik olup olmadığının belirlenmesi amacı ile yapılan biyo-izleme çalışmalarında en yaygın kullanılan testler kardeş kromatid değişimi (SCE) ve mikronükleus (MN) testleridir (111).

2.5.2.1.Kardeş Kromatid Değişimi ‘Sister Chromatid Exchange’ (SCE)

Metafaz kromozomlarında morfoloji değişmeksizin, özdeş segmentlerin simetrik değişimi sonucu kromatidlerin karşılıklı farklı boyanmasıdır. Mutajen veya karsinojenlerin oluşturduğu genetik harabiyetin gösterilmesinde ve kromozom kırığı sendromlarını değerlendirmek amacıyla kullanılır (92, 112, 113).

2.5.2.2.Mikronükleus (MN) Analizi

Mikronükleus, anafazda kromozom veya kromozom parçalarının geri kalmasından oluşur (Şekil 2.6). Bir membran içinde kromatin parçaları içeren MN, hücrelerin sitoplazmasında bulunur ve ana hücre nükleusundan ayrılır. MN, kromozomun tamamından ya da kromozom parçalarından oluşur. MN kolaylıkla tanınır; çünkü morfolojisi ana nükleusa benzer ama ana nükleustan daha küçüktür (114). MN, hücrenin 1/4 - 1/5'i büyüklüğünde olur. MN büyüklüğü genotoksik ajana bağlıdır (115). Büyük MN, kromozom hatasından, küçük olan ise kromatid parçalarından kaynaklanır (116). Dokulardaki MN sıklığının değişmesi, karsinojenlere maruz kalınan süreye de bağlıdır. Kronik maruziyette, MN'li hücre sayısı fazladır. Akut maruziyette ise, MN'li hücre sayısı belirli bir süre için artar, daha sonra tekrar eski düzeyine iner (115). MN sayısındaki artış anöploidiyi uyaran çeşitli mutajen veya karsinojenlerin hücrede yol açtığı sayısal ve yapısal kromozom anomalilerinin dolaylı olarak değerlendirilmesini sağlar. MN testi karsinojenlerin veya farmasötik ajanların yaptığı sitogenetik harabiyetin tesbitinde kolay uygulanabilmesi, çok fazla sayıda hücrenin değerlendirilebilmesi ve istatistiksel yönden anlamlı sonuçlar elde edilebilmesi avantajı ile yaygın kullanılan bir tetkiktir (117, 118). MN sıklığının saptanması, sadece genotoksik ajanlara maruziyeti yansıtmaz, ayrıca genotoksik hasarı veya kanseri önleme çalışmalarının etkinliğini izleme amacıyla da kullanılabilir. Eğer bir koruyucu ajanın genotoksik hasara karşı etkisi varsa, bu kansere maruz kalan dokularda MN sıklığındaki azalma ile kendini gösterir (104). Antioksidan ajanların, dokuda oluşan MN sıklığını ters yönde etkileyerek azalttıkları sonucuna varılmıştır (115).



Şekil 2.6. Mikronükleuslu hücrelerin oluşumu

MN testi uygulanırken, MN'nin şu özelliklere sahip olması gerekmektedir:

MN, çekirdeğin 1/3- 1/5 büyüklüğünde, çekirdekle aynı düzlemde, çekirdekle eşit ya da daha çok renk yoğunluğunda, çekirdekten tamamen ayrı, şekil olarak (oval-yuvarlak) çekirdekle benzer olmalı, hücrelerin sitoplazmaları parçalanmış olmamalı, çekirdeksel materyal içermeli, çekirdeğin en kısa ekseninin 4 kat uzaklığına kadar ve sitoplazmanın sınırları içinde bulunmalıdır ve çekirdek anomalileri içeren hücreler dikkate alınmamalıdır (119).

2.5.2.3.Frajl Bölge Tespiti

Frajl bölgeler kromozomlar üzerinde yer alan, özel kültür koşulları altında bazı faktörler tarafından indüklenince gözlenen boyanmayan aralıklar (boşluklar), kırıklar, yeniden düzenlenmeler veya triradiyal bölgelerdir (120).

2.5.3.Mitotik İndeks

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), sitotoksitenin bir işareti olarak düşünülür (121).

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

2.5.4. Agaroz Jel Elektroforezi

DNA'daki tek veya çift zincir kırıkları, mutajeniteyi tetikler (122, 123).

DNA molekülünün analizlerinde çok çeşitli yöntemler kullanılmakla beraber bunların arasında en yaygın ve sık kullanılanı, agaroz jel elektroforezidir. DNA'nın elektroforetik analizinin temeli, DNA molekülünün elektriksel alanda jel içerisinde hareketine dayanmaktadır. Jel elektroforezinde ayırıcı ortam agar veya agaroz olabilir. Bazı durumlarda agaroz-poliakrilamid karışık jel sistemleri kullanılsa da en yaygın kullanılan agaroz jel sistemidir. Agaroz kırmızı bir alg türü olan *Agar agar*'dan elde edilen lineer bir polisakkarittir. Sıcak suda çözünerek jel haline geçer. Polimerleşmede polisakkaritler arasında hidrojen bağlarının kurulmasıyla jel yapısı meydana gelir. Ticari olarak üretilen agarozların saflık dereceleri farklı olmaktadır. Kullanılan agarozun saflık derecesine göre DNA molekülünün jeldeki göç hızı etkilenmektedir. Agaroz konsantrasyonu % 0,5 ile % 1,5 arasında değiştirilerek jelin por çapı ayarlanabilir. Bu sayede küçük DNA fragmentleri için yüksek, büyük DNA fragmentleri için düşük agaroz konsantrasyonu kullanılarak DNA molekülünün daha rahat yürümesi sağlanabilir. Bir DNA molekülünün agaroz jelde görünür hale gelmesi, ethidium bromürün DNA bağları arasına bağlanarak 300 veya 360 nm'deki UV ışığını absorblaması sonucu floresan etki göstermesi ile olur. Bu etki DNA konsantrasyonuna bağlı olarak az veya kuvvetli olabilir (124).

Bu yöntem DNA merdiveni ya da oligonükleozomal bantların oluşumuna bağlı olarak apoptozu tespit eden klasik bir yöntemdir (124).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Dental protezlerde kullanılan mıknatısların oluşturduğu statik manyetik alanın insan gingival doku fibroblastlarına olan genotoksik etkilerinin *in vitro* olarak incelendiği bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı laboratuvarlarında ve Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarlarında yürütüldü.

3.1.GRUPLARIN OLUŞTURULMASI

Çalışmada kullanılan manyetik tutucular, özellikleri ve üretici firmaları tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Deney grubunda 173 gr çekme kuvvetinde Sm-Co yapısında titanyum kaplı dental manyetik tutucu (Steco-system-technik, GmbH & Co, Hamburg, Almanya) ve 500 gr çekme kuvvetinde cerrahi çelik kaplı Nd-Fe-B alaşımı (Dyna Dental Engineering, Bergen op Zoom, Hollanda) dental manyetik tutucular kullanıldı (Resim 3.1).

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan manyetik tutucular

Marka İsmi	Çekme kuvveti	Boyutları	Kimyasal içeriği	Üretici Firma
Dyna Magnet Katalog no: 1106	500 gr	Çap 4,8 mm Yükseklik 2,7 mm	Nd- Fe-B Kaplama Malzemesi: Cerrahi Çelik	Dyna Dental Engineering, Bergen op Zoom, Hollanda
Steco Magnet Katalog no: U.00.01.X265	173 gr	Çap 4,5 mm Yükseklik 2,65 mm	Sm ₂ Co ₁₇ Kaplama Malzemesi: Titanyum	Steco-system- technik, GmbH & Co, Hamburg, Almanya

**Resim 3.1.** Dyna mıknatıs (a) ve Steco mıknatıs (b)

Manyetik tutucular, protezin içindeki konumlarını taklit etmek ve yerlerini sabitlemek amacıyla otopolimerizan akrilik rezin (Pan Acryl, self cure, İnci Dental, İstanbul) içine tek ve çift mıknatıs olmak üzere iki ayrı konfigürasyonda gömüldü.

Otopolimerizan akrilik rezin hamuru, üreticinin önerilerine göre hazırlandı ve 38 mm çapında ve 5 mm derinliğinde plastik petri kabına dolduruldu. Bir siman camı yardımı ile akriliğin yüzeyi düzleştirildi. Mıknatısın protez içindeyken ağıza bakan yüzeyi siman camına temas edecek şekilde mıknatıslar akrilik rezine gömüldü.

Birinci yerleşim: Bir adet Dyna mıknatıs petri kabının merkezinde akrilik rezine gömüldü.

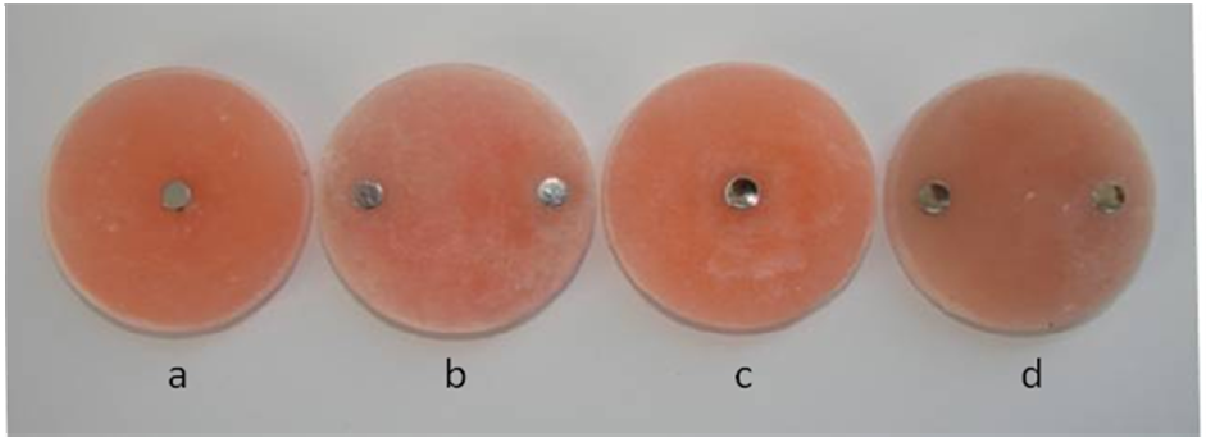
İkinci yerleşim: İki adet Dyna mıknatıs, merkezleri arasında 25,5 mm mesafe olacak şekilde akrilik rezine gömüldü.

Üçüncü yerleşim: Bir adet Steco mıknatıs petri kabının merkezinde akrilik rezine gömüldü.

Dördüncü yerleşim: İki adet Steco mıknatıs, merkezleri arasında 25,5 mm mesafe olacak şekilde akrilik rezine gömüldü.

İki mıknatıs yerleştirilirken yetişkin kadın ve erkek mandibular kaninler arası mesafenin yaklaşık ortalaması esas alındı (125).

Bu şekilde 4 farklı mıknatıs yerleşimine sahip akrilik kaide elde edilmiş oldu (Resim 3.2).



Resim 3.2. Kullanılan akrilik kaideler: a) 1 adet Dyna mıknatıslı akrilik kaide, b) 2 adet Dyna mıknatıslı akrilik kaide c) 1 adet Steco mıknatıslı akrilik kaide, d) 2 adet Steco mıknatıslı akrilik kaide

Akrilik kaidelerin kültür kaplarının dış yüzeyine yerleştirilme şekline göre gruplar oluşturuldu.

1. Grup (Dyna-1): 1 adet Dyna mıknatıslı akrilik kaide, mıknatıs, kültür kabı tabanının geometrik merkezinde olacak şekilde kültür kabının altına yerleştirildi.
2. Grup (Dyna-2): 2 adet Dyna mıknatıslı akrilik kaide, kültür kabının kenarlarından eşit uzaklıkta olacak şekilde kültür kabının altına yerleştirildi.
3. Grup (Steco-1): 1 adet Steco mıknatıslı akrilik kaide, mıknatıs kültür kabı tabanının geometrik merkezinde olacak şekilde kültür kabının altına yerleştirildi.
4. Grup (Steco-2): 2 adet Steco mıknatıslı akrilik kaide, kültür kabının kenarlarından eşit uzaklıkta olacak şekilde kültür kabının altına yerleştirildi.

Her grup için mıknatısların çevresinde oluşan manyetik alan bir Gaussmetre (manyetik alan ölçer) (Sypris 5170, F.W Bell, Florida, katalog no: 415170; A.B.D.) yardımı ile ölçüldü (Resim 3.3 ve 3.4). Gaussmetre, yerküre ve diğer manyetik kaynaklardan doğan manyetik alanı sıfırlayarak ölçüm yapma özelliğine sahipti.

Ölçümler tek mıknatıslar için mıknatısın merkezinden, mıknatıs kenarından ve merkezden 5, 10 ve 20 mm uzaklıktan yapıldı (Resim 3.5).

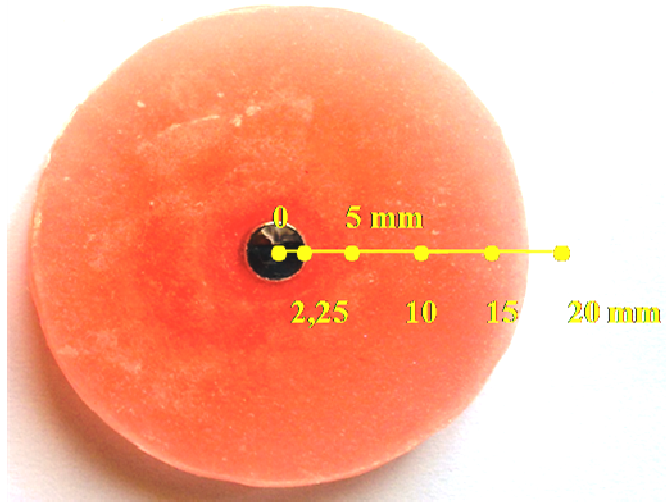
Çift mıknatıslarda ise mıknatısların arasındaki mesafenin orta noktasından, mıknatıslardan birinin merkezinden, merkezden ortaya doğru 5 ve 10 mm mesafelerden yapıldı (Resim 3.6).



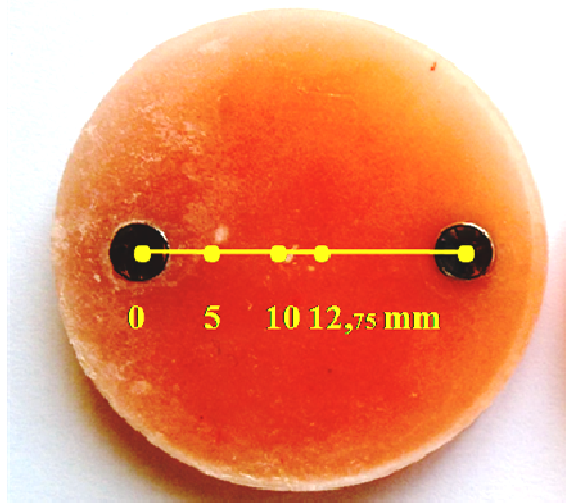
Resim 3.3. Gaussmetrenin görünümü



Resim 3.4. Gaussmetre probu ile ölçümün yapılışı



Resim 3.5. Tek mıknatıs için manyetik alan ölçüm noktaları



Resim 3.6. Çift mıknatıs için manyetik alan ölçüm noktaları

3.2.DİŞETİ ÖRNEĞİNİN ALINMASI

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 olmamasına dikkat edildi. Primer kapatmaya izin verecek şekilde, operasyon bölgesinden 3-4 mm

apında dişeti rneği alındı. Her grup için 7 hücre kültürü olacak şekilde, toplam 28 bireyden örnek alındı. Hastalardan işlem öncesinde bilgilendirilmiş onamları alındı.

3.3.GİNGİVAL FİBROBLAST KÜLTÜRÜ

3.3.1.Hücre Kültüründe Kullanılan Medyumların İçeriği

3.3.1.1.Taşıma Medyumu

- 500 ml HAM's F-10 (Biological Industries, katalog numarası: 101-090-1B; İsrail)
- 0,5 ml heparin (Nevparin, Mustafa Nevzat İlaç Sanayii A.ř. İstanbul)
- 5 ml penisilin-streptomisin (Sigma Aldrich, katalog numarası: 03-0031-1C; Almanya)

3.3.1.2.n Hazırlık Medyumu

- 50 ml RPMI 1640 (Biological Industries, katalog numarası: 01-106-1B; İsrail)
- 50 ml HAM's F-10 (Biological Industries, katalog numarası: B101-090-1B; İsrail)
- 1 ml penisilin-streptomisin (Sigma Aldrich, katalog numarası: 03-0031-1C; Almanya)
- 3 ml UltroSer G (L.K.B. Reactifs, IBF, Fransa)

3.3.1.3.Doku Kültür Medyumu

- 90 ml BIO-AMF-1 Basal Medium (Biological Industries, katalog numarası: 01-190-1B; İsrail)
- 10 ml BIO-AMF-1 Supplement (Biological Industries, katalog numarası: 01-192-1D; İsrail) (Resim 3.7)
- 1 ml penisilin-streptomisin (Sigma Aldrich, katalog numarası: 03-0031-1C; Almanya)
- 2 ml L-Glutamine (Biological Industries, katalog numarası: 03-020-1C; İsrail)
- 1 ml Heparin (Nevparin, Mustafa Nevzat İlaç Sanayii A.ř. İstanbul)



Resim 3.7. Supplement ve basal medyum

3.3.2. Hücre Kültürünün Hazırlanması ve Takibi

Alınan diş eti örnekleri, 12 ml 'lik steril kültür tüpleri (Cellstar, Greiner Bio-One, katalog numarası:164160; Almanya) içinde önceden hazırlanıp 4 °C'de saklanan taşıma medyumunu içerisine konularak, bekletilmeden Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Laboratuvarına getirildi. Biyogüvenlik kabininde (Metisafe Class II Safety Cabinet, Ankara, Türkiye) 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) ayrıldı. Bu şekilde bir gece % 5 CO₂ içeren atmosferde, 37 °C'de inkübatörde (Heraeus, Hera Cell, Kandro Laboratory Products, Almanya) (Resim 3.8) bekletildi.

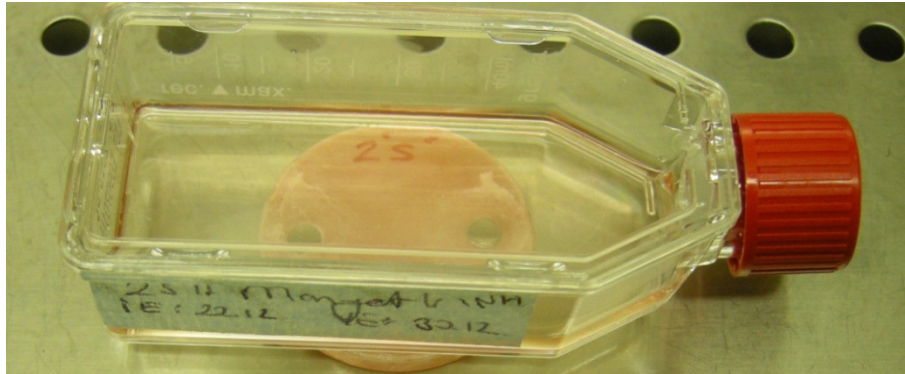


Resim 3.8. İnkübatör

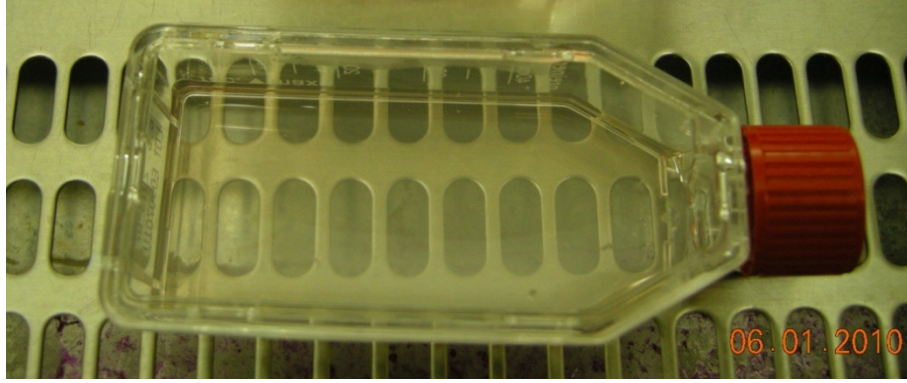
Daha sonra petri kabından steril pastör pipeti ile steril kültür tüpüne alınan materyal 1400 devir/dakikada 5 dakika santrifüje edildi (UNIVERSAL 320, Hettich, Andreas Hettich GmbH Co. KG., katalog no:1401; Almanya) (Resim 3.9). Süpernatant atılıp 2 ml tripsin-EDTA (Sigma Aldrich Inc. St. Louis, katalog 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. Üzerine 9 ml 37 °C’de ısıtılmış doku kültür medyumunu eklendi ve steril pastör pipeti ile karıştırıldıktan sonra miknatıs uygulanan ve uygulanmayan 25 cm²’lik iki kültür kabına (Cellstar, Greiner Bio-One, katalog numarası:690160; Almanya) paylaştırıldı (Resim 3.10, 3.11). Kültür kapları, kapakları aralık olarak % 5 CO₂ içeren atmosferde, 37 °C’deki inkübatöre konuldu. Miknatıslı ve kontrol kültür kaplarının birbirinden uzak yerleştirilmesine dikkat edildi.



Resim 3.9. Santrifüj

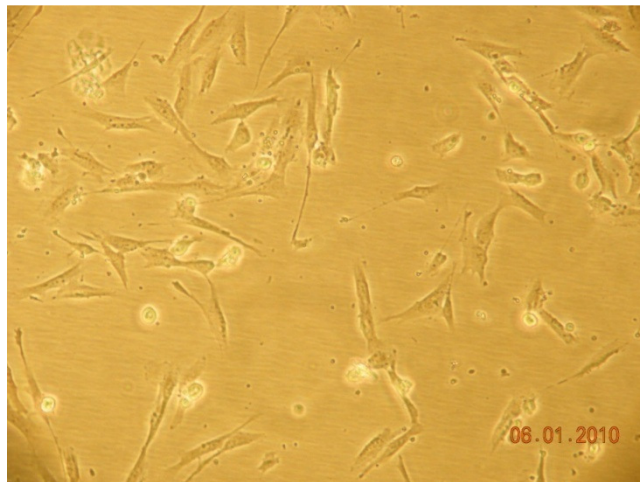


Resim 3.10. Mıknatıs uygulanmış kültür kabı



Resim 3.11. Mıknatıs uygulanmamış kontrol kültür kabı

Bir hafta sonra invert ışık mikroskopunda (Eclipse TS100, Nikon, Japonya) x200'lük büyütmede kültür kaplarına hücrelerin yapışıp yapışmadığı kontrol edildi ve dijital fotoğraf makinesi (Panasonic DMC-FZ8, Matsushita Electric Industrial Co., Ltd, Osaka, Japonya) ile resimlendi. (Resim 3.12). Yapışma yeterli değilse 37 °C'de ısıtılmış 1 ml doku kültür medyumunu eklenip birkaç gün daha hücrelerin yapışması için beklendi. Koloni sayısı 10-12'ye ulaştığında pasajlama yapıldı. Yani ilk ekim kültür kabının içindeki yapışmayan hücreleri de içeren doku kültür medyumunu steril pastör pipeti ile çekildi ve ilk ekim kültür kabı ile aynı tip mıknatıslı veya mıknatıssız olacak şekilde düzenlenen ikinci bir kültür kabına aktarıldı (pasajlama). İlk ekim kültür kaplarının her birine 4,5 ml 37 °C'de ısıtılmış doku kültür medyumunu eklendi ve her iki kültür kabı da inkübatöre konuldu. Sonraki 3. günden itibaren ilk ekim kültür kabı invert mikroskopta kontrol edildi. Hücreler kültür kabı tabanını kapladıysa çıkarım yapıldı. Kültür süresi hücrelerin yapışma ve üreme hızına bağlı olarak 10-12 gün arasında değişti.



Resim 3.12. Ekimden 1 hafta sonra kültür kabına yapışan gingival fibroblastların x200'lük büyütmede görünümü

3.3.3.Hücre Kültürünün Sonlandırılması (Çıkarım)

Çıkarım, ilk ekim yapılan ve pasajlama ile elde edilen kültürlerin her ikisi için de yapıldı. İlk ekim yapılan kültürün çıkarımı ile mitotik indeks ve mikronükleus analizi için preparatlar hazırlandı. Pasajlama ile elde edilen kültürün çıkarımından ise DNA izole edilip DNA kırıkları incelendi.

Çıkarımda kullanılan solüsyonlar

Hipotonik solüsyonu: % 0,625 sodyum sitrat (6,25 gr sodyum sitrat + 1000 ml distile su), hücrelerin şişerek patlamalarını sağlar.

Fiksatif: 3 hacim metanol (Merck, Katalog no: 502K05275408; A.B.D.) + 1 hacim asetik asit (Merck, katalog no: 247K18855556; A.B.D.)

Colcemid: Mitoz bölünme esnasındaki hücreleri metafaz aşamasında bloke eder (Biological Industries, katalog no: 12-004-1; İsrail).

Tripsin-EDTA: Kültür kabının tabanına yapışan hücrelerin kaldırılmasını sağlar.

3.3.3.1.Pasajlama İle Elde Edilen Kültürün Çıkarımı

Çıkarım yapılacak kültür kabının içerisindeki medyum steril pipetle çekilip atıldı. Yerine 4,5 ml doku kültür medyum ve 100 µl colcemid solüsyonu eklendi. İki-üç saat 37 °C’de inkübatörde bekletildi. Süre sonunda kültür kabı içerisindeki medyum 10 ml’lik enjektöre çekildi. Kültür kabı içerisine 2 ml tripsin-EDTA ilave edildi ve aynı enjektöre çekildi. Kültür kabına 2 ml daha tripsin-EDTA ilave edildi ve 4 dakika 37 °C’de etüvde bekletildi. Bu süre sonunda, invert mikroskopta hücrelerin kültür kabı tabanından kalkıp kalkmadığına bakıldı. Hücreler kalktıysa, enjektörün içindeki medyum ve tripsin-EDTA karışımı kültür kabına püskürtülerek eklendi. Kültür kabı içindeki sıvı kan tüpüne boşaltıldı ve kültür kabının üzerindeki etiketle etiketlendi. Bin devir/dk’da 10 dk santrifüje edildi. Üzeri atıldı. DNA izolasyonuna geçildi.

3.3.3.2.DNA İzolasyonu

Pasajlama ile elde edilen kültürün çıkarımından sonra beklenilmeden DNA izolasyonuna geçildi. Bunun için hazır bir kit kullanıldı (DNeasy Blood-Tissue Kit (50), QIAGEN, katalog no: 69504; Almanya). Üreticinin talimatlarına göre DNA izole edildi ve -20 °C’de saklandı (Resim 3.13).



Resim 3.13. İzole edilmiş DNA içeren tüpler

3.3.3.3. İlk Ekim Yapılan Kültürün Çıkarımı

Pasajlama ile elde edilen kültürün çıkarımındaki aşamalar aynen uygulandıktan sonra, pellet resüspanse edildi, 10 ml 37 °C'de ısıtılmış hipotonik solüsyon tüpe ilave edildi. Hemen 1000 devir/dk'da santrifüj edildi. Yeniden üzeri atılıp, pellet resüspanse edildi, 37 °C'de ısıtılmış 10 ml hipotonik solüsyon tüpe ilave edildi. Ve oda sıcaklığında 1,5 dk bekletildi. Üzerine 1 ml soğuk fiksatif ilave edildi ve 1000 devir/dk'da 10 dk santrifüje edildi. Üzeri atıldı, pellet resüspanse edildi ve 10 ml soğuk fiksatif, damla damla karıştırılarak ilave edildi. Tüpler -20 °C'de preparat hazırlanmak üzere saklandı.

3.3.4. Preparatların Hazırlanması

Lamlar, % 70'lik metanol içerisinde buzdolabı buzlukunda bekletildi. Daha sonra lamlar iyice kurulandı. Her kültür tüpü için mitotik indeks (Mİ) ve mikronükleus (MN) analizi için ayrı ayrı preparat hazırlandı ve her kültür tüpü için ayrı pastör pipeti kullanıldı. Pastör pipeti ile fiksatifli hücre içeren kültür tüplerine pipetaj yapılarak hücre süspansiyonundan lamlara 7-8 damla damlatıldı; 2-3 sn bekleyip üzeri soğuk fiksatif ile yıkandı ve preparatlar kurumaya bırakıldı. Mİ ve MN analizi için hazırlanan preparatların farkı, hücre süspansiyonunun Mİ analizi için 30-40 cm yüksekten damlatılırken, MN analizi için yakın mesafeden (1-2 cm yukarıdan) damlatılmasıdır. Yüksekten damlatma ile metafazlar yayılır ve daha net gözlenir. MN analizinde ise sitoplazma gölgeli hücreler elde etmek için yakından damlatmak gerekir.

3.3.5.Preparatların Boyanması

Boyama için gerekli olan solüsyonlar:

- 0,06 M KH_2PO_4 solüsyonu: 6,124 gr KH_2PO_4 tartılıp distile su ile 750 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.
- 0,06 M Na_2HPO_4 solüsyonu: 8,010 gr Na_2HPO_4 tartılıp distile su ile 750 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

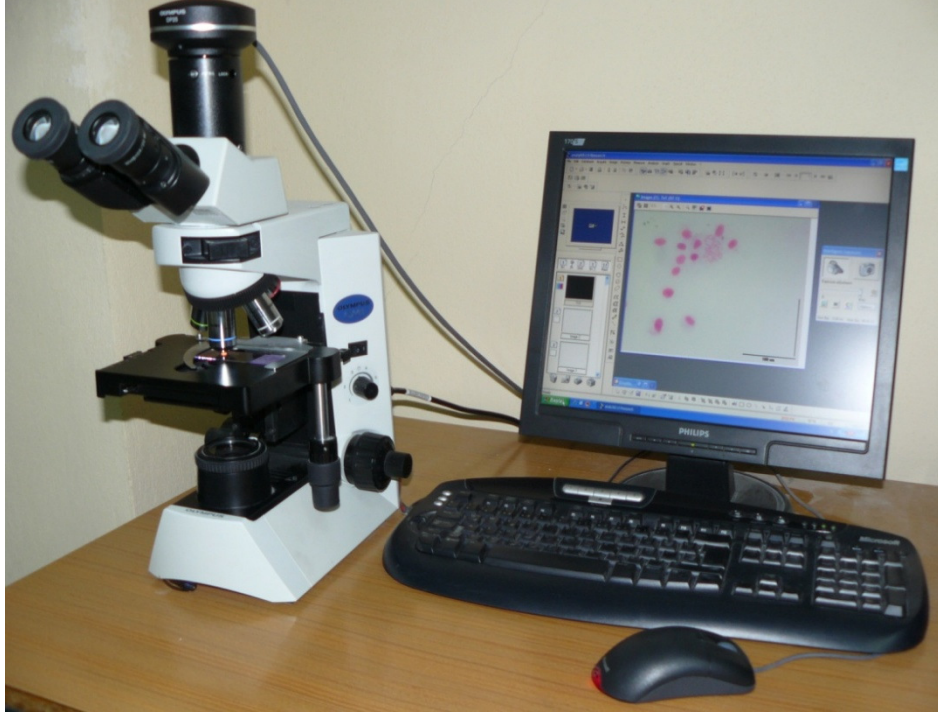
49 ml KH_2PO_4 + 51 ml Na_2HPO_4 (sorenson tamponu) balon jojede karıştırılıp, 100 ml'lik solüsyondan 5 cc dışarı atıldı. Beş cc giemsa boyası, bu tampona eklenerek tekrar karıştırıldı. Yeni hazırlanan % 5'lik giemsa boyasında kurumuş olan preparatlar 6 dk boyandıktan hemen sonra 2 kez distile su ile yıkanarak kurumaya bırakıldı. Kuruyan preparatlar ışık mikroskobunda incelendi, değerlendirmeye uygun olan preparatlar ksilolden geçirildikten sonra kanada balsamı (entellen) damlatılarak lamelle kapatıldı.

3.4.MİKRONÜKLEUS ANALİZİ

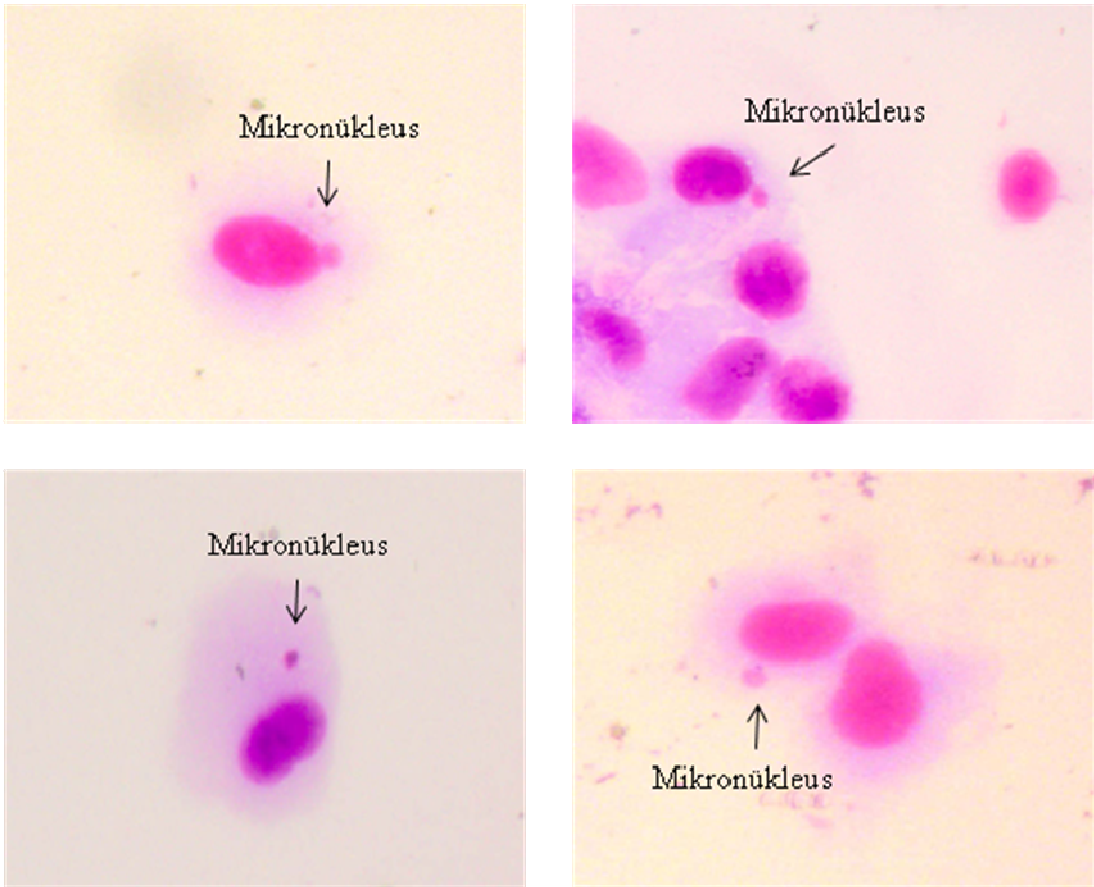
MN'yi tanımlamak için kriterler şunlardır:

1. Ana çekirdekten ayrılmalıdır (126-128).
2. Ana çekirdeğin maksimum çapının yarısını aşmamalı ve çapı yaklaşık ana nükleusun 1/20'si ile 1/3'ü arasında olmalıdır (126-129).
3. Sadece sitoplazması iyi korunmuş hücrelerde analiz yapılmalı (128).
4. Morfolojisi ve boyanma özelliği nüklear materyale benzer olmalıdır (126).
5. Çekirdeğin en kısa ekseninin 4 kat uzaklığına kadar ve sitoplazmanın sınırları içinde bulunmalıdır (119).
6. Şekil olarak (oval-yuvarlak) çekirdekle benzer olmalı (119).
7. Çekirdek anomalileri içeren hücreler dikkate alınmamalıdır (119).

MN için hazırlanan preparatlar mikroskopta (Olympus CX41, A.B.D.) x400'lük büyütmede bilgisayar programı (Analysis FIVE Image Analysis Software, Soft Imaging System Corp. A.B.D.) (Resim 3.14) ile görüntü ekrana yansıtılarak incelendi. Yukarıdaki kriterler dikkate alınarak, sitoplazması dağılmayıp sınırları belli olan 2000 çekirdek sayılıp, bu hücreler içinde bulunan MN sayısı kaydedildi (Resim 3.15). Bilgisayar programı ile görüntü büyütülerek mikronükleuslar doğrulandı.



Resim 3.14. Mikroskoptaki görüntünün bilgisayara aktarılması



Resim 3.15. Mikronükleus görünümü

3.5.MİTOTİK İNDEKS ANALİZİ

Mİ için hazırlanan preparatlar, mikroskopta (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 mitotik giren hücreler (metafaz plağı) sayılmak üzere mitotik indeks sıklığı belirlendi (Resim 3.16).



Resim3.16. Nükleuslar ve metafaz plağının x400 büyütmede görünümü

3.6.AGAROZ JEL ELEKTROFOREZİ

3.6.1.Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması

➤ TBE tamponu (10x)

- 108 gr Tris (Sigma Aldrich, katalog numarası: T-1378; Almanya)
- 55 gr Borik asit
- 7,31 gr EDTA tartılarak 1 litreye tamamlanır. 1/10 distile su ile sulandırılarak kullanılır.

➤ **Etidyum bromid (%1'lik)**

0,2 gr etidyum bromid (Sigma Aldrich, katalog numarası: e-7637; Almanya) 20 ml'ye tamamlanır.

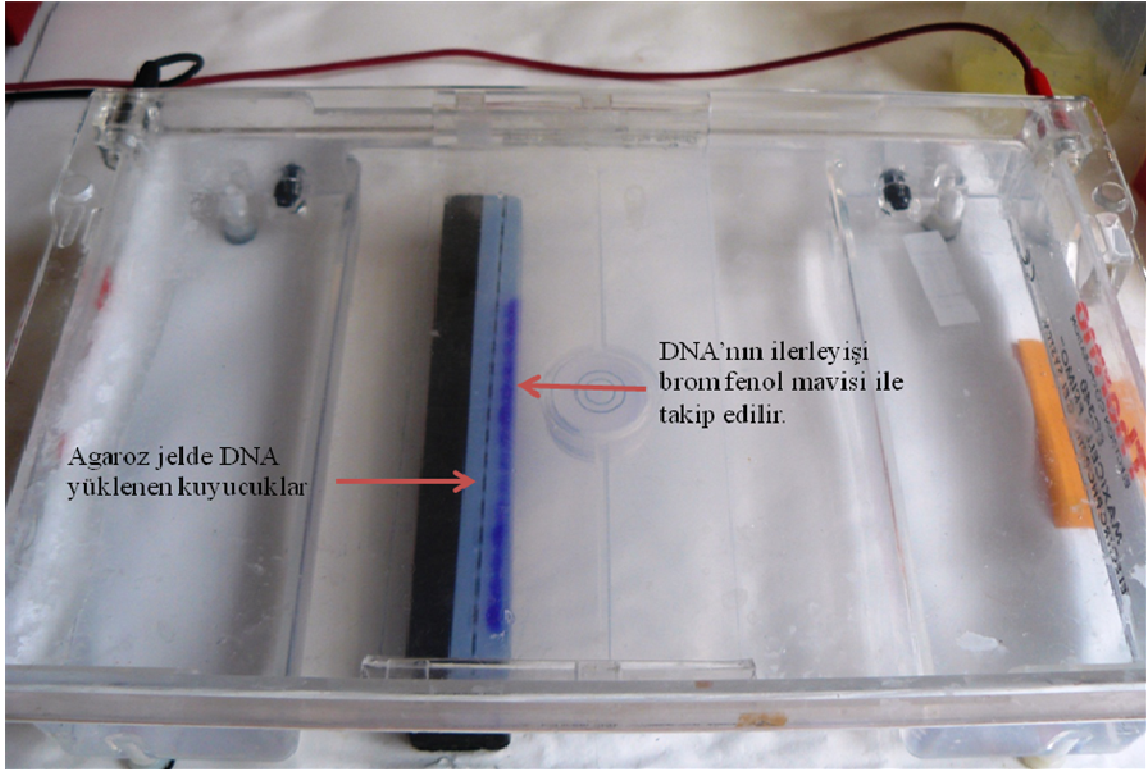
➤ **Yükleme tamponu**

- 3 gr Ficoll 400 (Sigma Aldrich, Almanya)
- 50 mg Xylene Cyanole FF (Sigma Aldrich, Almanya)
- 2 gr brom fenol mavisi (Sigma Aldrich, Almanya)
- 20 ml distile su

Üç gr agaroz toz tartıldı, üzeri 150 ml TBE tamponu ile tamamlanıp, kaynatılarak erimesi sağlandı, jel kalıbına dökülmeden önce yaklaşık 65 °C'ye kadar soğutuldu. İçerisine 5 µl % 1'lik etidyum bromid eklendi, karıştırıldı ve elektroforez tankının (EC340, Thermo Electron Corporation, A.B.D.) jel kalıbı içine döküldü. Kuyucukların oluşmasını sağlayan tarak takıldı ve jel donmaya bırakıldı.

Jel tamamen donduktan sonra tarak dikkatlice ayrıldı. Her örnekten daha önce izole edilmiş olan DNA'dan Eppendorf tüpe 40 µl alınarak üzerine 5 µl yükleme tamponu eklendi. Karıştırıldıktan sonra her bir örneğin DNA'sı, jeldeki kuyucuklara, mikropipetle sırasıyla yüklendi (Resim 3.17).

Jel agaroz aparatına yerleştirildi. Aparata jelin üzerini kaplayacak kadar yürütme tamponu konuldu. 75V/ cm² voltaj uygulanarak 2 saat yürütme işlemi gerçekleştirildi. Separasyon zamanını sonlandırmak için, yükleme tamponunda bulunan brom fenol mavisinin jelde katettiği mesafe bize yol göstermiştir. Jel daha sonra U.V. transillüminatör üzerine konarak fotoğrafları çekildi.



Resim 3.17. Agaroz jel elektroforez sistemi

3.7.İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Çalışma sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi, SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois 60606, A.B.D.) yazılımı kullanılarak yapıldı.

Mikronükleus analizinde kontrol gruplarının karşılaştırılmasında veriler normal dağılım gösterdiğinden tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Grup içi karşılaştırmalarda veriler normal dağılım göstermediği için Wilcoxon işaret testi yapıldı. Mikronükleus analizi için deney gruplarının karşılaştırılmasında ise ANOVA kullanıldı.

Mitotik indeks analizinde kontrol gruplarının karşılaştırılmasında veriler normal dağılım gösterdiğinden ANOVA kullanıldı. Grup içi karşılaştırmalarda veriler normal dağılım gösterdiği için eşleştirilmiş t testi uygulandı. Mitotik indeks analizi için deney gruplarının karşılaştırılmasında ise yine ANOVA kullanıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada dental protezlerde kullanılan iki farklı ticari marka manyetik tutucunun oluşturduğu SMA'nın insan gingival doku fibroblastlarına olan genotoksik etkileri mikronükleus, mitotik indeks analizi ve agaroz jel elektroforezi ile DNA kırığıının incelenmesi yöntemleriyle *in vitro* olarak araştırıldı.

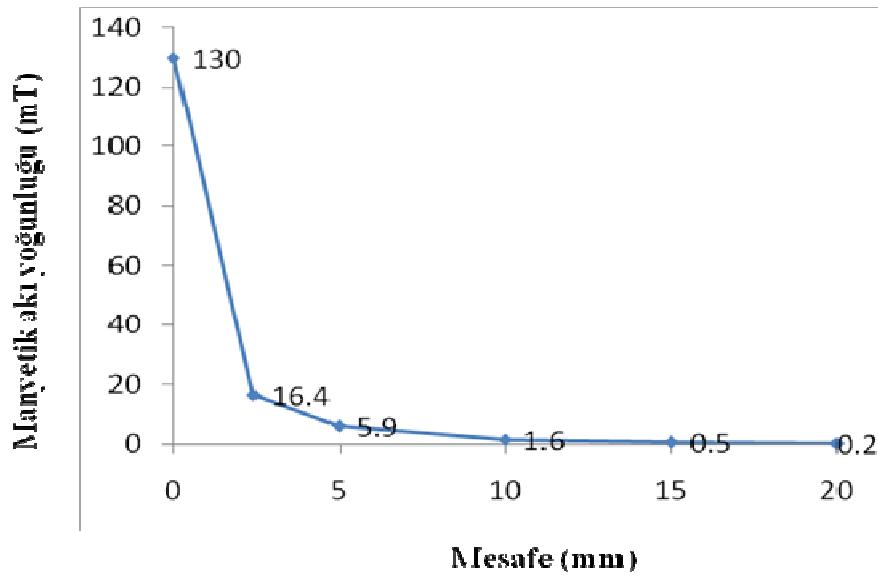
Gingival fibroblast kültürleri, Dyna ve Steco marka tek ve çift mıknatıstan oluşan 4 farklı mıknatıs düzeneğinin oluşturduğu statik manyetik alana maruz bırakıldı. Dört grubun her biri için 7 adet deney ve 7 adet kontrol olmak üzere toplam 56 gingival fibroblast kültürü yapıldı. Her bireyden alınan dişeti örneğinden iki ayrı kültür oluşturuldu. Bir tanesine mıknatıs düzeneği yerleştirildi, diğeri kontrol olarak bırakıldı. Böylece aynı bireye ait dokuların kullanılması ile bireysel farklılıklar elimine edilerek sadece kullanılan mıknatısın etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı. Her grubun kontrol grupları aynı zamanda başlangıç değerlerini de yansıttıklarından, grupların denkliğinin tespit edilmesinde kontrol gruplarının karşılaştırılması yapıldı. Karşılaştırmada ilk olarak verilerin dağılımı incelendi.

4.1.MIKNATISLARIN MANYETİK AKI ÖLÇÜMLERİ

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

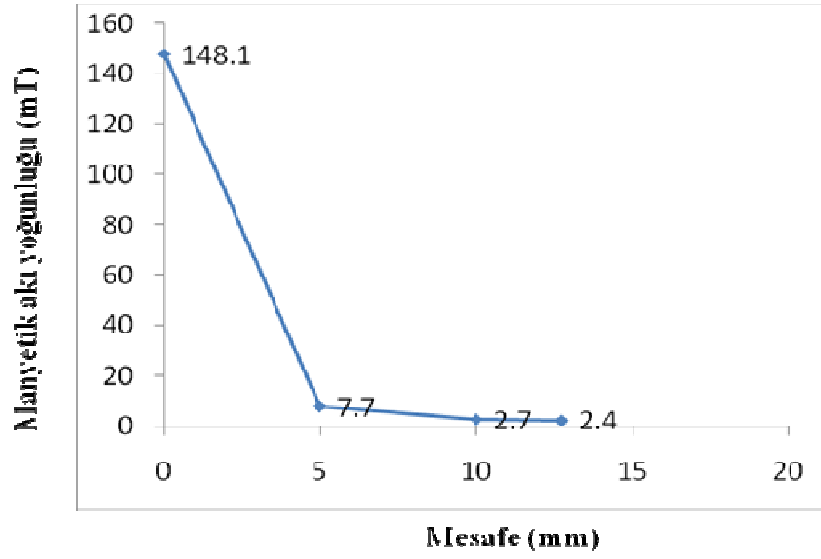
Çift mıknatıslarda ise mıknatısların arasındaki mesafenin orta noktasından, mıknatıslardan birinin merkezinden, mıknatısın merkezinden ortaya doğru 5 ve 10 mm mesafelerden yapıldı. Değerler miliTesla (mT) cinsinden verildi.

Bir adet Dyna mıknatısın manyetik akı yoğunluğunun mesafeye bağlı değişimi şekil 4.1’de görülmektedir.



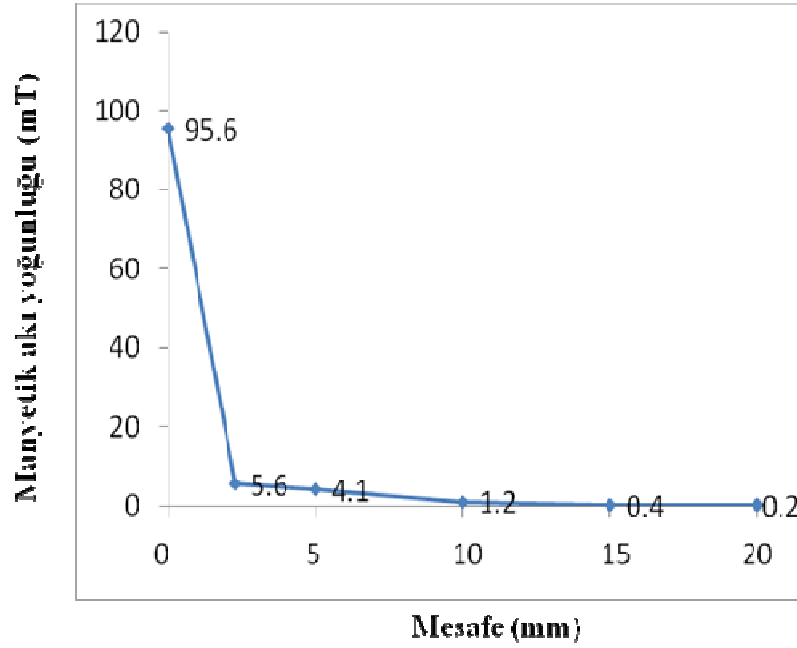
Şekil 4.1. Dyna-1’in mesafeye bağlı manyetik akı yoğunluğu

İki adet Dyna mıknatısın manyetik akı yoğunluğunun mesafeye bağlı değişimi şekil 4.2’de görülmektedir. İki Dyna mıknatıs kullanılması durumunda mıknatıs çevresinde manyetik alanın arttığı görülmektedir.



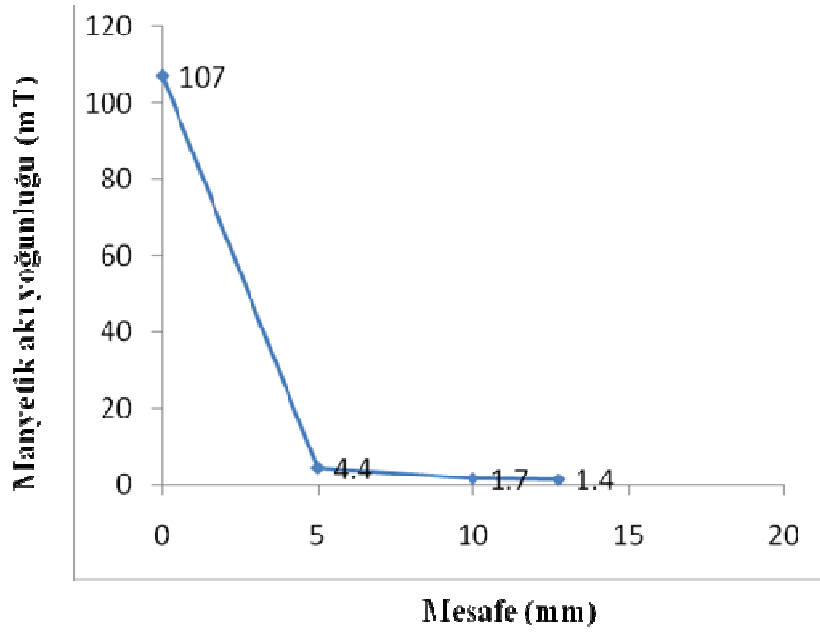
Şekil 4.2. Dyna-2'nin mesafeye bağlı manyetik akı yoğunluğu

Bir adet Steco mıknatısın manyetik akı yoğunluğunun mesafeye bağlı değişimi şekil 4.3'de görülmektedir.



Şekil 4.3. Steco-1'in mesafeye bağlı manyetik akı yoğunluğu

İki adet Steco mıknatısın manyetik akı yoğunluğunun mesafeye bağlı değişimi şekil 4.4'te görülmektedir. İki Steco mıknatıs kullanılması durumunda mıknatıs çevresinde manyetik alanın arttığı görülmektedir.



Şekil 4.4. Steco-2'nin mesafeye bağlı manyetik akı yoğunluğu

4.2.MİKRONÜKLEUS BULGULARI

Mikronükleus analizi için hazırlanan preparatlarda her deney grubu ve kontrolü için rastgele 2000 hücre sayılarak kaçında mikronükleus olduğu belirlendi. Veriler tablo 4.1'de görülmektedir.

Tablo 4.1 Farklı marka ve sayıda mıknatıs uygulanan ve uygulanmayan gruplardaki mikronükleuslu hücre sayıları (MN'li hücre/2000 hücre)

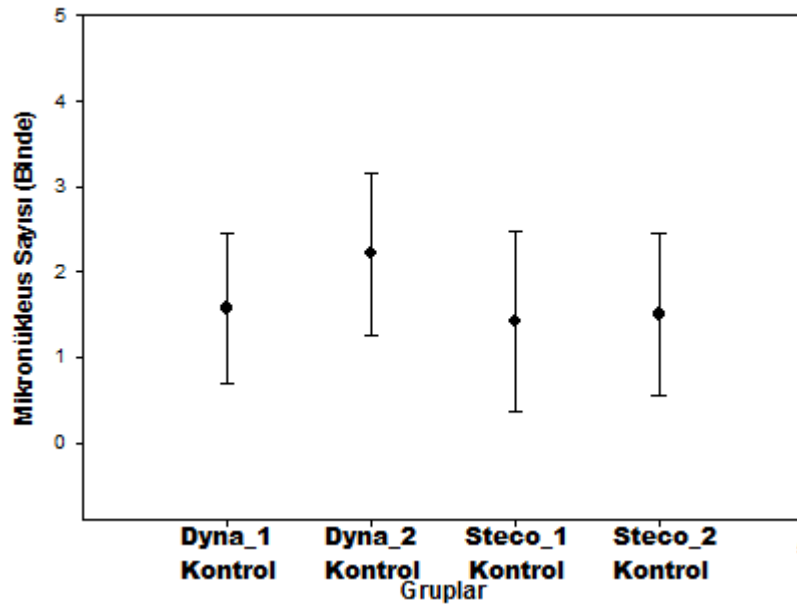
Gruplar	Dyna-1		Dyna-2		Steco-1		Steco-2	
	Kontrol	Deney	Kontrol	Deney	Kontrol	Deney	Kontrol	Deney
1	3	7	5	5	3	3	2	4
2	2	4	4	4	1	1	0	2
3	5	8	4	8	5	7	2	9
4	3	8	2	6	6	6	4	5
5	6	1	8	14	3	7	6	11
6	2	5	5	6	0	0	3	5
7	1	2	3	7	2	6	4	5

4.2.1. Kontrol Grupları Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Kontrol grubundaki mikronükleus oranları bindeye çevrilerek istatistiksel analiz yapıldı. Veriler, normal dağılıma uyduğundan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldı. Bu analiz sonucunda 4 grup arasında istatistiksel olarak fark anlamsız bulundu ($p = 0,417$). (Tablo 4.2, şekil 4.5).

Tablo 4.2. Kontrol grupları arasındaki farklılığın incelenmesi

ANOVA	Ort.	SS	Min.	Mak.
Dyna_1 Kontrol	1,571	0,886	0,5	3
Dyna_2 Kontrol	2,214	0,951	1	4
Steco_1 Kontrol	1,429	1,058	0	3
Steco_2 Kontrol	1,500	0,957	0	3



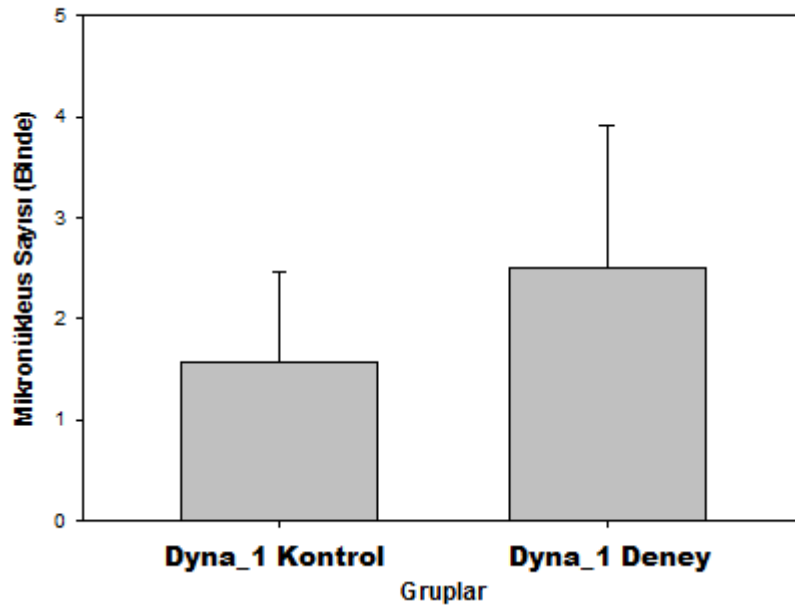
Şekil 4.5. Kontrol grupları arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü

4.2.2. Bir Adet Dyna Miknatıs Uygulanan Grubun (Dyna-1) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Bu karşılaştırma işleminde ilk olarak verilerin dağılımı incelendi. Veriler normal dağılım göstermediğinden deney ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Bu analiz sonucunda Dyna-1 grubu için kontrol ve deney değerleri arasında istatistiksel olarak fark anlamsız bulundu ($p=0,219$). (Tablo 4.3, Şekil 4.6).

Tablo 4.3. Dyna-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi

Wilcoxon işaret testi	Median	% 25	% 75	<i>P</i>
Dyna_1 Kontrol	1,500	1,000	2,250	$p=0,219$
Dyna_1 Deney	2,500	1,250	3,870	



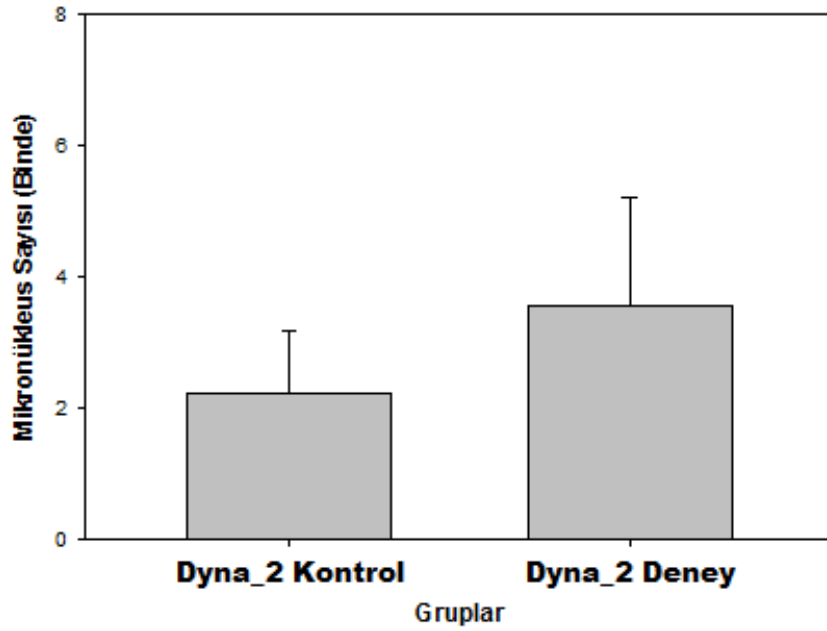
Şekil 4.6. Dyna-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü

4.2.3.İki Adet Dyna Miknatıs Uygulanan Grubun (Dyna-2) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Bu karşılaştırma işleminde ilk olarak verilerin dağılımı incelendi. Veriler normal dağılım göstermediğinden deney ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Bu analiz sonucunda Dyna-2 grubu için kontrol ve deney değerleri arasında istatistiksel olarak fark anlamsız bulundu ($p = 0,063$). (Tablo 4.4, Şekil 4.7).

Tablo 4.4. Dyna-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi

Wilcoxon işaret testi	Median	% 25	% 75	p
Dyna-2 Kontrol	2,000	1,625	2,500	$p = 0,063$
Dyna-2 Deney	3,000	2,625	3,875	



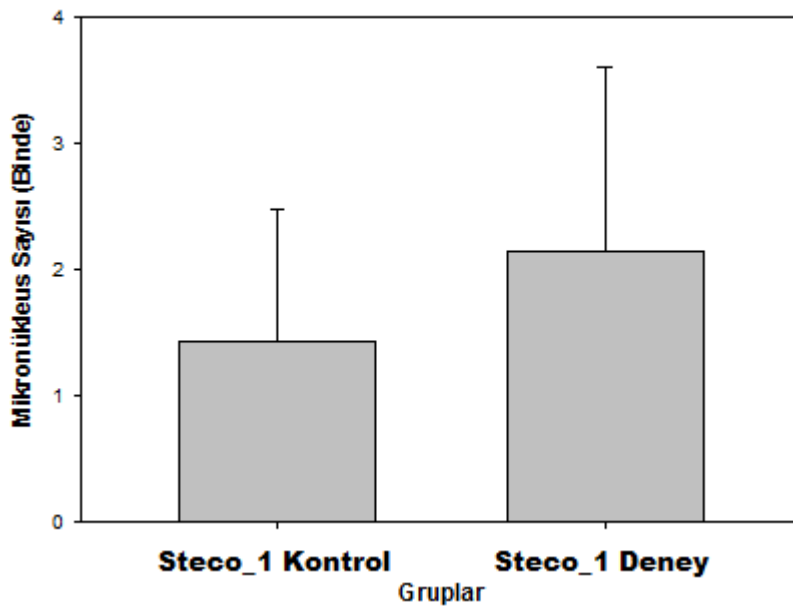
Şekil 4.7. Dyna-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü

4.2.4. Bir Adet Steco Miknatıs Uygulanan Grubun (Steco-1) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Bu karşılaştırma işleminde ilk olarak verilerin dağılımı incelendi. Veriler normal dağılım göstermediğinden deney ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Bu analiz sonucunda Steco-1 grubu için kontrol ve deney değerleri arasında istatistiksel olarak fark anlamsız bulundu ($p = 0,250$). (Tablo 4.5, şekil 4.8).

Tablo 4.5. Steco-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi

Wilcoxon işaret testi	Median	% 25	% 75	p
Steco-1 Kontrol	1,500	0,625	2,250	$p = 0,250$
Steco-1 Deney	3,000	0,750	3,375	



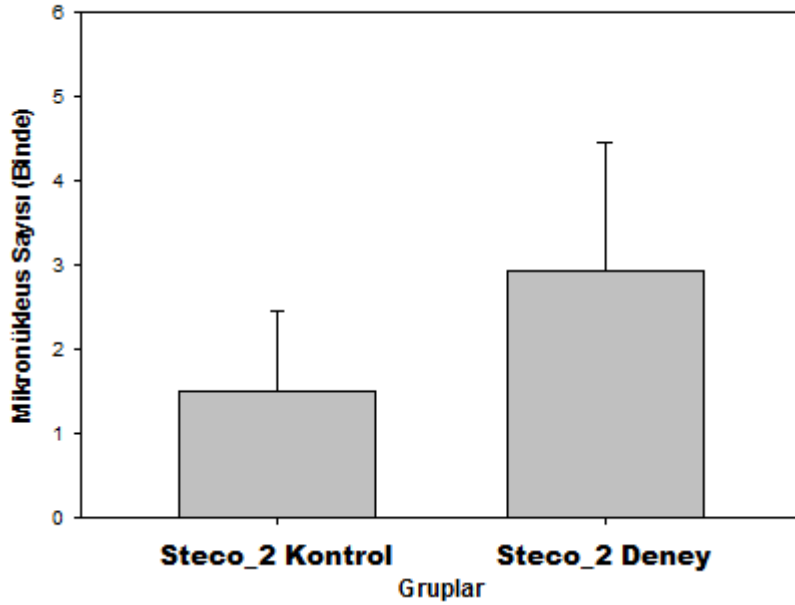
Şekil 4.8. Steco-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü

4.2.5.İki Adet Steco Miknatıs Uygulanan Grubun (Steco-2) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Bu karşılaştırma işleminde ilk olarak verilerin dağılımı incelendi. Verilerin normal dışı dağılım gösterdiğinden deney ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Bu analiz sonucunda Steco-2 grubu için kontrol ve deney değerleri arasında istatistiksel olarak fark anlamlı bulundu ($p = 0,016$). (Tablo 4.6, şekil 4.9). Bu sonuca göre iki adet Steco miknatısın oluşturduğu manyetik alanın, kontrol grubuna göre daha fazla mikronükleus oluşmasına sebep olduğu söylenebilir.

Tablo 4.6. Steco-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi

Wilcoxon işaret testi	Median	% 25	% 75	p
Steco-2 Kontrol	1,500	1,000	2,000	$p = 0,016 *$
Steco-2 Deney	2,500	2,125	4,000	



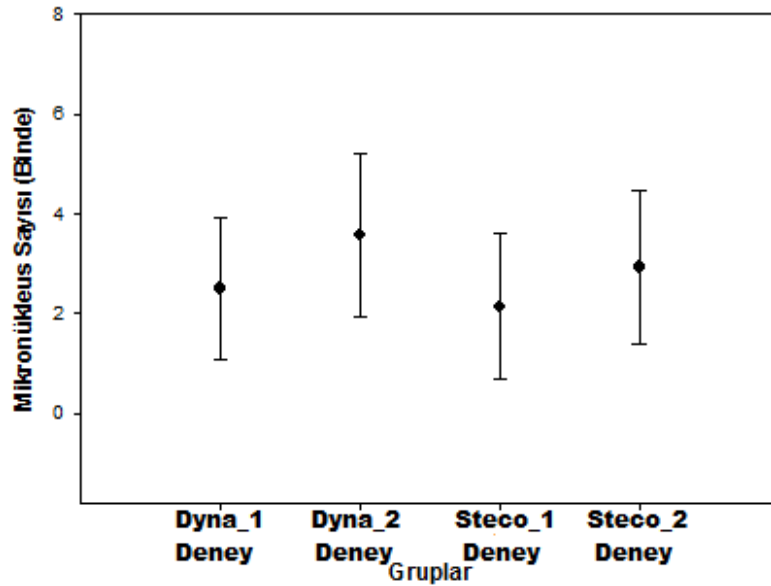
Şekil 4.9. Steco-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü

4.2.6.Farklı Miknatıs Uygulanan Gruplar Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Hücre kültürlerinde farklı miknatısların kullanılması ile farklı etkiler olup olmadığı araştırıldı. Bu amaçla, her grubun deney grupları birbirleri ile karşılaştırıldı. Karşılaştırmada ilk olarak verilerin dağılımı incelendi. Veriler normal dağılım gösterdiğinden tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldı. Bu analiz sonucunda 4 grup arasında istatistiksel olarak fark anlamsız bulundu ($p = 0,350$). (Tablo 4.7, Şekil 4.10).

Tablo 4.7. Miknatıs uygulanan gruptaki farklılığın incelenmesi

ANOVA	Ort.	SS	Min.	Mak.
Dyna-1 Deney	2,500	1,414	0,5	4
Dyna-2 Deney	3,571	1,644	2	7
Steco-1 Deney	2,143	1,464	0	3,5
Steco-2 Deney	2,929	1,539	1	5,5



Şekil 4.10. Miknatıs uygulanan gruptaki farklılığın grafik üzerinde görünümü

4.3.MİTOTİK İNDEKS BULGULARI

Mitotik indeks için hazırlanan preparatlarda, her deney grubu ve kontrolü için 1000 hücre sayılarak, kaç hücrenin metafaz aşamasında olduğu belirlendi. Veriler Tablo 4.8’de görülmektedir.

Tablo 4.8. Farklı marka ve sayıda mıknatıs uygulanan ve uygulanmayan gruplardaki mitoz sayıları (mitoz sayısı/1000 hücre)

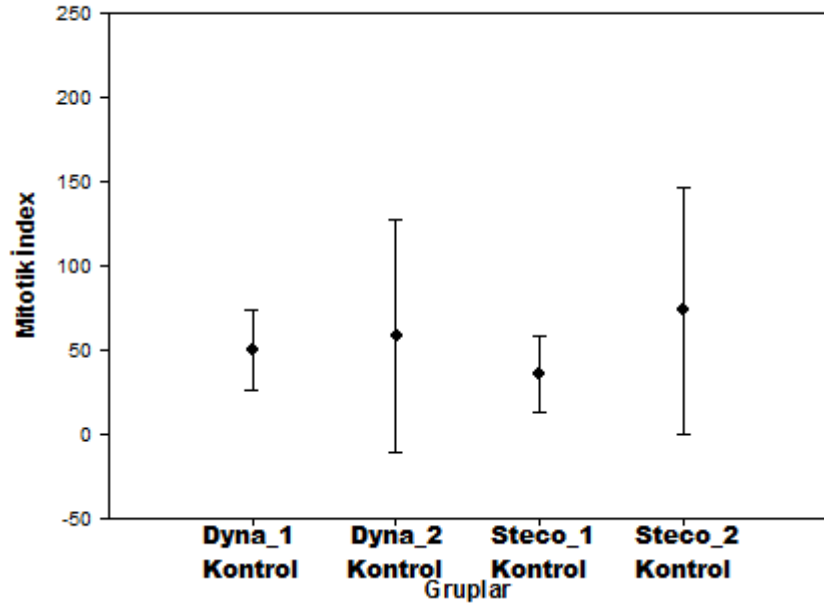
Gruplar	Dyna-1		Dyna-2		Steco-1		Steco-2	
	Kontrol	Deney	Kontrol	Deney	Kontrol	Deney	Kontrol	Deney
1	66	77	7	11	59	64	11	9
2	51	111	0	0	39	42	22	18
3	81	69	16	8	67	66	203	154
4	34	46	160	130	4	4	43	8
5	23	12	1	1	13	10	115	195
6	23	21	141	126	26	18	114	86
7	73	52	84	86	40	52	6	2

4.3.1.Kontrol Grupları Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Veriler, normal dağılıma uyduğundan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldı. Bu analiz sonucunda 4 grup arasında istatistiksel olarak fark anlamsız bulundu ($p = 0,606$). (Tablo 4.9, şekil 4.11). Bu sonuç ile grupların başlangıç değerlerinin denk olduğu gösterildi.

Tablo 4.9. Kontrol grupları arasındaki farklılığın incelenmesi

ANOVA	Ort.	SS	Min.	Mak.
Dyna_1 Kontrol	50,143	24,017	23	81
Dyna_2 Kontrol	58,429	69,457	0	160
Steco_1 Kontrol	35,429	22,970	4	67
Steco_2 Kontrol	73,429	73,232	6	203



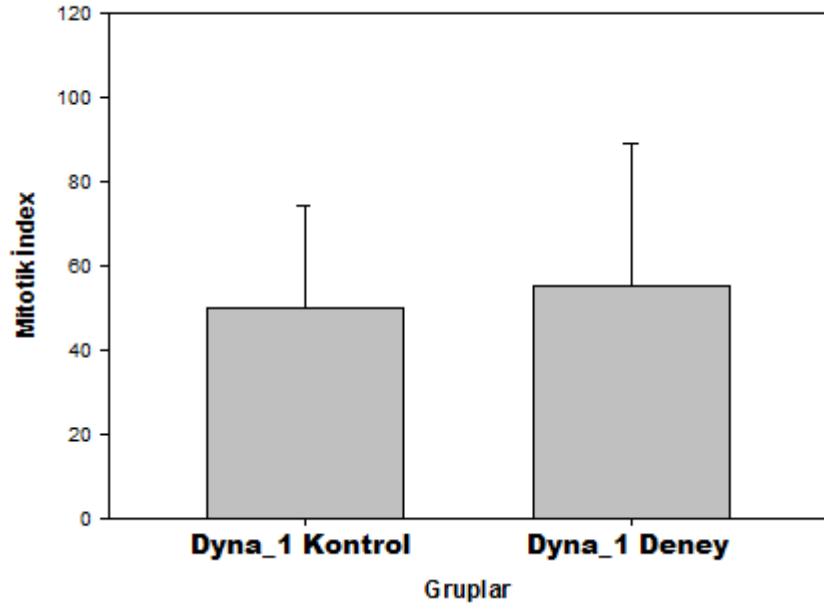
Şekil 4.11. Kontrol grupları arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü

4.3.2. Bir Adet Dyna Mıknatıs Uygulanan Grubun (Dyna-1) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Bu karşılaştırma işleminde ilk olarak verilerin dağılımı incelendi. Veriler normal dağılım gösterdiğinden deney ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında eşleştirilmiş t testi kullanıldı. Bu analiz sonucunda kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel olarak fark anlamsız bulundu ($p = 0,623$). (Tablo 4.10, Şekil 4.12).

Tablo 4.10. Dyna-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi

Eşleştirilmiş t testi	Ort.	SS	Min.	Mak.	p
Dyna_1 Kontrol	50,143	24,017	23	81	$p = 0,623$
Dyna_1 Deney	55,429	33,936	12	111	



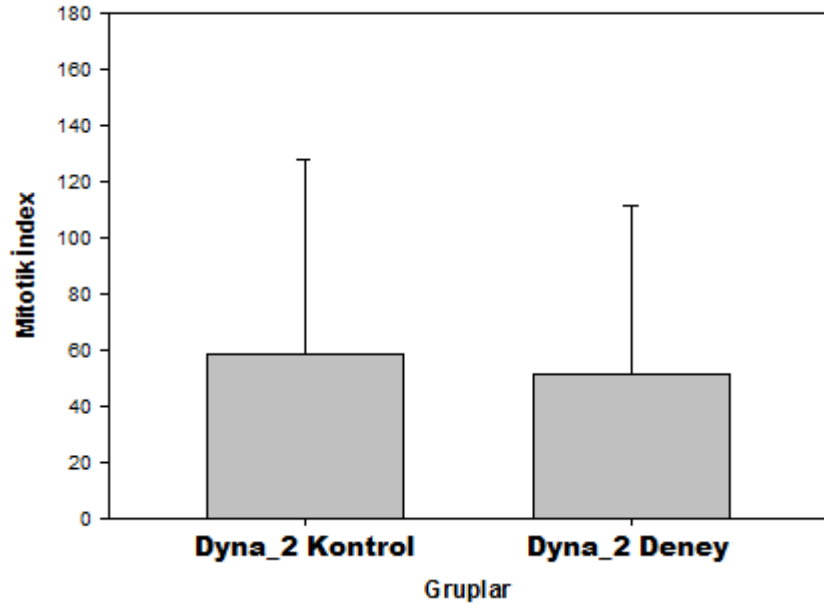
Şekil 4.12. Dyna-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü

4.3.3.İki Adet Dyna Mıknatıs Uygulanan Grubun (Dyna-2) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Bu karşılaştırma işleminde ilk olarak verilerin dağılımı incelendi. Veriler normal dağılım gösterdiğinden deney ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında eşleştirilmiş t testi kullanıldı. Bu analiz sonucunda kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel olarak fark anlamsız bulundu ($p = 0,196$) (Tablo 4.11, Şekil 4.13).

Tablo 4.11. Dyna-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi

Eşleştirilmiş t testi	Ort.	SS	Min.	Mak.	p
Dyna_2 Kontrol	58,429	69,457	0	160	$p = 0,196$
Dyna_2 Deney	51,714	60,052	0	130	



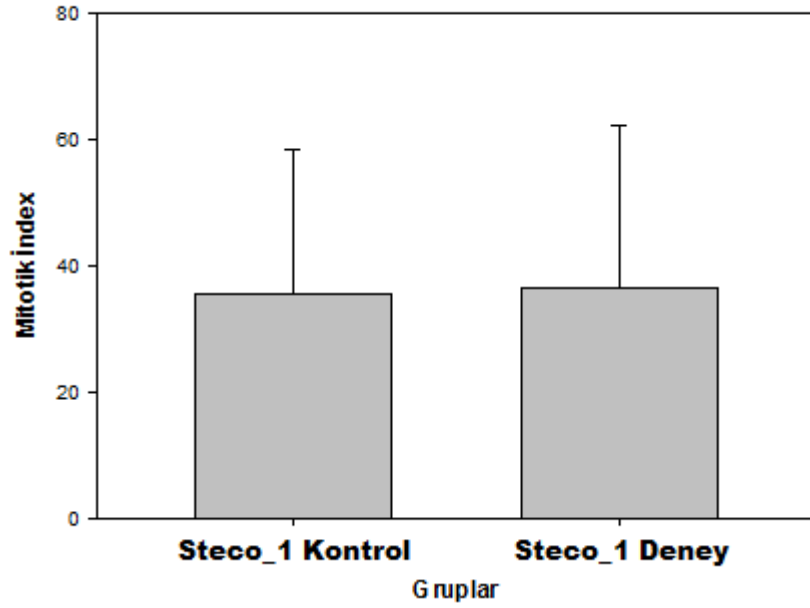
Şekil 4.13. Dyna-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü

4.3.4. Bir Adet Steco Mıknatıs Uygulanan Grubun (Steco-1) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Bu karşılaştırma işleminde ilk olarak verilerin dağılımı incelendi. Veriler normal dağılım gösterdiğinden deney ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında eşleştirilmiş t testi kullanıldı. Bu analiz sonucunda kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel olarak fark anlamsız bulundu ($p = 0,651$). (Tablo 4.12, Şekil 4.14).

Tablo 4.12. Steco-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi

Eşleştirilmiş t testi	Ort.	SS	Min.	Mak.	p
Steco_1 Kontrol	35,429	22,970	4	67	$p = 0,651$
Steco_1 Deney	36,571	25,813	4	66	



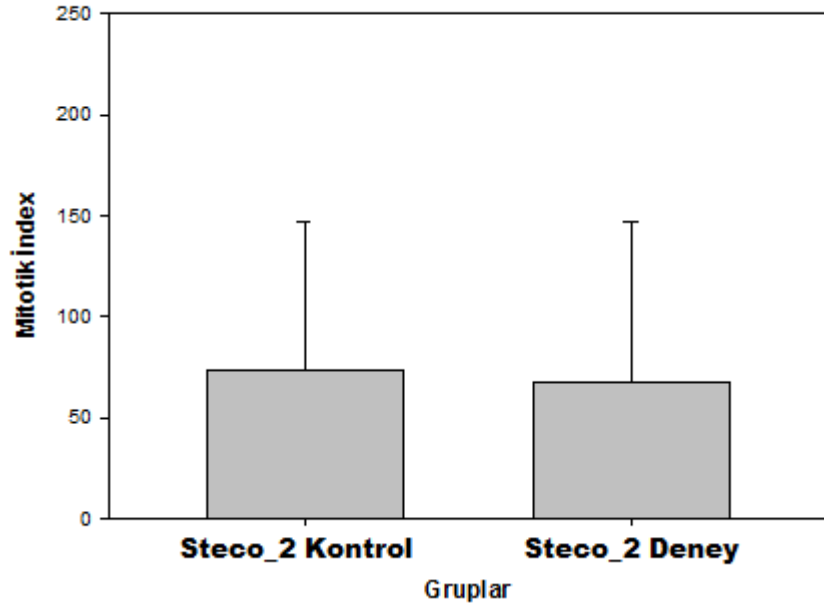
Şekil 4.14. Steco-1 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü

4.3.5.İki Adet Steco Mıknatıs Uygulanan Grubun (Steco-2) Deney ve Kontrol Değerleri Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Bu karşılaştırma işleminde ilk olarak verilerin dağılımı incelendi. Veriler karekök çevrimi yapıldıktan sonra normal dağılım gösterdi. Deney ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında eşleştirilmiş t testi kullanıldı. Bu analiz sonucunda kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel olarak fark anlamsız bulundu ($p = 0,361$). (Tablo 4.13, Şekil 4.15).

Tablo 4.13. Steco-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın incelenmesi

Eşleştirilmiş t testi	Ort.	SS	Min.	Mak.	p
Steco_2 Kontrol	7,523	4,431	6	203	$p = 0,361$
Steco_2 Deney	6,733	5,077	2	195	



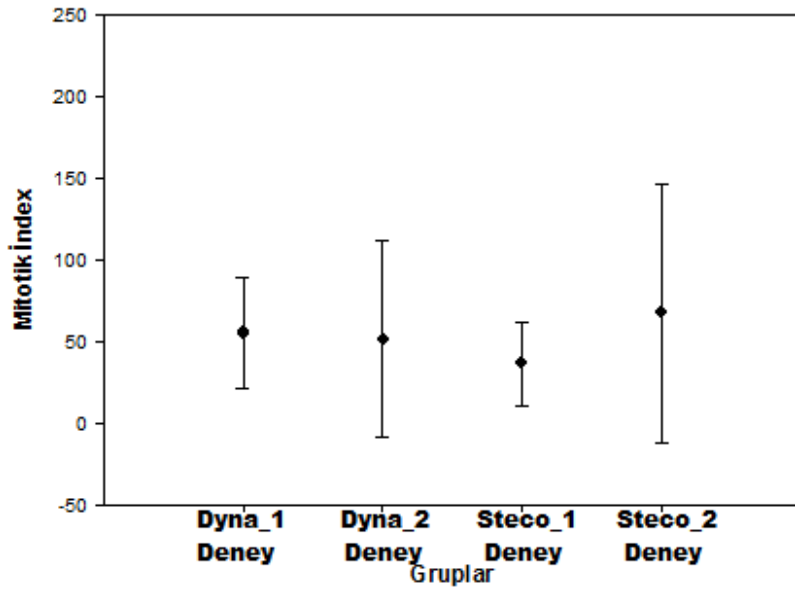
Şekil 4.15. Steco-2 grubunun deney ve kontrol değerleri arasındaki farklılığın grafik üzerinde görünümü

4.3.6.Farklı Miknatıs Uygulanan Grupların Arasındaki Farklılığın İncelenmesi

Gruplarda farklı miknatısların kullanılması ile farklı etkiler olup olmadığı araştırıldı. Bu amaçla, her grubun deney grupları birbirleri ile karşılaştırıldı. Karşılaştırmada ilk olarak verilerin dağılımı incelendi. Veriler normal dağılım gösterdiğinden tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldı. Bu analiz sonucunda 4 grup arasında istatistiksel olarak fark anlamsız bulundu ($p = 0,764$). (Tablo 4.14, Şekil 4.16).

Tablo 4.14. Miknatıs uygulanan gruplardaki farklılığın incelenmesi

ANOVA	Ort.	SS	Min.	Mak.
Dyna_1 Deney	55,429	33,936	12	111
Dyna_2 Deney	51,714	60,052	0	130
Steco_1 Deney	36,571	25,813	4	66
Steco_2 Deney	67,429	79,355	2	195



Şekil 4.16. Mıknatıs uygulanan gruptaki farklılığın grafik üzerinde görünümü

4.4.DNA KIRIĞININ ANALİZİ

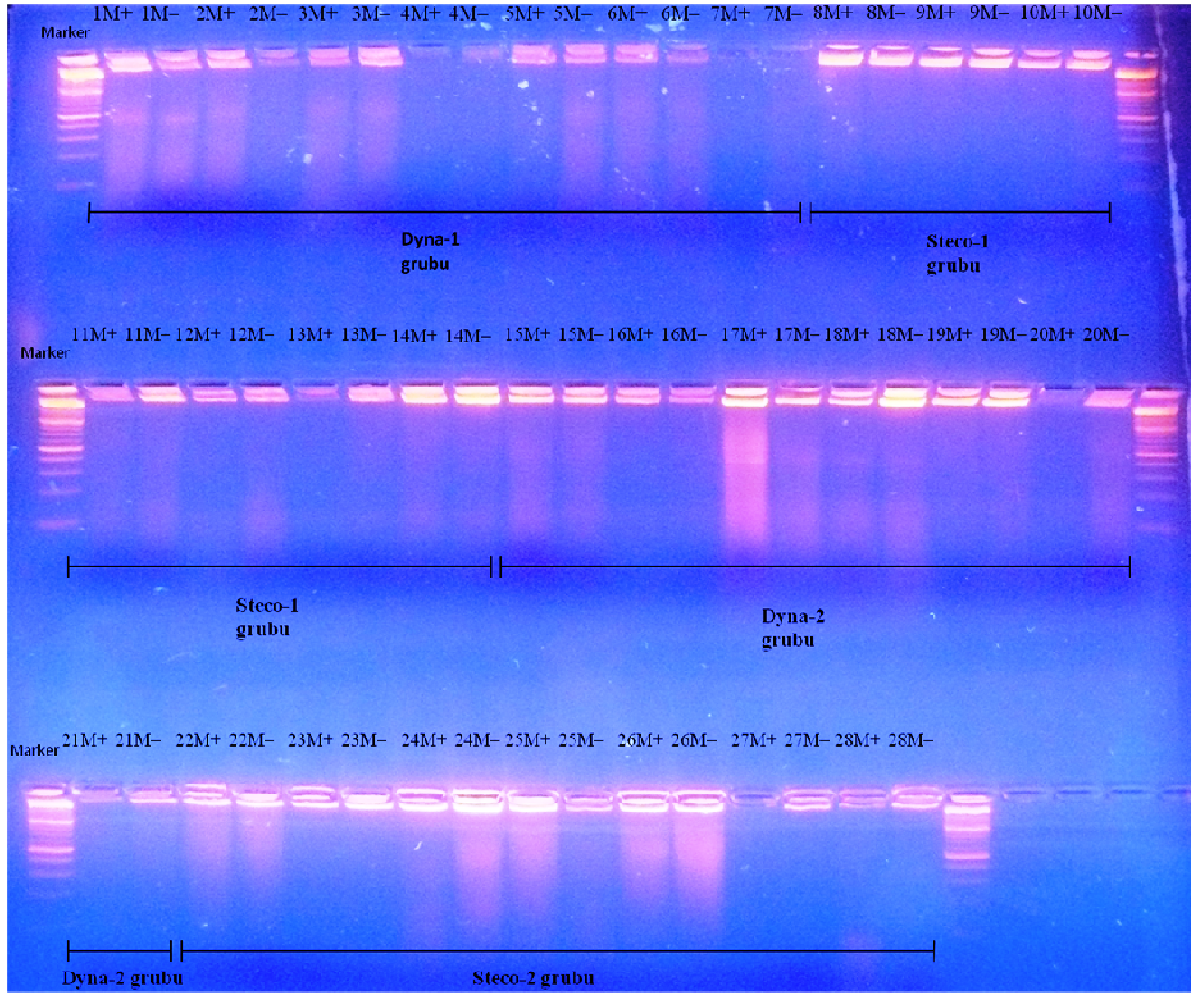
Etidyum bromür ile boyanan DNA'lar agaroz jelde yürütüldü. Üzerinde gruplar ve örnek numaraları belirtilen jel görüntüsü Resim 4.1'de verilmiştir.

Şeritlerde aşağıya doğru uzanan smear görüntüsü, kısmen kırılarak binlerce küçük parçaya ayrılmış büyük parçalardaki genomik DNA'ya işaret eder. Göze çarpan bant görünümü ise benzer uzunluktaki bir grup DNA parçacığını gösterir.

Daha küçük DNA fragmanları jelde daha hızlı ilerlediğinden smear görüntüsü oluşmaktadır. Fazla miktarda DNA içeren örnekler kuyucukta daha parlak görünmektedir ve smear da buna bağlı olarak belirgin olmuştur. 17 numaralı mıknatıs uygulanmış örnekte, belirgin görünen smear, DNA'nın kuyucuktaki başlangıç miktarının fazla olmasına bağlı olabilir.

Steco-1 grubunda, 8, 9, 10, 11, 12, 14 numaralı örneklerde kuyucuktaki başlangıç DNA miktarı yoğun olmasına rağmen smear miktarı diğer gruplardan daha az görünmektedir. Bu durum Steco-1 mıknatısın manyetik alanı en düşük grup olmasına bağlanabilir.

Bu çalışmada jel görüntüsüne göre, mıknatıs uygulanan ve uygulanmayan örnekler arasında DNA zinciri kırıkları açısından belirgin fark görülmemiştir.



Resim 4.1. Tüm gruplardan izole edilen DNA'ların agaroz jel elektroforezi görüntüsü ('M+' mıknatıs uygulanan, 'M-' mıknatıs uygulanmayan örnekler)

5. TARTIşMA VE SONUÇ

5.1.ÇALIşMANIN AMACI

Manyetik alanların biyolojik sonuçları hakkındaki çalışmalar, memelilere ait çeşitli dokular ve hücreler üzerinde genellikle zararlı olan, şaşırtıcı şekilde geniş spektrumda sonuçlar göstermiştir (130). Ortaya konan sonuçlar ile manyetik alanların biyolojik cevaplara neden olabileceği deneysel olarak gösterilmiştir (131-133).

Klinik kullanım için tahsis edilmiş yeni bir materyalin, lokal veya sistemik seviyede herhangi bir yan etki oluşturmamasının temin edilmesi önemlidir. Mıknatısların biyolojik güvenlik testleri, hem statik manyetik alan etkilerini hem de materyalin veya korozyon ürünlerinin olası toksik etkilerini değerlendirir. 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 (4).

Dental manyetik tutucular ile ilgili literatürde yer alan çalışmaların büyük çoğunluğu, mıknatısların ve yüzey kaplamalarının korozyonu ile sitotoksitesi hakkındadır (42, 134-137). Dental manyetik tutucuların sahip olduğu SMA'nın canlı dokularda neden

olabileceği etkiler ile ilgili çalışmalar ise sınırlıdır. Bu çalışmalar içinde ise direkt olarak genotoksik etkilerin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu nedenlerle çalışmamızda dental protezlerde kullanılan iki farklı ticari marka manyetik tutucunun oluşturduğu SMA'nın insan gingival doku fibroblastlarına olan genotoksik etkileri mikronükleus, mitotik indeks analizleri ve agaroz jel elektroforezi ile DNA kırığının incelenmesi yöntemleriyle *in vitro* olarak araştırıldı.

5.2.GEREÇ VE YÖNTEMİN BELİRLENMESİ

Mikronükleuslu hücre indeksi, genomik instabiliteyi yansıtabilir (138, 139). Mikronükleusların varlığı ya da yokluğu yapılan uygulamanın hücresel DNA'yı hasara uğrattıp uğratmadığını doğrulayabilir (140). Bir popülasyonda mikronükleus sıklığının artması, kanser riskinin arttığına işaret eder (141).

Mikronükleus yönteminin temel avantajları, göreceli olarak hesaplama kolaylığı, sınırlı maliyeti, az zaman alması ve çok sayıda hücrenin değerlendirilebilmesi ve hassasiyetidir (142). Bu nedenle SMA'nın insan gingival fibroblastlara olası genotoksik etkisinin değerlendirilmesinde çalışmamızda bu yöntem tercih edilmiştir.

Karsinogenezde son nokta, hücre bölünmesinin kontrolünün dikkat çekici kaybıdır (143) ve bu nedenle manyetik alanın hücre proliferasyonu ve büyümesi üzerindeki etkilerinin araştırılması önemlidir (144).

Yapılan *in vivo* çalışmalar, yumuşak ve sert dokularla yakın temastaki nadir toprak mknatıslarının mitotik aktiviteyi etkileyebileceğini göstermiştir (145-148).

Hücresel proliferasyon miktarı farklı yöntemler kullanarak 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 (149). Çalışmamızda mikronükleus analizi için yapılan kültürlerden aynı zamanda mitotik indeks preparatları da hazırlanabildiğinden, hücre proliferasyonunun belirlenmesinde bu yöntem tercih edilmiştir.

Mitotik indeks hücre bölünmesi frekansını yansıtır ve sitotoksikite miktarının belirlenmesi için önemli bir parametredir (150).

DNA, endojen ve ekzojen faktörler ile sürekli olarak hasara uğrar ve DNA tamir enzimleri ile onarılır. Hasar ve tamirdeki herhangi bir dengesizlik ve tamirdeki hatalar, DNA hasarının birikimine yol açar. Sonuçta bu durum hücre ölümüne, yaşlanmaya veya kansere neden olacaktır. DNA lezyonlarının çeşitli tipleri vardır. Tespit edilebilen en yaygın olanları DNA kırıkları ve DNA çapraz bağlantılarıdır (151).

Deneysel *in vivo* uygulamalar, çevre dokularda oluşabilecek etkilerin manyetik alandan mı yoksa manyetik materyallerin korozyon ürünlerinden mi kaynaklandığının ayırımına izin vermez. Bu nedenle çalışmamızda insan gingival fibroblast kültürüne manyetik alan uygulanması tercih edilmiştir.

Çalışmamızda, çekim güçleri, dolayısıyla manyetik akı yoğunlukları farklı Steco ve Dyna marka protetik manyetik tutucular, tek ve çift olarak iki ayrı konfigürasyonda yerleştirilmiştir. Kapalı alan mıknatıslarının daha az eksternal manyetik alan oluşturduğu bilindiğinden (7) her iki manyetik tutucu da açık alan sisteminden seçilmiştir. Mıknatıslar, tutucu yüzeyleri açıkta kalacak şekilde akrilik rezine gömülerek protez içindeki konumları taklit edilmiştir.

Linder-Aronson ve Lindskog (152), Yamaguchi ve ark. (153) ile Yamamoto ve ark.'nın (154) 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. Dyna-1'de mıknatısın merkezinde 130 mT, Dyna-2'de mıknatıslardan birinin merkezinde 148,1 mT, Steco-1'de mıknatısın merkezinde 95,6 mT, Steco-2'de mıknatıslardan birinin merkezinde 107 mT manyetik akı yoğunluğu ölçülmüştür.

Mıknatıs merkezlerinden dikey yönde 1 mm ve yatay yönde 5 mm uzaklıkta ise sırayla Dyna-1'de 5,9 mT, Dyna-2'de 7,7 mT, Steco-1'de 4,1 mT, Steco-2'de ise 4,4 mT manyetik alan yoğunluğu ölçülmüştür. Bu değerler Gillings'in (6) dişeti marjiniinde ölçülebileceğini belirttiği 30 mT'lık manyetik akı değerlerinden oldukça düşüktür. Ayrıca protez ağıza yerleştirildiğinde mıknatıs "keeper" ile temasa geçerek kapalı devre oluşturacak ve eksternal manyetik alan daha da az olacaktır.

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 kltrlarına göre orijinal fizyolojik durumu ifade etmeleri nedeniyle tercih edilmiştir (98, 99).

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

Dişeti rneği alınan bireylerin seçim kriterleri

Bloching ve ark. bukkal mukoza epiteli hücrelerinde mikronükleus değerlendirmesi sonucunda, alkol ve sigara kullanımı ile subgingival plak varlığının, genotoksik olabileceği sonucuna varmışlardır (155).

Sigara dumanının çeşitli genotoksik kimyasallar içerdiği bilinmektedir ve sigara içmenin oral kaviteyi de kapsayan kansere neden olduğu açıkça gösterilmiştir (156).

Argentin ve Cicchetti tarafından yapılan çalışmada (2004), insan gingival fibroblastları 1μM, 10μM ve 1mM nikotin eklenerek 24-72 saat süre ile kültüre edilmiştir. DNA hasarı, sitokalsin B ile sitoplazma bölünmesi durdurularak mikronükleus testi ile değerlendirilmiş; DNA fragmentasyonu ise agaroz jel elektroforez metodu ile analiz edilmiştir. Kontrollerle karşılaştırıldığına 1μM dozu MN frekansını belirgin şekilde artırmış; 10μM hücrelerin hayatta kalmasını da etkileyerek MN frekansını küçük bir etkinlikle artırmış; 1mM ise güçlü sitotoksitesine bağlı olarak hücre sayısında önemli bir azalmaya neden olarak belirgin bir DNA hasarı göstermemiştir. Agaroz jel elektroforezinde apoptozisin (programlı hücre ölümü) karakteriştiği olan internükleozomal basamak görünümü ortaya çıkmıştır (157).

Nikotine maruz kalan epitel hücrelerinin insan gingival fibroblastlarının, proliferasyon, protein ve kollajen üretimi gibi çeşitli fonksiyonlarını engelleyebileceği gösterilmiştir (158). Ayrıca nikotinin insan gingival fibroblastlarında belirli dozlarda proliferasyonu engellediği gösterilmiştir (159). Trivedi ve ark., nikotinin az miktarda kromozom sapmaları ve kardeş kromatit değişimleri gösterdiğini rapor etmiştir (160).

Nikotin oral dokulardaki genotoksik ve sitotoksik etkilerinin gösterildiği bu çalışmalara dayanarak sigara içen bireyler çalışmamıza dahil edilmemiştir.

Çalışmamızda diş eti örneklerinin alınması için sigara içmeyen, alkol kullanmayan 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 bireyler seçilmiştir. Çekimi yapılan dişte veya çevre dokularda herhangi bir enfeksiyon veya enflamasyon olmamasına dikkat edilmiştir.

5.3.İNSAN GİNGİVAL DOKULARINDA SMA'NIN ETKİLERİ İLE İLGİLİ YAPILAN ARAŞTIRMALAR

Behrman, 1960'da manyetizmin dokulara tamamen zararsız olduğunu bildirmiştir (17). Bu tezini histolojik çalışmalarla desteklemiş ve mıknatısları implante ettiği 450 örnek ile klinik başarı iddia etmiştir. Bununla birlikte, manyetik alanların doku etkileri yaratabileceğini öne süren önemli miktarda literatür vardır. Bu çalışmaların çoğunda - bazı raporların 8 mT kadar alanlarda etkiler iddia etmesine rağmen- manyetik alan yoğunluğu 100-1000 mT olarak kullanılmıştır. Mıknatıs - mıknatıs veya mıknatıs - mıknatıslanabilen döküm tutucu sistemlerinde eksternal manyetik alan diş eti marjinde 30 mT kadar yüksek olabilmektedir (6) .

Sato ve ark. (1992) 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 yerleştirmişleridir. 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 bulamamışlardır (161).

Linder-Aronson ve Lindskog (1995), çalışmalarında insan periodontal fibroblastlarını paslanmaz çelik kaplı, 32 mm çapında ve 7 mm kalınlığında Nd-Fe-B mıknatısların üzerine yerleştirilen petrilere 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 (152). Bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında, mitotik indeksin istatistiksel olarak anlamlı değişim göstermemesi kültür süresinin daha az 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 (153).

Xu ve ark.'nın 2008'de yaptıkları çalışmalarında, ortodontik nedenlerle çekilen sağlıklı çürüksüz bir diştten aldıkları periodontal ligament hücrelerini kültüre etmişlerdir. Hücre kültürlerini, Nd-Fe-B mıknatıslar kullanarak kendi geliştirdikleri bir sistem ile manyetik alana maruz bırakmışlardır. Kültür kapları ve mıknatıslar arasındaki mesafe değiştirilerek, kapalı alan ve açık alan mıknatıslarını taklit etmek için manyetik akı sırasıyla 10 mT ve 120 mT'ye ayarlanmış; 12, 36 ve 60 saatlik uygulamalar yapılmıştır. Hastanın gün boyunca manyetik tutuculu protezi kullanma süresini taklit etmek için 12 saat seçilmiştir. Kontrol kültürleri sistemin dışında tutulmuştur. On iki saat boyunca 10 mT manyetik akı uygulanan hücrelerde boyut ve şekil olarak kontrollerle fark görülmemiştir. Sırasıyla 36 ve 60 saatlik uygulama sonucunda ise hücrelerde büzülme ve sitoskeleton F-aktinlerde düzensizlik görülmüştür. 120 mT uygulamasında hücrelerde büzülme, sitoskeleton F-aktinlerde kısalma ve düzensizlik açıkça görülmüştür. 120 mT'nin 60 saat uygulanmasında ise büzülmüş hücrelerdeki F-aktinleri artık ayırt edilememiştir. Hücrelerdeki büzülme, hücrelerin kültür kabına yapışma yeteneklerinin de azalmasını belirtmektedir (60).

Bondemark ve ark., 1995'de yaptıkları çalışmalarında 7 bireyin ortodontik amaçla çekilmesi planlanan premolar dişine, kutup yüzeyi bukkal gingival marjinden yaklaşık 1 mm mesafede olacak şekilde bir Sm-Co mıknatıs, kontralateral dişe ise demanyetize mıknatıs yapıştırmışlardır. Test tarafında, pulpada manyetik akı maruziyeti 10-15 mT, gingival marjinlerde ise 20-90 mT olarak ölçülmüştür. Sekiz haftalık test süresi sonunda dişler çekilmiş, EDTA ile dekalsifiye edilmiş, gingival biyopsiler alınmış, parafine gömülerek kesitleri ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Pulpada hücre morfolojisinde ve

düzeninde değişim görülmemiştir. Gingival dokularda ise deney ve kontrol alanlarında fark görülmemiştir (162).

5.4.ÇEŞİTLİ HÜCRE VE HAYVANLAR ÜZERİNDE MANYETİK ALANLARIN ETKİLERİ İLE İLGİLİ YAPILAN ARAŞTIRMALAR

Victoria ve ark. (1976), 3-5 aylık süre sonunda 180-200 Gauss manyetik alanın kemik iliği hematopoetik kök hücrelerinin proliferasyonunda etkisi olmadığını bildirmiştir (163).

Malinin ve ark. 1976'da, L-929 ve WI-38 hücrelerinin 5000 mT manyetik alana 4- 8 saat maruz kaldıklarında büyümelerinin kontrollere göre belirgin şekilde engellendiğini ve uygulamadan 7 gün sonra morfolojik olarak farklı hücrelerin ortaya çıktığını ve nesilden nesile yayıldığını; 3 hafta sonra ise kontak sınırlamasının ortadan kalktığını söylemişlerdir. Buna göre belli deneysel koşullarda güçlü manyetik alanların hedef hücrelerde morfolojik ve fizyolojik değişikliklere yol açtığı sonucuna varmışlardır (164).

Frazier ve ark. 1979'da Malinin ve ark.'nın deneyini tekrarlamış ve zararlı hücre sel değişikliklerinden manyetik alanın değil hücre kültür tekniğinin sorumlu olduğunu bulmuşlardır (165).

Tsutsui ve ark. (1979) FL hücreleri ile yaptıkları çalışmalarında $2 \times 2 \times 3 \text{ mm}^3$ boyutlarında bir Sm-Co mıknatısı ve kontrol olarak aynı boyutlarda demanyetize edilmiş bir Sm-Co mıknatısı steril ederek hücre kültürünün içine yerleştirmişler ve 96 saate kadar hücre büyümesini gözlemlemişlerdir. Hücre nükleusları sayılmış ve sonuçta ikisi arasında belirgin fark görülmemiştir. Küçük bir mıknatısın manyetik alanının dağılımının mıknatısın etrafında yaklaşık 1 cm içinde sınırlandığından manyetik alanın pratikte dokularda etkisinin olmayabileceğini düşünmüşlerdir (166).

Esformes ve ark. tarafından yapılan çalışmada, N insan lenfositlerinin, WI-18 insan embriyonik fibroblastlarının ve LM fare embriyo fibroblastlarının, Sm-Co mıknatıslar tarafından üretilen 50 mT yoğunluğundaki manyetik alana kısa süreli maruziyetinin büyüme hızı veya hücre tipi cevabında belirgin bir etki göstermediği bulunmuştur (167).

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 gözlemlemiştir. Osteoblastlarda ise stimülasyon olmamıştır (168).

Nakahara ve ark.'nın Chinese hamster yumurtalık hücrelerini 4 güne kadar 10 T SMA'ya maruz bıraktıkları çalışmalarında, hücre büyüme oranı ve hücre döngüsü etkilenmemiş ve statik manyetik alan tek başına mikronükleus oluşumunu etkilememiştir. X ışınlarına maruz kalan hücrelerde 1 T SMA uygulaması da mikronükleus oluşumunu etkilememiştir, fakat 4 Gy X-ışını uygulandıktan sonra 10 T statik manyetik alana maruz kalan hücrelerde MN oluşumunda belirgin farklılık olmuştur ($p<0,05$) (169).

Zmyslony ve ark.'nın çalışmalarında lenfositlerin 7 mT statik manyetik alana maruz kalmaları sonucunda comet testi ile belirlenen DNA hasarlı hücre sayısında değişim olmamıştır (170).

Yamamoto ve ark., 2003'de Nd-Fe-B mıknatıs disklerini, rat kalvary hücre kültürü yapılan kabın altına yerleştirerek hücreleri SMA'ya maruz bıraktıkları çalışmalarında, osteoblastik diferansiyasyon, proliferasyon, kemik nodülü oluşumunu incelemişlerdir. Yirmi günlük kültür süresince SMA varlığında toplam alan, sayı ve kemik nodüllerinin ortalama boyutu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Matriksteki kalsiyum içeriği ve osteoblastik fenotipin iki işareti belirgin artış göstermiştir. Bu bulgulara dayanarak SMA'nın osteoblastik diferansiyasyon ve/veya aktivasyonu teşvik ederek kemik oluşumunu uyardığı iddia edilmiştir (154).

Kim ve ark. (2005), manyetik alanın titanyum yüzeyine fibronectin tutunması, hücre yapışması ve çoğalmasına etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla Nd-Fe-B mıknatıstan uzaklığı kontrol ederek 1, 2, 3, 5, 7 ve 10 mT manyetik alanlarda fibronectin tutunmasını ve insan osteosarkom TE-85 hücrelerinin yapışması ve çoğalmasını incelemişlerdir. Kontrol grubuna ise mıknatıs uygulamamışlardır. Fibronectin tutunmasında belirgin bir fark bulunmamıştır. Yapışma deneyinde kontrol grubuna göre, 1, 2, 5 ve 10 mT gruplarında anlamlı farklılık bulunmuştur. Özellikle 1 mT'da en yüksek hücre yapışması değeri görülmüştür. Çoğalma deneyinde ise kontrol grubuna göre farklılık görülmemekle birlikte 1 mT grubu 2, 3 ve 7 mT'ye göre anlamlı derecede yüksek çoğalma değerleri göstermiştir. Bu çalışmada manyetik alanların belli yoğunluklarının biyolojik cevapları artırdığı görülmüştür (171). Bu çalışmanın sonuçları Masumoto ve ark.'nın tavşan femuruna dental implant yerleştirdikleri

çalışmasının sonuçlarıyla uyumludur. Onlar, 0,2 ve 0,3 mT titreşimli manyetik alanda, 0,8 mT'nın altındaki manyetik alana göre daha fazla kemik oluşumu gözlemlemişlerdir ve minimal gerekli manyetik yoğunluğun, yüksek manyetik yoğunluğa göre daha etkili şekilde kemik oluşumunu uyardığı sonucuna varmışlardır (172).

Manyetik alan biyolojik materyallerle etkileştiğinde, maruziyetin süresine, yoğunluğuna, dokunun geçirgenliğine ve hücrenin tipine bağlı olarak hücresel ve moleküler modifikasyonlara sebep olur (173).

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 spesifikliğı, hücre cevapları ve doz ilişkisi ile çatışabilir (171).

Ivancsits ve ark. 2002'de yayınladıkları çalışmalarında, sağlıklı 28 yaşında kadın ve 6 yaşında erkek bireyden aldıkları deri biyopsilerinden elde edilen diploid fibroblastları kültüre etmişlerdir. Çok düşük frekanslı (50 Hz) sinusoidal 1mT şiddetinde aralıklı elektromanyetik alan uygulanmış ve comet testi ile DNA kırıklarında artış bulunmuştur. Aynı zamanda çok düşük frekanslı elektromanyetik alana cevapta bireysel farklılıklar da görmüşlerdir. Bu nedenle cinsiyet, yaş gibi bireysel faktörlerin elektromanyetik alana karşı DNA hassasiyetinde önemli bir rol oynayabileceğini belirtmişlerdir (174).

Bizim çalışmamızda da Steco-2 deney ve kontrol grupları mikronükleus değerleri arasında anlamlı fark görülmesi sadece manyetik alan şiddeti ile açıklanamaz. Çünkü Dyna-2 grubunda hücrelerin maruz kaldığı manyetik alan daha şiddetlidir. Yukarıda bahsedildiğı gibi, bu farklılıkta dişeti örneğinin alındığı bireylerin özellikleri de muhtemelen etkilidir.

Ivancsits ve ark. 2005'de yayınlanan çalışmalarında insan diploid fibroblastları, rat granülosa hücreleri, insan melanositleri, iskelet kası hücreleri, lökositler ve lenfositleri 1-24 saat süre ile 50 Hz 1 mT şiddetinde çok düşük frekanslı elektromanyetik alanda kültüre ederek comet testi ile DNA hasarını inceledikleri çalışmalarında rat granülosa hücreleri ve fibroblastları en fazla DNA zincir kırığını göstermiştir. Melanositler düşük düzeyde tepki gösterirken iskelet kası hücreleri, lökositler ve lenfositler tepki göstermemiştir. Bu sonuçlara dayanarak hücre tipine spesifik reaksiyon ve farklı dokuların çok düşük frekanslı elektromanyetik alana farklı hassasiyeti olduğunu belirtmişlerdir (175).

Ivancsits ve ark., daha önceki bir çalışmada çok düşük frekanslı elektromanyetik alan maruziyetine cevabın donörün yaşı ile ilişkili olduğunu, daha yaşlı bireylerin çok düşük frekanslı elektromanyetik alanın genotoksik etkilerinden daha kolay etkilendiklerini göstermişlerdir (176).

Raylman ve ark., CCL 86 (lenfoma, Raji) hücrelerinde 7 T'lik güçlü uniform statik manyetik alana 64 saat maruziyetten sonra, titreşimli-alan elektroforezi testinde DNA kırıklarında bir artış görmemişlerdir. İnceledikleri 3 insan tümör hücre tipinde (melanoma, yumurtalık kanseri, lenfoma) de hücre büyümesinin engellendiği ve canlı hücre sayısının kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür (177).

Li ve ark.'nın 2007'de insan göbek kordonu endotel hücrelerinin kültüre edildiği kapları Nd-Fe-B mıknatıslar üzerine yerleştirerek 0,1 mT, 1 mT, 10 mT SMA'ya maruz bıraktıkları çalışmalarında hücre canlılığı 0,1 ve 1 mT şiddetindeki manyetik alandan etkilenmemiş, 10 mT SMA ise sadece apoptoz değil nekroza da neden olan toksik etki ortaya çıkarmıştır. MTT ve ³H-TdR testi sonucuna göre, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 1 ve 10 mT SMA, hücre proliferasyonunu belirgin şekilde azaltmıştır (178).

Hayvan çalışmalarına bakılacak olursa, Toto ve ark.'nın 1962'de Platin-Kobalt alaşımı mıknatısları köpek mandibulasına 6 ay süresince gömdüğü bir çalışmada, manyetize implantların varlığında, kemik içinde ve çevresinde normal iyileşme süreci görülmüştür (179).

Gross ve Smith (1964), 3000 mT şiddetinde güçlü manyetik alanın ratlarda fibroblastların proliferasyonunu ve yara iyileşmesini belirgin şekilde geciktirdiğini bulmuşlardır (180).

Barnothy 1964'de 5 haftalık farenin büyümesine 5900 G SMA'nın etkisini araştırmış ve 5 gün sonunda kontrol faresine göre manyetik alana maruz kalan farenin gelişiminin geri kaldığını göstermiştir (181).

Barnothy ve Sumegi (1969), 4200 mT'lik güçlü manyetik alanın kesintisiz 4 gün uygulanmasının farelerde adrenal bezin, kemik iliğinin, karaciğer ve dalağın yıkımına neden olabileceğini bulmuştur (182).

Cerny tarafından 1979'da yapılan ve ilk hayvan çalışmalarından biri olan Sm-Co mıknatısların doku içine gömülerek etkilerinin araştırıldığı çalışmada kan hücrelerinde herhangi bir yan etki görülmemiştir (183).

Yine Cerny'nin 1980'deki Sm-Co manyetik implantların 6 ay süresince köpek dental dokularında oluşturduğu etkiyi araştırdığı çalışmasında 95 mT'ye kadar manyetik alan varlığında diş pulpasında, bukkal mukoza veya alveolar kemikte klinik ve mikroskopik olarak doku hasarı görülmemiştir (184).

Linder-Aronson ve ark.'nın 1992'de maymunlar üzerinde yaptıkları çalışmada iki erkek maymuna üst çenede 17-27 nolu dişleri, alt çenede ise 32-42 nolu dişleri kapsayan splint yapılmış, 17 nolu dişin bifurkasyonuna ve 14 nolu dişin köküne; 41 nolu dişin köküne ve 42 nolu dişin çekiminden sonra alveolüne bukkal ve linguale ortodontik mıknatıslar (Co₅-Sm) yerleştirilmiştir. Simetrik dişler ise kontrol olarak kullanılmışlardır. Ondört hafta sonunda mıknatısların altındaki dokular ve kontrol tarafları çıkarılarak analiz edilmiş, mıknatıs tarafında epitelin ortalama iki tabaka daha ince olduğu bulunmuştur. Osteoblast aktivitesinin ise mıknatıs tarafında azaldığı ve/veya osteoklast aktivitesinin arttığı görülmüştür. Buna göre ortodontik mıknatısların biyolojik etkileri olduğu fakat bu etkilerin mıknatısın toksisitesinde mi, manyetik alanından mı, yoksa her ikisinin kombinasyonundan mı kaynaklandığı belirlenememiştir (146).

Timidin'in, Amano ve ark. tarafından DNA'ya katılan bir spesifik prekürsör olduğu gösterilmiştir (185). Camilleri ve McDonald'ın 1993'de yaptıkları çalışmada Wistar albino ratların sagittal suturlarına Nd-Fe-B mıknatıs yerleştirmişler ve kontrol, kuzey, güney ve müdahale edilmeyen hayvanlarda 1, 3, 5 ve 10. günlerdeki hücresel aktivite tritize timidin alımının değerlendirilmesiyle incelenmiştir. Kemik oluşumu ise tetrasiklin floresans metoduyla araştırılmıştır. Sonuçta timidin alımının belirgin derecede inhibe olduğu görülmüş ve manyetik alan maruziyetinin bir yolla hücre bölünmesini engelleyebileceği açıklanmıştır. Kemik büyümesinin ise belirgin bir derecede etkilenmediği gösterilmiştir (147).

Feiendiegen and Muhlensiepen, SMA'nın, timidin kinaz üzerindeki etkisinin onun aktivitesini baskılamak şeklinde olduğu sonucuna varmışlardır. Timidin kinaz, timidini fosforile eder. Bu aşama prekürsörün DNA içine girişini sınırlar (186).

Manyetik alan etkisinin doğası hala tahmin aşamasındadır. Bununla beraber kanıtlar ağırlıklı olarak hücre membranının alandan etkilendiği yönündedir. Biyolojik membranlar, yeterli yoğunluktaki manyetik alan tarafından oryante edilir. Bu oryantasyon, porların biçimini bozarak, aktif bölgeleri örterek veya açarak membranın özelliklerini değiştirmek için yeterli olabilir. Membrana bağlı enzimlerin reaksiyon miktarı değişebilir. Tritize timidin için membrana bağlı bir enzim olan timidin kinaz reaksiyonundaki değişiklikler, molekülün DNA içine girişini sınırlayacak ve 'S' fazına (DNA replikasyonu) giren hücre sayısını etkileyecektir. Bu durum da azalmış etiketleme indeksi ile ortaya çıkacaktır (147).

Altay ve ark., 5 sağlıklı köpek üzerinde yaptıkları çalışmada, 3'ü Sm-Co mini mıknatısları (Dyna) içeren, 2'si ise boş 5 adet titanyum kapsülü köpeklerin mandibulalarına implante etmişler ve 6 aylık süre sonunda kapsül konulan taraftan (mıknatıslı veya mıknatıssız) ve kontrol tarafından kemik segmentlerini çıkarıp fikse ve dekalsifiye ederek incelemişlerdir. Mıknatıslı tarafta, mukoperiosteal flepte herhangi bir anormal iyileşme görülmemiş ve kemik dokuda normal osteoblastik aktivite görülmüş ve hücre boyutunda, şeklinde veya içeriğinde bir farklılık bulunmamıştır (187).

Suzuki ve ark.'nın çalışmalarında fareler bir süper iletken mıknatıs ile 2, 3 ve 4,7 T şiddetinde SMA'ya maruz bırakılmış ve kemik iliği hücreleri toplanarak incelenmiştir. Mikronükleus frekansının zamana ve doza bağlı olarak arttığı bulunmuştur (58).

Daha önce belirtildiği gibi manyetik alanın biyolojik etkileri hakkında literatürde sınırlı sayıda insan çalışması vardır. Behrman'ın protez tutuculuğuna yardımcı olmak için Platin-Kobalt alaşımı mıknatısları 13 ay süreyle dişsiz mandibulanın molar bölgesine gömdüğü, 1960'da yayınlanan çalışmasında, mıknatısların çevresinde kemiğin büyüdüğü görülmüştür (17).

Saygılı ve ark., manyetik alanın maksiller bukkal mukozanın kan akışında zarar verici bir etki yapmadığını göstermişlerdir (188).

Bondemark ve ark. 1998'de yaptıkları diğer bir çalışmada akrilik kaplı Nd-Fe-B mıknatısları kutup kısmı bukkal mukozaya bakacak şekilde bir premolar dişe yapıştırmış, karşı taraf simetrik dişe ise demanyetize mıknatıs yapıştırmışlardır. Biyopsilerin alınacağı bölgede manyetik akım değerleri tüm örneklerde 80 ile 140 mT arasında değişmiştir. Mıknatıs ile temasta olan ve 9 ay boyunca SMA'ya maruz kalan

bukkal mukozada histolojik olarak, her iki tarafta da görülen sürtünmeye bağlı epitel kalınlaşması dışında, 9 ay sonunda kontrol tarafı ile farklılık görmemişlerdir (189).

Amara ve ark., 250 mT SMA'ya 1, 2 ve 3 saat süreyle maruz bıraktıkları THP1 hücrelerinde (monosit serisi), tek hücre jel elektroforez (comet) testi ile DNA hasarını araştırmışlardır. Grup 1 ve 2'de DNA hasarı görülmemiş fakat grup 3'de düşük seviyede DNA tek zincir kırıkları görülmüştür. Bu hafif DNA hasarının SMA alan uygulaması sonrası hücrelerde oluşabilecek çinko eksikliği ile ilişkilendirilmiştir (190). Öztürk ve ark., elektromanyetik alan maruziyetinin fare dokularında çinko eksikliğine yol açtığını rapor etmişlerdir (191). Çinko, metabolizmada pek çok rol oynar ve çok sayıda metalloenzim ve transkripsiyon faktörünün bileşenidir (192).

Lai ve Singh'in farelerde yaptıkları çalışmalarında, beyin hücrelerinde 24 saat süre ile uygulanan 60 Hz 0,01 mT manyetik alanın mikrojel elektroforez testi ile tespit edilen DNA tek ve çift zincir kırıklarında artışa neden olduğu gösterilmiştir. Beyin hücrelerinde demir aracılığı ile yönetilen serbest radikal oluşumunun DNA kırıklarına ve hücre ölümüne neden olduğunu öne sürmüşlerdir (193).

Çalışmamızda agaroz jel elektroforezi ile DNA kırıkları araştırılmıştır. Rastgele büyüklükte DNA kırıkları nedeniyle smear görüntüsü oluşmuştur. Fakat kuyucuktaki başlangıç DNA yoğunluklarının farklı olması nedeniyle karşılaştırmak zordur. Genel olarak mıknatıslı ve mıknatıssız örnek çiftlerinin kendi içinde smear görüntüleri benzerdir. Çalışmamızda elde edilen jel görüntüsüne göre kullanılan mıknatısların oluşturduğu SMA'nın DNA kırığına neden olduğu söylenemez.

SMA'nın hücre büyümesi ve DNA hasarı üzerindeki etkileri hala tartışma konusudur. Bu uyuşmazlıklar, maruziyetin yoğunluk ve süresinin veya kullanılan hücre tipinin farklılığı gibi deneysel faktörlere dayandırılmaktadır (190).

Uzun periyotlar boyunca tüm vücudun SMA maruziyetinin tavsiye edilen limiti 200 G'dur (194). Dünya sağlık örgütünün bir raporunda, gelişmiş organizmalarda statik manyetik alanların herhangi bir majör gelişimsel, davranışsal veya fizyolojik olarak ölçülebilir bir etkisinin olmadığını belirtmiştir. Hayvanların 2 T kadar SMA'ya maruz bırakıldığı orta süreli çalışmalar (günler) hiç zararlı etki göstermemiştir (55).

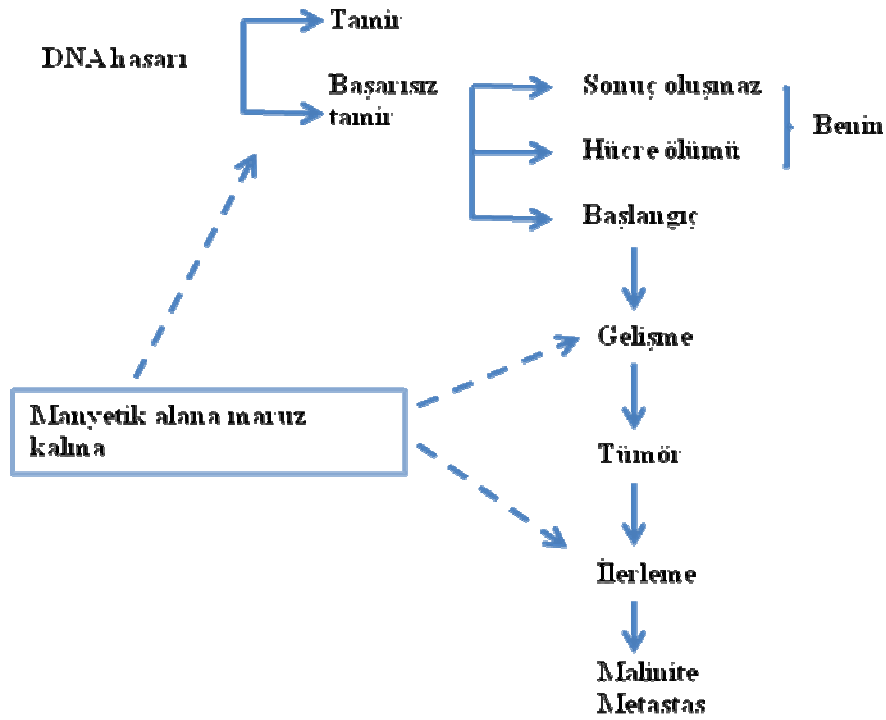
Blechman'a göre, SMA'lar hem tıp hem de diş hekimliği alanında 30-40 yıldır kullanılmaktadır ve SMA nedeniyle oluşan tek bir zararlı klinik yan etki raporu yoktur (195).

SMA'ların veya elektromanyetik alanların genotoksik etkileri üzerine pek çok yayınlanmış makale vardır. Ortaya çıkan kanıtlar ağırlıklı olarak, ne SMA'ların ne de elektromanyetik alanların genotoksik etki göstermediğini öne sürer (68, 196).

Miyakoshi'ye göre, pek çok makale kapsamlı olarak ele alındığında, manyetik yoğunluk göz önüne alınmaksızın statik manyetik alanlara maruz kalmanın etkisi ya yoktur ya da hücre büyümesinde veya genetik toksisitede çok küçük etkileri vardır. Bununla birlikte, iyonize radyasyon ve bazı kimyasallar gibi diğer dışsal faktörler ile kombine olduğunda, SMA'nın bunların etkilerini değiştireceğini öne süren güçlü kanıtlar vardır (140).

Ayrıca hücrelerin sürekli olarak sabit bir alana maruz bırakılması muhtemelen genomu koruyacak adaptasyon mekanizmalarını geliştirebilir, fakat çevresel koşullardaki düzenli değişim, bu mekanizmalarla çatışarak DNA'ya zarar verebilir. Hasarın büyüklüğü maruziyetin süresine ve tamir zamanına bağlıdır (174).

Manyetik alanların, direk DNA hasarından başka, hücre metabolizması ve mitogenezi değiştirerek ya da etkileyerek karsinogenezisin farklı yollarından etkilemesi önemli bir görüştür (144) (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. Manyetik alanın rol oynayabileceği klasik karsinogenez basamakları (144)

Burada kaynak gösterilen çalışmalarda SMA'nın yoğunlukları, saatlerden aylara kadar değişen uygulama süreleri ve farklı hücre tiplerinin kullanılmış ve farklı yöntemlerin uygulanmış olması direk olarak karşılaştırmayı zorlaştırmaktadır.

In vitro testlerden elde edilen sonuçların *in vivo* şartları ve uzun süreli klinik kullanımın oluşturacağı yan etkileri yansıtmayacağı genel olarak bilinmektedir.

Çalışmamızın sınırlamalarından biri de kültür süresinin 10-12 günle kısıtlı olması ve mıknatıs tutuculu hareketli protezlerin uzun yıllar kullanımı ile çevre dokularda oluşabilecek etkileri tam olarak yansıtamamasıdır. Bunun için daha uzun süreli *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır.

Dental protezlerde kullanılan mıknatısların oluşturduğu statik manyetik alanın insan gingival doku fibroblastlarına olan genotoksik etkilerinin *in vitro* olarak mikronükleus, mitotik indeks analizi ve agaroz jel elektroforezi ile DNA kırığının incelenmesi yöntemleriyle incelendiği bu tez çalışmamızda şu sonuçlar elde edilmiştir:

1. İnsan gingival doku fibroblast kültürlerine Dyna ve Steco marka mıknatısların tek ve çift konfigürasyonda uygulandığı koşullardaki SMA, 4 deney grubu (Dyna-1 ve 2; Steco-1 ve 2) arasında mitotik indeks değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmamıştır ($p>0,05$).
2. Mıknatıs uygulanması sonucu elde edilen mitotik indeks değerlerinin kendi kontrol değerleri ile karşılaştırıldığı grup içi karşılaştırmalarda, fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).
3. Mıknatıs uygulanan 4 deney grubu arasında mikronükleus oluşumu açısından fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).
4. Mıknatıs uygulaması sonucu elde edilen mikronükleus değerlerinin kendi kontrol değerleri ile karşılaştırıldığı grup içi karşılaştırmalarda, Steco-2 grubunda fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Diğer gruplarda ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).
5. Agaroz jel elektroforez yöntemi ile elde edilen görüntüye göre DNA kırıkları rastgele büyüklüktedir ve genellikle mıknatıs uygulanan örneğin kontrol ile görüntüsü benzerdir. Bu nedenle uygulanan SMA'nın DNA kırıklarını artırdığı söylenemez.

6. KAYNAKLAR

1. Buschow KHJ, Boer FR. Physics of Magnetism and Magnetic Materials, Kluwer Academic Publishers, MA 2003; pp 1.
2. Bayrak M. Temel Elektrik ve Mağnetizma, Atlas Yayın Dağıtım, İstanbul 2002; ss 13-27.
3. Bondemark L, Kurol J, Wisten A. Extent and flux density of static magnetic fields generated by orthodontic samarium-cobalt magnets. Am J Orthod Dentofac Orthop 1995; 107: 488-496.
4. Jena AK, Duggal R, Batra P. Magnet as a dental material - An overview. Trends in Biomaterials and Artificial Organs 2003; 16(2): 73-80.
5. Riley MA, Walmsley AD, Harris IR. Magnets in prosthetic dentistry. J Prosthet Dent 2001; 86: 137-142.
6. Gillings BRD. Magnetic retention for complete and partial overdentures. Part I. J Prosthet Dent 1981; 45(5): 484-491.
7. Ulusoy M, Aydın AK. Diş Hekimliğinde Hareketli Bölümlü Protezler, Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yayınları, Ankara 2003; 487-498.
8. Sagawa M, Furimura S, Togowa N, Yamatoto H, Matsuura Y. New material for permanent magnets on a base of Nd and Fe. Journal of Applied Physics 1984; 55: 2083-2087.

9. Croat JJ, Herbst JF, Lee RW, Pinkerton FE. Pr-Fe and Nd-Fe based materials: a new class of high performance permanent magnets. *Journal of Applied Physics* 1984; 55: 2078-2082.
10. Strnat KJ. The hard magnetic properties of rare earth-transition metal alloys. *IEEE Transactions on Magnetism* 1972; 8: 511-516.
11. Tawara Y, Strnat KJ. Rare earth-cobalt permanent magnets near the 2-17 composition. *IEEE Transactions on Magnetism* 1976; 12: 954-958.
12. Riley MA, Williams AJ, Speight JD, Walmsley AD, Harris IR. Investigations into the failure of dental magnets. *International Journal of Prosthodontics* 1999; 12: 249-254.
13. Gillings BRD. Magnetic retention for dentures. *Dental Outlook* 1983; 9: 1-9.
14. Jiles D. An introduction to magnetism and magnetic materials. 2nd ed., Chapman and Hall, London 1988.
15. Freedman H. Magnets to stabilize dentures. *J Am Dent Assoc* 1953; 47: 288.
16. Winkler S, Pearson MH. The effectiveness of embedded magnets in complete dentures during speech and mastication: a cineradiographic study. *Dental digest* 1967; 73: 118-119.
17. Behrman SJ. The implantation of magnets in the jaw to aid denture retention. *J Prosthet Dent* 1960; 10: 807-841.
18. Behrman SJ. Magnets implanted in the mandible: aid to denture retention. *J Am Dent Assoc* 1964; 68: 206-215.
19. Toto PD, Choukas NC, Abati A. Reaction of bone to a magnetic implant. *J Dent Res* 1963; 42: 643-652.
20. Connor RJ, Svare CW. Proplast-coated high strength magnets as potential denture stabilization devices. *J Prosthet Dent* 1977; 37: 339-343.
21. Thompson IM. Magnetism as an aid to a prosthetic problem. *British Journal of Oral Surgery* 1964; 2: 44-46.
22. Moghadam BK, Skandrett FR. Magnetic retention for overdentures. *J Prosthet Dent* 1979; 41: 26-29.
23. Cerny R. Magnetodontics. The use of magnetic forces in dentistry. *Aust Dent J* 1987; 23: 392-394.
24. Basker RM, Harrison A, Ralph JP. Overdentures in general practice. Part 5-the use of copings and attachments. *Br Dent J* 1983; 155: 9-13.
25. Jenkins G. Precision Attachments. A Link to Successful Restorative Treatment, Quintessence Publishing Co Ltd, Illinois, 1999.
26. Gillings BRD. Overdentures and Telescopic Prostheses. In: Preiskel HW (eds), *Precision Attachments in Prosthodontics*, Quintessence Publishing Co Inc, Chicago 1985.

27. Gillings BRD. Magnetic denture retention systems. Inexpensive and efficient. *Int Dent J* 1984; 34: 184-197.
28. Laird WRE, Grant AA, Smith GA. Magnetic retention units for overdentures. *J Oral Rehabil* 1983; 10: 481-488.
29. Jackson TR. The application of rare earth magnetic retention to osseointegrated implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1986; 1: 81-92.
30. Carlyle LW, Duncan JM, Richardson JT, Garcia L. Magnetically retained implant denture. *J Prosthet Dent* 1986; 56: 583-586.
31. Walmsley AD, Brady CL, Smith PL, Frame JW. Magnet-retained overdentures using the Astra dental implant system. *Br Dent J* 1993; 174: 399-404.
32. 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.
33. 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.
34. Walmsley AD, Frame JW. Implant supported overdentures-the Birmingham experience. *J Dent* 1997; 25(Suppl 1): 543-547.
35. Vere J, Deans RF. Tooth-supported, magnet-retained overdentures: A review. *Dental Update* 2009; 36(5): 305-310.
36. Ohashi N, Koizumi H, Ishikawa Y et al. Relation between attractive force and keeper surface characteristics of iron-neodymium-boron magnetic attachment systems. *Dent Mater J* 2007; 26: 393-400.
37. Luk HWK, Pow EHN, Dias APLH. A quality assessment of the casting process on magnetic keepers. *Journal of Prosthodontics* 2007; 16: 249-254.
38. Akaltan F, Can G. Retentive characteristics of different dental magnetic systems. *J Prosthet Dent* 1995; 74: 422-427.
39. Walmsley AD. Magnetic retention in prosthetic dentistry. *Dental Update* 2002; 29: 428-433.
40. Budtz-Jorgensen E. *Prosthodontics for elderly*, Quintessence Publishing Co Inc, Illinois 1999.
41. Allen PF, Ulhuq A, Kearney J. Strategic use of a new dental magnet system to retain partial and complete overdentures. *The European Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry* 2005; 13: 81-86.
42. Chung CH, Choe HC, Kwak JH. Degradation Phenomena of magnetic attachments used clinically in the oral environment. *Metals and Materials International* 2006; 12: 357-364.

43. Chopra V, Smith BJ, Preiskel HW, Palmer R, Curtis R. Breakaway forces of flat and domed surfaced Magfit implant magnet attachments. *The European Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry* 2007; 15: 7-12.
44. Vrijhoef MM, Mezger PR, Van der Zell JM, Greener EH. Corrosion of ferromagnetic alloys used for magnetic retention of overdentures. *J Dent Res* 1987; 66: 1456-1459.
45. Drago CJ. Tarnish and corrosion with the use of intraoral magnets. *J Prosthet Dent* 1991; 66: 536-540.
46. Kitsugi A, Okuno O, Nakano T, Hamanaka H, Kuroda T. The corrosion behavior of Nd₂Fe₄B and SmCo₅ magnets. *Dent Mater J* 1992; 11: 119-129.
47. Naert I, Quirynen M, Theuniers G, Steenberghe D. Prosthetic aspects of osseointegrated fixtures supporting overdentures. A 4-year report. *J Prosthet Dent* 1991; 65: 671-680.
48. Wilson M, Kpendema H, Noar JH, Hunt N, Mordan NJ. Corrosion of intraoral magnets in the presence and absence of biofilms of *Streptococcus sanguis*. *Biomaterials* 1995; 16: 721-725.
49. Angelini E, Pezzoli M, Zucchi F. Corrosion under static and dynamic conditions of alloys used for magnetic retention in dentistry. *J Prosthet Dent* 1991; 65: 848-853.
50. Davis DM, Packer ME. Mandibular overdentures stabilized by Astra Tech implants with either ball attachments or magnets: 5-year results. *International Journal of Prosthodontics* 1999; 12: 222-229.
51. Boice GW, Kraut RA. Maxillary denture retention using rare earth magnets and endosteal implants. *International Journal of Oral Implantology* 1991; 7: 23-27.
52. Wirz J, Lopez S. Magnetverankerungen auf implanten. Teil 1: bestandesaufnahme. *Quintessenz* 1993; 44: 579-588.
53. Bondemark L, Kurol J, Wennberg A. Orthodontic rare earth magnets-in vitro assessment of cytotoxicity. *Br J Orthod* 1994; 21: 335-341.
54. Gendusa NJ. Magnetically retained overlay dentures. *Quintessence Int* 1988; 19: 265-271.
55. *Magnetic Fields, Environmental Health Criteria 69, WHO, Geneva* 1987.
56. Rivas L, Rius C, Tello I, Oroza M. Effects of chronic exposure to weak electromagnetic fields in mice. *IRCS Medical Science* 1985; 13: 661-662.
57. Basset C. Pulsing electromagnetic fields: a new method to modify cell behaviour in calcified and noncalcified tissues. *Calcif Tissue Int* 1982; 34: 1-8.
58. Suzuki Y, Ikehata M, Nakamura K et al. Induction of micronuclei in mice exposed to static magnetic fields. *Mutagenesis* 2001; 16: 499-501.
59. Wertheimer N, Leeper E. Adult cancer related to electrical wires near the home. *Int J Epidemiol* 1982; 11: 345-355.

60. Xu C, Zhen F, Chao YL, Du L, Zhang FQ. Magnetic fields of 10 mT and 120 mT change cell shape and structure of F-actins of periodontal ligament cells. *Bioelectrochemistry* 2008; 72: 41-46.
61. Ueno S, Shigemitsu T. Biological effects of static magnetic fields. In: Barnes FS, Greenebaum B (eds), *Bioengineering and Biophysical Aspects of Electromagnetic Fields*. Taylor and Francis, Boca Raton FL, 2007; pp 204.
62. Savitz DA, Calle EE. Leukemia and occupational exposure to electromagnetic fields: review of epidemiologic surveys. *Journal of Occupational Medicine* 1987; 29: 47-5
63. Feychting M, Ahlbom A. Magnetic fields, leukemia, and central nervous system tumors in Swedish adults residing near high-voltage power lines. *Epidemiology* 1994; 5: 501-509.
64. Feychting M, Jonsson F, Pedersen NL, Ahlbom A. Occupational magnetic field exposure and neurodegenerative disease. *Epidemiology* 2003; 14: 413-419.
65. Evans JA, Savitz DA, Kanal E, Gillen J. Infertility and pregnancy outcome among magnetic resonance imaging workers. *Journal of Occupational Medicine* 1993; 35: 1191-1195.
66. Schenck JF. Safety of strong, static magnetic fields. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 2000; 12: 2-19.
67. Saunders R. Static magnetic fields: animal studies. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 2005; 87: 225-239.
68. 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.
69. Blechman A, Smiley H. Magnetic force in orthodontics. *American journal of orthodontics* 1978; 74: 435-442.
70. Dini L, Abbro L. Bioeffects of moderate-intensity static magnetic fields on cell cultures. *Micron* 2005; 36: 195-217.
71. Cameron JR, Skofronick JG, Grant RM. Electrical signals from the body. *Physics of the Body*. 2nd ed, Medical Physics Publishing, Wisconsin, 1999; pp 251.
72. Binhi VN. An overview of magnetobiological issues. *Magnetobiology: Underlying Physical Problems*, Academic Press, London 2002; pp 5.
73. Hong FT. Magnetic field effects on biomolecules, cells and living organisms. *Biosystems* 1995; 36: 187-229.
74. Brocklehurst B, Mc Lauchlan KA. Free radical mechanism for the effects of environmental electromagnetic fields on biological system. *International Journal of Radiation Biology* 1996; 69: 3-24.

75. Belyaev IY, Matronchik AY, Alipov YD. The effect of weak static and alternating magnetic fields on the genome conformational state of *E. coli* cells: the evidence for model of phase modulation of high frequency oscillations. In: Allen MJ (Ed.), *Charge and Field Effects in Biosystems*. 4 World Scientific Publishing Co. PTE Ltd, Singapore 1994; pp 174-184.
76. Rosen, AD. Mechanism of action of moderate-intensity static magnetic fields on biological systems. *Cellular Biochemistry Biophysics* 2003; 39: 163-173.
77. Barnothy JM, Barnothy, MF, Boszormenyi-Nagy I. Influence of a magnetic field upon the leukocytes of the mouse. *Nature* 1956; 181: 1785-1786.
78. Eiselein BS, Boutell HM, Biggs W. Biological effects of magnetic fields-negative results. *Aereospace Medicine* 1961; 32: 383-386.
79. Ross SM. Combined DC and ELF magnetic fields can alter cell proliferation. *Bioelectromagnetics* 1990;11: 27-36.
80. Nordenson I, Mild KH, Andersson G, Sandstrom M. Chromosomal aberrations in human amniotic cells after intermittent exposure to fifty hertz magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1994; 15: 293-301.
81. Miyakoshi J, Yamagishi N, Ohtsu S, Mohri K, Takebe H. Increase in lipoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase gene mutations by exposure to high-density 50 Hz magnetic fields. *Mutat Res* 1996; 349: 109-114.
82. Liburdy RP, Sloma TR, Sokolic R, Yaswen P. ELF magnetic fields, breast cancer, and melatonin: 50 Hz fields block melatonin's oncostatic action on ERC breast cancer cell proliferation. *Journal of Pineal Research* 1993;14: 89-97.
83. Morandi MA, Pak CM, Caren RP, Caren LD. Lack of an EMF-induced genotoxic effect in the Ames assay. *Life Science* 1996; 59: 263-271.
84. Loberg LI, Engdahl WR, Gauger JR, Mc Cormick DL. Expression of cancer-related genes in human cells exposed to 60 Hz magnetic fields. *Radiat Res* 2000; 153: 679-684
85. Ishisaka R, Kanno T, Inai Y et al. Effects of a magnetic fields on the various functions of subcellular organells and cells. *Pathophysiology* 2000; 7: 149-152.
86. Fiorani M, Cantoni O, Sestili P et al. Electric and/or magnetic field effects on DNA structure and function in cultured human cells. *Mutat Res* 1992; 282: 25-29.
87. Lyle DB, Fuchs TA, Casamento JP, Davis CC, Swicord ML. Intracellular calcium signaling by Jurkat T-lymphocytes exposed to 60 Hz magnetic field. *Bioelectromagnetics* 1997;18: 439-445.
88. Koana T, Ikehata M, Nakagawa M. Estimation of genetic effects of a static magnetic field by a somatic cell test using mutagen-sensitive mutans of *Drosophila melanogaster*. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 1995; 36: 95-100.

89. Matthes R, Bernhardt JH, Repacholi MH. Biological Effects of Static and ELF Electric and Magnetic Fields, Markl-Druck, München 1997; pp 58.
90. Freshney RI. Animal Cell Culture: A Practical Approach, IRL Pres Limited, Oxford 1986.
91. Davis JM. Basic Cell Culture. A Practical Approach, Oxford University Press INC., New York 1996.
92. Barch MJ, Knutsen T, Spurbeck JL. The AGT cytogenetics laboratory manual (3rd ed.), Lippincott-Raven, Washington 1997.
93. ISO 10993 part 5. International Standard 10993 “Biological evaluation of medical devices Part 5: Tests for cytotoxicity: In-vitro methods.” International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 1999
94. ISO 7405. International Standard 7405. “Dentistry- preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry – test methods for dental materials.” International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 1997
95. Erkoçak A. Genel Histoloji 4. Baskı. Okan Dağıtımçılık, Yayıncılık Ltd. Şti, İstanbul 1983.
96. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: A review. Dent Mater 1996; 12: 186-193.
97. Spier RE, Griffiths JB. Animal Cell Biotechnology. Volume 1: Cell Biology Experimental Aspects, Academic Pres Inc, London 1985.
98. Browne RM. The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials-does it have a role? Int Endod J 1988; 21: 50-58.
99. Mjör IA, Hensten-Pettersen A. The Biological Compatibility of Alternative Alloys. Int Dent J 1983; 33: 35-40.
100. Schmalz G. Use of Cell Cultures for Toxicity Testing of Dental Materials-Advantages and Limitations. J Dent 1994; 22 Suppl 2: 6-11.
101. Feigal RJ, Yesilsoy C, Messer HH, Nelson J. Differential Sensitivity of Normal Human Pulp and Transformed Mouse Fibroblasts to Cytotoxic Challenge. Arch Oral Biol 1985; 30: 609-613.
102. Kang UJ, Fisher LJ, Joh TH, O'Malley KL, Gage FH. Regulation of Dopamine Production by Genetically Modified Primary Fibroblasts. J Neurosci 1993; 13: 5203-5211.
103. Brusick D. Principle of Genetic Toxicology 2nd ed. Plenum Press, New York 1987.

104. Li Y, Heflich RH. Genetic Toxicology, CRC press, Boston, MA 1991
105. Wataha JC. Biocompatibility of dental casting alloys: A review. J Prosthet Dent 2000; 83: 223-234.
106. Vural N. Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara 1996; ss 115-124.
107. Albertini RJ, Nicklas JA, O'Neill JP. Somatic Cell Gene Mutations in Humans: Biomarkers for Genotoxicity. Environmental Health Perspectives Supplements 1993; 101 (Suppl. 3): 193-201.
108. Auletta A, Ashby J. Workshop on the relationship between short-term test information and carcinogenicity. Environmental and Molecular Mutagenesis 1988; 11: 135-145.
109. Tennant RW, Margolin BH, Shelby MD et al. Prediction of chemical carcinogenicity in rodents from in vitro genetic toxicity assays. Science 1987; 236: 933-941.
110. Tucker JD, Preston RJ. Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges, and cancer risk assessment. Mutat Res 1996; 365: 147-159.
111. Wulf HC. Monitoring of genotoxic exposure of humans by the sister chromatid exchange test. Methodology and confounding factors. Danish Medical Bulletin 1989; 37(2): 132-143.
112. Verma SM, Babu A. Human chromosomes manual of basic techniques, Pergamon Press, New York 1989.
113. Lüleci G, Başaran S, Bağcı G, Keser İ. Sitogenetik uygulama yöntemleri, Meteksan, Ankara 1990.
114. Hamurcu Z. Puva tedavisi gören hastaların T-lenfositlerinde kondanse kromatin ve mikronükleus değişimlerinin araştırılması, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 1995; ss 14.
115. Rosin MP. The use of micronucleus test on exfoliated cells to identify anti-clastogenic action in humans: A biological marker for the efficacy of chemopreventive agents. Mutat Res 1992; 267: 265-276.
116. Stich HF, Rosin MP. H.F. Micronuclei in exfoliated human cells as an internal dosimeter for exposures to carcinogens. In: H.F. Stich (Eds), Carcinogens and Mutagens in the Environment, Vol. 11, CRC Press, Boca Raton, 1983; pp 17-25.
117. Bozkurt G, Tabakçioğlu K. Psikiyatrik genetik araştırmalarda kullanılabilecek genetik yöntemler. III. Psikiyatri ve sitogenetik 3P Dergisi 2004; 12: 20-30.
118. Demirel S, Zamani AG. Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. Genel Tıp Dergisi 2002; 12: 123-127.

119. Dolar K. Gece koruyuculu vital ağartma sisteminin vital dokular üzerindeki genotoksik etkilerinin araştırılması, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 1998; ss 113.
120. Finnis M, Dayan S, Hobson L, et al. Common chromosomal fragile site FRA16D mutation in cancer cells. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 1341-1349
121. 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.
122. Meneghini R. Genotoxicity of active oxygen species in mammalian cells. *Mutat Res* 1988; 195: 215-230.
123. Ferguson LR. Antimutagens as cancer chemopreventive agent in the diet. *Mutat Res* 1994; 317: 395-410.
124. Olgun A, Topal A. DNA'nın analizi. Kitap: Temizkan G, Arda N (yazarlar), Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, Nobel Kitabevi, İstanbul 2007; ss 236.
125. 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.
126. Bush C, McMillan TJ. Micronucleus formation in human tumour cells: lack of correlation with radiosensitivity. *Br J Cancer* 1993; 67: 102-106.
127. Fenech M. The cytokinesis-block micronucleus technique: A detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutat Res* 1993; 285: 35-44.
128. Köksal G, Dalcı DÖ, Pala FS. Micronuclei human lymphocytes: the Co-60 gamma-ray dose-response. *Mutat Res* 1996; 359: 151-157.
129. Möller M, Stopper H, Haring M et al. Genotoxicity induced by furocumarin hydroperoxides in mammalian cells upon UVA irradiation. *Biochem and Biophys Res Commun* 1995; 216: 693-701.
130. Papadopoulos MA. Biological aspects of the use of permanent magnets and static magnetic fields in orthodontics. *Hellenic Orthodontic Review* 1998; 1: 145-157.
131. Becker JJ. Permanent magnets. *Scientific American* 1970; 223: 92-100.
132. Barnothy MF. Biological Effects of Magnetic Fields, Vol II, Plenum Publishing Corp, New York 1969.

133. Busby DE. Space biomagnetics. *Space Life Science* 1968; 1: 23-63.
134. Hopp M, Rogaschewski S, Groth TH. Testing the cytotoxicity of metal alloys used as magnetic prosthetic devices. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 2003; 14: 335-345.
135. Abdel-Kader HM, Aref MI, Hussein FA. Coating failure of commercial orthodontic magnets and DNA fragmentation of oral mucosa cells. *Australian Orthodontic Journal* 2008; 24: 32-40.
136. Gebert A, Roth S, Gopalan R, Kündig AA, Schultz L. Corrosion behaviour of FePt-based bulk magnets in artificial saliva solution. *Journal of Alloys and Compounds* 2007; 436: 309-312.
137. Wilson M, Patel H, Kpendema H et al. Corrosion of intra-oral magnets by multi-species biofilms in the presence and absence of sucrose. *Biomaterials* 1997; 18: 53-57.
138. Maluf SW, Erdtmann B. Genomic instability in Down syndrome and Fanconi anemia assessed by micronucleus analysis and single cell-gel electrophoresis. *Cancer Genet Cytogenet* 2001; 124: 71-75.
139. Neri M, Fucic A, Knudsen LE et al. Micronuclei frequency in children exposed to environmental mutagens: a review. *Mutat Res* 2003; 544: 243-254.
140. Miyakoshi J. Effects of static magnetic fields at the cellular level. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 2005; 87: 213-223.
141. Hagmar L, Bonassi S, Stomberg U et al. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Res* 1998; 58: 4117-4121.
142. Ribeiro DA, Angelieri F. Cytogenetic biomonitoring of oral mucosa cells from adults exposed to dental X-rays. *Radiat Med* 2008; 26: 325-330.
143. Cohen SM, Ellwein LB. Cell proliferation in carcinogenesis. *Science* 1990; 249: 1007-1011.
144. Löschner W, Liburdy RP. Animal and cellular studies on carcinogenic effects of low frequency (50/60-Hz) magnetic fields. *Mutat Res* 1998; 410: 185-220.
145. 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.

146. 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.
147. Camilleri S, McDonald F. Static magnetic field effects on the sagittal suture in *Rattus Norvegicus*. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1993; 103: 240-246.
148. 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.
149. 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. *Journal of Clinical Oncology* 1999; 17: 470-477.
150. 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.
151. Phillips JL, Singh NP, Lai H. Electromagnetic fields and DNA damage. *Pathophysiology* 2009; 16 (EMF) Special Issue: 79-88.
152. Linder-Aronson A, Lindskog S. Effects of static magnetic fields on human periodontal fibroblasts in vitro. *Swed Dent J* 1995; 19: 131-137.
153. 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. *Biochimica et Biophysica Acta* 1993; 1156: 302-306.
154. 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.
155. Bloching M, Reich W, Schubert J, Grummt T, Sandner A. Micronucleus rate of buccal mucosal epithelial cells in relation to oral hygiene and dental factors. *Oral Oncology* 2008; 44: 220-226.
156. Loro LL, Vintemys OK, Johansen AC. Cell death regulation in oral squamous carcinoma: methodological considerations and clinical significance. *J Oral Pathol Med* 2003; 32: 125-138.
157. Argentin G, Cicchetti R. Genotoxic and antiapoptotic effect of nicotine on human gingival fibroblasts. *Toxicol Sci* 2004; 79: 75-81.
158. Giannopoulou C, Roehrich N, Mombelli A. Effect of nicotine-treated epithelial cells on the proliferation and collagen production of gingival fibroblasts. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 769-775.

159. Tipton DA, Dabbous MK. Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol* 1995; 66(12): 1056-1064.
160. Trivedi AH, Dave BJ, Adhvaryu SG. Assessment of genotoxicity of nicotine employing in vitro mammalian test system. *Cancer Lett* 1990; 54: 89-94.
161. 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. *Biochimica et Biophysica Acta* 1992; 1136: 231-238.
162. Bondemark L, Kurol J, Larsson A. Human dental pulp and gingival tissue after static magnetic field exposure. *Eur J Orthod* 1995; 17: 85-91.
163. Victoria L, Fiala J, Petz R. Effect of prolonged exposure to a magnetic field on the haematopoietic stem cell. *Physiol Bohemoslov* 1976; 25(4): 359-364.
164. Malinin GI, Gregory WD, Sharma VK. Evidence of morphological and physiological transformation of mammalian cells by strong magnetic fields. *Science* 1976; 194: 844-846.
165. Frazier ME, Andrews TK, Thompson BB. In vitro evaluation of static magnetic fields. In: Phillips RD, Gillis MS, Kaune WT, Mahlum DD (eds), *Biological Effects of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields*, Thomas Springfield, Richmond, Virginia 1979.
166. Tsutsui H, Kinouchi Y, Sasaki H, Shiota M, Ushita T. Studies on the Sm-Co magnet as a dental material. *J Dent Res* 1979; 58(6): 1597-1606.
167. Esformes I, Kummer FJ, Livelli TJ. Biological effects of magnetic fields generated with Sm-Co magnets. *Bulletin of the Hospital for Joint Diseases Orthopedic Institute* 1981; 41: 81-87.
168. McDonald F. Effect of static magnetic fields on osteoblasts and fibroblasts in vitro. *Bioelectromagnetics* 1993; 14: 187-196.
169. Nakahara T, Yaguchi H, Yoshida M, Miyakoshi J. Effects of Exposure of CHO-K1 Cells to a 10-T Static Magnetic Field. *Radiology* 2002; 224: 817-822.
170. Zmyslony M, Palus J, Jajte J, Dziubaltowska E, Rajkowska E. DNA damage in rat lymphocytes treated in vitro with iron cations and exposed to 7 mT magnetic fields (static or 50 Hz). *Mutat Res* 2000; 453: 89-96.
171. Kim HJ, Chang IT, Heo SJ et al. Effect of magnetic field on the fibronectin adsorption, cell attachment and proliferation on titanium surface. *Clinical Oral Implants Research* 2005; 16: 557-562.

172. Masumoto H, Ochi M, Abiko Y et al. Pulsed electromagnetic fields promote bone formation around dental implants inserted into the femur of rabbits. *Clinical Oral Implants Research* 2000; 11: 354-360.
173. Walleczeck J, Liburdy RP. Nonthermal 60 Hz sinusoidal magnetic field exposure enhances ⁴⁵CaCC uptake in rat thymocytes: dependence on mitogen activation. *FEBS Lett* 1990; 271: 157-160.
174. Ivancsits S, Diem E, Pilger A, Rüdiger HW, Jahn O. Induction of DNA strand breaks by intermittent exposure to extremely-low-frequency electromagnetic fields in human diploid fibroblasts. *Mutat Res* 2002; 519: 1-13.
175. Ivancsits S, Pilger A, Diem E, Jahn O, Rüdiger HW. Cell type-specific genotoxic effects of intermittent extremely low-frequency electromagnetic fields. *Mutat Res* 2005; 583: 184-188.
176. Ivancsits S, Diem E, Jahn O, Rüdiger HW. Age-related effects on induction of DNA strand breaks by intermittent exposure to electromagnetic fields. *Mech Ageing Dev* 2003; 124: 847-850.
177. Raylman RR, Clavo AC, Wahl RL. Exposure to strong static magnetic field slows the growth of human cancer cells in vitro. *Bioelectromagnetics* 1996; 17: 358-363.
178. Li F, Xu K, Wang HC. Effects of static magnetic field on human umbilical vessel endothelial cell. *Journal of Medical Colleges of PLA* 2007; 22(2): 106-110.
179. Toto PD, Choukas NC, Sanders DD. Reaction of bone and mucosa to implanted magnets. *J Dent Res* 1962; 41: 1438-1449.
180. Gross L, Smith LW. Wound healing and tissue regeneration. In: Barnothy MF (eds), *Biological Effects of Magnetic Fields, Vol I*, Plenum Press, New York 1964; pp 140-145.
181. Barnothy JM. Development of young mice. In: Barnothy MF (eds), *Biological Effects of Magnetic Fields Vol I*, Plenum Press, New York 1964; pp 93.
182. Barnothy MF, Sumegi I. Effects of the magnetic field on internal organs and endocrine system of mice. In: Barnothy MF (eds), *Biological Effects of Magnetic Fields Vol II*, Plenum Publishing Corp, New York 1969; pp 103-126.
183. Cerny R. The biological effects of implanted magnetic fields. Part-I: Mammalian blood cells. *Australian Orthodontic Journal* 1979; 6: 64-70.
184. Cerny R. The reaction of dental tissue to magnetic fields. *Aust Dent J* 1980; 25: 264-268.

185. Amano M, Messier B, Leblond CP. Specificity of labelled thymidine as a deoxyribonucleic acid precursor in radioautography. *J Histochem Cytochem* 1956; 7: 153-155.
186. Feiendiegen LE, Muhlensiepen H. In vivo enzyme control through a strong stationary magnetic field. The case of thymidine kinase in mouse bone marrow cells. *Int J Radiat Biol* 1987; 52: 469-479.
187. Altay OT, Kutkam T, Köseoğlu O, Tanyeri S. The biological effects of implanted magnetic fields on bone tissue of dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1991; 6: 345-349.
188. Saygılı G, Aydınlık E, Ercan MT, Naldöken S, Ulutuncel N. Investigation of the effects of magnetic retention systems used in prostheses on buccal mucosal blood flow. *International Journal of Prosthodontics* 1992; 5: 326-332.
189. 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.
190. Amara S, Douki T, Ravanat JL et al. Influence of a static magnetic field (250 mT) on the antioxidant response and DNA integrity in THP1 cells. *Phys Med Biol* 2007; 52: 889-898.
191. Öztürk A, Baltacı AK, Moğulkoç R, Öztekin E. Zinc prevention of electromagnetically induced damage to testicle and kidney tissues. *Biol Trace Elem Res* 2003; 96: 247-257.
192. Bettger WJ, Dell BL. Physiological roles of zinc in the membrane of mammalian cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 1993; 4: 194-207.
193. Lai H, Singh NP. Magnetic field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat. *Environ Health Perspect* 2004; 112: 687-694.
194. Ketchen E, Porter W, Bolton N. The biological effects of magnetic fields on man. *Am Ind Hyg Assoc J* 1978; 39: 1-11.
195. Blechman A. Comments on static magnetic fields. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991; 99: 18A-20B.
196. McCann J, Dietrich F, Rafferty C. The genotoxic potential of electric and magnetic fields: an update. *Mutat Res* 1998; 411: 45-86.

EKLER

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
DİŞHEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
KAYSERİ

FAKÜLTE ARAŞTIRMA ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar No	Özü
27.03.2008	2	1	Proje Hakkında

KARAR

Prof. Dr. Bülent KESİM' in yürütücülüğünü yaptığı " **Dental Protezlerde Kullanılan Miknatısların Oluşturduğu Statik Manyetik Alanın İnsan Gingival Doku Fibroblastlarına Olan Genotoksik Etkilerinin İn-Vitro İncelenmesi** " adlı proje Araştırma Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve etik açıdan uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.


Doç. Dr. Tancan UYSAL
(Başkan)

Yrd. Doç. Dr. Erdem KILIÇ
(Başkan Yrd.)

Yrd. Doç. Dr. Serdar KESİM

Yrd. Doç. Dr. Ayşegül GÜRBULAK
(Zincirli)

Yrd. Doç. Dr. Burak SAKSIN

Yrd. Doç. Dr. Yıldıray ŞİŞMAN

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLURU FORMU

Diş hekimliğinde protezlerde kullanılan mıknatısların insan dokularına etkisi ile ilgili yapacağımız bilimsel çalışma için insan diyeti kültürüne ihtiyacımız vardır.

Başlangıçta her grup için 7 birey olmak üzere toplam 28 bireyden örnek alınacaktır. Sigara içmeyen, ağız hijyeni iyi, herhangi bir kronik hastalığı olmayan, büyük radyolojik inceleme geçirmemiş ve 25-50 yaş arasında, gömülü veya yarı gömülü 3. molar diş çekimi operasyonu gerektiren bireyler örnek olarak seçilecektir.

Bu amaçla diş çekiminiz esnasında izninizle çekim bölgesinden küçük bir parça alınacaktır. Prosedürün sağlık açısından hiçbir sakıncası yoktur. Çalışmada sizlerden elde edilen özel bilgilerin gizliliği çalışma yöneticisi ve yardımcısının sorumluluğu altındadır ve 3. şahıslar ile paylaşılmayacaktır. Çalışma bulgularının tez çalışmasında kullanılması ve uzun dönemde yayınlanması planlanmaktadır.

Yukarıdaki metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullar altında araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün

Adı Soyadı:

Yaşı:

Adresi:

Telefonu:

İmzası:

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı Soyadı:

ÖZGEÇMİŞ

Filiz YAĞCI. 16.06.1980'de Ankara'da doğdu. İlköğrenimini Yalçın Eskiyan İlköğretim Okulu'nda, ortaöğrenimini Namık Kemal Ortaokulu'nda, liseyi İncirli Süper Lisesi'nde tamamladı. 1998'de Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ni kazandı. 2003 yılında mezun oldu. 2005 yılında Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı. 2006 yılında aynı bölümde doktora eğitimine başladı. Halen aynı görevi sürdürmektedir.